#### الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية وزارة التعليم العالى والبحث العلمي

# Université Ferhat Abbas - Sétif 1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



بامعة فرحات عباس - سطيف 1 كلية علوم (الطبيعة والحياة

N<sup>0</sup>...../SNV/2012

#### Département de Biochimie

#### **MEMOIRE**

Présenté par : AITFELLA Radhia

Pour obtenir le diplôme de Magister

Option : Biochimie et physiologie expérimentale

#### THEME:

# Etude de l'activité anticoccidienne des extraits de *Peganum* harmala, *Retama sphaerocarpa* et grains de pollen

Soutenu publiquement le 16/01/2012

#### Devant le jury

Président : BAGHIANI A.

Pr
Université Farhat Abbas Setif 1

Rapporteur : HARZALLAH D.

Pr
Université Farhat Abbas Setif 1

Examinateur BOUNECHADA M.

MCA
Université Farhat Abbas Setif 1

Examinateur : BOUMERFEG S.

MCA
Université Bordj Bou Arreridj

Année universitaire 2011-2012

# Dédicace

A mes parents, Qui m'ont toujours soutenue, entourée et protégée et sans qui je ne serais rien, Avec tout mon amour.

A mon mari Billal A ma petite fille Maria

A mon petit frère Salim A mes sœurs Anissa et Samia A mon frère Farhat et sa femme Wahiba

A la promo de Magister 2009

Et a toute la famille Lahlou et Beghoura.

### Remerciement

Je remercie tout d'abord le professeur Harzallah Daoud pour avoir encadré patiemment ce travail.

A Mr Baghiani Abderrahim, professeur à l'université Farhat abbas Sétif,

Qui ma fait l'honneur de présider le jury de thèse. Hommage respectueux.

A Mr Bounechadda moustafa, professeur à l'université Farhat abbas Sétif,

Pour avoir accepté de relire cette thèse, pour sa gentillesse et pour son implication.

Sincères remerciements.

Je tiens à remercier

Mm Seraiche Dahamna Saliha pour ses précieuses remarques constructives,

Mr Araar Lakhmissi pour m'avoir accueilli dans son laboratoire.

Mes vifs remerciements aux vétérinaires de la daïra d'El Eulma qui m'ont particulièrement aidé dans la pratique.

A toute personne qui a participé de prés ou de loin, directement ou indirectement, à la réalisation de ce travail.

# RESUME

### الملخص

يعتبر كوكسيديا الطيور مرضا ذو أضرار اقتصادية وخيمة، والذي تسببه طفيليات Eimeria ذات نمو داخل خلوي إجباري. يعد استعمال المواد المستخلصة من النباتات الطبية واحدة من الطرق البديلة لمكافحة الكوكسيديا الطيور. تحدف الدراسة إلى تقييم الفعل ضد الكوكسيديا لبعض من هذه النباتات، Peganum harmala (الحرمل) و تحدف الدراسة إلى تقييم الفعل ضد الكوكسيديا لبعض من هذه النباتات تخرب Retama sphaerocarpa (الرقمة) و حبوب اللقاح. بينت النتائج أن مختلف مستخلصات هذه النباتات تخرب بويضات . Eimeria sp. وطريقة تتناسب طرديا مع التراكيز التي تراوحت بين 10مغ/مل و 30 مع/مل. أظهرت النتائج، بالاعتماد على 10 لك وبالمقارنة مع الشاهد (p < 0.05)، أن المستخلص المائي له Retama sphaerocarpa و Retama sphaerocarpa وجبوب الأكثر سمية يليه كل من المستخلصات المخربة ب- 48% و 33% و 29% و 21.5%، على الترتيب. كما لوحظ أيضا اللقاح، حيث قدرت نسب البويضات المخربة ب- 48% و 33% و 92% و 21.5%، على الترتيب. كما لوحظ أيضا المستخلصات (5 و 10 و 20 و 30 مغ/مل). تعكس هذه النتائج التغير الكمي والنوعي في مدى فعالية هذه المستخلصات والذي من المحتمل أن يرجع إلى التوزيع غير المتساوي للمستقلبات، أين تم دراسة مختلف أنشطتها المستخلصات والذي من المحتمل أن يرجع إلى التوزيع غير المتساوي للمستقلبات، أين تم دراسة مختلف أنشطتها المستخلصات والذي من المحتمل أن يرجع إلى التوزيع غير المتساوي للمستقلبات، أين تم دراسة مختلف أنشطتها المستحمل طرق كيميائية ويهوكيميائية و الميكروبية.

الكلمات المفاتيح: كوكسيديا الطيور، Eimeria sp ، النشاطية ضد الميكروبي،Fimeria sp ، كوكسيديا الطيور، Retama، حبوب اللقاح، البويضات.

#### **RESUME**

La coccidiose aviaire est une maladie ayant de graves conséquences économiques. Elle est provoquée par des parasites à développement intracellulaire obligatoire appelés Eimeria. Chez le poulet, neuf espèces sont en cause. Elles se développent spécifiquement dans les entérocytes de l'épithélium intestinal, ce qui engendre des perturbations de l'homéostasie pouvant conduire à la mort de l'animal. La prophylaxie repose sur l'utilisation d'anticoccidiens et sur la vaccination. Le coût élevé des vaccins, et l'apparition de résistances aux anticoccidiens soulignent la nécessité de trouver des moyens de lutte alternative.

L'utilisation de produits à base de plantes médicinales est l'une des méthodes alternatives. Ces plantes restent le premier réservoir de nouvelles molécules chimiques nécessaires à la mise en point de futurs médicaments. Notre travail vise à tester quelques unes de ces plantes, *Peganum harmala*, *Retama sphaerocarpa* et les grains de Pollen contre la coccidiose in vitro.

Les résultats obtenus montrent que les différents extraits de ces plantes détruisent les oocystes d'*Eimeria sp* de manière dose dépendante, dans un intervalle de concentration situé entre 10 et 30mg/ml. Exprimé sous forme de LC50, les résultats indiquent que le traitement le plus toxique ou coccidiocide est celui de l'extrait aqueux de *Retama sphaerocarpa* suivi par les extraits méthanoliques de *Peganum harmala*, *Retama sphaerocarpa*, et le Pollen avec des proportions d'oocystes détruits de 48%, 33%, 29%, et 21,5% respectivement en comparaison avec le témoin (p < 0,05). Une importante libération de matériaux cellulaires absorbants à 273nm est également observée. Elle varie de manière linéaire et proportionnelle à la concentration des différents extraits (5, 10, 20 et 30mg/ml).

Ces résultats reflètent une variabilité quantitative et qualitative dans le pouvoir coccidioside des différents extraits. Cela est du probablement à la répartition très inégale de leur métabolites, dont plusieurs activités biologiques ont été démontrées par diverses études chimiques, biochimiques, et microbiologiques.

**Mots clés :** Coccidiose aviaire, *Eimeria sp*, activité anticoccidienne, *Peganum harmala* (L.), *Retama sphaerocarpa* (L.) boisse, grains de Pollen, oocystes.

#### **SUMMARY**

A vian coccidial infections are associated with a heavy economic damage. They are caused by obligate intracellular parasites of the genus Eimeria. Nine species are caused in chickens. These parasites are host specific and invade epithelial cells of animal intestines, causing severe damages that can lead to the host's death. Prophylaxis relies on the use of anticoccidial drugs and vaccination. However, the vaccines' high costs and the emergence of anticoccidial drug resistance highlight the need to develop alternative control methods.

The use of products from medicinal plants is one of the alternative methods against avian coccidiosis. These plants remain the first reservoir of new chemical molecules necessary for producing future drugs. The aim of our study consists to test *in vitro* some plants, Harmel (*Peganum harmala*), Retama (*Retama sphaerocarpa*) and Pollen grains against coccidiosis. Results showed that the different extracts of these plants destroyed the *Eimeria sp* oocyst in concentration dependant manner where the applied concentrations are ranging from 10 to 30mg/ml. Expressed in LC 50 and compared to blank (*p*<0.05), results indicated that the most toxic treatment or coccidiocid was the aqueous extract of *Retama sphaerocarpa* followed by methanol extracts of *Peganum harmala*, *Retama sphaerocarpa* and Pollen grain with a proportions of destroyed oocyst of 48%, 33%, 29%, and 21,5%, respectively. An important release of cellular material that absorb at 273 nm was also observed. It varied in linear and proportional manner with the different concentration of extracts (5, 10, 20 and30mg/ml). Such results reflect both a quantitative and qualitative variability towards the coccidiosid power of different extracts. This may be due to the great difference of their metabolites where several biological activities were investigated using chemical, biochemical and microbial methods.

**Key words:** Avian Coccidiose, *Eimeria sp*, anticoccidial activity, *Peganum harmala* (L.), *Retama sphaerocarpa* (L.) boisse, Pollen grains, oocysts.

## LISTE DES FIGURES

Fig.1: Les principales races commerciales de la poule domestique	4
Fig.2: Appareil digestif du poulet	7
Fig.3: Représentation générale de la cellule des Apicomplexes	12
Fig.4 : Classification du genre Eimeria	13
Fig.5 : Oocystes non sporulés de l'espèce Eimeria sous microscope optique	14
Fig.6 : Oocyste sporulé de l'espèce Eimeria	15
Fig.7 : Schéma général du cycle évolutif de l'espèce Eimeria	17
Fig.8: Oocyste en cours de division (sporogonie)	18
Fig.9 : Cycle de développement de l'espèce Eimeria	26
Fig.10 : Poulets atteints des symptômes de la forme suraigüe de la coccidiose caecale	35
Fig.11 : Localisation des lésions engendrées par huit espèces d'Eimeria	37
Fig.12: Lésions nécrotiques et hémorragiques dans la coccidiose caecale	38
Fig.13 : Lésions caractéristiques de la coccidiose intestinale	40
Fig.14 : Classification des lésions caractéristiques de la coccidiose	40
Fig.15 : Fleurs de Peganum harmala	46
Fig.16 : Structure chimique des alcaloïdes de type b-carboline	47
Fig.17 : Structure d'un grain de pollen	
Fig.18: Une abeille (Apis mellifera) au cours de la pollinisation d'une fleur	51
Fig.19: L'espèce Retama sphaerocarpa	56
Fig.20 : Graines de <i>Peganum harmala</i> et Grains de Pollen	
Fig.21: Les rameaux de la plante Retama sphaerocarpa	
Fig.22 : Deux sujets suspectés d'être infectés par la coccidiose	59
Fig.23 : Raclage des différents intestins et récupération des échantillons	59
Fig.24 : Préparation de l'extrait méthanolique des graines de Peganum harmal	61
Fig.25 : Préparation de l'extrait méthanolique du Pollen	62
Fig.26 : Protocole de préparation de l'extrait aqueux et méthanolique de Retama sphaerocarpa	63
Fig.27 : Dénombrement des oocystes par la lame type Malassez	66
Fig.28 : Oocyste des sept espèces d'Eimeria spécifique au poulet	66
Fig.29 : Micromètre objectif et micromètre oculaire	68
Fig.30 : Etalonnage du micromètre oculaire par la plaque micrométrique	68
Fig.31 : Illustration de la microplaque ensemencée par les différents extraits	69
Fig.32 : Quelques parties du tube digesitif normales et atteintes de coccidiose	71
Fig.33 : Oocystes d'Eimeria sp de l'échantillon sous microscope optique	72
Fig.34 : Dénombrement des oocystes sous microscope optique par la cellule Malassez	72
Fig.35 : Variation du nombre d'oocystes en fonction de la concentration des différents extraits	76
Fig.36: Effet anticoccidien du Toltrazuril	77
Fig.37 : Variation du nombre d'oocystes et libération de matériaux cellulaires	
en fonction de la concentration des extraits	
Fig.38 : Effet anticoccidien de la Sulfaquinoxaline sodique triméthoprime	80

## LISTE DES TABLEAUX

Tab.1 : Classification de la poule domestique	3
Tab.2 : Caractères distinctifs des différents genres de coccidies	12
Tab.3 : Temps de sporulation de chaque espèce d'Eimeria	20
Tab.4 : Nombre de schizogonie des différentes espèces d'Eimeria	24
Tab.5 : L'aspect du développement de la coccidiose dans les conditions d'élevage	31
Tab.6 : Pouvoir pathogène des espèces infectant le poulet	32
Tab.7 : Principaux coccidiostats utilisés chez la volaille	44
Tab.8 : Concentration des vitamines et minéraux présents dans le pollen récolté	53
Tab.9 : Quelques paramètres chimiques caractérisant le pollen	54
Tab.10 : Composition et posologie des anticoccidiens testés dans l'étude	60
Tab.11 : Composition chimique de la solution HBSS	63
Tab.12: Composition chimique du tampon PBS	64
Tab.13 : Taille des oocystes d'Eimeria sp	67
${f Tab.14}$ : Mesures (en $\mu m$ ) de la longueur, largeur, et du rapport longueur/largeur d'oocystes	74
Tab.15: Effets des extraits de plantes sur le nombre d'oocystes et détermination de la LC50	75
Tab.16: Effet des extraits de plantes sur le nombre des oocystes	
et la libération des substances absorbants à 273nm	78

# **SOMMAIRE**

INTRODUCTION	. 1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	
Chapitre I : Généralités	
1. La volaille	. 3
2. La poule (Gallus gallus domesticus)	. 3
3. Organisation de l'appareil digestif	. 5
3.1. Le pharynx	. 6
3.2. L'œsophage	. 6
3.3. Le jabot	. 6
3.4. Le proventricule ou ventricule succenturie	. 6
3.5. Le gésier	. 8
3.6. Le duodénum	. 8
3.7. L'iléon	. 8
3.8. Le rectum	. 8
3.9. Les caecums	. 9
3.10. Le cloaque	. 9
3.11. Les glandes annexes	9
4. L'aviculture en Algérie	
Chapitre II : La coccidiose aviaire	
1. Définition	11
2. Etiologie	11
3. Structure et morphologie du parasite	13
3.1. L'oocyste	14
3.2. Le sporozoïte d'Eimeria	
3.3. Le Trophozoïte	15
3.4. Le schizonte primaire	
3.5. Le mérozoïte	16
4. Cycle de développement de l'espèce Eimeria	17
4.1. Phase exogène (la sporogonie)	
4.2. Phase endogène	
5. Epidémiologie descriptive	27
5.1. Répartition géographique	
5.2. Espèces affectées	
6. Epidémiologie analytique	
6.1. Source du parasite	28
6.2. Résistance des oocystes	
6.3. Mode d'infestation et de dissémination	
7. Pouvoir pathogène et manifestations clinique	
7.1. Pathogénie	

7.2. Manifestation cliniques	34
7.3. Les lésions	37
8. Diagnostic	40
9. Prophylaxie	41
9.1. Prophylaxie sanitaire	41
9.2. Prophylaxie médicale	42
. ,	
Chapitre III : Etude ethnopharmacologique des plantes médicin	ales
1. L'espèce Peganum harmala L	45
1.1. Nomenclature de la plante	45
1.2. Description	46
1.3. Distribution géographique	46
1.4. Composition chimique	47
1.5. Utilisation de la plante	48
2. Le pollen	49
2.1. Description	49
2.2. Récolte du pollen	50
2.3. Conservation du pollen	52
2.4. Composition chimique	52
2.5. Propriétés thérapeutiques du pollen	54
3. L'espèce Retama spherocarpa	56
3.1. Nomenclature de la plante	56
3.2. Description de la plante	56
3.3. Distribution géographique	56
3.4. Composition chimique	57
3.5. Utilisation de la plante	57
PARTIE EXPERIMENTALE	
I. MATERIELS	
1.1. Sélection des plantes	58
1.2. Sélection des sujets ayant fait l'objet de prélèvement	
1.3. Prélèvement des échantillons	
1.4. Produits chimiques	
1.5. Appareillage	
II. METHODES	
2.1. Préparation des extraits de plantes	61
2.1.1. Extrait méthanolique de <i>Peganum harmala</i>	
2.1.2. Extrait méthanolique des grains de pollen	
2.1.3. Extraits méthanolique et aqueux de <i>Retama sphaerocarpa</i>	
2.2. Préparation des milieux de culture	
2.2.1. Solution d'HBSS agar	
2.2.2. Solution tampon PBS (phosphate buffered saline)	64
2.3. Analyse coprologique	64

2.3.1. Examen microscopique direct	64
2.3.2. Conservation des échantillons	64
2.3.3. Méthode d'enrichissement ou flottaison (concentration des oocystes)	64
2.3.4. Dénombrement des oocystes	65
2.3.5. Identification des espèces par morphométrie	65
2.4. Etude de l'activité anticoccidienne des extraits de plantes	69
2.4.1. Effets des extraits de plantes sur le nombre d'oocystes	
et détermination de la LC50	69
2.4.2. Effet des extraits de plantes sur le nombre des oocystes	
et la libération des substances absorbants à 273nm	70
2.5. Analyse statistique	70
III. RESULTATS	
3.1. Echantillons prélevés	71
3.2. Analyse coprologique	71
3.2.1. Examen microscopique direct	71
3.2.2. Dénombrement du parasite	72
3.2.3. Identification des espèces par morphométrie	73
3.3. Etude de l'activité anticoccidienne des extraits de plantes	75
3.3.1. Effets des extraits de plantes sur le nombre d'oocystes	
et détermination de la LC50	75
3.3.2. Effet des extraits de plantes sur le nombre des oocystes	
et la libération des substances absorbants à 273nm	78
3.3.3. Comparaison entre les deux techniques	78
DISCUSSION	81
CONCLUSION	83
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	84
LICTE DEC ANNEVEC	00

# INTRODUCTION

#### **INTRODUCTION**

Les volailles représentent une source précieuse de protéines animales d'une grande valeur biologique. On les élève même lorsque les conditions de nourriture et de logement sont limitées. Les poules sont des « convertisseurs de déchets » : en digérant, elles utilisent les déchets comme ressource alimentaire et les transforment en protéines animales. C'est pourquoi cette espèce est de loin celle qui représente la plus grande part des revenus des familles rurales. L'élevage de poules se fait partout dans le monde, dans des conditions très variables. Mais l'objectif principal est presque toujours le même : une production maximum à un coût minimum, tout en évitant les risques.

Cependant, le développement d'une telle industrie intensive dans les pays en développement, notamment l'Algérie, a bouleversé les pratiques de l'éleveur et celles du vétérinaire, en posant des problèmes sanitaires. Toute maladie transmissible, et en premier lieu les maladies parasitaires, dans de tels élevages peut se traduire par une véritable épidémie avec des répercussions économiques dramatiques pour l'éleveur.

Parmi ces maladies, il y'a la coccidiose aviaire. Dans un élevage intensif de poulet surtout celui des poulets de chair, elle est devenue une des préoccupations grandissantes des éleveurs, tant pour la mortalité et la morbidité qu'elle induit que pour les pertes économiques qu'elle engendre.

La coccidiose aviaire est une maladie parasitaire protozootique, provoquée par des protozoaires appartenant au genre Eimeria. Ce dernier comprend au moins 1 160 espèces qui parasitent les animaux vertébrés (Levine, 1988). Celles trouvées chez les animaux de ferme peuvent causer de graves pertes économiques un peu partout dans le monde, les volailles étant peut-être les plus touchées. Chez les poulets, *Eimeria acervulina*, *E. brunetti*, *E. hagani*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. mivati*, *E. necatrix*, *E. praecox*, et *E. tenella*, causent des maladies différentes et reconnaissables qui résultent de pouvoirs pathogènes propres à chaque espèce. Elles se développent dans l'intestin grêle, les caeca ou le rectum déterminant ainsi deux formes anatomocliniques distinctes ou pouvant être associées.

Les effets délétères de ces agents pathogènes ont été largement décrits dans les pays industrialisés, du fait de leur fréquence et de leurs implications financières. Ainsi, au Royaume-Uni, les pertes annuelles dues à la coccidiose s'élèvent à 38,6 millions de livres dont les 98% représentent les pertes chez des poulets de chair, soit 4,5% du revenu industriel de ses volailles (Williams, 1999). Dans le monde, les pertes sont estimées à 2 billion d'Euro par an (Dalloul and Lillehoj, 2006). En effet, cette maladie entraîne une diminution du gain de poids, un mauvais indice de consommation, des infections secondaires et une mortalité importante. Le contrôle de cette maladie dans les élevages est donc essentiel pour le succès de l'aviculture.

Les plans de prophylaxie médicale sont principalement fondés sur trois moyens : l'utilisation d'additifs coccidiostatiques dans l'aliment, des traitements anticoccidiens systématiques au cours de l'élevage et plus récemment la vaccination. Cependant, une mauvaise utilisation de ces traitements a fait apparaître une chimiorésistance et le développement de coccidies résistantes.

Ce qui a incité les éleveurs à faire appel à d'autres alternatives, comme l'utilisation de produits à base de plantes médicinales. Elle a été rapportée pour toutes les espèces d'oiseaux. Ces produits seraient utilisés chez la poule pondeuse pour laquelle les anticoccidiens sont interdits, et sont souvent associées à des acidifiants ce qui contribuerait à renforcer leur efficacité (AFSSA, 2007). Les extraits et huiles essentielles de ces plantes peuvent agir dans l'aliment et tout le long du tractus digestif, et avoir une influence sur les performances zootechniques et la qualité des produits. En effet, leur odeur et leur activité anti-microbienne et anti-fongique peuvent avoir un impact positif sur la prise alimentaire et la charge bactérienne de l'aliment. Au niveau du tube digestif, leur action anti-microbienne se traduit par une réduction des populations de certains micro-organismes. Des molécules responsables ont été identifiées, et leur effet a été démontré in vitro (AFSSA, 2007).

C'est ce qui a suscité la présente étude, dont l'objectif principal est d'évaluer l'efficacité des extraits de quelques plantes contre les parasites de la coccidiose *in vitro* :

- L'extrait méthanolique des graines de l'espèce *Peganum harmala* qui proviennent de Chelghoum El aïd, wilaya de Mila.
- L'extrait méthanolique et aqueux préparés à partir des rameaux de l'espèce *Retama sphaerocarpa*, issus de la région d'El-gosbat Djebel Guetiane, Daïra de Ras-El-Aïoun, Wilaya de Batna.
- L'extrait méthanolique des grains de Pollen générés par diverses plantes pollifères.

Cette thèse s'articule autour de deux grandes parties. La première partie est consacrée à la poule et l'anatomie de son appareil digestif, un bref aperçus sur l'aviculture en Algérie, ainsi qu'une étude ethnopharmacologique des plantes médicinales testées.

La deuxième partie présente les résultats de deux techniques expérimentales qui nous ont permis d'atteindre notre principal objectif, qui est de tester l'efficacité des extraits de plante sur les oocystes d'Eimeria *in vitro*.

# CHAPITRE I Généralitées

#### 1. La volaille

La volaille prend une place importante dans l'alimentation, en effet, tout d'abord c'est un produit bon marché, mais également un produit de bonne qualité sur le plan diététique, car la volaille est riche en protéines et pauvre en graisses.

Une volaille est un oiseau domestique, appartenant généralement aux gallinacés ou aux palmipèdes (Lien A). En France, une définition légale (Arrêté, 2007) est « tout oiseau élevé ou détenu en captivité à des fins de reproduction, de production de viande, d'œufs de consommation ou de tout autre produit et de repeuplement de population de gibier à plumes ».

La volaille est un terme collectif englobant l'ensemble des oiseaux de basse-cour, qui font l'objet de l'aviculture. L'aviculture est le terme employé lorsqu'on élève des oiseaux ou des volailles mais les lapins entrent également dans la classification (lien A).

Il existe plusieurs espèces de volailles, mais on s'intéresse plus particulièrement à la poule.

#### **2.** La poule (Gallus gallus domesticus)

Parmi les animaux que l'homme a apprivoisés au cours d'un long et difficile travail de domestication, la poule occupe une place importante en raison du caractère particulier des produits qu'elle fournit. La poule généralement considérée comme un des oiseaux les plus anciennement domestiqués en Europe, n'a pas été connue avant l'âge du bronze. Elle est originaire d'Asie où eût lieu sa domestication depuis des temps très anciens et où l'on trouve toutes les espèces sauvages du genre Gallus (Bisimwa, 2003).

La **poule** ou **coq** ou encore **poulet domestique** (*Gallus gallus domesticus*) est une sous-espèce d'oiseau de l'ordre des Galliformes (tableau 1). Cet oiseau est élevé à la fois pour sa chair, pour ses œufs, et parfois pour ses plumes. Il existe de nombreuses races principalement issues de la domestication d'une espèce sauvage particulière, le Coq doré.

Le jeune de la poule est appelé poussin, le pré-adulte mâle est le coquelet puis il devient poulet ; un poulet femelle est une poulette (lien B).

**Tableau 1**: Classification de la poule domestique, Linnaeus 1758 (lien B).

Règne	Animalia	
Embranchement	Chordata	
Classe	Aves	
Ordre	Galliformes	
Famille	Phasianidae	
Genre	Gallus	
Espèce	Gallus gallus	
Sous-espèce	Gallus gallus domesticus	

Cette sous-espèce, bien que d'origine tropicale a une répartition géographique très large, due à l'action de l'Homme. Elle s'adapte à une multitude de milieux, si l'on excepte les hautes latitudes, au-delà du cercle polaire, où les jours sont trop courts en hiver. Les yeux des poules ne leur permettent pas de voir la nuit (absence de bâtonnets), ce qui en fait un animal diurne exclusivement.

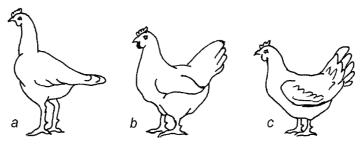
La poule est un animal terrestre, nidifuge, et omnivore ; son alimentation naturelle se composant de petits caryopses, d'invertébrés du sol, de quelques feuilles d'herbacées et de petits cailloux qui servent au broyage des aliments dans le gésier après avoir été imbibé de mucus dans le jabot. Les minéraux absorbés par voie digestive ont une importance dans le processus de fabrication de la coquille des œufs. C'est un animal adapté à la course (trois doigts posés au sol), et volant peu (lien B).

Dans le monde entier, il existe plus de 300 races de poules domestiques. On distingue trois principales catégories : les races purement commerciales, les races hybrides provenant de croisements et les races locales (Van Eekeren et *al.*, 2006).

Les races commerciales se répartissent en fonction de l'objectif principal de leur production :

- ponte d'œufs, généralement des races légères élevées pour leurs œufs, les pondeuses.
- production de viande, des races plus lourdes, les *poulets de chair*.
- à la fois ponte d'œufs et production de viande, les *races mixtes*.

Les races pondeuses, de chair et mixtes se distinguent également en fonction de leur forme (figure 1).



**Figure 1**: Les principales races commerciales de la poule domestique : (a) pondeuses (b) de chair (c) mixtes (Van Eekeren et *al.*, 2006).

Nous distinguons trois formes d'élevage de poules (Van Eekeren et al., 2006) :

- l'élevage extensif
- l'élevage intensif
- l'élevage semi-intensif.

Lorsque les poules sont libres de se déplacer à leur guise à la recherche de nourriture, il s'agit d'un élevage *extensif*. L'investissement en capital et en travail est faible ; le logement des volatiles a peu d'importance.

Les systèmes *intensifs* d'élevage de certaines races regroupent environ 30 % des volailles d'Afrique. On les trouve généralement dans les zones urbaines ou à proximité, ce qui assure un bon débouché pour les œufs et la viande. L'élevage intensif exige davantage d'investissements en capital et en travail, notamment pour l'aménagement de poulaillers et d'enclos en plein air. Dans ce genre d'élevage, les volailles se comptent par milliers, grâce aux recherches en matière d'incubation artificielle, de nutrition et de contrôle des maladies.

Dans les systèmes semi-intensifs, appelés aussi élevages de bassecour, on compte de 50 à 200 volatiles. On y applique de nombreuses techniques et savoir-faire utilisés dans les systèmes intensifs, en les adaptant à l'échelle de l'élevage.

Dans ces deux systèmes de production, l'obtention d'un niveau de production optimale dépend beaucoup du logement des animaux (Van Eekeren et *al.*, 2006).

En Algérie, il y a deux types d'élevage:

#### - L'élevage au sol : Il peut être intensif ou extensif.

#### \* L'élevage intensif

Il se fait pour le poulet de chair soit pour les grands effectifs. Il a pris sa naissance en Algérie avec l'apparition des couvoirs au sein des structures du ministère de l'Agriculture et de la Révolution Agraire (M.A.R.A.) qui a crée l'O.N.A.B [Office National des Aliments du Bétail] et l'O.R.AVI. [Office Régional d'Aviculture de l'Est] (Oravie, 2004).

#### \*L'élevage extensif

Cet élevage se pratique pour les poules pondeuses, il s'agit surtout des élevages familiaux de faibles effectifs, il s'opère en zone rurale. La production est basée sur l'exploitation de la poule locale, et les volailles issues sont la somme de rendement de chaque éleveur isolé. C'est un élevage qui est livré à lui-même, généralement aux mains de femmes, l'effectif moyen de chaque élevage fermier est compris entre 15 et 20 sujets, les poules sont alimentées par du seigle, de la criblure, de l'avoine, et des restes de cuisines. Elles sont élevées en liberté et complètent leur alimentation autour de la ferme. Les poules sont destinées à la consommation familiale ou élevées pour la production des œufs (Belaid, 1993).

#### - L'élevage en batterie

Cet élevage qui a été introduit nouvellement en Algérie se fait pour les poules pondeuses. Il est beaucoup plus coûteux par rapport au premier. L'élevage du poulet convient très bien au climat Algérien. L'état dans le cadre de sa politique de la relance économique encourage au maximum les éleveurs et les coopératives à pratiquer cet élevage, pour diminuer l'importation des œufs de consommation et des protéines animales (Belaid, 1993).

### 3. Organisation de l'appareil digestif

Les volailles présentent de nombreuses particularités anatomiques et physiologiques par rapport aux mammifères. En effet, malgré la très grande hétérogénéité entre les différentes espèces aviaires, l'appareil digestif des volailles reste marqué par l'adaptation au vol, même chez les espèces qui ont perdu cette aptitude. Cette adaptation morphologique et fonctionnelle se trouve au niveau de la totalité des appareils et plus particulièrement l'appareil digestif. Le tube digestif malgré les différences de régime alimentaire est doué d'une grande capacité d'absorption qui permet de découvrir le métabolisme basal élevé de cette espèce (Beghoul, 2006).

Anatomiquement, l'appareil digestif des oiseaux est constitué par : un bec, une cavité buccale dépourvue de dents, un gosier, un œsophage, un jabot, des estomacs sécrétoire et musculaire, l'intestin débouchant dans le cloaque puis l'anus (Villate, 2001). Il comprend bien sûr toutes les glandes annexes: le foie et le pancréas (figure 2).

#### 3.1. Le pharynx

Le pharynx est le carrefour du tube digestif et des voies respiratoires. C'est un organe difficile à délimiter chez les oiseaux (d'ou le nom de buccopharynx). D'un point de vue anatomique, on le limite rostralement à la dernière rangée de papilles filiformes du palais (après les choanes) et de la langue, et caudalement, à l'entrée de l'œsophage, marquée également d'une petite rangée de papilles. Revêtu d'un épithélium muqueux simple, le pharynx est en rapport ventralement avec la trachée par la glotte et dorsalement avec les oreilles moyennes par une fente médiane, orifice commun aux deux trompes d'Eustache (Beghoul, 2006 ; Alamargot, 1982).

#### 3.2. L'œsophage

L'œsophage est un organe tubuliforme musculomuqueux qui assure le transport des aliments de la cavité buccale à l'estomac. Il est situé dorsalement puis à droite de la trachée dans son trajet cervical. Avant de pénétrer dans la cavité thoracique chez certaines espèces dont la Poule et le Pigeon, il se renfle en un réservoir, le jabot. Dans sa portion intra-thoracique, l'œsophage redevient médian et dorsal à la trachée. Il dévie vers la gauche après la bifurcation bronchique (syrinx) puis passe dorsalement aux gros vaisseaux du cœur avec lesquels il adhère quelque peu. Il se termine dorsalement au foie en s'abouchant au proventricule.

L'œsophage est tapissé dans toute sa longueur d'une muqueuse aux plis longitudinaux très marqués. Il possède une musculature longitudinale interne très développée et est très dilatable (Beghoul, 2006; Alamargot, 1982).

#### 3.3. Le jabot

Le jabot est un élargissement de l'œsophage en forme de réservoir situé à la base du cou, au ras de l'entrée de la poitrine. Rudimentaire chez de nombreux oiseaux, il est bien développé chez nos espèces domestiques (sauf chez le Canard). Il se présente chez la Poule sous la forme d'un sac ventral très extensible qui adhère dans sa partie ventrale à la peau et aux muscles sous-cutanés du cou et dans sa partie caudo-dorsale aux muscles pectoraux droits. Sa paroi, qui est très mince, a une musculature (lisse) peu développée mais est riche en fibres élastiques (Beghoul, 2006; Alamargot, 1982).

#### 3.4. Le proventricule ou ventricule succenturie

Le proventricule est situé légèrement à gauche dans la cavité abdominale, ventralement à l'aorte, dorsalement au foie qui l'enveloppe partiellement .C'est un renflement fusiforme (de 3 cm de long en moyenne chez la Poule) dont la muqueuse est très riche en glandes à mucus. La paroi interne ; très épaisse, est formée de lobules dont chacun constitue une glande composée radialement à l'axe de l'organe. Ces glandes en tube se jettent dans un canal commun à plusieurs glandes et se déverse dans la lumière du proventricule au sommet d'une proéminence bien marquée. La paroi du ventricule des carnivores et des piscivores est moins épaisse et plus riche en fibres musculaires et élastiques. Elle est alors très extensible. Le transit des aliments ne dure que quelques minutes dans le proventricule (Beghoul, 2006 ; Alamargot, 1982).

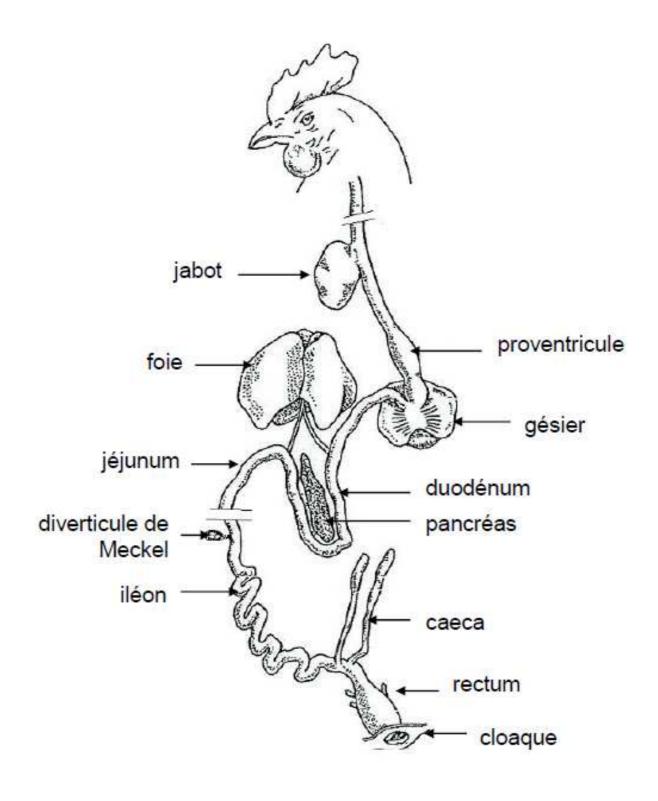


Figure 2: Appareil digestif du poulet (Gadoud et *al.*, 1992)

#### 3.5.Le gésier

Le gésier est l'organe compact le plus volumineux de la poule (6 à 8 cm de long, avec un poids d'environ 50 gr vide et 100 gr plein). Il est situé légèrement à gauche dans la cavité abdominale, partiellement coiffé par le foie sur son bord crâniale. Le gésier est toujours beaucoup plus caudal qu'on ne se l'imagine ; il est facilement palpable au travers de la paroi abdominale. De forme sphéroïde, il est en communication crânialement avec le proventricule et crâniomédialement avec le duodénum. Sa cavité est sacculaire. Il est très musculeux chez les granivores (la Poule) et chez les herbivores (l'Oie). Ses deux muscles principaux s'unissent de chaque coté de l'organe par deux surfaces tendineuses nacrées : les centres tendineux. Le gésier est rattaché au sternum et à la paroi abdominale par le ligament ventral ou mésentère ventral, au foie par le ligament gastrohépatique et à la paroi dorsale de l'abdomen par le mésogaster. Il partage longitudinalement la cavité abdominale en deux compartiments ce qui lui a valu parfois le nom de diaphragme vertical (Beghoul, 2006 ; Alamargot, 1982).

#### 3.6.Le duodénum

Le duodénum est la portion de l'intestin qui fait suit l'estomac. Il débute au pylore puis forme une grande anse qui enserre le pancréas. Cette anse est la partie la plus ventrale de l'intestin dans la cavité abdominale. Elle contourne caudalement le gésier et dorsalement elle est en rapport avec les caecums. Le duodénum reçoit deux ou trois canaux pancréatiques et deux canaux biliaires au niveau d'une même papille. L'emplacement de cette papille marque la fin du duodénum et le début de l'iléon (Villate, 2001 ; Alamargot, 1982).

#### Il est divisé en deux parties

- L'une proximale qui est la plus importante : tractus du Meckel. Petit nodule, est parfois visible sur le bord concave de ses courbures.
- L'autre distale qui s'appelle l'anse supraduodénale (Villate, 2001; Alamargot, 1982).

#### 3.7. L'iléon

Il est court et rectiligne, son diamètre et sa longueur sont variables en fonction des espèces (Villate, 2001; Alamargot, 1982).

#### 3.8.Les caecums

Un caecum se présente comme un sac qui débouche dans le tube intestinal à la jonction de l'iléon et du rectum au niveau d'une valvule iléocæcale. Lorsqu'ils existent, ils sont toujours pairs, ils sont accolés à la parie terminale de l'iléon par un méso. Ils sont en rapport ventralement avec l'anse duodénale et dorsalement avec la portion moyenne de l'iléon. Bien développés chez la Poule, ils sont petits chez le Canard et l'Oie. Absents chez les perroquets, les rapaces diurnes, et les pigeons (Villate, 2001 ; Alamargot, 1982).

#### 3.9. Le rectum

Le rectum fait suite à l'iléon et débouche dans le cloaque. Le diamètre du rectum est à peine plus grand que celui de l'iléon. A l'inverse des mammifères, le rectum des oiseaux présente des villosités. Le rectum réabsorbe l'eau de son contenu (fèces et urines), ces fonctions lui ont valu parfois le nom de colorectum (Beghoul, 2006; Alamargot, 1982).

#### 3.10. Le cloaque

Le cloaque est la partie terminale de l'intestin dans laquelle débouchent les conduits urinaires et génitaux. Il est formé de trois régions séparées par deux plis transversaux plus ou moins nets (Beghoul, 2006) :

#### a. Le coprodéum

Il est large et collecte les excréments, c'est une dilatation terminale du rectum, la portion la plus crâniale du cloaque. C'est dans le coprodéum que s'accumulent les fèces et les urines avant leur émission.

#### b. L'urodéum

Il est plus petit, c'est le segment moyen du cloaque. Il reçoit les conduits génitaux et urinaires, dans sa paroi dorsale débouchent les deux uretères. Ainsi que les deux canaux déférents chez les mâles ou l'oviducte chez les femelles.

#### c. Le proctodéum

Résulte d'une dépression de l'ectoderme embryonnaire et s'ouvre à l'extérieur par l'anus C'est le segment caudal du cloaque. Chez quelques espèces, il renferme ventralement un pénis. Chez tous les jeunes oiseaux, il est relié dorsalement à la bourse de Fabricius avec la quelle il peut communiquer par un canal. Le cloaque s'ouvre à l'extérieure par l'orifice cloacal : fente verticale fermée par deux lèvres horizontales (Villate, 2001 ; Alamargot, 1982).

#### 3.11. Les glandes annexes

#### a. Le pancréas

Le pancréas est une glande amphicrine (endocrine et exocrine), compacte, blanchâtre ou rougeâtre, enserrée dans l'anse duodénale. Le pancréas est issu de trois ébauches séparées qui se constituent en deux lobes (un lobe ventral et un lobe dorsal). Le suc pancréatique se déverse dans le duodénum par deux ou trois canaux qui s'abouchent au même niveau que les canaux hépatiques (Beghoul, 2006; Alamargot, 1982).

#### b. Le foie

Le foie est un organe volumineux rouge sombre. C'est la glande la plus massive de tous les viscères (33 gr environ chez la poule). Le foie repose sur le sternum, il est séparé des parois thorco-abdominales par les sacs aériens. Il est soutenu par quatre ligaments (falciforme, coronaire, gastrohépatique et hépatoduodénal). Sa face ventro-médiale porte les impressions splénique, stomacale et intestinale. Le foie est constitué de deux lobes réunis par un isthme transversal qui renferme partiellement la veine cave caudale. Le lobe gauche plus petit que le lobe droit, il est généralement marqué d'un sillon longitudinal qui délimite le lobe accessoire du lobe gauche. Dans leur portion crâniale, les deux lobes entourent complètement les ventricules du coeur. Les deux lobes déversent la bile, par deux conduits séparés. Le canal du lobe gauche (canal hépatique gauche) s'abouche directement dans l'intestin. Le canal du lobe droit (canal hépatique droit) se renfle d'abord en vésicule biliaire (sauf chez le Pigeon, certains Perroquets et l'Autriche) avant de se jeter dans le duodénum. Il porte le nom de canal cholédoque (Beghoul, 2006; Alamargot, 1982).

#### 4. L'aviculture en Algérie

Ces dernières années, la filière avicole algérienne a atteint un stade de développement qui lui donne une certaine visibilité dans l'économie nationale en général [0,77% de la Production Intérieure Brute Nationale] et une place significative dans l'économie agricole [9,84 % de la Production Intérieure Brute Agricole] (Rachid, 2011).

En 2007, la filière avicole en Algérie a réalisé un chiffre d'affaires de 86 milliards de dinars (1,3 milliard de dollars) et une valeur ajoutée brute de 300 millions de dollars. Ceci représente une partie importante de la richesse agricole nationale, assurant en retour des revenus à une importante fraction de la population. Les productions, selon les statistiques officielles de 2009, auraient dépassé les 209 000 tonnes et 3,80 milliards d'unités, consécutivement pour les viandes blanches et les œufs de consommation.

Sur le plan organisationnel, depuis 1988, comme le reste des filières agroalimentaires, les modes d'organisation de la filière avicole intensive ont connu des transformations. L'ouverture du marché avec la levée du monopole sur le commerce extérieur en 1995 a entraîné l'apparition d'une multitude d'intervenants qui ont investi tous les niveaux d'activité de la filière. En Algérie, la filière avicole évolue depuis 1988 dans un environnement en transition marqué par un passage d'une économie planifiée à une économie de marché, une phase de transformation et de restructuration et une remise en cause des règles de fonctionnement et de gestion des systèmes productifs nationaux. La filière en question constitue toutefois le cas le plus typique en matière d'extraversion. En effet, les facteurs de production sont importés, les enveloppes qui lui sont consacrées annuellement sont très importantes avec, pour le seul poste matière première destinée à la fabrication des aliments (maïs et le soja), la valeur moyenne actuelle des importations dépasse un milliard de dollars.

Sur le plan de la consommation alimentaire, l'Algérien demeure, avec 6 Kg de viande de poulet par an, parmi les plus faibles consommateurs, loin derrière l'Européen avec ses 13,5 Kg, 18,7 Kg pour le Sud - américain et 35,1 Kg pour le Nord – américain (lien C). L'importance de ce sous-secteur agroalimentaire dans les importations des facteurs de production incite donc à s'y intéresser plus en détail.

Le modèle d'élevage adopté est celui qui domine à l'échelle mondiale, à savoir un modèle avicole intensif basé sur le recours aux technologies et aux intrants avicoles industriels importés. Cette politique s'appuyait sur les métiers de base (production des produits vétérinaires et des additifs). Il a précisé par ailleurs que l'Algérie ne dispose pas d'une industrie d'équipements avicoles, d'où la dépendance vis-à-vis des marchés extérieurs. La filière avicole est actuellement désarticulée et nécessite la mise en place de nouvelles formes d'intervention qui viseraient notamment la stimulation de la production et la réduction des coûts de production, la régulation de la filière et la réduction des dépenses en devises (Lien D).

# CHAPITRE II: la coccidiose aviaire

#### 1. Définition

La coccidiose est une protozoose causée par le développement et la multiplication spécifique dans les cellules épithéliales (tube digestif, foie, rein) d'un protozoaire pathogène communément appelé *coccidie* de la famille des *Eimeriidae*. Ce sont des parasites obligatoires appartenant au phylum des apicomplexes ou sporozoaires, un groupe d'agents pathogènes de haute importance économique, vétérinaire et médicale, comprenant entre autres *Toxoplasma gondii*, l'agent de la toxoplasmose et *Plasmodium falciparum*, un des agents du paludisme (Naciri and Brossier, 2008; Conway and McKenzie, 2007; Allen and Fetterer, 2002; Page and Kim Haddad, 1995).

L'éclosion des coccidioses animales est surtout liée au mode d'élevage qui crée des conditions favorables à l'évolution des coccidies. Les espèces animales principalement concernées sont : la poule, le lapin, les petits ruminants, les bovins, le chien et le chat (lien E).

Dans le cas des coccidioses aviaires, chaque espèce de parasite est spécifique à une espèce de volaille. Chez le poulet, les coccidies appartiennent au genre Eimeria et provoquent une infection qui se caractérise cliniquement par des formes variées : les formes graves se traduisent par des troubles digestifs (diarrhée hémorragique le plus souvent mortelle), mais il existe également des formes sub-cliniques qui se traduisent par des baisses de production et ont une incidence plus économique que médicale (Chermette and Buisseras, 1992). Une infection par les coccidies est dite coccidiase lorsqu'elle ne provoque pas de manifestations cliniques apparentes de la maladie contrairement à la coccidiose (Conway and McKenzie, 2007).

#### 2. Etiologie

Les apicomplexes observés pour la première fois par Levine en 1970, sont des parasites intracellulaires obligatoires regroupant diverses organismes, tel que les coccidies, gregarines, piroplasmes, haemogrégarines et malaria. Les membres de ce large et hétérogène groupe sont communs, pas nécessairement dans leur biologie et/ou leur cycle de vie, mais par la présence d'un unique « complexe apical », composé de structures appelés cycles polaires, microtubules subpélicullaires, rhopries, micronèmes, et conoïde (figure 3), mais également des organelles subcellulaires, observées uniquement par microscope électronique. La fonction de ces différents éléments consiste à pénétrer les cellules et les tissus de l'hôte (Menard, 2007; Page and Kim Haddad, 1995).

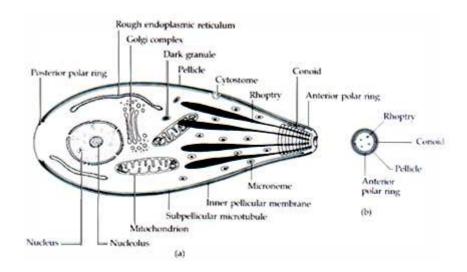


Figure 3 : Représentation générale de la cellule des Apicomplexes (Lien).

Il existe 5 genres de coccidies qui ont des caractéristiques différentes (tableau 2). Chez la volaille, les coccidies font partie du genre Eimeria (Levine et *al.*, 1980; Kreier and Baker, 1987); c'est depuis Rivolta eut découvert en 1869 chez la poule un parasite, qu'Eimer, en 1870 estima être une coccidie. Les recherches de Theiler et Jones, celles de Johnson poursuivies de 1923 à 1932, montrèrent qu'il existe des espèces distinctes d'Eimeria; cependant la spécificité d'une coccidie pour son hôte est stricte (lesbougries, 1965; Mekalti, 2003).

**Tableau 2** : Caractères distinctifs des différents genres de coccidies (Reid et *al.*, 1978 ; Mekalti, 2003).

Genre	Nombre de sporozoïtes dans le sporocyste	
Eimeria	4 sporocystes avec 2 sporozoïtes dans chaque sporocyste	
Isospora	2 sporocystes avec 4 sporozoïtes dans chaque sporocyste	
Wenyonella	4 sporocystes avec 4 sporozoïtes chacun	
Tyzzeria	1 seul sporocyste contenant 8 sporozoïtes	
Cryptosporidium	4 sporozoïtes libres dans l'oocystes, pas de sporocyste	



**Figure 4:** Classification du genre Eimeria (Lien F et G).

On distingue chez la poule neuf espèces de coccidies qui montrent une grande variation dans leur pathogénie [Duszynski et al., 2000; Euzeby 1987; Répérant, 2001; Azzag, 2001] (annexe 1), dont cinq sont jugées d'une importance majeure : Eimeria tenella, E.acervulina, E.necatrix, E. brunetti, et E. maxima. Et deux sont moins importantes : E. mitis, E. praecox (VLI, 2001; Conway and McKenzie, 2007). De plus, deux autres espèces sont mentionnées dans la littérature : E. hagani et E. mivati qui restent d'une validité douteuse. Des études supplémentaires doivent être approfondies sur l'importance des deux espèces (Conway and Mckenzie, 2007).

Ces différentes coccidies peuvent être identifiées en fonction de leur localisation intestinale, des lésions induites et de la taille de leurs oocystes (figure 9). 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 (annexe 1).

De nouvelles méthodes immunologiques et moléculaires sont désormais utilisées pour la différenciation des espèces (Morgan et *al.*, 2009 ; Haug et *al.*, 2007 ; Morris and Gasser, 2006). La détermination de leurs proportions au niveau des élevages devrait permettre de mieux appréhender le risque de coccidiose (Reperant et *al.*, 2003).

### 3. Structure et morphologie du parasite

Les coccidies sont des protozoaires unicellulaires; leurs manifestations vitales se résument par leur métabolisme et leur fonction de reproduction (Fritzsche and Gerriet, 1965). Elles sont dépourvus d'organites périphériques, ne présentent ni pseudopodes ni flagelles ni cils vibratiles et sont ainsi immobiles pendant tout leur développement sauf pour le stade microgamète flagellé; leur protoplasme ne montre ni vacuoles alimentaires ni vacuoles pulsatiles. Ces microorganismes ont une très grande simplification morphologique et pourtant leur cycle biologique est assez compliqué (Lamy, 1980).

Chez le poulet, les différentes espèces Eimeria passent pendant le cycle de développement par trois formes morphologiques (Bouhelier, 2005):

- La forme extracellulaire statique : l'oocyste ;
- Les formes extracellulaires mobiles : les sporozoïtes, les mérozoïtes et les microgamètes ;
- Les formes intracellulaires, dans leur vacuole parasitophore : les trophozoïtes, les schizontes, les mérontes, le microgamonte et le macrogamonte.

#### 3.1. L'oocyste

#### 3.1.1. Oocyste non sporulé

La forme libre d'*Eimeria* spp. est l'oocyste. L'oocyste non sporulé (figure 6), dans le milieu extérieur, évolue en quelques jours vers la forme sporulée infectante.

Il est ovoïde, d'une taille de 23 x 19  $\mu m$ . Il est incomplètement rempli par une seule cellule globuleuse : le sporonte dont le noyau est peu visible.

La paroi oocystale est imperméable et très résistante aux agents chimiques. Elle se compose de 67% de peptides, 14% de lipides et 19% de glucides. Les protéines sont constituées de répétition de sous-unités d'approximativement 10 kDa, il s'agit de protéines soufrées (Stotish, 1978, Ming-Hsein and Hong-Kein, 2008). La réduction de groupe thiol perturbe la superstructure des protéines entraînant l'ouverture du micropyle et donc modifie le caractère d'imperméabilité de l'oocyste sporulé (Jolley et *al.*, 1976). Ses composants s'organisent en deux membranes :

- Une enveloppe interne de 10nm d'épaisseur, de nature lipoprotéique, résistante et imperméable aux substances hydrosolubles ;
- Une enveloppe externe, lisse, de 90nm d'épaisseur, de nature glycoprotéique, assez fragile. Elle est limitée par une suture linéaire, qui n'a pas été documentée jusqu'ici, et qui semble joue un rôle dans le processus infectieux (Mouafo et *al.*, 2000).



**Figure 5**: Oocystes non sporulés observés sous microscope optique (Grossissement x40).

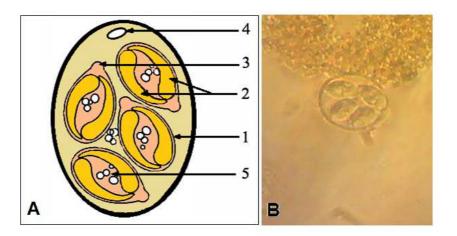
#### 3.1.2. L'oocyste sporulé

L'oocyste sporulé d'Eimeria (figure 6) contient quatre sporocystes (le sporocyste étant une seconde enveloppe de protection) contenant chacun deux sporozoïtes (les éléments invasifs).

Le sporocyste peut présenter un léger renflement au niveau de sa partie apicale : c'est le corps de Stieda.

Un globule réfringent est parfois présent dans la partie apicale de l'oocyste.

Des corps résiduels peuvent être présents dans l'oocyste et dans les sporocystes. Ils contiennent des granules d'amylopectine et une vacuole lipidique (Bouhelier, 2005).



**Figure 6 : A :** Représentation d'un oocyste sporulé [lien H], (1) Sporocyste - (2) Deux sporozoïtes - (3) Corps de Stieda - (4) Globule réfringent - (5) Corps résiduels.

**B**: Image d'un oocyste sporulé (contenant quatre sporocystes) observé sous microscope optique (grossissement x40).

#### 3.2.Le sporozoïte d'Eimeria

Les éléments invasifs mobiles sont le sporozoïte et le mérozoïte.

Le sporozoïte est en forme de croissant, aux extrémités inégales. Comme dans toute cellule, on trouve un noyau, des mitochondries, un appareil de Golgi, des ribosomes, des vésicules d'amylopectine.

Le noyau est excentré, avec une formation granuleuse basale (le corps réfringent) et des granulations dispersées dans la partie apicale. Le nucléole y est bien visible uniquement après l'infection (Pacheco et *al.*, 1975).

Le complexe apical est formé du conoïde, des micronèmes et des rhoptries.

Le conoïde est une structure apicale jouant un rôle mécanique dans la pénétration du parasite dans la cellule hôte.

Les micronèmes, localisés à l'extrémité apicale des stades invasifs ont une activité sécrétoire. Ils renferment des protéines importantes qui interviennent dans la motilité du parasite, la pénétration et la vacuolisation.

Les rhoptries élaborent des enzymes.

L'anneau polaire, également apical, intervient dans la mobilisation du conoïde.

Les microtubules sont des formations situées sous la membrane interne, fixées en leur partie apicale à cet anneau polaire et ayant une extrémité postérieure libre. De nature protéique, elles jouent un rôle dans la pénétration du parasite dans la cellule.

Le micropore est une ouverture latérale correspondant à une invagination du plasmalème, luimême constitué de deux membranes, une interne et une externe.

Les corps réfringents contiennent du matériel lipidique jouant probablement un rôle dans l'incorporation de la vacuole parasitophore dans la cellule infestée (Augustine, 2001).

#### 3.4. Le Trophozoïte

Trophozoïte: vient du grec trophein, action de nourrir.

Une fois dans la cellule, au sein de sa vacuole parasitophore, le sporozoïte se transforme en trophozoïte. Il est proche du sporozoïte. Il est fusiforme et comporte des organelles typiques du sporozoïte extracellulaire, des rhoptries et des micronèmes, mais sans complexe apical. On observe des hétérochromatines diffuses et périphériques (Pacheco et *al.*, 1975).

#### 3.5. Le schizonte primaire

Il est arrondi avec un noyau, un corps réfringent, des mitochondries et un réticulum endoplasmique (Kawazoe et *al.*, 1992).

#### 3.6. Le mérozoïte

Il ressemble aux sporozoïtes mais ne contient pas de corps réfringents. Des inclusions linéaires sont présentes près du noyau et dans le corps résiduel, dans lequel on retrouve des ribosomes et des vacuoles rondes. Des nucléoles sont bien visibles, et alors qu'elles avaient diminué dans les autres stades, on retrouve des hétérochromatines périphériques et diffuses.

Des épitopes communs aux mérozoïtes et aux sporozoïtes ont été mis en évidence (Kawazoe et al., 1992). Les épitopes des micronèmes des sporozoïtes sont conservés dans les mérozoïtes de seconde génération. Un polypeptide de 100 kDa est retrouvé à la fois dans les sporozoïtes et les mérozoïtes de première génération. Les épitopes des membranes et des rhoptries, quant à eux, sont plus spécifiques des sporozoïtes. Une protéine nommée Et-mic. a été isolée dans les micronèmes des sporozoïtes et des mérozoïtes. Elle est compatible avec la formation de novo des micronèmes au cours de la sporulation et de la schizogonie (Tomley et al., 1996).

Les mérozoïtes de 3ème génération sont plus courts et plus fins que ceux de 2ème génération. Ils sont attachés au corps résiduel du schizonte (Madden and Vetterling, 1978).

#### 4. Cycle de développement de l'espèce Eimeria

Le cycle des coccidies est identique quelle que soit l'espèce considérée; il comprend deux phases, 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 *diphasique monoxène direct* (Banfield and Forbes, 1999; Villate, 1997).

Les coccidies passent par deux phases de développement, commençant et se terminant par l'oocyste coccidien (SA, 1976) :

La phase exogène : elle correspond à la maturation de l'oocyste émis dans les fientes des sujets parasités, c'est la sporulation ou sporogonie.

La phase endogène: elle débute par l'ingestion de l'oocyste infestant puis libération et pénétration des sporozoites 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 males 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 (Villate, 2001; Kennedy, 1996).

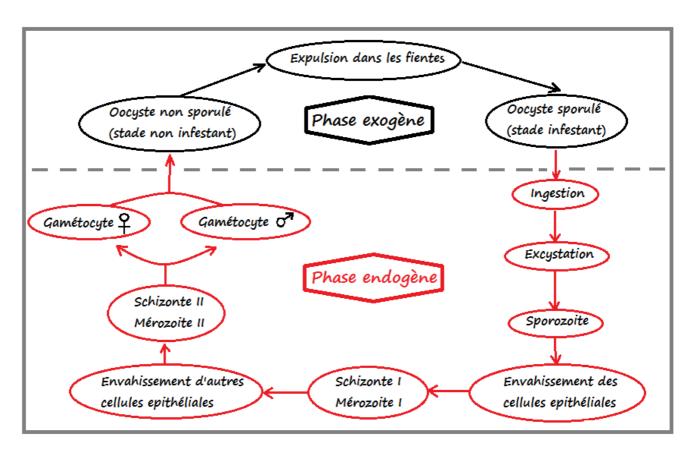


Figure 7 : Schéma général du cycle évolutif de l'espèce Eimeria.

Les mécanismes biochimiques et génétiques qui contrôlent le développement d'*Eimeria* spp. au sein de la cellule hôte restent inconnues. Cependant, des études sur la résistance précoce aux médicaments des lignes d'*E. tenella* (Silversides and Remus, 1999; Smith, 1997) ont défini deux groupes de gènes localisés aux niveau du chromosome 1 et 2 du parasite; De nouveaux loci identifié sont impliqués dans la régulation du cycle de vie d'Eimeria (Shirley and Harvey, 1996 et 2000). D'autres études ont découvert le gène « ets3a » dont l'expression est régulée au cours du développement et qui semble jouer un rôle important dans la régulation du cycle de vie d'*Eimeria* spp. (Ouarzane et *al.*, 1998).

#### 4.1.Phase exogène (la sporogonie)

#### 4.1.1. L'oocyste non sporulé

L'oocyste qui vient de se former contient le zygote, résultat de la fécondation ; celui-ci occupe presque la totalité du volume de l'oocyste, puis le cytoplasme se condense ménageant un espace entre la cellule et la paroi de l'oocyste ; cette condensation du cytoplasme du zygote est déjà réalisée lors du rejet des oocystes dans les fientes ou durant les premières 24h ; cependant pour des raisons inconnues seule une petite partie d'oocystes émis ne subit pas cette condensation (Euzeby, 1987).

#### 4.1.2. La sporulation

C'est l'évolution nécessaire pour le passage d'un stade non infestant à un stade infestant ; dans des conditions d'environnement favorables, l'oocyste devient infestant en 2 à 3 jours (Naciri, 2000 ; Hampson, 1989).

Le zygote étant diploïde, la sporulation débute par une première division nucléaire réductionnelle, suivie d'une deuxième division pour former quatre sporoblastes haploïdes (division réductionnelle par méiose), qui changent de forme pour former des sporocystes (figure 8); deux sporozoites se forment dans chacun des 4 sporocystes, et l'on obtient alors l'oocyste sporulé infestant (Naciri, 2000).



**Figure 8** : Oocyste en cours de division (sporogonie).

L'obtention d'un oocyste infectant (sporulé) dépend des conditions suivantes :

#### - L'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 (Bussieras and Chenette, 1992).

La sporulation est inhibée dans les milieux en putréfaction et en fermentation ; la présence de bactéries en abondance dans l'environnement empêche la sporogonie, c'est la raison pour la quelle les antiseptiques usuels non seulement ne gênent pas la sporulation mais encore, en détruisant les bactéries la favorisent.

In vitro, on provoque la sporulation des oocystes en les mettant en suspension dans de l'eau formolée (1%) ou dans une solution de bichromate de potassium (2%), qui en plus de son pouvoir antiseptique a des propriétés oxydantes (Euzeby, 1987).

#### - Humidité

L'humidité relative minimale est de 30% et optimale à 80%; dans les parquets d'élevage intensif de la volaille, 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 (Bussieras and Chenette, 1992; Euzeby, 1987).

#### - Température

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

#### - Espèce coccidienne

Dans des conditions de milieux identiques, chaque espèce de coccidie sporule en un temps donné (tableau 3) ; cela peut être l'un des critères d'identification des différentes espèces. La vitesse de sporulation semble avoir un lien avec la taille de l'oocyste ; plus celle-ci augmente et plus la durée de sporulation est importante (Euzeby, 1987).

#### 4.1.3. L'oocyste sporulé

Il représente la forme de résistance du parasite dans le milieu extérieur ainsi que sa forme de contamination et de dissémination (Yvoré, 1992). Si des températures extrêmes ou une dessiccation prolongée diminuent le taux de sporulation des oocystes rejetés dans un environnement inhospitalier, les oocystes sporulés présentent cependant une résistance et une longévité exceptionnelle dans le milieu extérieur, ou ils peuvent survivent à une période de un à deux ans ; cependant, avec le temps leur pouvoir pathogène diminue (Euzeby, 1987).

L'oocyste sporulé est la forme infestante du parasite; son ingestion par une espèce sensible déclenchera son cycle de vie. D'autre part, ce sont essentiellement les caractéristiques morphologiques de l'oocyste sporulé qui permettent l'identification des différentes espèces (taille, forme, présence ou non d'un micropyle, d'une calotte polaire, d'un corps de Steida, d'un corps résiduel dans le sporocyste...etc. (Kucera, 1989)

**Tableau 3 :** Temps de sporulation de chaque espèce d'Eimeria (Reid et al., 1978).

Espèce	Temps de sporulation	Espèce	Temps de sporulation
E. tenella	2 à 5 jours	E. acervulina	1 à 2 jours
E. maxima	2 jours	E. praecox	2 jours
E. mitis	2 jours	E. necatrix	2 jours
Eimeria hagani	1 à 2 jours	E. brunetti	1 à 2 jours
Eimeria mivati	11 à 12 h		

#### 4.2.Phase endogène

#### 4.2.1. Excystation

Une fois le parasite ingéré par un hôte réceptif, le processus d'excystation débutera par une fragilisation des parois des oocystes de façon mécanique dans les parties antérieures du tube digestif, essentiellement au niveau du gésier où le broyage des aliments contaminés permet la libération des sporozoites (figure 9).

Cette hypothèse est en contradiction avec Cumming qui a observé chez des poulets nourris avec des graines entières une destruction mécanique des oocystes et dont les sporozoites ne pourraient atteindre leur site d'infection (Crevieu and Naciri, 2001). De plus, une contamination à E. tenella de sujets ayant subit une ablation du gésier développent une maladie similaire à des sujets témoins (Guyonnet et *al.*, 1989).

Le processus d'excystation est complété par des phénomènes biochimiques, en anaérobiose (pression du CO<sub>2</sub>) et sous l'effet de la bile (Rose and Hesketh, 1983) ; le micropyle de l'oocyste s'ouvre libérant ainsi les sporocystes ; sous l'action de la trypsine pancréatique, le corps de Stieda se lyse permettant l'émergence des sporozoites (figure 9). La sortie de ces derniers est due à l'action conjuguée de leur mobilité propre stimulée par les sels biliaires et la pression osmotique produite par l'hydrolyse de l'amylopectine contenue dans le corps résiduel du sporocyste. Chez E. tenella, la pression du dioxyde de carbone semble être le premier stimulus de l'excystation en activant les enzymes des sporozoites modifiant ainsi la perméabilité du micropyle (Guyonnet et *al.*, 1989).

Tous les sporocystes ne libèrent pas immédiatement leurs sporozoïtes. Une étude montre que des sporocystes sont dans les cœcums une heure après l'ingestion. Le nombre de sporocystes dans les cœcums est important puis ne cesse de décroître alors que le nombre de sporozoïtes augmente et reste élevé jusqu'à 12 heures post-infection (Shiotani et *al.*, 1992).

#### 4.2.2. Transport

Les observations de Challey et *al.*, en 1959, de Doran en 1966 et Michael en 1976, indiquent que les sporozoïtes d'*E. acervulina*, *E. necatrix*, et *E. tenella* sont transportés de la lumière de l'intestin vers les cryptes à travers la lamina propria par des cellules ressemblant à des macrophages (Fernando, 1983). En fait, les cellules hôtes responsables du transport des sporozoïtes d'*E. tenella* depuis la surface de l'épithélium vers les cryptes ne sont pas des macrophages mais de lymphocytes granuleux intra-épithéliaux [IEL] (Lawn et *al.*, 1982).

Les lymphocytes intra-épithéliaux gagnent la lamina propria vers les cryptes glandulaires et traversent une nouvelle fois la membrane basale. Les sporozoïtes peuvent alors infester les entérocytes des cryptes (Trout and Lillehoj, 1993 et 1995).

En utilisant des anticorps monoclonaux ciblant les leucocytes du poulet, il a été précisé que la plupart des sporozoïtes sont détectés à l'intérieur des lymphocytes T CD8+. Une déplétion de la population de CD8+ chez des poulets entraine une diminution de l'excrétion d'oocystes de 55% lors d'infestation primaire par *E. acervulina* ou *E. tenella*. Ces données confirment le rôle des IEL, et plus particulièrement des CD8+ dans le transport des sporozoïtes (Trout and Lillehoj, 1996).

#### 4.2.3. Invasion d'une cellule hôte

Chaque espèce coccidienne a une localisation spécifique dans un segment intestinal bien ciblé (tableau 5) et colonise soit les cellules épithéliales de surface soit les cellules des tissus sous jacents (Bussieras and Chenette, 1992). Les raisons de cette spécificité de site sont encore mal connues (Jeurissen et *al.*, 1996).

In vitro, l'invasion cellulaire par *E. tenella* est significativement plus importante dans des cultures cellulaires de cellules de cæcum de poulet, comparé à des cultures cellulaires de reins de poulet (Augustine, 2001). Cette spécificité de site semble déterminée à la fois par certaines propriétés du site lui-même, et par des molécules de surface du parasite.

L'invasion en elle-même se résume en trois phases :

- L'attachement ;
- L'induction de la vacuole parasitophore ;
- La translocation du parasite dans la vacuole.

#### a. L'attachement

La spécificité de site, dont les sporozoïtes font preuve lors de l'invasion *in vivo*, suggère des interactions entre la cellule hôte et le parasite. La cellule hôte présente des caractéristiques grâce auxquelles les sporozoïtes les reconnaissent et interagissent avec elle. Des molécules de surface des cellules de l'épithélium intestinal agissent alors comme récepteurs ou sites de reconnaissances (Augustine, 2001). La mise en évidence plus spécifique de ces récepteurs a été permise grâce au transport d'antigène parasitaire vers des molécules de surfaces spécifiques des cellules hôtes.

Par ailleurs, les mêmes épitopes ont été trouvés en surface d'*E. tenella* et en région apicale de l'épithélium du cæcum. Ainsi, l'anticorps monoclonal 1209-C2 réagit de façon croisée avec des cellules de cæcum de poulet ainsi qu'avec les corps réfringents de 5 espèces d'Eimeria (Beyer et *al.*, 2002).

Les micronèmes jouent également un rôle dans la reconnaissance de la cellule hôte et dans leur attachement à celle-ci. De nombreux éléments laissent supposer leur intervention dans la phase d'adhésion (Dubremetz et *al.*, 1998) :

\* Leurs protéines renferment des domaines constants, thrombospondine-like, impliquées dans le transport vers les glycoconjugués sulfatés et l'attachement aux chaînes de glycosaminoglycane.

\* Certaines protéines, notamment la protéine Et-mic5, possèdent des domaines analogues au domaine d'adhésion du facteur XI de la coagulation et à la pré-kallicréine plasmatique (Brown et *al.*, 2000 et 2001).

Les propriétés d'adhésion de ces molécules ont bien été démontrées. Ces protéines sont répandues à la surface du parasite et/ou de la cellule hôte pendant tout le processus d'invasion de plusieurs apicomplexes et notamment des *Eimeria* spp (Tomley et *al.*, 1991). Elles sont sécrétées à partir du pôle apical lorsque les sporozoïtes sont mis en présence, *in vitro*, de cultures cellulaires. Elles forment une coiffe en arrière, sur la surface du parasite, puis sont déposées depuis cette extrémité postérieure sur la cellule hôte sous-jacente (Bumstead and Tomley, 2000). Ainsi, une protéine nommée ET-mic2 (*Eimeria tenella* micronème 2), a été découverte dans les micronèmes. Cette protéine est ensuite transloquée à la surface du parasite puis elle se concentre au point d'entrée du parasite, sécrétée à partir de l'interface hôte-parasite, pendant l'invasion de la cellule hôte (Tomley et *al.*, 1996).

Lorsque l'on met en présence les sporozoïtes et la cytochalasine C qui empêche la polymérisation de l'actine, on s'aperçoit que les protéines des micronèmes continuent à être sécrétées mais elles ne s'organisent plus à l'extrémité postérieure du parasite. Ceci permet d'émettre l'hypothèse qu'elles fonctionnent aussi comme liguant entre la surface des cellules cibles et le cytosquelette responsable de la motilité du parasite (Bumstead and Tomley, 2000).

#### b. Formation d'une vacuole parasitophore

Le cytosquelette du parasite se désorganise. La membrane cellulaire des cellules épithéliales de surface s'invagine. C'est le début de la formation d'une vacuole parasitophore dans le cytoplasme de la cellule hôte. Les rhoptries du sporozoïte interviennent dans la formation de cette vacuole en y déchargeant leur contenu (Dubremetz et *al.*, 1998).

La membrane des vacuoles parasitophores dérive de la membrane plasmique des cellules hôtes. Peu après la pénétration du parasite, l'organisation morphologique et fonctionnelle ainsi que la composition chimique de la membrane de la vacuole changent complètement (Entzeroth et *al.*, 1998). Les protéines sont sélectivement éliminées et remplacées par des protéines parasitaires (Beyer et *al.*, 2002). Notamment, les protéines cellulaires nécessaires à toute fusion sont éliminées. Ainsi, les vacuoles parasitophores sont incapables de fusionner avec les liposomes ou toute autre vésicule. Cette vacuole est un système dynamique, variable selon les stades de développement endogène, les granules denses induisent le remodelage de cette vacuole en un compartiment métaboliquement actif.

#### c. Pénétration dans la vacuole

Des études de la motilité des sporozoïtes coccidiens ont démontré l'existence d'un système contractile capable de bouger certains composants membranaires, propulsant le parasite vers l'avant. Les modes d'invasion d'*E. tenella* et *E. acervulina* ont été examinés grâce à la microscopie électronique à balayage et à transmission. Les inhibiteurs de la motilité inhibent l'invasion sans pour autant agir sur l'attachement.

Les observations ultrastructurelles révèlent une association membrane-membrane forte durant toute la phase d'invasion, ce qui permet de suggérer que le parasite pénètre dans la vacuole parasitophore par redistribution polaire. Une étude confirme que les corps contractiles ont un rôle dans l'invasion cellulaire (Augustine, 2001).

## 4.2.4. Multiplication

Le mode principal de reproduction chez les Protozoaires est la reproduction asexuée, mais la reproduction sexuée est également commune. La reproduction asexuée est énergétiquement plus économique. Cependant, elle ne permet qu'une faible variabilité génétique à l'intérieur des lignées, ce qui réduit la rapidité avec laquelle celles-ci peuvent évoluer. Seules les mutations permettent de modifier leur patrimoine génétique. Leur grand pouvoir reproductif et leur cycle de vie rapide leur permettent toutefois de s'adapter assez rapidement pour ne pas être éliminés par sélection naturelle. Chez les Protozoaires du genre Eimeria, les deux types de reproduction se succèdent au cours de la phase endogène. On trouve d'abord la reproduction asexuée par fission multiple ou schizogonie puis la reproduction sexuée ou gamétogonie (Bouhelier, 2005).

## a. Schizogonie

Dans l'entérocyte infesté, le sporozoïte se transforme en trophozoïte puis en schizonte primaire (figure 9). In vitro, dans des cultures de cellules de reins de poulets, les trophozoïtes se transforment en schizonte I en 35 heures (Pacheco et *al.*, 1975). Dans ce dernier, des divisions nucléaires puis cytoplasmiques ont lieu. A 48 heures, on peut observer de nombreux schizontes multinucléés. Les noyaux et les conoïdes adjacents sont repoussés à la périphérie. A ce stade, des mérozoïtes partiellement développés, chacun contenant un noyau et un conoïde, font protrusion dans la vacuole parasitophore.

Deux jours et demi après l'infection, on obtient un schizonte mûr de première génération (schizonte I) contenant des mérozoïtes primaires (mérozoïte I) séparés du corps résiduel et dont leur nombre varient en fonction de l'espèce coccidienne (Figure 9). In vitro, dans des cultures cellulaires de cellules aviaires CEV-1/F7, des schizontes mûrs et des mérozoïtes extracellulaires sont vus à 72-96 heures (Danforth et *al.*, 1994).

Les mérozoïtes sont libérés par rupture de la cellule hôte (figure 9), envahissent les cellules épithéliales voisines et donnent naissance aux schizontes II immatures puis matures de la même manière que précédemment et libèrent des les mérozoites II; ces derniers vont se transformer dans de nouvelles cellules soit à nouveau en schizontes, soit en gamètes (Naciri, 2000). Le nombre de génération de schizontes varie selon l'espèce coccidienne (Tableau 4), car il est déterminé génétiquement (Suls, 1999; Long, 1989).

Dans le cas d'*E. tenella*, les sporozoites gagnent la lumières des caeca, pénètrent sans délais les entérocytes de l'épithélium de surface de la muqueuse. Ces sporozoites passent aussitôt dans des lymphocytes intra épithéliaux et se mobilisent, traversent la lumière basale et migrent dans la sous muqueuse (lamina propria) vers les cryptes glandulaires de Lieberkuhm. Les lymphocytes parasités franchissent à nouveau la basale, et les sporozoites passent dans les entérocytes des cryptes, où on les retrouve dans les vacuoles parasitophores, généralement situées entre le noyau et la basale [vacuole infra nucléaire] (Bussieras and Chenette, 1992; Euzeby, 1987).

Cependant, des travaux plus récents ont montré que la migration des villosités vers les cryptes est indépendante des lymphocytes T (Vervelde et *al.*, 1993).

Tableau 4: Nombre de schizogonie des différentes espèces d'Eimeria (Suls, 1999; Long, 1989).

Espèce	Nombre de schizogonie	Espèce	Nombre de schizogonie
E. acervulina	4	E. necatrix	4
E. maxima	2-3	E. brunetti	2-3
E. tenella	2-3	E. mitis	2-4
E. praecox	4		

Les sporozoites se transforment ainsi en schizontes I comportant environ 900 mérozoites dans un délai de 2 à 3 jours (figure 9); ces derniers, libres dans la lumière d'une crypte glandulaire pénètrent aussitôt de nouveaux entérocytes où on les retrouve dans des vacuoles supra nucléiares et se développent en schizontes II comportant environ 200 à 350 mérozoites II après une durée de 4 à 5 jours (Naciri, 2000). Une troisième schizogonie serait obligatoire, donnant environ 4 à 30 mérozoites III (Bussieras and Chenette, 1992).

Le plus souvent, après les schizontes II intervient la gamogonie. Un oocyste comportant 8 sporozoites donnerait alors :  $8\times900\times350 = \text{plus}$  de 2,5 millions de mérozoites II pouvant se développer en gamètes (Naciri, 2000 ; Kabay, 1996).

## b. Gamétogonie

A partir d'un certain nombre de schizogonie, les mérozoites libérés envahissent d'autres cellules et donneront naissance à des gamètes males et femelles selon un mécanisme inconnue (figure 9).

#### - La microgamétogénèse

C'est la formation du microgamète male ; durant cette phase de nombreuses mitoses surviennent, et chaque division nucléaire engendre deux noyaux fils. Ces derniers se localisent dans la périphérie de la cellule et s'associent à de nombreuses mitochondries pour former chacun un microgamète. Celui-ci comporte un noyau très étroit, allongé, incurvé en croissant, accolé à une mitochondrie, avec une pointe antérieure ou perforatorium et deux flagelles (Naciri, 2000).

## - La macrogamétogénèse

C'est la formation du macrogamète femelle; durant cette phase, il y a apparitions dans le cytoplasme de structures ayant soit un rôle de réserve nutritive, soit un rôle dans l'élaboration de la paroi du futur oocyste; dans le cytoplasme du macrogamète apparaissent des granulations éosinophiles qui se rassemblent en surface pour former une coque tout en ménageant le micropyle. Il comporte également des inclusions polysaccharidiques de taille importante, très proche du glycogène mais dont l'ultra structure est différente; on parle de glycogène coccidien (Naciri, 2000; Euzeby, 1987).

## - La fécondation

Le microgamète mobile parvient au macrogamète, pénètre ce dernier (encore intracellulaire) par le micropyle donnant un zygote diploïde. Celui-ci se double d'une paroi externe très résistante caractéristique de l'oocyste.

L'oocyste expulsé avec les matières fécales achèvera son développement avec la sporulation dans le milieu extérieur. La période pré-patente (tableau 4) est de quatre à sept jours (Naciri, 2000, Yvoré, 1996).

#### 4.2.5. Cas des autres coccidies

Le cycle des autres espèces de coccidies du poulet est comparable au processus décrit pour *E. tenella*. Certaines caractéristiques sont toutefois propres à chaque espèce concernant : le lieu de développement, le nombre de schizogonies, la période prépatente, la taille de l'oocyste et les stades associés aux lésions.

Quant au transport des sporozoïtes par les lymphocytes intra-épithéliaux jusqu'aux cryptes glandulaires, il n'a encore été démontré que pour *E. tenella*. Les cellules transportant *E. necatrix et E. maxima* sont morphologiquement similaires aux IEL observés dans le cas d'*E. tenella*, *E. praecox* et *E. brunetti* se développent à la surface de l'épithélium, approximativement au site de pénétration : on suppose donc que pour ces 2 espèces il n'y aurait pas de transport (Bouhelier, 2005).

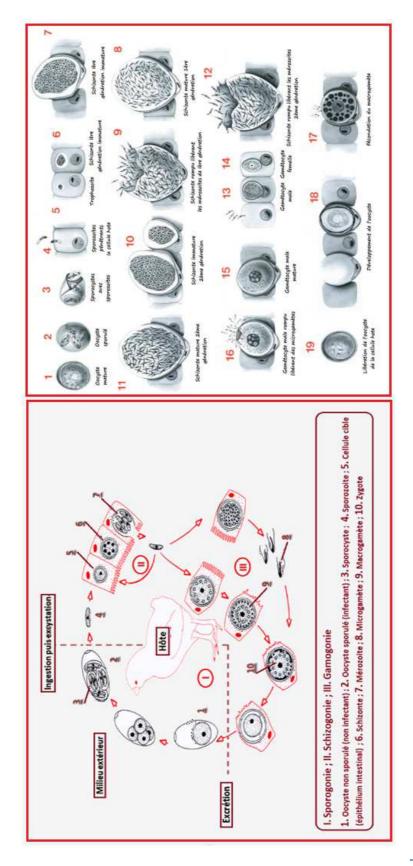


Figure 9: Cycle de développement de l'espèce Eimeria (Conway DP and McKenzie, 2007).

# 5. Epidémiologie descriptive

La coccidiose est surtout décrite comme étant une maladie de l'élevage intensif, car il a été démontré que la réponse au parasitisme est plus importante dans les élevages à forte densité où la relation hôte-parasite est facilement déséquilibrée.

De même les conditions d'ambiances de ces élevages sont stables et régulières ce qui a fait perdre aux coccidioses leur caractère saisonnier, car c'est une maladie estivale en élevage fermier, mais en général elle apparait à chaque moment où température et humidité favorables se réunissent (Bussieras and Chenette, 1992).

A savoir aussi que ces même conditions d'élevage favorisent le caractère endémique des coccidioses, il est pratiquement inévitable d'avoir des élevages indemnes de coccidies. Cependant une bonne maitrise des conditions d'ambiance, une bonne alimentation et un bon suivi sanitaire améliorent la lutte anticoccidienne (Eckman, 1995).

# 5.1. Répartition géographique

La coccidiose sévit dans tout les pays d'élevage, et aucun cheptel n'est indemne. Autrefois on la trouvait essentiellement dans les pays chauds et humides, où les facteurs climatiques favorisent l'évolution et la survie des parasites. Aujourd'hui l'épidémiologie a changé et la coccidiose se repend dans les zones froides et sèches grâce au microclimat crée par l'élevage industriel (Mekalti, 2003).

On trouvera donc deux types épidémiologiques correspondant aux deux grands types d'élevage avicole :

- ➤ Dans les élevages fermiers, en alimentation traditionnelle, c'est une maladie surtout estivale frappant les jeunes poulets âgés de quelques semaines.
- ➤ Dans les élevages industriels, recevant des aliments coccidiosatiques, elle se développe surtout au stade de finition.

# 5.2. Espèces affectées

Les coccidioses du genre *Eimeria* sont étroitement spécifiques ; la coccidiose de la poule ne touche donc que cette espèce (Euzeby, 1973). Les coccidies ne sont pathogènes que pour des individus appartenant à des espèces animales bien déterminées, en fonction de telle ou telle espèce de parasites. Les oocystes sporulés ingérés par des animaux qui ne sont pas leurs hôtes habituels, sont éliminés sans avoir subi d'altération et demeurent aptes à assurer l'infection d'un hôte sensible (Conway and McKenzie, 2007).

Toute la volaille est réceptive aux coccidies mais il existe une différence fondamentale dans la sensibilité qui est variable en fonction de (Boka, 2006; Mekalti, 2003):

- la souche de volaille ;
- l'âge des sujets : les sujets âgés de 10 à 60 jours sont plus sensibles;
- l'état général : les sujets atteints de la maladie de Gumboro font une maladie plus grave ;
- l'espèce de coccidie : E. tenella provoque une maladie plus sévère ;
- le degré d'infestation.

# 6. Epidémiologie analytique

# 6.1. Source du parasite

#### 6.1.1. Poulets infectés

Sachant que la spécificité des coccidies de la poule est de règle, l'unique source est donc représentée par les poulets infectés excrétant des oocystes dans leurs fientes.

Les poulets n'excrètent pas d'oocystes au début de maladie, et peuvent même succomber sans avoir rejeté un seul oocyste. Dans le cas d'une évolution aigue d'*E.tenella* où la maladie se déclare à partir du 4<sup>ème</sup> jour suivant l'infection, l'excrétion d'oocystes n'est observée qu'à partir du 7<sup>ème</sup> jour post infection (période prépatente, c'est-à-dire la période entre le moment de la 1<sub>ère</sub> infestation de l'animal par un parasite et le moment où ce dernier commence à se reproduire et à excréter des œufs). C'est donc après le drame clinique que, en cas de survie, les animaux rejettent des oocystes en abondance durant toute la durée de la période patente (Conway and McKenzie, 2007; Mekalti, 2003; Euzeby, 1987).

Les oocystes sporulés ingérés se développent rapidement, et quittent tous sans exception leur hôte en un temps relativement court (période patente 10-15 jours), c'est une sorte d'auto stérilisation de l'organisme, ainsi, on explique l'absence de forme chronique. Cependant au sein d'un effectif, l'infection s'entretient facilement en l'absence de mesures prophylactiques, et les réinfections sont très fréquentes (Mekalti, 2003 ; Euzeby, 1987).

#### 6.1.2. Litières souillées

Un gramme de litière peut contenir entre  $10^6$  et  $2\times10^6$  oocystes. Les matières virulentes sont les excréments qui contiennent les oocytes, mais ceux-ci ne sont pas immédiatement infestants, ils ne le deviennent qu'après un délai nécessaire à leur sporulation grâce à un ensemble de conditions favorables de température, d'humidité et d'aération (Kabay, 1996), lesquelles sont réunies dans la litière qui ne constitue cependant pas le milieu idéal à la survie prolongée des oocystes.

Après 5 jours dans la litière, environ 95 % des oocystes d'*E. acervulina* ont sporulé, mais jusqu'à 70 % d'entre eux peuvent avoir été endommagés, probablement sous l'action des bactéries ou de l'ammoniac. La viabilité des oocystes commence à s'effondrer au-delà de 3 semaines.

Des oocystes viables peuvent être détectés dans la litière des poulets de chair reproducteurs vaccinés après 3 ou 4 mois seulement parce qu'ils ont été produits par des poulets vaccinés qui ont ingéré des oocystes et qui ont excrété en continu. La production et donc l'excrétion dans le milieu extérieur des oocystes diminuent au fur et à mesure que l'immunité des oiseaux se renforce.

L'évolution des oocystes dans la litière est intéressante. Long and Rowell en 1975, ainsi que Hamet en 1981, mettent en évidence trois étapes dans la contamination coccidienne de la litière quel que soit le lieu de prélèvement :

- Une phase d'accroissement entre le 21ème et le 28ème jour d'élevage ;
- Un pic de contamination entre le 28ème et le 35ème jour d'élevage ;
- Une phase de décroissance à partir du 35ème jour d'élevage.

En théorie, plus le climat est sec, moins il y a de problèmes de coccidiose, mais ceci n'est pas toujour observé en pratique : plusieurs études non publiées ont abouti à des résultats contraires. Une explication pourrait être donnée par la constatation expérimentale suivante : la sporulation des oocystes d'*E. maxima* est la meilleure lorsque la litière contient initialement 5 % d'humidité et augmente progressivement jusqu'à 16 % en 106 heures et elle est la pire lorsque la litière contient initialement 60 % d'humidité et augmente jusqu'à 62 %. Une litière humide est propice au développement bactérien et à la production d'ammoniac, avec une diminution concomitante du taux de dioxygène, ce qui pourrait nuire à la sporulation d'*E. maxima* (Williams, 1998).

En conclusion, les principales caractéristiques physico-chimiques défavorables à la sporogonie et à la survie d'oocystes que peut présenter une litière permanente sont (Conway and McKenzie, 2007; Boka, 2006; Mekalti, 2003):

- L'anaérobiose, lorsque la litière reste tassée ;
- Les fermentations ammoniacales;
- La température plus élevée que dans une litière renouvelée ;
- Les bactéries en nombre plus important.

# 6.2. Résistance des oocystes

#### 6.2.1. Chez l'hôte

La survie du parasite chez l'hôte est limitée à la durée du cycle de développement qui varie d'une espèce à l'autre. En pratique, l'animal est constamment exposé à de nouvelles contaminations, et de nombreux cycles se succèdent et se superposent jusqu'à l'acquisition d'une immunité solide ou à la mort du sujet (Euzeby, 1987).

#### 6.2.2. Dans le milieu extérieur

Les oocystes sont très résistants sur le sol, surtout après sporulation, car ils ont protégés par l'enveloppe oocystale et la paroi des sporocystes (Mekalti, 2003).

En milieu humide, ils conservent leur longévité pendant plusieurs mois à des températures comprises entre  $5C^{\circ}$  et  $25C^{\circ}$ ; leur survie est beaucoup plus faible en milieu sec où ils ne résistent pas plus de 3 à 4 jours.

La chaleur les tue en 30 minutes à 60°C, et en quelque secondes à 80°C (Lister and Knott, 2000). Mais également le soleil, qui en agissant sur l'humidité relative et par irradiation UV détruit les oocystes en quelques heures (sensibilité à la dessiccation). Les oocystes résistent à des températures négatives pendant de longues périodes, comme par exemple la cryopréservation dans l'azote liquide, qui permet de conserver les oocystes sporulés pendant 3 mois, mais avec un affaiblissement de leur pouvoir pathogène. De plus, ils sont sensibles aux alternances de congélation-décongélation (Williams et *al.*, 1996).

Dans l'eau, les oocystes sont toujours infestants après 14 mois [*E. necatrix*] voir deux ans [*E.tenella*] (Bussieras and Chenette, 1992).

En pratique, dans les conditions d'élevage intensif où les paramètres de chaleur et humidité très favorables et à l'abri du soleil et des UV, les oocystes survivent pendant en moins une année.

Ces données permettent de comprendre le caractère endémique des coccidioses, notamment, en l'absence de mesures prophylactiques efficaces (Mekalti, 2003).

Cependant, l'enfouissement des oocystes sous un tas de fumier où la chaleur atteint les 80C° et l'anaérobiose, exerce une action destructrice en favorisant les processus biologiques de fermentation et de putréfaction. Sur ce principe, une méthode biothermique a été développée, appelée méthode de Rouband qui permet de stériliser facilement les litières contaminées (Euzeby 1987).

La pérennité de l'infection s'entretient d'autant plus facilement que les oocystes sont très résistants aux agents chimiques à des concentrations usuelles : formol, acide sulfurique, acide phénique, n'ont pas d'action létale (Mekalti, 2003).

Seules les substances liposolubles à faible poids moléculaire peuvent pénétrer les oocystes et altérés leur viabilité. On peut citer :

- L'ammoniac : La production d'ammoniac provenant d'une nouvelle bande sur de la litière nouvelle sera lente dans un premier temps, mais après approximativement 20 jours, le pH augmente, facilitant le développement d'une des principales bactéries uricolytiques (*Bacillus pasteurii*) et donc la production de ce gaz (Baltazart, 2010; Itavi, 1997). Dans de telles conditions, les oocystes sont endommagés; environ 70% des oocystes de la litière seront détruits par l'ammoniac et les bactéries (Williams, 1995).
- Les produits ammoniqués à 10% (Lister and Knott, 2000 ; Kabay, 1996)
- Sulfure de carbone (Mekalti, 2003)
- Bromure de méthyle (Gordon, 1979)
- Composés phénoliques (Molan et al., 2009; Allen, 2007; Jang et al., 2007).

Ces substances peuvent être utilisées pour la désinfection des locaux, mais ils sont très toxiques et dangereux; elles ne peuvent être utilisées que durant le vide sanitaire et avec prudence (Mekalti, 2003; Euzeby, 1979).

La résistance des oocystes à certains agents chimiques est due à la structure de leur paroi (Mouafo et *al.*, 2000) :

- Couche interne (90nm) constituée de phospholipides, cholestérol, acides gras et glycoprotéines, sensibles aux substances solubilisant les lipides et capables de couper les liens disulfuriques.
- Couche externe (10nm) très dense aux électrons, difficilement perméable, ne permettant le passage qu'aux substances solubilisant les lipides et capables de couper les liens disufuriques.

Les oocystes sont plus sensibles aux facteurs physiques qu'aux agents chimiques habituellement doués de propriétés bactéricides, mais les progrès de la science ont pu développer des désinfectants d'une plus grande efficacité, avec une acuité toxique moindre et une biodégradabilité rapide; exemple le Neopredisan, produit capable de détruire la paroi occystal à 100% mettant à découvert les sporozoites qui sont sensibles à la plupart des désinfectants; produit même actif contre d'autres parasites et microorganismes (Wpe, 1999).

## 6.3. Mode d'infestation et de dissémination

La contamination est inévitable en élevage; la coccidiose se transmet d'oiseau en oiseau par l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés, ou en picorant la litière ou par un autre intermédiaire renfermant des coccidies; il s'agit d'une contamination orale par souillure. Théoriquement, dans un élevage il peut y avoir une coccidiose à partir d'un seul oocyste sporulé (Conway and McKenzie, 2007; Boka, 2006; Mekalti, 2003; Schwartz, 1985). Dans les conditions d'élevage, la coccidiose se développe selon l'aspect suivant (Mekalti, 2003):

Tableau 5 : L'aspect du développement de la coccidiose aviaire dans les conditions d'élevage.

Période	Nombre d'oocystes
0 à une semaine	Très peu d'oocystes ingérés par un petit nombre de sujets.
1 à 2 semaines	Peu d'oocystes ingérés par quelques sujets.
2 à 3 semaines	Présence d'oocystes dans la litière, et leur ingestion par centaines voir des milliers.
3 à 4 semaines	Un très grand nombre d'oocystes dans la litière, et stimulation du système immunitaire.
4 à 5 semaines	Tous les sujets sont exposés à la maladie, avec un développement immunitaire.
5 à 6 semaines	Les oocystes diminuent car détruits par le système immunitaire, la chaleur, l'ammoniaque, la fermentation et la putréfaction.
6 à 7 semaines	Généralement pas d'oocystes. Cette diminution du nombre d'oocystes peut augmenter si l'immunité décline ou avec l'introduction de nouvelles espèces.

Les parasites peuvent être disséminés par de nombreuses façons (Mekalti, 2003):

- Les animaux parasités : les poulets parasités qui éliminent les oocystes dans leurs fientes (Wright, 1998).
- Les animaux non réceptifs qui, ayant ingéré des oocystes les évacuent intacts.
- L'homme, pouvant véhiculer sur ses chaussures des débris de litière ou des fèces contaminés, ou en transportant du matériel souillé d'un élevage à un autre.
- Intervention d'insectes coprophages : ayant absorbés puis rejetés des oocystes intacts ; même après élimination de la litière, les insectes peuvent recontaminer le milieu (Euzeby 1987).

La contamination est toujours horizontale et per os, à partir d'aliments ou d'eau souillés. Démontrer la présence d'oocystes dans le bâtiment avant l'introduction d'un nouveau lot n'est pas chose facile. Si la litière de la bande précédente a été correctement enlevée et les mesures d'hygiène parfaitement appliquées durant le vide sanitaire, il reste très peu d'oocystes : la probabilité d'en retrouver dans les prélèvements de sol est très faible.

La pérennité de la contamination est assurée par la grande résistance de l'oocyste dans un milieu favorable. Puis au sein de la nouvelle bande introduite, au contact d'un animal réceptif, le parasite se multipliera, sera excrété en grand nombre et pourra contaminer tout le parquet (Bouhelier, 2005).

# 7. Pouvoir pathogène et manifestations clinique

# 7.1. Pathogénie

Les coccidies ont un impact très varié sur l'organisme de l'animal, en provocant plusieurs traumatismes parmi les quels :

# 7.1.1. Destruction des cellules épithéliales parasitées

Le pouvoir pathogène des coccidies parasites s'exerce soit au stade des mérontes, soit au stade des gamétocytes, lors de leur multiplication dans les entérocytes (tableau 6). Dans les deux cas, c'est pendant la période prépatente du processus infectieux que la muqueuse intestinale est lésée (Ruff and Reid, 1977).

Les cellules épithéliales sont détruites par action mécanique; rupture de la membrane pour libérer les mérozoites. Mais il existe aussi une action toxique locale responsable d'une nécrose et aggravant les hémorragies (Freeman, 1970).

Les lésions épithéliales conduisent à un défaut de perméabilité de barrière intestinale, on assistera alors à une fuite des protéines plasmatiques et donc, à terme, à une hypoprotéinémies. Il n'est pas nécessaire de recourir à des fortes infestations pour constater une diminution du taux des protéines sanguines (Yvoré et *al.*, 1972).

**Tableau 6**: Pouvoir pathogène des espèces infectant le poulet (Hafez, 2008).

EIMERIA	PATHOGENIE
E. acervulina E. brunetti	++
E. maxima E. mitis	++ +
E. necatrix E. praecox E. tenella	++++

<sup>+ -</sup> non pathogène, + faiblement pathogène, ++ pathogéne, +++ fortement pathogène

#### 7.1.2. Perturbations nutritionnelles

On note une diminution des valeurs du pH duodénal et jéjunal chez les poulets infectés par *E. acervulina*. Cela se traduit par une diminution de l'activité enzymatique intestinale (Ruff, 1975). L'infection induit également une inhibition, par un phénomène toxique, de l'amylase et de la lactase ainsi qu'une atrophie des villosités. Il en résulte une diminution de la digestion et de l'absorption des nutriments, et des pigments caroténoïdes (Adams et *al.*, 1996).

Le péristaltisme semble être également modifié par une diminution de l'action de l'acétylcholine, ce qui entraîne une flaccidité intestinale. La diminution de l'absorption est très importante. Même en l'absence de symptômes visibles, elle conduit à des perturbations nutritionnelles graves, avec des pertes de poids de 3 à 5% chez les poulets de chair (Yvoré et *al.*, 1972).

Les poulets infectés par *E. tenella* présentent avant leur mort une hypothermie, une acidose métabolique, une baisse des réserves glucidiques. Les réserves énergétiques diminuent très vite, puis s'installe un état d'hypoglycémie constant : la glycémie baisse de 60% par rapport à celle de poulets témoins. L'acidose métabolique est aggravée par l'anorexie. La chute du taux des protéines plasmatiques et de l'hémoglobine ne permet pas au sang de jouer son rôle de tampon. L'augmentation de la fréquence respiratoire servant à compenser l'acidose aggrave l'hypothermie (Witlock et *al.*, 1981).

La malabsorption s'installe très tôt (4-5ème jour). Elle est plus ou moins lourde de conséquences selon le segment intéressé, mais elle entraîne toujours une augmentation de l'indice de consommation. L'obtention d'une pigmentation satisfaisante lors de la production de poulets jaunes reste un problème. Plusieurs études d'Yvoré et *al.* (1972 et 1982) ont permis de constater que la dépigmentation du plasma est très précoce et durable. Elle se manifeste même lors d'inoculations de faibles doses infectantes ne provoquant pas de maladie clinique. L'importance de la perte de pigments croît avec l'infection, mais de façon non proportionnelle, l'effet maximum est vite atteint. L'action parasitaire se manifestant lors de très faibles infections, il est difficile de préconiser un traitement ou une prophylaxie efficace.

Le défaut de pigment peut être dû à un déficit d'absorption et de transport. La concentration sanguine en lipoprotéines chute également (Fukata et *al.*, 1997). Le déficit d'absorption est plus important que la baisse d'appétit. Des poulets sains ont reçus la même ration que celle qu'ingéraient des poulets infectés. Cette privation, même prolongée, subie par les poulets non infectés n'a pas de répercussions aussi importantes que chez les poulets infectés (Witlock et *al.*, 1981).

#### 7.1.3. Action toxique

Un facteur toxique existerait chez *E. tenella* (Freeman, 1970). L'action toxique locale est responsable d'une nécrose qui aggrave les hémorragies. D'autres toxines ont une action antienzymatique inhibant la phosphorylation, ce qui entraîne des perturbations des muscles locomoteurs et des muscles lisses du tube digestif. Les enzymes intestinales, amylase et maltase, sont elles aussi modifiées.

#### 7.1.4. Action sur le système vasculaire

Chez les poulets, l'expression clinique de la maladie est dominée par des hémorragies de la muqueuse digestive. Avec certaines espèces comme *E. tenella*, les pertes de sang sont importantes et contribuent significativement à la mortalité. Pour d'autres, les troubles vasculaires engendrés sont bénins. *E. acervulina et E. mivati* ne provoquent que des pétéchies sur la muqueuse intestinale. Ces saignements ne résultent pas seulement d'une action irritative locale. En effet, le temps de prothrombine, ou temps de Quick, augmente significativement lors d'infection sévère avec *E. acervulina*, *E. necatrix*, *E. maxima*, ou *E. tenella* si on le compare à celui d'animaux sains (Ruff et *al.*, 1978).

Le temps de recalcification n'est pas affecté. L'élévation du temps de Quick est de courte durée. Elle est constatée pendant un ou deux jours maximum, et n'apparaît que le 5ème ou 6ème jour après l'inoculation. Le mécanisme est encore inconnu.

Cependant, l'addition de fortes doses de vitamine K dans l'alimentation permet d'obtenir un temps de thrombine normal et de diminuer le taux de mortalité (Ryley and Hardman, 1978). L'addition du facteur V au plasma de poulets infectés rétablit le temps de prothrombine. L'infection n'altérant ni la calcémie, ni la protidémie totale, ni la fibrinogénémie, on peut penser qu'il ne s'agit pas d'un défaut de synthèse mais d'une altération de l'activité du facteur V (Witlock et *al.*, 1978).

En 1997, Allen émit l'hypothèse que les hémorragies observées sont provoquées et amplifiées par une action vasodilatatrice du parasite. En effet, on observe des hémorragies cæcales comparables à celles provoquées par l'infection à *E. tenella* en inhibant la NO synthétase avec de l'aminoguanidine (Allen, 1997).

Le mécanisme exact aboutissant au tableau hémorragique de la coccidiose caecale n'a pas été encore élucidé. Cependant, ces diverses études montrent qu'il s'agit d'un phénomène plus complexe qu'une abrasion de muqueuse intestinale.

## 7.1.5. Action irritative et phobogène

La diarrhée résulte d'une part, de la fuite sodique à travers l'épithélium et d'autre part, de l'inflammation catarrhale de la muqueuse.

# 7.2. Manifestation cliniques

Suivant les espèces de coccidies en cause et la localisation des lésions on peut distinguer deux types de coccidioses :

#### 7.2.1. Coccidiose caecale

Due à *E. tenella*. Il faut noter cependant qu'*E. necatrix* au stade gamétocyte a également une localisation caecale alors que les formes pathogènes déterminent une coccidiose intestinale (figure 11 et 12).

Les cecas ne jouent pas de rôle majeur dans la fonction digestive, cette coccidiose n'a d'importance que lors de maladie clinique.

Cette forme de coccidiose affecte classiquement les poulets de 20-28 jours ; les symptômes apparaissent le 3<sup>ème</sup> jour suivant l'infection, et révèlent soit (Conway and McKenzie, 2007):

## a. Une forme suraigüe

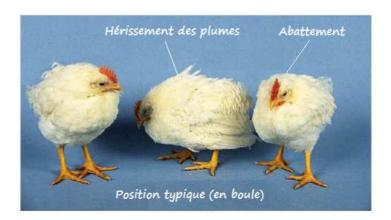
Elle évolue avec des symptômes nerveux et entraine la mort avant même l'apparition des symptômes digestifs ; aujourd'hui rare, du fait de l'utilisation d'une chimioprophylaxie efficace (Euzeby, 1987).

# b. Une forme aigue

Les poulets répugnent à se déplacer et se rassemblent dans les parties chaudes du local. Ils présentent de l'abattement, tristesse, et hérissement des plumes avec ailes pendantes (figure 10). Au 4<sup>ème</sup> jour se manifestent des hémorragies, avec de sang en nature dans les fèces.

Au  $5^{\text{ème}}$ -  $6^{\text{ème}}$  jour on observe un syndrome dysentériforme : diarrhée importante hémorragique, émise avec ténesme et épreinte, et bientôt réduite à un crachat cloacal ; à ce moment, les malades sont anorexiques mais conservent une soif très vive.

Sous cette forme, l'évolution est rapide et la mort est très fréquente (80% des malades). On peut observer des phénomènes convulsifs, et ce n'est qu'après le 7<sup>ème</sup> jour suivant l'infection qu'on peut mettre en évidence des oocystes dans les fèces. Si la mort ne survient pas on peut observer vers le 15<sup>ème</sup> jour l'expulsion d'un magma caséeux, constitué de débris épithéliaux et renfermant des oocystes (Kennedy, 1996; Bussieras and Chenette, 1992; Gordon, 1979).



**Figure 10** : Poulets atteints des symptômes de la forme suraigüe de la coccidiose caecale (Bhag, 2003).

#### c. Une forme atténuée

Avec diarrhée jaunâtre ou marron foncé mais sans hémorragie. L'état général se dégrade: amaigrissement, hyporexie, troubles locomoteurs, et retard de croissance. Dans cette forme, les oocystes apparaissent le 7ème jour dans les fèces et la maladie dure environ 15 jours. Elle peut passer à la forme aigue, mais généralement, elle est suivie de guérison totale et sans séquelles nutritionnelles graves, d'autant plus que les ceacums n'interviennent ni dans la digestion ni l'absorption, particulièrement si cette forme touche les poulets durant la première moitié de leur vie où ils peuvent entreprendre une croissance compensatrice durant la seconde moitié (Mekalti, 2003).

## 7.2.2. Coccidiose intestinale

A part *E. tenella*, toutes les autres coccidies interviennent dans l'étiologie de cette coccidiose. Selon les coccidies en cause et selon l'importance des infections contractées, on considère trois formes de coccidiose intestinale sachant que la pathogénéicité de ces parasites est très inégale (Mekalti, 2003):

## a. Forme aigue

Due essentiellement à *E. necatrix* puis à *E. brunetti* à des doses infectantes plus importantes. Les sujets touchés sont plus âgés que ceux atteints par la coccidiose caecale, car les coccidies en cause sont relativement peu prolifique et la contamination du milieu est plus lente ; c'est au delà de la 4<sup>ème</sup> semaine que les poulets d'engraissement sont atteints par *E. necatrix*, et encore plus tard avec *E. brunetti* [en fin d'élevage] (Conway and McKenzie, 2007 ; Gordon, 1979).

Les symptomes apparaissent environ le 3<sup>ème</sup> jour après l'infestation par *E. brunetti* et vers le 5<sup>ème</sup>-6<sup>ème</sup> jour pour *E. necatrix*. Les poulets présentent de l'anorexie, une diarrhée mousseuse parfois hémorragique et renfermant du sang digéré en cas d'infection par *E. necatrix*; peu hémorragique avec *E. brunetti* parfois avec émission de fèces souillées de sang en nature d'origine rectale. Mais un syndrome dysentérique n'évolue jamais, tel qu'on le connait dans la coccidiose caecale. Dans les formes sévères, la mort survie en quelque jours particulièrement avec *E. necatrix*, et les survivants sont très amaigris, en mauvais état général et la convalescence est très longue (Conway and McKenzie, 2007; Euzby, 1979).

#### b. Forme atténuée

Déterminée par les espèces précédentes lors d'infection légères et par la plupart des autres espèces, essentiellement par *E. acervulina*, *E. maxima* et *E. mitis*. Sous cette forme les coccidioses sont très discrètes laissant apparaître une diarrhée aqueuse rebelle à la thérapie usuelle; les sujets présentent de la déshydratation et de l'amaigrissement; à la longue l'anémie s'installe et la convalescence est très longue et le cheptel atteint ne récupère que lentement ce qui très grave pour les poulets d'engraissement (Mekalti, 2003).

# c. Forme subclinique

Due aux espèces précédemment citées dans la forme atténuée lors d'infection légère et à *E. praecox*. On retrouve cette forme chez les sujets (Bussieras and Chennette, 1992):

- Ne recevant pas de coccidiostatiques ou lorsque celui-ci se trouve en quantité insuffisante dans l'aliment (phénomène souvent observé du au mauvais mélange de l'anticoccidien).
- Ou avec des espèces coccidiennes non sensibles aux coccidiostatiques utilisés.
- Ou lors de chimiorésistance.

La forme subclinique est de loin la plus grave économiquement du fait de son évolution insidieuse, le plus souvent asymptomatique et très discrète. Le développement parasitaire provoque (Yvoré, 1992):

- Une perturbation de la fonction digestive (inflammation intestinale avec un ralentissement du transit et des troubles de l'absorption).
- Altère certains métabolismes généraux (synthèse protéique en particulier).
- Une baisse des performances de productivité (avec augmentation de l'indice de conversion) et une hétérogénéité des lots, et un mauvais aspect des carcasses (décolorées).
- Le développement de contaminants pathogènes dans la flore digestive.

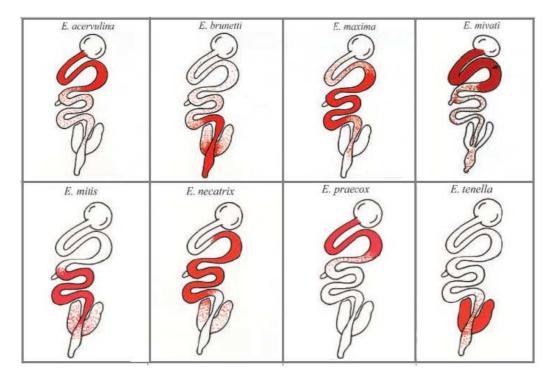
La forme subclinique peut évoluer selon deux types : soit par extension rapide en quelques jours à tout l'effectif, soit par une extension lente en trois semaines environ.

Chez le poulet de chair, le retard de croissance est suivi d'une phase de compensation qui prendra environ un mois, c'est la raison pour laquelle les pertes sont maximales durant la deuxième moitié de vie de cheptel (Suls, 1999).

Une infection coccidienne subclinique peut être déterminée et confirmée grâce à l'examen des indices zootechniques.

# 7.3.Les 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 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 11). Les plus profondes causent les lésions les plus graves (Suls, 1999).



**Figure 11** : Localisation des lésions engendrées par les huit espèces d'Eimeria (Conway and McKenzie, 2007).

## 7.3.1. Coccidiose caecale (Eimeria tenella)

## a. Forme aigue

Il s'agit d'une importante typhlite hémorragique débutant au 4<sup>e</sup> jour par des hémorragies en nappe, entrainant à partir du 5<sup>e</sup> jour, la formation de caillots de sang dans la lumière caecale ; dès lors, les caeca sont dilatés, prennent une couleur rouge brun qui évoque deux boudins [figure 12] (Euzby, 1987). A partir du 7<sup>ème</sup>- 8<sup>ème</sup> jour, les hémorragies baissent et, en cas de survie, les caeca diminuent de volumes, reprennent une couleur rosée ne renfermant qu'un magma caséonécrotique, fait de cellules épithéliales desquamées, de fibrine et de matières fécales ; ces débris peuvent devenir toxiques. Ces agrégats caecaux se rompent et son rejetés avec les déjections dès le 8<sup>ème</sup> jour, avec une évolution vers la guérison (Kabay, 1996 ; Bussieras and chennette, 1992 ; INSA, 1991 ; Gordon, 1979 ; SA, 1976).



**Figure12 :** Lésions nécrotiques et hémorragiques dans la coccidiose caecale (Boka, 2006 ; Conway and McKenzie, 2007).

#### b. Forme atténuée

Avec légère typhlite où les hémorragies sont très peu marquées, la réparation de l'épithélium lésé est rapide et complète. Sur le plan histologique, on note une infiltration lymphoïde de la muqueuse. Au début du processus, on note une hypertrophie des cellules parasitées par les schizontes I puis la destruction des cellules infectées par les schizontes II, qui peuvent mesurer jusqu'à 60µ, avec pertes de substance et nécrose de la paroi des capillaires (Euzeby, 1979).

#### **7.3.2.** Coccidioses intestinales

Les lésions sont variables selon les espèces en cause et l'importance du parasitisme :

#### a. Eimeria necatrix

Affecte la partie moyenne de l'intestin grêle (figure 11), qui se trouve dilatée et extrêmement ballonnée (lésion post-mortem typique). Elle détermine des formations hémorragiques, pétéchiales ou plus étendues sur une muqueuse œdémateuse et recouverte d'un exsudat mucoide (figure 13) ; si l'infection est légère, on n'observe que des petites lésions focalisées de 1mm de diamètre, légèrement saillantes, blanchatres, parfois auréolées d'une ligne hémorragique [renfermant des colonies de schizontes II] (Kabay, 1996 ; INSA, 1991 ; Rand, 1986). On trouve à l'intérieur de la muqueuse du mucus hémorragique, tandis que le caecum est rempli de sang en provenance de l'intestin.

Pour différencier *E. necatrix* d'*E. tenella*, on peut ouvrir le caecum et le laver ; si l'infection est du à *E. tenella*, on trouve de nombreuses zones hémorragiques sur la paroi caecale ; par contre, si l'infection est provoquée par *E. necatrix*, aucune lésion de la paroi ne sera observée (Euzeby, 1987).

#### b. Eimeria brunetti

Affecte la partie postérieure de l'intestin grêle et le rectum (figure 11). Dans les formes sévères, on observe un œdème de la paroi intestinale, des hémorragies sous forme de stries rougeâtres, et de la nécrose de coagulation extensive avec fausses membranes et caséum blanchâtre qui peuvent obstruer la partie proximale du caecum (figure 13).

Dans les infections modérées, on constate un épaississement de la partie postérieure de l'intestin grêle, du rectum et du cloaque ; on peut voir un exsudat inflammatoire teinté de sang. Ces lésions renferment des gamétocytes et des oocystes (Mekalti, 2003).

#### c. Eimeria maxima

Elle peut affecter la totalité de l'intestin grêle, mais touche surtout, comme *E. necatrix*, la partie moyenne du tractus (figure 11): avec dilatation, flaccidité et œdème de la paroi, exsudat mucoide parfois teinté de sang et de pétéchies (figure 13). Ces lésions sont plus accusées chez les poules que chez les jeunes poulets ; elles renferment des gamétocytes et des oocystes (Mekalti, 2003).

## d. Eimeria acervulina et Eimeria praecox

Elles déterminent des lésions dans la partie proximale de l'intestin grêle (figure 11), ces espèces sont les agents d'entérites mucoides dues au développement des gamétocytes et des oocystes (Mekalti, 2003):

- *E. acervulina* : elle affecte la première moitié de l'intestin grêle (figure 11), où l'on note des taches blanchâtres disposées en ligne sur une paroi intestinale épaissie. Dans les cas graves, on note une importante entérite mucoide, et ce n'est qu'à ce moment qu'on constate une morbidité et une mortalité (figure 13).
- *E. praecox* : elle affecte le premier tiers de l'intestin grêle [duodénum] (figure 11) ; il n'ya pratiquement pas de réaction inflammatoire ; les spécialistes s'accordent pour dire qu'il n'ya pas de lésions dues réellement à cette espèce.

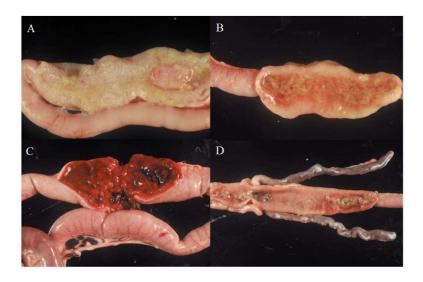
#### e. Eimeria mitis

Elle affecte la moitié postérieure de l'intestin grêle, et de la cicatrice vitelline au rectum (figure 11), ne déterminant qu'une banale entérite mucoide.

Sur le plan histologique, on note (Mekalti, 2003):

- Une atrophie des villosités intestinales, qui se raccourcissent et s'épaississent, avec perte de cellules épithéliales de surface.
- Une augmentation des cellules calciformes (mucipares) dans les segments non infectés de l'intestin.
- Une infiltration de la muqueuse par des cellules de l'inflammation.
- Une hyperplasie des cellules cryptiques, d'où une hypertrophie des cryptes, qui favorisent en cas de survie la réparation de l'épithélium.

On peut mettre en évidence dans les produits de raclages des lésions des schizontes dans le cas d'*E. tenella*, *E. necatrix*, et des gamétocytes et des oocystes dans le cas d'*E. acervulina*, *E. maxima*, *E. brunetti*, et *E. mitis*.



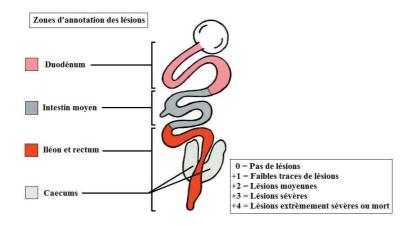
**Figure 13 :** Lésions caractéristiques de la coccidiose intestinale engendrées par **A.** *Eimeria acervulina* ; **B.** *E. maxima* ; **C.** *E. necatrix* ; **D.** *E. Brunetti* (Conway and McKenzie, 2007).

# 8. Diagnostic

Il est clinique (ante mortem) et nécropsique (post mortem). 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 (des produits de raclage de la muqueuse intestinale et des fragments d'intestins). Ces examens permettent de mettre en évidence soit la présence d'oocystes de coccidie, soit des lésions caractéristiques de la coccidiose [nécrose, hémorragie, coccidies dans la muqueuse intestinale] (figure 13).

Par ailleurs, les lésions observées peuvent faire l'objet d'une classification selon la technique de Johhson et Reid (figure 14) qui consiste à attribuer une note, sur une échelle de 0 à 4 à chacune des portions de l'intestin suivant le degré de sévérité de l'inflammation provoquée par les parasites, l'épaississement de la muqueuse intestinale et l'état de digestion du contenu intestinal.



**Figure 14** : Classification des lésions caractéristiques de la coccidiose selon la technique de Johnson et Reid (Conway and McKenzie, 2007).

# 9. Prophylaxie

Il est plus facilement admis actuellement que pour de telles entités parasitaire, en production avicole, il n'est pas nécessaire d'obtenir une éradication complète de la coccidiose, mais simplement d'en réduire les conséquences et la rendre supportable afin qu'elle ne compromette pas la production.

# 9.1. Prophylaxie sanitaire

La biosécurité en élevage est le seul moyen de limiter le risque d'infestation ou du moins, de le maintenir sous un seuil d'équilibre :

#### a. Limiter l'accumulation des matières contaminantes

L'élément infectant est l'oocyste. Il est éliminé dans les fientes des animaux : il faudra donc éviter l'accumulation des déjections et leur contact avec les animaux. L'idéal serait l'élevage sur caillebotis et grillage car il limite le contact entre les volailles et les fientes, donc le parasitisme.

Lorsque l'élevage se fait sur sol, il faudra une litière d'une épaisseur convenable, ainsi les fientes s'enfuissent facilement. De plus, il est déconseillé de la brasser en cours d'élevage car cela rend accessible des oocystes infectants qui ont sporulé (Meklati, 2003).

Une fois entassée, la litière offre de mauvaises conditions pour la sporulation. S'il s'avère nécessaire de refaire la litière, il est préférable de superposer une couche assez importante sans enlever la litière souillée (Baltazart, 2010; Itavi, 1997).

La conception des poulaillers est importante. Le bâtiment doit être conçu selon les normes en vigueur afin de favoriser une bonne ventilation et d'éviter l'ensoleillement. Aussi, une bonne implantation est aussi nécessaire ; il faudra éviter les terrains humides et choisir un endroit abrité des vents et d'accès facile (Mekalti, 2003). L'axe des bâtiments doit être parallèle aux vents dominants de la saison des pluies et les abords doivent être soigneusement entretenus en éliminant les herbes hautes, en installant des gouttières ou des caniveaux.

Les zones d'accès au parcours des animaux doivent particulièrement être soignées. C'est un lieu où les animaux stationnent fréquemment, où ils défèquent beaucoup : des trottoirs bétonnés permettront un bon nettoyage. Les abreuvoirs et les mangeoires ne doivent pas être souillés. Leur conception doit donc être telle que les animaux ne puissent pas déféquer dedans (Van Eekeren, 2006).

La densité des animaux est un point à maîtriser, car, non seulement une forte densité diminue la résistance des animaux mais en plus favorise rapidement, l'augmentation de la concentration en oocystes (Magdelaine and Chesnel, 2002).

Enfin, le suivi sanitaire des oiseaux est important : les coccidies sont des parasites opportunistes qui profitent de l'affaiblissement des oiseaux pour infester l'hôte. Pour accroître leur résistance, les oiseaux doivent être nourris avec une alimentation de bonne qualité et riche en vitamines A et D.

#### b. Limiter les contaminations extérieures

Plusieurs bâtiments peuvent être dans le même élevage ; des bottes ou des surbottes spécifiques à chaque bâtiment sont un moyen de limiter l'apport de coccidies depuis le milieu extérieur. Un sas à l'entrée permet de changer de bottes, de vêtements, de se laver les mains.

Le pédiluve a un effet mécanique, par le nettoyage du bas des chaussures, mais il faut veiller à son bon entretien car il peut très vite se transformer en un réservoir de pathogènes.

L'aire d'accès au bâtiment sera bétonnée avec un rotoluve, évitant toute contamination par les véhicules (livraison d'aliment, ramassage des animaux...). L'accès des bâtiments doit être limité au strict nécessaire. On luttera contre la présence d'animaux divagants [enceinte grillagée] et des nuisibles [rodenticide, insecticide]. (Boka, 2006; Van Eekeren, 2006).

#### c. La désinfection du milieu

Entre deux bandes, il est indispensable de procéder à une désinfection complète. Le nettoyage des bâtiments doit se faire rapidement et doit être le plus complet possible. Dès le départ des animaux, tout le matériel d'élevage sera démonté et sorti du bâtiment, la litière sera enlevée (Mirabito, 2004).

L'évacuation des litières permet de réduire le nombre de coccidies mais il faut les stocker le plus loin possible des bâtiments. Le lavage des murs et du sol avec une bonne évacuation des eaux usées permet d'éliminer la plupart des oocystes. Le nettoyage doit rendre possible la mise à nu des matériaux, bois, ciment, tôle, matière plastiques (les matériaux poreux sont à éviter dans l'élevage). Cette opération doit se faire avec de l'eau sous pression, voir avec une brosse. L'usage de dégraissant et de matériel décapant est envisageable pour le matériel d'élevage (Baltazart, 2010).

Le respect d'un vide sanitaire permet de sécher le bâtiment. Les coccidies sont sensibles à la dessiccation (Williams et *al.*, 1996).

La désinfection par des agents chimiques est très difficile. Un dégagement élevé d'ammoniac inhibe les oocystes. L'ammoniaque à 4% empêche la sporulation si son action est prolongée pendant 12 heures. Si l'action est brève, 15 min, la sporulation a lieu mais le développement endogène semble limité. La désinfection la plus efficace semble être un lessivage du sol complété d'un système de brûlage du sol. On peut aussi réaliser la désinfection par immersion et bain du petit matériel, ou par fumigation ou brumisation dans le bâtiment, hermétiquement clos (Reperant, 1998).

# 9.2. Prophylaxie médicale

Les mesures de prévention n'empêchent pas toujours l'apparition de la maladie. Il faut alors envisager d'autres moyens efficaces : la chimioprévention et la vaccination.

## 9.2.1. Chimioprévention

Le traitement doit être mis en œuvre dès les premiers cas confirmés de coccidiose clinique et dès que les indices lésionnels le rendront nécessaire.

Les médicaments curatifs doivent agir sur les schizontes II ou les gamétocytes qui sont des formes pathogènes administrés de préférence dans l'eau, car la soif est mieux conservée que l'appétit [dans le cas des infections à *E. necatrix*, *E. maxima*, et *E. brunetti*] (Euzeby, 1987).

Le traitement n'est pas destiné aux seuls malades qui risquent de succomber rapidement, mais à l'effectif complet.

Les anticoccidiens utilisés ont deux modes d'action:

- Les coccidiostatiques, qui stoppent ou inhibent la croissance des coccidies intracellulaires tout en permettant une infection latente après retrait des médicaments.
- Les coccidiocides qui détruisent les coccidies pendant leur développement.

La barrière entre ces 2 groupes n'est pas toujours bien définie : certains anticoccidiens sont purement coccidiostatiques ou purement coccidiocides, d'autres peuvent être selon la posologie, utilisés en tant que coccidiostatiques ou coccidiocides. En effet, le Dinitolmide par exemple est coccidiostatique sur les premiers mérozoites, mais un traitement prolongé finit par avoir des effets coccidiocides. De plus les anticoccidiens n'ont pas la même action sur tous les stades de développement du parasite (Manger, 1991). La Robénidine est initialement coccidiostatique sur la première génération de schizontes, mais elle a également un effet coccidiocide sur la deuxième génération de schizontes, sur la deuxième génération de mérozoïtes et sur les gamétocytes (Fowler, 1995).

La plupart des anticoccidiens utilisés actuellement dans la production des volailles sont des coccidiocides.

Les produits utilisés sont de deux types : les produits de synthèse et les anticoccidiens ionophores. Actuellement, 17 produits sont autorisés (autorisation selon la directive 70/524/CEE) comme additifs alimentaires (Naciri, 2001). Le tableau 7 présente les principaux coccidiostatiques utilisés chez la volaille. Signalons aussi qu'après l'interdiction par l'Union Européenne de l'incorporation dans les aliments pour animaux des antibiotiques utilisés en médecine humaine, 4 produits utilisés comme facteur de croissance ont été, depuis le 1er janvier 2006, interdits (Lextenso, 2006).

## Il s'agit de:

- Monensine sodium utilisé pour l'engraissement des veaux ;
- Salinomycine sodium utilisé pour l'engraissement des porcelets et des porcs ;
- Avilamycine utilisé pour l'engraissement des porcelets, des porcs, des poulets et des dindes ;
- Lavophospholipol utilisé chez les lapins, les poules pondeuses, les poulets d'engraissement, les dindes, les porcelets, les porcs, les veaux et le bétail d'engraissement.

Cette mesure fait partie de la lutte contre le développement des résistances aux antibiotiques qui deviennent une menace sérieuse et de plus en plus redoutée pour la santé humaine et animale. La chimioprévention requiert une bonne utilisation des produits. Ainsi des programmes d'alternance d'anticoccidiens « shuttle » et « rotation » sont utilisés dans le but d'éviter l'émergence de la résistance aux anticoccidiens.

Des tests de sensibilité ou d'anticoccidiogrammes permettent de déterminer les changements de sensibilité des coccidies aux anticoccidiens et de proposer l'utilisation d'un ou de plusieurs anticoccidiens trouvé (s) plus efficace (s) que celui ou ceux utilisés sur le terrain. Elle constitue une méthode de lutte efficace et la plus économique, à ce jour, contre la coccidiose (Naciri, 2001).

Dans plusieurs pays, l'addition de coccidiostatiques aux aliments de commerce est réglementée. En France, elle n'est autorisée que pour des sujets de moins de 12 semaines. Donc, ces produits ne sont pas utilisés pour les pondeuses ; par contre, chez les poulets de chair, on interrompt l'administration de coccidiostatiques 4 jours au moins avant l'abattage (Vercruysse, 1995).

**Tableau 7**: Principaux coccidiostats utilisés chez la volaille (Naciri, 2001; Depeche, 1991)

Noms des produits (ND)	Famille	Espèces animales	Dose en ppm		Limite d'administration	Mode d'action
			Mini.	Max.		
Amprolium (Amprol <sup>ND</sup> ) Ethopabate	Synthèse	Poulets de chair	66.5	133	3 jours avant l'abattage	Permet l'excrétion de quelques ookystes de <i>E.tenella</i>
Décoquinate	Synthèse	Poulet de chair	20	40	3 jours avant 1'abattage	
Diclazuril	Synthèse	Poulets de chair	1	1	5 jours avant l'abattage	
DOT (Zaolène <sup>ND</sup> )	Synthèse	Volailles	62.5	125	3 jours avant l'abattage	
Méticlorpindol (Coyden 25 <sup>ND</sup> )	Synthèse	Poulets de chair	125	125	5 jours avant l'abattage ou dès l'âge de la ponte	
Monensin sodium (Elancoban <sup>ND</sup> )	Ionophore	Poulets de chair	100	125	3 jours avant l'abattage 16 16	Permet l'excrétion ookystale
Robenidine (Robenz <sup>ND</sup> )	Synthèse	Poulets de chair	30	36	5 jours avant 1'abattage	coccidiocide
Méticlorpindol Méthylbenzo- quate	Synthèse	Poulets, de chair Poulettes	110 220	110 220	5 jours avant l'abattage ou dès l'entrée en ponté2	Coccidiostatique E. tenella Coccidiocide : E acervulina
Lasalocid sodium (Avatec <sup>ND</sup> )	Ionophore	Poulets de chair Poulettes	75 90	125 125	5 jours avant l'abattage	Permet l'excrétion ookystale
Halofuginone Sténorol	Synthèse	Poulets de chair	2	3	5 jours avant l'abattage	Coccidiostatique  E. tenella  Coccidiocide: E  acervulina
Narasin (Monteban <sup>ND</sup> )	Ionophore	Poulets de chair	60	70	5 jours avant l'abattage	Permet l'excrétion ookystale
Salinomycine sodium (Saccoz <sup>ND</sup> )	Ionophore	Poulets de chair	50	70	5 jour's avant l'abattage	Permet l'excrétion ookystale
Nicarbazine (Nictazine <sup>ND</sup> ) (Carbigran <sup>ND</sup> )	Synthèse	Poulets de chair	100	125	4 semaines avant l'abattage	coccidiocide

#### 9.2.2. La vaccination

C'est une alternative nouvelle par rapport à la chimioprévention, mais elle n'est cependant pas encore bien répandue. Il existe différents types de vaccins :

- Des vaccins vivants virulents contre les coccidioses du poulet et du dindon (Coccivac et Immucox respectivement aux Etats-Unis et au Canada). Ils sont interdits en France; car ils sont composés de souches virulentes et leur utilisation risque d'introduire des coccidioses.
- Des vaccins vivants atténués : Il s'agit de vaccins tels que Paracox®-8, Paracox®-5 et Livacox®. Le Paracox®-8 (8 souches d'Eimeria) est destiné aux volailles à vie longue (reproducteurs, poules pondeuses, poulets labels) ; tandis que le Paracox®-5, récemment mis sur le marché, est réservé au poulet de chair. Ce dernier est plus facilement disponible et moins onéreux que le Paracox®-8, mais encore d'un coût nettement supérieur à la chimioprévention. Ce vaccin représente une alternative intéressante pour une production de poulet de chair sans anticoccidiens, sans changement d'aliment (période de retrait) et sans problèmes de résistance. Cependant, le vaccin idéal serait un vaccin recombinant (Naciri, 2001).

# CHAPITRE III: Etude ethnopharmacologique des plantes médicinales

# 1. L'espèce Peganum harmala L.

# 1.1. Nomenclature de la plante

Peganum harmala appartient à la famille des Zygophyllaceae, genre Peganum et espèce harmala. Les noms commun de Peganum harmala: Harmel; Armel; L'Harmel (au Maghreb); Bender tiffin en Tamachek (Touareg); Rue sauvage; Rue verte; Pégane (en France); Harmel Sahari (en Algerie); Bizr el harmel (en Egypte).

# 1.2. Description

Le harmel est une plante herbacée, vivace, glabre, buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur à rhizome épais, à odeur forte, désagréable qui rappelle celle de la rue. Les tiges dressées, très rameuses disparaissent l'hiver ; elles portent des feuilles alternes, découpées en lanières étroites. Les fleurs solitaires, assez grandes (25 à 30 mm), d'un blanc-jaunâtre veinées de vert (figure 15) sont formées de :

- cinq sépales verts, linéaires, persistants qui dépassent la corolle.
- cinq pétales elliptiques.
- dix à quinze étamines à filet très élargi dans leur partie inférieure.
- l'ovaire, globuleux, repose sur un disque charnu et aboutit à un fruit qui est une capsule sphérique, à trois loges, de 6 à 8 mm déprimée au sommet, entoure des sépales persistants et s'ouvrant par 3 ou 4 valves pour libérer les graines.
- les graines (figure 15) nombreuses, petites, anguleuses, subtriangulaires, de couleur marron foncé, dont le tégument externe est réticulé et renferme un pigment rouge connu sous le nom de "Turkey red". Les graines ont une saveur amère et sont récolté en été (Ozenda, 1977 ; Quezel and Santa, 1963 ; Chopra et *al.*, 1960).



**Figure 15**: Image des fleurs de *Peganum harmala* (Trabsa, 2011).

# 1.3.Distribution géographique

Cette plante est largement distribuée à travers le monde. Elle est particulièrement rependue dans les zones arides et sèches méditerranéennes sur les sols sableux et légèrement nitrés (Iserin, 2001); en Europe (comme l'Espagne, la Russie, Hongrie), en Afrique (Maroc oriental, Sahara septentrional et hauts plateaux Algériens, Tunisie, steppes de la Lybie, déserts d'Egypte), et en Asie, elle est répandue dans les steppes de l'Iran, du Pakistan, du Turkestan jusqu'au Tibet et en Sibérie (Bézanger-Beauquesne et *al.*, 1980).

# 1.4. Composition chimique

*Peganum harmala* contient des acides aminés (valine, proline, thréonine, histidine, acide glutamique, l'aniline, N-phénylformamide, et N-acétylaniline phénylalanine), des carbohydrates, des flavonoïdes, des coumarines, des bases volatiles, des tanins, des stérols, et des triterpènes (Tahrouch et *al.*, 2002 et 1998; Harbome and Baxter, 1999; Sharaf et *al.*, 1997).

Une recherche sur les qualités organoleptiques de l'huile des graines de *Peganum harmala* a montré qu'elle était comestible (Siddiqui and Afza, 1978). Cette huile, composée majoritairement d'acide oléique, linoléique et palmitique (Al-Shamma and Abdul-Ghany, 1978; Kusmenoglu et *al.*, 1995) constitue 10 à 12% des graines.

Par ailleurs, la recherche sur les substances volatiles et les pigments anthraquinoniques reste très limitée (Tahrouch et *al.*, 2002 ; Zakirov et *al.*, 1994).

Cette plante est réputée pour sa richesse exceptionnelle en alcaloïdes (Harbome and Baxter, 1999) particulièrement dans les graines et racines [2–7%] (Frison et al., 2008) par rapport aux tiges [0,36 %] et feuilles [0,52 %]. Ces alcaloïdes (figure 16) sont de type b-carbolines [Harmaline ou harmidine ( $C_{13}$   $H_{14}$   $N_{20}$ ), Harmine ou banistérine ( $C_{13}$   $H_{12}$   $N_{20}$ ), Harmalol ( $C_{12}$   $H_{12}$   $N_{20}$ ), et Harmane ( $C_{12}$   $H_{10}$   $N_{2}$ )] (figure 16), et des dérivés quinazolines [vasicine  $C_{13}H_{15}ON_{2}$  (peganine) et vasicinone  $C_{11}H_{10}O_{2}N_{2}$ ] (Mahmoudian et al., 2002).

Leur teneur s'élève brusquement en été, durant la phase de mûrissement du fruit, au moment de la récolte de la graine. L'harmaline est un méthoxy-harmalol et une dihydroharmine, elle constitue les 2/3 des alcaloïdes totaux de la graine (Tahrouch *et al.*, 2002).

**Figure 16**: Structure chimique des alcaloïdes de type b-carboline (Mahmoudian et al., 2002).

# 1.5. Utilisation de la plante

# 1.5.1. Usage traditionnel

La plante *Peganum harmala* est très utilisée en médecine traditionnelle algérienne et maghrébine pour traiter différents troubles tel que (Hammiche and Merad, 1997) :

- Gynécologiques: emménagogue, abortif, stérilité féminine
- Généraux: hypnotique, antipyrétique, antalgique, et antitussif
- Digestifs: coliques, troubles digestifs
- Cutanés: antiseptique, cicatrisant, contre les dermatoses (eczémas), brûlures, conjonctivites purulentes, blépharites, et alopécie.
- Infectieux: tétanos néonatal; anthelminthique (ascaris, ténia).
- autres: sudorifique, dépuratif...etc.

Le harmel peut être utilisé soit en usage externe, soit "per os". Quelques formes en usage au Maghreb sont rapportées ci-dessous (Hammiche and Merad, 1997):

## - Usage externe

Plante fraiche soit hachée et employée en cataplasmes, soit après extraction du suc pour la composition d'un liniment à base de graisse de mouton; plante sèche ou graines sous forme de fumigations; huile de graines obtenue par décoction de graines dans l'huile d'olive.

#### - Usage interne

Une cuillérée à café, soit environ 2.5 g de graines est employée en médecine traditionnelle nordafricaine : avalées telles quelles avec un verre d'eau ou mélangées au miel ou pilées avec de l'huile d'olive. La plante fraiche hachée est bouillie dans l'huile, et les feuilles sèches sont utilisées en décoction.

## 1.5.2. Usage thérapeutique

Les extraits de cette plante sont utilisés pour le traitement du diabète et l'hypertension artérielle (Caccamese et *al.*, 2005). Ils possèdent une activité antinflammatoire, antioxidante, hypothermique, analgésique, antitumorale, vasodilatatrice, antispasmodiques, abortive, antidépressive, et surtout des effets hallucinogènes (Farouk et *al.*, 2008; Berrougui et *al.*, 2006: Lamchouri et *al.*, 2006; Farzin and Mansouri, 2005; Chen et *al.*, 2005; Lamchouri et *al.*, 1999; Tse et *al.*, 1991).

Les alcaloïdes sont connus pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques, et antivirales, (Nenaah, 2010; Mahmoudian et *al.*, 2002; Bellakhdar, 1997). Ils possèdent également une activité anti-protozoaire notamment contre la leishmaniose (Yousefi et *al.*, 2009; Lala et *al.*, 2004), la theileriose méditerranéenne et tropicale (Mirzaei, 2007), le paludisme (Kayser, 2003), ainsi qu'un pouvoir insecticide sur *Schistocerca Gregaria* (Idrissi et *al.*, 2002) et nématicide contre *Meloidogyne ssp.*, nématodes à galles (El allagui et *al.*, 2007).

# 2. Le pollen

# 2.1. Description

Le pollen est cette substance naturelle que récoltent les abeilles et est indispensable à leur survie. Le mot « pollen » vient du grec palé, qui désigne la farine, la poussière. De fait, le pollen est constitué de grains minuscules composés d'une coque renfermant le gamétophyte mâle, c'est-à-dire l'élément producteur de gamète de la plante. Comme les plantes sont immobiles, elles ont besoin d'un agent de pollinisation qui transporte le pollen pour féconder d'autres plantes de la même espèce, brassage génétique oblige (Yang, 2005 ; Vaissière and Vinson, 1994 ; Lien I).

Sa taille [le diamètre peut varier de 2,5 à 300 microns] (Pham-délègue et *al.*, 2002), sa forme (boule, œuf, fuseau, tube, cube, tétraèdre...etc.), la présence ou non d'ornementations, font que chaque espèce végétale possède un grain de pollen qui lui est spécifique (figure 17A).

La couleur du pollen varie des tons de jaune, orange et même rouge sang ou violet jusqu'aux tons verts ou même très sombres, presque noirs. Celle-ci dépend des fleurs qui sont butinées (figure 17A).

Le grain de pollen comporte habituellement 2 cellules non cloisonnées et 2 noyaux: le noyau végétatif et le noyau reproducteur. La coque est constituée de deux couches : *l'intine* et *l'exine* (figure 17B).

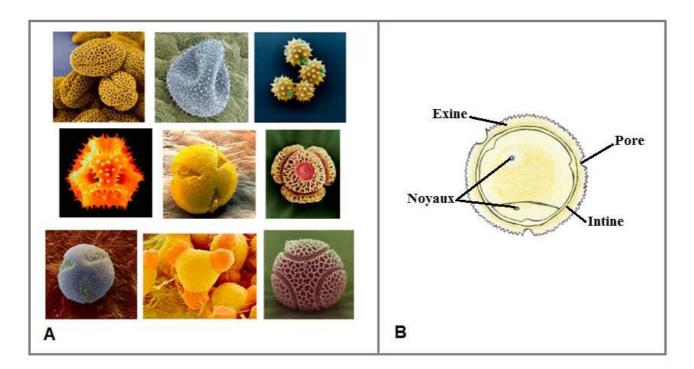


Figure 17: A- Grains de pollen de quelque plantes (Yang, 2005).

**B**- Structure d'un grain de pollen (Lien I).

La cellule est entourée de *l'intine*, une couche en fibres cellulosiques, qui protège le grain de l'écrasement.

A l'extérieur se trouve *l'exine* dont la surface est propre à chaque espèce de plante à fleur. L'exine peut résister à la décomposition ou la digestion, mais également aux rayons ultra-violets ou aux pathogènes selon l'épaisseur des diverses couches la composant.

L'ornementation du grain de pollen lui est spécifique tout comme la nature des substances plus ou moins visqueuses qui le recouvrent et qui forment le pollen-coat. Ces substances permettent la reconnaissance du stigmate pour le pollen et l'adhésion du grain sur le corps de l'insecte. Par ailleurs, l'un des éléments du pollen-coat (le pollenkitt) produit des composés volatils responsables de l'odeur du pollen (Pierre and Chauzat, 2005).

# 2.2. Récolte du pollen

#### 2.2.1. Par les abeilles

Au cours de l'évolution, deux stratégies de dissémination du pollen sont apparues, principalement les insectes pollinisateurs [entomophyles] et le vent [anémophyles] (Aupinel, 2009 ; Faegri and Vanderpijl, 1966) :

- Les pollens anémophyles sont protégés par des toxines. Les pollens de cyprès de dactyles et d'autres pollens de graminées ne sont pas butinés par l'abeille. Un seul épi de dactyle, par exemple, produit des millions de grains de pollen très petit, légers et munis de ballons pour être transporté par le vent. Le taux de protéines est infime. Ces pollens sont répulsifs pour l'insecte et pour l'homme, ils contiennent souvent de puissant allergènes;
- Les pollens entomophyles sont lourds, collants et nutritifs pour l'insecte. Ils sont riches en protéines (12 à 35%), en général autour de 20%. Mais ils sont souvent très riches en substances de protection pour préserver la viabilité de la cellule fécondante des agressions du soleil, de l'oxygène et de la dessiccation. Chaque plante a développé sa recette particulière pour attirer l'insecte avec le pollen le plus riche.

Les abeilles « *Apis mellifera* » (figure 18) jouent un grand rôle dans la reproduction des plantes entomophiles, car elles représentent un facteur de pollinisation de près de 95%. Le mécanisme est assez simple. Lorsque l'abeille se trouve à portée des étamines des fleurs, elle gratte le pollen avec ses mandibules et ses pattes antérieures. En même temps, elle l'humecte avec un peu de miel qu'elle aura pris soin de réserver dans son jabot avant le départ de la ruche. Pendant le vol, le pollen passe diagonalement de brosse en brosse et de patte en patte. Là, le pollen est recueilli et comprimé en pelote (Pouvreau, 2004 ; Bussieras, 1990). C'est en visitant d'autres fleurs aux organes femelles matures que les abeilles mettent le pollen dont elles sont couvertes en contact avec le pistil, permettant la fécondation (Aupinel, 2009).



Figure 18: Image d'une abeille (Apis mellifera) au cours de la pollinisation d'une fleur (lien J).

L'abeille retourne alors à la ruche pour s'accrocher à une cellule à pollen et décroche la pelote de ses pattes. N'oublions pas qu'une pelote de pollen représente la visite à plus de 300 fleurs pour une abeille. Elle pèse environ 0,006g. L'ouvrière en transporte 2 à la fois, soit 0,012g par abeille. Dans une bonne colonie, il y a environ 400 ouvrières qui rentrent avec du pollen chaque heure. Les entrées sont plus importantes en matinée que l'après-midi. On peut donc estimer à 50g la quantité de pollen qui entre chaque jour dans une ruche. Le pollen sert à la conception de l'aliment des larves, nourrit les ouvrières surtout dans les premiers jours après éclosion et entre dans la composition de la gelée royale (Gorenflot, 1997).

En plus du pollen, les abeilles ouvrières récoltent du nectar, des miellats, de l'eau à des fins de nutrition, ainsi que la propolis utilisée dans la construction du nid. Cette activité est appelée butinage (Aupinel, 2009 ; Bourg, 2006).

## 2.2.2. Par l'apiculteur

La récolte du pollen est une opération délicate qui doit être suivie avec attention. Le pollen sera récolté lorsque l'apport est important, c'est-à-dire par une journée de printemps chaude, à partir d'une ruche forte, où la population est importante, afin de diminuer les impacts négatifs sur la ruche.

On utilise dans ce but des trappes à pollen constituées essentiellement par des grilles en matière plastique installées à l'entrée des ruches. Les plus simples comportent des ouvertures rondes de 5 mm de diamètre. En passant à travers ces orifices, les abeilles sont obligées d'abandonner une partie de leur récolte, (environ 10 %), qui tombe dans un tiroir placé en dessous. La récolte du pollen freine l'activité de la colonie. Le ramassage du pollen doit se faire fréquemment pour éviter que l'humidité ne l'altère (Campos, 2008 ; Almeida-muradian et *al.*, 2005 ; Lien I).

La récolte de pollen ne pourra s'effectuer qu'une demi-journée à la fois et en rotation sur les ruches les plus fortes car d'une part, la ruche doit avoir un apport quotidien en pollen, car seule source de protéines pour le couvain, et d'autre part, les abeilles finissent au bout de quelques heures par trouver une manière de se faufiler pour quand même conserver le pollen qu'elles ramènent (Bourg, 2006).

La récolte de pollen, en particulier celui des graminées, herbacées ou arbres, est couramment effectuée à l'aide de machines qui tournent dans les champs pendant les mois de fin de printemps et d'été. Ces machines comportent un châssis motorisé sur lequel sont montés des têtes de récolte raccordé à un ventilateur d'aspiration, lui-même associé à une trémie de récupération des pollens (Lafargue, 2011).

## 2.2. Conservation du pollen

Une fois collecté, le pollen contient 20-30g eau/100g. Cette importante humidité est idéale pour le développement de microorganismes (bactéries et champignons). Afin de préserver l'intégrité physiologique du pollen et plus particulièrement sa viabilité et ses propriétés biologiques plusieurs moyens de conservation et de stockage existent (Mărgăoan et *al.*, 2010).

Le pollen collecté doit être directement conservé au congélateur dans un récipient bien hermétique (Bogdanov, 2004). La congélation ne modifie pas la composition chimique du pollen. Cette méthode de conditionnement est plus commode lorsque le pollen est utilisé comme aliment ou pour ses effets thérapeutiques (Mărgăoan et *al.*, 2010).

Une autre méthode est le séchage. La température maximale recommandée est de 40°C. Cependant, la durée de séchage doit être courte afin de prévenir la libération des composés volatiles, et la réduction de la concentration en vitamine C, ainsi que celles des sucres, des protéines et de la provitamine A. Quelques types de pollen séchés peuvent rester stables durant 15 mois de stockage. Néanmoins, il a été montré qu'une période d'un an ou plus de stockage réduirait quelques propriétés biologiques du pollen, notamment son activité antioxydante (Campos, 2008).

La lyophilisation est également employée. Cette technique peut causer la diminution de la concentration en vitamine C et provitamine A dans le pollen.

La congélation ou la lyophilisation suivie d'une conservation du pollen dans le nitrogène liquide à -20°C est la technique la plus recommandée (Campos, 2008).

## 2.3. Composition chimique

La haute valeur biologique du pollen est due à la présence des acides aminés essentiels, des complexes de vitamines, de flavonoïdes et de caroténoïdes. A coté de ces composés, le pollen contient également des sels minéraux, des carbohydrates, de l'eau et des fibres végétaux. La composition chimique du pollen peut varier fortement en fonction de l'origine botanique et du mode de récolte. Ainsi, Le pollen récolté directement des fleurs contient une proportion importante en sucres, comparée avec celui collecté par les abeilles, car celles-ci le mélangent avec leur salive et le nectar des fleurs (Marghitas, 2005).

En moyenne, il contient 12% d'eau à l'état frais contre 4% une fois séché (Compos, 2008). En dehors des 83% de sucres, plusieurs classes de carbohydrates ont été identifiés : des monosaccharides (46% fructose, 37% glucose) et des disaccharides (8% sucrose, 7% maltose, 1% tréhalose, et turanose). La proportion totale des carbohydrates est de 13 à 55 g/100g de matière sèche (Szczęsna, 2007).

La concentration des protéines varie entre 10 à 40 g/100g matière sèche (Campos, 2008), et se présente principalement sous forme d'acides aminés combinés ou libres. Cette teneur varie en fonction des conditions climatiques, des caractéristiques du sol où poussent les plantes et de la saison. Par exemple, la teneur en protéine du pollen de maïs varie de 21,28 à 26,08%; celle du pollen de tournesol de 27,61 à 29,14%.

La proline est l'acide aminé majoritaire que ce soit dans le miel ou le pollen, avec des proportions qui peuvent dépasser largement la moitié de la concentration des acides aminés libres totaux. De plus, le pollen contient tous les acides aminés essentiels (Szczęsna *et al.*, 2006).

La concentration des lipides est évalué entre 1 et 13 g/100 g matière sèche (Campos, 2008). Ces lipides se présentent essentiellement sous forme d'esters d'acide gras. La majorité des types de pollen comportent des stérols dans leur composition, lesquels sont nécessaires dans le métabolisme du cholestérol par les abeilles.

Certains minéraux sont également présents dans le pollen (tableau 8). Ils se présentent principalement sous forme combinée aux acides aminés, phospholipides, et enzymes présents dans le pollen collecté par les abeilles (Marghitas, 2005).

Le pollen est classé à l'heure actuelle parmi les compléments alimentaires, car il est une source importante en nutriments essentiels, notamment en vitamines (Tableau 8).

La vitamine B<sub>2</sub> (riboflavine) a un important rôle dans la respiration cellulaire, dans le métabolisme des protéines, des lipides, des carbohydrates, et de certaines vitamines (vitamine B<sub>6</sub>, B<sub>9</sub> et B<sub>12</sub>). La riboflavine est stable durant la transformation et le conditionnement du pollen, mais elle sensible à la lumière (Santos Pereira, 2010).

De plus, le pollen contient une quantité significative de composés phénoliques, particulièrement les flavonoïdes (Almeida-Muradian, 2005). Ces derniers en plus des caroténoïdes forment les pigments qui déterminent la couleur des grains de pollen.

Les flavonoïdes définissent les couleurs rouge, rose, violet et bleu. Les caroténoïdes comportent une large famille de 600 composés de nature lipidique dérivés des isoprénoides, lesquels définissent différentes gammes de couleurs, du jaune pale au rouge sombre, et du rouge-orange au jaune-orange (Montenegro, 1997).

**Tableau 8** : Concentration des vitamines et minéraux présents dans le pollen récolté par les abeilles [en mg/kg] (Mărgăoan et *al.*, 2010)

Les minéraux			
Potassium	4000-20000	Fer	11-170
Magnésium	200-3000	Zinc	30-250
Calcium	200-3000	Cuivre	2-16
Phosphore	800-6000	manganèse	20-110
Les Vitamines			
β-Carotene	10-200	B5; acide Pantothénique	5-20
B1; Thiamine	6-13	B6; Pyridoxine	2-7
B2; Riboflavine	6-20	C; acide Ascorbique	70-560
B3; Niacine	40-110		

Les études les plus récentes concernant quelques paramètres caractérisant le pollen sont présentés dans le tableau 9 :

**Tableau 9 :** Quelques paramètres chimiques caractérisant le pollen (Stanciu, 2008).

Paramètres déterminés	Méthode utilisée
Eau	Karl Fisher titration
Protéines	Kjeldahl
Azote total	Kjeldahl
Acides aminés	HPLC (chromatographie liquide à haute pression) avec OPA (Ophtaldialdéhyde)
Les minéraux	TXRF (Total Refection X-ray Fluorescence)
Sucres réduits	Luff Schoorl
Lipides	Soxhlet extraction (petroleum ether) Soxhlet extraction (diethyl ether)
Saccharose Fructose Glucose	HPLC-PAD (Pulsed Amperometric Detector)
Caroténoïdes	Chromatographie en colonne
Vitamine C	AOAC (Association of Official Analytical Chemists) microfluorimétrie

## 2.4. Propriétés thérapeutiques du pollen

Le pollen est un complément alimentaire particulièrement riche et énergique. Or, le pollen renferme énormément d'acides aminés dont la totalité sont essentiels, un grand nombre de vitamines, des enzymes qui servent de catalyseurs dans de multiples processus chimiques organiques, et un vaste échantillonnage de substances minérales et d'oligo-éléments qui jouent un rôle capital dans de nombreux métabolismes cellulaires. Ces éléments sont indispensables à notre organisme et que malheureusement notre corps ne peut stocker. Il compense donc parfaitement les insuffisances que nous impose notre alimentation moderne.

Le pollen a été employé par l'homme pendant des siècles dans la médecine traditionnelle pour soulager le rhume, la grippe, l'ulcère gastrique, l'anémie, et les entérites, et utilisé comme substance tonique, stimulante et contre le vieillissement. De ce fait, le pollen a suscité la curiosité des scientifiques, et cela dans de nombreux domaines. Sa demande a été particulièrement importante en Asie et en Europe, par l'apparition de divers produits développés par les industries alimentaires et pharmaceutiques (Campos, 1997).

Le pollen est, comme le miel, une substance naturelle aux propriétés reconnues. Diverses études ont montré que ces extraits possèdent des fonctions anti-tumorales et immunomodulatrices, en régularisant le taux des espèces oxygénées réactives (Yang, 2007; Silva et *al.*, 2006).

Les B-carotènes présents dans le pollen sont la principale source de la provitamine A, qui est reconnue pour ces fonctions vitales dans la vision, la croissance et la reproduction. Sa déficience entraine de graves conséquences chez l'enfant, en particulier dans les pays sous développés. De plus, les B-carotènes modulent les réponses immunitaires, inhibent la mutagénèse, et bloquent les réactions occasionner par les radicaux libres. Des études épidémiologiques ont démontré qu'un régime riche en caroténoïdes diminuerait le risque d'apparition de certains types de cancer (Montenegro, 1997).

Le pollen est reconnu comme rééquilibrant fonctionnel. En effet, il aide à régulariser les fonctions hépatiques, digestives et rénales, et la perméabilité capillaire, mais également le taux du cholestérol dans le sang. Il a une action bénéfique sur la prostate (notamment l'hypertrophie bénigne et prévention du cancer de la prostate). Il peut être pris au titre de la prévention ou en accompagnement nutritionnel des médicaments (Cocan, 2005).

# 3. L'espèce Retama sphaerocarpa

# 3.1. Nomenclature de la plante

Retama sphaerocarpa (L.) Boisse appartient à la famille des Fabaceae, genre Retama et espèce sphaerocarpa. Les noms communs de cette plante sont : en arabe « Rtem (Quezel et Santa, 1962-1963) », en berbère « Tillugwît, îllugwît, allugût, talggût (Bellakhdar, 1997) » et en français « Rétame (Quezel et Santa, 1962-1963) ».

# 3.2.Description de la plante

Retama sphaerocarpa (L.) Boisse est une légumineuse arbustive vivace, de 1 à 2 m de haut, à rameaux pubescents plus au moins dressés (figure 19). Elle porte un grand nombre de branches vertes de différentes longueurs donnant à l'espèce une structure ouverte, et représentant la majorité de sa biomasse aérienne. Les feuilles caduques sont très petites ; les fleurs sont jaunes et très petites de 5 à 6 mm, en grappes latérales de 8 à 15 fleurs disposées sur des rameaux. Les fruits sont sous forme de gousses globuleuses et de couleur jaune brun de 7-13×5-7 mm. Ils sont couverts par une couche dure et germent en hiver [Janvier–Février] (Domingo et *al.*, 1997, 1998, et 1999 ; Quezel and Santa, 1962).



Figure 19: L'espèce Retama sphaerocarpa (Boussahel, 2010).

# 3.3.Distribution géographique

Retama sphaerocarpa est une espèce endémique du bassin méditerranéen. Elle se trouve principalement entre 0 et 1400m d'altitude, dans des climats humides et arides, et dans les régions ouvertes, sèches et ensoleillées, notamment les dunes côtières, les maquis, et les déserts. (Allen and Allen, 1981). Elle se trouve principalement en petite Kabylie, Ghardaïa, Djebel Amour et les plaines de Batna (Zohary, 1962).

### 3.4. Composition chimique

Plusieurs alcaloïdes ont été isolés à partir de *Retama sphaerocarpa* : la cytisine, la spherocarpine, l'anagyrine, l'ammodendrine, la lupamine et la rétamine (Unesco, 1995).

El-Shazly et *al.*, (1996) ont pu isoler des alcaloïdes quinolizidiniques à partir des fleurs et des tiges de cette plante ; la sparteine a été l'alcaloïde le plus abondant dans les tiges et l'anagyrine dans les fleurs. Plusieurs travaux ont également révélé la présence dans la partie aérienne de *Retama sphaerocarpa* des flavonoïdes tel que le rhamnasine (Louar et *al.*, 2005).

### 3.5. Utilisation de la plante

### 3.5.1. Usage traditionnel

En Algérie, *Retama sphaerocarpa* est utilisée comme drogue nommée "chemma" préparée à partir des rameaux de l'espèce.

Selon Bellakhdar, (1997) l'espèce est utilisée traditionnellement sous des formes différentes:

- Les tiges et les feuilles mélangées avec du miel sont utilisées comme vomitif. La décoction des feuilles est employée comme purgatif et vermifuge.
- La poudre des feuilles et des fleurs séchées de l'espèce est utilisée comme cicatrisante lors des circoncisions, et comme vulnéraire, antiseptique et sédative dans les soins locaux des plaies, blessures, ulcérations de la peau et boutons purulents. La plante broyée dans du lait ou du beurre est utilisée pour les mêmes indications, et la décoction s'emploie en frictions contre le prurit et la gale humaine et animale.
- Les racines de cette espèce sont très utilisées comme abortif, en fumigations ou en lavements vaginaux.
- La plante a été utilisée pour empoisonner les puits pendant la guerre des tribus au Maroc ; au Sahara, les tiges de Rétama sont employées pour faire des points de feu contre diverses algies dans la sciatique.
- En Algérie, le pain accompagné avec la tisane des branches de *Retama sphaerocarpa* ont été utilisé pour guérir la rage chez l'homme. De plus, ces branches sont données à manger telles quelles aux animaux atteints de rage.

### 3.5.2. Usage thérapeutique

Les études de López-Lázaro et al., (2000) ont démontré l'activité cytotoxique de sept flavonoïdes isolés de 3 types d'extraits (chloroforme, éthyle acétate et butanol) des parties aériennes de *Retama sphaerocarpa*, contre trois lignées cellulaires cancéreuses humaines ; Le flavonole rhamnasine a été le plus cytotoxique.

D'autre part les alcaloïdes de *Retama sphaerocarpa* sont reconnus pour leurs effets ocytocique et hallucinogène (El Shazly et *al.*, 1996).

Une activité antimicrobienne des feuilles de *Retama sphaerocarpa* a été également observée, notamment contre *Staphylococcus aureus* (Louar et *al.*, 2007).

# MATERIELS ET METHODES

### I. MATERIELS

### 1.1. Sélection des plantes

Le matériel végétal ayant fait l'objet de l'étude comprend des graines de l'espèce *Peganum harmala* qui proviennent de Chelghoum El aïd, wilaya de Mila (figure 20.A). Elles ont été nettoyées des impuretés, desséchées à température ambiante et à l'ombre pendant quelques jours, puis réduit en poudre à l'aide d'un mixer électrique pour avoir une poudre à partir de laquelle l'extrait a été préparé.

Les grains de pollen ont été achetés au commerce local et conservé au réfrigérateur. D'après la couleur des grains (figure 20.B et C), l'échantillon comportent une mixture de plusieurs types de pollen issus de différentes espèces de plantes dont l'origine est inconnue.

Quant aux rameaux de l'espèce *Retama sphaerocarpa*, ils ont été récoltés par l'équipe du laboratoire de physiologie animale de l'Université Ferhat Abbes de Sétif en octobre 2009, à Elgosbat Djebel Guetiane, Daïra de Ras-El-Aïoun, Wilaya de Batna (figure 21). Ils ont été nettoyés, desséchés et réduit en poudre à l'aide d'un mortier pour obtenir une poudre à partir de laquelle les extraits ont été réalisés (Boussahel, 2010).

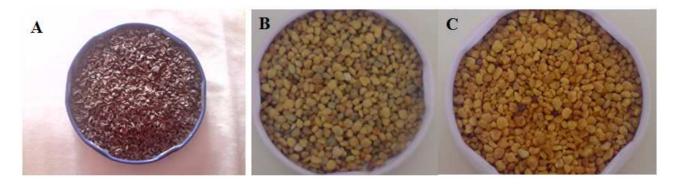


Figure 20: A. Graines de Peganum harmala, B et C. Grains de Pollen



**Figure 21** : *Retama sphaerocarpa*. (A) L'espèce dans son milieu naturelle. (B) Les rameaux de la plante. (Boussahel, 2010)

### 1.2. Sélection des sujets ayant fait l'objet de prélèvement

L'étude pratique a été menée sur des cadavres de volailles (Poulets de chair) durant la période s'étalant du mois de janvier au mois de décembre 2011, au niveau du laboratoire de microbiologie de l'Université Ferhat Abbes de Sétif (figure 22). Les prélèvements proviennent directement des élevages avicoles des secteurs privés ou étatiques, à la demande des vétérinaires praticiens de différentes régions de l'Est algérien. Les animaux ayant fait l'objet de l'étude sont au nombre de 15 sujets.



Figure 22 : Deux sujets suspectés d'être infectés par la coccidiose.

### 1.3. Prélèvement des échantillons

Les intestins sont retirés des carcasses et leurs faces externe et interne ont été examinées. Le prélèvement des matières fécales a été effectué par raclage à différents niveaux des intestins en plusieurs endroits (figure 23) afin de récupérer la totalité du contenu (Conway and McKenzie, 2007).

Les différents échantillons ont été répartis dans des pots en plastique, et conservés à une température de 5 à 10°C.

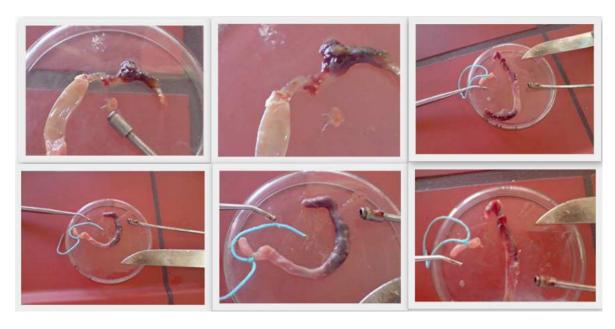


Figure 23 : Raclage des différents intestins et récupération des échantillons.

### 1.4. Produits chimiques

Plusieurs réactifs chimiques ont été utilisés dans notre étude : Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>:2H<sub>2</sub>O, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KCl, NaCl, NaOH, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, HBSS (Hank's Balanced Solution without sodium bicarbonate and phenol red), et l'agar proviennent tous de Sigma-Aldrich, et le solvant méthanol a été obtenu de Prolabo. La PénicillineV 1million UI et le Fluconazole 50mg ont été procuré à la pharmacie.

Les anticoccidiens utilisés dans l'expérimentation sont la Sulfaquinoxaline sodique triméthoprime, et le Toltrazuril (tableau 10). Ils ont été testés à des concentrations recommandées par les fabricants.

Caractéristiques: la Sulfaquinoxaline sodique triméthoprime et le Toltrazuril appartiennent au groupe des sulfamidés. Ce sont des substances bactériostatiques dont le spectre comprend les bactéries GRAM+ et GRAM- aérobies et anaérobies, les chlamydies, les toxoplasmes et les coccidies. Les pseudomonades, les mycoplasmes et les spirochètes sont naturellement résistants. Les sulfamidés sont surtout utilisés dans le traitement des coccidioses (volaille, ruminants) ou des infections urinaires et digestives chez les carnivores. Ils agissent par inhibition compétitive de l'incorporation de l'acide para-aminobenzoïque (PABA) dans la chaîne de synthèse d'acide folique par l'enzyme dihydroptéroate synthétase.

Le triméthoprime est une substance bactériostatique inhibant aussi la synthèse de l'acide folique, dont la cible enzymatique, l'enzyme dihydrofolate réductase, est différente de celle des sulfamidés. Cette double activité sur deux enzymes différents d'une même chaîne métabolique est à la base de la synergie entre sulfamidés et triméthoprime (Nicolle, 2003; Poros-Gluchowska et *al.*, 2003; Conner, 1997).

**Tableau 10**: Composition et posologie des anticoccidiens testés dans l'étude.

Anticoccidiens	Sulfaquinoxaline so triméthoprime (VETA	-	Toltrazuril (BaycoxND)		
Composition	Sulfaquinoxaline Triméthoprime Excipient (bétaine)	20,121g 6,25g 100g qsp	Totrazuril Excipient	2,5g 100ml	
Utilisation	Poudre orale utilisé à 0,8g d'eau de boisson.	par un litre	e Solution orale utilisé à 7mg/ kg poids vif/jour correspondant à 28ml/100kg.		

### 1.5. Appareillage

La liste des différents appareils utilisés lors de l'expérimentation est la suivante :

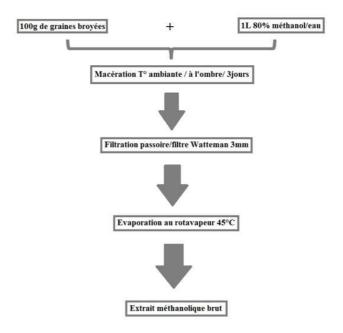
- Rotavapeur de type BÜCHI
- Centrifugeuse HETTICH UNIVERSAL 2S
- Microscope optique
- Cellule de Malassez (MARIENFIELD)
- Oculaire micrométrique et micromètre objectif
- Incubateur orbital/shaker SI50 (STUART SCIENTIFIC)
- Centrifugeuse à froid
- Spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau (Techcomp)

### II. METHODES

### 2.1. Préparation des extraits de plantes

### 2.1.1. Extrait méthanolique de Peganum harmala

L'extrait méthanolique des graines de *Peganum harmala* (harmel) a été préparé à partir de 100g de poudre qui a été mise à macérer dans un litre d'un mélange hydro-alcoolique méthanol/eau (80/20 : V/V), à température ambiante et à l'ombre pendant 3 jours (Mbiantcha et *al.*, 2011). Ensuite, la solution a été filtrée par une passoire pour éliminer les débris, et passée à travers du coton hydrophile. Le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un rotavapeur de type BÜCHI, à une température de 45°C (figure 24). L'extrait obtenu a été conservé au congélateur jusqu'à son utilisation.



**Figure 24:** Représentation schématique des différentes étapes de la préparation de l'extrait méthanolique des graines de *Peganum harmala*.

### 2.1.2. Extrait méthanolique des grains de pollen

L'extrait méthanolique des grains de pollen a été préparé selon la méthode décrite par Kroyer and Hegedus.. Une quantité de 100mg de pollen ont été ajouté à 100ml d'un mélange hydro-alcoolique méthanol/eau (80/20 : V/V), et mise à macérer dans un bain marie à 60°C pendant 4 heures. La préparation est agitée sur agitateur magnétique pendant une heure, et placée ensuite dans une ampoule à décanter pendant 24heures afin d'obtenir un surnageant et un précipité (figure 25). Après avoir été filtrée sur coton hydrophile, le surnageant est passé dans un rotavapeur de type BÜCHI, à une température de 45°C afin de récupérer l'extrait. Celui-ci est conservé au congélateur jusqu'à son utilisation.

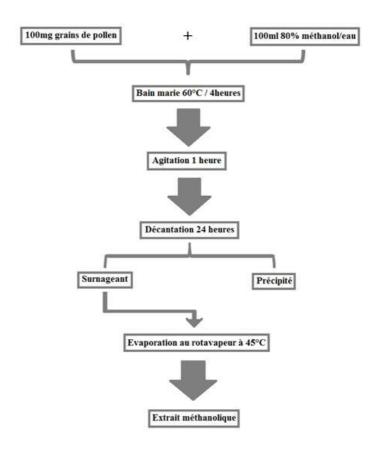


Figure 25: Préparation de l'extrait méthanolique du Pollen.

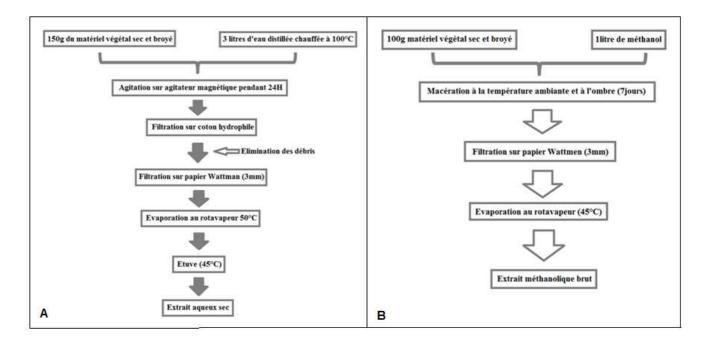
### 2.1.3. Les extraits de Retama sphaerocarpa

### a. Extrait aqueux

L'extrait aqueux de la plante a été obtenu à partir de 150g de poudre des rameaux infusée dans 3 litres d'eau distillée préalablement chauffée à 100°C. Ce mélange a été agité pendant 24 heures sur un agitateur magnétique. Après une période de décantation durant quelques heures, le surnageant a été filtrée sur du coton hydrophile puis sur papier Wattman (3mm). L'eau de la solution a été évaporée à 50°C à l'aide d'un rotavapeur de type BÜCHI, puis à l'aide d'une étuve à 45°C (Boussahel, 2010; Soro et *al.*, 2009; Nene-Bi et *al.*, 2009). L'extrait sec obtenu a été conservé au congélateur jusqu'à son utilisation (figure 26A)

### b. Extrait méthanolique

L'extrait méthanolique des rameaux de *Retama sphaerocarpa* a été préparé à partir de 100g de poudre de rameaux qui a été mise à macérer dans 1 litre de méthanol, à la température ambiante et à l'ombre pendant 7 jours. Ensuite la solution a été filtrée sur filtre Wattman (3 mm) et le solvant a été récupéré du filtrat par évaporation dans un rotavapeur de type BÜCHI, à une température de 45°C. L'extrait obtenu a été conservé au congélateur jusqu'à son utilisation (figure 26B).



**Figure 26**: Protocole de préparation de l'extrait aqueux et méthanolique de *Retama sphaerocarpa* (Boussahel, 2010).

### 2.2. Préparation des milieux de culture

La préparation des différents milieux de culture et les tests biologiques ont été effectués le même jour afin d'éviter toute contamination microbienne qui peut fausser les résultats.

### 2.2.1. Solution d'HBSS agar

Une quantité de 900mg d'HBSS (Hank's Balanced Solution without sodium bicarbonate and phenol red) dont la composition est résumée dans le tableau, a été dissoute dans 100ml d'eau distillée par agitation magnétique. On a ajouté ensuite à cette solution, de la pénicilline 100UI/ml comme antibiotique, et du Fluconazol 17mg/ml comme antifongique. Cette solution a été stérilisée à la fin par filtration sur filtre de 0,2µm de diamètre.

**Tableau 11**: Composition de la solution HBSS 9g/l (Hank's Balanced Solution without sodium bicarbonate and phenol red), Sigma Aldrich.

Composant	Concentration (g/l)		
Chloride de Calcium (anhydre)	0,1396		
Sulfate de Magnésium	0,09767		
Chloride de Potassium	0,4		
Potassium phosphate monobasique (anhydre)	0,06		
Chloride de Sodium	8,0		
Sodium phosphate dibasique (anhydre)	0,04788		
D-glucose	1,0		

Une solution semi-liquide de 0,2% d'agar a été également préparée et stérilisée dans l'autoclave à 120°C pendant 30mn.

Les deux solutions d'HBSS (100ml) et d'agar (100ml) ont été mélangées vigoureusement sur agitateur magnétique dans des conditions stériles afin d'éviter toute contamination.

### 2.2.2. Solution tampon PBS (phosphate buffered saline)

Une solution d'un litre de PBS a été préparée à partir de NaCl, KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O, et KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Leurs concentrations (g/l) sont résumées dans le tableau suivant :

**Tableau 12**: Composition chimique de la solution tampon PBS (Remmal et *al.*, 2011).

Composant	Molarité	Concentration
NaCl	137mM	8,0g/l
KC1	2,7mM	0,2g/l
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O		1,13g/l
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,76mM	0,2g/l

On a ajouté à 100ml de PBS de la pénicilline 100UI/ml et du Fluconazol 17mg/ml. Le pH a été ajusté à 7,4 et la solution a été ensuite stérilisée par filtration sur filtre de 0,2µm de diamètre.

### 2.3. Analyse coprologique

### 2.3.1. Examen microscopique direct

Cet examen permet de confirmer la présence des coccidies dans les différents échantillons de raclage. Ces derniers ont été homogénéisés avec de l'eau distillée au moyen d'un mortier. Les différentes préparations qui en résultent sont ensuite tamisées à travers une passoire afin d'éliminer les gros débris gênants. A l'aide de coton tiges, une quantité de matières fécales a été prélevée en superficie et en profondeur à différents endroits des préparations, et passée sur une lame porte objet et recouverte d'une lamelle. Les différentes lames ont été par la suite observées au microscope optique aux objectifs x 40 et x 100 (Bowman, 1999 ; Hendrix, 1998).

### 2.3.2. Conservation des échantillons

Une fois l'examen microscopique a confirmé la présence d'oocystes d'*Eimeria sp*, les différentes préparations ont été mélangées et pesées. Une solution de 2% de bichromate de potassium  $K_2Cr_2O_7$  a été préparée et ajoutée comme solution de conservation aux matières fécales dans un ratio de 10ml pour 2g. La suspension a été ensuite homogénéisée sur agitateur magnétique et conservée à une température de 4-10°C pour des analyses ultérieures (Conway and McKenzie, 2007).

### 2.3.3. Méthode d'enrichissement ou flottaison (concentration des oocystes)

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 (Euzeby, 1981). Elle repose sur l'utilisation de solutions dont la densité 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). Cette technique a été réalisée de la manière suivante :

La suspension parasitaire (5ml) a été d'abord répartie dans des tubes en plastiques et lavés trois fois pour éliminer le bichromate de potassium dans 50ml de PBS (Phosphate buffer salin) pH 7,4 à 3000 tours pendant 15 minutes dans une centrifugeuse de type HETTICH UNIVERSAL 2S. Les culots de centrifugation ont été récupérés en fur et à mesure et pesés.

La solution, appelée liquide d'enrichissement, a été préparée à partir de 400g de NaCl dans 1 litre d'eau distillée dans une fiole jaugée de 1000 ml. 60 ml de la solution ont été progressivement ajoutées aux 2 gr de la suspension parasitaire lavée. La préparation a été ensuite homogénéisée à l'aide d'une spatule et filtré sur une passoire à thé sous laquelle on a pris soin de déposer un récipient en plastique. Le mélange est laissé 15 à 20 minutes pour obtenir une répartition régulière des oocystes.

Le liquide en surface est récupéré et centrifugé à 3000 tours pendant 15 minutes afin d'éliminer le NaCl en ajoutant de l'eau distillée. Une partie de l'échantillon parasitaire a été conservé dans du bichromate de potassium 2% à raison d'un volume pour cinq (Yim et *al.*, 2010), et l'autre partie a été placée au réfrigérateur à 4-10°C pour le dénombrement parasitaire.

### 2.3.4. Dénombrement des oocystes

Le dénombrement des oocystes présents dans l'échantillon initial (le témoin), mais également ceux testés au cours de l'étude de l'effet anticoccidien des extraits de plante a été réalisé à l'aide d'une lame hématocytomètre de type Malassez (Conway and McKenzie, 2007).

Cette lame se compose de deux cellules séparées (figure 27). Dans chaque cellule, est dessinée un quadrillage ou une grille divisée en 25 cavités ou rectangles où l'on va pouvoir compter le nombre de coccidies. Chaque rectangle a une surface de 1/20 mm². Chaque cavité contient donc 1/100mm³ de liquide.

Après avoir effectuer la mise en point au microscope optique au grossissement x25 puis x40, chaque cellule de la lame est remplie par l'échantillon et couverte par une lamelle. Après un temps d'attente d'environ 7 minutes permettant aux bulles d'air de s'échapper et aux œufs de monter à la surface du liquide d'enrichissement et d'adhérer à la lamelle couvrant la cellule, le comptage des oocystes est effectué dans 4 ou 5 rectangles (de préférence du coins) de chaque cellule (figure 27). Deux comptages par échantillons sont effectués. Si la différence entre les deux comptages est supérieure à 10 %, un troisième comptage est réalisé. Après avoir déterminé le nombre moyen d'oocystes par chambre, celui-ci est multiplié par 100 et par le coefficient de dilution pour obtenir le nombre d'œufs par mm³=10-3 ml.

### 2.3.5. Identification des espèces par morphométrie

L'identification des espèces d'Eimeria présentes dans l'échantillon a été effectué en se basant sur la conformité de la forme (figure 29) et des dimensions de 100 oocystes avec celle indiquées par Reid et al., (tableau 13). La mesure de la longueur et de la largeur des oocystes ainsi que leur rapport a nécessité l'utilisation du micromètre oculaire (ou oculaire micrométrique). Il correspond à une échelle de 100 graduations équidistantes (Conway and McKenzie, 2007).

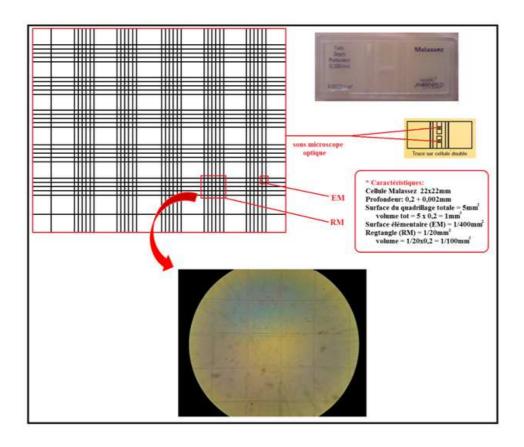
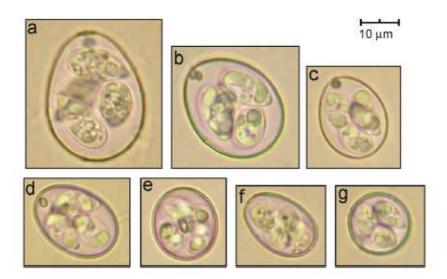


Figure 27 : Dénombrement des oocystes par la lame type Malassez.



**Figure 28**: Images d'oocyste des sept espèces d'Eimeria spécifique du poulet (Castañóna et *al.*, 2007); (a) *E. maxima*, (b) *E. brunetti*, (c) *E. tenella*, (d) *E. necatrix*, (e) *E. praecox*, (f) *E. acervulina*, et (g) *E. mitis*.

**Tableau 13 :** Taille des oocystes d'*Eimeria sp* (Reid et *al.*, 1978).

Taille (mm)	Extrêmes		Moyenne		Longueur / Largeur
Espèces	Longueur	Largeur	Longueur Largeur		
Eimeria tenella	19.5	16.5	22.0	19.0	1.01
	26.0	22.8			
Eimeria necatrix	13.2	11.3	20.4	17.2	1.19
	22.7	18.3			
Eimeria brunetti	20.7	18.1	24.6	18.8	1.31
	30.3	24.2			
Eimeria maxima	21.5	16.5	30.5	20.7	1.47
	42.5	29.8			
Eimeria acervulina	17.7	13.7	18.3	14.6	1.25
	20.2	16.3			
Eimeria mivati	11.1	10.5	15.6	13.4	1.16
	19.9	16.2			
Eimeria mitis	14.3	13.0	16.2	16.0	1.01
	19.6	17.0			
Eimeria praecox	19.8	15.7	21.3	17.1	1.24
	24.7	19.8			
Eimeria hagani	15.8	14.3	19.1	17.6	1.08
	20.9	19.5			

Avant de réaliser les différentes mesures des oocystes, l'échelle du micromètre oculaire, qui est inconnue, a été déterminée par son étalonnage à l'aide d'un micromètre objectif ou plaque micrométrique (figure 29). On a procédé de la manière suivante (OMS, 1997) :

- L'échelle oculaire est divisée en 100 petites divisions (figure 30) ;
- L'échelle du micromètre objectif (ou lame micrométrique) représente 1mm divisée en fractions de 0,1mm, elles-mêmes divisées en fractions de 0,01mm =10μm (figure) c'est-à-dire :

Sur la lame micrométrique, 100 graduations = 1 mm = 1000 μm

→ entre 2 graduations successives du micromètre objet, il y a donc 10 μm

- Le micromètre oculaire est inséré dans l'oculaire, en enlevant les lentilles supérieures et en posant sur le diaphragme de champ.
- Le micromètre objectif est placé ensuite sur la platine du microscope, et mise en point avec l'objectif x40.
- Les deux échelles (oculaire + objectif) sont assemblées en déplaçant la préparation micrométrique ; on fait coïncider les graduations du micromètre oculaire avec celle du micromètre objet, et on choisit deux graduations superposées.
- En faisant tourner l'oculaire (figure 30), on note le nombre de divisions de l'oculaire et leur dimensions sur le micromètre objectif, par exemple, 50 divisions de l'oculaire = 0,75mm; 10 divisions de l'oculaire = 0,15mm.
- A partir de ce résultat, on calcule la valeur d'une division de l'oculaire comme suit : 50 divisions de l'oculaire = 0,75mm → 1 division de l'oculaire = 0,75/50 = 0,015mm ou 10 divisions de l'oculaire = 0,15mm → donc 1 division de l'oculaire = 0,15/10= 0,015mm.

- On passe des millimètres aux micromètres (1mm =  $1000\mu$ m), donc on aura 0.015mm =  $15\mu$ m.
- L'opération a été répétée trois fois sous l'objectif x40.

Une fois l'échelle du micromètre oculaire a été déterminée, il suffit ensuite de faire les mesures des oocystes (longueur et largeur) avec l'oculaire et de les multiplier par le coefficient préalablement trouvé.

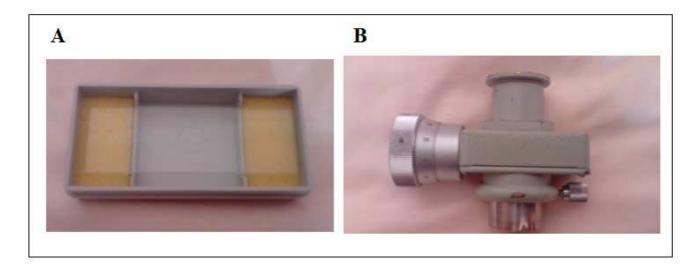
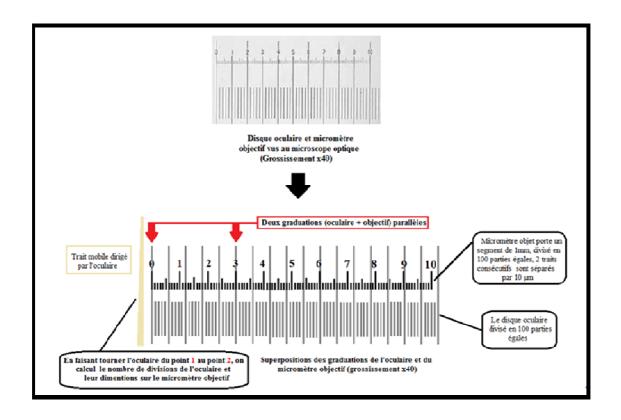


Figure 29: Micromètre objectif (A) et micromètre oculaire (B).



**Figure 30**: Etalonnage du micromètre oculaire par la plaque micrométrique (ou micromètre objectif).

### 2.4. Etude de l'activité anticoccidienne des extraits de plantes

L'étude de l'activité anticoccidienne des extraits de plante contre *Eimeria sp.* a été réalisée selon les méthodes décrites par Remmal et al. (avec modification).

Les différents extraits ont été dissous dans 50% méthanol/eau V/V ou de l'eau distillée suivant la méthode d'extraction dans un bain marie à 45°C. Les anticoccidiens Sulfaquinoxaline sodique triméthoprime et le Toltrazuril ont été dissous quant à eux dans de l'eau distillée.

### 2.4.1. Effets des extraits de plantes sur le nombre d'oocystes et détermination de la LC50

Une plaque de 96 puits est ensemencée avec le milieu de culture HBSS-Agar à raison de 140µl par puit. Les concentrations testées des extraits sont 5mg, 10, 20, et 30mg/ml, et chacune d'elle a été répétée deux fois. En final, Chaque deux colonnes de la plaque correspondent à une plante précise (figure 31). Pour chaque concentration testée (40µl), un volume de 20µl de la suspension parasitaire contenant 62,5x10⁴ oocystes /ml est rajouté par puit. L'action du méthanol sur le parasite a été également étudiée car trois des quatre extraits de plante ont été dissous dans ce solvant. Le Toltrazuril a été utilisé comme substance de référence pour tester la sensibilité du parasite, à raison de 0.5, 1, et 2mg/ml. Ces deux control ainsi que le témoin ont été ensemencés dans une autre plaque avec les mêmes conditions que celles de la première plaque.

Les deux plaques sont recouvertes et placées dans l'incubateur à 25-30°C avec agitation pendant 24h.

A la fin de l'incubation, le nombre des oocystes de chaque puit a été déterminé à l'aide d'une cellule type Malassez (répété deux fois). Les résultats sont exprimés en variation du nombre d'oocystes en fonction de la concentration de chaque extrait de plante.

A partir de ces résultats, la LC50 a été déterminée pour chaque extrait de plante. C'est la concentration de chaque extrait qui a pour effet de diminuer ou de détruire 50% du nombre initial des oocystes présents dans le témoin (Remmal et *al.*, 2011).

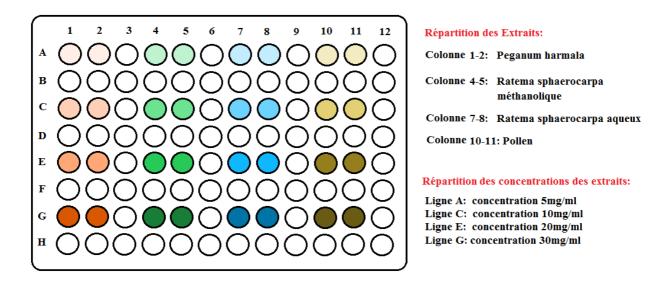


Figure 31 : Illustration de la microplaque ensemencée par les différents extraits.

### 2.4.2. Effet des extraits de plantes sur le nombre des oocystes et la libération des substances absorbants à 273nm

L'action lytique des extraits sur les oocystes d'*Eimeria sp* a été également étudiée en mesurant l'absorbance à 273nm des matériaux cellulaires libérés par les oocystes détruits ou lysés. Cet essai a été accompli en incubant pendant 24h à température ambiante des aliquotes de 1ml dans des épindhoff stériles et composés de :

- 100μl de la suspension parasitaire lavée contenant 50 x 10<sup>4</sup> oocystes/ml;
- 700µl de PBS (phosphate buffer saline) à pH 7,4;
- 200µl de chaque extrait de plante à concentration croissante 5, 10, 20, et 30mg/ml.

Ce test a été répété deux fois pour chaque concentration de chaque extrait.

Après incubation, les épindhoffs sont centrifugés à 3200 tours pendant 5 minutes à  $4^{\circ}$ C. Les surnageants récupérés (500µl) ont été utilisés pour la lecture des absorbances à 273nm au spectrophotomètre UV-Vis à double faisceau (Techcomp). La correction est effectuée par une solution contenant du PBS + extrait (à concentration croissante). Enfin, les précipités qui résultent de la centrifugation ont été utilisés pour le dénombrement des oocystes à l'aide de la cellule type Malassez (pour chaque concentration d'un extrait, le dénombrement a été répété deux fois).

L'effet du méthanol a été également étudié dans les mêmes conditions de l'expérience faite sur les extraits de plantes ainsi que la sulfaquinoxaline sodique trimétoprime, qui est testée comme anticoccidien à raison de 0.2, 0,4 et 0,8mg/ml.

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

### 2.5. Analyse statistique

L'ensemble des résultats sont exprimés sous forme de moyenne et d'écart-type, et les mesures ont été répétées deux fois.

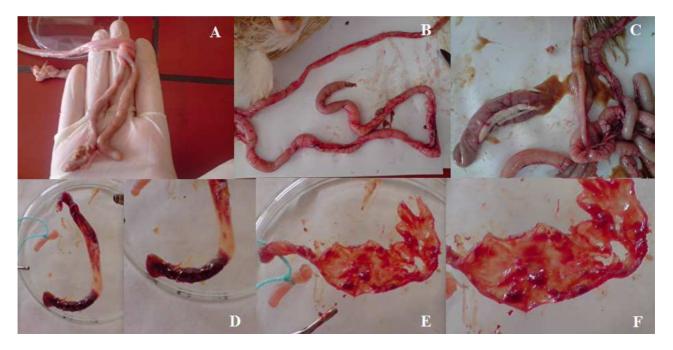
L'identification des différentes espèces présente dans l'échantillon a été analysée à l'aide du Microsoft office Excel 2007. Les effets du traitement (extraits de plantes et anticoccidiens) sur le nombre d'oocystes et le phénomène de lyse par libération des matériaux cellulaires absorbants à 273nm ont été analysés au moyen d'une analyse de variance (One-way ANOVA)) en utilisant les logiciels Graph pad version 5.1 et Microsoft office Excel 2007. L'analyse de la corrélation entre les trois paramètres (concentration des différents traitements - le nombre d'oocystes - l'absorbance à 273nm) a été réalisée au moyen d'une régression linéaire. Une valeur de p inférieure à 0.05 a été considérée comme étant significative.

# RESULTATS

### II. RESULTATS

### 2.1. Echantillons prélevés

Sur les 15 cadavres de poulets de chair autopsiés, seulement 9 ont montré des lésions intestinales caractéristiques de la coccidiose. La plupart des intestins prélevés étaient ballonnés, et certains caecums hypertrophiés et présentaient un contenu hémorragique. L'aspect des matières fécales était molle ou liquide parfois entièrement diarrhéiques avec mucosité, et de couleur marron avec des taches de sang (figure 32). Ces différentes observations prouvent la présence des deux formes de la coccidiose, caecale et intestinale. Des analyses coprologiques permettent de mettre en évidence les principales espèces responsables de ces lésions observées.

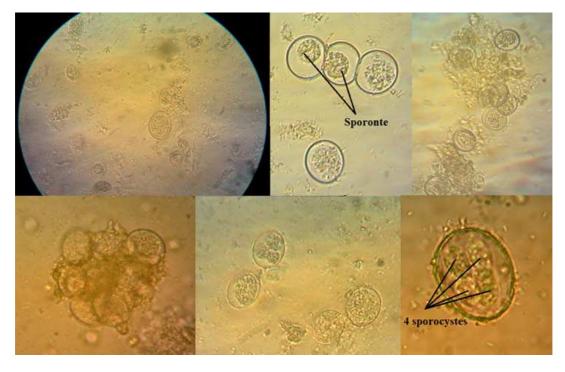


**Figure 32:** A. Caecums normaux ; B. Intestins hypertrophiés ; C. Contenu liquide avec mucosité ; D, E, F. Caecums présentant un contenu hémorragique.

### 2.2. Analyse coprologique

### 2.2.1. Examen microscopique direct

L'examen microscopique des échantillons de raclage a révélé la présence d'une quantité importante en oocystes de l'espèce Eimeria au stade non sporulé. Leur aspect varie de la forme ovoïde, ellipsoïde, ou circulaire. Elles sont immobiles (absence de flagelle ou de cils) et présentent un globule central appelé sporonte. Les quelques oocystes sporulés retrouvés dans l'échantillon présentent quatre sporocystes, principale caractéristique du genre Eimeria spécifique au poulet (figure 33).



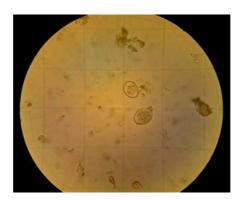
**Figure 33** : Oocystes d'*Eimeria sp* de l'échantillon sous microscope optique (grossissement x40, x100).

### 2.2.2. Dénombrement du parasite

Le résultat du dénombrement des oocystes d'*Eimeria sp* dans l'échantillon final (tous les prélèvements ont été homogénéisés ensembles) fraichement lavé du bichromate de potassium et suspendu dans le liquide d'enrichissement est d'environ (43,5  $\pm$  6,3) x  $10^5$  oocystes par ml (figure 34).

Cette charge oocystale révèle que les différents sujets autopsiés étaient gravement atteints de coccidiose, et ont pu être le point de départ de l'apparition de la maladie en contaminant d'autres dans le cheptel d'où ils proviennent.

Plusieurs facteurs peuvent être mis en cause tel que, la conduite et conditions d'élevage, des mesures d'hygiènes accablantes, présence de maladies intercurrentes mal contrôlées, et probablement l'installation d'une chimiorésistance. Des mesures prophylactiques et curatives doivent être mises en place au niveau de ces élevages.



**Figure 34**: Dénombrement des oocystes par la cellule Malassez sous microscope optique (grossissement x40).

### 2.2.3. Identification des espèces par morphométrie

L'étalonnage du l'oculaire micrométrique à l'aide du micromètre objectif a dévoilé que 98 divisions de l'oculaire est égale à 10µm. Delà, par une règle de trois, les mesures de 100 oocystes pris aléatoirement dans l'échantillon avec l'oculaire sont converties en valeurs réelles, c'est-à-dire en µm.

Sur la base de la conformité de ces dimensions calculées (longueur, largeur, longueur/largeur) et de la forme des oocystes avec celles indiquées par Reid et al., (tableau 13), on a pu identifié six espèces d'*Eimeria sp* avec les proportions suivantes (tableau 5): **88.5%** *Eimeria necatrix*, **5.1%** *Eimeria tenella*, **2.6%** *Eimeria mivati*, **1.3%** *Eimeria brunetti*, **1.3%** *Eimeria maxima*, et **1.3%** *Eimeria praeycox*.

Ces proportions témoignent de la dominance de la coccidiose intestinale essentiellement due à *E.necatrix, E.brunetti, E.maxima, et E.praecox*. La présence d'*E.tenella* suggère que poulets débutaient une coccidiose caecale. Ces résultats sont appuyés par les observations des intestins prélevés (figure 22 et 32).

*E.mivati* (2.6%) décelé dans l'échantillon est considérée comme une mixture d'*E.acervulina* et *E.mitis*. Cependant, certaines études sont en faveur d'un rapprochement mivati-acervulina (Euzeby, 1987).

 $\begin{table}{ll} \textbf{Tableau 14:} Mesures (en $\mu m$) de la longueur, largeur, et du rapport longueur/largeur d'oocystes aléatoirement dans l'échantillon ; OCC = oocyste. \end{table}$ 

Parasite	Longueur	Ecartype	Largeur	Ecartype	Rapport	Parasite	Longueur	Ecartype	Largeur	Ecartype	Rapport
OCC1	14,9319728	1,52752523	13,6054422	2,081665999	1,0975	OCC41	17,2789116	1,52752523	14,2857143	0	1,20952381
OCC2	20,8843537	9,23760431	18,2653061	1,732050808	1,1433892	OCC42	11,2244898	1,73205081	9,86394558	0,57735027	1,13793103
OCC3	16,1904762	0,57735027	13,1292517	3,511884584	1,23316062	OCC43	19,1836735	0	16,3945578	0,57735027	1,17012448
OCC4	23,0612245	1	15,9863946	3,511884584	1,44255319	OCC44	19,1156463	1,15470054	15,7823129	1,52752523	1,2112069
OCC5	19,9319728	5,50757055	14,8979592	1,732050808	1,33789954	OCC45	17,4829932	1,52752523	14,9659864	1,52752523	1,16818182
OCC6	20,170068	3,05505046	14,8979592	1,732050808	1,35388128	OCC46	17,8571429	1	16,1904762	0,57735027	1,10294118
OCC7	17,4489796	11	15,9183673	0	1,09615385	OCC47	18,4353741	0,57735027	16,3945578	0,57735027	1,12448133
OCC8	15,7482993	2,30940108	15,9863946	0,577350269	0,98510638	OCC48	16,9387755	1	15,4761905	2,081666	1,09450549
OCC9	17,244898	3,46410162	16,2585034	4,041451884	1,06066946	OCC49	27	1,52752523	18,9115646	1,15470054	1,42769784
OCC10	16,0204082	4.58257569	15,5442177	2,516611478	1,03063457	OCC50	20,7142857	1	17,244898	1	1,20118343
OCC11	18,0612245	2,64575131	14,047619	0,577350269	1,28571429	OCC51	20,7142857	1	17,4829932	2,081666	1,1848249
OCC12	15,4421769	11,06044	12,3809524	1,527525232	1,24725275	OCC52	31,122449	0	26,2244898	1,73205081	1,18677043
OCC13	15,2040816	5,56776436	13,6734694	1	1,1119403	OCC53	15,5782313	3,21455025	12,6870748	0,57735027	1,22788204
OCC14	16,9387755	1	12,9931973	1,527525232	1,30366492	OCC54	16,6666667	1,52752523	14,6258503	0,57735027	1,13953488
OCC15	15,5102041	5,29150262	15,7482993	1,154700538	0,98488121	OCC55	15,7823129	1,52752523	12,2789116	0,57735027	1,28531856
OCC16	17,9931973	7,09459888	15,2040816	6,92820323	1,18344519	OCC56	17,244898	1	14,047619	0,57735027	1,22760291
OCC17	17,8571429	2,64575131	15,2721088	1,527525232	1,16926503	OCC57	14,6258503	0,57735027	14,6258503	0,57735027	1
OCC18	15,4761905	2,081666	13,8435374	1,154700538	1,11793612	OCC58	17,1768707	1,15470054	14,4557823	0,57735027	1,18823529
OCC19	16,0204082	1,73205081	13,4693878	2	1,18939394	OCC59	16,5306122	2,64575131	13,6054422	2,081666	1,215
OCC20	14,4897959	1,73205081	13,9455782	2,081665999	1,03902439	OCC60	17,3469388	1	13,9115646	2,30940108	1,24694377
OCC21	15,7142857	1	14,0136054	4,163331999	1,12135922	OCC61	15,4761905	1,15470054	13,4013605	2,081666	1,15482234
OCC22	18,5714286	11	12,9591837	0	1,43307087	OCC62	17,9251701	1,52752523	14,4897959	1,73205081	1,2370892
OCC23	14,7959184	2,64575131	12,6870748	2,516611478	1,16621984	OCC63	16,462585	1,52752523	13,537415	1,15470054	1,2160804
OCC24	17,1088435	1,52752523	13,6054422	5,507570547	1,2575	OCC64	17,6190476	2,51661148	13,1972789	0,57735027	1,33505155
OCC25	17,2108844	1,52752523	12,5170068	1,527525232	1,375	OCC65	17,1088435	1,52752523	13,4353741	0,57735027	1,27341772
OCC26	18,9115646	0,57735027	14,0816327	3,464101615	1,34299517	OCC66	15,8163265	3	10,6122449	1	1,49038462
OCC27	16,0884354	3,21455025	14,4217687	1,527525232	1,11556604	OCC67	15,7142857	3,46410162	12,585034	0,57735027	1,24864865
OCC28	16,0544218	2,51661148	13,1972789	0,577350269	1,21649485	OCC68	15,952381	3,05505046	12,9591837	1	1,23097113
OCC29	16,6326531	3,60555128	13,537415	1,154700538	1,22864322	OCC69	17,0408163	2	14,3537415	0,57735027	1,18720379
OCC30	14,8979592	1	13,8095238	2,516611478	1,07881773	OCC70	16,9727891	1,52752523	12,4829932	2,51661148	1,35967302
OCC31	15,7142857	2,64575131	15,0340136	2,516611478	1,04524887	OCC71	18,9115646	0,57735027	14,6258503	0,57735027	1,29302326
OCC32	17,2108844	0,57735027	14,3197279	1,527525232	1,20190024	OCC72	18,0612245	1	14,9319728	1,52752523	1,2095672
OCC33	17,8231293	2,51661148	12,4829932	0,577350269	1,42779292	OCC73	10,7823129	1,15470054	14,2857143	1	0,7547619
OCC34	17,9591837	1	14,8639456	0,577350269	1,20823799	OCC74	17,4829932	0,57735027	14,1836735	2,64575131	1,23261391
OCC35	19,4217687	2,081666	15,4761905	1,154700538	1,25494505	OCC75	18,1632653	2,64575131	14,6598639	2,51661148	1,23897912
OCC36	15,4761905	2,51661148	13,877551	0	1,11519608	OCC76	13,1972789	2,081666	12,8911565	0,57735027	1,0237467
OCC37	20,3061224	1	16,8027211	2,516611478	1,20850202	OCC77	16,3265306	1	11,8367347	1	1,37931034
OCC38	18,9455782	0,57735027	16,9727891	1,527525232	1,11623246	OCC78	19,0816327	1,73205081	15,9863946	0,57735027	1,19361702
OCC39	15,2721088	2,081666	14,8979592	0	1,02511416	OCC79	16,5646259	4,72581563	14,2176871	1,15470054	1,16507177
OCC40	18,4353741	2,081666	16,9727891	0,577350269	1,08617234	OCC80	14,9319728	1,52752523	17,1088435	1,52752523	0,87276342

### 2.3. Etude de l'activité anticoccidienne des extraits de plantes

### 2.3.1. Effets des extraits de plantes sur le nombre d'oocystes et détermination de la LC50

Quatre extraits de plante ont été testés pour leur activité anticoccidienne par une méthode de microplaque dans un milieu contenant l'HBSS-agar (Remmal et *al.*, 2011 avec modification). La viabilité des oocystes a été évaluée par leur dénombrement après 24heures d'incubation à 25°C en contact des différents traitements.

Les résultats ont montré que le nombre des oocystes d'*Eimeria sp* a été réduit par les quatre extraits de manière dose dépendante, dans un intervalle de concentration situé entre 10 et 30mg/ml. Exprimé sous forme de LC50 (tableau 15) [concentration létale 50%], les résultats indiquent que le traitement le plus toxique ou coccidiocide est celui de l'extrait aqueux de *Retama sphaerocarpa* suivi par les extraits méthanoliques de Harmel (*Peganum harmala*), Rétama (*Retama sphaerocarpa*), et le Pollen. En effet, la proportion des oocystes détruits en comparaison avec le témoin (p < 0,05) est de 41% par l'extrait aqueux de Rétama, 33% par Harmel, 25,5% par Rétama méthanolique, et 21,5% par le pollen (figure 35; annexe 2).

D'après les analyses statistiques, on remarque que les résultats obtenus par le Toltrazuril testé comme anticoccidien (figure 36 ; annexe 3) sont supérieurs aux ceux des extraits méthanolique de Rétama et du pollen. Cependant, il est moins efficace que l'extrait aqueux de Rétama et l'extrait de *Peganum harmala*, avec une proportion de 29% d'oocystes détruits.

On constate également que les oocystes d'*Eimeria sp* sont peu sensibles à l'extrait méthanolique du pollen (tableau 15 ; annexe 2). En effet, le nombre d'oocystes restants dans l'échantillon testé est approximativement identique à celui du témoin.

**Tableau 15**: LC50  $\pm$  ET des différents extraits ; c'est la concentration des différents extraits dont l'effet est de réduire à la moitié (50%) le nombre d'oocystes initial (témoin).

Extrait	LC50 (mg/ml)
Retama sphaerocarpa (Aqueux)	18,75±1,96
Peganum harmala	43,75±1,58
Retama sphaerocarpa (méthanolique)	40±1,56
Grains de Pollen	46,25±1,94

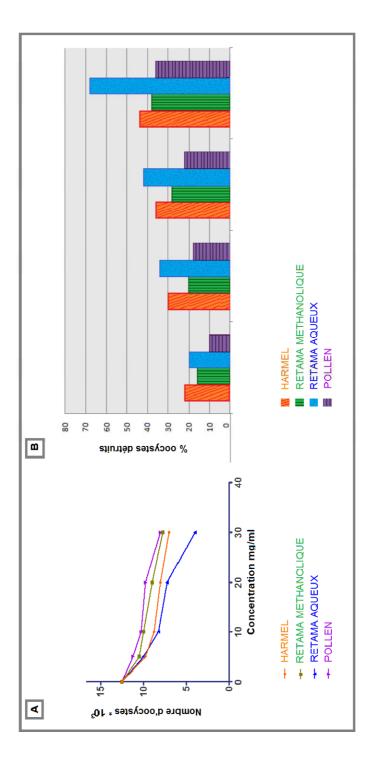


Figure 35: Effet des extraits de plantes sur les oocystes d'Eimeria sp (Annexe 2).

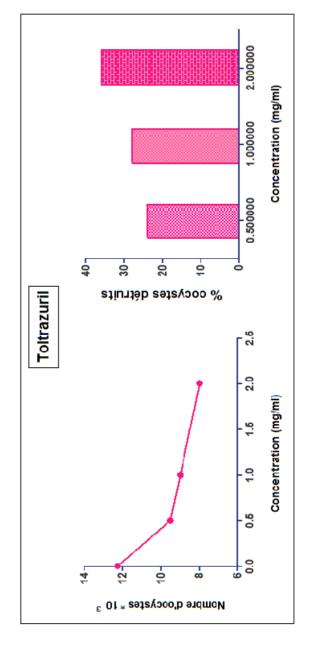


Figure 36: Effet anticoccidien du Toltrazuril (annexe 3).

### 2.3.2. Effet des extraits de plantes sur le nombre des oocystes et la libération des substances absorbants à 273nm

L'effet anticoccidien des quatre extraits de plantes a été également étudié par une méthode en tubes contenant le tampon PBS (Remmal et *al.*, 2011). Cette technique permet de révéler l'action lytique des différents traitements sur *Eimeria sp* en mesurant l'absorbance des matériaux cellulaires libérés par les oocystes détruits ou lysés.

Selon l'allure des représentations graphique et les valeurs de la LC50 (figure 37, tableau 16), les extraits de Rétama, Harmel, et du Pollen provoquent une réduction du nombre d'oocystes d'*Eimeria sp*, ainsi qu'une importante libération de matériaux cellulaires absorbants à 273nm, de manière linéaire et proportionnelle à leur concentration (5, 10, 20 et 30mg/ml).

Le traitement qui a révélé un important effet coccidiocide est l'extrait aqueux de Rétama avec une proportion de 48%, suivie par l'extrait méthanolique de Harmel 32%, de Rétama 29%, et du Pollen 19% (tableau 16).

On note également que la concentration 5mg/ml des différents extraits est très insuffisante pour induire un effet coccidiostatique ou coccidiocide par rapport au témoin (figure 37, annexe 4). Par contre du 10 à 30mg/ml, l'action lytique est plus évidente avec augmentation de la libération des matériaux cellulaires.

De plus, on remarque que la Sulfaquinoxaline sodique triméthoprime utilisée comme anticoccidien a provoqué une diminution de 50% d'oocystes à une concentration de 0,2mg/ml (figure 38, annexe 5); son potentiel anticoccidien est plus important que les autres extraits (figure 37, annexe 4).

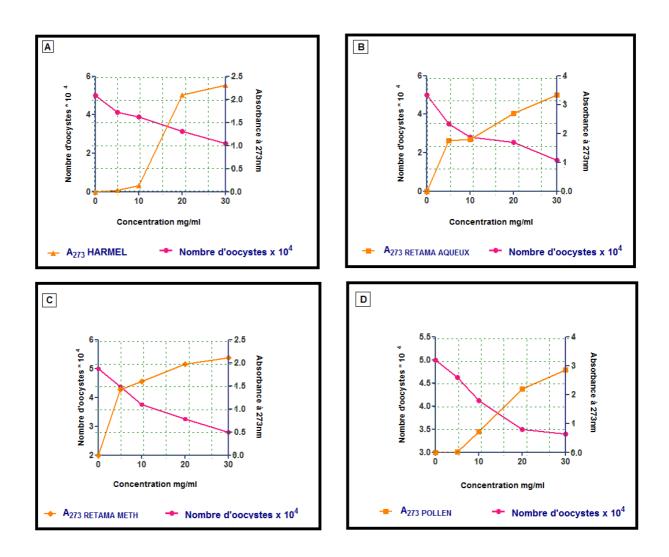
**Tableau 16**: LC50  $\pm$  ET des différents extraits ; c'est la concentration des différents extraits dont l'effet est de réduire à la moitié (50%) le nombre d'oocystes initial (témoin).

Extrait	LC50 (mg/ml)
Retama sphaerocarpa (Aqueux)	20±1,552
Peganum harmala	30±0,912
Retama sphaerocarpa (méthanolique)	36,25±1,215
Grains de Pollen	50±2,83

### 2.3.3. Comparaison entre les deux techniques

Les résultats de l'effet anticoccidien des différents extraits obtenus par les deux techniques en microplaque et en tubes sont comparables, avec des valeurs de LC50 presque similaires, particulièrement avec l'extrait aqueux de Rétama (tableau 15 et 16). De plus, les deux techniques confirment le faible potentiel anticoccidien de l'extrait méthanolique du Pollen, avec des proportions d'oocystes détruits de 21,5% et 19%, et des LC50 de (46,25±1,94) mg/ml et (50±2,83) mg/ml, respectivement dans la première et seconde technique.

Cependant, l'effet anticoccidien de la Sulfaquinoxaline sodique triméthoprime à concentration de 0.2, 0.4, et 0.8mg/ml a été plus prononcé que celui du Toltrazuril à concentration de 0.5, 1, et 2mg/ml, avec 60% et 29% d'oocystes détruits respectivement (figure 36 et 38).



**Figure 37 :** Représentation graphique de la variation du nombre d'oocystes détruits et la libération de matériaux cellulaires à 273nm en fonction de la concentration des extraits (annexe 4).

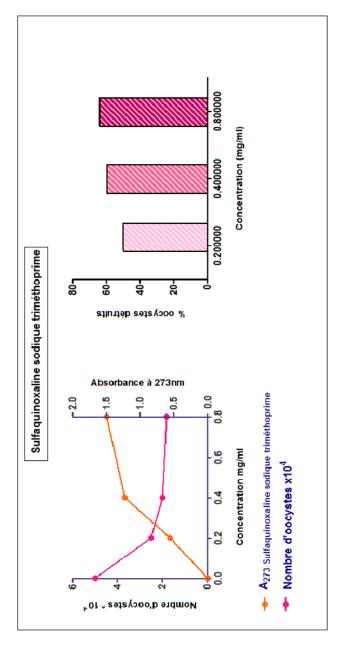


Figure 38: Effet anticoccidien de la Sulfaquinoxaline sodique triméthoprime (annexe 5).

## **DISCUSSION**

A notre connaissance, il s'agit de la deuxième mention de l'activité anticoccidienne in vitro d'extraits de plantes. En effet, des huiles essentielles extraites de l'absinthe (*Artemisia absinthium*), le thym (*Thymus vulgaris*), le clou de girofle (*Syzygium aromaticum*), et l'Arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*) se sont montrées actives sur une suspension parasitaire contenant 45% *Eimeria tenella*, 32% *E. maxima*, 10% *E. acervulina*, 6% *E. necatrix* and 7% *E. mitis*, à des concentrations allant de 0,3 à 20mg/ml, comparables aux nôtres (Remmal et *al.*, 2011).

Diverses publications font état d'études d'efficacité des produits à base de plantes sur la prévention des coccidioses in vivo. Une étude réalisée par Allen et al. (1997) a démontré que l'extrait de feuille d'absinthe utilisé sous forme d'additif alimentaire posséderait un effet protecteur contre les lésions intestinales produites par le parasite. Récemment, Naidoo et al. (2008) a montré que l'extrait de cette plante réduit significativement la production d'oocystes par les poules, et restaure leur gain de poids. De plus, Saini et al. (2003a, b) ainsi que Giannenas et al. (2003) ont rapporté que l'huile essentielle d'origan réduirait l'expression de la coccidiose chez les poulets, et dans le cas où la maladie est exprimée, cette plante écourte l'apparition de l'entérite nécrotique. Cependant, le mécanisme responsable de ces effets bénéfiques reste inexpliqué.

Dans notre étude, l'activité anticoccidienne des extraits de plantes testés peut être attribuée à leur richesse en composés biologiquement actifs. En effet, à coté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ces extraits accumulent fréquemment des métabolites dits secondaires dont la fonction physiologique n'est pas toujours évidente, mais qui représentent une source importante de molécules utilisables par l'homme dans des domaines aussi différents que la pharmacologie que l'agroalimentaire. Ces métabolites appartiennent à des groupes chimiques variés (composés phénoliques, alcaloïdes etc.) et possèdent des propriétés biologiques diverses, antinflammatoire, antioxydante, antimicrobienne (Scalbert et al., 2005), et plus particulièrement anti-protozoaire, notamment contre *Plasmodium, Leishmania, et Trypanosoma spp.* (Kayser et al., 2003), *Entamoeba histolytica* et *Giardia lamblia* (Calzada et al., 2005).

Selon les résultats de notre étude, les extraits de plantes testées révèlent différentes aptitudes dans leur habilité à détruire le parasite. Cela correspond à la répartition très inégale de leurs métabolites dont le niveau d'accumulation peut quelquefois atteindre des valeurs élevées.

En effet, l'extrait aqueux de *Ratema spherocarpa* a été révélé plus efficace que l'extrait méthanolique. Une étude réalisée par boussahel (2010), a démontré que ces deux extraits ne possédaient pas la même quantité en polyphénols et flavonoïdes. Les résultats du dosage indiquaient que l'extrait aqueux comporte une plus grande teneur en polyphénols (17.36  $\pm$  0.86mg EAG/g) que l'extrait méthanolique (15.79  $\pm$  1.23mg EAG/g); alors que pour les flavonoïdes, l'extrait méthanolique présente des teneurs plus élevées que l'extrait aqueux et en même temps presque identique pour les deux standards utilisés qui sont de: 4.62  $\pm$  0.13 mg EQ/g et 4.62  $\pm$  0.04 mg ER/g pour la quercétine et la rutine respectivement.

De plus, l'extrait aqueux a révélé la présence d'alcaloïdes quinolizidiniques par la technique GC/MS (la chromatographie gazeuse couplée à la masse). La rétamine est l'alcaloïde majoritaire jusqu'à 44%, suivie de l'ammodendrine de 7.22% (Boussahel, 2010). Balandrine et al, (1982), Cordero et al, (1991) et Neuner-jehle et al, (1964) ont isolés quelques alcaloïdes quinolizidines de *Retama sphaerocarpa*. Ces anciens travaux ont été suivis par ceux d'El Shazly et al, (1996) qui ont isolés plus d'alcaloïdes dont 31 sont reportés et répertoriés.

Ces métabolites ont montré un éventail d'activité biologique. Elles auraient en plus du rôle de défense contre les micro-organismes et prédateurs, une liaison avec la grande résistance des plantes à la sécheresse; étant donné que les plantes soumises à des stress hydriques accumulent plus d'alcaloïdes (Liang et *al.*, 1988; Timmermann et *al.*, 1984). Par ces différentes études, on déduit que les principales substances responsables de l'efficacité de l'extrait aqueux par rapport à l'extrait méthanolique de Rétama sur les oocystes d'*Eimeria sp* sont les alcaloïdes.

Balandrine MF, Robbins EF, and Kinghorn AD, 1982. Alkaloids of Papilionoideae. Biochem. Syst. Ecol, 10, 307-318.

Baltazart A, 2010. Propriétés physiques, chimiques, biologiques et nutritives des litières en élevage de volailles. Thèse de doctorat d'état en médecine vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil.

Banfield MJ and Forbes JM, 1999. Feed content and structure effects on coccidiosis in broilers. World poultry, Elsevier special.

Beghoul S, 2006. Appareil digestif de la poule: particularitès anatomo-physiologiques. Département des sciences vétérinaires - Université Mentouri de Constantine - Algérie - Magister en médecine vétérinaire - Option pathologies -Spésialité aviculture et pathologies aviares.

Belaid B, 1993. Notion de zootechnie générale. Office des publications universitaires. Alger.

Bellakhdar J, 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle (Médecine Arabe ancienne et savoirs populaires). Ed Ibis Press, Saint-Etienne.

Bellakhdar J, 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed Ibis Press, Maroc, 318-319.

Belot J and Pangui JL, 1986. Observation sur l'excrétion ookystale des volailles dans quelques élevages de Dakar et des environs. Bull. An. Hlth. Prod, Afr, 34, 286-289.

Berrougui H, Cordero CM, Khalil A, Hmamouchia M, Ettaib A, Marhuenda E, Herrera MD, 2006. Vasorelaxant effects of harmine and harmaline extracted from Peganum harmala L. seed's in isolated rat aorta. Pharmacol Res, 54, 150–157.

Beyer TV, Svezhova n V, and Radchenko AI, 2002. Parasitophorous vacuole: morphofunctional diversity in different coccidian genera (a short insight into the problem). Cell. Biol. Int, 26, 10, 861-871.

Bézanger-Beauquesne L, Pinkas M, Torck M, and Trotin F, 1980. Plantes médicinales des régions tempérées, Ed Maloine, Paris, 156.

Bhcag, 2003. Beyer Health care AG, Germany

Bisimwa C, 2003. Les principales races en aviculture. Troupeaux et Cultures des Tropiques, 4-8.

Boka MO, 2006. Evaluation de l'effet des anticoccidiens ionophores sur les performances zootechniques des poulets de chair en élevage semi-industriel. Thèse de doctorat d'état en médecine vétérinaire, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires (E.I.S.M.V.), faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Bouhelier BMB, 2005. Prévalence des coccidies en élevage de poulets sous label rouge du Gers, étude expérimentale. Thèse de doctorat d'état en médecine vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Bourg SP, 2006. Abeilles et insecticides phytosanitaires. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse.

Boussahel S, 2010. Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbes, Sétif. Faculté des Sciences, Département de biologie, Spécialité : Biologie et Physiologie végétale, Option: Valorisation des ressources végétales.

Bowman DD, 1999. Georgi's parasitology for veterinarian. Saunders (Ed), Philadelphia, 414.

Brown J, Gill AC, and Nugent PG, 2001. Domains of invasion oganelle proteins from apicomplexan parasites are homologous with the Apple domains of blood coagulation factor XI and plasma pre-kallikrein and are members of the PAN module superfamily. FEBS Lett, 497, 1, 31-38.

Brown PJ, Billington KJ, and Bumstead JM, 2000. A microneme protein from Eimeria tenella homology to the Apple domains of coagulation factor X I and plasma pre-kallikrein. Mol. Biochem. parasitol, 107, 1, 91-102.

Bruneton J, 1987. Element de phytochimie et de pharmacognosie. Ed. Tech, Doc, France, 47.

Buissieras J, 1990. L'abeille domestique, biologie-élevage-pathologie. Polycopié. École nationale Vétérinaire d'Alfort, Service de Parasitologie-Zoologie appliquée. Maisons-Alfort Lavoisier, Paris, 585.

Buitink J, Claessens MAE, Hemminga MA, and Hoekstra FA, 1998a. Influence of water content and temperature on molecular mobility and intracellular glasses in seed and pollen. Physiol, 118, 531-541.

Buitink J, Leprince O, Hemminga MA, and Hoekstra FA, 2000, The effects of moisture and temperature on the ageing kinetics of pollen: interpretation based on cytoplasmic mobility, Plant Cell & Environment, 23, 9, 967–974.

Bumstead J and Tomley F, 2000. Induction of secretion and surface capping of microneme proteins in Eimeria tenella. Mol. Biochem. Parasitol, 110, 2, 3113-21.

Bussieras J and Chenette R, 1992. Parasitologie vétérinaire, protozoologie. Edité par le service de parasitologie, ENV d'Alfort.

Caccamese SC, Caruso NP, and Savarino A, 2005. J. Chromatogr, A, 1076, 155.

Calzada F, Cervantes-Martinez JA, and Yepez-Mulia L, 2005. In vitro antiprotozoal activity from the roots of Geranium mexicanum and its constituents on Entamoeba histolytica and Giardia lamblia. J. Ethnopharmacol, 98, 191–193

Campos M, Bogdanov S, Almeida-Muradian LB, Szczesna T, Mancebo Y, Frigerio C, and Ferreira F, 2008. Pollen composition and standardization of analytical methods. Phytochemical Analysis, 47, 2, 156-163.

Campos M, Markham KR, Mitchell KA, and Proenca da Cunha A, 1997. An Approach to the Characterization of Bee Pollens via their Flavonoid/Phenolic Profiles. Phytochemical Analysis 8, 181–185.

Castañóna CAB, Fraga JS, Fernandez S, Grubera A, and Costa LDF, 2007. Biological shape characterization for automatic image recognition and diagnosis of protozoan parasites of the genus Eimeria. Pattern Recognition, 40, 1899 – 1910.

Chen Q, Chao R, Chen H, Hou X, Yan H, Zhou S, Peng W, and Xu A, 2005. Antitumor and neurotoxic effects of novel harmine derivatives and structure-activity relationship analysis. Int. J, Cancer, 114, 675–682.

Chermette and Bussiera S, 1992. Parasitologie Vétérinaire. Protozoologie, Imprimerie du Cercle des Elèves, ENVA, 2, 42-58, 160-168.

Chopra I C, Abral B K, and Handa K L, 1960. Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique. Ed UNESCO, 48.

Cocan O, Mărghias LA, Dezmirean D, and Laslo L, 2005. Composition and Biological activities of Beepollen – Review. USAMV-CN Bulletin 61, 221-226.

Conner BA, 1997. Cyclospora infection: a review. Ann Acad Med Singapore, 26, 5, 632-636.

Conti ME and Botr F, 2001. Honey bees and their products as potential bioindicators of heavy metal contamination. Environ. Monito. Assess, 69, 3, 267–282.

Conway DP and McKenzie ME, 2007. Poultry Coccidiosis: Diagnostic and Testing Procedures. Blackwell Publishing Professional. Third Ed, 1-138.

Cordero MC, Gil Serrano AM, and Ayuso Gonzalez MJ, 1991. Variations of alkaloids from Retama sphaerocarpa Boissier. Plant. Med. Phytother, 25, 157-160.

Crevieu G and Naciri M, 2001. Effet de l'alimentation sur les coccidioses chez le poulet. INRA, production animales, 14.

**D**anforth HD, Augustine PC, and Clare RA, 1994. Ultrastructural observations of development of Eimeria tenella in a novel established avian-derived cell line. Parasitol. Res, 80, 7, 588-593.

Dalloul RA and Lillehoj HS, 2006. Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. Exp. Rev. Vaccines, 5, 143–163.

Depeche, 1991. Pathologie des volailles en élevage fermier. La dépêche vétérinaire, (supplément technique n°20), 26.

Domingo F, Moro MJ, Sánchez G, Brenner SAJ, and Van Gardinge PR, 1997. Leaf and canopy boundary layer conductances of two semiarid species (Retama sphaerocarpa L. Bioss, and Stipa tenacissima L.). Mediterránea Ser. Biol, 16, 37-43.

Domingo F, Sánchez G, Moro MJ, Brenner AJ, and Puigdefábregas J, 1998. Measurement and modelling of rainfall interception by three semi-arid canopies. Agric. Forest. Meteorol, 91, 275-292.

Domingo F, Villagarcía L, Brenner AJ, and Puigdefábregas J, 1999. Evapotranspiration modele for semi-arid shrub-lands tested against data from SE Spain. Agricu. Forest. Meteorol, 95, 67-84.

Dubremetz JF, Garcia-reguet N, Conseil V, and Fourmaux MN, 1998. apical organelles and host-cell invasion by apicomplexa. Int. J. parasitol, 28, 7, 1007-1013.

Duszynski DW, Upton SJ, and Couch L, 2000. The coccidia of galliformes (chicken pathridge peacock, pheasant, quail, turkey). Supported by NSF-PEET DEB.

Eckman MK, 1995. Prevention and control of avian coccidiosis. XIV latin American poultry congress, Santiago chile.

EL Allagui N, Bourijate M, Tahrouch S, and Hatimi A, 2007. Effet de cinq extraits végétaux sur la mortalité des nématodes à galles du genre Meloidogyne ssp. Biochime substances naturelles et environnement, congrès international de biochimie, Agadir.

El Shazly A, Ateyaa AM, and Witte L, 1996. Quinolizidine alkaloid profiles of Retama retam, R.sphaerocarpa and R.monosperma ,Zeitschrift für Naturforschung. C. A. J. bioscience, 51, 5-6, 301-308. Ed: Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen, Allemagne, INIST-CNRS.

Entzeroth R, Mattig FR, and Werner-meier R,1998. Structure and function of the parasitophorous vacuole in Eimeria species. Int. J. Parasitol, Jul, 28, 7, 1015-1018.

Euzeby J, 1973. Immunologie des coccidioses de la poule. Cah. Méd. Vét, 42, 3-40.

Euzeby J, 1981. Diagnostic expérimental des helminthoses animales. Travaux pratiques d'helminthologie vétérinaire. Tome I : généralités, diagnostic ante mortem. Ed Informations Techniques des Services Vétérinaires, Paris, 340.

Euzeby J, 1987. Protozoologie médicale comparée. Collection fondation Marcel Merieux.

**F**aegri K, and Vanderpijl L, 1966. The principles of pollination ecology. Pergamon Press, 248.

Farouk L, Laroubi A, Aboufatima R, Benharref A, and Chait A, 2008. Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of Peganum harmala L.: Possible mechanisms involved. J. Ethnopharmacol, 115, 449–454.

Farzin D and Mansouri N, 2006. Antidepressant-like effect of harmane and other B-carbolines in the mouse forced swim test. Eur. Neuropsychopharmacol, 16, 324-328.

Fernando MA, Lawn AM, Rose ME, and Al-attar MA, 1983. Invasion of chicken cæcal and intestinal lamina propria by crypt epithelial cells infected with coccidia. Parasitology, 86, 3, 391-398.

Fleche C, Clément MC, Zeggane S, and Faucon JP, 1997. Contamination of bee products and risks for human health: the situation in France. Revue Scientifique et Technique de l'Office International Des Epizooties, 16, 2, 609–619.

Fowler NG, 1995. Anticoccidial information including safety, toxicity, incompatibilities and associated matters. Canterbury (GBR), ANITEC ASSOCIATES, 182.

Freeman BM, 1970. Evidence for the production of a toxin by Eimeria tenella. XIV Congres Intern. Aviculture, Madrid, Section II, 604-605.

Frison G, Favretto D, Zancanaro F, Fazzin G, and Ferrara SD, 2008. A case of b-carboline alkaloid intoxication following ingestion of Peganum harmala seed extract. Forensic. Sci. Int, 179, 37–43.

Fritzsche B and Gerriet E, 1965. Maladies des volailles. Vigot frères éditeurs, Paris.

Fukata T, Komba Y, and 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.

Gadoud R, Joseph MM, Jussiau R, Lisberney MJ, Mangeol B, Montmeas L and Tarrit A, 1992. Nutrition et alimentation des animaux d'élevage. Paris.

Giannenas I, Florou-Paneri P, Papazahariadou M, Christaki E, Botsoglou NA, and Spais AB, 2003. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with Eimeria tenella. Arch. Tierernahr, 57, 2, 99–106.

Gordon RF, 1979. Pathologies des volailles. Maloine, Ed SA.

Gorenflot R, 1997. Biologie végétale. Plantes supérieures : appareil reproducteur. 4e Ed. Collection Enseignement des sciences de la vie. Masson, 278.

Gyuonnet V, Johnson JK, and Long PL, 1989. Infectivity of chicken eimerian sporulated oocysts injected directly into the duodenum. Coccidian and intestinal coccidomorphs, V<sup>th</sup> international coccidiosis conference, 17-20. INRA (les colloques de l'INRA, 49).

**H**afez MH, 2008. Poultry coccidiosis: prevention and control approaches. Arch.Geflügelk., 72, 1, 2–7.

Hamet N, 1981. Critères de changement d'anticoccidiens. Bull. Inf. Station Exp. Aviculture Ploufragan, 21, pp73-74.

Hammiche V and Merad R, 1997. Peganum harmala L. Laboratoire de botanique médicale, INESSM d'Alger. Ed MO Rambourg Schepens.

Hampson RJ, 1989. La coccidiose aviaire. Service de laboratoire vétérinaire, MAAO, Guelf, Otario, Canada.

Harbome JB and Baxter H, 1999. The handbook of natural flavonoids. John Wiley & Sons, New York, 2, X1, 193-205.

Haug A , Thebo P , and G. Mattsson J, 2007. A simplified protocol for molecular identification of Eimeria species in field samples. Vet. Parasitol, 146, 35–45.

Hendrix CM, 1998. Diagnostic veterinary parasitology. Mosby inc, 2<sup>nd</sup> Ed, Saint-Louis, 321.

Idrissi Hassani LM, 2000. Contribution à l'étude phytochimique du harmel Peganum harmala L. (Zygophyllaceae) et étude de ses effets sur la reproduction et le développement du criquet pèlerin Schistocerca gregaria Forsk, Thèse de Doctorat, Université Ibn Zohr, Agadir, 214.

Idrissi hassani LM, Ould ahmedou ML, Mayad EH, and Bouaichi A, 2002. Pouvoir insecticide de Peganum Harmala sur Schistocerca Gregaria: Effets de l'huile et des extraits de feuilles. Biologie & Santé, 2, 2.

Idrissi Hassani LM and Tahrouch S, 1998. Analyse du contenu alcaloïdique des différents organes de Peganum harmala L., Colloque International sur les ressources végétales, Agadir.

INSA (Institut national de la santé animale), 1991. Les principales maladies des volailles.

Iserin P, 2001. Encyclopedia of Médicinal Plants. La Rousse, 2nd Ed, 244-245.

Itavi, 1997. L'ammoniac. Sciences et Techniques Avicoles, Hors-Série, 49-52.

Jablonski B, Koltowski Z, Marcinkowski J, Rybak-chmielewska H, and Szczesna T, 1995. Zawartosc metali ciezkich (Pb, Cd I Cu) w nektarze, miodzie i pylku pochodzacym z roslin rosnacych przy szlakach komunikacyjnych [Contamination of nectar, honey and pollen collected from roadside plants]. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 40, 129–144.

Jang IJ, Moo-Hyung J, Lillehoj HS, Dalloul RA, Kong IK, Kim S, and Min W, 2007. Anticoccidial effect of green tea-based diets against Eimeria maxima. Vet. Parasitol, 144, 172–175.

Jeurissen SH, Janse EM, Vermeulen AN, 1996. Eimeria tenella infections in chickens: aspects of host-parasite interaction. Vet. immunol. Immunopathol, 54, 231-238.

Jolley WR, Burton SD, and Nyberg PA, 1976. Formation of sulfhydryl groups in the of Eimeria stiedai and Eimeria tenella oocysts subjected to in vitro excystation. J. Parasitol, 62, 2, 199-202.

**K**abay M, 1996. Coccidiosis in poultry. Animal health laboratories. South Perth western Australia.

Kawazoe U, Tomley FM, and Frazier JA, 1992. Fractionation and antigenic chara cterization of organelles of Eimeria tenella sporozoites. Parasitology, 992, 104, 1, 1-9.

Kayser O, Albrecht FK, and Simon LC, . Natural Products as potential antiparasitic drugs. Robert Koch-Institut, London School of Hygiene and Tropical Medicine, Department of Infectious and Tropical Diseases, Keppel Street, London, United Kingdom.

Kennedy M, 1996. Coccidiosis in chicken. Alberta University.

Kubik M, Nowacki J, Pidek A, Warakomska Z, Michalczuk L, and Goszczynski W, 1999. Pesticide residues in bee products collected from cherry trees protected during blooming period with contact and systemic fungicides. Apidologie, 30, 6, 521–532.

Kucera J, 1989. Differenciation of poultry coccidia in mixed infection. Coccidia and intestinal coccidiomorphs, V<sup>th</sup> international coccidiosis conference, 17-20, Ed INRA, (les colloques de l'INRA, 49).

Kusmenoglu S, Turkoz S, and Koca U, 1995. Constituents of the seed oil of Peganum harmala L. J. Fac. Pharm. Gazi, 12, 141-144.

Krell R, 1996. Value added products from beekeeping. FAO. Agric. Servi, Bulletin 124, 87–113.

Kreier JP and Baker JR, 1987. Parasitic Protozoa. Ed. Allen and Unwin, Boston, MA.

Lafargue M, 2011. Procédé de préparation de pollen brut. Demande de brevet européen, EP 2 281 456 A1, Journal officiel européen des brevets.

Lala S, Pramanick S, Mukhopadhyay S, Bandyopadhyay S, and Basu MK, 2004. Harmine: Evaluation of its antileishmanial properties in various vesicular delivery systems. J. Drug Target, 12, 165–175.

Lamchouri F, Settaf A, Cherrah Y, Zemzami M, Lyoussi B, Zaid A, Atif N, and Hassar M, 1999. Antitumour principles from Peganum harmala seeds. Therapie, 54, 753–758.

Lamchouri F, Settaf A, Cherrah Y, El-Hamidi M, Tligui N, Lyoussi B, and Hassar M, 2002. Experimental toxicity of Peganum harmala seeds. Ann. Pharm. Fr, 60, 123–129.

Lamy LH, 1980. Technique de base, protozoaires et helminthes parasite, recherche et identification au laboratoire. Maloine SA éditeur.

Lawn AM and Rose ME, 1982. Mucosal transport of Eimeria tenella in the cæcum of the chicken . J. Parasitol, 68, 6, 1117-1123.

Leita L, Muhlbachova G, Cesco S, Barbattini R, and Mondini C, 1996; Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metal contamination. Environ. Monitor. Assess, 43, 1–9.

Lesbougries G, 1965. Pathologies des oiseaux de basse cour. Vigot frères éditeurs. Paris.

Levine ND, 1970. Taxonomy of the sporozoa. J. Parasitol, 1970, 56, 208-209

Levine ND, CORLISS JO, and COX FE, 1980. A newly revised classification of the protozoa. J. Protozool, 27, 1, 37-58.

Lextenso, 2006. Interdiction des antibiotiques comme facteurs de croissance dans les aliments pour animaux, Accès internet : http://www. Web-agri.fr, 2006.

Liang XT, 1988. Distribution of Alkaloids in Traditional Chinese Medicinal Plants. The Alkaloids Chemistry and Pharmacology, 32, 241-270.

Li HB, Cheng KW, Wong CC, Fan KW, Chen F, and Jiang Y, 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. Food chemistry, 102, 771-776.

Lien: Document de source inconnu, Chapitre 8, Phylum Apicomplexa: Gregarines and Coccidia.

### Lien A:

http://fr.wikipedia.org/wiki/Volaille (09/05/2012).

### Lien B:

http://fr.wikipedia.org/wiki/Gallus\_gallus (09/05/2012).

### Lien C:

http://faostat.fao.org/ (09/05/2012).

### Lien D:

http://www.algeria.com/forums/business-affaires/23263-aviculture-en-alg%E9rie-poultry-farming-algeria.html?pagenumber (07/05/2012).

#### Lien E:

http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/200800.htm (23/07/2011).

### Lien F:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Undef&id=5794&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock~(22/01/2012).

### Lien G:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Undef&id=5796&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock (22/01/2012).

#### Lien H:

http://eimeria.chez.tiscali.fr/Coccidies%20Gallus/oocyste.html (10/01/2011).

### Lien I:

http://www.catoire-fantasque.be/dossiers/glossaires/botanique.html#55 (26/11/2011).

### Lien J:

http://fr.wikipedia.org/w/index.php?oldid=71807847 (23/11/2011).

Lister S and Knott C, 2000. Coccidiosis. Ranger magazine, Crowshall veterinary service.

Long PL, 1989. Factors affecting the life cycle and development of Eimeria. coccidia and coccidiomorphs, Vth international coccidiosis conference, 17-20, Ed INRA (les colloques de l'INRA), 49.

Long PL and Rowell JG, 1975. Sampling broiler house litter for coccidial oocysts. Br. Poult. Sci, 16, 6, 583-592

López-Lázaro M, Martín-cordero C, Cortés F, Piňero J, and Ayuso MJ, 2000. Cytotoxic Activity of Flavonoids and Extracts from Retama sphaerocarpa Boissier. Zeitschrift für Naturforschung 55, 40-43.

Louaar S, Akkal S, Bousetta A, Medjroubi K, Djrri L, and Seguin E, 2005. Phytochemical study of Retama sphaeroarpa. Chemistry of Natural Compounds, 41, 107-108.

**M**adden PA, and Vetterling JM, 1978. Scanning electron microscopy of schizogony in Eimeria tenella. J. Protozool, 25, 3, 298-301.

Mahmoudian M, Jalilpour H, and Salehian P, 2002. Toxicity of Peganum harmala: Review and a Case Report. Iranian. J. Pharmacol. Ther, 1, 1, 1-4.

Manger BR, 1991. In Veterinary applied, Pharmacology and Therapeutics, Part III Control of infectious diseases: chemotherapy, Chapitre 33: Anticoccidials, 5<sup>th</sup> Ed, Ed Bailliere Tindall, London, UK.

Magdeaine P and Chesnel C, 2002. Evaluation des surcoûts générés par les contraintes réglementaires en volailles de chair : conséquence sur la compétitivité de la filière. Sciences et techniques avicoles, 49, 17-25.

Mărgăoan R, Al. Mărghitas L, Dezmirean D, Mihai CM, and Bobis O, 2010. Bee Collected Pollen – General Aspects and Chemical Composition. Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies, 67, 1-2.

Mărghitas LA, 2005. Albinele si produsele lor. Ed Ceres.

Mbiantcha M, Kamanyi A, Teponno RB, Tapondjou AL, Watcho P, and Nguelefack TB, 2011. Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Extracts from the Bulbils of Dioscorea bulbifera L. var sativa (Dioscoreaceae) in Mice and Rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 9.

Medina A, González G, Sáez JM, Mateo R, and Jiménez M, 2004. Bee pollen, a substrate that stimulates ochratoxin A production by Aspergillus ochraceus Wilh. Systematic and Applied Microbiology 27, 2, 261–267.

Mekalti M, 2003. Incidence pathologique de la coccidiose en Aviculture. Magister en médecine vétérinaire, Université de Batna, Faculté des sciences, Département vétérinaire, Option pathologie des animaux domestiques.

Menard R, 2007. Apicomplexa research. Curr. Opin. Microbiol, 10, 346–348.

Michels MG, Bertolini LCT, Esteves AF, Moreira P, and Franca SC, 2010. Anticoccidial effectsofcoumestansfrom Eclipta alba for sustainable control of Eimeria tenella parasitosis inpoultryproduction. Vet. Parasitol, Article in press.

Ming-Hsein L and Hong-Kein OOI, 2008. Effect of chromium compounds on sporulation of *Eimeria piriformis* oocysts. Exp. Anim, 57, 1, 79-83.

Mirabito L, 2004. Bien-être animal : contexte et travail de l'ITAVI. Sciences et techniques Avicoles, 20, 26-28

Mirzaei M, 2007. Treatment of natural tropical theileriosis with the extract of the plant Peganum harmala. Korean J. Parasitol, 45, 4, 267-271.

Molan AL, Liu Z, and De S, 2009. Effect of pine bark (Pinus radiata) extracts on sporulation of coccidian oocysts. Folia Parasitologica, 56, 1, 1–5.

Montenegro G, Avila G, Rougier D, and Timmermann B, 1997. Pollen loads:source of carotenoids originating from the mediterranean plant communities of the central zone of Chile. Revista di Chilena de Historia Natural, 70, 91-99.

Morris GM and Gasser RB, 2006. Biotechnological advances in the diagnosis of avian coccidiosis and the analysis of genetic variation in Eimeria. Biotechnol. Adv, 24, 590–603.

Morgan JAT, Morris GM, Wlodek BM, Byrnes R, Jenner M, Constantinoiu CC, Anderson GR, Lew-Tabor AE, Molloy JB, Gasser RB, and Jorgensen WK, 2009. Real-time polymerase chain reaction (PCR) assays for the specific detection and quantification of seven Eimeria species that cause coccidiosis in chickens. Mol. Cell. Probes, 23, 83–89

Mouafo AN, Richard F, and Entzeroth R, 2000. Observation of sutures in the oocyst wall of Eimeria tenella (Apicomplexa). Parasitol. Res, 86, 12, 1015-1017.

Naciri M and Brossier F, 2008. Les coccidioses aviaires : importance et perspectives de recherche. Bull. Acad. Vét, France, 162, 1.

Naciri M, 2000. Eimeria, pathologie aviaire et parasitologie. INRA, centre de tours.

Naciri M, 2001. Les moyens de lutte contre la coccidiose aviaire. Nouzilly, INRA.

Naidoo V, McGaw LJ, Bisschop SPR, Duncan N, and Eloff JN, 2008. The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. Vet. Parasitol, 153, 214–219.

Nenaah G, 2010. Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of Peganum harmala (L) seeds and their combination effects. Fitoterapia 81, 779–782.

Nene-Bi SA, Traore F, Soro TY, and Souza A, 2009. Etude phytochimique et pharmacologique de Bridelia feruginea benth (euphobiaceae) sur la motricité du taenia coli de cobaye. Afrique science 05, 2, 305-320.

Neuner-jehle N, Nesvadba H, ansd piteller G, 1964. Shlüsselbruchstücke in den Massenspektren von Alkaloiden. Mh. Chemic 95, 687-709.

Nicolle LE, 2003. Urinary tract infection: traditional pharmacology. Dis Mon, 49, 2, 111-128.

OMS (organisation mondiale de la santé), 1997. Parasitologie technique de base pour le laboratoire. Bibliothèque de l'OMS.

Oravie (Office Régional d'Aviculture de l'Est), 2004. Contrôle sanitaire en aviculture du 11 août, 25.

Ouarzane M, Labbe M, and Pery P, 1998. Eimeria tenella: cloning and characterization of cDNA encoding a s3a ribosomal protein. Gene, 28, 125–130.

Ozenda P, 1977. Flore du Sahara, Ed du CNRS, 312-322.

**P**acheco ND, Vetterling JM, and Doran DJ, 1975. Ultrastructure of cytoplasmic and nuclear changes in Eimeria tenella during first-generation schizo gony in cell culture. J. Parasitol, 61, 1, 31-42.

Page DC and Kim Haddad BA, 1995. Coccidial Infections in Birds. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, 4, 3, 138-144.

Pham-délègue MH, Jouanin L, and Sandoz JC, 2002. Direct and indirect effects of genetically modified plants on the honeybee. In: devillers j, pham-délègue MH. Honey Bees: estimating the environmental impact of chemicals. London, UK: Taylor&Francis, 312-326.

Pierre J, Chauzat MP, 2005. L'importance du pollen pour l'abeille domestique. Bull. Tech. Apic, 32,1, 11-28.

Poros-Gluchowska J and Markiewicz Z, 2003. Antimicrobial resistance of Listeria monocytogenes. Acta. Microbiol. Pol, 52, 2, 113-129.

Pouvreau A, 2004. Les insectes pollinisateurs. Paris : Ed Delachaux et Niestlé, 191.

Prashanth D, and John S, 1999. Antibacterial activity of Peganum harmala. Fitoterapia, 70, 438–439.

Quezel P and Santa S, 1962-1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 475–476.

**R**achid H, 2011. Aviculture et viandes blanches en Algérie : Une filière en pleine transition. Journal Le Maghreb.

Rand MS, 1986. Summary of avian disease: Fungal, Nutritional, Tumors, parasites et miscellaneous.

Reid MW, Calnek BW and Mc Dougald LR, 1978. Protozoa- coccidiosis: "Diseases of poultry". Aimes Iowa (USA): Iowa State University Press, 783-814.

Remmal A, Achahbar S, Bouddine L, Chami N, and Chami F, 2011. In vitro destruction of Eimeria oocysts by essential oils. Vet. Parasitol, 182, 121–126.

Reperant JM, Ribot J, Thomas-Hénaff M, Morel H, Morel J, and Jestin V, 2003. Marqueurs immunologiques d'espèces de coccidies parasites du poulet. Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours.

Reperant JM, 2001. Présent et avenir du contrôle des coccidioses aviaires. Proceeding 4ème Journées de la Recherche avicole. Nantes.

Reperant JM, 1998. Aspects de la lutte contre les coccidioses chez le poulet. Sciences et Techniques avicoles.

Rezzagui A, 2012. Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut et l'activité antioxydante des différents extraits des grains de *Peganum harmala*. Thèse de Magister en cours de préparation. Université Ferhat Abbas, faculté des sciences de la nature et de la vie, Département de biologie, Spécialité biochimie expérimentale te physiologie.

Rose ME and Hesketh P, 1983. Infection with eimeria species, the role of bile. J. parasitol, 69.

Ruff MD and Reid WM, 1977. Avian Coccidia In Parasitic Protozoa, Gregarine, Haemogregarines, Coccidia, Plasmodia Haemoproteids. Ed KREIER JP, 2, III, Academic Press, INC New York, San Francisco, London.

Ryley JF and Hardman L, 1978. The use of vitamin K deficient diets in the screening and evaluation of anticoccidial drugs. Parasitology, 76, 1, 11-20

SA: Salsbury laboratories, 1976. Maladies des volailles (manuel Salsbury). Charles city, Iowa.

Saini R, Davis S, and Dudley-Cash W, 2003a. Oregano essential oil reduces the expression of coccidiosis in broilers. In: Proceeding of the 52<sup>nd</sup> Conference on Western Poultry Diseases, Sacramento, CA, 97–98.

Saini R, Davis S, and Dudley-Cash W, 2003b. Oregano essential oil reduces necrotic enteritis in broilers. In: Proceeding of the 52nd Conference on Western Poultry Diseases, Sacramento, CA, 95–97.

Schwartz D, 1985. Summer disease of poultry. Dept of animal science, Michigan State University.

Sharaf M, el-Ansari MA, Matlin SA, and NA Saleh, 1997. Four flavonoid glycosides from Peganum harmala. Phytochemistry, 44, 533–536.

Shirley MW and Harvey DA, 1996. Eimeria tenella: genetic recombination of markers for precoccious development Appl. and arprinocid resistance. Parasitology, 37, 293–299.

Shirley MW and Harvey DA, 2000. A genetic linkage map of the apicomplexan protozoan parasite Eimeria tenella. Genome. Res, 10, 1587–1593.

Shirley MW, 1975. Enzyme variation in Eimeria species of the chicken. Parasitology, 71, 3, 369-376.

Shiotani N, Baba E, and Fukata T, 1992. Distribution of oocysts, sporocysts and of Eimeria tenella and Eimeria maxima in the digestive tract of chicken. Vet. Parasitol, 41, 1-2, 17-22.

Siddiqui S and Afza N, 1978. Seeds of Peganum harmala a possible new source of edible oil. Pakistan J. Sci. Ind. Res, 21, 46.

Silvaa SMT, Camara CA, Da Silva Lins AC, Barbosa-Filho JM, Eva Moˆ nica Sarmento da Silvab, Freitas BM, and Dos Santos FDAR, 2006. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee Melipona subnitida Ducke. J. Food Compo. Anal, 19, 507–511.

Silversides FG and Remus J, 1999. Betaine improves performance of coccidia-challenged birds. World poultry, Elsevier special.

Smith T, 1997. Protozoan poultry disease. Department of poultry science, Mississippi state university.

Soro TY, Traore F, and Sakande J, 2009. Activité analgésique de l'extrait aqueux de Ximenia americana (Linné) (Olacaceae). C. R. Biologie, 332, 371-377.

Stanciu OGV, 2008. Reaserch Concerning In Vitro Antioxidant Capacity of Biologic Active Compounds of Honeybee-Collected Pollen, PhD Thesys.

Szczesna T, 2007. Study on the sugar composition of honeybee-collected pollen. J. Apic. Sci, 51, 1, 15-21.

Szczesna T, Rybak-chmielewska H, and Skowronek W, 1995a. Wplyw utrwalania na wartosç biologiczna obnózy pylkowych [The effect of preservation on the biological quality of the pollen loads]. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 39, 1, 177–187.

Szczesna T, Rybak-chmielewska H, and Skowronek W, 1995b. Zmiany w składzie chemicznym obnózy pyłkowych zachodzace podczas ich przechowywania w róznych warunkach. I. cukry, tłuszcz, popiól [Alterations in the chemical composition of the pollen loads stored under various conditions. I. sugars, fat and ash]. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 40, 145–156.

Szczesnan T, Rybak-chmielewska H, and Skowronek W, 1995c. Zmiany w składzie chemicznym obnózy pyłkowych zachodzace podczas ich przechowywania w róznych warunkach. III. witamina C i prowitamina A ( $\mu$ - karoten) [Alterations in the chemical composition of the pollen loads stored under various conditions. III vitamin C and provitamin A ( $\mu$ -carotene)]. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 40, 171–189.

Szczesna T, Rybak-chmielewska H, and Skowronek W, 1995d. Zmiany w składzie chemicznym obnózy pyłkowych zachodzace podczas ich przechowywania w róznych warunkach. IV kwasowosc ogólna i czynna (pH) [Alterations in the chemical composition of the pollen loads stored under various conditions. IV total and active acidities]. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 40, 191–207.

Szczesna T, Rybak-chmielewska H, and Arciuch H, 1993. Zastosowanie anodowej woltamperometrii inwersyjnej do oznaczania Cd, Pb I Cu W obnózach pylkowych. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 37, 171–174.

Szczesna T, 2006. Protein content and amino acid composition of bee-collected pollen from selected botanical origins. J. Apic. Sci, 50, 2, 81-90.

Stiff MI and Bafundo KW, 1993. Developpement of immunity in broilers continuously exposed to Eimeria species, avian disease.

Stotish RL, Wang CC, and Meyenhofer M, 1978. Structure and composition of the oocyst wall of Eimeria tenella. J. Parasitol, 64, 6, 1074-1081.

Suls L, 1999. The continuig battle against coccidiosis. World poultry, Elsevier special.

**T**ahrouch S, Rapior S, Belahsen Y, Bessiere JM, and Andary C, 1998. Volatile constituents of Peganum harmala (Zygophyllaceae). Société Botanique de France, Acta bot. Gall, 2, 145, 121-124.

Tahrouch S, Rapior S, Mondolot-Cosson L, Idrissi-Hassani LA, Bessière JM, and Andary C, 2002. Peganum harmala: source combinée d'aromes et de colorants. Reviews in biology and biotechnology by the Moroccan society of biology in Canada, 2, 2, 33-37.

TNMCD (The Natural Medicines Comprehensive Database), 2009. Bee pollen Databaser. Therapeutic Research Faculty.

Timmermann BN, Steelink C, and Loewus FA, 1984. Phytochemical adaptation to stress, In Recent advances in phytochemistry, Pergamon Press, New York and London, 18, 334.

Tomley FM, Bumstead JM, and Billington KJ, 1996. Molecular cloning and characterization of a novel acidic microneme protein (Etmic-2) from the apicomplexan protozoan parasite, Eimeria tenella. Mol. Biochem. Parasitol, 82, 2, 271.

Tomley FM, Clarke LE, and Kawazoe U, 1991. Sequence of the gene encoding an immunodominant microneme protein of Eimeria tenella. Mol. Biochem. Parasitol, 49, 2, 277-288.

Trabsa H, 2011. Propriétés antioxydantes et activité inhibitrice de la xanthine oxydase des extraits de la plante médicinale *Peganum harmala L*. Thèse de Magister en biotechnologie, Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie, Université Mohammed Kheider, Biskra.

Trout JM and Lillehoj HS, 1996. T lymphocyte roles during Eimeria acervulina and Eimeria tenella infections. Vet. Immunol. Immunopathol, 53, 163-172.

Trout JM, Lillehoj HS, 1993. Evidence of a role for intestinal CD8+ lymphocytes and macrophages in transport of Eimeria acervulina sporozoites. J. Parasitol, 79, 5, 790-792.

Trout JM, Lillehoj HS, 1995. Eimeria acervulina infection: evidence for the involvement of CD8+ T lymphocytes in sporozoite transport and host protection. Poultry Science, 74, 7, 1117-1125.

Tse SYH, Mak IT, and Dickens BF, 1991. Antioxidative properties of harmane and h-carboline alkaloids. Biochem. Pharmacol, 42, 459–464.

Unesco, 1960. Recherches sur la zone aride - XIII-Les plantes médicinales des régions arides, Pb Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture, place de Fontenoy, Rennes, NS.59/III.17/99.

Van Eekeren N, Maas A, Saatkamp HW, and Verschuur M, 2006. L'élevage des poules à petite échelle. Série Agrodok, 4, 6-19.

Vaissière BE, Vinson SB, 1994. Pollen morphology and its effect on pollen collection by honey bees, Apis mellifera L. (Hymenoptera: Apidae), with special reference to upland cotton, Gossypium hirsutum L. (Malvaceae). Grana, 33, 128-138.

Vercruysse J, 1995. Les protozooses des animaux domestiques Paris : Fondation Mérieux, 194.

Vervelde L, Vermeulen AN, and Jeurissen SHM, 1993. The role of intra epithelial and lamina propria leucocytes in the migration of Eimeria tenella sporozoites from the villi to the crypts. Avian immunology in progress, les colloques, 62, INRA, Paris.

Villate D, 1997. Maladies des volailles (manuel pratique). Ed France agricole.

Villate D, 2001. Maladies des volailles (manuel pratique). Ed France agricole.

VLI: Vetech laburatories Inc, 2001. Coccidiosis. Guelph, Ontario, Canada.

**W**illiams RB, 1998. Epidemiological aspects of the use of live anticoccidial vaccines for chicken. Int. J. Parasitol, 28, 1089-1098.

Williams RB, 1995. Epidemiologie studies of coccidiosis in the domesticates fowl (Gallus gallus). Physical condition and survival of Eimeria acervulina oocysts in poultry. Houses litter, appl. parasitol, 36, 1995.

Williams RB, Busttel AC, Reperant JM, Doy TG, Morgan JH, Shirley MW, Yvoré P, Carr MM, and Fermont YA, 1996. Servey of Eimeria species in commercially reared chickens in France during 1994, Avian path, 25.

Wright E, 1998. Poultry disease coccidiosis, depart of primary industries Queensland.

WPE: World poultry Elsevier, 1999. Not all disinfectants kill oocystes.

Witlock DR, Ruff MD, Chute MB, Physiological basis o Eimeria tenella induced mortality in individual chickens. J. Parasitol, 1981, 67, 65-69.

Yang S, 2005. Pollen under the microscope. Science Photo Library Feature Stories.

Yang X, Guo D, Zhang J, Wu M, 2007. Characterization and anti-tumor activity of pollen polysaccharide. Int. Immunopharmacol, 7, 401-408.

Yim D, Kang SS, Lillehoj HS, and Min W, 2010. A simple and efficient method for isolation of a single Eimeria oocyst from poultry litter using a micromanipulator. Res. Vet. Sci, Article in press, Elsevier.

Yousefi R, Ghaffarifar F, and Dalimi A, 2009. The Effect of Alkanna tincturia and Peganum harmala Extracts on Leishmania major (MRHO/IR/75/ER) in Vitro. Iranian. J. Parasitol, 4,1, 40-47.

Yvoré P, 1992. Les coccidioses en aviculture. Manuel de parasitologie aviaire, Ed chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour.

Yvoré P, Naciri M, Lafont JP, and Renault L, 1982. Les coccidioses, aspect étiologique et pathogénique. Le point vétérinaire, 14, 66.

Yvoré P, Lesur J, and Mainguy P, 1972. Incidence de la coccidiose sur la coloration jaune du poulet. Ann. Rech.Vet, 3, 389-398.

**Z**akirov PK, Karimov G, and Norbobaeva T, 1989. Peganum harmala L. as a vegetable dye for yarns. Dokl. Akad. Nauk Uz SSR, 5, 52-53.

Zohary, 1962. Plant life of Palestine, Israel, and Jordan, Michael Zohary. Ronald, New York, 163, 3515, 523.

يعتبر كوكسيديا الطيور مرضا ذو أضرار اقتصادية وحيمة، والذي تسببه طفيليات Eimeria ذات غو داعل علوي إجباري. يعد استعمال المواد المستخلصة من النباتات الطبية واحدة من الطرق البديلة لمكافحة الكوكسيديا الطيور. تحدف الدراسة إلى تقييم الفعل ضد الكوكسيديا لبعض من هذه النباتات، Peganum harmala (الحرمل) و Retama sphaerocarpa (الرقمة) و جبوب اللقاح. بينت النتائج أن محتلف مستخلصات هذه النباتات تخوب بويضات .200 وجبوب اللقاح، عمل التقاوية تتناسب طريا مع التراكيز التي تراوحت بين 10مغ/مل و 30 مع/مل. أظهرت النتائج، بالاعتماد على 200 و Retama sphaerocarpa يعد الأكثر سمية يليه كل من المستخلصات الميناؤلية لو Peganum harmala و Retama sphaerocarpa وجبوب اللقاح، حيث قدرت نسب المويضات المخرية ب 48% و 30% و 21.5% ملى الترتيب. كما لوحظ أيضا تحرير معتبر للمكونات الخلوية التي تمتص عند 273 نانومتر، والذي يتناسب بطريقة خطية و طردية مع تركيز مختلف المستخلصات (5 و 100 و 30 و 30 مغ/مل). تعكس هذه التأثير الكمي والنوعي في مدى فعالية هذه المستخلصات والذي من اغتمل أن يرجع إلى التوزيع غير المتساوي للمستقلبات، أين ثم دراسة مختلف أنشطتها البيولوجية باستعمال طرق كيميائية و الميكروبية.

الكلمات المفاتيح: كوكسيديا الطيور، Eimeria sp، النشاطية ضد الميكروبي Retama sphaerocarpa · Peganum harmala، حبوب اللقاح، البويضات.

#### RESUME

La coccidiose aviaire est une maladie ayant de graves conséquences économiques. Elle est provoquée par des parasites à développement intracellulaire obligatoire appelés Eimeria. Chez le poulet, neuf espèces sont en cause. Elles se développent spécifiquement dans les entérocytes de l'épithélium intestinal, ce qui engendre des perturbations de l'homéostasie pouvant conduire à la mort de l'animal. La prophylaxie repose sur l'utilisation d'anticoccidiens et sur la vaccination. Le coût élevé des vaccins, et l'apparition de résistances aux anticoccidiens soulignent la nécessité de trouver des moyens de lutte alternative.

L'utilisation de produits à base de plantes médicinales est l'une des méthodes alternatives. Ces plantes restent le premier réservoir de nouvelles molécules chimiques nécessaires à la mise en point de futurs médicaments. Notre travail vise à tester quelques unes de ces plantes, *Peganum harmala*, *Retama sphaerocarpa* et les grains de Pollen contre la coccidiose in vitro.

Les résultats obtenus montrent que les différents extraits de ces plantes détruisent les oocystes d'*Eimeria sp* de manière dose dépendante, dans un intervalle de concentration situé entre 10 et 30mg/ml. Exprimé sous forme de LC50, les résultats indiquent que le traitement le plus toxique ou coccidiocide est celui de l'extrait aqueux de *Retama sphaerocarpa* suivi par les extraits méthanoliques de *Peganum harmala*, *Retama sphaerocarpa*, et le Pollen avec des proportions d'oocystes détruits de 48%, 33%, 29%, et 21,5% respectivement en comparaison avec le témoin (p < 0,05). Une importante libération de matériaux cellulaires absorbants à 273nm est également observée. Elle varie de manière linéaire et proportionnelle à la concentration des différents extraits (5, 10, 20 et 30mg/ml).

Ces résultats reflètent une variabilité quantitative et qualitative dans le pouvoir coccidioside des différents extraits. Cela est du probablement à la répartition très inégale de leur métabolites, dont plusieurs activités biologiques ont été démontrées par diverses études chimiques, biochimiques, et microbiologiques.

Mots clés: Coccidiose aviaire, Eimeria sp, activité anticoccidienne, Peganum harmala (L.), Retama sphaerocarpa (L.) boisse, grains de Pollen, oocystes.

#### SUMMARY

Avian coccidial infections are associated with a heavy economic damage. They are caused by obligate intracellular parasites of the genus Eimeria. Nine species are caused in chickens. These parasites are host specific and invade epithelial cells of animal intestines, causing severe damages that can lead to the host's death. Prophylaxis relies on the use of anticoccidial drugs and vaccination. However, the vaccines' high costs and the emergence of anticoccidial drug resistance highlight the need to develop alternative control methods.

The use of products from medicinal plants is one of the alternative methods against avian coccidiosis. These plants remain the first reservoir of new chemical molecules necessary for producing future drugs. The aim of our study consists to test *in vitro* some plants, Harmel (*Peganum harmala*), Retama (*Retama sphaerocarpa*) and Pollen grains against coccidiosis. Results showed that the different extracts of these plants destroyed the *Eimeria sp* oocyst in concentration dependant manner where the applied concentrations are ranging from 10 to 30mg/ml. Expressed in LC 50 and compared to blank (*p*<0.05), results indicated that the most toxic treatment or coccidiocid was the aqueous extract of *Retama sphaerocarpa* followed by methanol extracts of *Peganum harmala*, *Retama sphaerocarpa* and Pollen grain with a proportions of destroyed oocyst of 48%, 33%, 29%, and 21,5%, respectively. An important release of cellular material that absorb at 273 nm was also observed. It varied in linear and proportional manner with the different concentration of extracts (5, 10, 20 and30mg/ml). Such results reflect both a quantitative and qualitative variability towards the coccidiosid power of different extracts. This may be due to the great difference of their metabolites where several biological activities were investigated using chemical, biochemical and microbial methods.

Key words: Avian Coccidiose, Eimeria sp, anticoccidial activity, Peganum harmala (L.), Retama sphaerocarpa (L.) boisse, Pollen grains, oocysts.

Hormis les résultats des extraits de Rétama, ceux de l'extrait méthanolique de Harmel, qui a révélé un important effet sur le parasite par rapport à celui de Rétama. Ceci est du en fait, que l'extrait de Harmel comporte une quantité importante en polyphénols et flavonoïdes (Sharaf et al., 1997). En effet, dans une étude récente (Razzague, 2012), le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes effectué par la méthode du Folin-Ciocalteu (Li et al., 2007) et la méthode du trichlorure d'aluminium [AlCl3] (Bahorun et al., 1996) respectivement, a révélé (79.73  $\pm$  2.74 mg EAG/g d'extrait, 16,09  $\pm$  0,55 mg EAG/g de grains) de polyphénols, et (4.03  $\pm$  0.29 mgEQ/g d'extrait, 10.84  $\pm$  0.5 mgER/g d'extrait) de flavonoïdes (l'acide gallique, la quercétine et la rutine ont été utilisés comme standard respectivement). Ajoutant à cela, la présence des alcaloïdes dans l'extrait de Harmel dont les teneurs peuvent varié de 1 à 4 % [Mayad et al., 2003 ; Idrissi, 2000 ; Idrissi and Tahrouch, 1998 ; Bruneton, 1987].

Enfin, le dernier extrait testé est l'extrait méthanolique du pollen. Diverses études chimiques, biochimiques, et microbiologiques ont révélées la présence d'une variété de métabolites dans ces grains, notamment des composés phénoliques (Campos and Markham, 1996; Tomas-Lorente et *al.*, 1992; Campos et *al.*, 1997, 2002, 2003). Or, d'après nos résultats, l'extrait méthanolique du Pollen a été révélé le moins efficace par rapport aux autres extraits de plante. Cela peut être du à plusieurs raisons:

- L'échantillon testé est pauvre en composés biologiquement actifs ; ou ses composés ne sont actifs contre le parasite que dans des intervalles de concentrations les plus importants.
- Les conditions de collecte et de conservations, ainsi que le conditionnement du pollen ont affecté sa qualité biologique :

Des problèmes de fermentation peuvent détériorer le pollen ; En effet, le pollen une fois collecté est très humide, et l'exposition à des températures élevées pendant le temps de la récolte conduit à sa fermentation avec pour conséquences une augmentation non désirée de la flore microbiologique (bactéries, levures, moisissures) dans le produit collecté. Cette charge microbiologique peut ainsi fausser les résultats de tests biologiques.

De plus, le pollen est souvent conservé en poudre après avoir été récupéré soit manuellement, soit en utilisant des machines d'extraction du pollen (Babahani and Bouguedoura, 2009). Il est ainsi exposé dans l'environnement à divers contaminants chimiques qui peuvent se retrouver dans les produits commercialisés par l'homme. A cette pollution, s'ajoute une contamination au moment du conditionnement. Une étude réalisée par Buitink et al (1998) a pu mettre en évidence les interactions entre la température de stockage, la teneur en eau et leur influence sur le vieillissement du pollen. En effet, le pollen peut contenir plus de 6% d'eau, qui peut être facilement évaporé et causer sa dessiccation (Mărgăoan et *al.*, 2010).

Enfin, la plupart des apiculteurs conservent leur pollen dans l'exploitation ou à la maison, ces deux méthodes ne semblent pas préserver la qualité du pollen ainsi que ses propriétés biologiques. Une étude récente a démontré qu'un stockage d'une période d'un an ou plus peut altérer les propriétés anti-oxydantes des grains de pollen (Campos, 2008).

## **CONCLUSION**

La coccidiose constitue l'une des principales contraintes qui entrave le développement de la production avicole et cause d'énormes pertes économiques en Algérie, essentiellement sous forme de médicaments. Des alternatives ont vu le jour, en particulier les extraits de plantes. La présente étude a montré l'intérêt de ces solutions dans le cadre de la prévention des coccidioses. Ces résultats ont montré que les extraits de *Peganum harmala*, *Retama spherocarpa* et les grains de pollen testés possèdent tous une activité inhibitrice dose dépendante sur la forme oocystale d'Eimeria sp in vitro. Cet effet anticoccidien peut être attribué à leur richesse en composés biologiquement actifs, notamment les métabolites secondaires.

Cela nous encourage ainsi, à sélectionner ces plantes médicinales comme base prometteuse pour des études chimiques approfondies afin de caractériser les molécules naturelles responsables de cette activité. De nombreuses autres perspectives peuvent être envisagées :

- La multiplication du nombre d'essais *in vitro* vis-à-vis des autres formes morphologiques d'*Eimeria sp*.
- La réalisation d'essai *in vivo* afin de déterminer l'effet des plantes médicinales sur les performances zootechniques des poulets infectées ou non par le parasite.
- L'étude de la cytotoxicité des extraits *in vitro* car de très nombreuses substances naturelles montrent une activité anticoccidienne résultant d'une forte toxicité et sont donc inutilisables en pratique.
- ➤ Ils restent beaucoup de plantes locales utiles qui n'ont été pas encore testées et qui mériteraient de l'être afin de déterminer leur potentialité dans les domaines étudiés.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**A**dams C, Vahl HA, and 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.

AFSSA (agence Française de sécurité sanitaire des aliments), 2007. Propositions pour une démarche d'évaluation de substances ou de produits « nouveaux » destinés à l'alimentation animale Cas particulier des substances et produits à base de plantes.

Alamargot J, 1982. L'appareil digestif et ses annexes. Manuel d'anatomie et d'autopsie aviaires. Le point vétérinaire, 15-32

Allen ON and Allen EK, 1981. The leguminosae: a Source book of characteristics, Uses and nodulation. Ed Macmillan, London, 577-578.

Allen PC and Danforth HD, 1998. Effects on dietary supplementation with n-3 fatty acid ethyl esters on coccidiosis in chickens. Poultry science.

Allen PC and Fetterer RH, 2002. Recent Advances in Biology and Immunobiology of Eimeria Species and in Diagnosis and Control of Infection with These Coccidian Parasites of Poultry. Clini. Micro. Rev , 5, 1, 58–65.

Allen PC, 2007. Anticoccidial Effects of Xanthohumol. Avian diseases, 51, 21–26.

Allen PC, Lydon J, and Danforth HD, 1997. Effects of components of Artemisia annua on coccidia infections in chickens. Poultry Science, 76, 1156–1163.

Allen PC,1997. Nitric oxide production during Eimeria tenella infections in chicken. Poultry science, 76, 6, 810-813.

Almeida-muradian LB, Pamplona LC, Coimbra S, and Barth OM, 2005. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. J. Food. Compo. Ana, 18, 1, 105–111.

Al-Shamma LA and Abdul-Ghany A, 1978. Gas Chromatographic Analysis of The Seed Oil of Peganum harmala. Bull. Biol. Res, Cent, 10, 19-26.

Arrêté, 2007. Arrêté fixant des mesures techniques et administratives relatives à la lutte contre l'influenza aviaire, NOR: AGRG0769497A, paru au JO du 9 novembre 2007.

Augustine PC, 2001. Invasion of different cell types by sporozoites of Eimeria species and effects of monoclonal antibody 1209-C2 on invasion of cells by sporozoites of several apicomplexan parasites. J. Eukaryot. Microbiol, 48, 2, 177-81.

Aupinel P, 2009. Diversité floristique et alimentation des pollinisateurs. Colloque régional agriculture et Biodiversité, INRA, le Magneraud.

Azzag N, 2001. Isolation and characterisation of common Eimeria species of chickens in Jordan university of science and technology, (Magister amman).

**B**abahani S and Bouguedoura N, 2009. Effet de quelques méthodes simples de conservation du pollen sur les caractères de la production dattière. Sciences et Technologie, 30, 9-15.

Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin JC, Pinkas M, Luycky M, and Gazin M, 1996. Oxigen species scavenging activity of phenolic extract from howthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. Arzneim Forsh, Drug Res, 1-6.

Balandrine MF, Robbins EF, and Kinghorn AD, 1982. Alkaloids of Papilionoideae. Biochem. Syst. Ecol, 10, 307-318.

Baltazart A, 2010. Propriétés physiques, chimiques, biologiques et nutritives des litières en élevage de volailles. Thèse de doctorat d'état en médecine vétérinaire. École nationale vétérinaire d'Alfort, Faculté de médecine de Créteil.

Banfield MJ and Forbes JM, 1999. Feed content and structure effects on coccidiosis in broilers. World poultry, Elsevier special.

Beghoul S, 2006. Appareil digestif de la poule: particularitès anatomo-physiologiques. Département des sciences vétérinaires - Université Mentouri de Constantine - Algérie - Magister en médecine vétérinaire - Option pathologies -Spésialité aviculture et pathologies aviares.

Belaid B, 1993. Notion de zootechnie générale. Office des publications universitaires. Alger.

Bellakhdar J, 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle (Médecine Arabe ancienne et savoirs populaires). Ed Ibis Press, Saint-Etienne.

Bellakhdar J, 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ed Ibis Press, Maroc, 318-319.

Belot J and Pangui JL, 1986. Observation sur l'excrétion ookystale des volailles dans quelques élevages de Dakar et des environs. Bull. An. Hlth. Prod, Afr, 34, 286-289.

Berrougui H, Cordero CM, Khalil A, Hmamouchia M, Ettaib A, Marhuenda E, Herrera MD, 2006. Vasorelaxant effects of harmine and harmaline extracted from Peganum harmala L. seed's in isolated rat aorta. Pharmacol Res, 54, 150–157.

Beyer TV, Svezhova n V, and Radchenko AI, 2002. Parasitophorous vacuole: morphofunctional diversity in different coccidian genera (a short insight into the problem). Cell. Biol. Int, 26, 10, 861-871.

Bézanger-Beauquesne L, Pinkas M, Torck M, and Trotin F, 1980. Plantes médicinales des régions tempérées, Ed Maloine, Paris, 156.

Bhcag, 2003. Beyer Health care AG, Germany

Bisimwa C, 2003. Les principales races en aviculture. Troupeaux et Cultures des Tropiques, 4-8.

Boka MO, 2006. Evaluation de l'effet des anticoccidiens ionophores sur les performances zootechniques des poulets de chair en élevage semi-industriel. Thèse de doctorat d'état en médecine vétérinaire, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Ecole inter-états des sciences et médecine vétérinaires (E.I.S.M.V.), faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Bouhelier BMB, 2005. Prévalence des coccidies en élevage de poulets sous label rouge du Gers, étude expérimentale. Thèse de doctorat d'état en médecine vétérinaire, Université Paul-Sabatier de Toulouse.

Bourg SP, 2006. Abeilles et insecticides phytosanitaires. Thèse de doctorat en médecine vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse.

Boussahel S, 2010. Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbes, Sétif. Faculté des Sciences, Département de biologie, Spécialité : Biologie et Physiologie végétale, Option: Valorisation des ressources végétales.

Bowman DD, 1999. Georgi's parasitology for veterinarian. Saunders (Ed), Philadelphia, 414.

Brown J, Gill AC, and Nugent PG, 2001. Domains of invasion oganelle proteins from apicomplexan parasites are homologous with the Apple domains of blood coagulation factor XI and plasma pre-kallikrein and are members of the PAN module superfamily. FEBS Lett, 497, 1, 31-38.

Brown PJ, Billington KJ, and Bumstead JM, 2000. A microneme protein from Eimeria tenella homology to the Apple domains of coagulation factor X I and plasma pre-kallikrein. Mol. Biochem. parasitol, 107, 1, 91-102.

Bruneton J, 1987. Element de phytochimie et de pharmacognosie. Ed. Tech, Doc, France, 47.

Buissieras J, 1990. L'abeille domestique, biologie-élevage-pathologie. Polycopié. École nationale Vétérinaire d'Alfort, Service de Parasitologie-Zoologie appliquée. Maisons-Alfort Lavoisier, Paris, 585.

Buitink J, Claessens MAE, Hemminga MA, and Hoekstra FA, 1998a. Influence of water content and temperature on molecular mobility and intracellular glasses in seed and pollen. Physiol, 118, 531-541.

Buitink J, Leprince O, Hemminga MA, and Hoekstra FA, 2000, The effects of moisture and temperature on the ageing kinetics of pollen: interpretation based on cytoplasmic mobility, Plant Cell & Environment, 23, 9, 967–974.

Bumstead J and Tomley F, 2000. Induction of secretion and surface capping of microneme proteins in Eimeria tenella. Mol. Biochem. Parasitol, 110, 2, 3113-21.

Bussieras J and Chenette R, 1992. Parasitologie vétérinaire, protozoologie. Edité par le service de parasitologie, ENV d'Alfort.

Caccamese SC, Caruso NP, and Savarino A, 2005. J. Chromatogr, A, 1076, 155.

Calzada F, Cervantes-Martinez JA, and Yepez-Mulia L, 2005. In vitro antiprotozoal activity from the roots of Geranium mexicanum and its constituents on Entamoeba histolytica and Giardia lamblia. J. Ethnopharmacol, 98, 191–193

Campos M, Bogdanov S, Almeida-Muradian LB, Szczesna T, Mancebo Y, Frigerio C, and Ferreira F, 2008. Pollen composition and standardization of analytical methods. Phytochemical Analysis, 47, 2, 156-163.

Campos M, Markham KR, Mitchell KA, and Proenca da Cunha A, 1997. An Approach to the Characterization of Bee Pollens via their Flavonoid/Phenolic Profiles. Phytochemical Analysis 8, 181–185.

Castañóna CAB, Fraga JS, Fernandez S, Grubera A, and Costa LDF, 2007. Biological shape characterization for automatic image recognition and diagnosis of protozoan parasites of the genus Eimeria. Pattern Recognition, 40, 1899 – 1910.

Chen Q, Chao R, Chen H, Hou X, Yan H, Zhou S, Peng W, and Xu A, 2005. Antitumor and neurotoxic effects of novel harmine derivatives and structure-activity relationship analysis. Int. J, Cancer, 114, 675–682.

Chermette and Bussiera S, 1992. Parasitologie Vétérinaire. Protozoologie, Imprimerie du Cercle des Elèves, ENVA, 2, 42-58, 160-168.

Chopra I C, Abral B K, and Handa K L, 1960. Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique. Ed UNESCO, 48.

Cocan O, Mărghias LA, Dezmirean D, and Laslo L, 2005. Composition and Biological activities of Beepollen – Review. USAMV-CN Bulletin 61, 221-226.

Conner BA, 1997. Cyclospora infection: a review. Ann Acad Med Singapore, 26, 5, 632-636.

Conti ME and Botr F, 2001. Honey bees and their products as potential bioindicators of heavy metal contamination. Environ. Monito. Assess, 69, 3, 267–282.

Conway DP and McKenzie ME, 2007. Poultry Coccidiosis: Diagnostic and Testing Procedures. Blackwell Publishing Professional. Third Ed, 1-138.

Cordero MC, Gil Serrano AM, and Ayuso Gonzalez MJ, 1991. Variations of alkaloids from Retama sphaerocarpa Boissier. Plant. Med. Phytother, 25, 157-160.

Crevieu G and Naciri M, 2001. Effet de l'alimentation sur les coccidioses chez le poulet. INRA, production animales, 14.

**D**anforth HD, Augustine PC, and Clare RA, 1994. Ultrastructural observations of development of Eimeria tenella in a novel established avian-derived cell line. Parasitol. Res, 80, 7, 588-593.

Dalloul RA and Lillehoj HS, 2006. Poultry coccidiosis: recent advancements in control measures and vaccine development. Exp. Rev. Vaccines, 5, 143–163.

Depeche, 1991. Pathologie des volailles en élevage fermier. La dépêche vétérinaire, (supplément technique n°20), 26.

Domingo F, Moro MJ, Sánchez G, Brenner SAJ, and Van Gardinge PR, 1997. Leaf and canopy boundary layer conductances of two semiarid species (Retama sphaerocarpa L. Bioss, and Stipa tenacissima L.). Mediterránea Ser. Biol, 16, 37-43.

Domingo F, Sánchez G, Moro MJ, Brenner AJ, and Puigdefábregas J, 1998. Measurement and modelling of rainfall interception by three semi-arid canopies. Agric. Forest. Meteorol, 91, 275-292.

Domingo F, Villagarcía L, Brenner AJ, and Puigdefábregas J, 1999. Evapotranspiration modele for semi-arid shrub-lands tested against data from SE Spain. Agricu. Forest. Meteorol, 95, 67-84.

Dubremetz JF, Garcia-reguet N, Conseil V, and Fourmaux MN, 1998. apical organelles and host-cell invasion by apicomplexa. Int. J. parasitol, 28, 7, 1007-1013.

Duszynski DW, Upton SJ, and Couch L, 2000. The coccidia of galliformes (chicken pathridge peacock, pheasant, quail, turkey). Supported by NSF-PEET DEB.

Eckman MK, 1995. Prevention and control of avian coccidiosis. XIV latin American poultry congress, Santiago chile.

EL Allagui N, Bourijate M, Tahrouch S, and Hatimi A, 2007. Effet de cinq extraits végétaux sur la mortalité des nématodes à galles du genre Meloidogyne ssp. Biochime substances naturelles et environnement, congrès international de biochimie, Agadir.

El Shazly A, Ateyaa AM, and Witte L, 1996. Quinolizidine alkaloid profiles of Retama retam, R.sphaerocarpa and R.monosperma ,Zeitschrift für Naturforschung. C. A. J. bioscience, 51, 5-6, 301-308. Ed: Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen, Allemagne, INIST-CNRS.

Entzeroth R, Mattig FR, and Werner-meier R,1998. Structure and function of the parasitophorous vacuole in Eimeria species. Int. J. Parasitol, Jul, 28, 7, 1015-1018.

Euzeby J, 1973. Immunologie des coccidioses de la poule. Cah. Méd. Vét, 42, 3-40.

Euzeby J, 1981. Diagnostic expérimental des helminthoses animales. Travaux pratiques d'helminthologie vétérinaire. Tome I : généralités, diagnostic ante mortem. Ed Informations Techniques des Services Vétérinaires, Paris, 340.

Euzeby J, 1987. Protozoologie médicale comparée. Collection fondation Marcel Merieux.

**F**aegri K, and Vanderpijl L, 1966. The principles of pollination ecology. Pergamon Press, 248.

Farouk L, Laroubi A, Aboufatima R, Benharref A, and Chait A, 2008. Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of Peganum harmala L.: Possible mechanisms involved. J. Ethnopharmacol, 115, 449–454.

Farzin D and Mansouri N, 2006. Antidepressant-like effect of harmane and other B-carbolines in the mouse forced swim test. Eur. Neuropsychopharmacol, 16, 324-328.

Fernando MA, Lawn AM, Rose ME, and Al-attar MA, 1983. Invasion of chicken cæcal and intestinal lamina propria by crypt epithelial cells infected with coccidia. Parasitology, 86, 3, 391-398.

Fleche C, Clément MC, Zeggane S, and Faucon JP, 1997. Contamination of bee products and risks for human health: the situation in France. Revue Scientifique et Technique de l'Office International Des Epizooties, 16, 2, 609–619.

Fowler NG, 1995. Anticoccidial information including safety, toxicity, incompatibilities and associated matters. Canterbury (GBR), ANITEC ASSOCIATES, 182.

Freeman BM, 1970. Evidence for the production of a toxin by Eimeria tenella. XIV Congres Intern. Aviculture, Madrid, Section II, 604-605.

Frison G, Favretto D, Zancanaro F, Fazzin G, and Ferrara SD, 2008. A case of b-carboline alkaloid intoxication following ingestion of Peganum harmala seed extract. Forensic. Sci. Int, 179, 37–43.

Fritzsche B and Gerriet E, 1965. Maladies des volailles. Vigot frères éditeurs, Paris.

Fukata T, Komba Y, and 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.

Gadoud R, Joseph MM, Jussiau R, Lisberney MJ, Mangeol B, Montmeas L and Tarrit A, 1992. Nutrition et alimentation des animaux d'élevage. Paris.

Giannenas I, Florou-Paneri P, Papazahariadou M, Christaki E, Botsoglou NA, and Spais AB, 2003. Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with Eimeria tenella. Arch. Tierernahr, 57, 2, 99–106.

Gordon RF, 1979. Pathologies des volailles. Maloine, Ed SA.

Gorenflot R, 1997. Biologie végétale. Plantes supérieures : appareil reproducteur. 4e Ed. Collection Enseignement des sciences de la vie. Masson, 278.

Gyuonnet V, Johnson JK, and Long PL, 1989. Infectivity of chicken eimerian sporulated oocysts injected directly into the duodenum. Coccidian and intestinal coccidomorphs, V<sup>th</sup> international coccidiosis conference, 17-20. INRA (les colloques de l'INRA, 49).

**H**afez MH, 2008. Poultry coccidiosis: prevention and control approaches. Arch.Geflügelk., 72, 1, 2–7.

Hamet N, 1981. Critères de changement d'anticoccidiens. Bull. Inf. Station Exp. Aviculture Ploufragan, 21, pp73-74.

Hammiche V and Merad R, 1997. Peganum harmala L. Laboratoire de botanique médicale, INESSM d'Alger. Ed MO Rambourg Schepens.

Hampson RJ, 1989. La coccidiose aviaire. Service de laboratoire vétérinaire, MAAO, Guelf, Otario, Canada.

Harbome JB and Baxter H, 1999. The handbook of natural flavonoids. John Wiley & Sons, New York, 2, X1, 193-205.

Haug A , Thebo P , and G. Mattsson J, 2007. A simplified protocol for molecular identification of Eimeria species in field samples. Vet. Parasitol, 146, 35–45.

Hendrix CM, 1998. Diagnostic veterinary parasitology. Mosby inc, 2<sup>nd</sup> Ed, Saint-Louis, 321.

Idrissi Hassani LM, 2000. Contribution à l'étude phytochimique du harmel Peganum harmala L. (Zygophyllaceae) et étude de ses effets sur la reproduction et le développement du criquet pèlerin Schistocerca gregaria Forsk, Thèse de Doctorat, Université Ibn Zohr, Agadir, 214.

Idrissi hassani LM, Ould ahmedou ML, Mayad EH, and Bouaichi A, 2002. Pouvoir insecticide de Peganum Harmala sur Schistocerca Gregaria: Effets de l'huile et des extraits de feuilles. Biologie & Santé, 2, 2.

Idrissi Hassani LM and Tahrouch S, 1998. Analyse du contenu alcaloïdique des différents organes de Peganum harmala L., Colloque International sur les ressources végétales, Agadir.

INSA (Institut national de la santé animale), 1991. Les principales maladies des volailles.

Iserin P, 2001. Encyclopedia of Médicinal Plants. La Rousse, 2nd Ed, 244-245.

Itavi, 1997. L'ammoniac. Sciences et Techniques Avicoles, Hors-Série, 49-52.

Jablonski B, Koltowski Z, Marcinkowski J, Rybak-chmielewska H, and Szczesna T, 1995. Zawartosc<sup>\*</sup> metali ciezkich (Pb, Cd I Cu) w nektarze, miodzie i pylku pochodzacym z roslin rosnacych przy szlakach komunikacyjnych [Contamination of nectar, honey and pollen collected from roadside plants]. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 40, 129–144.

Jang IJ, Moo-Hyung J, Lillehoj HS, Dalloul RA, Kong IK, Kim S, and Min W, 2007. Anticoccidial effect of green tea-based diets against Eimeria maxima. Vet. Parasitol, 144, 172–175.

Jeurissen SH, Janse EM, Vermeulen AN, 1996. Eimeria tenella infections in chickens: aspects of host-parasite interaction. Vet. immunol. Immunopathol, 54, 231-238.

Jolley WR, Burton SD, and Nyberg PA, 1976. Formation of sulfhydryl groups in the of Eimeria stiedai and Eimeria tenella oocysts subjected to in vitro excystation. J. Parasitol, 62, 2, 199-202.

**K**abay M, 1996. Coccidiosis in poultry. Animal health laboratories. South Perth western Australia.

Kawazoe U, Tomley FM, and Frazier JA, 1992. Fractionation and antigenic chara cterization of organelles of Eimeria tenella sporozoites. Parasitology, 992, 104, 1, 1-9.

Kayser O, Albrecht FK, and Simon LC, . Natural Products as potential antiparasitic drugs. Robert Koch-Institut, London School of Hygiene and Tropical Medicine, Department of Infectious and Tropical Diseases, Keppel Street, London, United Kingdom.

Kennedy M, 1996. Coccidiosis in chicken. Alberta University.

Kubik M, Nowacki J, Pidek A, Warakomska Z, Michalczuk L, and Goszczynski W, 1999. Pesticide residues in bee products collected from cherry trees protected during blooming period with contact and systemic fungicides. Apidologie, 30, 6, 521–532.

Kucera J, 1989. Differenciation of poultry coccidia in mixed infection. Coccidia and intestinal coccidiomorphs, V<sup>th</sup> international coccidiosis conference, 17-20, Ed INRA, (les colloques de l'INRA, 49).

Kusmenoglu S, Turkoz S, and Koca U, 1995. Constituents of the seed oil of Peganum harmala L. J. Fac. Pharm. Gazi, 12, 141-144.

Krell R, 1996. Value added products from beekeeping. FAO. Agric. Servi, Bulletin 124, 87–113.

Kreier JP and Baker JR, 1987. Parasitic Protozoa. Ed. Allen and Unwin, Boston, MA.

Lafargue M, 2011. Procédé de préparation de pollen brut. Demande de brevet européen, EP 2 281 456 A1, Journal officiel européen des brevets.

Lala S, Pramanick S, Mukhopadhyay S, Bandyopadhyay S, and Basu MK, 2004. Harmine: Evaluation of its antileishmanial properties in various vesicular delivery systems. J. Drug Target, 12, 165–175.

Lamchouri F, Settaf A, Cherrah Y, Zemzami M, Lyoussi B, Zaid A, Atif N, and Hassar M, 1999. Antitumour principles from Peganum harmala seeds. Therapie, 54, 753–758.

Lamchouri F, Settaf A, Cherrah Y, El-Hamidi M, Tligui N, Lyoussi B, and Hassar M, 2002. Experimental toxicity of Peganum harmala seeds. Ann. Pharm. Fr, 60, 123–129.

Lamy LH, 1980. Technique de base, protozoaires et helminthes parasite, recherche et identification au laboratoire. Maloine SA éditeur.

Lawn AM and Rose ME, 1982. Mucosal transport of Eimeria tenella in the cæcum of the chicken . J. Parasitol, 68, 6, 1117-1123.

Leita L, Muhlbachova G, Cesco S, Barbattini R, and Mondini C, 1996; Investigation of the use of honey bees and honey bee products to assess heavy metal contamination. Environ. Monitor. Assess, 43, 1–9.

Lesbougries G, 1965. Pathologies des oiseaux de basse cour. Vigot frères éditeurs. Paris.

Levine ND, 1970. Taxonomy of the sporozoa. J. Parasitol, 1970, 56, 208-209

Levine ND, CORLISS JO, and COX FE, 1980. A newly revised classification of the protozoa. J. Protozool, 27, 1, 37-58.

Lextenso, 2006. Interdiction des antibiotiques comme facteurs de croissance dans les aliments pour animaux, Accès internet : http://www. Web-agri.fr, 2006.

Liang XT, 1988. Distribution of Alkaloids in Traditional Chinese Medicinal Plants. The Alkaloids Chemistry and Pharmacology, 32, 241-270.

Li HB, Cheng KW, Wong CC, Fan KW, Chen F, and Jiang Y, 2007. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. Food chemistry, 102, 771-776.

Lien: Document de source inconnu, Chapitre 8, Phylum Apicomplexa: Gregarines and Coccidia.

#### Lien A:

http://fr.wikipedia.org/wiki/Volaille (09/05/2012).

#### Lien B:

http://fr.wikipedia.org/wiki/Gallus\_gallus (09/05/2012).

#### Lien C:

http://faostat.fao.org/ (09/05/2012).

#### Lien D:

http://www.algeria.com/forums/business-affaires/23263-aviculture-en-alg%E9rie-poultry-farming-algeria.html?pagenumber (07/05/2012).

#### Lien E:

http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp?cfile=htm/bc/200800.htm (23/07/2011).

#### Lien F:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Undef&id=5794&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock~(22/01/2012).

#### Lien G:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Undef&id=5796&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock (22/01/2012).

#### Lien H:

http://eimeria.chez.tiscali.fr/Coccidies%20Gallus/oocyste.html (10/01/2011).

#### Lien I:

http://www.catoire-fantasque.be/dossiers/glossaires/botanique.html#55 (26/11/2011).

#### Lien J:

http://fr.wikipedia.org/w/index.php?oldid=71807847 (23/11/2011).

Lister S and Knott C, 2000. Coccidiosis. Ranger magazine, Crowshall veterinary service.

Long PL, 1989. Factors affecting the life cycle and development of Eimeria. coccidia and coccidiomorphs, Vth international coccidiosis conference, 17-20, Ed INRA (les colloques de l'INRA), 49.

Long PL and Rowell JG, 1975. Sampling broiler house litter for coccidial oocysts. Br. Poult. Sci, 16, 6, 583-592

López-Lázaro M, Martín-cordero C, Cortés F, Piňero J, and Ayuso MJ, 2000. Cytotoxic Activity of Flavonoids and Extracts from Retama sphaerocarpa Boissier. Zeitschrift für Naturforschung 55, 40-43.

Louaar S, Akkal S, Bousetta A, Medjroubi K, Djrri L, and Seguin E, 2005. Phytochemical study of Retama sphaeroarpa. Chemistry of Natural Compounds, 41, 107-108.

**M**adden PA, and Vetterling JM, 1978. Scanning electron microscopy of schizogony in Eimeria tenella. J. Protozool, 25, 3, 298-301.

Mahmoudian M, Jalilpour H, and Salehian P, 2002. Toxicity of Peganum harmala: Review and a Case Report. Iranian. J. Pharmacol. Ther, 1, 1, 1-4.

Manger BR, 1991. In Veterinary applied, Pharmacology and Therapeutics, Part III Control of infectious diseases: chemotherapy, Chapitre 33: Anticoccidials, 5<sup>th</sup> Ed, Ed Bailliere Tindall, London, UK.

Magdeaine P and Chesnel C, 2002. Evaluation des surcoûts générés par les contraintes réglementaires en volailles de chair : conséquence sur la compétitivité de la filière. Sciences et techniques avicoles, 49, 17-25.

Mărgăoan R, Al. Mărghitas L, Dezmirean D, Mihai CM, and Bobis O, 2010. Bee Collected Pollen – General Aspects and Chemical Composition. Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies, 67, 1-2.

Mărghitas LA, 2005. Albinele si produsele lor. Ed Ceres.

Mbiantcha M, Kamanyi A, Teponno RB, Tapondjou AL, Watcho P, and Nguelefack TB, 2011. Analgesic and Anti-Inflammatory Properties of Extracts from the Bulbils of Dioscorea bulbifera L. var sativa (Dioscoreaceae) in Mice and Rats. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 9.

Medina A, González G, Sáez JM, Mateo R, and Jiménez M, 2004. Bee pollen, a substrate that stimulates ochratoxin A production by Aspergillus ochraceus Wilh. Systematic and Applied Microbiology 27, 2, 261–267.

Mekalti M, 2003. Incidence pathologique de la coccidiose en Aviculture. Magister en médecine vétérinaire, Université de Batna, Faculté des sciences, Département vétérinaire, Option pathologie des animaux domestiques.

Menard R, 2007. Apicomplexa research. Curr. Opin. Microbiol, 10, 346–348.

Michels MG, Bertolini LCT, Esteves AF, Moreira P, and Franca SC, 2010. Anticoccidial effectsofcoumestansfrom Eclipta alba for sustainable control of Eimeria tenella parasitosis inpoultryproduction. Vet. Parasitol, Article in press.

Ming-Hsein L and Hong-Kein OOI, 2008. Effect of chromium compounds on sporulation of *Eimeria piriformis* oocysts. Exp. Anim, 57, 1, 79-83.

Mirabito L, 2004. Bien-être animal : contexte et travail de l'ITAVI. Sciences et techniques Avicoles, 20, 26-28

Mirzaei M, 2007. Treatment of natural tropical theileriosis with the extract of the plant Peganum harmala. Korean J. Parasitol, 45, 4, 267-271.

Molan AL, Liu Z, and De S, 2009. Effect of pine bark (Pinus radiata) extracts on sporulation of coccidian oocysts. Folia Parasitologica, 56, 1, 1–5.

Montenegro G, Avila G, Rougier D, and Timmermann B, 1997. Pollen loads:source of carotenoids originating from the mediterranean plant communities of the central zone of Chile. Revista di Chilena de Historia Natural, 70, 91-99.

Morris GM and Gasser RB, 2006. Biotechnological advances in the diagnosis of avian coccidiosis and the analysis of genetic variation in Eimeria. Biotechnol. Adv, 24, 590–603.

Morgan JAT, Morris GM, Wlodek BM, Byrnes R, Jenner M, Constantinoiu CC, Anderson GR, Lew-Tabor AE, Molloy JB, Gasser RB, and Jorgensen WK, 2009. Real-time polymerase chain reaction (PCR) assays for the specific detection and quantification of seven Eimeria species that cause coccidiosis in chickens. Mol. Cell. Probes, 23, 83–89

Mouafo AN, Richard F, and Entzeroth R, 2000. Observation of sutures in the oocyst wall of Eimeria tenella (Apicomplexa). Parasitol. Res, 86, 12, 1015-1017.

Naciri M and Brossier F, 2008. Les coccidioses aviaires : importance et perspectives de recherche. Bull. Acad. Vét, France, 162, 1.

Naciri M, 2000. Eimeria, pathologie aviaire et parasitologie. INRA, centre de tours.

Naciri M, 2001. Les moyens de lutte contre la coccidiose aviaire. Nouzilly, INRA.

Naidoo V, McGaw LJ, Bisschop SPR, Duncan N, and Eloff JN, 2008. The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. Vet. Parasitol, 153, 214–219.

Nenaah G, 2010. Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of Peganum harmala (L) seeds and their combination effects. Fitoterapia 81, 779–782.

Nene-Bi SA, Traore F, Soro TY, and Souza A, 2009. Etude phytochimique et pharmacologique de Bridelia feruginea benth (euphobiaceae) sur la motricité du taenia coli de cobaye. Afrique science 05, 2, 305-320.

Neuner-jehle N, Nesvadba H, ansd piteller G, 1964. Shlüsselbruchstücke in den Massenspektren von Alkaloiden. Mh. Chemic 95, 687-709.

Nicolle LE, 2003. Urinary tract infection: traditional pharmacology. Dis Mon, 49, 2, 111-128.

OMS (organisation mondiale de la santé), 1997. Parasitologie technique de base pour le laboratoire. Bibliothèque de l'OMS.

Oravie (Office Régional d'Aviculture de l'Est), 2004. Contrôle sanitaire en aviculture du 11 août, 25.

Ouarzane M, Labbe M, and Pery P, 1998. Eimeria tenella: cloning and characterization of cDNA encoding a s3a ribosomal protein. Gene, 28, 125–130.

Ozenda P, 1977. Flore du Sahara, Ed du CNRS, 312-322.

**P**acheco ND, Vetterling JM, and Doran DJ, 1975. Ultrastructure of cytoplasmic and nuclear changes in Eimeria tenella during first-generation schizo gony in cell culture. J. Parasitol, 61, 1, 31-42.

Page DC and Kim Haddad BA, 1995. Coccidial Infections in Birds. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, 4, 3, 138-144.

Pham-délègue MH, Jouanin L, and Sandoz JC, 2002. Direct and indirect effects of genetically modified plants on the honeybee. In: devillers j, pham-délègue MH. Honey Bees: estimating the environmental impact of chemicals. London, UK: Taylor&Francis, 312-326.

Pierre J, Chauzat MP, 2005. L'importance du pollen pour l'abeille domestique. Bull. Tech. Apic, 32,1, 11-28.

Poros-Gluchowska J and Markiewicz Z, 2003. Antimicrobial resistance of Listeria monocytogenes. Acta. Microbiol. Pol, 52, 2, 113-129.

Pouvreau A, 2004. Les insectes pollinisateurs. Paris : Ed Delachaux et Niestlé, 191.

Prashanth D, and John S, 1999. Antibacterial activity of Peganum harmala. Fitoterapia, 70, 438–439.

Quezel P and Santa S, 1962-1963. Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, Editions du Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, 475–476.

**R**achid H, 2011. Aviculture et viandes blanches en Algérie : Une filière en pleine transition. Journal Le Maghreb.

Rand MS, 1986. Summary of avian disease: Fungal, Nutritional, Tumors, parasites et miscellaneous.

Reid MW, Calnek BW and Mc Dougald LR, 1978. Protozoa- coccidiosis: "Diseases of poultry". Aimes Iowa (USA): Iowa State University Press, 783-814.

Remmal A, Achahbar S, Bouddine L, Chami N, and Chami F, 2011. In vitro destruction of Eimeria oocysts by essential oils. Vet. Parasitol, 182, 121–126.

Reperant JM, Ribot J, Thomas-Hénaff M, Morel H, Morel J, and Jestin V, 2003. Marqueurs immunologiques d'espèces de coccidies parasites du poulet. Cinquièmes Journées de la Recherche Avicole, Tours.

Reperant JM, 2001. Présent et avenir du contrôle des coccidioses aviaires. Proceeding 4ème Journées de la Recherche avicole. Nantes.

Reperant JM, 1998. Aspects de la lutte contre les coccidioses chez le poulet. Sciences et Techniques avicoles.

Rezzagui A, 2012. Evaluation de l'effet toxique de l'extrait brut et l'activité antioxydante des différents extraits des grains de *Peganum harmala*. Thèse de Magister en cours de préparation. Université Ferhat Abbas, faculté des sciences de la nature et de la vie, Département de biologie, Spécialité biochimie expérimentale te physiologie.

Rose ME and Hesketh P, 1983. Infection with eimeria species, the role of bile. J. parasitol, 69.

Ruff MD and Reid WM, 1977. Avian Coccidia In Parasitic Protozoa, Gregarine, Haemogregarines, Coccidia, Plasmodia Haemoproteids. Ed KREIER JP, 2, III, Academic Press, INC New York, San Francisco, London.

Ryley JF and Hardman L, 1978. The use of vitamin K deficient diets in the screening and evaluation of anticoccidial drugs. Parasitology, 76, 1, 11-20

SA: Salsbury laboratories, 1976. Maladies des volailles (manuel Salsbury). Charles city, Iowa.

Saini R, Davis S, and Dudley-Cash W, 2003a. Oregano essential oil reduces the expression of coccidiosis in broilers. In: Proceeding of the 52<sup>nd</sup> Conference on Western Poultry Diseases, Sacramento, CA, 97–98.

Saini R, Davis S, and Dudley-Cash W, 2003b. Oregano essential oil reduces necrotic enteritis in broilers. In: Proceeding of the 52nd Conference on Western Poultry Diseases, Sacramento, CA, 95–97.

Schwartz D, 1985. Summer disease of poultry. Dept of animal science, Michigan State University.

Sharaf M, el-Ansari MA, Matlin SA, and NA Saleh, 1997. Four flavonoid glycosides from Peganum harmala. Phytochemistry, 44, 533–536.

Shirley MW and Harvey DA, 1996. Eimeria tenella: genetic recombination of markers for precoccious development Appl. and arprinocid resistance. Parasitology, 37, 293–299.

Shirley MW and Harvey DA, 2000. A genetic linkage map of the apicomplexan protozoan parasite Eimeria tenella. Genome. Res, 10, 1587–1593.

Shirley MW, 1975. Enzyme variation in Eimeria species of the chicken. Parasitology, 71, 3, 369-376.

Shiotani N, Baba E, and Fukata T, 1992. Distribution of oocysts, sporocysts and of Eimeria tenella and Eimeria maxima in the digestive tract of chicken. Vet. Parasitol, 41, 1-2, 17-22.

Siddiqui S and Afza N, 1978. Seeds of Peganum harmala a possible new source of edible oil. Pakistan J. Sci. Ind. Res, 21, 46.

Silvaa SMT, Camara CA, Da Silva Lins AC, Barbosa-Filho JM, Eva Moˆ nica Sarmento da Silvab, Freitas BM, and Dos Santos FDAR, 2006. Chemical composition and free radical scavenging activity of pollen loads from stingless bee Melipona subnitida Ducke. J. Food Compo. Anal, 19, 507–511.

Silversides FG and Remus J, 1999. Betaine improves performance of coccidia-challenged birds. World poultry, Elsevier special.

Smith T, 1997. Protozoan poultry disease. Department of poultry science, Mississippi state university.

Soro TY, Traore F, and Sakande J, 2009. Activité analgésique de l'extrait aqueux de Ximenia americana (Linné) (Olacaceae). C. R. Biologie, 332, 371-377.

Stanciu OGV, 2008. Reaserch Concerning In Vitro Antioxidant Capacity of Biologic Active Compounds of Honeybee-Collected Pollen, PhD Thesys.

Szczesna T, 2007. Study on the sugar composition of honeybee-collected pollen. J. Apic. Sci, 51, 1, 15-21.

Szczesna T, Rybak-chmielewska H, and Skowronek W, 1995a. Wplyw utrwalania na wartosç biologiczna obnózy pylkowych [The effect of preservation on the biological quality of the pollen loads]. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 39, 1, 177–187.

Szczesna T, Rybak-chmielewska H, and Skowronek W, 1995b. Zmiany w składzie chemicznym obnózy pyłkowych zachodzace podczas ich przechowywania w róznych warunkach. I. cukry, tłuszcz, popiól [Alterations in the chemical composition of the pollen loads stored under various conditions. I. sugars, fat and ash]. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 40, 145–156.

Szczesnan T, Rybak-chmielewska H, and Skowronek W, 1995c. Zmiany w składzie chemicznym obnózy pyłkowych zachodzace podczas ich przechowywania w róznych warunkach. III. witamina C i prowitamina A ( $\mu$ - karoten) [Alterations in the chemical composition of the pollen loads stored under various conditions. III vitamin C and provitamin A ( $\mu$ -carotene)]. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 40, 171–189.

Szczesna T, Rybak-chmielewska H, and Skowronek W, 1995d. Zmiany w składzie chemicznym obnózy pyłkowych zachodzace podczas ich przechowywania w róznych warunkach. IV kwasowosc ogólna i czynna (pH) [Alterations in the chemical composition of the pollen loads stored under various conditions. IV total and active acidities]. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 40, 191–207.

Szczesna T, Rybak-chmielewska H, and Arciuch H, 1993. Zastosowanie anodowej woltamperometrii inwersyjnej do oznaczania Cd, Pb I Cu W obnózach pylkowych. Pszczelnicze Zeszyty Naukowe, 37, 171–174.

Szczesna T, 2006. Protein content and amino acid composition of bee-collected pollen from selected botanical origins. J. Apic. Sci, 50, 2, 81-90.

Stiff MI and Bafundo KW, 1993. Developpement of immunity in broilers continuously exposed to Eimeria species, avian disease.

Stotish RL, Wang CC, and Meyenhofer M, 1978. Structure and composition of the oocyst wall of Eimeria tenella. J. Parasitol, 64, 6, 1074-1081.

Suls L, 1999. The continuig battle against coccidiosis. World poultry, Elsevier special.

**T**ahrouch S, Rapior S, Belahsen Y, Bessiere JM, and Andary C, 1998. Volatile constituents of Peganum harmala (Zygophyllaceae). Société Botanique de France, Acta bot. Gall, 2, 145, 121-124.

Tahrouch S, Rapior S, Mondolot-Cosson L, Idrissi-Hassani LA, Bessière JM, and Andary C, 2002. Peganum harmala: source combinée d'aromes et de colorants. Reviews in biology and biotechnology by the Moroccan society of biology in Canada, 2, 2, 33-37.

TNMCD (The Natural Medicines Comprehensive Database), 2009. Bee pollen Databaser. Therapeutic Research Faculty.

Timmermann BN, Steelink C, and Loewus FA, 1984. Phytochemical adaptation to stress, In Recent advances in phytochemistry, Pergamon Press, New York and London, 18, 334.

Tomley FM, Bumstead JM, and Billington KJ, 1996. Molecular cloning and characterization of a novel acidic microneme protein (Etmic-2) from the apicomplexan protozoan parasite, Eimeria tenella. Mol. Biochem. Parasitol, 82, 2, 271.

Tomley FM, Clarke LE, and Kawazoe U, 1991. Sequence of the gene encoding an immunodominant microneme protein of Eimeria tenella. Mol. Biochem. Parasitol, 49, 2, 277-288.

Trabsa H, 2011. Propriétés antioxydantes et activité inhibitrice de la xanthine oxydase des extraits de la plante médicinale *Peganum harmala L*. Thèse de Magister en biotechnologie, Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie, Université Mohammed Kheider, Biskra.

Trout JM and Lillehoj HS, 1996. T lymphocyte roles during Eimeria acervulina and Eimeria tenella infections. Vet. Immunol. Immunopathol, 53, 163-172.

Trout JM, Lillehoj HS, 1993. Evidence of a role for intestinal CD8+ lymphocytes and macrophages in transport of Eimeria acervulina sporozoites. J. Parasitol, 79, 5, 790-792.

Trout JM, Lillehoj HS, 1995. Eimeria acervulina infection: evidence for the involvement of CD8+ T lymphocytes in sporozoite transport and host protection. Poultry Science, 74, 7, 1117-1125.

Tse SYH, Mak IT, and Dickens BF, 1991. Antioxidative properties of harmane and h-carboline alkaloids. Biochem. Pharmacol, 42, 459–464.

Unesco, 1960. Recherches sur la zone aride - XIII-Les plantes médicinales des régions arides, Pb Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture, place de Fontenoy, Rennes, NS.59/III.17/99.

Van Eekeren N, Maas A, Saatkamp HW, and Verschuur M, 2006. L'élevage des poules à petite échelle. Série Agrodok, 4, 6-19.

Vaissière BE, Vinson SB, 1994. Pollen morphology and its effect on pollen collection by honey bees, Apis mellifera L. (Hymenoptera: Apidae), with special reference to upland cotton, Gossypium hirsutum L. (Malvaceae). Grana, 33, 128-138.

Vercruysse J, 1995. Les protozooses des animaux domestiques Paris : Fondation Mérieux, 194.

Vervelde L, Vermeulen AN, and Jeurissen SHM, 1993. The role of intra epithelial and lamina propria leucocytes in the migration of Eimeria tenella sporozoites from the villi to the crypts. Avian immunology in progress, les colloques, 62, INRA, Paris.

Villate D, 1997. Maladies des volailles (manuel pratique). Ed France agricole.

Villate D, 2001. Maladies des volailles (manuel pratique). Ed France agricole.

VLI: Vetech laburatories Inc, 2001. Coccidiosis. Guelph, Ontario, Canada.

**W**illiams RB, 1998. Epidemiological aspects of the use of live anticoccidial vaccines for chicken. Int. J. Parasitol, 28, 1089-1098.

Williams RB, 1995. Epidemiologie studies of coccidiosis in the domesticates fowl (Gallus gallus). Physical condition and survival of Eimeria acervulina oocysts in poultry. Houses litter, appl. parasitol, 36, 1995.

Williams RB, Busttel AC, Reperant JM, Doy TG, Morgan JH, Shirley MW, Yvoré P, Carr MM, and Fermont YA, 1996. Servey of Eimeria species in commercially reared chickens in France during 1994, Avian path, 25.

Wright E, 1998. Poultry disease coccidiosis, depart of primary industries Queensland.

WPE: World poultry Elsevier, 1999. Not all disinfectants kill oocystes.

Witlock DR, Ruff MD, Chute MB, Physiological basis o Eimeria tenella induced mortality in individual chickens. J. Parasitol, 1981, 67, 65-69.

Yang S, 2005. Pollen under the microscope. Science Photo Library Feature Stories.

Yang X, Guo D, Zhang J, Wu M, 2007. Characterization and anti-tumor activity of pollen polysaccharide. Int. Immunopharmacol, 7, 401-408.

Yim D, Kang SS, Lillehoj HS, and Min W, 2010. A simple and efficient method for isolation of a single Eimeria oocyst from poultry litter using a micromanipulator. Res. Vet. Sci, Article in press, Elsevier.

Yousefi R, Ghaffarifar F, and Dalimi A, 2009. The Effect of Alkanna tincturia and Peganum harmala Extracts on Leishmania major (MRHO/IR/75/ER) in Vitro. Iranian. J. Parasitol, 4,1, 40-47.

Yvoré P, 1992. Les coccidioses en aviculture. Manuel de parasitologie aviaire, Ed chaire de pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour.

Yvoré P, Naciri M, Lafont JP, and Renault L, 1982. Les coccidioses, aspect étiologique et pathogénique. Le point vétérinaire, 14, 66.

Yvoré P, Lesur J, and Mainguy P, 1972. Incidence de la coccidiose sur la coloration jaune du poulet. Ann. Rech.Vet, 3, 389-398.

**Z**akirov PK, Karimov G, and Norbobaeva T, 1989. Peganum harmala L. as a vegetable dye for yarns. Dokl. Akad. Nauk Uz SSR, 5, 52-53.

Zohary, 1962. Plant life of Palestine, Israel, and Jordan, Michael Zohary. Ronald, New York, 163, 3515, 523.

## ANNEXES

## Annexe 1

_	ESPECES			
Caractéristiques	Eimeria acervulina [Tvzzer 1929]	Eimeria mitis [Tvzzer 1929]	Eimeria praecox [Johnson 1930]	
Localisation	Duodénum et premier tiers du grêle	1ère moitié du grêle	Duodénum	
Oocyste	- Oocystes ovoïdes de 20µ×14µ à paroi lisse et fine, avec un très petit micropyle Pas de reliquat, ni oocystal ni sporocystal, un granule polaire	paroi lisse et fine, avec un très petit micropyle.  - Pas de reliquat, ni oocystal ni taille 16μ×15μ, avec un petit micropyle.  - Pas de reliquat oocystal; un petit		
Cycle	- Se développent dans toute l'étendue de l'intestin grêle, mais surtout à la moitié antérieure avant le diverticule de Meckel Envahit les cellules des villosités rarement les glandes Quatre générations de schizontes dont le dernier se développe après la gamogonie, à partir d'un groupe de merozoites non utilisés pour celle-ci, d'où deux vagues de production d'oocystes au 5ème jour (la plus importante) et au 7ème jour Pour un oocyste sporulé ingéré, il y'a formation de plus de 50000 oocystes ne se développe pas sur la membrane chorio –allantoïdienne de l'embryon de poulet (caractère spécifique).	Se développent dans la moitié postérieure de l'intestin grêle en arrière de diverticule de Meckel, où se produisent deux générations de schizontes sur l'épithélium superficiel des villosités.	Se développent dans le tiers supérieur de l'intestin grêle (avant le diverticule de Meckel) où se produisent deux générations de schizontes dans l'épithélium des villosités.	
Période pré-patente	5 jours	5 jours	4 jours	
Période patente	6 à 12 jours	7 jours	6 jours (des souches précoces de 64h ont été sélectionnées)	
Stade pathogène	Gamétocytes (espèce peu pathogène sauf au cas d'infection massive).	Gamétocytes (peu pathogène)	Gamétocytes (peu pathogène)	
Stade immunogène	Peu immunogène	Peu immunogène	Rapidement immunogène (surtout pour les souches précoces).	

	ESPECES			
Caractéristiques	Eimeria maxima [Tyzzer 1929]	Eimeria brunetti [Levine1942]		
Localisation	Jéjunum, iléon	1ère schizogonie dans le grêle, 2ème et gamétogonie dans les cæcums.		
Oocyste	- Oocystes ovoïdes de 30µ×20µ, de coloration jaune clair, à paroi plus en moins rugueuse (caractère lié à la présence de reste de cellule hôte sur la paroi), sans micropyle ou très petit.  - Pas de reliquat oocystal; un petit reliquat sporocystal, un granule polaire, les sporozoites renferment un globule très réfringent.	- Oocystes ovoïdes 25µ×18µ, ce sont les plus volumineux après E. maxima, incolores, à paroi lisse et sans micropyle.  - Pas de reliquat sporocystal, un granule polaire au gros pole, un ou deux granules réfringents dans les sporozoites.		
Cycle	-Evolution endogène dans toute l'étendue de l'intestin grêle, mais surtout dans le jéjunum (comme E. necatrix).  - Deux générations de schizontes dans l'épithélium superficiel, de petite taille (10μ×8μ) comportant 8 0 16 mérozoites (7μ×3μ).  - Le maximum de mérozoites est obtenu entre la 96 ême -120 ême h.  - La gamogonie a lieu dans la paroi profonde de l'épithélium en position sous épithéliale.  - Les microgamètes sont plus volumineux que les macrogamètes (35-40μ×27-37μ) contre (22-27μ×16-18μ), caractère spécifique d'E.	- Occupe la totalité de l'intestin grêle, mais les lésions intéressent essentiellement l'iléon et le rectum.   - Deux générations de schizontes dans l'épithélium superficiel, sauf au cours des infestations massives, où les formes asexuées envahissent le tissu sous épithélial.   - Schizontes I de $30\mu\times20\mu$ , avec $200$ mérozoites I formés à la $50^{\text{leme}}$ - $70^{\text{leme}}$ h.   - Schizontes II de $30\mu\times10\mu$ , avec $50$ à $60$ mérozoites II, formés à la $96^{\text{leme}}$ h.   - Les gamétocytes sont formés dans les mêmes positions de l'intestin que les schizontes II (iléon, rectum).		
Période pré-patente	7 jours, avec un maximum d'oocystes entre la 136 me et la 150 me h (des souches précoces ont été également isolées la 120 me heure); la prolificité pour un oocyste sporulé est de 2000 à 10000 oocystes.	7 à 10 jours		
Période patente	9-10 jours			
Stade pathogène	Gamétocytes (déterminent les principales lésions)	Schizontes II et gamétocytes, localisés en position profonde sous épithéliale.		
Stade immunogène	Elle est plus immunogène des coccidies parasites de la poule.	Très immunogène		

	ESPECES				
Caractéristiques	Eimeria tenella [Fanthan 1909]	Eimeria necatrix [Johnson 1930]			
Localisation	Ceacums	Schizogonie dans l'intestin, grêle, gamétogonie dans les cæcums.			
Oocyste	<ul> <li>Oocyste ovoïde de 22μ×19μ en moyenne, incolore, à paroi lisse.</li> <li>A l'émission, le cytoplasme ne remplit pas tout le volume de l'oocyste.</li> <li>Délai de sporulation 18heures.</li> <li>Possède un granule polaire au petit pole, pas de reliquat, ni oocystal, ni sporocystal.</li> </ul>	- Oocyste sub-globuleux ou ovoïde 16µ×14µ, paroi lisse, incolore, sans micropyle; le cytoplasme remplit presque tout le volume de l'oocyste.  - Pas de reliquat oocystal, reliquat sporocystal, granule polaire.			
Cycle	<ul> <li>Schizonte I apparait à la 48ème h (24μ×17μ), avec 900 mérozoites I de 3μ×1,5μ.</li> <li>Schizonte II apparait entre la 60ème et la 72ème h en position profonde de l'épithélium caecal; la maturation est accomplie entre la 72ème h et la 96ème h (3,5j)</li> <li>après infection; schizonte II de grande taille</li> <li>(30μ×50μ) avec 200 à 300 mérozoites II de 16μ×2μ.</li> <li>Schizontes III est possible (9μ×7μ) avec 4 à 30 mérozoites III de 6,5μ× 1μ; mais le plus souvent, après les schizontes II intervient la gamogonie et les premiers oocystes sont évacués au 7ème jour.</li> </ul>	- phase endogène semblable à celle d'E. tenella en ce qui concerne le transport des sporozoites par les lymphocytes, mais avec des localisations différentes : la schizongonie intervient dans les cellules épithéliales de l'intestin grêle en position moyenne dans le jéjunum, et la gamogonie dans l'épithélium caecal.  - Schizogonie I à la 48-60 me h (18μ×13μ); les mérozoites sont libérés à la 72 me h et envahissent immédiatement les cellules adjacentes, et formation des schizontes II à la 96 me h (65μ); ils sont de grande taille par rapport aux autres espèces parasités de l'intestin (moyenne 10μ-17μ).  - Les mérozoites II sont libérés entre 120 me et la 192 me h et sont entrainés par le péristaltisme intestinal, jusqu'aux caeca et sont à l'origine de la gamogonie (expérimentalement, les sporozoaires d'E. necatrix, inoculés dans les ceaca, accomplissent toute leur évolution dans l'épithélium caecal lui même et aboutissent à la production d'oocystes viables).			
Période prépatente	Période prépatente écourtée obtenue par sélection de souches précoces (une seule génération de schizonte) : 115h.	7 jours			
Période patente	12 jours. Période maximale d'élimination d'oocystes se situe à environ du 10 <sup>ème</sup> jour.	8-10 jours			
Stade pathogène	Schizonte II mature	Schizonte II murs (hémorragie aux 5 ème -6 ème jours en cas d'infection importante)			
Stade immunogène	Sporozoites et schizontes II jeunes non encore segmentés en mérozoites II (3,5 jours). Des souches d'E. tenella non pathogènes et immunogènes (souche Wisconsin) ont été isolées.	Schizontes II jeunes (4 <sup>ème</sup> jour)			

## Annexe 2

	Λ						
۱'	A		HARMEL	RETAMA MEOH	RETAMA AQ	POLLEN	
			Nombre d'oocystes x 10³				
Ι.		Témoin	12,5	12,5	12,5	12,5	
П		5	9,75	10,5	10	11,25	
П	2 lan	10	8,75	10	8,25	10,25	
П	Classini	20	8	9	7,25	9,75	
	•	30	7	7,75	4	8	

		HARMEL	RETAMA MEOH	RETAMA AQ	POLLEN
			% oocystes détruits pa	ar les extraits /témoin	
	5	22	16	20	10
A limit	10	30	20	34	18
Clashin	20	36	28	42	22
Š	30	44	38	68	36
Moyer	ne %	33	25,5	41	21,5

## Annexe 3

Concentration mg/ml	0,5	1	2
Nombre d'oocystes x 10 <sup>3</sup>	9,5	9	8
% oocystes détruits	24	28	36

### Annexe 4

Concentration mg/ml	0	5	10	20	30
Nombre d'oocystes x 10 <sup>4</sup>	5	4,125	3,875	3,125	2,5
Absorbance à 273nm	.0	0,036	0,131	2,101	2,311
Concentration mg/ml	0	5	10	20	30
Nombre d'oocystes x 10 <sup>4</sup>	5	3,5	2,8125	2,55	1,625
Absorbance à 273nm	0	1,752	1,790	2,691	3,328
Absorbance à 273nm  Concentration mg/ml	0	1,752	1,790	2,691	3,328
		,	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·		3,328 30 2,8
Concentration mg/ml	0	5	10	20	30
Concentration mg/ml Nombre d'oocystes x 10 <sup>4</sup>	0 5	5 4,375	10 3,75	20 3,25	30 2,8

### Annexe 5

Concentration mg/ml	0,2	0,4	0,8
Nombre d'oocystes x 10 <sup>4</sup>	2,5	2	1,8125
Absorbance à 273nm	0,55536358	1,22783146	1,49328303
% Oocystes détruits	50	60	63,75

يعتبر كوكسيديا الطيور مرضا ذو أضرار اقتصادية وحيمة، والذي تسببه طفيليات Eimeria ذات غو داعل علوي إجباري. يعد استعمال المواد المستخلصة من النباتات الطبية واحدة من الطرق البديلة لمكافحة الكوكسيديا الطيور. تحدف الدراسة إلى تقييم الفعل ضد الكوكسيديا لبعض من هذه النباتات، Peganum harmala (الحرمل) و Retama sphaerocarpa (الرقمة) و جبوب اللقاح. بينت النتائج أن محتلف مستخلصات هذه النباتات تخوب بويضات .200 وجبوب اللقاح، عمل التقاوية تتناسب طريا مع التراكيز التي تراوحت بين 10مغ/مل و 30 مع/مل. أظهرت النتائج، بالاعتماد على 200 و Retama sphaerocarpa يعد الأكثر سمية يليه كل من المستخلصات الميناؤلية لو Peganum harmala و Retama sphaerocarpa وجبوب اللقاح، حيث قدرت نسب المويضات المخرية ب 48% و 30% و 21.5% ملى الترتيب. كما لوحظ أيضا تحرير معتبر للمكونات الخلوية التي تمتص عند 273 نانومتر، والذي يتناسب بطريقة خطية و طردية مع تركيز مختلف المستخلصات (5 و 100 و 30 و 30 مغ/مل). تعكس هذه التأثير الكمي والنوعي في مدى فعالية هذه المستخلصات والذي من اغتمل أن يرجع إلى التوزيع غير المتساوي للمستقلبات، أين ثم دراسة مختلف أنشطتها البيولوجية باستعمال طرق كيميائية و الميكروبية.

الكلمات المفاتيح: كوكسيديا الطيور، Eimeria sp، النشاطية ضد الميكروبي Retama sphaerocarpa · Peganum harmala، حبوب اللقاح، البويضات.

#### RESUME

La coccidiose aviaire est une maladie ayant de graves conséquences économiques. Elle est provoquée par des parasites à développement intracellulaire obligatoire appelés Eimeria. Chez le poulet, neuf espèces sont en cause. Elles se développent spécifiquement dans les entérocytes de l'épithélium intestinal, ce qui engendre des perturbations de l'homéostasie pouvant conduire à la mort de l'animal. La prophylaxie repose sur l'utilisation d'anticoccidiens et sur la vaccination. Le coût élevé des vaccins, et l'apparition de résistances aux anticoccidiens soulignent la nécessité de trouver des moyens de lutte alternative.

L'utilisation de produits à base de plantes médicinales est l'une des méthodes alternatives. Ces plantes restent le premier réservoir de nouvelles molécules chimiques nécessaires à la mise en point de futurs médicaments. Notre travail vise à tester quelques unes de ces plantes, *Peganum harmala*, *Retama sphaerocarpa* et les grains de Pollen contre la coccidiose in vitro.

Les résultats obtenus montrent que les différents extraits de ces plantes détruisent les oocystes d'*Eimeria sp* de manière dose dépendante, dans un intervalle de concentration situé entre 10 et 30mg/ml. Exprimé sous forme de LC50, les résultats indiquent que le traitement le plus toxique ou coccidiocide est celui de l'extrait aqueux de *Retama sphaerocarpa* suivi par les extraits méthanoliques de *Peganum harmala*, *Retama sphaerocarpa*, et le Pollen avec des proportions d'oocystes détruits de 48%, 33%, 29%, et 21,5% respectivement en comparaison avec le témoin (p < 0,05). Une importante libération de matériaux cellulaires absorbants à 273nm est également observée. Elle varie de manière linéaire et proportionnelle à la concentration des différents extraits (5, 10, 20 et 30mg/ml).

Ces résultats reflètent une variabilité quantitative et qualitative dans le pouvoir coccidioside des différents extraits. Cela est du probablement à la répartition très inégale de leur métabolites, dont plusieurs activités biologiques ont été démontrées par diverses études chimiques, biochimiques, et microbiologiques.

Mots clés: Coccidiose aviaire, Eimeria sp, activité anticoccidienne, Peganum harmala (L.), Retama sphaerocarpa (L.) boisse, grains de Pollen, oocystes.

#### SUMMARY

Avian coccidial infections are associated with a heavy economic damage. They are caused by obligate intracellular parasites of the genus Eimeria. Nine species are caused in chickens. These parasites are host specific and invade epithelial cells of animal intestines, causing severe damages that can lead to the host's death. Prophylaxis relies on the use of anticoccidial drugs and vaccination. However, the vaccines' high costs and the emergence of anticoccidial drug resistance highlight the need to develop alternative control methods.

The use of products from medicinal plants is one of the alternative methods against avian coccidiosis. These plants remain the first reservoir of new chemical molecules necessary for producing future drugs. The aim of our study consists to test *in vitro* some plants, Harmel (*Peganum harmala*), Retama (*Retama sphaerocarpa*) and Pollen grains against coccidiosis. Results showed that the different extracts of these plants destroyed the *Eimeria sp* oocyst in concentration dependant manner where the applied concentrations are ranging from 10 to 30mg/ml. Expressed in LC 50 and compared to blank (*p*<0.05), results indicated that the most toxic treatment or coccidiocid was the aqueous extract of *Retama sphaerocarpa* followed by methanol extracts of *Peganum harmala*, *Retama sphaerocarpa* and Pollen grain with a proportions of destroyed oocyst of 48%, 33%, 29%, and 21,5%, respectively. An important release of cellular material that absorb at 273 nm was also observed. It varied in linear and proportional manner with the different concentration of extracts (5, 10, 20 and30mg/ml). Such results reflect both a quantitative and qualitative variability towards the coccidiosid power of different extracts. This may be due to the great difference of their metabolites where several biological activities were investigated using chemical, biochemical and microbial methods.

Key words: Avian Coccidiose, Eimeria sp, anticoccidial activity, Peganum harmala (L.), Retama sphaerocarpa (L.) boisse, Pollen grains, oocysts.