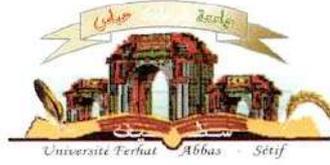


الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

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



جامعة فرحات عباس، سطيف 1
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE

N°/SNV/2020

THÈSE

Présentée par

BAKLI Sabrina

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière: BIOLOGIE

Spécialité: MICROBIOLOGIE

THÈME

**Activité antimicrobienne, antioxydante et
anticoccidienne des extraits phénoliques de
quelques plantes médicinales locales**

Soutenue publiquement le 23/12/2020

DEVANT LE JURY

Président **ZERROUG Mohamed Mihoub**

Pr. UFA Sétif 1

Directeur **HARZALLAH Daoud**

Pr. UFA Sétif 1

Examineurs **KACEM CHAUCHE Noredine**

Pr. U. Mentouri-constantine 1

BENDIF Hamdi

MCA. U. M'sila

BOUBELLOUTA Tahar

MCA. U. Bordj Bou-Argeridj

Laboratoire de Microbiologie Appliquée

Remerciements

Je remercie tout d'abord Dieu, le tout puissant de m'avoir accordé santé, courage et foi.

Un agréable merci à tous ceux que je ne peux pas tous citer qui à un moment ou un autre, m'ont prodigué des conseils scientifiques, fourni une aide matérielle et technique, ou tout simplement humaine.

J'ai eu la chance d'effectuer ce travail de recherche dans le laboratoire de Microbiologie de l'Université Ferhat abbas Sétif.

Tout d'abord, Je remercie Pr. HARZALLAH Daoud d'avoir dirigé ma thèse au cours de toutes ces années avec beaucoup de patience. Votre rigueur scientifique, vos conseils et vos encouragements m'ont permis de mener à bien ce travail.

Mes plus vifs remerciements vont aussi au Professeur ZERROUG Mohamed Mihoub pour avoir bien voulu examiner ce mémoire et m'avoir fait l'honneur de présider le jury. Qu'il reçoive l'expression de ma vive gratitude.

Je suis très sensible à l'honneur que me font Mr. BOUBALLOUA Tahar, Mr. BENDIF Hamdi et Mr. KACEM CHAOUCHE Noredidine, en acceptant d'être les examinateurs de ce travail. Je les remercie vivement pour cette marque d'intérêt et notamment de me faire l'honneur de participer à ce jury.

J'aimerais également citer ici les personnes dont la collaboration a été essentielle pour ce travail. Je remercie en particulier Dr. Paul H. (Scientifique senior, MRC Laboratoire de biologie moléculaire, Francis Crick Avenue, Cambridge CB2 0QH Royaume-Uni), Fiona Tomley (professeur de parasitologie expérimentale et chef du département de pathologie et de biologie des agents pathogènes au Collège vétérinaire royal de l'Université de Londres) pour leur aide concernant la réalisation de l'identification moléculaire de mon échantillon de parasite, Damer Blake (Professeur de génétique parasitaire au Collège vétérinaire royal, Royaume-Uni) qui a réalisé l'identification moléculaire de mon échantillon de parasite.

Je ne saurai oublier tous mes collègues et camarades Microbiologistes et Biochimistes. J'ai apprécié leur amitié de tout instant et surtout la bonne ambiance au sein du laboratoire. Merci également à toute l'équipe de laboratoire, pour leur accueil chaleureux et amical et leurs qualités humaines et scientifiques : NAILI O., GAAMOUNE S.,

BOUGUERRA A., ZERROUG A., SADRATI N., BELHAMRA Z., CHAABNA
NAILA, LEBLALTA A., BELHADJ H., DIBOUNE N., HOUCHI S.,.....

*Sans oublier mes collègues, enseignants du département des sciences d la nature et de la
vie du centre universitaire A/Hafid Boussouf de Mila ; RABHI N., BOUCHEKRIT M.,
TAYAA H., GHOUT A., BOUAGUAL L., ABERKANE M., BENSERRADJ O.,
AMMARI S.*

*Je souligne ma reconnaissance au Pr. MEZIANE T. pour son aide, ses précieux conseils, sa
gentillesse et sa disponibilité.*

*J'aimerais aussi remercier Mme DAHAMNA S., Mr. KHANNOUF S. et Mr. NANCIB
N., de m'avoir ouvert les portes de leurs laboratoires et qui m'ont permis de manipuler en
tout aise.*

*Mes vifs remerciements s'adressent aux techniciens et aux ingénieurs des laboratoires du
bloc de recherche de l'université FERHAT ABBAS SETIF, ainsi qu'au responsable de
laboratoire d'hygiène d'amizour (Mr. YESSAD El hani) pour leurs très grandes aides.*

*Mes chaleureux remerciements vont également à Dr. CHEBOUTE et Dr. BENOUNE pour
avoir interprété les lames des coupes histologiques des échantillons des organes du poulet de
chair.*

*Un grand merci pour toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation
de ce modeste travail, essentiellement NAILI O., SAIDANI K., TOUATI N. et
AYOUNI K.; merci infiniment.*

*Un très grand merci à mes parents pour leur soutien inconditionnel tout au long de mes
études et la confiance qu'ils m'ont toujours témoignée. Merci à toute ma famille et belle
famille et mes amis pour leur présence à mes côtés, sans oublier toute la promotion post
graduation 2007 de l'université de Bejaia (Algérie) surtout SAIDANI K. et LAINCER
F.*

*Enfin, mes remerciements s'adressent surtout à mon mari Adnane qui partage ma vie et
m'a beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail de thèse. Je le remercie vivement pour
sa patience, sa générosité et sa disponibilité.*

Un grand merci à tous !

Dédicaces

*Au nom d'Allah, Le Clément, Le Miséricordieux
Louange et Gloire à Dieu, le Tout Puissant, qui nous a permis de
mener à bien notre modeste travail.
Prière et bénédictions d'Allah sur le prophète Mohamed
Paix et Salut sur lui.*

Je dédie ce travail

*À ma petite famille ; Mon marie et mes trois enfants : Aya, Mohamed Iyad et
Alaa*

A mes très chers parents et beaux parents

A toute la famille BAKLI

Et à tous mes ami(e)s.

Pour votre soutien permanent pendant mes longues années d'études

Ce travail a fait l'objet des publications et communications suivantes:

Publication

-BAKLI S., HARZALLAH D., ZERROUG A., SADRATI N., BOUGUERRA A., GAAMOUNE S. and NAILI O. (2020). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Flavonoids Extracted from *Pistacia lentiscus* L., Leaves. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10 (1-s): 83-89.

Communications

-BAKLI S., HARZALLAH D., ZAROUG A. and SEDRATI N. (2019). Acute Toxicity Study and Phenolic content of Selected Herbal methanolic Extracts in Broiler Chickens. 1st International conference biodiversity in the service of biotechnologies, Mila, algeria.

-BAKLI S., HARZALLAH D. and GAAMOUNE S. (2017). Contribution to the study of the antimicrobial properties of flavonoids extracted from *P. lentiscus* (Amadhagh) from setif area. 28^{ème} Forum international des sciences biologiques et de biotechnologie de l'ATSB, tenu à l'hôtel Laico, Tunisie.

ملخص

ركزت هذه الدراسة على الأنشطة المضادة للميكروبات و المضادات للأكسدة و المضادات لكوكسيديا لمستخلصات أوراق *P. lentiscus* و بذور *T. foenum-graecum* و فصوص *A. sativum*. تم اختبار مختلف المستخلصات لمستويات مركبات الفينول، أظهرت النتائج احتواء أوراق *P.lentiscus* على أعلى نسبة من عديدات الفينول الكلي (0.81±840.39 ميكروغرام مكافئ كاتشين/غ من المستخلص)، و الدباغ (1.66±574.33 ميكروغرام مكافئ حمض التانيك/غ من المستخلص) و الفلافونويدات (0.37±278.50 ميكروغرام مكافئ روتين/غ من المستخلص). تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستعمال تقنية الانتشار على الأغار ضد عشرة سلالات بكتيرية (Gram⁻)، أربع سلالات بكتيرية (Gram⁺)، إثنان أعفان و خميرة. معظم السلالات الميكروبية التي تم اختبارها حساسة لمستخلصات أوراق *P. lentiscus*. ولوحظ وجود نشاط جد هام مضاد للميكروبات للمستخلص الفلافونويدي لأوراق نفس النبات ضد بكتريا *S.aureus* (0.3±18.8 مل). من ناحية أخرى ، تم تحديد التركيز الأدنى التثبيطي (CMI) و التركيز الأدنى القاتل (CMB) للمستخلصات النشطة المختلفة بطريقة الانحلال في وسط صلب و النتائج أظهرت أن المستخلص الفلافونويدي لأوراق *P. lentiscus* هو الأكثر فعالية تجاه كل من *MRSA* و *V. cholerae* و *C. albicans* بنسبة CMI / CMB من 1 / 0.5 ؛ 0.3 / 0.5 و 0.1 / 5 مل⁻¹ على التوالي. تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة باستعمال كل من اختبار جذر DPPH و اختبار القدرة الإرجاعية، النتائج أظهرت امتلاك مستخلصات أوراق *P. lentiscus* لأفضل الأنشطة المضاد للجذور الحرة و الأنشطة الأرجاعية. أثبتت دراسة السمية الحادة للمستخلصات الميثانولية أن أخذ جرعة 2 غ.كغ⁻¹ عن طريق الفم ليست ضارة مقارنة بالشواهد. إعطاء النباتات المختبره مع الغذاء (بذور الضرو 5 غ.كغ⁻¹ وزن حي) وفي مياه الشرب (اوراق الضرو 3 غ.كغ⁻¹ وزن حي و فصوص الثوم 7 غ.كغ⁻¹ وزن حي) و إعطاء مستخلصاتها الميثانولية بجرعة 2 غ.كغ⁻¹ أظهر نشاطاً مثيراً للاهتمام مضاداً لكوكسيديا الدجاج اللحم ، تبين ذلك من خلال الوقاية و التقليل في الوفيات والحد من انتاج بيوض *E. tenella*. ظهر تغير واضح في المؤشرات الدموية و البيوكيميائية في بلازما دم الدجاج المصاب مقارنة مع الدجاج الشاهد غير المصاب. كما أكدت الدراسة النسيجية المرضية انخفاض حدة التأثير مقارنة بدجاج المجموعة 9 (ITAE) المصابة والمعالجة بالمستخلص الميثانولي لفصوص الثوم و بدجاج المجموعة 2 (INT) المصابة غير المعالجة. كما لوحظ في اليوم 12 و اليوم 21 بعد الإصابة، استعادة هذه المؤشرات لحالتها الطبيعية عند جميع المجموعات المصابة والمعالجة. من هذه النتائج الأولية يمكن تبرير استعمال هذه النباتات في علاج بعض الأمراض التي تسببها الميكروبات والتي يمكن استغلال مركباتها الفينولية لأغراض علاجية ، بما في ذلك مضاد للجراثيم.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للكوكسيديا ، النشاط المضاد للميكروبات ، نشاط مضادات الأكسدة ، المركبات الفينولية ، الدجاج اللحم.

Résumé

Cette étude a porté sur l'activité antioxydante, antimicrobienne et anticoccidienne des extraits des feuilles de *P. lentiscus*, des graines de *T. foenum-graecum* et des bulbes d'*A. sativum*. Les différents extraits ont été analysés pour leurs teneurs en composés phénoliques et les résultats montrent que les feuilles de *P. lentiscus* sont les plus riches en polyphénols totaux ($840,39 \pm 0,81$ mg Eq Cat/g d'extrait), en tanins ($574,33 \pm 1,66$ mg Eq AT/g d'extrait) et en flavonoides ($278,50 \pm 0,37$ mg Eq Rut/g d'extrait). L'activité antimicrobienne a été évaluée par la technique de diffusion sur milieu gélosé *vis-à-vis* de dix bactéries à Gram négatif, quatre bactéries à Gram positif, deux champignons et une levure. La plupart des souches microbiennes testées sont sensibles aux extraits des feuilles de *P. lentiscus*. Une activité antimicrobienne intéressante est notée pour l'extrait flavonoidique des feuilles de la même plante *vis-à-vis* de *S. aureus* ($18,8 \pm 0,3$ mm). D'autre part, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits actifs ont été déterminées par la méthode de dilution en milieu solide et leurs résultats ont montré que l'extrait flavonoidique des feuilles de *P. lentiscus* est le plus actif à l'égard de *SARM*, *V. cholerae* et *C. albicans* avec des CMI / CMB de $0.5 / 1$; $0.3 / 0.5$ et $0.1 / 5$ mg.mL⁻¹, respectivement. La mise en évidence de l'activité antioxydante des extraits a été réalisée par la technique du piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur, les résultats ont montré que les extraits des feuilles de *P. lentiscus* exercent les meilleures activités antiradicalaire et réductrice. L'étude de la toxicité aigüe des extraits méthanoliques révèle qu'ils ne sont pas nocifs lorsqu'ils sont administrés par voie orale à une dose de 2 g.kg^{-1} . L'incorporation des plantes testées dans l'alimentation (graines de *T. foenum-graecum* à 5 g.kg^{-1} de P.V.) et dans l'eau de boisson (feuilles de *P. lentiscus* à 3 g.kg^{-1} de P.V. et bulbes d'*A. sativum* à 7 g.kg^{-1} de P.V.) et l'administration de leurs extraits méthanoliques à 2 g.kg^{-1} ont montré une activité anticoccidienne intéressante chez le poulet de chair, à travers la prévention de la mortalité et la diminution de l'excrétion d'oocystes induite par *E. tenella*. Les profils hématologiques et biochimiques étaient altérés chez les poulets de chair infectés par rapport aux profils des poulets témoins non infectés. De plus, les lésions histopathologiques étaient moins sévères que chez les poulets du lot 2 (INT) infecté non traité et lot 9 (ITAE) infecté traité avec l'extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum*. A J12 P.-I. et J21 P.-I., le rétablissement de ces paramètres a été définitif pour l'ensemble des lots infectés traités. Ces résultats préliminaires pourraient permettre de justifier l'usage de ces plantes dans le traitement de certaines affections d'origine microbienne et que ses composés phénoliques pourraient être exploités à des fins thérapeutiques, notamment antimicrobiennes.

Mots clés: Activité anticoccidienne, activité antimicrobienne, activité antioxydante, composés phénoliques, poulet de chair.

Abstract

The current study is focused on the antioxidant, antimicrobial and anticoccidial activities of different extracts from the leaves of *P. lentiscus*, the seeds of *T. foenum-graecum* and the bulbs of *A. sativum*. Various extracts were analysed for their phenolic content and the results show that the leaves of *P. lentiscus* show the highest contents in total polyphenols (840.39 ± 0.81 mg CE/g of extract), in tannins (574.33 ± 1.66 mg TAE/g of extract) and in flavonoids (278.50 ± 0.37 mg Rut/g of extract). Antimicrobial activity was studied using disc diffusion method against four Gram positive bacteria, ten Gram negative bacteria, two fungal strains and yeast. The most of the microbial strains tested are sensitive to *P. lentiscus* leaves extracts. An interesting antimicrobial activity is noted for the flavonoid extract of the leaves of the same plant against *S. aureus* (18.8 ± 0.3 mm). On the other side, the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of active extracts were determined using the dilution method on solid medium and their results showed that the flavonoid extract of *P. lentiscus* leaves is the most active against MRSA, *V. cholerae* and *C. albicans* with MICs / MBC 0.5 / 1 ; 0.3 / 0.5 and 0.1 / 5 mg.mL⁻¹, respectively. Antioxidant activity of extracts was evaluated by the methods of scavenging of free radical DPPH and the reducing power, the results showed that *P. lentiscus* leaves extracts exert the best anti-radical and reducing activities. The study of acute toxicity of methanolic extracts reveals that they are not harmful when administered by the oral route to broiler chickens at 2 g.kg⁻¹. The incorporation of the plants tested in the diet (seeds of *T. foenum-graecum* at 5 g.kg⁻¹ body weight) and in the drinking water (leaves of *P. lentiscus* at 3 g.kg⁻¹ body weight and bulbs of *A. sativum* at 7g.kg⁻¹ body weight) and the administration of their methanolic extracts at 2 g.kg⁻¹ have an interesting anticoccidial activity in broiler chickens, through the prevention of mortality and the reduction of oocyst excretion induced by *E. tenella*. The haematological and biochemical profiles were altered in broilers infected compared to the profiles of uninfected control chickens. In addition, histopathological lesions were less severe than in chickens of group 2 (INT) infected untreated and group 9 (ITAE) infected treated with *A. sativum* methanolic extract. On day 12 and 21 post-infection, the reestablishment of these parameters was final for all of the infected and treated groups. These preliminary results may justify the use of these plants in the treatment of certain microbial diseases and that phenolic compounds may be exploited for therapeutic purposes, especially antimicrobial.

Key words: Anticoccidial activity, antimicrobial activity, antioxidant activity, phenolic compounds, broiler chickens.

LISTE DES ABREVIATIONS

ALT	Alanine Aminotransférase
ANOVA	Analyse de la variance (Analysis of variance)
AST	Aspartate Aminotransférase
ATCC	American type culture collection
BHT	Hydroxytoluène butyle
CHU	Centre hospitalier universitaire
CLIP:	Collection <i>Listeria</i> Institut Pasteur
CMB	Concentration minimale bactéricide
CMI	Concentration minimale inhibitrice
CMV	Complément minéral vitaminé
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
DMSO	Diméthyle sulfoxyde
EC₅₀	Concentration efficace à 50%
Eq Cat	Equivalent catéchine
Eq Rut	Equivalent rutine
Eq AT	Equivalent acide tanique
EGCg	Epigallocatechine gallate
ERO	Espèce réactive d'oxygène
H & E	Coloration éosine hématoxyline
J	Jour
IC	Indice de Consommation
IC₅₀	Concentration inhibitrice à 50%
LPS	Lipopolysaccharides
NRRL	Laboratoire de recherche régional du Nord (Northern Regional Research Laboratory)
OCDE	Organisation de Coopération et de Développement Economiques
PAL	Phosphatase alcaline
PC	Poids corporel
ROS	Reactive oxygen species
SD	Standard déviation
SEM	Erreur standard de la moyenne
UI	Unité Internationale
UFC	Unité formant colonie

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Structures des composés phénoliques simples	4
Figure 2: Structure de base des flavonoïdes	5
Figure 3: Structure d'un tanin condensé et hydrolysable	5
Figure 4: Micrographie d' <i>Escherichia coli</i> sous Microscope électronique à balayage	7
Figure 5: Espèces réactives de l'oxygène produites en cascade à partir de l'oxygène fondamental	10
Figure 6: Sites proposés pour la chélation des ions métalliques par les flavonoïdes	11
Figure 7: Mécanisme de l'activité scavenger des flavonoïdes via la fonction catéchol.....	11
Figure 8: Graines de <i>Trigonella foenum-graecum</i>	13
Figure 9: Présentation de l'ail	16
Figure 10: Feuilles et fruits de <i>P. lentiscus</i>	19
Figure 11: Oocystes d' <i>Eimeria</i> ;.....	23
Figure 12: Oocystes des sept espèces d' <i>Eimeria</i> du poulet et schéma de la structure d'un oocyste des espèces <i>Eimeria</i>	24
Figure 13: Diagramme de l'ultrastructure de base de sporozoïte d' <i>Eimeria</i>	25
Figure 14: Cycle de développement des coccidies du genre <i>Eimeria</i> chez le poulet.	27
Figure 15: Oocystes par gramme de litière au cours de l'âge des poulets	28
Figure 16: Effets macroscopiques des coccidioses.....	30
Figure 17: Zones d'infestation et scores lésionnels	34
Figure 18: Composés de plantes ciblant différents stades de développement des espèces d' <i>Eimeria</i> dans leur cycle de vie.	39
Figure 19: Photographie du matériel végétal	40
Figure 20: Structure chimique du DPPH· et DPPH ₂	47
Figure 21: Poulets mises en place après répartition en lots.....	49
Figure 22: Poussins mis en place après répartition en lots.....	53
Figure 23: Échantillons des cæca des poulets infectés	54
Figure 24: Lésions au niveau des cæca.....	56
Figure 25: (A) Micromètre oculaire ; (B) Micromètre objectif.....	57
Figure 26: Représentation schématique d'une amplification spécifique de l'ADN cible par PCR nichée	59
Figure 27: Cellule McMaster à deux chambres.....	60

Figure 28: Inoculation <i>per os</i> des poulets au 14 ^{ème} jour d'âge	62
Figure 29: Prélèvements de fientes	64
Figure 30: Teneurs en phénols totaux des différents extraits des feuilles de <i>P. lentiscus</i> , des graines de <i>T. foenum-graecum</i> et Bulbes d' <i>A. sativum</i>	69
Figure 31: Teneurs en flavonoïdes des différents extraits des feuilles de <i>P. lentiscus</i> , des graines de <i>T. foenum-graecum</i> et Bulbes d' <i>A. sativum</i>	71
Figure 32: Teneurs en tanins des différents extraits des feuilles de <i>P. lentiscus</i> , des graines de <i>T. foenum-graecum</i> et Bulbes d' <i>A. sativum</i>	72
Figure 33: Activité des extraits des feuilles de <i>P. lentiscus</i> sur <i>S. aureus</i> ; <i>SARM</i> ; <i>B.cereus</i> ; <i>L.innocua</i> ; <i>E.freundii</i> ; <i>E.coli</i> ; <i>S.typhi</i> ; <i>S.enterica</i> ; <i>V.cholerae</i> ; <i>P.mirabilis</i> ; <i>P.aeruginosa</i> ..	78
Figure 34: Activité scavenger du radical DPPH par les extraits de plantes étudiées et le standard BHT à différentes concentrations	87
Figure 35: Pouvoir réducteur des extraits de plantes étudiées et le standard BHT à différentes concentrations	91
Figure 36: Effet des extraits méthanoliques de <i>P.lentiscus</i> , <i>A.sativum</i> et <i>T.foenum græcum</i> sur les paramètres zootechniques des poussins en fonction du temps	95
Figure 37: Effet des extraits méthanoliques de <i>P.lentiscus</i> , <i>A.sativum</i> et <i>T.foenum græcum</i> sur les activités sériques de certaines enzymes hépatique des poussins après 14 jours de traitement par voie orale.....	98
Figure 38: Effet des extraits méthanoliques de <i>P.lentiscus</i> , <i>A.sativum</i> et <i>T.foenum græcum</i> sur les paramètres rénales des poussins après 14 jours de traitement par voie orale.....	98
Figure 39: Effet des extraits méthanoliques de <i>P.lentiscus</i> , <i>A.sativum</i> et <i>T.foenum græcum</i> sur quelques paramètres biochimiques des poussins après 14 jours de traitement par voie orale.....	99
Figure 40: Photographies des coupes histologiques du tissu rénal des poulets.....	101
Figure 41: Photographies des coupes histologiques du tissu hépatique des poulets.	103
Figure 42: Oocystes d' <i>Eimeria</i> observés sous microscope optique (Objectif X40) (A) Oocyste non sporulé; (B) Oocyste sporulé; (C) Sporocystes Libérés.....	107
Figure 43: Électrophorèses sur gel d'agarose de produits d'amplification par PCR de l'ADN ribosomal ITS1 à partir d'échantillons d'ADN d'oocystes d' <i>Eimeria spp</i>	107
Figure 44: Électrophorèses sur gel d'agarose de produits de PCR spécifiques aux espèces d' <i>Eimeria</i>	109
Figure 45: Signes cliniques observés après l'inoculation par les oocystes d' <i>Eimeria sp</i> . (A) Frilosité et abattement des poulets, (B) Fientes sanglantes.....	110

Figure 46: Consommation alimentaire cumulée durant la période d'infection.....	114
Figure 47: Évolution pondérale de J1 à J35 d'âge des poulets	116
Figure 48: Évolution de l'indice de consommation.....	121
Figure 49: Excrétion d'oocystes chez les poulets infectés.....	122
Figure 50: Lésions d' <i>E. tenella</i> au niveau des cæca à J5 P.-I.	126
Figure 51: Lésions d' <i>E. tenella</i> ; (A) à J7 P.-I. ; (B) à J12 P.-I. ; (C) à J21 P.-I.	129
Figure 52: Photographies des coupes histologiques préparées à partir des cæca du lot 1 non infecté non traité.....	141
Figure 53: Photographies des coupes histologiques préparées à partir des cæca du lot 2 infecté non traité	141
Figure 54: Sections des cæca des poussins du lot 3 Témoin Infecté Traité au Monensin.	142
Figure 55: Photographies des coupes histologiques préparées à partir des cæca du lot 4 Infecté Traité aux feuilles de la plante <i>P. lentiscus</i>	142
Figure 56: Sections des cæca des poussins du lot 5 Infecté Traité aux bulbes d' <i>A. sativum</i>	143
Figure 57: Sections des cæca des poussins du lot 6 infecté traité aux graines de <i>T. foenum-græcum</i>	143
Figure 58: Sections des cæca des poussins du lot 7 Infecté Traité aux bulbes d' <i>A. sativum</i> en association avec les feuilles de <i>P. lentiscus</i> et les graines de <i>T. foenum-græcum</i>	144
Figure 59: Sections des cæca des poussins du lot 8 infecté traité avec l'extrait méthanolique des feuilles de <i>P. lentiscus</i>	144
Figure 60: Sections des cæca des poussins du lot 9 Infecté Traité avec l'extrait méthanolique des bulbes d' <i>A. sativum</i>	145
Figure 61: Sections des cæca des poussins du lot 10 Infecté Traité avec l'extrait méthanolique des graines de <i>T. foenum-græcum</i>	145
Figure 62: Sections des cæca des poussins du lot 11 infecté traité aux extraits de bulbes d' <i>A. sativum</i> en association avec l'extrait de feuilles de <i>P. lentiscus</i> et l'extrait des graines de <i>T. foenum-græcum</i>	146
Figure 63: Sections des cæca des poussins du lot 12 infecté traité au toltrazuril.....	146

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Maladies chroniques et aiguës caractérisées par un stress oxydatif accru, et thérapies génératrices de stress oxydatif.....	9
Tableau 2: Utilisations ethnomédicales des différents produits de <i>P. lentiscus</i>	21
Tableau 3: Principales caractéristiques des espèces <i>Eimeria</i> du poulet	31
Tableau 4: Récapitulatif permettant la caractérisation des différentes espèces d' <i>Eimeria</i> aviaires; Taille, localisation et périodes pré-patentes	33
Tableau 5: Scores lésionnels dus à <i>E.tenella</i>	35
Tableau 6: Synthèse des travaux sur les effets anticoccidiens de quelques extraits de plantes contre la coccidiose du poulet.....	38
Tableau 7: Références et origine des souches microbiennes utilisées.....	44
Tableau 8: Composition de l'aliment de démarrage et de croissance utilisé	49
Tableau 9: Poids moyens lors de la répartition en lots expérimentaux à J1	53
Tableau 10: Composition de l'aliment de démarrage et de croissance du poulet de chair.	54
Tableau 11: Critères d'identification de l'espèce d'inoculation	57
Tableau 12: Amorces PCR et les conditions utilisées	60
Tableau 13: Calcul de l'inoculum et détermination du taux de sporulation	61
Tableau 14: Taux d'extraction des composés phénoliques des plantes étudiées	68
Tableau 15: Activité antibactérienne des extraits de feuilles de <i>P. lentiscus</i> , de quelques standards polyphénols et d'antibiotiques	77
Tableau 16: Activité antifongique des extraits de <i>P. lentiscus</i> , de quelques standards polyphénols et antifongiques.....	79
Tableau 17: Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides/ fongicide des extraits de <i>P. lentiscus</i> des standards polyphénols.....	81
Tableau 18: IC50 des différents extraits des plantes étudiées et du standard BHT	88
Tableau 19: EC50 des différents extraits des plantes étudiées et du standard BHT	92
Tableau 20: Effet des extraits méthanoliques des feuilles de <i>P. lentiscus</i> , des bulbes d' <i>A. sativum</i> et des graines de <i>T. foenum græcum</i> sur les paramètres hématologiques des poulets après 14 jours de traitement par voie orale	96
Tableau 21: Mesures de la longueur, la largeur et du rapport (longueur/largeur) des oocystes	106
Tableau 22: Taux de mortalité en période post-infection (J6 et J8 P.-I.)	111

Tableau 23: Score lésionnel chez les animaux infectés	127
Tableau 24: Longueur moyenne des cæca chez les poulets infectés (cm).....	130
Tableau 25: Résultats de l'analyse des paramètres hématologiques au 7 ^{ème} jour P.-I.....	132
Tableau 26: Résultats de l'analyse des paramètres hématologiques au 12 ^{ème} jour P.-I....	133
Tableau 27: Résultats de l'analyse des paramètres hématologiques au 21 ^{ème} jour P.-I....	134
Tableau 28: Taux de protéines totales (g/L) chez les poulets aux 7 ^{ème} , 12 ^{ème} et 21 ^{ème} jours P.-I.....	136
Tableau 29: Taux de lipides totaux (g/L) chez les poulets aux 7 ^{ème} , 12 ^{ème} et 21 ^{ème} jours P.-I.....	138

SOMMAIRE

Introduction Générale	1
Synthèse bibliographique	
I. Plantes médicinales.....	3
I.1. Principes actifs.....	3
I.2. Activités biologiques.....	3
I.3. Composés Phénoliques.....	4
I.3.1. Structure et classification	4
II. Activité biologiques des composés phénoliques.....	6
II.1. Activité antimicrobienne des composés phénoliques	6
II.1.1. Mode d'action des acides phénols	6
II.1.2. Mode d'action des flavonoïdes	7
II.1.3. Mode d'action des tanins	8
II.2. Activité antioxydante des composés phénoliques	9
II.2.1. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant	9
II.2.2. Propriétés antioxydantes	10
II.2.2.1. Chélation des ions métalliques	10
II.2.2.2. Effet scavenger	11
II.2.2.3. Inhibition enzymatique	12
II.2.2.4. Induction de synthèse des enzymes antioxydantes.....	12
III. Plantes étudiées.....	13
III.1. Fenugrec	13
III.1.1. Description botanique.....	14
III.1.2. Systématique	14
III.1.3. Composition et propriétés biologiques.....	14
III.2. Ail cultivé	15
III.2.1. Description botanique.....	16
III.2.2. Systématique	17
III.2.3. Composition et propriétés biologiques	17
III.3. Lentisque pistachier.....	18
III.3.1. Description botanique.....	19
III.3.2. Systématique	19
III.3.3. Composition et propriétés biologiques.....	20
IV. Coccidiose du poulet de chair.....	22
IV.1. Productions avicoles dans le monde	22
IV.2. Etiologie	22
IV.2.1. Taxonomie d' <i>Eimeria</i>	22

IV.2.2. <i>Eimeria</i> des poulets	23
IV.2.3. Biologie et cycle de développement du genre <i>Eimeria</i>	25
IV.3. Distribution de la coccidiose	28
IV.4. Immunité anticoccidienne	29
IV.5. Symptômes et lésions de la coccidiose intestinale et cæcale.....	29
IV.6. Diagnostic et distinction des espèces d' <i>Eimeria</i>	32
IV.7. Scores lésionnels pour l'espèce <i>Eimeria tenella</i>	34
IV.8. Prévention et contrôle de la coccidiose	35
IV.9. Développement de méthodes alternatives de lutte anticoccidienne.....	37

Matériel et méthodes

I. Matériel végétal	40
I.1. Récolte et identification du matériel végétal.....	40
I.2. Traitement des échantillons.....	40
I.2.1. Séchage	40
I.2.2. Broyage et Tamisage.....	40
I.3. Extraction	40
I.3.1. Préparation de l'extrait méthanolique.....	41
I.3.2. Préparation de l'extrait aqueux	41
I.3.3. Préparation de l'extrait flavonoïdique	41
I.3.4. Préparation de l'extrait tannique	41
I.4. Dosage des composés phénoliques	42
I.4.1. Dosage des phénols totaux	42
I.4.2. Dosage des flavonoïdes.....	42
I.4.3. Dosage des tanins	43
II. Évaluation de l'activité des extraits <i>in vitro</i>	43
II.1. Évaluation de l'activité antimicrobienne	43
II.1.1. Souches microbiennes	44
II.1.2. Préparation de l'inoculum microbien	44
II.1.3. Détermination de l'effet antimicrobien (aromatogramme).....	45
II.1.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	45
II.1.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF).....	46
II.2. Evaluation de l'activité antioxydante	46
II.2.1. Activité scavenger du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH).....	46
II.2.2. Pouvoir réducteur	48
III. Evaluation de l'activité des extraits <i>in vivo</i>	48
III.1. Evaluation de la toxicité aigüe	48
III.1.1. Poulets et alimentation	49

III.1.2. Enregistrement des performances	50
III.1.3. Prélèvements sanguins.....	50
III.1.4. Etude histopathologique	51
III.2. Activité anticoccidienne	51
III.2.1. Conduite d'élevage.....	52
III.2.2. Infestation parasitaire	54
III.2.2.1. Préparation de l'inoculum.....	54
III.2.2.2. Propagation des oocystes de l'inoculum initial et l'obtention de l'inoculum expérimental	56
III.2.2.3. Identification de l'espèce d'inoculation	57
III.2.2.3.1. Morphologie des oocystes.....	57
III.2.2.3.2. Identification moléculaire	58
III.2.2.4. Inoculation d'oocystes.....	60
III.2.2.5. Évaluation de l'efficacité des traitements	63
III.2.2.5.1. Paramètres cliniques (Signes clinique et Mortalité).....	63
III.2.2.5.2. Paramètres zootechniques	63
III.2.2.5.3. Paramètres parasitologiques.....	64
III.2.2.5.4. Prélèvements sanguins.....	65
III.2.2.5.5. Etude histopathologique	66
IV. Etude statistique.....	66

Résultats et discussions

I. Taux d'extraction des composés phénoliques.....	67
II. Dosage des composés phénoliques	69
II.1. Dosage des phénols totaux.....	69
II.2. Dosage des flavonoïdes	71
II.3. Dosage des tanins	72
III. Activité des extraits <i>in vitro</i>	73
III.1. Activité antimicrobienne	73
III.1.1. Activité antibactérienne à l'égard des bactéries à Gram positif	75
III.1.2. Activité antibactérienne à l'égard des bactéries à Gram négatif.....	76
III.1.3. Activité antifongique	79
III.2. Activité antioxydante.....	86
III.2.1. Activité scavenger du radical DPPH	86
III.2.2. Pouvoir réducteur	91
IV. Activité des extraits <i>in vivo</i>	94
IV.1. Toxicité aiguë	94
IV.1.1 Mortalité et comportement des poulets	94
IV.1.2. Performances de croissance.....	94

IV.1.3. Analyse du sang	95
IV.1.4. Histopathologie	101
IV.2. Activité anticoccidienne	104
IV.2.1. Identification des espèces <i>Eimeria spp.</i>	104
IV.2.2. Paramètres cliniques.....	110
III.2.3. Paramètres zootechniques.....	113
III.2.4. Paramètres parasitologiques	122
III.2.5. Paramètres du sang.....	131
III.2.6. Histopathologie	139
Conclusion et perspectives	147
Références bibliographiques.....	149
Annexes	

Introduction

Introduction Générale

Le développement de la résistance aux antibiotiques est devenu au cours de la dernière décennie, aux plans international, une préoccupation majeure en termes de santé humaine et animale. En effet, cette évolution remet en question l'efficacité des médicaments et peut aggraver le pronostic de certaines maladies infectieuses, avec des conséquences sociales et économiques importantes (Guillot, 2014). De plus, les effets nuisibles du stress oxydant sur la santé humaine sont devenus un vrai problème, l'utilisation de molécules antioxydantes de synthèse est actuellement remise en cause en raison des risques toxicologiques potentiels (Bammou *et al.*, 2020).

Bien que la résistance aux antibiotiques soit un phénomène naturel, leur mésusage chez l'Homme et l'animal accélère son processus (Favrichon et Pribile, 2018). La préservation de leur efficacité pour le traitement des maladies est un défi majeur en santé publique pour les années à venir, tant les espoirs sont faibles de voir apparaître de nouvelles familles d'antibiotiques dans un futur proche (Genet, 2018), d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies, notamment les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments (Keita *et al.*, 2004).

Les plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires et constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques (Haddouchi *et al.*, 2016 ; Erenler *et al.*, 2019) et qui jouent un rôle important dans la santé humaine. Leur utilisation comme antimicrobiens et antioxydants naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement de plusieurs pathologies (Tanoh *et al.*, 2019). C'est le cas des polyphénols issus des plantes qui sont utilisés comme additifs en industrie agroalimentaire, pharmaceutique et cosmétique et en thérapeutique comme antimicrobiens et antioxydants. C'est ce qui justifie le nombre croissant de travaux consacrés aux espèces végétales susceptibles d'être de potentielles sources naturels (Haddouchi *et al.*, 2016 ; Tanoh *et al.*, 2019).

Les maladies aviaires dont la coccidiose et l'émergence de problèmes liés à la résistance aux médicaments et aux résidus d'antibiotiques dans la viande de poulet et face au coût élevé et aux difficultés liées à la production de vaccins nous ont incités à rechercher des stratégies de contrôle alternatives sûres et efficaces. Ce travail qui s'inscrit

dans cette perspective, est dédié à trois plantes de la pharmacopée traditionnelle. L'objectif principal est d'évaluer *in vitro* les propriétés antibactériennes, antifongiques et antioxydantes des extraits des feuilles de *Pistacia lentiscus*, des graines de *Trigonella foenum-græcum* et des bulbes d'*Allium sativum*. La toxicité des extraits méthanoliques et l'activité anticoccidienne des plantes étudiées sont évaluées *in vivo* chez des poulets infestés expérimentalement avec *Eimeria tenella*, espèce de coccidies la plus pathogène chez le poulet de chair. L'activité anticoccidienne de ces mêmes plantes est également testée telles quelles sont utilisées en médecine traditionnelle locale.

- ✚ La première partie de ce document est consacrée à une synthèse bibliographique ; sur les plantes choisies, les composés phénoliques et les activités biologiques (antimicrobienne et antioxydante) de ces composés. ainsi qu'un aperçu général sur la coccidiose du poulet de chair.
- ✚ La seconde partie du manuscrit est consacrée à la partie expérimentale, à savoir:
 - Extraction et dosage des composés phénoliques à partir des plantes choisies;
 - Evaluation de leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes;
 - Etude toxicologique des extraits méthanoliques des plantes étudiées ;
 - Évaluation des effets anticoccidiens des plantes et de leurs extraits méthanoliques.
- ✚ Enfin la troisième partie présente les résultats obtenus ainsi que leurs discussions.

Synthèse bibliographique

I.Plantes médicinales

Les plantes médicinales jouent un rôle crucial dans la prévention et/ou le traitement de différentes maladies humaines depuis la préhistoire et l'antiquité jusqu'à aujourd'hui. Au cours des deux dernières décennies, beaucoup d'attention a été accordée aux plantes en tant que nouveaux agents thérapeutiques alternatifs (Landoulsi *et al.*, 2018). Les anciens ont pu mettre en évidence les propriétés des plantes médicinales qui n'ont jamais été démenties par l'usage (Carillon, 2009). Celles-ci demeurent encore une source de soins médicaux dans les pays en voie de développement, en l'absence d'un système médical moderne (Hachi *et al.*, 2015). Parmi les disciplines scientifiques qui s'intéressent à la phytothérapie traditionnelle, l'ethnobotanique est considérée comme une science qui permet de traduire le savoir-faire populaire en savoir scientifique (Lahsissene *et al.*, 2009).

L'Algérie possède une des flores les plus diversifiées (méditerranéenne, saharienne et paléo tropicale) (Arab *et al.*, 2014) et les plus originales du bassin méditerranéen où elle compte 3139 espèces répartis dans près de 150 familles parmi lesquelles 653 espèces sont endémiques, soit un taux de 12.6 % (Bouchenak *et al.*, 2020). Les plantes se caractérisent par deux types de métabolismes: le métabolisme primaire procure les constituants de base et le métabolisme secondaire fournit des métabolites en faibles quantités, mais dont les applications dans différents domaines sont de la plus grande importance ; les alcaloïdes, les terpènes et les composés phénoliques (Farah et Abdelhafid, 2008).

I.1. Principes actifs

Les métabolites secondaires renferment une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activité en biologie humaine (Bruneton, 1999 ; Bouchenak *et al.*, 2018). Ils représentent généralement moins de 10% des métabolites totaux de la plante (Kintzios et Barberaki, 2004).

I.2. Activités biologiques

Les plantes médicinales ont présenté à travers plusieurs études des activités biologiques très intéressantes; anti-ulcéreuse (De Bruyne *et al.*, 1999), anti-inflammatoire (Elion Itou *et al.*, 2017), anti-cancéreuse (Kanase et Mane, 2018), anti-parasitaire (Olounladé *et al.*, 2017), anti-virale (Lopez *et al.*, 2001), antioxydante (Bettaieb Rebey *et al.*, 2017), anti-fongique (Dabé *et al.*, 2017) et antibactérienne (Etobo *et al.*, 2017).

I.3. Composés Phénoliques

Le terme polyphénol a été introduit en 1980, en remplacement du terme ancien de tanin végétal et a été défini comme suit: Composés phénoliques hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton (Chira *et al.*, 2008). Ils constituent le groupe de métabolites le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin et Andriantsitohaina, 2002 ; Wang *et al.*, 2019) et ils participent à leur défense et à leur pigmentation (Ghedira, 2005; Edeas, 2007).

I.3.1. Structure et classification

Plus de 8000 structures phénoliques sont connues, allant de molécules phénoliques simples de faible poids moléculaire tels les acides phénoliques à des composés hautement polymérisés comme les tanins (Lugasi *et al.*, 2003; Cheynier, 2005; Balasundram *et al.*, 2006; Elnour *et al.*, 2018). Ces molécules présentent des caractéristiques en commun dans leur structure : la présence d'au moins un cycle aromatique (06 carbones), porteur d'un nombre variable de fonctions hydroxyles (OH), libres ou engagés dans une autre fonction ester, éther, etc. Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques (Annexe I) (Bruneton, 1999; Martin et Andriantsitohaina, 2002; Chira *et al.*, 2008):

-La voie la plus courante est celle de l'acide shikimique (Richter, 1993).

-La voie des polyacétates, participe d'une manière secondaire (Guignard, 1996).

Les polyphénols sont classés, selon leur structure en trois catégories principales: les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tannins (Balasundram *et al.*, 2006; Edeas, 2007).

I.3.1.1. Acides phénoliques

Ils sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, dérivés des acides benzoïques (C6-C1) ou des acides cinnamiques (C6-C3) (figure 1). D'après Cai *et al.* (2006), les acides phénoliques peuvent être subdivisés en: Acides hydroxybenzoïques et Acides hydroxycinnamiques.

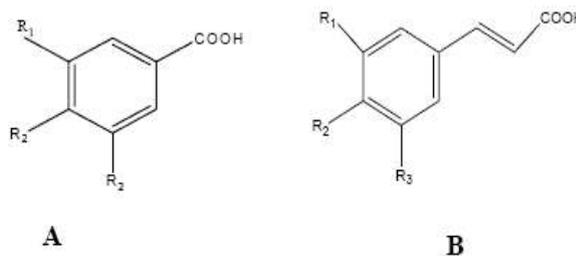


Figure 1: Structures des composés phénoliques simples
(A) acide benzoïque (B) acide cinnamique (Chira *et al.*, 2008)

I.3.1.2. Flavonoïdes

Ils constituent le groupes le plus important des polyphénols (Orzechowski *et al.*, 2002), sont omniprésents dans tous les organes de la plante et sont, par conséquent, une partie intégrante de l'alimentation humaine (Stahlhut *et al.*, 2015) et sont considérés comme des pigments quasiment universels des végétaux (Bruneton, 1999).

Ils sont caractérisés par un squelette de base, de type diphényl 1,3-propane, à quinze atomes de carbone répartis en deux cycles benzéniques notés A et B, reliés entre eux par la structure chromane à trois carbones (C6-C3-C6). Le pont en C3 entre les cycles A et B est communément cyclisé pour former l'hétérocycle oxygéné C (Figure 2) (Peterson et Dwyer, 1998; D'Archivio *et al.*, 2007 ; Marín *et al.*, 2018). Ils ont une origine biosynthétique mixte dont le cycle A dérive de la voie polyacétate, tandis que les cycles B et C dérivent de la voie shikimate (Pietta, 2000).

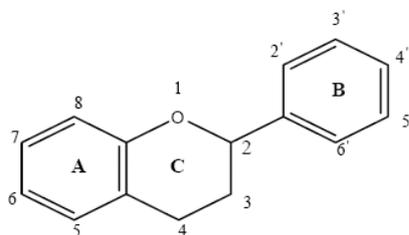


Figure 2: Structure de base des flavonoïdes (Macheix *et al.*, 2005)

I.3.1.3. Tanins

Ils constituent un groupe complexe hétérogène de polymères naturels de haut poids moléculaire. Ils ont la capacité à former des complexes réversibles et irréversibles avec les protéines principalement, polysaccharides, alcaloïdes, acides nucléiques et minéraux (Baxter *et al.*, 1997; Han *et al.*, 2007). Ils sont divisés en deux groupes selon leur nature chimique et leur structure: tanins hydrolysables et condensés (catéchiques ou proanthocyanidines) (Figure 3) (Bennick, 2002; Frutos *et al.*, 2004; Naumann *et al.*, 2018).

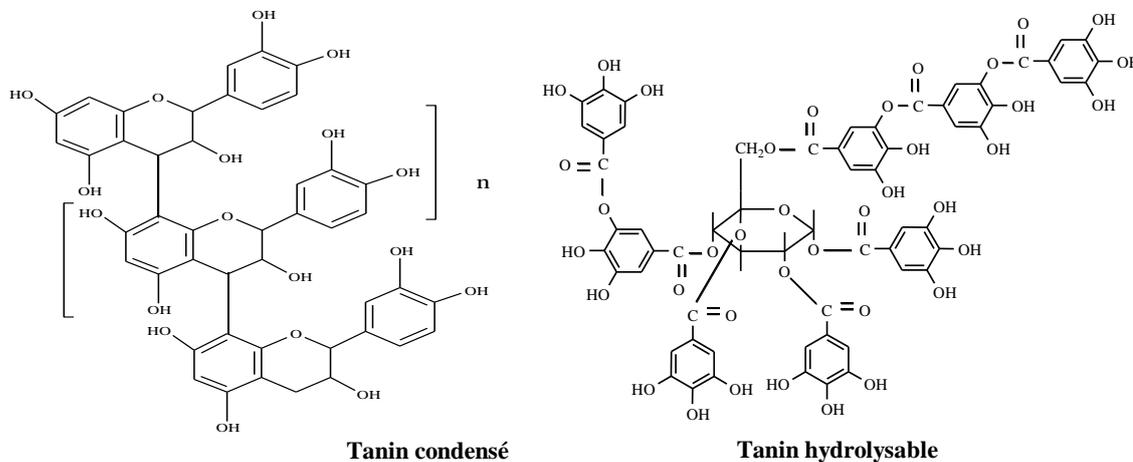


Figure 3: Structure d'un tanin condensé et hydrolysable (Naczek et Shahidi, 2004)

II. Activité biologiques des composés phénoliques

Les composés phénoliques font actuellement l'objet de nombreuses études pour leurs différentes activités biologiques (Trabelsi *et al.*, 2010) et ils ont été rapportés pour des propriétés pharmacologiques intéressantes et variées, à savoir, les propriétés anti-inflammatoires, anti-cancéreuse, anti-athérosclérose (Stahlhut *et al.*, 2015), anti-allergique (Bouhafsoun *et al.*, 2018), antioxydantes (Santos-Sánchez *et al.*, 2019), antivirale (Cevallos-Casals et Cisneros-Zevallos, 2010), antifongique (Kamelé *et al.*, 2019) et antibactérienne (Lin *et al.*, 2016).

II.1. Activité antimicrobienne des composés phénoliques

L'activité antimicrobienne peut s'exercer selon diverses modalités. Certaines molécules exercent leur activité en oxydant ou en dénaturant les protéines bactériennes (Schiota *et al.*, 2004), d'autres ont un pouvoir plus spécifique en altérant les structures membranaires ou en inactivant des composés ou des fonctions essentielles de la cellule (Eldeen *et al.*, 2005; Song *et al.*, 2007 ; Hamouda Ali et Doumandji, 2017).

En dehors de l'influence du caractère hydrophobe de la molécule, l'activité antibactérienne des composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, dépend essentiellement de la longueur, la ramification et la position de la chaîne de substitution liée au noyau phénolique, mais aussi à la nature des substituants et le degré d'encombrement du noyau phénolique (Basile *et al.*, 1999; Alcaráz *et al.*, 2000).

II.1.1. Mode d'action des acides phénols

Les plantes contenant des acides phénols se sont montrées efficaces *vis-à-vis* des microorganismes (Samy et Gopalakrishnakone, 2010). Les acides phénoliques (acide cinnamique, acide coumarique, acide caféique et acide férulique) sont plus actifs sur les bactéries Gram⁺ que sur les bactéries Gram⁻ (*Escherichia coli* et *Salmonella enterica*) à de forte concentration (Vaquero *et al.*, 2007a).

Les acides hydroxycinnamiques, dû à leur chaîne latérale propanoïque, sont beaucoup moins polaire que les acides hydroxybenzoïques correspondants, cette propriété pourrait faciliter le transport de ces molécules à travers la membrane cellulaire bactérienne (Puupponen-Pimiä *et al.*, 2005a; Vaquero *et al.*, 2007a,b). Le caractère hydrophobe de l'acide gallique lui permet d'agir efficacement et perméabilise les souches de *Salmonella* par déstabilisation de leur membrane externe, en chélatant les cations bivalents (Puupponen-Pimiä *et al.*, 2005b). La position et le nombre de groupements OH des acides phénols déterminent leur activité antibactérienne et elle est proportionnel à leur toxicité

(Kuete *et al.*, 2007). De plus, les phénols hautement oxydés (acides cinnamique et caféique) sont les plus toxiques (Cowan, 1999).

II.1.2. Mode d'action des flavonoïdes

Une des fonctions incontestées des polyphénols est leur rôle protecteur des plantes contre l'invasion microbienne et l'attaque d'insecte (Bouhafsoun *et al.*, 2018). La littérature rapporte que ces molécules sont des substances antimicrobiennes efficaces *vis-à-vis* d'une large gamme de micro-organismes (González-Segovia *et al.*, 2008; Orhan *et al.*, 2010) et ils ont des cibles cellulaires multiples et peuvent viser différentes fonctions et composants dans la cellule (Vaquero *et al.*, 2007b; Boban *et al.*, 2010). Cushnie et Lamb (2005) ont rapporté que les mécanismes antibactériens de plusieurs flavonoïdes pourraient être attribués à l'inhibition de la fonction de la membrane cytoplasmique, l'inhibition de la synthèse des acides nucléiques ou l'inhibition du métabolisme énergétique, en se complexant avec les protéines extracellulaires, solubles et avec la paroi bactérienne.

Mirzoeva *et al.* (1997) ont montré que les flavonoïdes de propolis provoquent une augmentation de la perméabilité de la membrane bactérienne interne et une dissipation du potentiel membranaire, ce qui pourrait expliquer l'effet synergique qui se produit entre le propolis et d'autres antibiotiques (Stepanovic *et al.*, 2003). Cho et ses collaborateurs (2007) ont montré un effet bactéricide dose-dépendant *vis-à-vis* des cultures d'*E. coli* traitées avec des polyphénols de thé (TPP) extraits du thé vert coréen (*Camellia sinensis*). L'analyse a mis en évidence des changements uniquement au niveau des acides gras saturés et insaturés de la membrane cellulaire et l'analyse au microscope électronique à balayage a révélé la présence des perforations et des formes triangulaires irrégulières avec des surfaces froissées (rugueuses) (Figure 4).

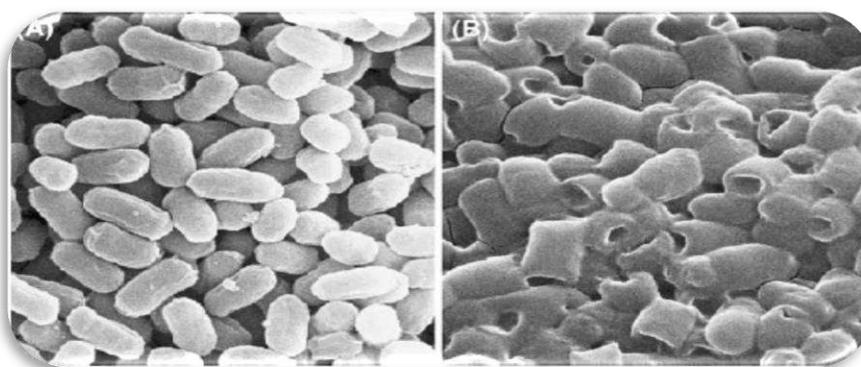


Figure 4: Micrographie d'*E. coli* sous Microscope électronique à balayage
(A) non traité (B) traité avec 10.000 µg/mL TPP/12 heures (Cho *et al.*, 2007)

II.1.3. Mode d'action des tanins

Plusieurs études ont mis en évidence l'effet antimicrobien des extraits de plantes riches en tanins (Luthar, 1992; Al-Momani *et al.*, 2007; Cimolai et Cimolai, 2007; Kim *et al.*, 2010). Les tanins hydrolysables sont plus toxiques que les tanins condensés et leur toxicité est liée à leur taille moléculaire (Frutos *et al.*, 2004; Widsten *et al.*, 2010). La position et le nombre de groupements hydroxyle (OH) dans les tanins semble être associé à leur toxicité relative aux micro-organismes, qui est proportionnelle au degré d'hydroxylation (Min *et al.*, 2008).

Les plantes riches en tanins, ont une nature astringente, sont utilisées dans le traitement des désordres intestinaux à savoir les diarrhées et les dysenteries, ce qui leur confèrent une activité antimicrobienne (Sharma *et al.*, 2009). cette propriété des tanins peut induire leur complexation avec les protéines (Akiyama *et al.*, 2001) par des interactions non spécifiques aussi bien que par la formation de liaisons covalentes. Ainsi, leur mode d'action peut être lié à leur capacité à inactiver les adhésines microbiennes, les enzymes et les protéines du transport membranaire (Karou *et al.*, 2005 ; Puupponen-Pimiä *et al.*, 2005b ; Samy et Gopalakrishnakone, 2010) en diminuant sa perméabilité par la formation des complexes avec ses protéines. Néanmoins, malgré la formation des complexes avec des polymères extracellulaires, les proanthocyanidines pénètrent dans la cellule en concentration suffisante pour réagir avec un ou plusieurs composants internes et empêchent sélectivement la synthèse de la paroi cellulaire (Buzzini *et al.*, 2007).

La complexation des tanins aux ions métalliques dans l'environnement bactérien pourrait être aussi un mécanisme possible pour leurs propriétés antimicrobiennes (Buzzini *et al.*, 2007 ; Min *et al.*, 2008). Akiyama *et al.* (2001) ont rapporté que l'acide tanique a une grande capacité à lier le fer et peut fonctionner comme un sidérophore. Ainsi, l'épuisement en métal peut affecter l'activité des métalloenzymes des cellules microbiennes et la séquestration des minéraux (cuivre, cobalt et fer) peut influencer leurs réactions métaboliques (Scalbert, 1991; Puupponen-Pimiä *et al.*, 2005a).

II.2. Activité antioxydante des composés phénoliques**II.2.1. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant**

Les espèces réactives de l'oxygène (ERO) (Figure 5) sont par définition des espèces chimiques possédant un électron célibataire sur leur couche périphérique, ce qui leur confère un fort degré de réactivité (Migdal et Serres, 2011). Ils ont été longtemps considérés comme nuisibles, responsables de potentiels dommages à l'ADN, aux protéines et aux lipides (Mhamdi et Breusegem, 2018 ; Zarkovic, 2020).

Les ERO sont présentes dans la cellule à des doses raisonnables : leur concentration est régulée par l'équilibre entre leur taux de production et leur taux d'élimination par les systèmes antioxydants (Migdal et Serres, 2011 ; Herzberg *et al.*, 2019). Leurs faibles niveaux de production sont nécessaires pour maintenir les fonctions physiologiques y compris la prolifération, transduction du signal, expression génique et la défense de l'hôte (Nita et Grzybowski, 2016) ; la description de la production d'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) par les cellules phagocytaires dans la lutte contre les pathogènes, celle du rôle biologique du monoxyde d'azote (NO) ainsi que la découverte des enzymes productrices qui leur sont associées soulignent également le rôle physiologique du stress oxydant (Migdal et Serres, 2011). Cependant cette homéostasie rédox peut être rompue, soit par une production excessive d'ERO, un dysfonctionnement mitochondrial, un système antioxydant altéré ou par une combinaison de ces facteurs, on parle alors de stress oxydant (Migdal et Serres, 2011 ; Rahman *et al.*, 2012 ; Nita et Grzybowski, 2016). La perturbation de cette homéostasie est considérée à l'heure actuelle comme impliquée dans le développement de nombreuses pathologies (Tableau 1) (Kausar *et al.*, 2018 ; Zarkovic, 2020).

Tableau 1: Maladies chroniques et aiguës caractérisées par un stress oxydatif accru et thérapies génératrices de stress oxydatif (Berger, 2006)

Affections chroniques	Affections aiguës
Arthrite	Réaction inflammatoire
Arthrite rhumatoïde	Brûlures
Maladies auto-immunes	Traumatismes graves
Cancer	Ischémie-reperfusion
Cataracte	Insuffisance rénale aiguë
Coronaropathie	Pancréatites
Dégénérescence maculaire	Sepsis
Démence	Transplantation d'organes
Diabète sucré	Thérapies:
Hémochromatose	Ventilation mécanique avec FiO_2 supérieure à 30 %;
Maladie de Keshan	Chirurgie majeure (ischémie-reperfusion);
Maladie de Parkinson	Dialyse (continue ou discontinue);
Maladie de radiation	Injection intraveineuse ou intramusculaire de fer;
Sclérose latérale amyotrophique	Transfusion sanguine

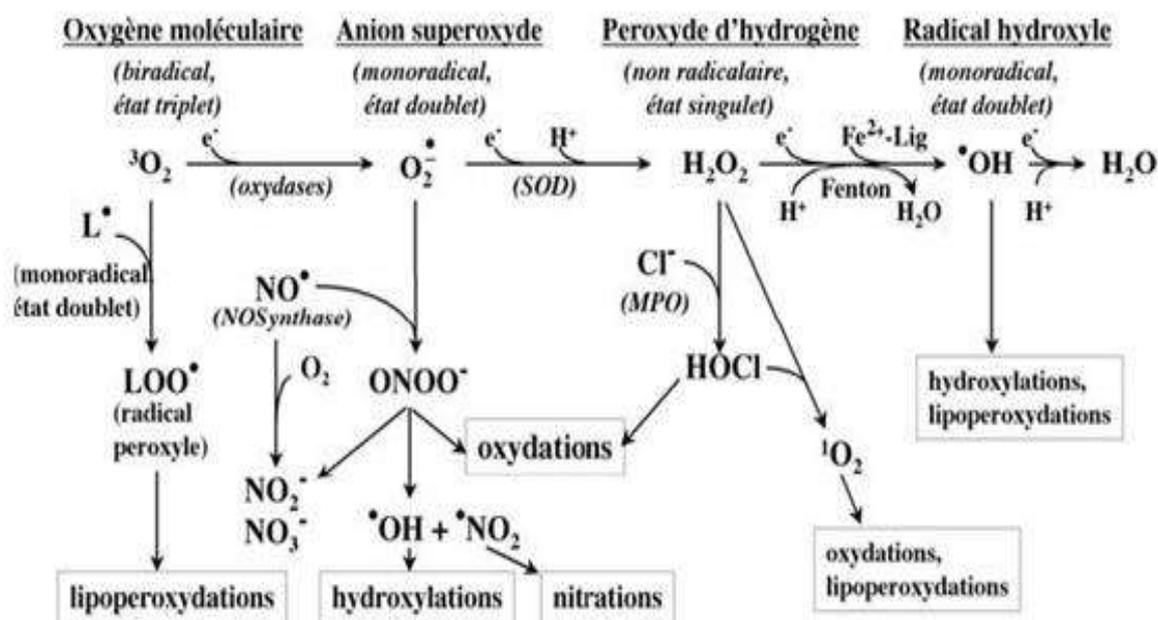


Figure 5: Espèces réactives de l'oxygène produites en cascade à partir de l'oxygène fondamental (Deby-Dupont *et al.*, 2002)

II.2.2. Propriétés antioxydantes

L'activité antioxydante des polyphénols est liée à leur structure, il existe une corrélation entre cette dernière et l'arrangement spatial des substituants. En effet, la position ainsi que le degrés d'hydroxylation influencent fortement cette activité (Heim *et al.*, 2002 ; González *et al.*, 2020).

Les polyphénols sont de puissants antioxydants. Grâce à leur diversité structurale, ils sont impliqués dans cette activité via plusieurs mécanismes en agissant à différents niveaux des réactions radicalaires ; piégeage des radicaux libres, chélation des ions de métaux de transition, inhibition des enzymes génératrices d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), induction d'enzymes antioxydantes endogènes et prévention de la peroxydation lipidique (Szymanowska et Baraniak, 2019 ; Sánchez-Rodríguez *et al.*, 2020).

II.2.2.1. Chélation des ions métalliques

Les polyphénols contribuent à l'inhibition de la formation des radicaux libres et leurs réaction de propagation par la chélation des ions de métaux de transitions, en particulier ceux du fer (Fe^{2+}) et du cuivre (Cu^{2+}) (Brown *et al.*, 1998), qui sont essentiels pour certaines fonctions physiologiques (Kontoghiorghes, 2020). Ils entrent notamment dans la composition des hémoprotéines et dans certaines enzymes antioxydantes comme la catalase et la superoxyde dismutase (Cotelle, 2001). Cependant, ils peuvent aussi générer

des radicaux hydroxyles, très réactifs, à partir de l'espèce peu réactive H_2O_2 , selon la réaction de Fenton (Cotelle, 2001 ; Ghedira, 2005 ; Gardeli *et al.*, 2008).

D'après Kurek-Górecka *et al.* (2014), les sites essentiels pour la chélation des ions métalliques sont (Figure 6):

- Les groupes 4-oxo et 5-hydroxyle entre les cycles A et C
- Le noyau catéchol sur le cycle B
- Les groupes 3-hydroxyle et 4-oxo du cycle C

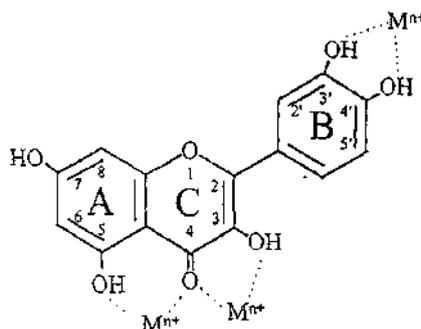


Figure 6: Sites proposés pour la chélation des ions métalliques par les flavonoïdes (Kurek-Górecka *et al.*, 2014)

II.2.2.2. Effet scavenger (Piégeage des espèces réactives de l'oxygène)

Les polyphénols sont de puissants antioxydants qui peuvent non seulement neutraliser les radicaux libres, mais également supprimer la génération de radicaux libres, réduisant ainsi le taux d'oxydation en inhibant la formation ou en désactivant les espèces actives et précurseurs de radicaux libres. Plus fréquemment, ils agissent comme des piègeurs directs de radicaux des réactions en chaîne de peroxydation lipidique. De ce fait, ils donnent un électron aux radicaux libres, en les neutralisant grâce à leur caractère réducteur en devenant eux-mêmes des radicaux stables (moins réactifs), arrêtant ainsi les réactions en chaîne (González *et al.*, 2020) ou interagir avec un autre radical selon la figure 7 (Pietta, 2000; Macheix *et al.*, 2005).

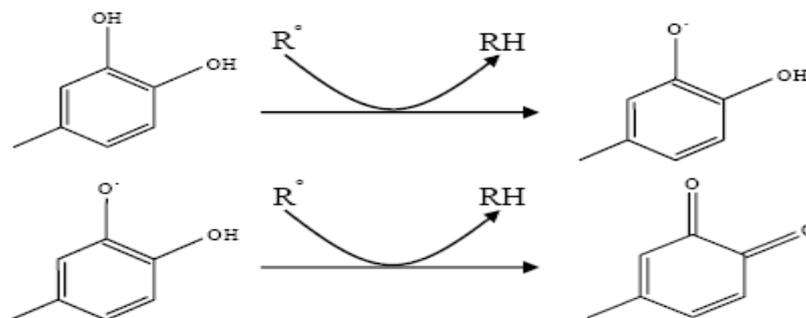


Figure 7: Mécanisme de l'activité scavenger des flavonoïdes via la fonction catéchol (Pietta, 2000)

II.2.2.3. Inhibition enzymatique

Les composés phénoliques possèdent un potentiel élevé d'inhibition des enzymes génératrices de formes réactives d'oxygène dans les systèmes biologiques, un mécanisme important d'effet antioxydant, via l'inhibition de la régulation des enzymes clé telles que xanthine oxydase, responsable de l'apparition du radical anion superoxyde et d'urate. Plusieurs travaux ont rapporté que les flavonoïdes sont les molécules les plus susceptibles d'être impliquées dans cet effet (Nagao *et al.*, 1999 ; Nessa *et al.*, 2010 ; Kurek-Górecka *et al.*, 2014 ; De Franco *et al.*, 2020 ; Mohos *et al.*, 2020).

La relation structure-activité des flavonoïdes en tant qu'inhibiteurs de la xanthine oxydase a montré que l'interaction hydrophobe était importante dans cette liaison et que l'inhibition de cette enzyme augmentait généralement avec des affinités croissantes dans la classe des flavones et des flavonols (Lin *et al.*, 2015). Les groupes hydroxyle en C-5 et C-7 et la double liaison entre C-2 et C-3 étaient essentiels pour une meilleure activité inhibitrice sur la xanthine oxydase. D'autre part, un groupe hydroxyle en C-3' dans le cycle B et en C-3 en contribuent favorablement (Cos *et al.*, 1998). La chélation est également le mécanisme le plus fréquent d'inactivation enzymatique (Kurek-Górecka *et al.*, 2014).

II.2.2.4. Induction de synthèse des enzymes antioxydantes

Les polyphénols, notamment les flavonoïdes peuvent diminuer le stress oxydatif soit par la capacité réductrice intrinsèque, soit par l'induction de l'expression de gènes codant pour des enzymes et des protéines antioxydantes (superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, catalase, etc.) (Umeno *et al.*, 2016; Fusco *et al.*, 2020; Roamba *et al.*, 2020).

La régulation positive de l'expression des gènes antioxydants et cytoprotecteurs par induction du système de régulation appelée élément de réponse antioxydant (ARE pour *antioxidant responsive element*) est déclenchée par le facteur de transcription *nuclear factor erythroid-2-related factor 2* (Nrf2), qui peut être activé par différents composés phytochimiques. De nombreux polyphénols se sont avérés capables d'activer ARE, stimulant l'expression d'antioxydant (par exemple, glutathion peroxydase, catalase ou superoxyde dismutase) et d'enzymes détoxifiantes (par exemple, glutathion S-transférase), qui constituent une ligne de défense majeure contre le stress oxydatif. De même, les polyphénols peuvent également réguler l'état oxydatif de la cellule en inhibant les enzymes oxydantes responsables de la production de superoxyde, telles que la xanthine oxydase, la cyclooxygénase, etc (Masella *et al.*, 2005 ; Ayuda-Durán *et al.*, 2020).

III. Plantes étudiées

III.1. Fenugrec

Le fenugrec est une légumineuse annuelle (Alizadeh *et al.*, 2013) appartenant à la famille des *Fabaceae* (Seasotiya *et al.*, 2014) du nom arabe l'helba (Figure 8), scientifiquement connu sous le nom de *Trigonella foenum-graecum*, elle est aussi appelée : trigonelle, sénégrain, trigonelle fenugrec, appartient au genre botanique *Trigonella* qui vient du latin «trigonum» signifiant trigone/triangle, se référant probablement à la forme triangulaire des fleurs. Le nom latin de l'espèce *foenum-graecum* signifie « foin grec », en référence au parfum intense de la plante séchée du fenugrec (Oueslati et Ghédira, 2015; Rahmani *et al.*, 2015).

C'est l'une des plus anciennes plantes médicinales et culinaires (Harchane *et al.*, 2012). Elle était connue et utilisée à différentes fins dans les temps anciens, notamment dans la région méditerranéenne, la Chine, l'Inde et l'Indonésie (Rahmani *et al.*, 2018). Cependant, l'origine exacte de cette plante est difficile à déterminer. Certains auteurs ont suggéré qu'elle est originaire de la région méditerranéenne, d'autres ont proposé une origine asiatique. Elle est largement distribuée à travers le monde, notamment dans les pays de l'Afrique du Nord et également en Asie du sud ouest, en Inde, au Pakistan, en Chine et au Japon. Sa culture s'est étendue à l'Europe centrale, au Portugal, en Espagne, au Royaume-Uni et aux États-Unis (Oueslati et Ghédira, 2015).



Figure 8: Graines de *Trigonella foenum-graecum* (Oueslati et Ghédira, 2015)

III.1.1. Description botanique

Le fenugrec est une plante herbacée, annuelle, poilue ou glabre selon les variétés, pouvant atteindre 50 cm de haut. Il possède une racine principale bien développée et une tige dressée rameuse, cylindrique, légèrement pubescente, de couleur souvent rose. Les feuilles sont alternes, longuement pétiolées munies de 2 stipules, composées de 3 folioles ovales et denticulées.

L'inflorescence montre des fleurs axillaires, groupées par deux, rarement solitaires. La fleur du fenugrec est sessile, dite papilionacée, assez grande, de couleur jaune pâle à violet clair, se compose d'un calice à cinq sépales non divisées, d'une corolle à cinq pétales libres de forme triangulaire (d'où le nom de trigonelle) et de dix étamines et un ovaire pluriovulé (Oueslati et Ghédira, 2015).

Le fruit est une gousse allongée, arquée, pouvant atteindre 20 cm de long et renfermant de nombreuses graines (10 à 20), très dures, aplaties, mesurant 3 à 5 mm de long et 2 à 3 mm de large, de couleur brun clair à brun rougeâtre, marquées par un sillon qui délimite les deux parties inégales (Ghedira *et al.*, 2010).

III.1.2. Systématique

Classification botanique de l'espèce *Trigonella foenum-graecum* (Ghedira *et al.*, 2010 ; Rahmani *et al.*, 2015).

Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliophytina
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Fabales
Famille	Fabaceae
Genre	<i>Trigonella</i> L.
Espèce	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.

III.1.3. Composition et propriétés biologiques

La partie utilisée est essentiellement les graines qui ont un intérêt thérapeutique. Les gousses (le fruit) sont récoltées durant l'automne, sont mises à sécher puis sont battues afin que les graines en sortent (Rahmani *et al.*, 2015).

Les données de la chimie ont montré que les graines contiennent des protéides, une huile riche en acides gras insaturés et en phytostérols, des glucides, des saponosides stéroïdiques, des alcaloïdes dont la trigonelline, du mucilage, des vitamines (A, B1 et C), du phosphore, du chrome et du calcium et une huile essentielle responsable de l'odeur de la plante (Harchane *et al.*, 2012; Chebat *et al.*, 2014; Rahmani *et al.*, 2015).

Le fenugrec est utilisé depuis de longue date dans les pays arabes. Dans le Maghreb il est utilisé dans le traitement des plaies, diarrhées, acné, déshydratation, anémie, bronchite, rhumatismes, maux d'estomac, hypertension artérielle, constipation soit sous forme de décoctions, soit de graines réduites en farines et mélangées avec le miel. Il est aussi connu pour combattre et réduire la chute de cheveux (Rahmani *et al.*, 2015).

Cette plante est également consommée comme fortifiant par les femmes après l'accouchement (Ghedira *et al.*, 2010). Les graines ont des propriétés nutritives importantes et des effets hypoglycémiant, hypocholestérolémiant et hypotriglycéridémiant (par ses saponines), anticancéreux, antioxydants, antimicrobiens et antiparasitaires. Elles sont traditionnellement utilisées comme stimulant de la lactation et de l'appétit et pour la prise de poids (Ghedira *et al.*, 2010 ; Seasotiya *et al.*, 2014; Norziah *et al.*, 2015; Rahmani *et al.*, 2018).

III.2. Ail cultivé

L'ail cultivé ou *Allium sativum* (thoum en arabe) est une espèce de plante potagère vivace monocotylédone dont les bulbes à l'odeur et au goût fort, sont souvent employés comme condiment en cuisine. Une tête d'ail se compose de plusieurs caïeux ou gousses d'ail (Figure 9). Son nom vient du celtique *all* (qui veut dire brûlant) et les Grecs l'appelaient la Rose puante (Gerges Geagea, 2015).

L'ail provient à l'origine des montagnes de Tian Shan d'Asie centrale (Lim, 2015), est cultivé sur presque tout type de sol, notamment dans les régions du pourtour méditerranéen. L'ail préfère les sols argileux, profonds, riches en humus et en nutriments, situés dans des endroits ensoleillés. Sa multiplication se fait par voie végétative grâce à ses caïeux plantés de septembre à mi-octobre (Goetz et Ghedira, 2012).

La partie utilisée en phytothérapie est le bulbe cru ou cuit mais aussi en sirop, en décoction et en solution alcoolique (Gerges Geagea, 2015).

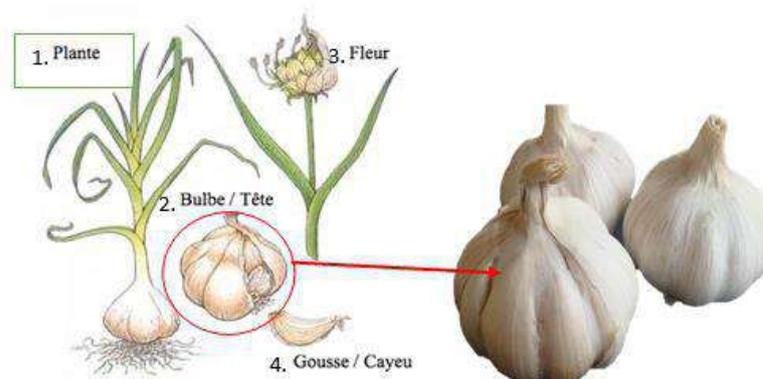


Figure 9: Présentation de l'ail (Gambogou *et al.*, 2019)

III.2.1. Description botanique

L'ail cultivé est une plante monocotylédone, herbacée, vivace, pouvant atteindre 25-90 cm, glabre ; le bulbe est formé de caïeux (gousses d'ail, bulbilles) à tunique membraneuse, insérés sur un plateau aplati, entourés d'une tunique commune blanchâtre ; la tige est cylindrique, feuillée jusqu'au milieu, enroulée en cercle avant la floraison ; les feuilles sont linéaires, engainantes planes, lisses mesurant 2.5 cm de large et 30 à 60 cm de long; les fleurs blanches ou rougeâtres, en ombelle hémisphérique, de 2.5 à 5 cm de diamètre, comprenant de nombreux bulbilles et quelques fleurs. Les fleurs sont variables en nombre et parfois absentes. Le fruit abortif et sans graines. L'odeur est faible et se développe (forte et soufrée) dès que les tissus sont lésés (Goetz et Ghedira, 2012; Lim, 2015). L'espèce *Allium sativum* L. se subdivise en principales variétés qui diffèrent par la taille et la forme du bulbe ainsi que par la couleur de leur enveloppe (Goetz et Ghedira, 2012):

- *Allium sativum* L. var. *Sativum*;
- *Allium sativum* L. var. *ophioscordum* (ou *ophioscorodon*);
- *Allium sativum* L. var. *pekinense*.

Le bulbe est de forme arrondie ou ovale, d'un diamètre d'environ 4 cm, constitué d'un plateau dur formé de caïeux (gousses) en nombre de 8 à 20, disposés en deux cercles concentriques, allongés, légèrement courbés et anguleux. Il est aussi enveloppé de minces feuilles ou tuniques membraneuses, blanches, mauves, rouges ou violettes selon les variétés. Chaque cailleu est formé d'une seule gaine foliaire charnue, entourée de plusieurs ébauches de feuilles superposées (Goetz et Ghedira, 2012).

III.2.2. Systématique

La classification systématique de l'ail est présentée ci-dessous (Goetz et Ghedira, 2012).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Magnoliophyta
Sous-embranchement	Magnoliophytina
Classe	Liliopsida
Sous-classe	Liliidae
Ordre	Liliales (Asparagales)
Famille	Aliaceae (ex Liliaceae)
Genre	<i>Allium</i>
Espèce	<i>Allium sativum</i> L.

III.2.3. Composition et propriétés biologiques

Les principaux composés responsables de la saveur de l'ail sont principalement des acides aminés non volatils contenant du soufre (thiosulfates), parmi lesquels le précurseur le plus prédominant est l'alliine ou le sulfoxyde de S-allyl-cystéine (ACSO) (Martins *et al.*, 2016). Ces composés soufrés sont également responsables des propriétés médicinales de l'ail, telles que les propriétés anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antivirale, antiparasitaire, hypoglycémiant, cardioprotectrices, antispasmodique gastro-intestinal, stimulant utérin, hépatoprotecteur, diurétique, antihelminthique, antiasthénique et expectorant et les propriétés antihypertensives et immunostimulantes (Vannereau et Mellouki, 1996 ; Benmeddour *et al.*, 2015; Martins *et al.*, 2016). Dans le domaine vasculaire, l'ail augmente l'activité fibrinolytique, entraîne une forte inhibition de l'agrégation plaquettaire grâce aux ajoènes (produits d'autocondensation de l'allicine), diminue le taux de cholestérol, protège contre l'athérosclérose et possède une activité cardioprotectrices (Vannereau et Mellouki, 1996; Derbel et Ghedira, 2005; Triki *et al.*, 2012; Benmeddour *et al.*, 2015; Gerges Geagea, 2015; Lim, 2015; Martins *et al.*, 2016). En outre, l'ail contient également une concentration élevée en sélénium, qui est responsable, en partie, de son activité antioxydante et de l'effet préventif anti-cancer (Bhandari, 2012).

D'autres composés volatils possédant des propriétés bioactives puissantes sont les ajoènes, ainsi que plusieurs composés soufrés autres que l'alliine, tels que l'allicine, la 1,2-vinyldithiine, l'allixine et la S-allyl-cystéine et des sulfures, tels que diallyl-, méthylallyl- et dipropyle mono-, di-, tri- et tétra-sulfures, qui sont formés après la décomposition des thiosulfates (Annexe II) (Martins *et al.*, 2016). La nature volatile de ces Composés est

fortement impliquée dans les mécanismes de défense des plantes d'ail contre les parasites et plusieurs pathogènes, puisque leur libération est combinée avec des lésions cellulaires et des lésions des tissus végétaux (Martins *et al.*, 2016). Les composés organo-soufrés volatils et odorants les plus caractéristiques de l'ail sont libérés après la rupture de la membrane cellulaire, provoquant l'élimination α , β de l'alliine et d'autres sulfoxydes, qui sont situés au niveau du cytoplasme, par l'enzyme alliinase, qui se trouve dans la vacuole. Cependant, en dehors de ses composés volatils, l'ail est également riche en vitamines (en particulier les vitamines du groupe B et la vitamine C), les antioxydants et les minéraux (en particulier P, K et Se), alors qu'elle est également considérée comme une source riche en d'autres phytonutriments non volatils, avec d'importantes propriétés médicinales et thérapeutiques ; les saponines et les sapogénines, les composés phénoliques, les oxydes d'azote, les amides et les protéines (Martins *et al.*, 2016).

III.3. Lentisque pistachier

L'Arbre au mastic, ou pistachier lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) (Remila *et al.*, 2015), couramment appelé «Dro» en arabe local (Bammou *et al.*, 2015) et Tidekth en kabyle et/ou berbère (Hammiche, 2015) (Figure 10). Le nom pistachier vient du grec *pistakê*. Le nom lentisque vient du latin *lentus* (visqueux).

Il se développe dans des régions arides et caractéristiques des pays méditerranéens et du Moyen-Orient. Plusieurs espèces endémiques de *Pistacia* colonisent le territoire algérien (*P. lentiscus*, *P. therebintus* et *P. atlantica*) (Albaladejo *et al.*, 2008 ; Amhamdi *et al.*, 2009; Benabderrahmane *et al.*, 2009).

L'arbre au mastic a été proposé en tant qu'espèce appropriée pour la restauration des secteurs semi-arides grâce à ses capacités d'adaptation à la sécheresse et sa résistance à la perturbation. Il a également des racines qui ont une capacité élevée de croissance et une plasticité à l'indisponibilité des nutriments et la faible disponibilité en eau (Palacio *et al.*, 2005 ; Cortina *et al.*, 2008). En méditerranée, *P. lentiscus*, a la capacité de se développer le long d'un gradient d'humidité et de température (Bandera *et al.*, 2008).



Figure 10: Feuilles et fruits de *P. lentiscus* (Bammou *et al.*, 2015)

III.3.1. Description botanique

Le *lentisque* est un arbuste sclérophylle (Romani *et al.*, 2002) à feuilles composées paripennées et persistantes à odeur de résine fortement âcre (Bammou *et al.*, 2015) de la famille des anacardiacees pouvant atteindre 3 à 4 m de hauteur, allant jusqu'à 6 à 7 m dans les conditions favorables (Reig-Armiñana *et al.*, 2004). Ses périodes de floraison et de fructification ont lieu pendant le printemps et l'automne, respectivement. Les feuilles composés de 2 à 5 paires de folioles, ovale à allongée et plus ou moins marginale ciliée (Fazeli-nasab et Fooladvand, 2014). L'inflorescence est une grappe, sans pétales et glandes fabricant le nectar et n'attire pas les abeilles, le pollen est dispersé par le vent. Le fruit est une drupe de 5 à 8 mm de diamètre, de forme ovoïde-globuleux et peu compressé (Fazeli-nasab et Fooladvand, 2014). Il est de couleur rouge au début puis devient noirâtre à maturité à la fin de la saison hivernale (Ghedira, 2007).

III.3.2. Systématique

Selon la classification commune de Zohary (1952) cité par AL-Saghir et Porter (2012), le genre *Pistacia* regroupe en plus de *P. lentiscus*, 10 autres espèces et divisé en 4 sections. Cette espèce est classée dans la section d'*Eu-Lentiscus* à coté de *P. weinmannifolia* et *P. saportae*. La classification de l'espèce *P. lentiscus* (Nahida *et al.*, 2012).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermatophyta
Sous- Embranchement	Angiospermae
Division	Magnoliophyta
Classe	Dicotyledones
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	<i>Pistacia</i>
Espèce	<i>Pistacia lentiscus L.</i>

III.3.3. Composition et propriétés biologiques

L'utilisation du mastic, fruits, écorce et feuilles du lentisque en médecine traditionnelle date du temps des grecs anciens. Ils sont utilisés dans le traitement d'eczéma, paralysie, hypotension, diarrhée, infection de gorge, calcul rénal, asthme et douleurs gastriques et en tant qu'un astringent, anti-inflammatoire, antipyrétique, antiulcéreux, anticancéreux, hépatoprotecteur, antiviral, antioxydant, antifongique et antibactérien (Gardeli *et al.*, 2008; Hosseinzadeh *et al.*, 2008; Kordali *et al.*, 2003; Charef *et al.*, 2008; Rodríguez-Pérez *et al.*, 2013; Bammou *et al.*, 2015; Remila *et al.*, 2015).

Plusieurs constituants de différentes classes chimiques ont été quantifiés et identifiés chez *P. lentiscus* comme les flavonoides et les anthocyanines, les acides phénoliques (acide gallique, acide digallique et catéchine), triterpenoides et tanins (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2013; Remila *et al.*, 2015).

Les composés α -Pinene, γ -terpinene et terpinene-4-ol ont été caractérisés comme les principaux constituants de l'huile essentielle des feuilles de *P. lentiscus*. Les flavonoides glycosides ont été isolés de la partie aérienne de *P. lentiscus* et la composition des feuilles en polyphénols a été rapportée (Longo *et al.*, 2007).

Les fruits du lentisque sont riches en anthocyanines (Rodríguez-Pérez *et al.*, 2013) et donnent une huile de table riche en acides gras insaturés comme les acides oléique et linoléique est souvent utilisée comme un remède d'application externe locale sous forme d'onguent pour soigner les brûlures ou les douleurs dorsales (Bammou *et al.*, 2015). En Algérie, l'huile du fruit est utilisée par la population dans la médecine traditionnelle de différentes manières (Tableau 2).

Tableau 2: Utilisations ethnomédicales des différents produits de *P. lentiscus* (Bozorgi *et al.*, 2013)

Région	Partie de la plante utilisée	Utilisation traditionnelle
Algérie	Feuilles	Apéritif et astringent
	Résine	Maux d'estomac ; dyspepsie ; ulcère gastrique troubles intestinaux ; inflammation hépatique ; maladies des dents ; diabète ; hypercholestérolémie ; diurétique
Grèce	Parties aériennes	Stimulant ; diurétique ; hypertension ; calculs rénaux ; jaunisse ; toux ; maux de gorge, eczéma ; maux d'estomac
	Résine	Douleurs abdominales
Iran	Résine	Renforcement de la gencive ; désodorisant de l'halène ; tonique cérébral et hépatique, maladies gastro-intestinales
	Feuilles	Maux de dents, mycose, herpès, douleurs abdominales et intestinales, rhumatismes, antiseptique, cicatrisant, émollient, expectorant, astringent
Jordanie	Feuilles	Jaunisse
	Résine	Brûlures et maux d'estomac
Maroc	Feuilles	Maladie digestive ; contre le mauvais œil
	Feuilles, écorce	Analgésique gastrique
Portugal	Racines	Antiseptique et anti-odontalgique
	Graines	Antirhumatisme
	Tiges	Antiseptique buccale
	Parties aériennes	Hypertension
Espagne	Fruits	Grippe
	Feuilles	Dérmatophytose chez les vaches
Tunisie	Bourgeons tendres	Verrues
	Fruits	Utilisation comestibles ; condiments ; traitement gale ; rhumatismes ; antidiarrhéique
Turquie	Feuilles	Eczéma ; diarrhée ; infections de la gorge ; paralysie ; calculs rénaux ; la jaunisse ; asthme, maux d'estomac ; astringent ; anti-inflammatoire ; antipyrétique ; stimulant

IV. Coccidioses du poulet de chair

La coccidiose causée par les espèces d'*Eimeria* est classée parmi les cinq maladies les plus dévastatrices des volailles et constitue le problème majeur en élevage avicole avec un impact économique mondiale considérable, évalué à 2 milliards de dollars incluant la mortalité (6 à 10%, la morbidité est estimée à 50-70%), le coût de la prévention et des traitements (Sahraoui *et al.*, 2015 ; Tan *et al.*, 2017).

IV.1. Productions avicoles dans le monde

La production avicole intensive n'a commencé qu'au 20^{ème} siècle. En effet, les cent dernières années a connu une croissance impressionnante, principalement dans la production des poulets, des œufs, des dindes, des canards et des oies (Vaillancourt, 2015).

L'aviculture, du fait de ses nombreux atouts (espèces à cycle court, accessibles à tous, de production plus facile et nécessitant peu d'investissement) et de son importance sociale, économique et nutritionnelle, occupe aujourd'hui dans la plupart des pays en voie de développement tels ceux d'Afrique, une place de choix dans les stratégies de développement et de lutte contre la pauvreté et visant l'autosuffisance alimentaire en protéines animales (Ayssiwede *et al.*, 2011 ; Sahraoui *et al.*, 2016). De nos jours, la viande de poulet est consommée non seulement en tant que viande fraîche, mais également en tant que produits dérivés (Penny *et al.*, 2018).

L'aviculture en Algérie a connu une expansion et un développement spectaculaire à travers les différents plans de développement du Ministère de l'Agriculture. L'accroissement de la production est dû à une maîtrise de la conduite des élevages, à une meilleure optimisation nutritionnelle des régimes alimentaires, à l'utilisation des facteurs de croissance ainsi qu'à la maîtrise de l'état sanitaire des animaux (Sahraoui *et al.*, 2015).

IV.2. Etiologie

IV.2.1. Taxonomie d'*Eimeria*

La classification des coccidies a fait l'objet de controverses et de changements considérables au cours des trois dernières décennies. C'est à la suite des progrès rapides de la compréhension de la structure fine des parasites protozoaires qui s'est produite au début des années 1960 que Levine (1970) a créé le phylum Apicomplexa (Long, 1993).

La classification reprise ci-après est inspirée de celle présentée par Mehlhorn (2016): « Protozoan Parasites ». Selon cet auteur, les parasites agents de coccidioses du poulet de chair appartiennent à :

Subphylum: Sporozoa (Apicomplexa)

Classe: Sporozoea

Sous-classe: Coccidia

Ordre: Eucoccida (Schizococcida)—avec schizogonie

Sous-ordre: *Eimeriina*

Genre: *Eimeria*

Espèce: *Eimeria acervulina*, *Eimeria brunetti*, *Eimeria maxima*,

Eimeria mitis, *Eimeria necatrix*, *Eimeria praecox* et *Eimeria tenella*.

IV.2.2. *Eimeria* des poulets

Le plus grand genre du phylum des apicomplexes est le genre *Eimeria*, qui contient plus de 1700 espèces différentes décrites à ce jour. Ces parasites sont ubiquitaires et infectent un large spectre d'hôtes: les chevaux, les chiens domestiques et les chats, les lapins, les bovins, les moutons, les porcs, les dindes et les poulets (Dakpogan *et al.*, 2012; Quiroz-Castañeda et Dantán-González, 2015 ; López-Osorio *et al.*, 2020). Les coccidies les plus communes responsables d'infections chez les poulets et les autres volailles appartiennent au genre *Eimeria* (Figure 11), qui ont une très grande spécificité d'hôte et réalisant un cycle direct (monoxène) (Chapman, 2014 ; López-Osorio *et al.*, 2020).

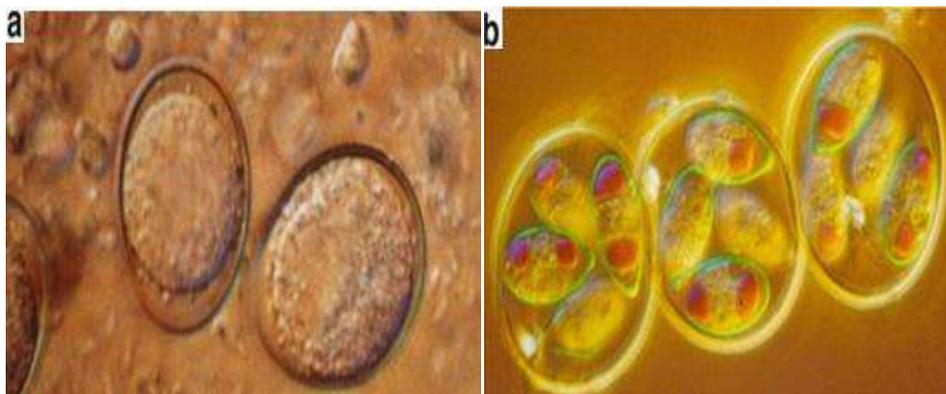


Figure 11: Oocystes d'*Eimeria*; (a) Oocyste non sporulé; (b) Oocyste sporulé (Mehlhorn, 2016)
(oocystes matures du genre *Eimeria* contiennent chacun 4 sporocystes)

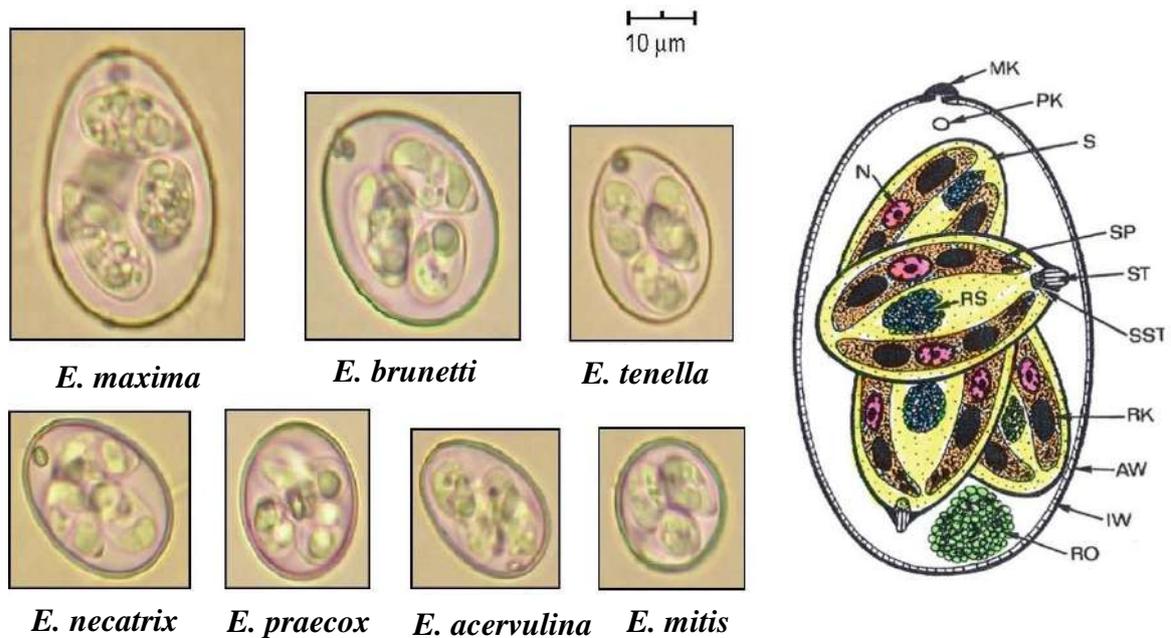


Figure 12: Oocystes des sept espèces d'*Eimeria* du poulet (Castañón *et al.*, 2007; Dakpogan *et al.*, 2012) et schéma de la structure d'un oocyste des espèces *Eimeria* (Mehlhorn, 2016). AW: Membrane externe de l'oocyste; IW: Membrane interne de l'oocyste; MK: Cover du micropyle; N: Noyau; PK: Granule polaire; RK: Corps réfringent; RO: Corps résiduels de l'oocyste; RS: Corps résiduel du sporocyste; S: Sporocyste; SP: Sporozoite; SST: Corps sous stieda; ST: Corps de stieda.

On distingue neuf espèces d'*Eimeria* spécifiques du poulet (Muthamilselvan *et al.*, 2016). Les sept espèces qui parasitent les oiseaux domestiqués (*Gallus gallus*) sont: *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox* et *E. tenella*, ils sont très répandus et provoquent la coccidiose aviaire (Williams, 1999) (Figure 12), La validité de deux autres espèces fréquemment mentionnées dans la littérature, *E. hagani* et *E. mivati*, est à l'étude (Conway et McKenzie, 2007).

Le genre *Eimeria* regroupe des parasites intracellulaires obligatoires. Ils sont caractérisés par la présence d'une phase sexuée et d'une phase asexuée dans leur cycle biologique, avec des stades invasifs présentant une ultrastructure complexe au niveau du pôle apical de la cellule (sporozoïtes). Différents organites le composent: le conoïde, les micronèmes, les rhoptries, et des granules denses (Figure 13). L'ensemble de ces structures sont impliqués dans le processus d'invasion de la cellule-hôte (Tomley *et al.*, 1991; Chapman, 2014; Quiroz-Castañeda et Dantán-González, 2015).

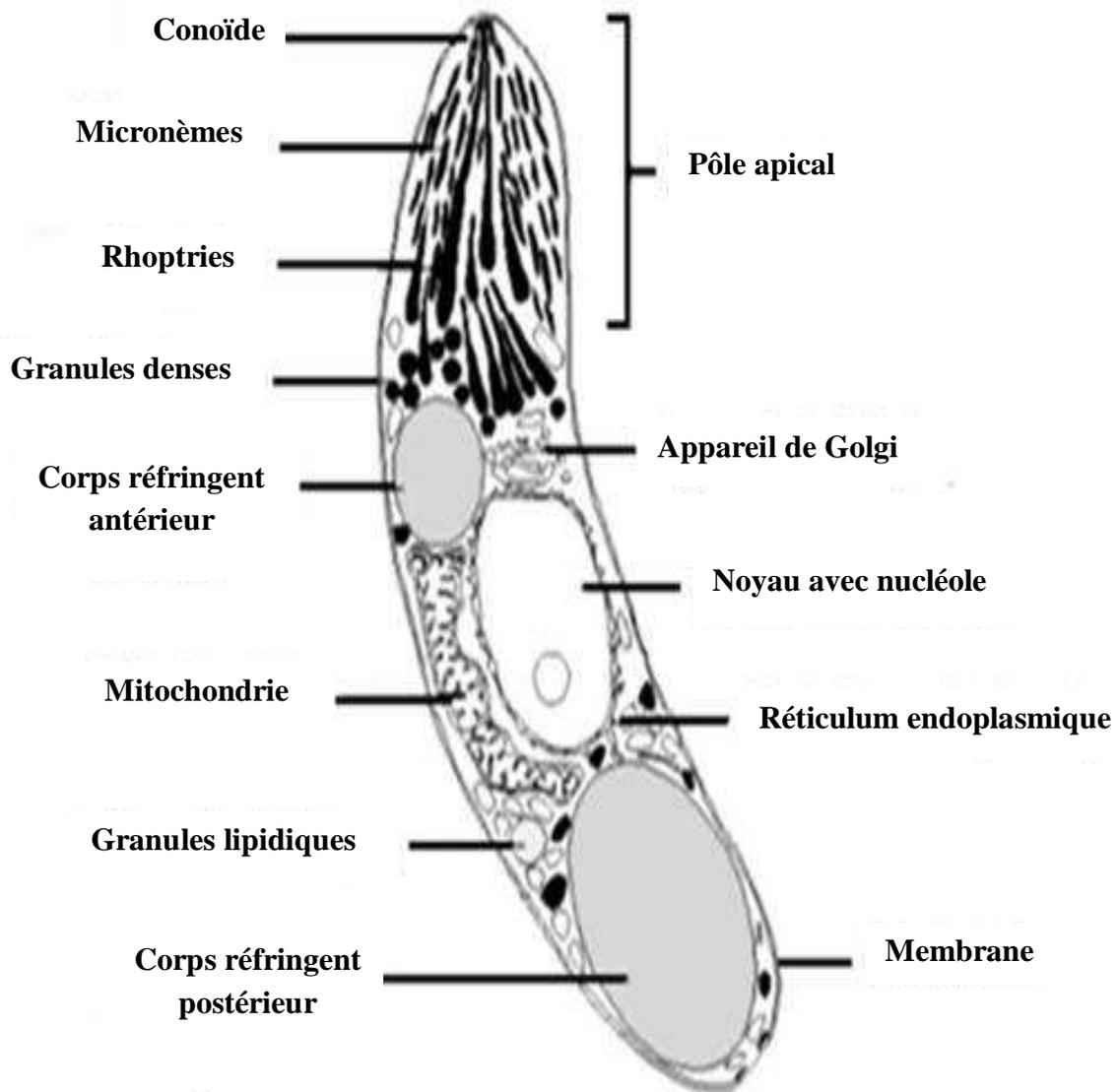


Figure 13: Diagramme de l'ultrastructure de base de sporozoïte d'*Eimeria* (Shirley, 1992; Coombs *et al.*, 1997)

IV.2.3. Biologie et cycle de développement du genre *Eimeria*

Les *Eimeria* sont des espèces monoxènes, leur cycle biologique est divisé en trois phases: la sporogonie, la schizogonie et la gamogonie (Figure 14). Il se déroule habituellement en 4 à 6 jours, mais sa durée peut être variable selon les espèces (Quiroz-Castañeda et Dantán-González, 2015). Ce cycle possède une capacité de reproduction massive pendant les phases intracellulaires. Ce sont les phases répliquatives asexuées qui entraînent le plus de dommages au niveau des tissus intestinaux, causant différents degrés de perturbations digestives, et pouvant ainsi favoriser le développement d'autres pathogènes (Dakpogan *et al.*, 2012).

Le poulet s'infecte en ingérant des oocystes sporulés (2) présents dans le milieu environnant: dans les litières, la nourriture ou l'eau. Une fois ingérés, les oocystes sporulés sont mécaniquement broyés au niveau du gésier, ce qui libère les sporocystes (3). Au niveau du duodénum et sous l'action d'enzymes pancréatiques, comme la trypsine et des sels biliaires, les sporocystes libèrent les sporozoïtes, c'est l'étape d'excystation. Les sporozoïtes pénètrent activement les cellules épithéliales de l'intestin ou des caeca en fonction de l'espèce parasitaire (4). C'est le début de la phase de **schizogonie**. Après avoir envahi les cellules, les parasites se différencient en trophozoïtes. Un processus de division nucléaire se met en place aboutissant à la formation de schizontes (ou mérontes) (5 à 8). Une fois à maturité, les schizontes font éclater les cellules, libérant plusieurs centaines de mérozoïtes (9). Ces mérozoïtes vont envahir à leur tour les cellules épithéliales voisines. Selon les espèces, le cycle comprend 2 à 4 multiplications asexuées successives (10 à 12). Au terme de la dernière multiplication asexuée, les mérozoïtes envahissent les cellules et se différencient en gamontes mâles (microgamontes) (13) et gamontes femelles (macrogamontes) (14), c'est la **gamogonie**. Les microgamontes vont se diviser et aboutir à la production de nombreux microgamètes biflagellés et mobiles (15 à 16). En revanche, les macrogamontes effectuent leur maturation sans se diviser et engendrent des macrogamètes (17). Une fois mature, les microgamètes fécondent les macrogamètes (17), donnant ainsi naissance à des zygotes qui prendront le nom d'oocyste après formation de leur coque (18). Ces oocystes sont libérés avec les fèces du poulet dans le milieu extérieur (19), c'est le début de la **sporogonie**.

L'oocyste libéré n'est pas infectant (1). C'est sous des conditions environnementales favorables (chaleur, oxygène et humidité) (Waldenstedt *et al.*, 2001) les oocystes sporulent et deviennent par conséquent infectants. Après sporulation, les oocystes vont contenir 4 sporocystes chacun renfermant 2 sporozoïtes (Figure 14) (Allen et Fetterer, 2002 ; Dakpogan *et al.*, 2012).

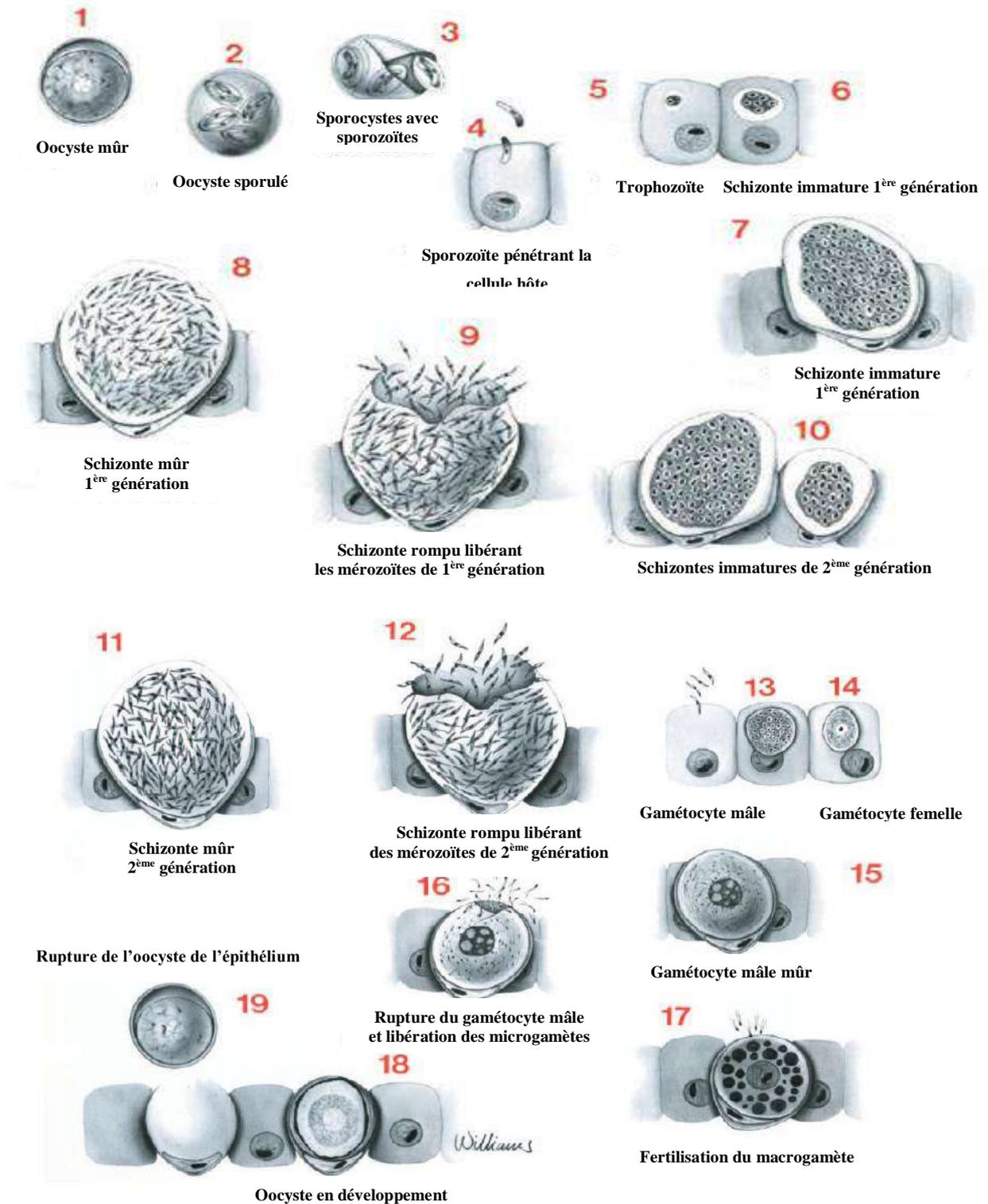


Figure 14: Cycle de développement des coccidies du genre *Eimeria* chez le poulet. Ce cycle est composé de trois phases: la **sporogonie** (1 à 2) ou étape de sporulation à l'extérieur de l'hôte, la **schizogonie** ou mérogonie (3 à 12) et la **gamogonie** ou phase de Multiplication sexuée qui ont lieu dans les cellules de l'hôte (13 à 19) (Conway et McKenzie, 2007).

IV.3. Distribution de la coccidiose

Le moyen le plus répandu de la propagation des coccidies est mécanique; par le personnel qui se déplace entre les poulaillers et les fermes (McDougald et Fitz-Coy, 2008), aussi leur propagation du troupeau au troupeau et de l'oiseau à l'oiseau dépend de la survie de leurs oocystes dans la litière ou le sol (MC Dougald, 1998). En plus, leur spécificité d'hôte stricte élimine les oiseaux sauvages comme sources d'infection (Shirley et Harvey, 2000 ; McDougald et Fitz-Coy, 2008).

L'infection survient toujours *per os*, suite à l'ingestion d'oocystes sporulés avec les aliments ou l'eau de boisson. La sévérité des lésions est d'autant plus grande que la quantité d'oocystes ingérée est importante. L'ingestion massive en une seule fois est plus pathogène que la même quantité totale d'oocystes ingérée sur plusieurs jours. Les doses nécessaires pour provoquer des troubles sont très variables selon les espèces (MC Dougald, 1998; Conway et McKenzie, 2007).

Williams (1999), a en effet indiqué qu'il était extrêmement rare de trouver des élevages industriels de volailles sans présence du parasite *Eimeria* (McDougald et Fitz-Coy, 2008). De plus, d'autres études ont montré que l'infection ne se faisait pas par une seule espèce mais qu'il y avait généralement présence de deux, ou de trois espèces simultanément (Quiroz-Castañeda et Dantán-González, 2015). Le potentiel de reproduction de l'espèce varie considérablement, les espèces moins pathogènes telles que *E. acervulina* et *E. mitis* se reproduisent plus abondamment que les espèces les plus pathogènes telles que *E. tenella* et *E. necatrix* (MC Dougald, 1998).

La contamination par les oocystes d'*Eimeria* au cours des deux à trois premières semaines est généralement faible, ensuite elle augmente rapidement pour atteindre un pic entre la quatrième et sixième semaine, et diminue finalement vers la septième et la huitième semaine (Figure 15) (Conway et McKenzie, 2007).

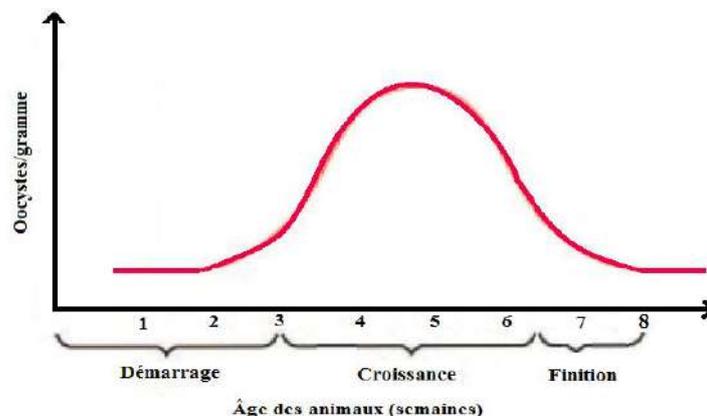


Figure 15: Oocystes par gramme de litière au cours de l'âge des poulets (Conway et McKenzie, 2007)

IV.4. Immunité anticoccidienne

Cette immunité est marquée par une réduction de la gravité des signes cliniques ainsi que d'une diminution de la production de parasites (oocystes). L'immunité anticoccidienne est soit innée du fait de la stricte spécificité de l'hôte pour ces parasites, soit acquise. L'immunité acquise est spécifique pour chaque espèce de coccidie. Chaque espèce possède aussi un caractère immunogène propre: *E. maxima* et *E. Praecox* sont très immunogènes dès le premier cycle parasitaire; au contraire, *E. tenella* (3-4 cycles) et *E. necatrix* (4-5 cycles) le sont beaucoup moins (Guyonnet, 2015).

L'immunité sera d'autant plus solide que l'hôte aura été en contacts répétés avec les parasites, même s'il s'agit d'oocystes en nombre très limité. Les stades asexués de développement sont considérés comme essentiels pour le développement de l'immunité et la durée de la protection immunitaire dépend de l'espèce et la fréquence des réexpositions à de nouveaux parasites (Guyonnet, 2015; Quiroz-Castañeda et Dantán-González, 2015).

L'immunité anticoccidienne est essentiellement à médiation cellulaire (Prowse, 1991; Chapman, 2014). Le stade initial est déclenché lors de la reconnaissance par les cellules lymphocytaires des antigènes parasitaires à la surface des macrophages. Le rôle des lymphocytes CD8+ est complexe, impliquant à la fois une action directe via la sécrétion de lymphokines ou de lymphotoxines et une action indirecte par le recrutement des macrophages. Le rôle des macrophages et des cellules tueuses (NK ou Natural Killer) est aussi important (Guyonnet, 2015).

L'immunité humorale n'a qu'un rôle limité (Prowse, 1991; Chapman, 2014) et il n'existe pas de corrélation entre les taux plasmatiques d'immunoglobulines et le degré de protection contre les coccidioses. Seuls les anticorps sécrétoires IgA et IgM semblent jouer un rôle au niveau de la barrière intestinale en protégeant contre l'invasion des cellules. En dépit de nombreuses recherches au cours des 20 dernières années, les mécanismes de l'immunité ne sont pas encore clairement établis (Guyonnet, 2015).

IV.5. Symptômes et lésions de la coccidiose intestinale et cæcale

La coccidiose se présente souvent sous les deux formes suivantes : la forme clinique avec la manifestation des signes cliniques de la maladie et la forme asymptomatique à effets désastreux sur les performances de production (Dakpogan *et al.*, 2012).

La sévérité des signes cliniques, des lésions et l'étendue des dommages intestinaux varie selon les espèces d'*Eimeria* impliquées (Figure 16; Tableau 3). La gravité des signes

cliniques et lésionnels dépendra aussi de l'âge de l'hôte, de son état nutritionnel ou de son statut immunitaire et de la présence d'autres agents pathogènes (Guyonnet, 2015).

La réplication massive des *Eimeria* dans l'intestin de l'hôte provoque de nombreuses perturbations de l'homéostasie avec des lésions observables macroscopiquement (Naciri et Brossier, 2009), une réduction de la consommation, des pertes de poids, une modification de l'emplument, une diminution de la coloration des carcasses, des diarrhées qui peuvent être sanguinolentes. Cette pathologie, largement associée à la destruction de l'épithélium intestinal, est responsable d'une diminution de l'absorption des nutriments dans le cas des coccidies affectant l'intestin grêle ou provoque des hémorragies qui peuvent être mortelles dans le cas d'infections sévères par *E. necatrix* ou l'espèce cæcale *E. tenella* (Hachimi *et al.*, 2008). Les infections par *Eimeria* entraînent également un défaut de qualité dans certaines productions comme celle du poulet jaune et une chute de ponte accompagnée d'une décoloration de la coquille et du jaune de l'œuf (Naciri et Brossier, 2009).

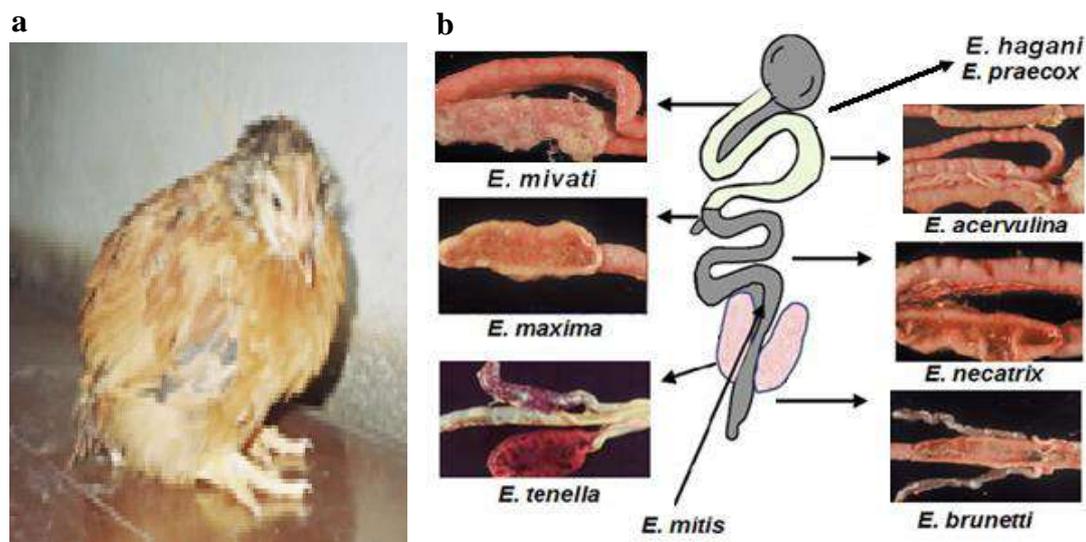


Figure 16: Effets macroscopiques des coccidioses

(a) Photographie d'un poulet contaminé. On observe sa posture prostrée et ses plumes ébouriffées (Al-Gawad *et al.*, 2012), (b) ainsi qu'un schéma du tractus digestif du poulet illustrant les différentes lésions causées par les coccidies du poulet et leurs localisations (Conway et McKenzie, 2007).

Une diminution du pH intestinal peut aussi contribuer à une modification de la flore intestinale, avec une augmentation des coliformes et des bactéries anaérobies comme *Clostridium perfringens* et une diminution des lactobacilles et de bifidobactéries, conduisant souvent à des signes concomitants de colibacillose et d'entérite nécrotique (Guyonnet, 2015).

Les observations histopathologiques les plus marquantes sont des changements d'ordre vasculaire, une infiltration cellulaire, l'hyperplasie épithéliale et des pertes épithéliales. Des variations existent en fonction de l'espèce d'*Eimeria* (Guyonnet, 2015).

- **Coccidiose intestinale et cæcale**

Tableau 3: Principales caractéristiques des espèces *Eimeria* du poulet (Quiroz-Castañeda et Dantán-González, 2015)

	Espèces	Site de développement	Pathogénicité	Lésions
Coccidiose intestinale	<i>E. praecox</i>	Duodénum, jéjunum	Moins pathogène	Le contenu intestinal apparait liquide avec présence du muqueuse et rejet mucoïde.
	<i>E. hagani</i>	Duodénum, jéjunum et iléon	Moins pathogène	Pétéchies avec opacité blanchâtre dans l'intestin grêle supérieur Contenu intestinale peut être crémeux ou aqueux.
	<i>E. acervulina</i>	Duodénum, iléon	Modérément pathogène	Une entérite limitée entraînant une perte de liquide. Malabsorption des nutriments.
	<i>E. mitis</i>	Iléon	Modérément pathogène	Une entérite limitée entraînant une perte de liquide. Malabsorption des nutriments.
	<i>E. mivati</i>	Duodénum, rectum	Modérément pathogène	Pétéchies rouges et taches blanches rondes. Déficience sévère de la muqueuse.
	<i>E. maxima</i>	Jéjunum et iléon	Modérément-hautement pathogène	Inflammation de la paroi intestinale avec mis en évidence d'hémorragiques Détachement de l'épithélium.
	<i>E. brunetti</i>	Cæcum et rectum	hautement pathogène	Inflammation de la paroi intestinale avec hémorragies repérées. Détachement de l'épithélium.
	<i>E. necatrix</i>	Jéjunum, iléon et cæcum	hautement pathogène	L'intestin peut être ballonné, Muqueuse épaisse et la lumière remplie de liquide, sang et débris de tissu. Lésions chez les oiseaux morts sont observable comme des plaques noir et blanc (aspect sel et poivre).
Coccidiose caecale	<i>E. tenella</i>	Cæcum	hautement pathogène	Épaississement de la paroi cæcale et le contenu sanguinolent à l'extrémité proximale Distension du cæcum, destruction des villosités causant d'importantes hémorragies et la mort.

- ***Eimeria tenella* (coccidiose cæcale)**

Anciennement appelé *Coccidium tenellum* (Chapman, 2014), *E. tenella* est l'espèce la plus virulente chez les poulets, parasite protozoaire intracellulaire obligatoire qui infecte les cellules épithéliales du tractus intestinal (cæca) de la volaille domestique (*Gallus gallus*) et elle peut produire une entérite hémorragique sévère, ce qui entraîne une mortalité élevée chez les jeunes poulets (Ling *et al.*, 2007; Mehlhorn, 2016).

La majorité des recherches effectuées sur les analyses génétiques dans le genre *Eimeria* ont porté sur *E. tenella* qui est la première espèce d'*Eimeria* de poulet dont le génome a été séquencé et annoté (Naciri et Brossier, 2009 ; Gras *et al.*, 2014; Reid *et al.* 2014). La taille de son génome est approximativement de 55–60 Mb (Shirley *et al.*, 2004), avec une teneur en GC d'environ 53%. Dans environ 14 chromosomes qui varient en taille de 1Mb à > 7Mb. Deux groupes majeurs d'ADN ribosomique, qui représentent environ 2.5% de la taille du génome (Shirley, 1994; Chapman et Shirley, 2003; Ling *et al.*, 2007 ; Reid *et al.*, 2014) et présence de séquences abondantes de répétitions des nucléotides GCA dans les régions codantes et non codantes (Chapman et Shirley, 2003; Shirley et Lillehoj, 2012).

Les lésions observées sont dues aux schizontes de seconde génération de grande taille (jusqu'à 60 µm) présents dans les cellules migrant vers la lamina propria. La rupture des capillaires sanguins précède la libération des mérozoïtes. Ces hémorragies apparaissent dès la 72^{ème} heure après inoculation et des lésions hémorragiques ou d'aspect blanchâtre (1-5 mm) sont visibles au niveau des cæca dès le 5^{ème} jour. Si les oiseaux survivent, les lésions disparaissent progressivement mais le contenu cæcal prend souvent un aspect typique caséeux (Guyonnet, 2015).

IV.6. Diagnostic et distinction des espèces d'*Eimeria*

Sept espèces du genre *Eimeria* ont été identifiées comme étant des pathogènes chez les poulets : *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox* et *E. tenella* (Del Cacho *et al.*, 2010; Hamidinejat *et al.*, 2010). Ces espèces ont un tropisme différent dans le tube digestif des poulets (Figure 16) (Quiroz-Castañeda et Dantán-González, 2015).

Les différentes espèces d'*Eimeria* ont été historiquement diagnostiquées sur la base de techniques classiques, y compris les signes cliniques chez l'hôte et les caractéristiques biologiques des parasites (la période prépatente, le site de développement dans l'intestin et l'aspect morphologique des oocystes sporulés dans les fèces et les stades endogènes dans la

muqueuse intestinale) (Tableau 4). La présence de parasites peut être confirmée par examen post mortem de l'hôte ou par examen fécal (Schnitzler *et al.*, 1998).

Tableau 4: Récapitulatif permettant la caractérisation des différentes espèces d'*Eimeria* aviaires; Taille, localisation et périodes pré-patentes (McDougald et Fitz-Coy, 2008; Reid *et al.*, 2014)

Espèce	Localisation	Période pépatente minimale (h)	Taille moyenne des oocystes (µm)
<i>E. tenella</i>	Cæca	115	22.0 x 19.0
<i>E. necatrix</i>	Jéjunum, cæca	138	20.4 x 17.2
<i>E. brunetti</i>	Iléon, cæca, rectum	120	24.6 x 18.8
<i>E. mitis</i>	Iléon	93	15.6 x 14.2
<i>E. maxima</i>	Jéjunum, iléon	121	30.5 x 20.7
<i>E. praecox</i>	Duodenum,	83	21.3 x 17.1
<i>E. acervulina</i>	Duodenum, jéjunum	97	18.3 x 14.6
<i>E. hagani</i>	Duodenum	99	19.1 x 17.6
<i>E. mivati</i>	Duodenum, jéjunum	93	15.6 x 13.4

La coccidiose est une maladie qui se manifeste par les signes digestifs dont le plus important est la diarrhée qui peut devenir sanguinolente avec certaines espèces de coccidies. seuls *E. tenella* et *E. necatrix* provoquent une perte de sang importante.

D'autres espèces provoquent une perturbation des surfaces absorbantes de l'intestin et l'excrétion de grandes quantités de mucus et de liquide. La déshydratation est un résultat commun de la coccidiose (MC Dougald, 1998). La multiplication des sporozoïtes dans le tractus intestinal entraîne la lésion du tissu épithélial. En conséquence, la conversion alimentaire est réduite et le gain de poids corporel est altéré. Dans la coccidiose grave, la malabsorption, l'utilisation inefficace des aliments et la déshydratation finissent par aboutir à la mort (Del Cacho *et al.*, 2010; Dakpogan *et al.*, 2012).

Les lésions observées peuvent faire l'objet d'une classification selon la technique de Johnson et Reid (1970) (Figure 17) qui varie sur une échelle de 0 à +4 suivant le degré de sévérité de l'inflammation, l'épaississement de la muqueuse intestinale et l'état de digestion du contenu intestinal. Cette technique demeure à l'heure actuelle la méthode de référence pour l'évaluation de la sévérité des lésions provoquées par les coccidies.

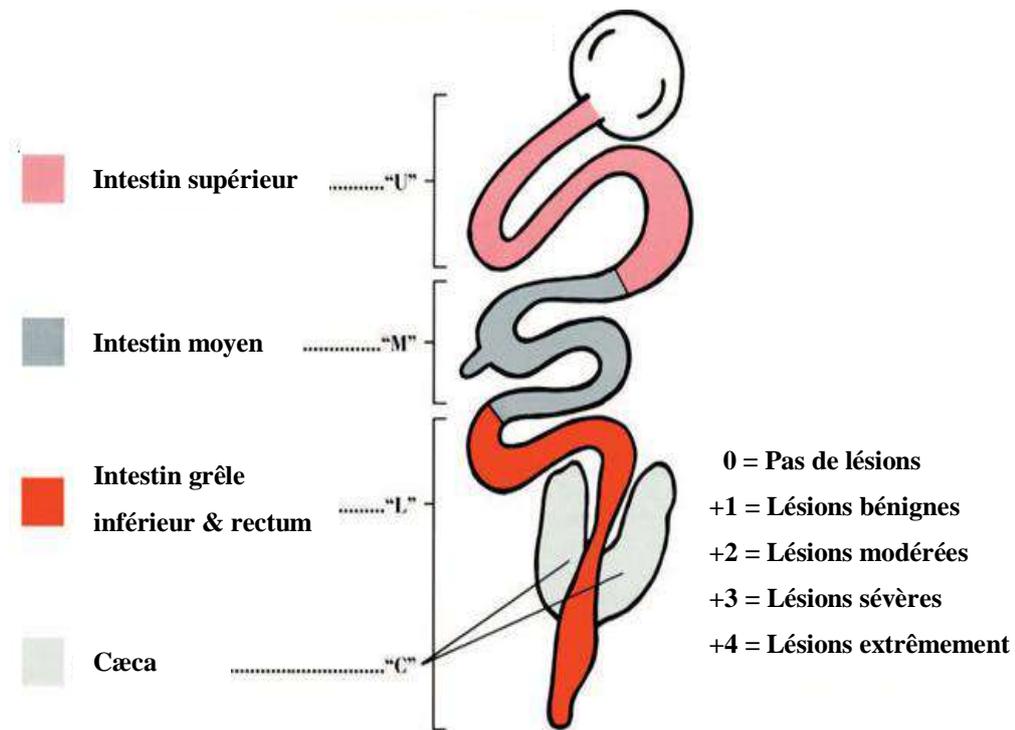


Figure 17: Zones d'infestation et scores lésionnels (Conway et McKenzie, 2007)

Les méthodes traditionnelles d'identification des différentes espèces sont lentes et coûteuses. Bien qu'elles soient toujours indispensables, elles sont maintenant complétées par des méthodes moléculaires qui impliquent des tests de diagnostic par PCR basés sur l'amplification de l'ADN (Chapman, 2014) et la caractérisation de la variation électrophorétique des enzymes (Schnitzler *et al.*, 1998). Une cible d'ADN génomique intéressante pour les analyses par PCR est l'espaceur interne transcrit 1 (ITS1) à partir des gènes de l'ADN ribosomique (ADNr). Cet espaceur sépare l'extrémité 3' du gène d'ARN ribosomal de type 16S de l'extrémité 5' du gène ARNr de 5,8S dans des unités de transcription d'ADNr individuelles. En raison de son hétérogénéité tant dans la longueur de séquence que dans la composition de base, l'ITS1 se prête parfaitement à la conception d'amorces spécifiques et comme partie de l'unité de transcription d'ADNr, il est également membre d'une famille de gènes à copies multiples et fournit ainsi un grand nombre de cibles potentielles de PCR (Schnitzler *et al.*, 1998).

IV.7. Scores lésionnels pour l'espèce *Eimeria tenella*

Selon Johnson et Reid (1970), les notes attribuées aux lésions dues à *Eimeria tenella* sont présente dans le tableau 5 suivant:

Tableau 5: Scores lésionnels dus à *E.tenella*
(Johnson et Reid, 1970; Conway et McKenzie, 2007)

Scores	Lésions	Figures
0	Pas de lésions macroscopiques	
+1	Très peu de pétéchies dispersées sur la paroi cæcale; aucun épaissement des parois cæcales; présence d'un contenu cæcale normal.	
+2	Les lésions plus nombreuses avec présence plus marquée du sang dans le contenu cæcale; La paroi cæcale est un peu épaissie; Contenu cæcale normal présent.	
+3	Grande quantité de sang ou présence de noyau cæcale; la paroi cæcale fortement épaissie; Peu, absence du contenus fécales dans le cæca.	
+4	La paroi cæcale est fortement distendue avec du sang ou de grands noyaux caséux; Débris fécaux absents ou inclus dans les noyaux. Les oiseaux morts ont marqué comme +4.	

IV.8. Prévention et contrôle de la coccidiose

Présence de coccidies ne signifie pas forcément coccidiose. L'apparition de la maladie dépend de nombreux facteurs, liés au parasite, à l'hôte et à l'environnement (Shirley, 1992; Naciri, 2001). Le contrôle de la coccidiose repose avant tout sur un traitement préventif de la maladie (Dakpogan *et al.*, 2012).

Etant donné que les espèces d'*Eimeria* réalisent un cycle de développement monoxène, la transmission mécanique est le principal moyen de dissémination des oocystes entre les poulaillers d'une même ferme ou entre différentes fermes (McDougald et Fitz-Coy, 2008).

L'un des premiers moyens de lutte contre la coccidiose est la gestion de l'environnement de l'élevage qui est d'importance primordiale pour la santé des animaux et la réussite des stratégies de contrôle des coccidioses pour éviter des conditions propices au développement de la maladie. Une litière sèche, renouvelée régulièrement, avec une bonne aération des locaux pour diminuer l'humidité ambiante, ralentira la sporulation des parasites qui nécessite des conditions d'humidité et de température optimales (Conway et

McKenzie, 2007; Dakpogan *et al.*, 2012), la densité des oiseaux et le respect des normes d'élevage en sens large, sont les principaux facteurs à surveiller (Conway et McKenzie, 2007).

La lutte contre la coccidiose fait également appel à des drogues anticoccidiennes et la prévention par leur utilisation dans la ration alimentaire ou chimio-prophylaxie occupant 95% des méthodes de prévention (Dakpogan *et al.*, 2012). En Europe, 11 molécules anticoccidiennes sont autorisés chez le poulet de chair. Ces molécules sont classées en deux catégories: les produits chimiques de synthèse qui altèrent le métabolisme du parasite et les ionophores dérivés de la fermentation microbienne, qui inhibent le transport des ions (sodium et potassium) à travers la membrane du parasite, perturbant la balance osmotique (Mc Dougald, 1998; Naciri et Brossier, 2009; Dakpogan *et al.*, 2012 ; Quiroz-Castañeda et Dantán-González, 2015).

L'utilisation de ces molécules se fait en suivant trois programmes raisonnés pour éviter la sélection de souches résistantes.

- **Programme continu (Utilisation continue d'un médicament unique)**

Consiste à l'utilisation continue d'un même anticoccidien du 1^{er} jour à l'abattage, ou avec un délai de retrait de 3 à 7 jours (McDougald et Fitz-Coy, 2008).

- **Alternances rapides (Shuttle ou Dual Programmes)**

Il est basé sur l'utilisation au sein d'une même bande de deux anticoccidiens différents. Ce programme consiste en une prévention par addition d'une catégorie d'anticoccidiens dans l'aliment de démarrage, et d'une autre dans l'aliment de croissance. Certains programmes peuvent contenir jusqu'à 3 médicaments, avec un médicament au démarrage, un autre dans l'aliment de croissance et un autre dans l'aliment de finition (McDougald et Fitz-Coy, 2008).

- **Changement d'anticoccidien : « rotation » ou « switching »**

C'est une bonne gestion des changements périodiques dans la consommation de drogues anticoccidiennes ; les traitements sont alternés après plusieurs bandes d'élevage. La rotation des médicaments peut améliorer la productivité en raison de l'accumulation d'isolats ou d'espèces de coccidie qui ont une sensibilité réduite après l'utilisation de produits depuis longtemps (McDougald et Fitz-Coy, 2008).

Outre les anticoccidiens, il existe également des vaccins. Les coccidies aviaires étant hautement immunogènes, il semble évident que les vaccins offrent une alternative à la chimioprévention (Naciri, 2001; Abbas *et al.*, 2012). Il existe différents types de vaccins (Naciri, 2001; Abbas *et al.*, 2012):

-Vaccins vivants virulents: Ces formulations vaccinales comportent un faible nombre d'oocystes sporulés de plusieurs, voire de toutes les espèces d'*Eimeria* et ceci, afin de pallier l'absence de protection croisée entre espèces. Toutefois, malgré un fort pouvoir protecteur, la potentialité à provoquer des coccidioses a souligné la nécessité de créer de nouvelles générations de vaccins efficaces et dénués de risque (Naciri, 2001; Chapman *et al.*, 2002; McDougald et Fitz-Coy, 2008; Naciri et Brossier, 2009).

-Vaccins vivants atténués (souches précoces): Résultat de passages successifs, chez l'animal des premiers oocystes récupérés lors d'une infection, ces souches précoces sont caractérisées par la perte des dernières générations de la phase asexuée et donc par un cycle infectieux plus court. Les souches précoces ont un déficit de production d'oocystes et une virulence atténuée mais leur pouvoir immunoprotecteur reste très efficace (Naciri, 2001; Chapman *et al.*, 2002; Naciri et Brossier, 2009).

IV.9. Développement de méthodes alternatives de lutte anticoccidienne

Des stratégies alternatives rentables sont recherchées pour un contrôle plus efficace et plus sûr de la coccidiose aviaire. L'utilisation des plantes a joué un rôle majeur dans le contrôle de la coccidiose aviaire, car ce ne sont pas seulement des produits naturels mais peuvent comprendre de nouvelles molécules thérapeutiques auxquelles la résistance n'est pas encore développée (Abbas *et al.*, 2012).

À l'heure actuelle, il existe au moins quatre produits végétaux disponibles sur le marché et ils peuvent être utilisés comme additifs anticoccidiens pour l'alimentation des poulets et/ou d'autres animaux, y compris Cocci-Guard (DPI Global, USA), un mélange de *Quercus infectoria*, *Rhus chinensis* et *Terminalia chebula* (Kemin Industries, USA), Apacox (GreenVet, Italie) et la formule BP fait de *Bidens pilosa* et d'autres plantes (Ta-Fong Inc., Taiwan) (Muthamilselvan *et al.*, 2016). Dans certains pays, des complexes à base de plantes, tels que : Apacox, Natustat et Zycox sont utilisés pour contrôler la coccidiose aviaire (Abbas *et al.*, 2012).

Un certain nombre de plantes végétales et leurs composés doués de propriétés anticoccidiennes (Figure 18) (Muthamilselvan *et al.*, 2016) ont été rapportés dans la littérature (Abbas *et al.*, 2012; Pop *et al.*, 2015). Certaines d'entre elles sont résumées dans le tableau 6.

Tableau 6: Synthèse des travaux sur les effets anticoccidiens de quelques extraits de plantes contre la coccidiose du poulet

Nom de la plante	Partie utilisée	posologie	Espèce <i>Eimeria</i>	Paramètres affectés	Références
<i>Sophora flavescens</i>	Racines	6-30g/1000ml de poudre dans l'eau de boisson pd 5 jrs	<i>Et</i>	GP↑, SL↓, EO↓, M↓ et DS↓	Youn et Noh, 2001
<i>Carica papaya L.</i>	Graines	0.0, 10.0, 20.0 et 40 g/l de poudre dans l'eau de boisson pd 3 jrs consécutifs	<i>Et</i>	GP↑, IC↑, EO↓ et Mor↓	Mpoame et al., 2003
<i>Thonningia sanguinea</i>	Inflorescences	10 g/L de poudre dans l'eau de boisson pd 1 sem	75% <i>Et</i> et 25% <i>En</i>	GP↑, IC↓, SL↓, EO↓ et Mor↓	Kouakou et al., 2010
<i>Galla rhois</i>	Plante entière	0.5% et 1.0% de poudre incorporée dans l'aliment pd 10jrs	<i>Et</i>	GP↑, SL↓, EO↓ et M↓	Lee et al., 2012
<i>Curcuma longa</i>	Rhizome (tige souterraine)	35 mg/kg de poudre incorporée dans l'aliment pd10jrs	<i>Et</i>	GP↑ et EO↓	Kim et al., 2013
<i>Artemisia annua</i>	Feuilles	1.5% de poudre incorporée dans l'aliment pd 35jrs	<i>Et</i>	GP↑, SL↓, M↓, SC↓ et EO↓	Drăgan et al., 2014
<i>Allium sativum</i>	Bulbes d'ail	5 et 10 g/L de poudre dans l'eau de boisson pd 11 jrs	30% <i>Et</i> , 20% <i>Ema</i> , 20% <i>Ea</i> , 15% <i>En</i> et 15% <i>Emit</i>	SL↓, EO↓ et SC↓	El-khtam et al., 2014
<i>Morinda lucida</i>	Feuilles	2.0, 3.0, 4.0, 5.0 et 6.0 g/kg de poudre par poids corporel pd 5 jrs	Mélange d'espèce <i>Eimeria</i>	GP↑, SL↓, EO↓ et H↑	Ola-Fadunsin et Ademola, 2014
<i>Plantago asiatica</i>	Plante entière	0.1% de poudre incorporée dans l'aliment pd 1 sem	<i>Et</i>	GP↑ et EO↓	Hong et al., 2016

Et= *E. tenella*; Ea= *E. acervulina*; Ema= *E. maxima*; En= *E. necatrix*; Emit= *E. mitis*; pd= pendant; sem= semaine; jr= jour; ↑= amélioration / augmentation; ↓ = diminution; SC= Signes Cliniques; EO= Excrétion d'Oocystes; SL= Score Lésionnel; GP= Gain de Poids; IC= Indice de Consommation; M= Mortalité; Mor= Morbidité; DS= Diarrhée Sanguinolente; et H= Hémoglobine.

Artemisinine et huiles essentielles (β -thujone, 1,8-cineol, p-cymène, cineol, α -pinène, acetate bornyle, eugénol et acetate d'eugényl, terpinène-4-ol, terpinène- γ , etc.)

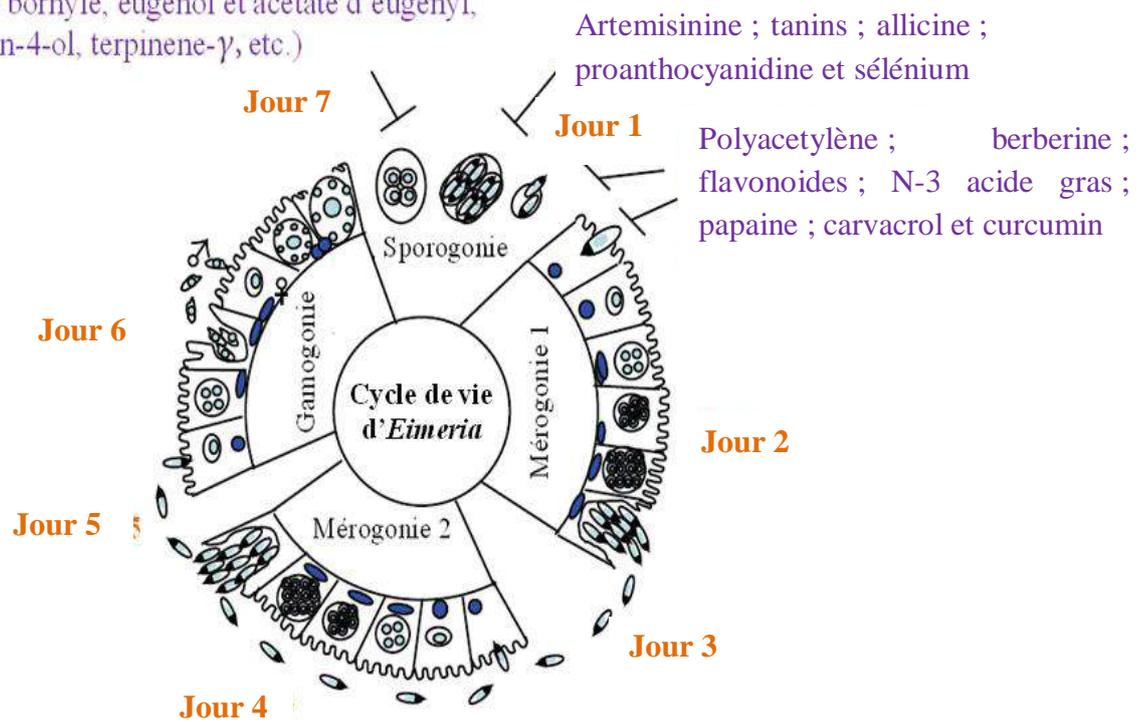


Figure 18: Composés de plantes ciblant différents stades de développement des espèces d'*Eimeria* dans leur cycle de vie. Les espèces d'*Eimeria* prennent 4-7 jours pour terminer leurs cycles de vie. Ils ont 3 stades de développement différents chez la volaille: sporogonie, mérogonie et gamogonie. Différents composés phytochimiques inhibent la croissance des espèces *Eimeria* aux stades de sporogonie et de mérogonie (Muthamilselvan *et al.*, 2016).

Matériel et Méthodes

I. Matériel végétal

I.1. Récolte et identification du matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des feuilles de *Pistacia lentiscus*, des bulbes d'*Allium sativum* et des graines de *Trigonella foenum-græcum* (Figure 19). Ces plantes ont été identifiées au niveau de notre laboratoire.

- ✚ Les feuilles de *P. lentiscus* ont été récoltées en Juillet 2014 dans la forêt de Beni ourtilane, située au nord-ouest de la wilaya de Sétif.
- ✚ Les graines de *T. foenum-græcum* et les bulbes d'*A. sativum* achetées chez un herboriste (ain arnat, sétif).



Feuilles de *P. lentiscus*



Bulbes d'*A. sativum*



Graines de *T. foenum-græcum*

Figure 19: Photographie du matériel végétal

I.2. Traitement des échantillons

I.2.1. Séchage

Aussitôt après la collecte du matériel végétal, les feuilles préalablement débarrassées de toutes impuretés ont été séchées à température ambiante dans un endroit aéré et ombragé pendant plusieurs jours.

I.2.2. Broyage et Tamisage

La réalisation de cette étape doit être minutieuse et non dénaturante pour permettre l'obtention d'une poudre végétale fine et homogène. La matière sèche obtenue a été broyée à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre.

Les poudres obtenues ont été tamisées et conservées à l'abri de la lumière.

I.3. Extraction

Afin d'extraire les principes actifs des plantes testées, une extraction de type solide/liquide (macération) a été utilisée, avec des solvants de différentes polarités.

I.3.1. Préparation de l'extrait méthanolique

La préparation de l'extrait hydro-alcoolique a été effectuée selon la méthode de Neda *et al.* (2010), par macération de la poudre végétale dans du méthanol à 80 % (1:10 en poids/volume) pendant 24 heures, 48 heures et 72 heures à la température ambiante. A la fin, les surnageants sont mélangés, filtrés et évaporés à sec et conservée dans des flacons fumés à 4°C, pour une utilisation ultérieure.

I.3.2. Préparation de l'extrait aqueux

Le procédé de préparation de l'extrait aqueux a été décrit par Predrag *et al.* (2005). La poudre végétale (25 g) a été agitée dans 250 mL d'eau distillée pendant 15 minutes à 90°C suivie d'une filtration rapide sur quatre couches de gaze puis par une filtration plus délicate à travers le papier filtre Whatman n°1. Le filtrat résultant est évaporé à sec puis conservé à 4°C jusqu'à utilisation.

I.3.3. Préparation de l'extrait flavonoïdique

L'extraction des flavonoïdes a été réalisée par la méthode de macération jusqu'à épuisement (trois fois). Une quantité de 100 g de poudre végétale est mise dans 1000 mL d'éthanol (70 %) pendant 90 minutes à 100 °C. Après filtration, l'éthanol est évaporé sous vide. Le résidu (10 mL) obtenu est traité par le même volume d'hexane et du chloroforme. Puis acidifié avec du H₂SO₄ à 20 % (pH = 5) et enfin, extrait avec de l'acétate d'éthyle. Cette dernière phase contenant les flavonoïdes est récupérée, elle est ensuite soumise à une évaporation pour l'obtention d'un résidu sec (Chirikova *et al.*, 2010).

I.3.4. Préparation de l'extrait tanique

Le procédé d'extraction adopté est celui de Mohamad Ibrahim *et al.* (2005). 30 g de poudre végétale a été laissée macérer jusqu'à épuisement dans 1000 mL d'acétone pendant 24h, 48h et 72h. Le surnageant a ensuite été séparé du résidu par filtration en utilisant du papier filtre Whatman n°1, la fraction a été concentrée et séchée à un poids constant dans une étuve à 40 °C et les résidus obtenus ont été stockés à 4°C.

Pour chaque plante, le taux d'extraction a été déterminé suivant la formule :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P_1 - P_0)/E] 100$$

P₀: Poids vide de la boîte de Pétri

P₁: Poids après évaporation

E: Poids de la poudre initiale du départ

I.4. Dosage des composés phénoliques

I.4.1. Dosage des phénols totaux

La méthode de dosage des composés phénoliques totaux utilisée est celle de Folin Ciocalteu adaptée par Kähkönen *et al.* (1999) de la méthode de Folin, adoptée par Singleton *et al.* (1965).

Le réactif de Folin-Ciocalteu, mélange de l'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et de l'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_2O_{40}$), est réduit en présence de polyphénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}). L'intensité de la couleur bleue obtenue est proportionnelle au taux de composés phénoliques présents dans le milieu réactionnel (Ribéreau-Gayon, 1968).

Cette méthode consiste à mélanger 200 μ L d'extrait avec 1 mL du réactif de Folin-Ciocalteu (1/10) et 0.8 mL de la solution de carbonate de sodium (7.5%). Le mélange est laissé à température ambiante pendant 30 min et l'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 765 nm. Les teneurs des extraits en phénols totaux ont été déterminées en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la catéchine (Annexe III).

Les résultats sont exprimés en mg équivalent catéchine par gramme d'extrait (mg Eq Cat / g d'extrait). Tous les essais ont été effectués trois fois.

I.4.2. Dosage des flavonoïdes

L'analyse quantitative des flavonoïdes a été réalisée selon le protocole de Mimica-Dukić (1992) *in* Maksimović *et al.* (2004). La réaction est basée sur la capacité de ces composés à former des complexes de couleur jaunâtre avec le chlorure d'aluminium ($AlCl_3$). La préparation de ce réactif a été réalisée par la dissolution de 133 mg d' $AlCl_3$ et 400 mg d'acétate de sodium dans 100 mL d'eau distillée.

Pour 2 mL de la solution d'extrait, 1 mL du réactif d' $AlCl_3$ a été ajouté. Après 10 min d'incubation, la mesure de l'absorbance a été effectuée à 430 nm contre un blanc contenant 2 mL de la solution d'extrait et 1 mL d'eau distillée. Une courbe d'étalonnage a été réalisée avec la rutine (Annexe III) et les teneurs en flavonoïdes ont été exprimées en mg équivalent rutine par gramme d'extrait (mg Eq Rut / g d'extrait).

I.4.3. Dosage des tanins

La teneur en tanins des extraits des trois plantes a été déterminée par la méthode décrite par Hagerman et Butler (1978). Cette méthode mesure la quantité de tanins condensés ou hydrolysables qui précipitent la protéine standard BSA. Le précipité est dissout à pH élevé en présence du SDS et le complexe fer-phénols coloré obtenu est mesuré par spectrophotométrie à 510 nm (Hagerman et Butler, 1978).

✚ Préparation des solutions (Annexe IV)

Tampon A : 0.20 M d'acide acétique et 0.17 M de NaCl, à pH 4,9.

Solution de BSA : la BSA est préparée dans le tampon A à une concentration de 1 mg/mL.

SDS / TEA : 5% de triéthanolamine et 1% de dodécylsulfate de sodium

Réactif de chlorure ferrique (FeCl₃) : 0.01 M de FeCl₃ dans 0.01 M de HCl.

Le dosage est réalisé en mélangeant 2 mL de la solution BSA avec 1 mL de la solution d'extrait. Ce mélange est incubé à 4°C/24h pour l'extrait de la plante et à température ambiante pendant 15 min pour l'acide tannique destiné à la courbe d'étalonnage. Après centrifugation à 3000 g/15min, le précipité a été récupéré et dissout dans 4ml de la solution SDS/TEA et additionné de 1 mL du réactif de FeCl₃, le mélange a été agité immédiatement au vortex. Après 15 min d'incubation, la lecture a été faite à 510 nm contre un blanc de 1 mL du chlorure ferrique avec 4 mL du SDS/TEA. La teneur en tanins a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage à l'acide tannique (Annexe III). Tous les essais ont été répétés trois fois et la concentration en tanins est exprimée en mg équivalent d'acide tannique par gramme d'extrait (mg Eq AT/g d'extrait).

II. Évaluation de l'activité des extraits *in vitro*

Les milieux de culture et les produits chimiques utilisés dans la présente étude proviennent de chez Sigma, Fluka, Conda et Prolabo.

II.1. Évaluation de l'activité antimicrobienne

L'étude de cette activité consiste à tester les effets antimicrobiens des extraits et les caractériser par la détermination de leurs concentrations minimales inhibitrices (CMI) et leurs concentrations minimales bactéricides (CMB) et fongicide (CMF). Pour ce faire, nous avons utilisé les méthodes de diffusion sur gélose et de dilution en milieu solide.

II.1.1. Souches microbiennes

Les tests antimicrobiens ont été effectués sur une gamme de germes couramment responsables de diverses pathologies. Les microorganismes étudiés et leurs références sont rapportés dans le tableau 7:

Tableau 7: Références et origine des souches microbiennes utilisées

Souches bactériennes			
Gram ⁺		Gram ⁻	
Souches	Références	Souches	Références
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méthicilline (SARM)	ATCC 43300	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC 27853
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 700603
		<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC 13311
<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876	<i>salmonella enterica</i>	ATCC 43972
<i>Listeria innocua</i>	CLIP 74915	<i>Salmonella typhi</i>	ATCC 14028
Souches fongiques		<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 35659
<i>Aspergillus niger</i>	2CA936	<i>Vibrio cholerae</i>	ATCC 14035
<i>Aspergillus flavus</i>	NRRL 3357	<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC 49452
<i>Candida albicans</i>	ATCC 1024	<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090

II.1.2. Préparation de l'inoculum microbien

La densité de l'inoculum microbien est un élément primordial et elle doit être ajustée à l'aide d'un photomètre ou par comparaison avec un étalon d'opacité ou étalon de turbidité. L'étalon recommandé est celui de Mc Farland (Bashige *et al.*, 2018) car l'activité de tout agent antimicrobien est dépendante de la densité de la suspension cellulaire de la souche cible utilisée.

L'inoculum est préparé à partir d'une culture pure et jeune sur milieu d'isolement. Quelques colonies (spores) bien isolées et parfaitement identiques ont été prélevées puis mises en suspension dans 9 mL d'eau physiologique stérile à 0.9 %.

Les concentrations microbiennes des inocula sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la densité optique (DO à 600 nm) sur un spectrophotomètre, une DO de 0.08-0.1 correspond à 10⁸ UFC/mL pour les bactéries (Haddouchi *et al.*, 2009). La même technique est utilisée pour les souches fongiques. Une densité de 0.15-0.17 à 530 nm correspond à 10⁶ spores/mL (Yazdani *et al.*, 2012).

L'activité antimicrobienne des extraits a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur disque, selon Bauer *et al.* (1966) in Alzoreky et Nakahara (2003).

II.1.3. Détermination de l'effet antimicrobien (aromatogramme)

L'aromatogramme est basé sur la technique utilisée en bactériologie médicale appelé antibiogramme (De Billerbeck, 2007 ; Kaloustian *et al.*, 2008). Le principe de cette méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu solide, dans une boîte de Pétri, à partir d'un point précis, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme.

L'effet de la substance antimicrobienne sur la cible a été évalué par la mesure d'une zone d'inhibition (mm) à l'aide d'un pied à coulisse.

▪ Description de la méthode

La gélose Mueller-Hinton (MH) en surfusion, coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm. Après solidification, une suspension microbienne à la concentration standardisée estensemencée à l'aide d'un écouvillon stérile, Des disques de papier Wattman n°03 de 6 mm de diamètre stérilisés et imprégnés de 10 et 20 μ L d'extraits (200 mg/mL de DMSO), afin d'obtenir respectivement des concentrations de 2 et 4 mg/disque, ont été déposés sur la gélose.

Dans les mêmes conditions, des disques imprégnés de DMSO sont utilisés comme témoins négatifs et six antibiotiques (Amoxicillin, Ciprofloxacine, Teicoplanin, Doxycycline, Pefloxacine, Optochin) et trois antifongiques (Nystatine, clotrimazole et amphotéricine) sont utilisés comme témoins positifs. La lecture a été faite après la diffusion des extraits à 4°C/3h (Ali *et al.*, 2001) et après 24 heures d'incubation à 37°C pour les souches bactériennes et la levure, et à 30±2°C/72 h pour les souches filamenteuses (Nenaah, 2013).

Les solutions d'extrait ainsi que les solutions standards (acide gallique, acide tanique et quercétine) servant pour les tests ont été conservées à 4°C durant la période des tests (Mathabe *et al.*, 2006; Trabelsi *et al.*, 2010). L'activité antimicrobienne des extraits est observée par la présence d'une zone d'inhibition autour du disque imprégné d'extrait et les résultats sont exprimés en millimètre (mm).

II.1.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est la plus faible concentration de la substance antimicrobienne inhibant toute croissance bactérienne ou fongique visible après une incubation de 24 h à 37°C et de 48 h à 28°C, respectivement (Martini et Eloff, 1998 ; Hamouda Ali et Doumandji, 2017).

La méthode consiste à diluer directement la substance à tester dans le milieu de culture gélosé et à inoculer ce milieu avec les microorganismes. En diluant différentes

concentrations de la substance à tester, on peut définir la valeur la plus faible à laquelle la croissance des microorganismes n'est pas observable, et donc une inhibition de la croissance. Cette méthode permet donc d'évaluer qualitativement et surtout quantitativement l'activité antimicrobienne d'une substance.

▪ **Préparation des géloses à différentes concentrations des extraits**

Une solution d'extrait a été préparée dans du DMSO à une concentration de 10 mg/mL qui a servi pour la préparation des géloses Mueller-Hinton à différentes concentrations d'extrait.

La technique consiste à réaliser des dilutions dans un milieu de culture gélosé préalablement fondu et maintenu en surfusion à 45°C - 50°C (Okusa *et al.*, 2007). L'ensemencement a été réalisé par un spot, à l'aide d'une micropipette, de 10 µL à partir d'un inoculum de 10⁶ cellules/mL de chacune des souches à la surface de la gélose, soit 10⁴ cellules/spot (Alzoreky et Nakahara, 2003). La lecture des résultats a été faite après 24 h d'incubation à 37°C pour les souches bactériennes et 48 h d'incubation à 28°C pour les souches fongiques. L'observation ou l'inhibition de la croissance du microorganisme testé par rapport à la croissance sur une boîte témoin sans extrait a été réalisée et les résultats sont exprimés en mg/mL.

II.1.5. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) et fongicide (CMF)

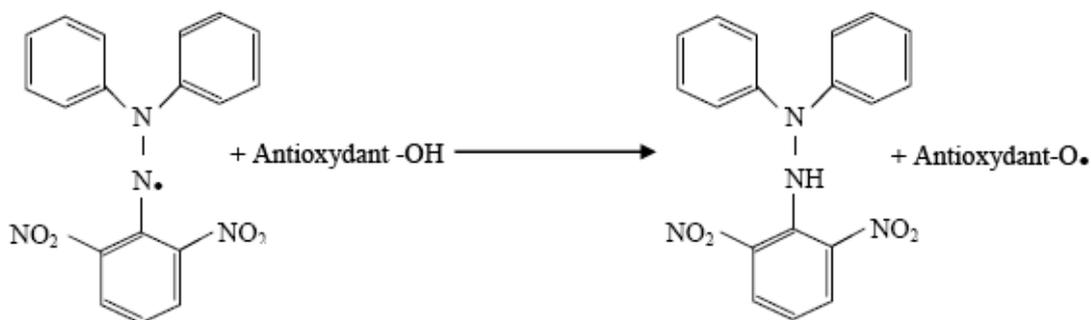
La CMB/CMF est la concentration de la substance antimicrobienne permettant d'obtenir, après 18 à 24h d'incubation à 37°C, 0.01% de germes (Vaquero *et al.*, 2010). On ensemence dans des tubes contenant du bouillon nutritif la série de boîtes commençant à partir de celle qui a déterminé la CMI. La concentration minimale bactéricide ou fongicide correspond à la plus petite concentration de la substance antimicrobienne pour laquelle aucune sub-croissance n'est observée après incubation.

II.2. Evaluation de l'activité antioxydante

II.2.1. Activité scavenger du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)

Le DPPH est un radical libre stable et accepteur d'électron ou d'hydrogène (Yang *et al.*, 2008). La méthode est basée sur la réduction de la solution alcoolique de DPPH en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène et la formation de la forme non radicalaire

DPPH-H (Figure 20) (Gulçin *et al.*, 2006 ; AndziBarhé et FeuyaTchouya, 2016). La capacité de réduction des radicaux DPPH est déterminée par la diminution de son absorbance à 517 nm visuellement perceptible comme une décoloration du violet au jaune (Yang *et al.*, 2008).



1: Diphenylpicrylhydrazyl (radical libre)

2: Diphenylpicrylhydrazine (non radical)

Figure 20: Structure chimique du DPPH[•] et DPPH₂ (Talbi *et al.*, 2015)

La capacité scavenger du radical DPPH, des extraits phénoliques, est mesurée selon le protocole rapporté par Sreenivasan *et al.* (2007). Un volume de 50 µL d'extrait (à différentes concentrations) est ajouté à un volume de 5 mL d'une solution DPPH à 0.04 %. Ce mélange est agité et laissé au repos. La décoloration, par rapport à un contrôle, est mesurée au spectrophotomètre à 517 nm après incubation à température ambiante et à l'obscurité, pendant 30 minutes. Le butylhydroxytoluène (BHT) est utilisé comme antioxydant standard.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé en utilisant l'équation suivante:

$$\% \text{ d'inhibition du DPPH} = [(Ac - Ae) / Ac]. 100$$

Où

Ac: Absorbance du contrôle ;

Ae: Absorbance de l'échantillon.

La concentration inhibitrice à 50% (IC₅₀) est définie comme la quantité d'antioxydants nécessaires pour diminuer la concentration du radical DPPH initial de 50% (Ismail et Hong, 2002). Les valeurs de l'IC₅₀ sont déterminées à partir du tracé graphique de l'activité par rapport à une gamme de concentrations d'extraits de plante.

II.2.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferrique Fe^{3+} du complexe ferricyanure en fer ferreux Fe^{2+} . La forme réduite donne une couleur verte proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Dar *et al.*, 2017).

Le pouvoir réducteur des différents extraits est estimé par une méthode décrite par Kaur *et al.* (2006). Un millilitre (1 mL) des différents extraits à différentes concentrations est mélangé avec 2.5 mL d'une solution tampon phosphate (0.2 M et pH 6.6) et 2.5 mL d'une solution de ferricyanure de potassium [$\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$] à 1%. Le mélange est incubé au bain-marie à 50°C pendant 20 min. 2.5 mL de cette solution sont mélangés avec 2.5 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 10 %, puis centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min. Dans un tube à essai, une fraction de 2.5 mL à partir du surnageant est mélangée avec 2.5 mL d'eau distillée et 0.5 mL du chlorure ferrique ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) à 0.1 %. L'absorbance du mélange ainsi obtenu est mesurée à 700 nm après 10 min d'incubation à température ambiante. Le pouvoir réducteur des extraits est exprimé en équivalent mg de BHT.

III. Evaluation de l'activité des extraits *in vivo*

III.1. Evaluation de la toxicité aigüe

Cette étude consiste à déterminer la toxicité aigüe de l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*, des bulbes d'*A. sativum* et des graines de *T. foenum-graecum* administré par voie orale selon les lignes directrices de l'Organisation de Coopération et de Développement Économique pour les essais de produits chimiques (OCDE, 2001).

Afin d'éviter tout éventuel risque de toxicité lors des tests biologiques, il était nécessaire de réaliser des essais de toxicité. Pour cela, elle a été déterminée en utilisant l'essai limite à 2000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de poids corporel (P.C.) de la méthode de «l'ajustement des doses» (OCDE, 2001). La dose de 2000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de P.C. correspondait à différents extraits méthanoliques à 500 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Avant l'administration de ces extraits, les poules ont été privées de nourriture et d'eau pendant trois heures, puis pesées. A l'aide d'une canule (Petit tuyau adapté à une seringue pour introduire un liquide dans un orifice de l'organisme), l'extrait a été administré en une seule dose à raison de 2 mL/100 g de P.C.

Les poulets de chair ont été répartis au hasard dans des cages (au 21^{ème} jour d'âge) en 4 lots de 06 sujets par lot de poids homogène (Figure 21). Le lot 1 correspondant au lot témoin, a reçu par gavage de l'eau distillée, tandis que les trois autres lots ont reçu respectivement, par voie orale les extraits méthanoliques des feuilles de *P. lentiscus*, des bulbes d'*A. sativum* et des graines de *T. foenum-graecum*.

Durant les deux semaines d'étude, les signes cliniques de la toxicité ont été observés journalièrement chez tous les poulets, avant, immédiatement après et trois heures après l'administration. La consommation en aliments et la pesée a été déterminée quotidiennement.



Figure 21: Poulets mises en place après répartition en lots

III.1.1. Poulets et alimentation

L'étude a porté sur 24 poussins de chair d'un jour (ISA 15), vaccinés au couvoir contre la maladie de Newcastle et la bronchite infectieuse.

Les poussins ont été élevés, au sol sur litière, pendant 5 semaines où ils ont été nourris *ad libitum* avec un aliment démarrage au cours des 10-12 premiers jours, puis avec un aliment de croissance jusqu'à la fin de l'essai. La formule alimentaire utilisée est présentée dans le tableau 8.

Tableau 8: Composition de l'aliment de démarrage et de croissance utilisée

Ingrédients	Quantité (g/kg)	
	Démarrage	Croissance
Mais	607	642
Tourteau de soja	355	314
Huile de tournesol	10	15
Phosphate bicalcique	24	19
Carbonate de calcium	4	7
C.M.V.	10	10

III.1.2. Enregistrement des performances

Les poussins traités sont gardés en observation de façon continue le jour du gavage pour noter toute perturbation immédiate. L'observation des variations de poids, de taux de mortalité, de comportement de l'animal et des signes de toxicité est réalisée également durant les 14 jours qui suivent l'exposition pour déceler d'éventuels effets retardés des extraits.

Gain du poids: Les pesées ont été réalisées quotidiennement, sur les poulets individuellement sans mise à jeun et les gains du poids moyens ont été calculés.

Consommation alimentaire: Les mesures de consommation ont été calculées par lot et par semaine.

Indice de consommation (IC): Il a été calculé pour chaque lot selon cette formule:
 $IC = \text{Quantité d'aliments consommée durant une période} / \text{Gain de poids moyen durant cette période}.$

Taux de mortalité: Les mortalités ont été relevées tous les jours et dans chaque lot, durant toute la période de l'élevage.

III.1.3. Prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins ont été effectués à partir de la veine jugulaire des poulets. Les échantillons du sang sont recueillis dans un tube hépariné et dans un autre tube contenant l'EDTA, en vue de l'analyse des paramètres hématologiques et biochimiques, respectivement. Les tubes contenant les échantillons de sang ont été transportés dans une glacière au laboratoire d'analyses privé (Pharmacie BELHOUCHE A.).

a. Analyse hématologique

L'analyse de sang total a été effectuée à l'aide d'un automate d'hématologie. Les paramètres hématologiques pour la formule de numération sanguine (FNS) sont : Globules rouges (GR), volume globulaire moyen (VGM), indice de distribution des globules rouges (RDW), Hématocrite (HCT), Plaquette (PLT), Globules blancs (GB), Hémoglobine (HB), taux corpusculaire moyen en Hémoglobine (TCMH) et concentration corpusculaire moyenne en Hémoglobine (CCMH).

b. Analyse biochimique

Afin d'évaluer l'effet de l'administration de nos extraits sur le métabolisme hépatique et rénale du poulet de chair. Il nous a paru utile d'évaluer les paramètres biochimiques suivants: bilan hépatique : Transaminase Glutamate Oxalo-acétate (TGO=ASAT), Transaminase Glutamate Pyruvate (TGP =ALAT), Phosphatase alcaline (PAL), Bilirubine T et D (BILI T et BILI D) et bilan rénale: Glycémie, Urée et Créatinine.

III.1.4. Etude histopathologique

Les foies et reins prélevés sont fixés dans du formol 10%, puis les étapes suivantes: inclusion, coupe et coloration sont effectuées au niveau du laboratoire d'anatomopathologie, CHU de Frantz fanon Béjaia. Les organes conservés ont subi des coupes d'une épaisseur de 5 μm à l'aide d'un microtome après leur inclusion à la paraffine. Ils ont été ensuite colorés à l'hématoxyline-éosine, fixés entre lame et lamelle avant d'être observés à l'aide d'un microscope muni d'appareil photo.

III.2. Activité anticoccidienne

Pour les trois plantes, feuilles de *P. lentiscus*, bulbes d'*A. sativum* et les graines de *T. foenum-graecum*, leurs effets antiprotozoaires ont été testés pour combattre l'agent causal de la coccidiose cæcale chez le poulet de chair : *Eimeria tenella* et comparés avec deux traitements conventionnels, utilisés en pratique vétérinaire **le toltrazuril** et **le monensin sodium**.

-Toltrazuril (Cevazuril[®]2.5%) : Médicament coccidiocide actif sur les divers stades intracellulaires des coccidies. Il a été administré au lot concerné, dès l'apparition des signes cliniques de la coccidiose cæcale après l'infestation (diarrhée hémorragique caractéristique d'une coccidiose à *E. tenella*). Cet anticoccidien curatif a été distribué à raison de 7 mg/kg de poids vif (P.V.) soit 28 mL d'eau de boisson par 100 kg de P.V., pendant 2 jours consécutifs.

-Monensin sodium (Elancoban[®]) : Médicament coccidiocide actif sur les stades évolutifs extracellulaires des coccidies (sporozoïtes et mérozoïtes).

Il a été incorporé dans l'aliment distribué au lot concerné à partir de la réception au 8^{ème} jour jusqu'au 25^{ème} jour d'élevage (125 mg/kg d'aliment).

Au total, 12 lots expérimentaux de 12 sujets chacun ont été utilisés. Excepté le lot témoin, tous les autres lots ont fait l'objet d'une infection expérimentale au 14^{ème} jour d'âge :

- **Lots témoins**

Lot 1 (NINT): Témoin Non Infecté Non Traité.

Lot 2 (INT): Témoin Infecté Non Traité.

Lot 3 (ITM): Témoin Infecté Traité au Monensin.

Lot 12 (ITT): Témoin Infecté Traité au Toltrazuril.

- **Lots traités avec les trois plantes telles qu'elles sont utilisés en médecine traditionnelle comme traitement préventif**

Lot 4 (ITPP): Infecté Traité aux feuilles de *P. lentiscus* (3 g/kg de P.V.).

Lot 5 (ITAP): Infecté Traité aux bulbes d'*A. sativum* (7 g/kg de P.V.).

Lot 6 (ITFP): Infecté Traité aux graines de *T. foenum-graecum* (5 g/kg de P.V.).

Lot 7 (ITASP): Infecté Traité aux bulbes d'*A. sativum* en association avec les feuilles de *P. lentiscus* et les graines de *T. foenum-graecum*.

- **Lots traités avec les extraits méthanoliques des trois plantes comme traitement préventif (2 g/kg de P.V.)**

Lot 8 (ITPE): Infecté Traité à l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*.

Lot 9 (ITAE): Infecté Traité à l'extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum*.

Lot 10 (ITFE): Infecté Traité à l'extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum*.

Lot 11 (ITASE): Infecté Traité aux extraits de bulbes d'*A. sativum* en association avec l'extrait de feuilles de *P. lentiscus* et l'extrait des graines de *T. foenum-graecum*.

Les effets des traitements testés ont été évalués grâce à l'étude des principaux paramètres susceptibles d'être modifiés lors des infections coccidiennes. A savoir : **les paramètres cliniques, zootechniques, parasitologiques, hématologiques et biochimiques.**

III.2.1. Conduite d'élevage

Les 144 poussins de souche Hubbard-Isa¹⁵ non sexés, reçus à l'âge de 1 jour qui ont servi à l'étude ont été mis en place le 25 juillet 2017.

Les poussins ont été élevés sur batterie (Figure 22) dans des conditions d'hygiène contrôlées, afin d'éviter l'apparition d'éventuelles contamination pouvant survenir au cours de la réalisation de l'étude. Tous les besoins des poulets en matière d'ambiance (humidité, ventilation et température) et de nutrition ont été correctement satisfaits. L'aliment (type poulet de chair) ayant une composition adaptée à la période d'élevage (démarrage et croissance), ainsi que l'abreuvement ont été distribués *ad libitum*, depuis la réception au 1^{er} jour d'âge jusqu'à la fin de l'expérimentation au 35^{ème} jour d'âge. L'aliment a été procuré auprès d'un fabricant d'aliment du secteur privé.

Le protocole vaccinal est celui utilisé à titre prophylactique par la majorité des éleveurs de poulets de chair dans la région de Sétif;

La vaccination a été réalisée par voie orale dans l'eau de boisson selon le protocole suivant :

Les poussins ont été vaccinés au couvoir contre la bronchite infectieuse (souche H120) et à l'âge de 7^{ème} jours et 14^{ème} jours contre les maladies de NewCastle (la souche HB1) et Gumboro (CEVAC IBDL), respectivement.

Le rappel vaccinal contre la maladie de NewCastle avec la souche SOTA SEC est réalisé le 21^{ème} jour.

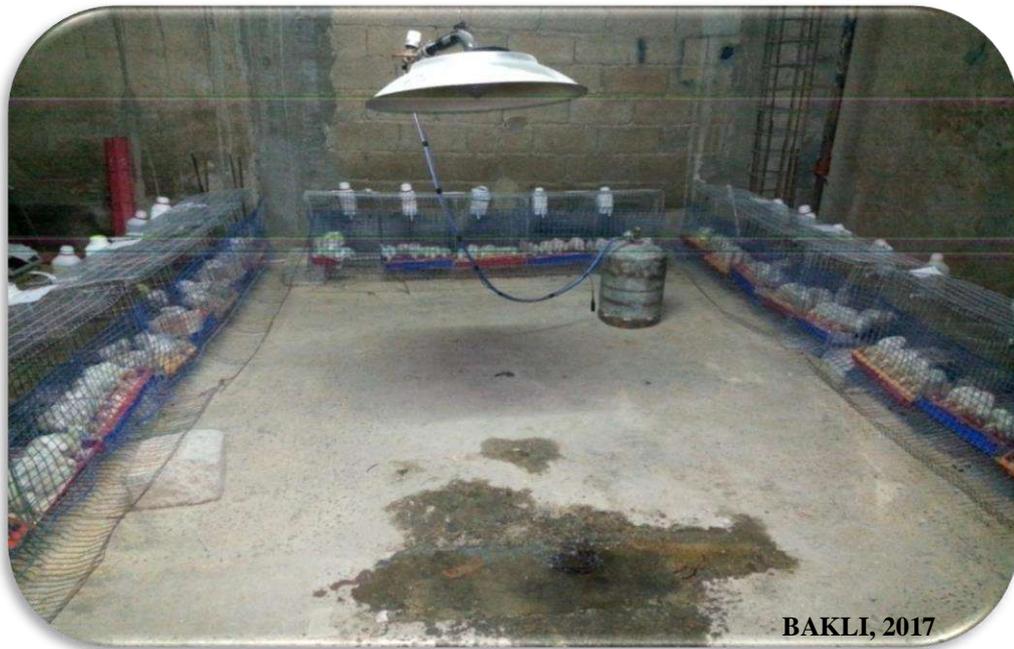


Figure 22: Poussins mis en place après répartition en lots

Les valeurs de poids moyens lors de la répartition définitive en lots sont présentées dans le tableau 9.

Tableau 9: Poids moyens lors de la répartition en lots expérimentaux à J1

Lots	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Poids (g/sujet)	35.5	33.6	33.7	33.3	31.5	32.6	31.6	33.6	32.5	32.2	32.3	32.8

Moyenne ± Ecart type : 32.94±1.09 g/sujet

La formule alimentaire utilisée dans la présente étude est représentée dans le tableau 10.

Tableau 10: Composition de l'aliment de démarrage et de croissance du poulet de chair

Ingrédients	Quantité (g/kg)	
	Démarrage	Croissance
Mais	596	635
Tourteau de soja	355	314
Huile de Tournesol	10	15
Phosphate bicalcique	25	19
Carbonate de calcium	4	7
C.M.V.	10	10

Au 13^{ème} jour d'âge avant la réalisation de l'infection expérimentale (inoculation), des examens coproscopiques de la matière fécale ont permis de vérifier l'indemnité des poulets à la coccidiose (Guo *et al.*, 2007 ; Zhang *et al.*, 2013).

III.2.2. Infestation parasitaire

III.2.2.1. Préparation de l'inoculum

Pour l'obtention des oocystes de coccidies, des échantillons des cæca de poulets infectés naturellement ont été prises d'un cabinet vétérinaire (Figure 23).



Figure 23: Échantillons des cæca des poulets infectés

Les différentes étapes de la **préparation de l'inoculum** d'infestation ont été réalisées au niveau du laboratoire de Microbiologie Appliquée de l'université Farhat Abbas, Sétif 1, incluant :

- Isolement des oocystes de coccidies à partir des cæca de poulet de chair atteint de coccidiose caecale (**inoculum initial**);
- Propagation des oocystes de l'inoculum **initial** et obtention de l'**inoculum expérimental**;
- Identification de l'espèce d'inoculation (méthode morpho-métrique et moléculaire par la PCR nichée) ;
- Calcul du nombre d'oocystes par millilitre d'inoculum par cellule Mac Master.

✚ **Récupération des oocystes d'*E. tenella* à partir des cæca (Shirley, 1995)**

1-Récupération des cæca (7^{ème} jour), puis les séparés de leur contenu par raclage profond de la muqueuse pour assurer la prise de toutes les formes de coccidie.

2-Homogénéisation avec une quantité de solution de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) à 2 % (p/v) a été faite dans un mortier et filtration à travers deux pièces de gaz (passe-thé) dont le filtrat est laissé sédimenter de 4 à 5 heures.

3-Elimination de surnageant, puis centrifugation (2000 tr/min pendant 10 min) du sédiment restant dans des tubes de 50 mL (de préférence en plastique car les oocystes ont tendance à se coller sur le verre), et récupération à la fin d'une série de centrifugations de tubes contenant 15 mL de culot chacun.

4-Addition de 35 mL d'une solution de chlorure de sodium saturée (NaCl à 40 %, p/v) à chaque 15 mL de culot, homogénéisation puis centrifugation.

5-Après 3 à 5 minutes (temps nécessaire pour avoir une concentration des éléments parasites de densité inférieure en surface, c'est le principe de la flottation) **Mahmood et al., (2001)**, récupération de 15 mL de surnageant de chaque tube, addition de 35 mL d'eau distillée puis centrifugation (lavage des oocystes et élimination du NaCl).

6-Après centrifugation, élimination des surnageants et récupération des culots. Les oocystes ainsi obtenus de chaque tube (15 mL) sont conservés dans 50 mL d'une solution de dichromates de potassium (2 %) à +4°C.

7-Mélange de toutes les suspensions d'oocystes et mises pour sporulation à 30°C dans un bain-marie avec agitateur.

8-Centrifugation après 72 heures et conservation du culot, désigné **Inoculum initial**, dans une solution de dichromate de Potassium (2 %) à +4°C, pour maintenir la viabilité des oocystes de deux à six mois selon l'espèce de coccidies (**Conway et McKenzie, 2007**).

III.2.2.2. Propagation des oocystes de l'inoculum initial et l'obtention de l'inoculum expérimental

Avant inoculation, un lavage des oocystes a été réalisé, il consiste à l'élimination de la solution de dichromate de potassium, par centrifugation à 2000 tr/min pendant 5 min. Le culot est délayé dans l'eau distillée puis reprendre la centrifugation à nouveau. La même opération est répétée jusqu'à l'élimination complète du dichromate de potassium (surnageant limpide). Le culot est alors recueilli puis dilué dans l'eau pour constituer l'inoculum. Le contrôle quantitatif par la lame de Mac Master nous a permis d'obtenir un inoculum de concentration de 10^5 oocystes/mL.

Dans le but de multiplier l'inoculum initial, et obtenir la quantité suffisante d'oocystes nécessaire pour la réalisation de l'infection expérimentale, les oocystes sporulés obtenus à partir de la collection précédente ont été transmis aux poussins de poulet de chair (20 sujets) de 14 jours d'âge, 1 mL de l'inoculum contenant 10^5 oocystes sporulés a été inoculé à chaque poussin individuellement à l'aide d'une canule par gavage (Abu-Akkada et Awad, 2012) préalablement mis à jeun depuis 2 heures de temps.

-Du 6^{ème} au 9^{ème} jour après l'infestation, des échantillons de litière contenant les fientes ont été collectés (Holdsworth *et al.*, 2004) et traités selon le protocole de Shirley (1995) ; Après immersion, lavage de la litière (contenant la matière fécale fraîchement émise 24-48h) dans une quantité d'eau de robinet et homogénéisation, la suite du traitement est déjà décrite précédemment.

-Au 10^{ème} jour après l'inoculation, les poulets ont été sacrifiés et autopsiés, les cæca avec leurs contenus (Figure 24) ont été ensuite séparés et préparés à sporuler et à conserver comme décrit précédemment pour une utilisation ultérieure.



Figure 24: Lésions au niveau des cæca

A la fin de ces étapes, L'**inoculum expérimentale** a été ainsi obtenu et conservé à +4°C jusqu'au jour de l'inoculation, programmée au 14^{ème} jour d'âge des poulets.

III.2.2.3. Identification de l'espèce d'inoculation

L'identification de l'espèce d'inoculation (*E. tenella*) dans cette étude a été basée sur les paramètres mentionnés dans le tableau 11, ainsi que les paramètres morphologiques et moléculaires.

Tableau 11: Critères d'identification de l'espèce d'inoculation

Critères d'identification	Résultats	Références
Durée de la période prépatente	5 ^{ème} jour après l'infection	Zulpo <i>et al.</i> , 2007
Zone parasitée de l'intestin	Lésions ulcérohémorragiques localisées au niveau des cæca	Kadhim, 2014
Aspect général des lésions	Relevé selon la méthode de Johnson et Reid (1970)	Johnson et Reid, 1970
Signes cliniques	Diarrhée hémorragique caractéristique de la coccidiose cæcale	Macdonald <i>et al.</i> , 2017

III.2.2.3.1. Morphologie des oocystes

L'identification de l'espèce coccidiale cæcale a été réalisée par la **méthode morpho-métrique** en utilisant le micromètre oculaire (Figure 25 ; Annexe IX) qui est basée sur la mesure de la longueur, la largeur et l'index (longueur/largeur) d'au moins 50 oocystes sporulés prises au hasard au magnification x 40 (Kumar *et al.*, 2014) et de les comparer avec ceux classiquement décrits par Reid *et al.* (1978) (Annexe VIII).

Sur la lame micrométrique, 100 graduations = 1mm = 1000µm entre 2 graduations consécutives du micromètre objectif (Figure 25, Annexe IX), il y a donc 10 µm.



Figure 25: (A) Micromètre oculaire ; (B) Micromètre objectif

III.2.2.3.2. Identification moléculaire

a. Traitement des échantillons d'oocystes

Après la sporulation, les oocystes ont été soigneusement lavés trois fois dans de l'eau distillée autoclavée pour l'isolement et l'extraction de l'ADN.

L'identification a été réalisée en utilisant une analyse moléculaire, des amorces PCR initiales de genre général à la région d'espaceur interne transcrit 1 (ITS) ribosomal ARN (ARNr) pour amplifier la région ITS-1 d'*Eimeria spp.* recueillie à partir d'échantillons de fientes de poulet de chair.

b. Extraction de l'ADN génomique

L'ADN génomique total a été isolé à l'aide d'un mini kit QIAamp DNA Stool (**Qiagen, Allemagne**) selon le protocole du fabricant avec quelques modifications après avoir purifiés les oocystes comme décrit ci-dessus.

En bref, on ajoute aux oocystes un volume égal de billes de ballotine en verre autoclavées mesurant de ~ 0.25 à 0.5 mm de diamètre (Sigma-Aldrich, États-Unis) et on les recouvre d'un tampon ASL de volume minimum (Sur un total de 1.4 mL à utiliser pour l'isolement de l'ADN) fourni avec le kit d'extraction d'ADN ou le tampon TE stérile. Les oocystes ont ensuite été lysés par agitation (**Inde; Spinix Vortex Shaker, Tarsons, Inde; vitesse maximum**) et écrasés par les billes pendant deux minutes. Ensuite, le tampon ASL restant a été ajouté au tube et bien mélangé. La suspension a ensuite été chauffée pendant 5 min à 70°C et traitée selon le protocole du kit QIAamp ADN Stool. L'ADN a été élué deux fois dans 100 µL de tampon TE comme recommandé par le fabricant et quantifié en utilisant l'absorbance à 260 et 280 nm.

c. Identification d'*Eimeria spp.* par PCR nichée

Le protocole PCR nichée utilisant des amorces ITS-1 a été standardisé pour l'identification des espèces *Eimeria* de volailles (tableau 12). Les amorces amplifiant la séquence entière ITS-1 flanquées partiellement des régions de l'ADNr 18S et d'ADNr 5,8S (flanquée du côté 3' du 5.8S et du côté 5' du 18S de l'ADN ribosomique) d'*Eimeria* dans la phase de PCR spécifique au genre, tandis que des amorces spécifiques d'espèce ciblant la région ITS-1 ont été utilisées pour amplifier les espèces *Eimeria* individuelles comme décrit par Lew *et al.* (2003).

Chaque réaction de PCR de 25.0 μ L comprenait 2 μ L d'ADN génomique, 25 pmole de chaque amorces spécifiques de genre (Tableau 12), 1.25 U de Taq polymérase, 200 μ M de chacun des dNTPs et 2.5 μ L de tampon PCR contenant 1.5 mM de $MgCl_2$. Le cycle thermique a été effectué avec une étape de dénaturation initiale à 94 °C pendant 3 min suivie par 30 cycles de 94 °C pendant 30 s, 55 °C pendant 30 s et 72 °C pendant 90 s et une extension finale à 72 °C pendant 7 min. Le produit de la PCR primaire (1.0 μ L du mélange réactionnel de 25.0 μ L) a été utilisé en tant que matrice pour la PCR nichée avec des amorces spécifiques d'espèce (Figure 26) dans des tubes individuels en utilisant les mêmes conditions d'amplification décrites ci-dessus excepté différentes températures d'hybridation pour différentes *Eimeria* spp. (58 °C pour *E. mitis*, 61 °C pour *E. necatrix* et *E. praecox*, 65 °C pour *E. tenella*, 71 °C pour *E. acervulina*, *E. maxima* et *E. brunetti*). Des témoins négatifs, sans matrice, ont été inclus avec chaque essai en utilisant de l'eau triple distillée à la place de la matrice.

L'amplification de produit de PCR nichée spécifique a été vérifiée par électrophorèse (**50 volts, 60 minutes**) sur gel d'agarose à 2 % coloré avec 0.5 μ g / mL de bromure d'éthidium.

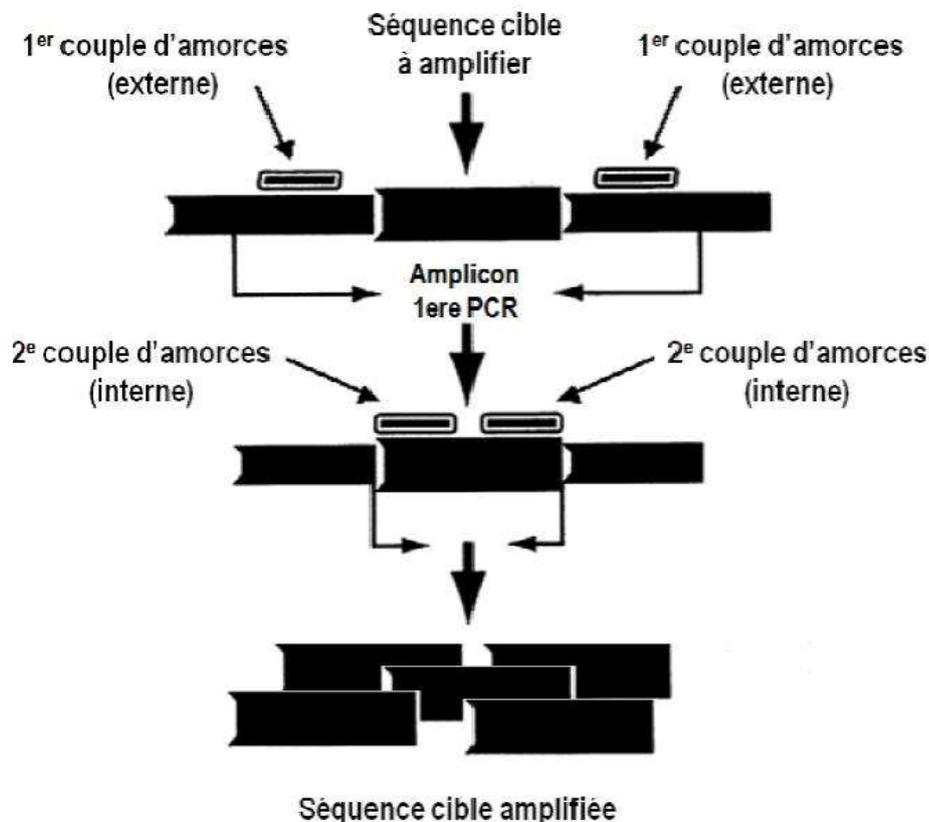


Figure 26: Représentation schématique d'une amplification spécifique de l'ADN cible par PCR nichée

Tableau 12: Amorces PCR et les conditions utilisées (Lew *et al.*, 2003)

Espèces	Référence d'amorce	Séquence d'amorce 5' → 3'	Température d'hybridation (°C)	Taille prévue du produit d'amplification (pb)
<i>Eimeria</i> spp.	EF1 ^a ER1 ^a	aag ttg cgt aaa tag agc cct c aga cat cca ttg ctg aaa g	56	Variable
<i>E. acervulina</i>	EAF ^b EAR ^b	ggc ttg gat gat gtt tgc tg cga acg caa taa cac acg ct	72	321
<i>E. brunetti</i>	EBF ^b EBR ^b	gat cag ttt gag caa acc ttc g tgg tct tcc gta cgt cgg at	73	311
<i>E. maxima</i> US ^c	EMRA1 ^a EMFA1 ^a	gtg at/at cgt tc/tg g/ag/aa gtt tgc ct/ac acc act cac aat gag gca c	70	145
<i>E. maxima</i>	EMRA2 ^a EMRA2 ^a	gcg gtt tca tca tcc atc atc g cgt tgt gag aag/a act ga/ga agg g	70	145
<i>E. mitis</i> Mit1	EMi1FA ^a EMi1RA ^a	ggg ttt att tcc tgt cc/gt cgt ctc gca aga gag aat cgg aat gcc	58	328
<i>E. mitis</i> Mit5	EMi5FA ^a EMi5Ra ^a	cgg agc tgg ggt ttt ctt tc cct gca tat cca ca/gt t/cga ac/at ac	64	193
<i>E. necatrix</i>	ENF ^b ENR ^b	tac atc cca atc ttt gaa teg ggc ata cta gct teg agc aac	61	383
<i>E. praecox</i>	EPRA ^a EPFA ^a	cca agc gat ttc atc att/c gg gga/g aaa a/gca a/cag cga ttc aag	61	116
<i>E. tenella</i>	ETF ^b ETR ^b	aat tta gtc cat cgc aac cct cga cgc ctc tgc ata cga ca	65	278

a: Amorces développées par Lew *et al.* (2003).

b: Amorces développées par Schnitzler *et al.* (1998), température d'hybridation optimisée pour cette étude.

c: Amorces *E. maxima* US ont été conçues sur la base des séquences US ITS-1 (Barta *et al.*, 1998).

L'analyse des paramètres d'identification étudiés, et leur comparaison avec ceux classiquement décrits dans la littérature nous ont permis de conclure que les espèces d'inoculation sont *E. acervulina*, *E. mitis* et *E. tenella*, cette dernière étant la plus dominante ; agent de la coccidiose cœcale chez le poulet de chair.

III.2.2.4. Inoculation d'oocystes

III.2.2.4.1. Calcul du nombre d'oocystes par millilitre d'inoculum

Avant l'inoculation, le nombre d'oocystes par mL d'inoculum a été calculé à l'aide d'une cellule Mac Master (Figure 27).

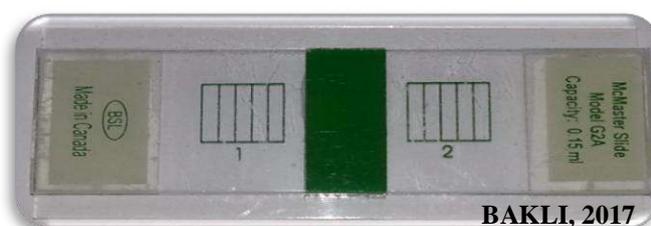


Figure 27: Cellule McMaster à deux chambres

Deux comptages sont réalisés pour chaque échantillon et le nombre d'oocystes par millilitre de l'inoculum est déterminé et ajusté, si nécessaire, pour obtenir la charge recommandée pour réaliser le test d'efficacité d'anticoccidiens *vis-à-vis* d'*E. tenella* qui varie de 10^4 et 10^5 oocystes/sujet (Conway et McKenzie, 2007).

La coproscopie qualitative a été effectuée par la méthode d'enrichissement par flottation et la détermination du nombre d'oocystes par millilitre est réalisée comme suit :

- Homogénéisation de la suspension d'oocystes, et prélèvement immédiat de **1 mL** de la suspension.
- Addition de 9 mL d'une solution saturée de NaCl à 40 %.
- Après homogénéisation, la suspension est introduite immédiatement et remplissage de chaque chambre de la Mac Master (la lame se présente avec une cloison au centre séparant deux compartiments de volume 0.15 mL chacun. Le plafond de chaque compartiment est divisé en 06 colonnes de 1.7 mm de largeur).
- Laisser reposer la suspension quelques minutes pour permettre aux oocystes de remonter à la surface du liquide d'enrichissement et s'adhérer à la lamelle.
- Vérifier la répartition homogène des oocystes à l'objectif x10, ensuite dénombrer les oocystes dans chaque chambre à l'aide d'un microscope optique.

Si l'examen au microscope révèle l'existence d'un nombre important d'oocystes, une deuxième dilution doit être réalisée au $1/10^{\text{ème}}$.

Le nombre total d'oocystes calculés (sporulés + non sporulés) dans chaque colonne a été déterminé (Tableau 13).

Tableau 13: Calcul de l'inoculum et détermination du taux de sporulation

Quadrillage 01			Quadrillage 02		
Colonne	Calculés	Non sporulés	Colonne	Calculés	Non sporulés
C 1	130	6	C 1	129	9
C 2	120	12	C 2	80	11
C 3	131	10	C 3	101	8
C 4	114	6	C 4	98	7
C 5	118	9	C 5	120	4
Total 1	613	43	Total 2	528	39

- **Total calculé (Total 1+Total 2) :** $(613+528)= 1141$ oocystes calculés

- **Oocystes sporulés :** $1141- (43+39)= 1059$ oocystes sporulés

Nombre d'oocystes / mL d'inoculum :

$$X = (N \times 1000) \div (0.15 \times 2) = (1141 \times 1000) \div (0.15 \times 2) = 3803333.3 \text{ oocystes/mL} \approx 38.10^5 \text{ oocystes/mL.}$$

Avec :

X : Nombre d'oocystes / **mL** de la suspension étudiée.

N : Nombre d'oocystes calculés dans les deux réseaux de la cellule McMaster.

1000 : Dilution de la suspension mère dans la solution saturée de NaCl.

0.15 : Volume de chaque réseau.

2 : Deux réseaux de la cellule McMaster.

Taux de sporulation :

$$X = (1059 \times 100) \div 1141 = 92.81\% \approx 93\%.$$

Le nombre d'oocystes par mL d'inoculum est de **38.10⁵ oocystes**, avec un taux de sporulation de **93%**.

III.2.2.4.2. Inoculation des poussins

Au 14^{ème} jour d'âge, les poussins des lots concernés par l'infestation ont reçu individuellement, 1 mL de l'inoculum soit une charge oocystale de **38.10⁵ oocystes** sporulés (Figure 28). Le bec du poussin est maintenu fermé pendant quelques secondes pour l'empêcher de rejeter l'inoculum (Michels *et al.*, 2011). Avant le jour de l'inoculation, les échantillons fécaux sont collectés pour confirmer l'absence des coccidies.



Figure 28: Inoculation *per os* des poulets au 14^{ème} jour d'âge

III.2.2.5. Évaluation de l'efficacité des traitements

L'évaluation de l'efficacité des différents traitements a été réalisée par l'étude des principaux paramètres susceptibles d'être modifiés lors des infections coccidiennes: paramètres cliniques, paramètres zootechniques, paramètres parasitologiques, paramètres hématologiques et paramètres biochimiques.

III.2.2.5.1. Paramètres cliniques (Signes clinique et Mortalité)

Observation soigneuse de tous les poulets depuis la réalisation de l'infection au 14^{ème} jour d'âge (J1 à J12 P.-I.), les sujets malades ont été examinés et les morts ont été autopsiés.

III.2.2.5.2. Paramètres zootechniques

La prise alimentaire a été relevée quotidiennement pendant 7 jours après la réalisation de l'infection (de J14 à J21 d'âge des poulets, correspondant à J1 jusqu'à J7 P.-I.) pour déterminer les quantités cumulées d'aliment ingérées au cours de la période de l'infection.

Des pesées quotidiennes d'aliment (distribué et refusé) et hebdomadaires des poulets ont été réalisées jusqu'à J35 pour évaluer la consommation alimentaire, l'évolution du poids vif (croissance pondérale) et l'indice de consommation.

a. Évaluation de la consommation alimentaire hebdomadaire par lot

L'aliment et l'eau sont distribués quotidiennement *ad libitum* du 1^{er} au 35^{ème} jour. Les quantités d'aliment consommées par lot, ont été estimées hebdomadairement, en faisant la différence entre les quantités distribuées et les refus en fin de semaine.

b. Évaluation des performances de croissance

Les poussins d'un jour ont été pesés à l'arrivée pour le calcul du poids moyen au démarrage. Par la suite, les pesées ont été faites une fois par semaine jusqu'à la fin de l'expérimentation.

c. Croissance pondérale hebdomadaire (Évolution des poids vifs des poulets)

Des pesées hebdomadaires des poulets ont été réalisées jusqu'à J35.

d. Indice de consommation (IC)

L'indice de consommation représente le rapport entre la quantité d'aliments consommés et le gain de poids obtenu.

L'indice de consommation de chaque semaine a été déterminé pour chaque lot.

$$\text{IC} = \frac{\text{Quantité d'aliment consommée pendant une période (g)}}{\text{Gain de poids moyen durant la période (g)}}$$

III.2.2.5.3. Paramètres parasitologiques

a. Excrétion d'oocystes

✚ Comptage des oocystes d'*Eimeria*

Au laboratoire, nous avons procédé au diagnostic parasitologique par la méthode quantitative. Cette méthode se base sur le comptage des oocystes présents dans des fientes par la méthode de Mac Master. Cette méthode consiste à compter le nombre d'éléments parasitaires contenus dans 0.30 mL d'une suspension de matière fécale diluée au 1/15^{ème}.

Nous avons ainsi procédé à la préparation de la suspension de matières fécales (Figure 29) qui consiste en:

- La mesure de 75 mL de la solution saline obtenue dans un bécher gradué;
- La pesée de 5 g de fientes;
- La mise de l'ensemble dans un mortier puis l'homogénéisation à l'aide d'un pilon;
- Le passage dans une passoire afin d'éliminer les gros débris.



Figure 29: Prélèvements de fientes

A l'aide d'une pipette Pasteur, la lame de Mac Master est remplie de la suspension de matières fécales puis placée sous microscope et laissée en place environ 10 min. L'observation est réalisée avec l'objectif (X10). Il est ensuite procédé au comptage des oocystes observés.

Le nombre d'oocystes par gramme de matière fécale (OPG) des lots a été calculé de J5 à J12 post-inoculation par la formule suivante (Sahraoui *et al.*, 2015):

$$\text{OPG} = \text{Nombre d'oocystes des 2 compartiments} \times 50$$

b. Scores lésionnels et longueur des cæca

La détermination du score lésionnel des cæca sont évaluées selon la méthode décrite par Johnson et Reid (1970).

Deux poulets pris au hasard dans chaque lot ont fait l'objet d'une autopsie. Trois examens ont été réalisés après l'inoculation : à J7, J12 et J21 P.-C. (correspond à J21, J26 et J35). A chaque période, des prélèvements des cæca des poulets sacrifiés ont servis à l'établissement du score lésionnel et la mesure de leur longueur à l'issue duquel des échantillons des cæca sont fixés directement dans une solution formol (10%) et envoyés au laboratoire d'histopathologie.

La notation des lésions (0 à +4) a été réalisée dans le but d'évaluer l'efficacité des différents extraits testés.

III.2.2.5.4. Prélèvements sanguins

Les prélèvements sanguins ont été récupérés à partir de la veine jugulaire des poulets. Les tubes contenant les échantillons de sang ont été transportés dans une glacière au laboratoire d'analyses privé (Laboratoire d'analyse médicale Dr. ARIF r.).

a. Paramètres hématologiques

Les échantillons de sang prélevés dans les tubes EDTA ont été immédiatement utilisés pour déterminer la formule numérique sanguine ; globules blancs (GB), globules rouges (GR), hémoglobines (HGB), hématocrite (HCT), volume globulaire moyen (VGM), concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH), taux corpusculaire moyen en hémoglobine (TCMH).

b. Paramètres biochimiques

Le sang des tubes héparinés a été centrifugé à 3000 tr/mn pendant 5 min et les paramètres biochimiques (taux de protéines totales et taux de lipides totaux) ont été dosés sur le sérum obtenu grâce à l'automate.

III.2.2.5.5. Etude histopathologique

Les cæca des poulets sacrifiés préalablement conservés dans du formol 10% ont subi des coupes d'une épaisseur de 4 µm à l'aide d'un microtome après leur inclusion à la paraffine. Les coupes préparées ont été ensuite colorées à l'hématoxyline-éosine, fixés entre lame et lamelle avant d'être observés sous microscope muni d'appareil photo.

IV. Etude statistique

Les résultats des tests effectués *in vitro* et *in vivo* sont exprimés en moyenne \pm SD (Erreur standard) et moyenne \pm SEM (Erreur standard sur la moyenne), respectivement. La différence entre le contrôle et les différents tests est déterminée par le test ANOVA univariée suivi du test de Tukey pour les comparaisons multiples et la détermination des taux de signification. Les différences sont considérées statistiquement significatives au seuil de 0.05 ($P < 0.05$). La comparaison des moyennes et des variances est déterminée grâce au logiciel «GraphpadPrism» version 5.03.

Résultats et Discussions

I. Rendement d'extraction des composés phénoliques

La solubilité des composés phénoliques est régie par leur nature, qui peut varier de simples substances aux composés fortement polymérisés (Cacace et Mazza, 2003) et par la polarité des solvants et la méthode utilisée (Goli *et al.*, 2004 ; Spigno *et al.*, 2007 ; Park et Jhon, 2010 ; Najjaa *et al.*, 2020). Selon Alothman *et al.* (2009), l'extraction des composés phénoliques est influencée par leur solubilité dans le solvant utilisé et la polarité de ce dernier joue un rôle dans l'accroissement de la solubilité phénolique. De même, Cacace et Mazza (2001), ont apporté que la température peut influencer l'extraction d'un composé donné en modifiant son coefficient de diffusion ou sa solubilité dans le solvant. Aussi, ils ont remarqué une diminution de la quantité d'anthocyanines extraites à des températures supérieures à 40°C qui peut être attribuée à leur dégradation à des températures élevées. Ces multiples paramètres à optimiser rendent difficile l'élaboration d'un procédé d'extraction approprié à tous les composés phénoliques des plantes (Naczka et Shahidi, 2006 ; Najjaa *et al.*, 2020).

Dans notre cas, avant de procéder à l'extraction, nous avons d'abord séché le matériel végétal à l'air libre et à l'abri de la lumière comme préconisé par De-Rijke *et al.* (2006), afin d'éviter la dégradation de certains composés phénoliques sous l'effet des hydrolases qui peuvent exister dans le matériel végétal frais. Par la suite, la matière sèche retenue est réduite en poudre fine. Selon Pinelo *et al.* (2005) et Spigno *et al.* (2007) la granulométrie de la poudre est un paramètre important dans la mesure où la réduction de la taille des particules augmente la surface de contact avec le solvant.

Le criblage des activités antimicrobiennes des plantes se fait après des extractions brutes aqueuses ou alcooliques qui peuvent être suivies de diverses méthodes d'extraction organiques (Nawaz *et al.*, 2006). Tous les composants antibactériens des plantes de structure aromatique ou composés organiques saturés, sont souvent obtenus par une extraction initiale par l'éthanol ou le méthanol (Cowan, 1999).

Les composés phénoliques tels que les acides phénoliques, les flavonoïdes et les tanins sont considérés comme les contributeurs majeurs à la capacité antioxydante des plantes (Li *et al.*, 2007).

Les taux d'extraction des composés phénoliques sont représentés dans le tableau 14.

Tableau 14: Taux d'extraction des composés phénoliques des plantes étudiées

Extraits	Taux d'extraction (%)		
	Feuilles <i>P. lentiscus</i>	Graines <i>T. foenum-græcum</i>	Bulbes <i>A. sativum</i>
Méthanolique	59.31	39.10	28.72
Aqueux	15.93	0.89	16.68
Tannique	41.06	25.86	19.73
Flavonoïdique	3.91	1.80	0.85

D'après les résultats du tableau 14, le taux d'extraction est effectivement variable en fonction de la plante et du solvant utilisé. Le meilleur taux d'extraction au méthanol est obtenu avec les feuilles de *P. lentiscus* (59.31%), comparativement à celui des graines de *T. foenum-græcum* et Bulbes d'*A. sativum* avec des taux de (39.10%) et (28.72%), respectivement, indiquant la richesse des feuilles de *P. lentiscus* en composés phénoliques. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de Gardeli *et al.* (2008), qui a obtenu un taux de 61.1% avec l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*.

Le résultat d'extraction des composés phénoliques concernant les feuilles de *P. lentiscus* (59.31%), indique un taux élevé de ses composés. Ces résultats ne concordent pas avec ceux établis par Kordali *et al.* (2003), qui ont obtenu à partir de l'extrait éthanolique des feuilles de cette même espèce le rendement le plus élevée de 16.59% par rapport à d'autres espèces appartenant à la même famille; *Pistacia vera* et *Pistacia terebinthus*.

L'extraction avec le méthanol à 80 % a donné un meilleur taux d'extraction, cela peut s'expliquer par le fait que les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité (Seidel, 2005).

Pour les autres extraits, le taux le plus élevé a été obtenu avec l'extrait tannique des feuilles de *P. lentiscus* (41.06%) suivi de celui des graines de *T. foenum-græcum* (25.86%) et bulbes d'*A. sativum* (19.73%),

Les extraits aqueux des bulbes d'*A. sativum* (16.68%) et aqueux des feuilles de *P. lentiscus* (15.93%) sont obtenus à des taux presque similaires.

Quant aux extraits flavonoïdiques, de faibles taux d'extraction ont été enregistrés (tableau 16) avec des taux les plus faibles obtenus avec l'extrait flavonoïdique des bulbes d'*A. sativum* et aqueux des graines de *T. foenum-græcum* 0.85% et 0.89%, respectivement.

II. Dosage des composés phénoliques

L'étude quantitative des différents extraits bruts au moyen des dosages spectrophotométriques avait pour objectif la détermination de la teneur en phénols totaux, tanins et flavonoïdes.

II.1. Dosage des phénols totaux

Les résultats du dosage des phénols totaux des feuilles de *P. lentiscus*, des graines de *T. foenum-graecum* et Bulbes d'*A. sativum* sont représentés dans la figure 30.

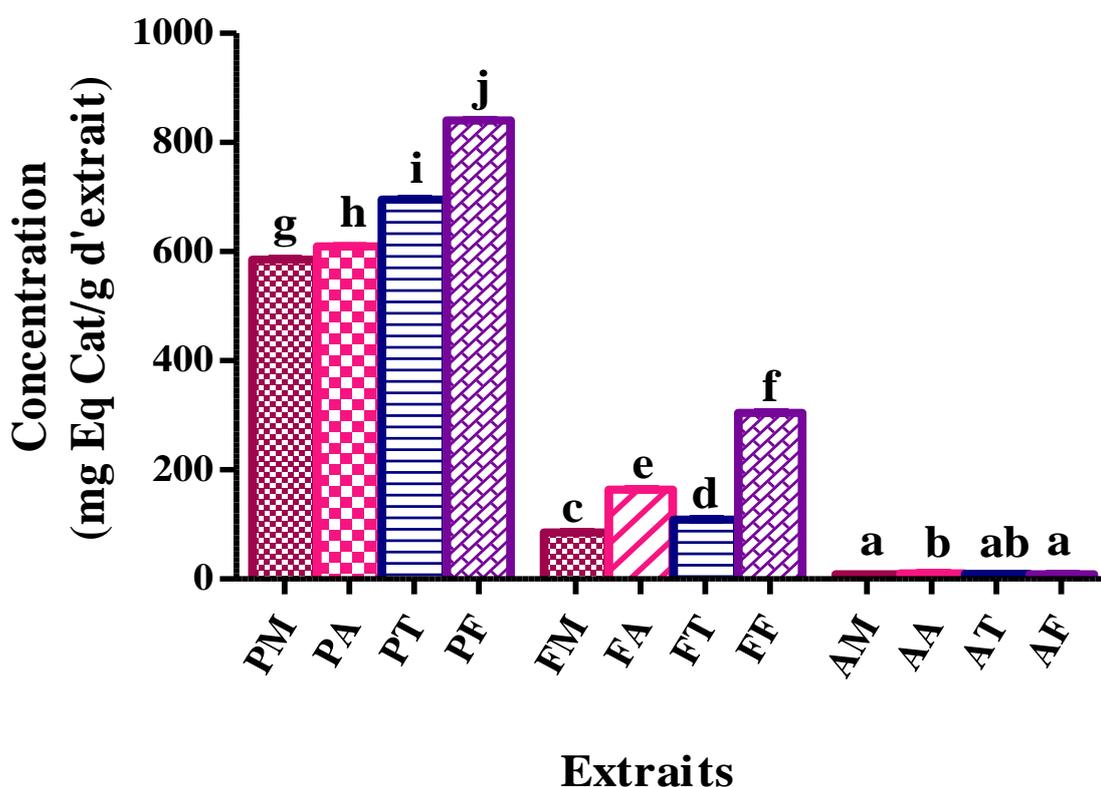


Figure 30: Teneurs en phénols totaux des différents extraits des feuilles de *P. lentiscus*, des graines de *T. foenum-graecum* et Bulbes d'*A. sativum*

PM: Extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*, **PA:** Extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*, **PT:** Extrait tanique des feuilles de *P. lentiscus*, **PF:** Extrait flavonoidique des feuilles de *P. lentiscus*, **FM:** Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum*, **FA:** Extrait aqueux des graines de *T. foenum-graecum*, **FT:** Extrait tanique des graines de *T. foenum-graecum*, **FF:** Extrait flavonoidique des graines de *T. foenum-graecum*, **AM:** Extrait méthanolique des Bulbes d'*A. sativum*, **AA:** Extrait aqueux des Bulbes d'*A. sativum*, **AT:** Extrait tanique des Bulbes d'*A. sativum*, **AF:** Extrait flavonoidique des Bulbes d'*A. sativum*.

-Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3)±l'écartype.

-Les valeurs désignées avec les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative (P<0.05).

Comme le montre la figure 30, tous les extraits des feuilles de *P. lentiscus* sont plus riches en phénols totaux par rapport à ceux des graines de *T. foenum-graecum* et bulbes d'*A. sativum* ($P < 0.05$). Le contenu le plus élevé en phénols totaux est concentré essentiellement au niveau de l'extrait flavonoïdique (840.39 ± 0.81 mg Eq Cat/g d'extrait), suivi des extraits tanniques (695.13 ± 0.86 mg Eq Cat/g d'extrait), d'aqueux (609.49 ± 0.43 mg Eq Cat/g d'extrait) et de méthanol (585.17 ± 0.74 mg Eq Cat/g d'extrait) des feuilles. Quant aux autres extraits, ils présentent une faible teneur en phénols totaux, avec un minimum de 8.36 ± 0.37 et 8.78 ± 0.23 mg Eq Cat/g d'extrait pour les extraits flavonoïdique et méthanolique des bulbes d'ail qui ne sont pas significativement différentes ($P < 0.05$).

Benhouda *et al.* (2014) ont montré que les teneurs en phénols totaux varient selon le type de solvant utilisé pour l'extraction. En effet, Gardeli *et al.* (2008) ont trouvé au niveau des extraits méthanoliques des feuilles de *P. lentiscus* des quantités variables en phénols totaux qui s'étendent de 483 à 588 mg équivalent d'acide gallique/g de matière végétale, en fonction de la période de cueillette.

Botsaris *et al.* (2015) ont utilisé des solvants de polarité différente pour l'extraction des composés phénoliques à partir des fruits et des feuilles de *P. lentiscus*. Les résultats ont montré que le contenu phénolique des extraits était fortement influencé par le solvant et le matériel végétal, ils ont conclu aussi que le méthanol, solvant polaire, étant le plus approprié.

Cette divergence de résultats est probablement tributaire, au matériel végétal utilisé dérivant de la grande diversité structurale des composés phénoliques. Elle peut être également liée aux phases végétatives (Gardeli *et al.*, 2008) et même aux facteurs abiotiques tels que le climat spécifique aux régions de provenance des échantillons, les facteurs géographiques comme l'altitude et la nature du sol (Brada *et al.*, 2007).

II.2. Dosage des flavonoïdes

Les résultats du dosage des flavonoïdes des extraits des feuilles de *P. lentiscus*, des graines de *T. foenum-græcum* et Bulbes d'*A. sativum*, sont représentés dans la figure 31.

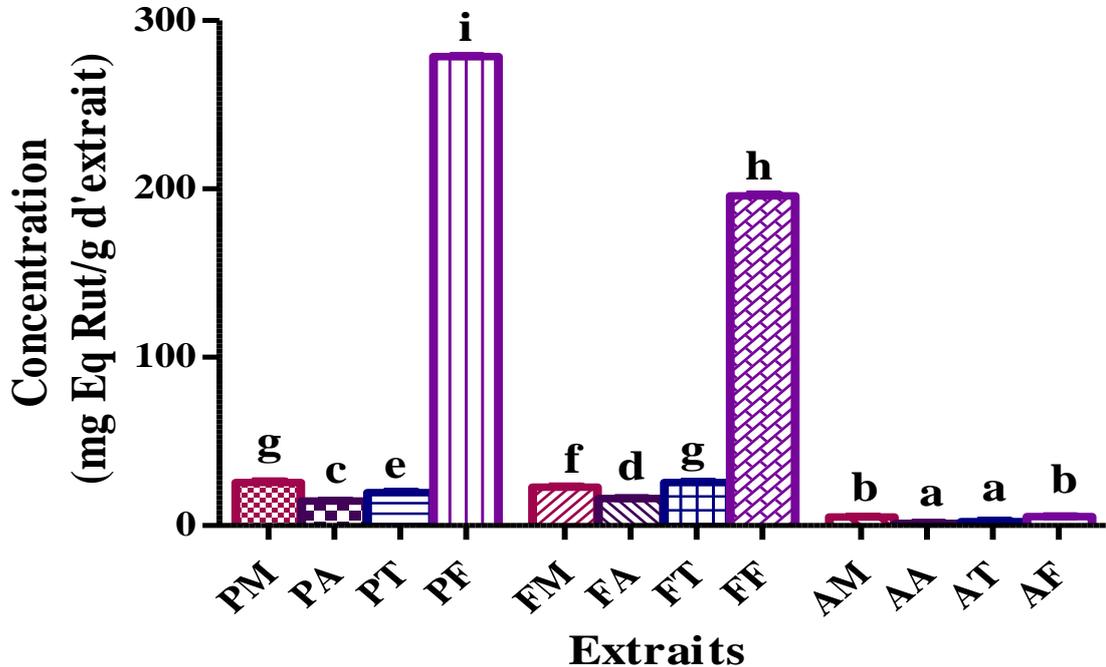


Figure 31: Teneurs en flavonoïdes des différents extraits de des feuilles de *P. lentiscus*, des graines de *T. foenum-græcum* et Bulbes d'*A. sativum*

PM: Extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*, **PA:** Extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*, **PT:** Extrait tanique des feuilles de *P. lentiscus*, **PF:** Extrait flavonoïdique des feuilles de *P. lentiscus*, **FM:** Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-græcum*, **FA:** Extrait aqueux des graines de *T. foenum-græcum*, **FT:** Extrait tanique des graines de *T. foenum-græcum*, **FF:** Extrait flavonoïdique des graines de *T. foenum-græcum*, **AM:** Extrait méthanolique des Bulbes d'*A. sativum*, **AA:** Extrait aqueux des Bulbes d'*A. sativum*, **AT:** Extrait tanique des Bulbes d'*A. sativum*, **AF:** Extrait flavonoïdique des Bulbes d'*A. sativum*.

-Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3)±l'écartype.

-Les valeurs désignées avec les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative (P<0.05).

Les flavonoides constituent le groupe le plus hétérogène des composés phénoliques, répartis dans différentes classes dont certaines sont solubles dans les solvants polaires, tandis que d'autres sont solubles dans les solvants apolaires (Macheix *et al.*, 2005). D'après les résultats de la figure 31, le taux le plus élevé en flavonoïdes se trouve au niveau de l'extrait flavonoïdique des feuilles de *P. lentiscus* (278.50 ± 0.37 mg Eq Rut/g d'extract) (P<0.05), suivi de près par l'extrait flavonoïdique de *T. foenum-græcum* (195.82 ± 0.82 mg Eq Rut/g d'extract). L'extrait aqueux et tanique des bulbes d'*A. sativum* présentent les taux les plus faibles (1.39 ± 0.17 et 2.38 ± 0.37 mg Eq Rut/g d'extract) (P<0.05). De

cette présente analyse, on déduit que les extraits des feuilles de *P. lentiscus* sont plutôt riches en flavonoïdes, ce qui n'est pas le cas pour les autres extraits.

D'après les résultats, la teneur la plus élevée en flavonoïdes est obtenue avec l'extrait flavonoidique des feuilles de *P. lentiscus* (éthanol ; étant le premier solvant utilisé pour leur extraction dans cette étude), cela peut être expliqué par le fait que l'éthanol extrait efficacement les flavonoïdes et catéchols des matières végétales (Spigno *et al.*, 2007) et selon Evenamede *et al.* (2017), la répartition inégale des flavonoïdes pourrait aussi s'expliquer par le fait que les feuilles sont plus exposées à l'ensoleillement que les autres parties. Et sachant que les flavonoïdes assurent la protection des tissus de la plante contre les effets nocifs du rayonnement solaire.

II.3. Dosage des tanins

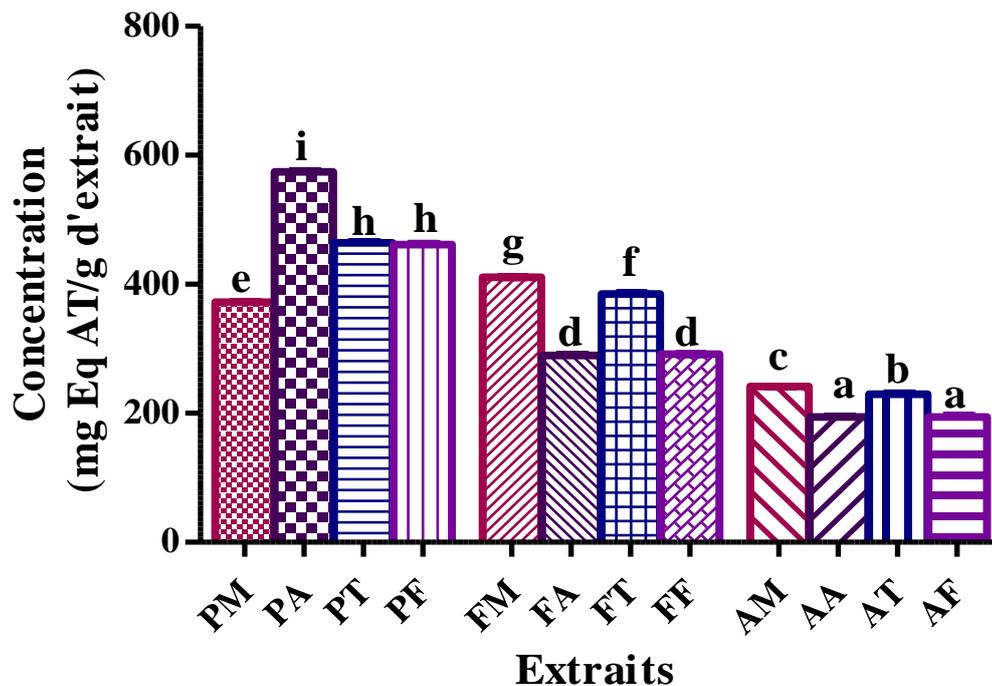


Figure 32: Teneurs en tanins des différents extraits des feuilles de *P. lentiscus*, des graines de *T. foenum-graecum* et Bulbes d'*A. sativum*

PM: Extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*, **PA:** Extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*, **PT:** Extrait tanique des feuilles de *P. lentiscus*, **PF:** Extrait flavonoidique des feuilles de *P. lentiscus*, **FM:** Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum*, **FA:** Extrait aqueux des graines de *T. foenum-graecum*, **FT:** Extrait tanique des graines de *T. foenum-graecum*, **FF:** Extrait flavonoidique des graines de *T. foenum-graecum*, **AM:** Extrait méthanolique des Bulbes d'*A. sativum*, **AA:** Extrait aqueux des Bulbes d'*A. sativum*, **AT:** Extrait tanique des Bulbes d'*A. sativum*, **AF:** Extrait flavonoidique des Bulbes d'*A. sativum*.

-Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3)±l'écartype.

-Les valeurs désignées avec les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative (P<0.05).

Des différences significatives ($P < 0.05$) sont révélées entre les différents extraits des plantes étudiées. La teneur la plus élevée est notée chez l'extrait aqueux de *P. lentiscus* (574.33 ± 1.66 mg Eq AT/g d'extrait) suivi de l'extrait tanique et flavonoidique de la même plante (464.33 ± 1.66 et 461.83 ± 0.83 mg Eq AT/g d'extrait), respectivement et de l'extrait méthanolique de *T. faenum-groecum* (410.76 ± 0.11 mg Eq AT/g d'extrait); les autres extraits ont présenté des quantités moyennes avoisinant 300 mg Eq AT/g d'extrait. Quant aux extraits des bulbes d'*A. sativum*, ils se sont avérés pauvres en tanins (Figure 32) avec les taux les plus élevés au niveau de l'extrait méthanolique ($P < 0.05$), tandis que les extraits aqueux et flavonoidique sont marqués par les taux les plus faibles. Ceci s'explique par l'insolubilité de ces composés, en particulier les tanins condensés à haut poids moléculaire dans les solutions aqueuses (Reed, 1995 ; Cheynier, 2005).

Le contenu en polyphénols des feuilles de *P. lentiscus* est plus élevé que celui de plusieurs espèces citées dans la littérature. Djeridane *et al.* (2006) ont constaté que cette abondance peut être liée aux conditions climatiques dures de l'habitat habituel (la température chaude, exposition solaire élevée, sécheresse, salinité), qui stimulent la biosynthèse des métabolites secondaires tels que les polyphénols. En effet, le contenu phénolique d'une plante dépend d'un certain nombre de facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (environnement et stockage) (Falleh *et al.*, 2008).

Il a été rapporté que *P. lentiscus* est caractérisée principalement par sa richesse en composés phénoliques, flavonoïdes et des flavonoïdes glycosylés (Longo *et al.*, 2007 ; Tsoko *et al.*, 2007 ; Gardeli *et al.*, 2008) et d'autres composés phénoliques comprenant l'acide gallique (Zhao *et al.*, 2005), procyanidines sous leur forme polymérisée (Topçu *et al.*, 2007) et tanins (Reig-Armiñana *et al.*, 2004).

III. Activité des extraits *in vitro*

III.1. Activité antimicrobienne

Il a été rapporté que la méthode de diffusion sur disque et la mesure des CMI sont les plus utilisées pour l'étude de l'activité antimicrobienne des substances naturelles des extraits des plantes médicinales (Gülçin *et al.*, 2004 ; vanVuuren, 2008).

La méthode des disques est basée sur l'utilisation des disques comme réservoirs contenant la solution des substances à tester. Dans le cas des solutions avec une basse activité, une grande concentration ou volume est nécessaire; néanmoins la capacité des disques est limitée. C'est pourquoi certains extraits exhibent des zones d'inhibition incomplètes qui peuvent être attribuées à une résistance par déficience de dose d'extrait (Gülçin *et al.*, 2004). La CMI est une méthode quantitative basée sur le principe du contact d'un microorganisme à une série de dilutions de la substance testée. Elle est couramment utilisée comme un critère admis pour la mesure de la susceptibilité des microorganismes aux inhibiteurs (vanVuuren, 2008).

La taille de l'inoculum est considéré comme étant la variable la plus importante dans les tests de sensibilité (Cushnie *et al.*, 2003). Elle a été ajustée à 10^8 UFC/mL (10^7 UFC/mL sur la boîte), et ceci pour éviter d'éventuelles ambiguïtés dans l'interprétation des résultats.

Tous les extraits ont été testés contre les microorganismes Gram⁺, Gram⁻ et champignons afin de déterminer leur potentiel bioactif. Pour cela, ils ont été dissous dans du DMSO dont la capacité à dissoudre tous les extraits polaires et apolaires a fait de lui le solvant du choix, un témoin sans extrait a été réalisé pour chaque souche et aucune activité inhibitrice du DMSO n'a été observée (Annexe V), suggérant que l'activité observée est le seul effet des extraits en question.

Dans la présente étude, différents extraits méthanolique, aqueux, tannique et flavonoïdique des trois plantes sont testés *vis-à-vis* des souches bactériennes utilisées; *S. aureus*, *SARM*, *B. cereus*, *L. innocua*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. typhi*, *S. typhimurium*, *S. enterica*, *V. cholerae*, *C. freundii*, *P. mirabilis* et *K. pneumoniae*, deux champignons filamenteux (*A. niger* et *A. flavus*) et une levure (*C. albicans*) et seuls les extraits des feuilles de *P. lentiscus* se sont avérés actifs.

Les résultats sont exprimés selon trois niveaux d'activité: Résistant: $D < 8$ mm, intermédiaire: $15 \text{ mm} \geq D \geq 8$ mm et sensible: $D > 15$ mm (Bansemir *et al.*, 2006). L'activité antimicrobienne des extraits actifs des feuilles de *P. lentiscus* étudiées sont rapportés successivement dans le tableau 15 et leurs aspects sont illustrés dans la figure 33.

Les CMI et CMB des extraits actifs, ainsi que celles des composés phénoliques purs ont été déterminées et les valeurs obtenues sont représentées dans le tableau 17.

III.1.1. Activité antibactérienne à l'égard des bactéries à Gram positif

Pratiquement, tous les extraits des feuilles de *P. lentiscus* ont montré une activité inhibitrice *vis-à-vis* de *S. aureus* avec des zones d'inhibition allant de 7.0 ± 0.0 à 18.8 ± 0.3 mm dont la meilleure en terme de diamètre de la zone d'inhibition a été obtenue avec l'extrait flavonoidique, à une concentration de 4 mg/disque (Figure 33, Tableau 15).

Les extraits méthanolique, aqueux et tanique des feuilles de *P. lentiscus* exhibent une activité intermédiaire sur la même souche, avec des zones d'inhibition de 11.3 ± 0.6 mm; 9.7 ± 0.6 mm et 10.7 ± 0.3 mm (4 mg/disque), respectivement. Pour ces mêmes extraits l'augmentation de la concentration s'est accompagnée d'une augmentation significative du diamètre de la zone d'inhibition, ce qui correspond à un effet dose dépendant ($P < 0.05$).

Seul l'extrait tanique et flavonoidique des feuilles sont actifs contre *B. cereus* et *SARM* et les diamètres d'inhibition les plus larges sont obtenus avec l'extrait flavonoidique 14.7 ± 0.6 mm et 13.0 ± 0.5 mm à 4 mg/disque, respectivement. Dans le cas de cet extrait l'augmentation de la charge du disque de 2 à 4 mg/disque s'est traduite par une augmentation significative des diamètres des zones d'inhibition.

L'extrait méthanolique de *P. lentiscus* s'est montrée le moins actif, il n'a donné aucune zone d'inhibition à une concentration de 2 mg/disque, mais à la concentration de 4 mg/disque, il a enregistré une activité inhibitrice avec un diamètre de 11.3 ± 0.6 mm contre *S. aureus*. En outre, la souche *E. faecalis* s'est montrée très résistante aux extraits des feuilles de *P. lentiscus* et seul l'extrait flavonoidique a exhibé une faible activité avec un faible diamètre de la zone d'inhibition (8.3 ± 0.6 mm à 4 mg/disque). Suivi de *L. innocua* avec des diamètres allant de 7.0 ± 0.0 mm à 8.3 ± 0.6 mm à 4 mg/disque.

Les composés phénoliques purs testés ont présenté un effet significativement moins intéressant que les extraits des feuilles de *P. lentiscus vis-à-vis* de *S. aureus* (4 mg/disque) ($P < 0.05$). Par contre, sur les autres souches Gram+ des différences significatives plus importantes des standards sont notées. Le composé le plus actif est l'acide tanique avec des valeurs des zones d'inhibition allant de 8.0 ± 0.0 mm à 18.0 ± 0.0 mm aux deux concentrations testées ($P < 0.05$). Par ailleurs, la quercétine n'a révélé aucune zone d'inhibition (Annexe VI).

Concernant les antibiogrammes réalisés dans les mêmes conditions expérimentales que les aromatoigrammes, SARM était plus sensible à la doxycycline (39.0 ± 1.0 mm) comparativement aux autres antibiotiques testés suivi de *S. aureus* avec un diamètre de la zone d'inhibition de 36.0 ± 0.0 mm (Tableau 15).

III.1.2. Activité antibactérienne à l'égard des bactéries à Gram négatif

Les souches *P. aeruginosa* et *S. typhi* se sont révélées sensibles aux extraits flavonoïdique et tanique des feuilles de *P. lentiscus*, respectivement, avec une zone d'inhibition de 14.0 ± 0.0 mm (4 mg/disque).

Tous les extraits des feuilles de *P. lentiscus* sont actifs à l'égard de *V. cholera* et *P. mirabilis* au moins à une concentration testées avec les meilleures diamètres de la zone d'inhibition de 12.7 ± 0.5 mm et 13.0 ± 0.0 mm, respectivement, obtenu avec l'extrait flavonoïdique à 4 mg/disque. Dans le cas de ces extraits l'augmentation de la charge du disque de 2 à 4 mg/disque s'est traduite par une augmentation significative des diamètres des zones d'inhibition (tableau 15).

Les différents extraits des feuilles de *P. lentiscus* ne montrent aucune activité antibactérienne *vis-à-vis* de *K. pneumoniae*, *C. freundii* et *S. typhimurium*.

L'analyse statistique révèle l'existence de différences significatives entre les extraits des feuilles et les standards actifs ($P < 0.05$). L'acide tanique s'est avéré le plus actif avec des zones d'inhibition variables selon les espèces, avec une meilleure zone d'inhibition contre *V. cholerae* de 22.0 ± 0.0 mm à 4mg/disque suivi de *S. typhi* de 20.3 ± 0.6 mm à la même concentration.

L'acide gallique a montré de petites zones d'inhibition de 8.0 ± 0.0 mm à 11.0 ± 0.0 mm (4 mg/disque) contre *P. mirabilis* et *V. cholera*, respectivement.

La quecétine n'a montré aucune zone d'inhibition aux concentrations testées *vis-à-vis* de toutes les souches (Tableau 15 ; Annexe VI).

Pour les antibiotiques utilisés dans les mêmes conditions, la plus forte activité a été obtenue avec la Ciprofloxacine *vis-à-vis* de *C. freundii* et *V. cholerae*, avec des diamètres des zones d'inhibition les plus large de 52 ± 0.0 et 50 ± 0.0 mm, respectivement (Tableau 15 ; Annexe VI).

Tableau 15: Activité antibactérienne des extraits de feuilles de *P. lentiscus*, de quelques standards polyphénols et d'antibiotiques

		Diamètre de la zone d'inhibition (mm)													
		Gram positif					Gram négatif								
		<i>S. aureus</i>	SARM	<i>L. innocua</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S.typhimirium</i>	<i>S. enterica</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>C. freundii</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>K.pneumoniae</i>
Feuilles de <i>P. lentiscus</i> (mg/disque)															
PM	2	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	4	11.3±0.6 ^{de}	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	8.0±0.0 ^a	-/-	8.0±0.0 ^{ab}	-/-	-/-
PA	2	8.5±0.5 ^b	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	4	9.7±0.6 ^{bc}	-/-	7.5±0.5 ^{ab}	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	9.0±0.0 ^{bc}	-/-	8.7±0.6 ^b	-/-	-/-
PT	2	7.0±0.0 ^a	8.2±0.3 ^a	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	4	10.7±0.3 ^{cd}	8.7±0.6 ^a	7.0±0.0 ^a	8.7±0.6 ^{ab}	-/-	-/-	14.0±0.0^c	-/-	-/-	8.5±0.7 ^{ab}	-/-	8.0±1.0 ^{ab}	8.3±0.3 ^a	-/-
PF	2	12.7±0.6 ^{ef}	9.0±0.0 ^a	-/-	8.0±0.0 ^a	-/-	-/-	9.0±0.0 ^a	-/-	-/-	10.3±0.5 ^c	-/-	7.3±0.6 ^a	9.0±0.0 ^b	-/-
	4	18.8±0.3^h	13.0±0.5^b	8.3±0.6 ^b	14.7±0.6^c	8.3±0.6 ^a	8.8±0.3 ^a	11.5±0.5 ^b	-/-	8.7±0.6 ^a	12.7±0.5^d	-/-	13.0±0.0^c	14.0±0.0^f	-/-
Composés phénoliques purs (mg/disque)															
AT	2	13.8±0.3 ^f	14.0±0.0 ^b	-/-	10.0± 0.6 ^b	8.0±0.0 ^a	-/-	18.0±0.0 ^d	-/-	12.0±0.0 ^b	15.5± 0.7 ^d	-/-	14.0±0.0 ^e	12.0±0.0 ^d	-/-
	4	17.3± 0.6 ^g	18.0±0.0^c	11.3± 0.6 ^c	16.5± 0.5 ^d	12.3±0.6 ^b	12.0±0.0 ^b	20.3± 0.6^e	-/-	15.7± 0.6 ^c	22.0±0.0^f	-/-	18.2±0.8 ^d	13.0±0.0 ^e	-/-
AG	2	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	4	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	11.0±0.0 ^c	-/-	8.0±0.0 ^{ab}	-/-	-/-
Q	2	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
	4	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Antibiotiques testés															
Doxycycline		36.0±0.0^k	39.0±1.0^f	34.0±0.0 ^g	26.0±0.0 ^e	37.0±0.0 ^g	30.0±0.0 ^e	50.0±0.0 ⁱ	25.0±0.0	30.0±0.0 ^h	44.0±0.0 ^h	28.0±0.0	44.0±0.0 ^h	10.0±0.0 ^e	10.0±0.0
Amoxicilline		30.0±0.0 ⁱ	9.0±0.0 ^a	23.0±0.0 ^e	-/-	22.0±0.0 ^d	12.0±0.0 ^b	22.0±0.0 ^f	-/-	23.0±0.0 ^f	22.0±0.0 ^f	-/-	40.0±0.0 ^g	-/-	-/-
Pefloxacine		33.7±0.6 ^j	35.5±0.5 ^c	-/-	30.5±0.7 ^f	30.0±0.0 ^e	44.0±0.0 ^d	25.0±0.0 ^g	40.0±0.0	22.0±0.0 ^e	44.0±0.0 ^h	46.0±0.0	40.0±0.0 ^g	22.0±0.0 ^g	26.0±0.0
Ciprofloxacine		34.6±0.6 ^k	35.0±0.0 ^e	32.0±0.0 ^f	37.5±0.7 ^g	32.0±0.0 ^f	46.0±0.0 ^e	32.0±0.0 ^h	46.0±0.0	27.0±0.0 ^g	50.0±0.0^j	52.0±0.0	34.0±0.0 ^f	38.0±0.0 ^h	32.0±0.0
Teicoplanine		19.7±0.6 ^h	20.0±0.0 ^c	21.0±0.0 ^d	15.0±0.0 ^e	20.0±0.0 ^c	-/-	22.5±0.7 ^f	-/-	20.0±0.0 ^d	26.0±0.0 ^g	16.0±0.0	25.0±0.0 ^e	-/-	-/-
Optochine		-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

-/-: Pas de zone observée; **PM:** Extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*; **PA:** Extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*; **PT:** Extrait tanique des feuilles de *P. lentiscus*; **PF:** Extrait flavonidique des feuilles de *P. lentiscus*; **AT:** Acide tanique; **AG:** Acide gallique; **Q:**Quercétine.

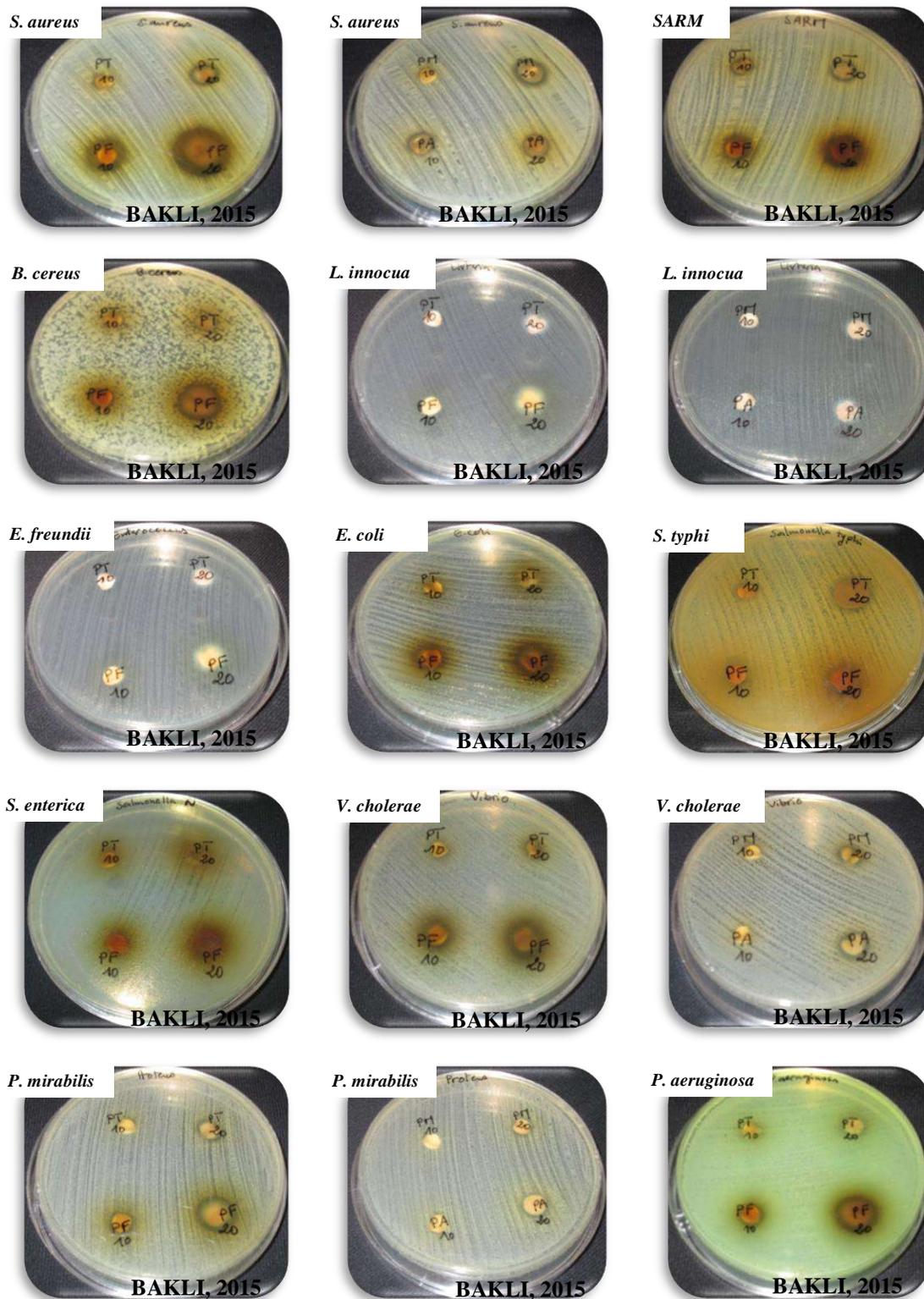


Figure 33: Activité des extraits des feuilles de *P. lentiscus* sur *S. aureus* ; *SARM* ; *B.cereus* ; *L. innocua* ; *E. freundii* ; *E. coli* ; *S. typhi* ; *S. enterica* ; *V. cholerae* ; *P. mirabilis* ; *P. aeruginosa*. **PM₁₀** : extraits méthanolique à 2 mg/disque ; **PM₂₀** : extraits méthanolique à 4 mg/disque. **PA₁₀** : extraits aqueux à 2 mg/disque ; **PA₂₀** : extraits aqueux à 4 mg/disque. **PT₁₀** : extraits tannique à 2 mg/disque ; **PT₂₀** : extraits tannique à 4 mg/disque. **PF₁₀** : extraits flavonoïdique à 2 mg/disque ; **PF₂₀** : extraits flavonoïdique à 4 mg/disque.

III.1.3. Activité antifongique

Seul l'extrait flavonoïdique des feuilles de *P. lentiscus* est actif *vis-à-vis* de la levure *C. albicans* avec des zones d'inhibition allant de 12.7 ± 0.6 mm (2 mg/disque) à 14.0 ± 0.0 mm (4 mg/disque). Dans ce cas l'augmentation de la charge du disque de 2 à 4 mg/disque ne s'est pas traduite par une augmentation significative des diamètres des zones d'inhibition ($P < 0.05$) (Tableau 16).

Tableau 16: Activité antifongique des extraits de *P. lentiscus*, de quelques standards polyphénols et antifongiques

		Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		
		<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. flavus</i>
	mg/disque	Feuilles de <i>P. lentiscus</i>		
PM	2	-/-	-/-	-/-
	4	-/-	-/-	-/-
PA	2	-/-	-/-	-/-
	4	-/-	-/-	-/-
PT	2	-/-	-/-	-/-
	4	-/-	-/-	-/-
PF	2	12.7 ± 0.6^b	-/-	-/-
	4	14.0 ± 0.0^b	-/-	-/-
	mg/disque	Composés phénoliques purs		
AT	2	18.8 ± 1.0^d	-/-	11.3 ± 0.6
	4	25.0 ± 0.0^e	-/-	12.9 ± 0.3
AG	2	-/-	-/-	-/-
	4	-/-	-/-	-/-
Q	2	-/-	-/-	-/-
	4	-/-	-/-	-/-
Antifongiques testés				
N	100 µg	9.3 ± 0.3^a	9.4 ± 0.2	15.5 ± 0.8
C	50 µg	44.3 ± 0.6^f	15.8 ± 0.3	23.9 ± 1.1
A	100 µg	15.6 ± 0.1^c	17.5 ± 0.1	16.2 ± 1.1

-/-: Pas de zone observée; **PM**: Extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*; **PA**: Extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*; **PT**: Extrait tannique des feuilles de *P. lentiscus*; **PF**: Extrait flavonoïdique des feuilles de *P. lentiscus*; **AT**: Acide tannique; **AG**: Acide gallique; **Q**: Quercétine; **N**: Nystatine; **C**: Clotrimazole; **A**: Amphotéricine.

Concernant les champignons filamenteux, *A. niger* et *A. flavus* se sont montrés résistants aux quatre extraits de *P. lentiscus* testés (Tableau 16). L'analyse statistique révèle l'existence de différences significatives entre les extraits des feuilles et le standard actif ($P < 0.05$). *C. albicans* s'est montré la plus sensible à l'acide tannique

avec des diamètres des zones d'inhibition de 18.8 ± 1.0 mm (2 mg/disque) et 25.0 ± 0.0 mm (4 mg/disque). Par contre, *A. niger* s'est révélé le plus résistant (Annexe VII).

Quant à l'acide gallique et la quercétine, ils n'ont aucun effet inhibiteur contre les souches testées (Tableau 16 ; Annexe VI).

Les antifongiques testés ont montré des zones d'inhibition allant de 15.5 ± 0.8 mm à 23.9 ± 1.1 mm *vis-à-vis* d'*A. flavus* et de 9.4 ± 0.2 mm à 17.5 ± 0.1 mm à l'égard d'*A. niger*. Une fois de plus, *C. albicans* s'est montré la plus sensible avec des diamètres de zones d'inhibition allant de 9.3 ± 0.3 mm à 44.3 ± 0.6 mm, obtenue avec le clotrimazole (Tableau 16).

Détermination des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides (CMI/CMB)

D'après les résultats montrés dans le tableau 17, pratiquement tous les extraits méthanoliques des feuilles de *P. lentiscus* ont exhibé une activité inhibitrice et bactéricide variable *vis-à-vis* des souches sensibles, dont la meilleure est obtenue avec l'extrait flavonoïdique qui a montré un effet bactériostatique et bactéricide intéressants à l'égard de *V. cholerae* et *SARM* avec des CMI et CMB de 0.3/0.5 mg/mL de 0.5/1 mg/mL, respectivement.

L'acide tanique s'est montré le standard le plus actif *vis-à-vis* des bactéries et champignons testés (tableau 17). *S. typhi* est la bactérie Gram négative la plus sensible à ce standard qui a exercé un effet bactériostatique à < 50 ug/mL et un effet bactéricide à 3 mg/mL. Il a aussi enregistré des CMI et CMB de 0.1/0.1 mg/mL et 0.1/0.3 mg/mL *vis-à-vis* de *V. cholerae* et *P. mirabilis*, respectivement. Quant aux bactéries Gram positives, il a montré un effet bactériostatique et bactéricide à 0.3 mg/mL contre *SARM*.

L'extrait flavonoïdique exerce un effet fongistatique (0.1 mg/mL) et fongicide (5 mg/mL) similaires à celui de l'acide tanique.

Tableau 17: Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides/fongicide des extraits actifs des feuilles de *P. lentiscus* des standards polyphénols

Souches	CMI et CMB (mg/mL)											
	Composés phénoliques purs				Feuilles de <i>P. lentiscus</i>							
	AT		AG		PF		PM		PA		PT	
	CMI	CMB/CMF	CMI	CMB/CMF	CMI	CMB/CMF	CMI	CMB/CMF	CMI	CMB/CMF	CMI	CMB/CMF
Bactéries Gram+												
<i>S. aureus</i>	0.4	0.4	NT	NT	2	3	3	5	3	5	3	3
SARM	0.3	0.3	NT	NT	0.5	1	NT	NT	NT	NT	2	4
<i>B. cereus</i>	0.3	0.6	NT	NT	1	6	NT	NT	NT	NT	3	5
<i>L. innocua</i>	1	2	NT	NT	5	5	NT	NT	5	6	4	5
Bactéries Gram-												
<i>E. coli</i>	> 10	> 10	NT	NT	4	5	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<i>E. faecalis</i>	1	5	NT	NT	5	5	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<i>P. mirabilis</i>	0.1	0.3	10	10	3	3	2	3	2	7	2	5
<i>P. aeruginosa</i>	0.9	0.9	NT	NT	3	5	NT	NT	NT	NT	> 10	> 10
<i>V. cholerae</i>	0.1	0.1	8	8	0.3	0.5	1	5	0,9	> 10	NT	NT
<i>S. enterica</i>	1	8	NT	NT	5	6	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<i>S. typhi</i>	<50ug	3	NT	NT	0.6	3	NT	NT	NT	NT	>10	NT
Souches fongiques												
<i>C. albicans</i>	0.1	5	NT	NT	0.1	5	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<i>A. flavus</i>	> 10	> 10	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT
<i>A. niger</i>	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT

NT: Non testé ; **PM:** Extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*; **PA:** Extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*; **PT:** Extrait tanique des feuilles de *P. lentiscus*; **PF:** Extrait flavonidique des feuilles de *P. lentiscus*; **AT:** Acide tanique; **AG:** Acide gallique.

Il est important de préciser qu'un résultat observé lors de l'évaluation d'une activité d'un extrait est la composante de deux paramètres: l'activité intrinsèque des produits actifs et leur quantité relative dans l'extrait. Par exemple, une activité avérée d'un extrait peut aussi bien être le reflet d'une faible quantité de constituants très actifs que d'une grande quantité de constituants relativement peu actifs.

Dans la présente étude, les teneurs en composés phénoliques des différentes plantes ont été évaluées, ainsi que leur effet antimicrobien contre des souches bactériennes et fongiques. Les extraits de feuilles de *P. lentiscus* ont été efficaces vis-à-vis des bactéries (Gram⁺, Gram⁻) et *C. albicans*, avec une activité importante de l'extrait flavonoidique contre *S. aureus* et une activité plus au moins importante contre les autres souches, ce qui peut être liée à l'action des composés antibiotiques ou à la présence des toxines métaboliques (Duraipandiyan *et al.*, 2006 ; Salama et Marraiki, 2010). Quelques zones d'inhibition faibles, toutes inférieures à 15 mm, ont été enregistrées avec l'extrait méthanolique, tanique et aqueux de la même plante. Cette différence d'activité entre les extraits des feuilles de *P. lentiscus* peut être due aux différents types de constituants antimicrobiens actifs et/ou à leurs concentrations (Salama et Marraiki, 2010).

L'efficacité optimale d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés à l'origine de cet extrait. Lorsqu'ils sont séparés, ils deviennent inactifs individuellement. Cela est interprété par le fait que les plantes produisent une variété énorme de petites molécules antimicrobiennes ayant un large spectre de structures (Benyagoub *et al.*, 2016; Fertout-Mouri *et al.*, 2016).

L'effet inhibiteur le plus élevé est obtenu par l'extrait flavonoidique des feuilles de *P. lentiscus* qui a inhibé presque toutes les souches testées (Figure 33 ; Tableau 15). Cet extrait, bien qu'il soit relativement pauvre en composés phénoliques, expriment une activité antibactérienne assez importante. Ceci pourrait être lié à la présence de composés dont la nature permet une activité antimicrobienne élevée, malgré leurs faibles taux et/ou à la présence d'autres types de molécules, à savoir les acides phénols et les tanins, voir même à la présence des unités oligomériques des

tanins, connus pour leur effet antibactérien (Navarro *et al.*, 1996 ; Dall’Agnol *et al.*, 2003 ; Taguri *et al.*, 2006). Inversement, d’autres extraits des feuilles, présentent de fortes teneurs en phénols totaux et en tanins, mais exhibent, entre autre, des activités modérées, aussi bien que nulles, ce qui démontre une faible corrélation entre l’activité antibactérienne et la quantité en composés phénoliques.

La différence dans la structure de la paroi bactérienne joue un rôle important dans la susceptibilité des bactéries (Shan *et al.*, 2007 ; Tian *et al.*, 2009). Selon plusieurs auteurs, les bactéries Gram⁻ ont une membrane externe constituée de lipopolysaccharides (LPS) qui limite la diffusion des composés hydrophobes (Yoda *et al.*, 2004 ; Tian *et al.*, 2009 ; Lacombe *et al.*, 2010). De plus, le périplasme contient des enzymes capables de détruire les molécules étrangères introduites de l’extérieur (Klančnik *et al.*, 2010), ce qui rend ces bactéries généralement moins sensibles aux extraits de plantes que les bactéries Gram⁺(Chan *et al.*, 2007; Estevinho *et al.*, 2008; Šamec *et al.*, 2010; Fertout-Mouri *et al.*, 2016). D’ailleurs, tous les extraits de *P. lentiscus* semblent être plus actifs contre les Gram⁺ que les Gram⁻. Ce comportement n’est pas surprenant car les souches Gram⁻ possèdent une résistance intrinsèque, qui est en relation avec la nature de leur membrane externe (Hayet *et al.*, 2008; Klančnik *et al.*, 2010; Benyagoub *et al.*, 2016). En effet, cette dernière rend leurs surfaces fortement hydrophiles tandis que les extrémités lipophiles des acides lipoteichoïques de la paroi des bactéries Gram⁺ facilitent la pénétration des composés hydrophobes (Boussaada *et al.*, 2008), tel que les tanins qui peuvent atteindre la membrane cytoplasmique, et perturbent la force motrice de proton, le transport actif et la coagulation du contenu cellulaire (Tian *et al.*, 2009).

Une fréquence élevée de l’activité, à l’égard des bactéries Gram positif, Gram négatif et champignons, est observée dans la plupart des études, sur les activités antimicrobiennes d’*A. sativum*, rapportées dans la littérature (Triki *et al.*, 2012; Khashan, 2014; Gaherwal *et al.*, 2014; Benmeddour *et al.*, 2015; Strika *et al.*, 2017). Toutefois, dans notre étude, nous n’avons pas trouvé d’activité inhibitrice *vis-à-vis* des microorganismes testés. Cependant, des résultats similaires avec notre étude sont rapportés par Onyeagba *et al.* (2004); Indu *et al.* (2006); Weerasekera *et al.* (2008); Rahman *et al.* (2011); Sulaiman *et al.* (2014).

La littérature rapporte que les activités biologiques liées à *A. sativum* sont cependant dues à l'allicine (Auger *et al.*, 2002; Indu *et al.*, 2006; Najjaa *et al.*, 2011; Baljeet *et al.*, 2015; Fante et Zapata Noreña, 2015; Anton, 2016), qui constitue l'une des molécules clés de l'ail, présentant plusieurs propriétés biologiques, médicinales et organoleptiques (Adetumbi et Lau, 1983; Najjaa *et al.*, 2011). Cependant, la composition chimique et la teneur de l'ail en composés bioactifs, dépend fortement des conditions pré et post-récolte. En outre, les composés organosulfurés responsables des propriétés bioactives de l'ail sont très instables et très sensibles aux divers procédés de traitement (Martins *et al.*, 2016). Ainsi, l'allicine est rapidement décomposée à 37°C. Aussi l'exposition de l'homogénat d'ail pendant 3 h à température ambiante conduit à une décomposition complète de l'allicine. L'allicine pure dans une solution aqueuse est décomposée de 50% sur 4 jours. À des températures élevées (~80°C), l'allicine est complètement décomposée dans les 25 minutes (Zalepugin *et al.*, 2015). En effet, il n'existe pas d'essence d'ail qui soit stockée et sécrétée par des organes caractéristiques et la présence de telle ou telle molécule dans les extraits dépend de leur mode de préparation (Vannereau et Mellouki, 1996).

Les résultats obtenus dans cette étude concernant l'activité antimicrobienne des extraits du fenugrec sont en accord avec ceux obtenus par plusieurs auteurs Weerasekera *et al.* (2008); El-Kamali et EL-Karim (2009); Al-abdeen *et al.* (2010); Walli *et al.* (2015); Chalghoumi *et al.* (2016); Ritika (2016); Sharma *et al.* (2017) qui ont rapporté la résistance des souches microbiennes testées. Contrairement à nos résultats, d'autres auteurs ont observé divers degrés d'activité inhibitrice avec les extraits de la même plante (Nandagopal *et al.*, 2012; Norziah *et al.*, 2015).

Les extraits utilisés dans cette études sont des extraits bruts donc une annulation de l'effet inhibiteur pourrait être expliqué par l'effet d'encombrement par les substances présentes dans l'extrait brut et l'inhibition de la (es) molécule (s) active (s). Ou bien par sa (es) faible concentration au niveau de l'extrait et peut être qu'après fractionnement elle (s) sera (seront) concentrée (s) dans la fraction et moins encombrée par des molécules, permettant ainsi son (leurs) action (Babayi *et al.*, 2004). Ou bien par l'effet de l'agar sur la diffusion des composés actifs qui est du à la diminution du pouvoir migratoire dans la gélose (Natarajan *et al.*, 2005; Proestos *et al.*, 2006). Donc un faible effet inhibiteur observé avec la techniques de diffusion sur

disque ne signifie pas nécessairement l'inactivité des extraits, mais leur caractère hydrophobe empêche leur diffusion uniforme dans les milieux à base de l'agar (Klančnik *et al.*, 2010). C'est notamment le cas de *V. cholerae* qui a présenté des valeurs de CMI/CMB de 0.3/0.5 mg/mL, plus intéressantes que les diamètres des zones d'inhibition avec l'extrait flavonoïdique des feuilles de *P. lentiscus* utilisées dans la présente étude (Tableau 17).

Il est également probable que ces résultats observés soient dus à une différence d'affinité avec les cibles bactériennes. Yoda *et al.* (2004) ont rapporté que la propriété d'agglutination de l'EGCg aux porines et sa faible affinité avec LPS affectent largement sa perméabilité, limitant ainsi son agglutination au peptidoglycane réduisant la susceptibilité des Gram⁻ à l'EGCg. Selon puupponen-Pimiä *et al.* (2005a), le degré d'hydroxylation pourrait affecter l'activité antibactérienne des composés phénoliques purs. La myricétine; flavonol (trois groupements hydroxyle sur le cycle B) était le seul composé qui a montré des effets inhibiteurs important sur la croissance des bactéries lactiques provenant de l'appareil gastro-intestinal humain, aussi bien que pour *Enterococcus faecalis* et *Bifidobacterium*. Il a été rapporté que l'effet inhibiteur des acides hydroxycinnamiques pourrait être lié à leurs chaînes latérales qui pourraient faciliter leur transport à travers la membrane cellulaire. D'autre part, leurs dérivés sont connus pour agir avec les lipides membranaires en neutralisant leur potentiel électrique et en affectant leur métabolisme énergétique (Vaquero *et al.*, 2007a,b).

Il est probable que la résistance observée soit due à un catabolisme spécifique. Ogueke *et al.* (2007) ont rapporté que l'incapacité de l'extrait éthanolique d'*Euphorbia hirta* à inhiber *Salmonella typhi* peut être due à la présence d'un mécanisme de détoxification des principes actifs de l'extrait. De même, il existe des microorganismes capables de tolérer et même de métaboliser les acides hydroxycinnamiques par réduction de leur chaîne latérale. Deschamps *et al.* (1980) cités par Min *et al.* (2008) ont rapporté dans une étude détaillée sur la dégradation du gallotanin par les bactéries aérobies, et quinze isolats bactériens appartenant aux genres *Klebsiella*, *Bacillus* et *Staphylococcus* utilisant le gallotanin comme unique source de carbone. Trois acides cinnamiques (acide coumarique, acide caféique et acide férulique) ont été rapportés pour être métabolisés par des souches de *Lactobacillus plantarum* (Landete *et al.*, 2008).

Plusieurs facteurs peuvent être à l'origine de la différence entre nos résultats et ceux obtenus dans d'autres études. Parmi ces facteurs, la partie de la plante utilisée (Yala *et al.* , 2016), la composition de la plante qui provient de zone différente, les protocoles et les solvants d'extraction utilisés et la nature, la structure chimique et la concentration des molécules bioactives présentes dans l'extrait (Eloff, 1998; Majhenič *et al.*, 2007; Pesewu *et al.*, 2008; Al-abdeen *et al.*, 2010; Salama et Marraiki, 2010; Fertout-Mouri *et al.*, 2016; Ritika, 2016; Tagnaout *et al.*, 2016; Yala *et al.* , 2016), à la température, à la période d'incubation et à la variation génétique de la plante, à l'âge de la plante ou aux facteurs environnementales qui rendent difficile la comparaison des données publiées (Al-abdeen *et al.*, 2010). conditions de séchage et de broyage de la plante (Fertout-Mouri *et al.*, 2016). Le mode d'action des extraits dépend aussi du type de microorganismes, la méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne (Lindberg *et al.*, 2004; Landete *et al.*, 2008; Chalghoumi *et al.*, 2016; Fertout-Mouri *et al.*, 2016; Tagnaout *et al.*, 2016). Yala *et al.* (2016) Ils ont aussi rapporté que le solvant d'extraction affecte considérablement l'activité antimicrobienne ; soit il est à l'origine de l'absence de l'activité de l'extrait. Soit il n'a pas pu retenir les molécules recherchées à cause de sa polarité.

III.2. Activité antioxydante

Les méthodes d'extraction et les procédures analytiques jouent un rôle important dans l'évaluation des activités antioxydantes (Khalid *et al.*, 2014). Et leur évaluation nécessite au moins l'utilisation de deux tests ou bien deux méthodes différentes puisque chaque composé possède un mécanisme d'action propre à lui (Bekara *et al.*, 2016).

III.2.1. Activité scavenger du radical DPPH

Les résultats du pouvoir antiradicalaire, des extraits des trois plantes étudiées et le standard BHT, exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH sont illustrés dans la figure 35. Les profils d'activité antiradicalaire obtenus révèlent que tous les extraits étudiés ont une activité antiradicalaire significativement différente ($P < 0.05$) et concentration dépendante (Figure 34).

Les IC_{50} sont inversement proportionnelles à l'effet scavenger dont les valeurs faibles reflètent un effet antiradicalaire important (Fadili *et al.*, 2017).

En comparant les IC_{50} des différents extraits testés par rapport à celle de la BHT, nous remarquons que l'activité antiradicalaire de tous nos extraits est inférieure à la capacité du piégeage du radical DPPH• de la substance de référence.

Les extraits de *P. lentiscus* se montrent plus performants (Tableau 18). Ils enregistrent les plus faibles valeurs IC_{50} soient 0.45 ± 0.01 mg/mL pour l'extrait flavonoidique, 0.67 ± 0.02 mg/mL pour l'extrait aqueux, 0.68 ± 0.01 mg/mL pour l'extrait méthanolique et 1.99 ± 0.02 mg/mL pour l'extrait tanique. Quant aux extraits de *T. foenum-graecum*, ils présentent les valeurs IC_{50} les plus élevées, cela reflète notamment le plus faible effet antiradicalaire. Tandis que, les extraits d'*A. sativum* n'ont aucune activité antiradicalaire.

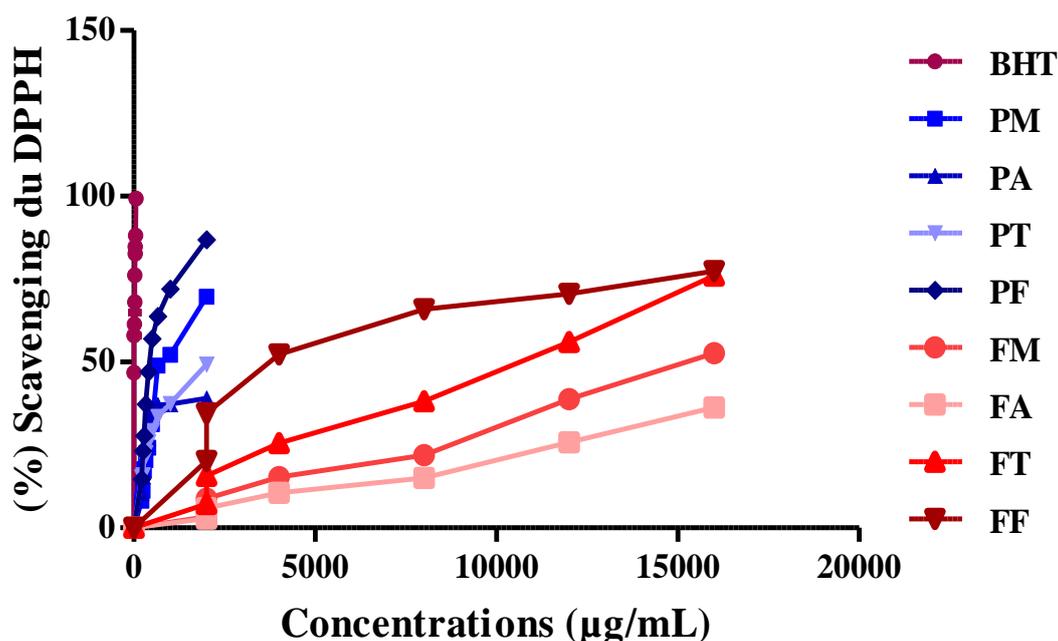


Figure 34: Activité scavenger du radical DPPH par les extraits de plantes étudiées et le standard BHT à différentes concentrations

PM: Extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*, **PA:** Extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*, **PT:** Extrait tanique des feuilles de *P. lentiscus*, **PF:** Extrait flavonoidique des feuilles de *P. lentiscus*, **FM:** Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum*, **FA:** Extrait aqueux des graines de *T. foenum-graecum*, **FT:** Extrait tanique des graines de *T. foenum-graecum*, **FF:** Extrait flavonoidique des graines de *T. foenum-graecum*, **BHT:** Hydroxytoluène butyle.

Tableau 18: IC₅₀ des différents extraits des plantes étudiées et du standard BHT

Les extraits des plantes	IC ₅₀ (mg/mL)
<i>P. lentiscus</i>	
PM	0.68±0.01 ^b
PA	0.67±0.02 ^b
PT	1.99±0.02 ^c
PF	0.45±0.01 ^b
<i>T. foenum-graecum</i>	
FM	1.68±0.12 ^f
FA	28.32±0.37 ^g
FT	13.72±0.07 ^e
FF	9.65±0.05 ^d
BHT	0.004±0.001 ^a

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (P<0.05).

PM: Extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*, **PA:** Extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*, **PT:** Extrait tanique des feuilles de *P. lentiscus*, **PF:** Extrait flavonoïdique des feuilles de *P. lentiscus*, **FM:** Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum*, **FA:** Extrait aqueux des graines de *T. foenum-graecum*, **FT:** Extrait tanique des graines de *T. foenum-graecum*, **FF:** Extrait flavonoïdique des graines de *T. foenum-graecum*, **BHT:** Hydroxytoluène butyle.

Le test de piégeage des radicaux libres en utilisant le radical DPPH comme substrat est largement utilisé pour évaluer la capacité antioxydante des extraits obtenus à partir de plantes médicinales dans lequel un niveau d'inhibition élevé est un indicateur d'un puissant antioxydant (Norziah *et al.*, 2015).

Des études chimiques antérieures sur *P. lentiscus* ont montré la présence de polyphénols, de flavonoïdes et d'huiles essentielles. Les extraits méthanoliques de *Pistacia terebinthus* turque ont montré une activité de piégeage du DPPH de plus de 90% de l'inhibition totale à 100 µg/mL par rapport au BHT (Djidel *et al.*, 2013). La forte activité de piégeage des extraits / fractions de feuilles peut être due à des composés phénoliques qui possèdent une structure chimique idéale pour une activité de piégeage des radicaux libres (Djidel *et al.*, 2013 ; Zbadi *et al.*, 2018). Les propriétés antioxydantes de ces molécules résultent de leur forte réactivité en tant que donneurs d'hydrogène ou d'électrons et de la capacité du radical dérivé de polyphénol à stabiliser l'électron non apparié (Djidel *et al.*, 2013). Il est connu que les composés phytochimiques tels que les composés phénoliques et flavonoïdes sont principalement responsables de cette activité antioxydante (Norziah *et al.*, 2015).

L'étude de l'activité antioxydante des extraits issus de l'espèce *Nigella sativa* L., selon la méthode du piégeage du radical libre DPPH a montré que l'extrait méthanolique possède une activité antioxydante modérée. Cet extrait pourrait donc constituer une alternative à certains additifs synthétiques. Il convient d'attirer l'attention sur le fait que ces résultats sont obtenus *in vitro* seulement. Leur intérêt réside dans le fait qu'ils permettent ainsi de rechercher directement l'activité antioxydante ou prooxydante des composés ou des extraits *in vivo* pour corrélérer les résultats observés dans les deux cas (Talbi *et al.*, 2015).

Les extraits de *P. lentiscus* enregistrent les meilleures teneurs en polyphénols totaux et ils présentent l'activité antioxydante la plus importante par rapport aux extraits de *T. foenum-graecum*. En revanche plusieurs travaux dans la littérature n'ont pas montré de corrélation entre l'activité antiradicalaire et la teneur en polyphénols ; selon Zbadi *et al.* (2018), une forte teneur en polyphénols n'entraîne pas nécessairement une activité antioxydante puissante ; Fadili *et al.* (2017) ont constaté que l'extrait d'acétate d'éthyle des fruits a présenté une activité antioxydante plus élevée que celle des feuilles, ils ont aussi noté qu'il n'y a pas une corrélation entre la teneur des polyphénols et l'activité antioxydante, puisque l'activité antioxydante des fruits avec une teneur en polyphénols (3.33 ± 0.20 mg Eq AG/g) est plus élevée que celle des feuilles avec une teneur en polyphénols (19.76 ± 0.5 mg Eq AG/g) et ils ont conclu que l'activité antioxydante ne dépend pas seulement de la concentration des polyphénols, mais également de la nature et la structure des molécules antioxydantes présentes dans l'extrait et que généralement, les polyphénols ayant un nombre élevé des groupements hydroxyles présentent une activité antioxydante très importante. Nos résultats sont aussi en désaccord avec ceux de Ramdan *et al.* (2017) qui ont rapporté que d'une part, HAE (extraction par macération à chaud) a montré les niveaux les plus élevés en polyphénols et en flavonoïdes. D'autre part, l'EE (extraction par macération par éthanol) possède le meilleur pouvoir de piégeage des radicaux libres. Ceci il a été expliqué en partie par le fait que tous les composés phénoliques inclus dans l'HAE ne contribuent pas à piéger le radical DPPH et que chaque composé phénolique a une activité antioxydante spécifique; d'autre part, par la synergie entre le mélange de composés phénoliques présents dans le même extrait qui ne dépend pas seulement de leur concentration mais aussi de leur structure (Zbadi *et al.*, 2018).

L'activité antioxydante des extraits végétaux dépend essentiellement du taux des polyphénols accumulés durant le cycle végétatif de la plante (Ouzid *et al.*, 2018). Les résultats de notre étude montrent aussi que l'extrait flavonoïdique de *P. lentiscus* (0.45 ± 0.01 mg/mL) possède un pouvoir anti-radicalaire qui a été détecté par la réduction de DPPH, dont on a enregistré un pourcentage d'inhibition qui augmente avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Il faut noter que cette activité anti-radicalaire est moyennement faible par rapport à l'antioxydant de référence : BHT (0.004 ± 0.001 mg/mL). Nos résultats sont en accord avec les études de Bekara *et al.* (2016). Cette activité antioxydante pourrait être expliquée par la présence des polyphénols et de flavonoïdes qui possèdent un pouvoir antioxydant très fort chez les plantes (Bekara *et al.*, 2016 ; Mbaïhougadobé *et al.*, 2017).

Les composés phénoliques sont largement distribués dans les tissus des plantes parmi lesquels se retrouvent de nombreuses molécules antiradicalaires et antioxydantes (Bidié *et al.*, 2011). Les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres. La forte activité antioxydante des plantes serait donc liée à de fortes teneurs en groupement phénoliques (Bidié *et al.*, 2011).

Des études sur la relation entre la structure chimique des composés phénoliques et leur capacité à piéger les radicaux libres ont montré que l'activité de piégeage dépend du nombre, de la position et de la nature des substitués des cycles B et C et du degré de polymérisation (AndziBarhé et FeuyaTchouya, 2016).

III.2.2. Pouvoir réducteur

Tous les extraits de *P. lentiscus*, *T. foenum-graecum* et *A. sativum* possèdent un pouvoir réducteur plus ou moins important ($P < 0.05$) et concentration-dépendant (Figure 35). Les extraits de *P. lentiscus* exercent les meilleures activités réductrices et n'indiquent aucune différence significative avec le standard BHT ($P < 0.05$). Les extraits de *T. foenum-graecum* et *A. sativum* présentent des activités réductrices nettement inférieures que celle du standard BHT. *A. sativum* est l'espèce la moins performante. Les EC_{50} sont représentées dans le tableau 19.

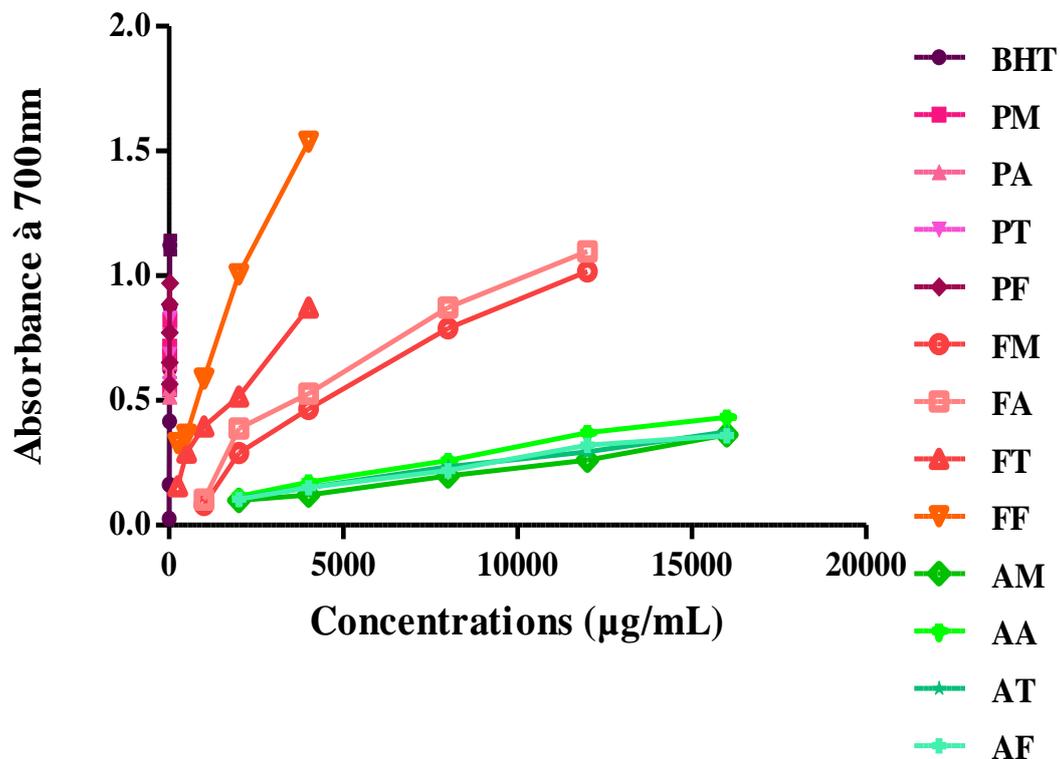


Figure 35: Pouvoir réducteur des extraits de plantes étudiées et le standard BHT à différentes concentrations

PM: Extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*, **PA:** Extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*, **PT:** Extrait tannique des feuilles de *P. lentiscus*, **PF:** Extrait flavonoidique des feuilles de *P. lentiscus*, **FM:** Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum*, **FA:** Extrait aqueux des graines de *T. foenum-graecum*, **FT:** Extrait tannique des graines de *T. foenum-graecum*, **FF:** Extrait flavonoidique des graines de *T. foenum-graecum*, **AM:** Extrait méthanolique des Bulbes d'*A. sativum*, **AA:** Extrait aqueux des Bulbes d'*A. sativum*, **AT:** Extrait tannique des Bulbes d'*A. sativum*, **AF:** Extrait flavonoidique des Bulbes d'*A. sativum*, **BHT:** Hydroxytoluène butyle.

Tableau 19: EC₅₀ des différents extraits des plantes étudiées et du standard BHT

Les extraits des plantes	EC ₅₀ (mg/mL)
<i>P. lentiscus</i>	
PM	0.01±0.00 ^a
PA	0.02±0.01 ^a
PT	0.01±0.00 ^a
PF	0.02±0.01 ^a
<i>T. foenum-graecum</i>	
FM	5.09±0.07 ^d
FA	4.27±0.06 ^c
FT	1.86±0.01 ^b
FF	0.75±0.01 ^a
<i>A. sativum</i>	
AM	24.92±0.12 ^g
AA	18.71±0.37 ^e
AT	23.22±0.58 ^f
AF	23.32±0.57 ^f
BHT	0.016±0.01 ^a

Les valeurs portant les mêmes lettres ne présentent aucune différence significative (P<0.05).

PM: Extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*, **PA:** Extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus*, **PT:** Extrait tanique des feuilles de *P. lentiscus*, **PF:** Extrait flavonoïdique des feuilles de *P. lentiscus*, **FM:** Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum*, **FA:** Extrait aqueux des graines de *T. foenum-graecum*, **FT:** Extrait tanique des graines de *T. foenum-graecum*, **FF:** Extrait flavonoïdique des graines de *T. foenum-graecum*, **AM:** Extrait méthanolique des Bulbes d'*A. sativum*, **AA:** Extrait aqueux des Bulbes d'*A. sativum*, **AT:** Extrait tanique des Bulbes d'*A. sativum*, **AF:** Extrait flavonoïdique des Bulbes d'*A. sativum*, **BHT:** Hydroxytoluène butyle.

La capacité réductrice des composés est l'indicateur majeur de leurs potentiels activités antioxydantes (Dar *et al.*, 2017). La présence des réducteurs dans les extraits favorisent la réduction du fer ferrique (Fe³⁺) en fer ferreux (Fe²⁺) (Sun *et al.*, 2011).

Les résultats de cette activité sont présentés dans la figure 39. Les absorbances de tous les extraits augmentent avec la concentration. En effet, une augmentation de l'absorbance correspond à une augmentation du pouvoir réducteur des extraits testés. Notons que tous les extraits de *P. lentiscus* et l'extrait flavonoïdique de *T. foenum-graecum* présentent des activités antioxydantes similaire à celle du BHT (P<0.05) qui est corrélée à une teneur importante en polyphénols. Ce fait atteste que les extraits renferment des substances pouvant réduire l'ion ferrique en ion ferreux. Les composés phénoliques et les flavonoïdes sont des substances donneuses d'électrons qui jouent un rôle important dans la démonstration de la capacité de réduction. Par conséquent, le pouvoir réducteur et la teneur totale en phénoliques et en flavonoïdes peut être une

raison de l'activité élevée du pouvoir réducteur (Ebrahimzadeh *et al.*, 2018). Cependant, tous les autres extraits présentent des activités antioxydantes inférieures à celles de la molécule de référence utilisée.

Nos résultats sont en accord avec ceux d'Ebrahimzadeh *et al.* (2018) qui ont rapporté que le pouvoir réducteur de tous les extraits a augmenté de manière dose-dépendante à la fois chez les espèces de *Nannochloropsis oculata* et de *Gracilaria gracilis*, et que les extraits d'acétate d'éthyle ont montré une capacité de réduction supérieure à celle de l'extrait méthanolique.

selon Mbaïhougadobé *et al.* (2017), les extraits hydrométhanoliques extraient mieux les composés phénoliques et manifestent une bonne activité antioxydante. Les mêmes auteurs ont aussi montré que le mélange de solvant eau-alcool est un meilleur solvant d'extraction des végétaux que l'alcool.

Le pouvoir réducteur de la crocine, du kaempférol, de la podophyllotoxine, de l'acide ascorbique et de l'acide gallique pourrait être dû aux substitutions poly et mono hydroxyle dans leurs cycles qui possèdent de puissantes capacités de don d'hydrogène. En conséquence, ces réductones peuvent réagir avec les radicaux libres pour stabiliser et bloquer les réactions radicalaires en chaîne (Dar *et al.*, 2017).

Le type de solvant joue un rôle important dans l'extraction des composés phénoliques et des molécules anti-oxydantes (Ouzid *et al.*, 2018) et cette activité pourrait être attribuée majoritairement aux polyphénols présents dans la plante (Bekara *et al.*, 2016).

La formation de l'ajoène est favorisée quand l'allicine est dissoute dans certains solvants. Il est plus abondant et stable dans un macérât d'ail haché dans de l'huile d'olive que dans l'ail simplement écrasé. La cuisson transforme rapidement, en quelques minutes, tous ces composés soufrés en produits de condensation cyclique (vinyldithiine). Il est donc impératif d'utiliser l'ail cru fraîchement écraser ou macéré dans de l'huile pour bénéficier au maximum de ses vertus médicinales telles que la protection cardiovasculaire, la prévention des cancers du côlon et de la prostate par exemple. Les ajoènes auraient une activité contre *Candida albicans*, et un effet antiagrégant plaquettaire, de plus, ils inhibent la synthèse de thromboxane (Gambogou *et al.*, 2019).

IV. Activité des extraits *in vivo*

IV.1. Toxicité aiguë

Cette étude consiste à évaluer la toxicité aiguë *in vivo* des extraits méthanoliques des feuilles de *P. lentiscus*, des bulbes d'*A. sativum* et des graines de *T. fœnum græcum*, administrés par voie orale, selon les lignes directrices de l'Organisation de Coopération et de Développement Economiques (OCDE). Cette procédure a significativement réduit le nombre d'animaux utilisés par rapport au test DL50 traditionnel (Gamboa-Leon *et al.*, 2014).

IV.1.1 Mortalité et comportement des poulets

Pendant toute la durée du traitement, aucun signe de toxicité et aucun comportement anormal n'a été constaté chez les animaux traités par voie orale à la dose administrée (2000 mg/kg de P.C.) pour tous les extraits méthanoliques de *P. lentiscus*, *A. sativum* et *T. fœnum græcum*. Tous les poulets ont survécu à l'issue des 14 jours d'observation.

IV.1.2. Performances de croissance

Le poids vifs et la consommation alimentaire des poulets des différents lots ont été enregistrés tous les jours. Les résultats des paramètres zootechniques obtenus sont rapportés dans la figure 36.

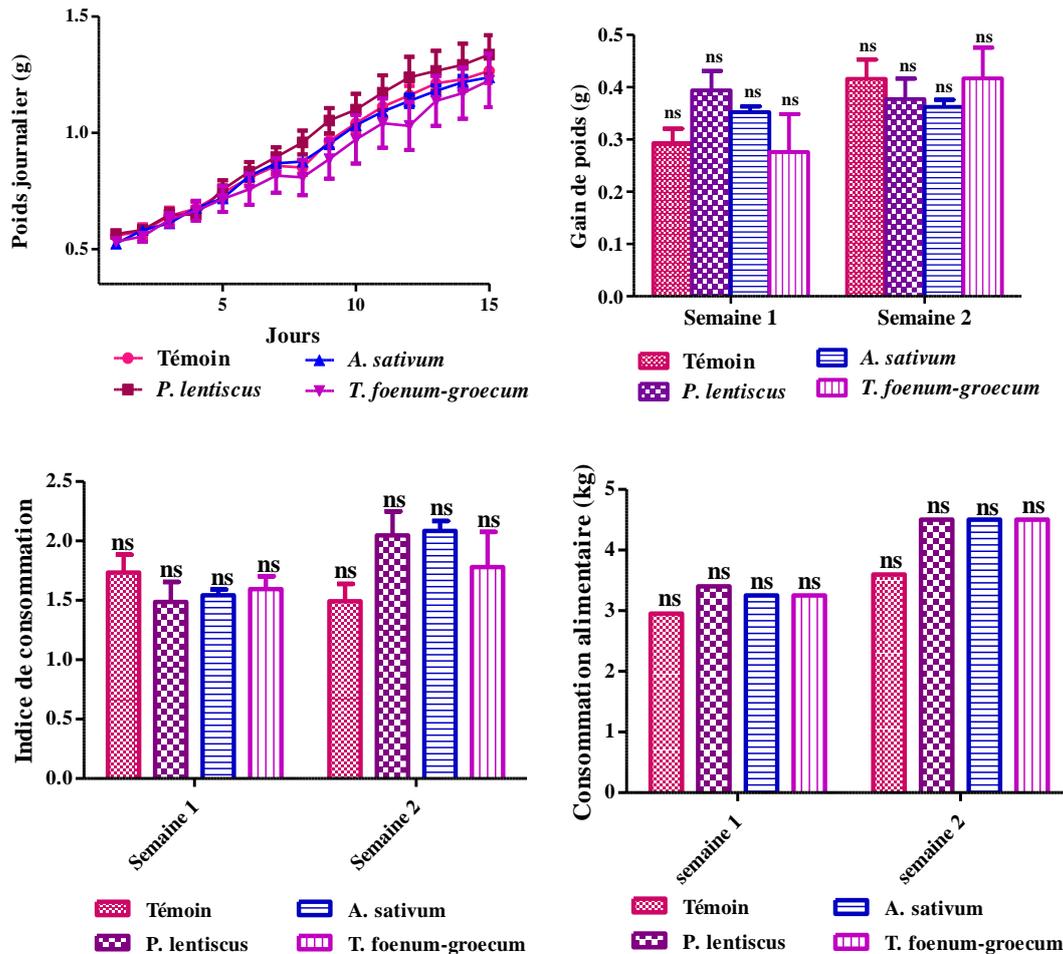


Figure 36: Effet des extraits méthanoliques de *P. lentiscus*, *A. sativum* et *T. foenum-graecum* sur les paramètres zootechniques des poussins en fonction du temps

Le poids des poussins augmentait progressivement en fonction du temps. Cependant, les valeurs de tous les paramètres de croissance mesurés ($P < 0.05$) chez les poulets traités avec les trois plantes et le témoin étaient sensiblement les mêmes et n'ont pas subi de modification significative ($P < 0.05$) pendant les quatorze jours qui ont suivi le traitement (Figure 36).

IV.1.3. Analyse du sang

Les plantes ont été bien documentées pour leurs utilisations médicinales pendant des milliers d'années et les médicaments traditionnels constituent encore une partie importante des traitements habituels de différentes maladies dans différentes parties du monde. Les molécules actives spécifiques des plantes médicinales dans leurs états naturels possèdent une variété d'influences sur les systèmes physiologiques

et biochimiques humains, tout en suscitant des préoccupations quant à leur sécurité. (Lawal *et al.*, 2016).

L'évaluation des paramètres hématologiques fournissent des informations précieuses sur les effets néfastes des composants étrangers sur le sang et expliquent également les fonctions liées au sang des composés chimiques. Il a été établi que l'ingestion orale de plantes médicinales ou de médicaments peut altérer les valeurs normales des paramètres hématologiques (Akanji *et al.*, 2013; Lawal *et al.*, 2016).

IV.1.3.1. Paramètres hématologiques

Les résultats présentés dans le tableau 20 ont montré au niveau de l'hémogramme que les extraits méthanoliques ont été sans effet significatif ($P < 0.05$) sur les éléments figurés du sang dans leur majorité.

Tableau 20: Effet des extraits méthanoliques des feuilles de *P. lentiscus*, des bulbes d'*A. sativum* et des graines de *T. foenum græcum* sur les paramètres hématologiques des poulets après 14 jours de traitement par voie orale

Paramètres	Témoin	L 1	L 2	L 3	P
GR ($10^{12}/L$)	2.428±0.11	2.68±0.10	2,36±0.10	2,47±0.11	ns
GB ($10^9/L$)	234.75±12.58	223.05±13.47	268.10±1.79	224.25±20.63	ns
HB (g/dL)	14.62±0.56	15.97±0.54	14.58±0.44	14.96±0.58	ns
HCT (%)	34.18±1.31	33.17±4.59	33.26±1.14	36.15±1.57	ns
PLT	25.20±6.16	63.0±39.47	37.33±8.58	68.5±16.17	ns
TCMH (pg)	60.44±1.15	59.67±1.02	62.13±2.11	60.67±0.54	ns
CCMH (g/dL)	42.88±1.02	51.77±8.72	43.95±0.80	41.47±0.89	ns
VGM (fL)	141.30±5.10	123.60±16.76	141.30±4.51	146.50±3.21	ns
RDW %	22.88±1.25	26.22±4.65	25.45±1.32	24.78±1.94	ns
RDWa	171.26±13.32	132.93±30.49	169.82±8.65	172.86±6.01	ns

GR: Globules rouges, **GB:** Globules blancs, **HB:** Hémoglobine, **HCT:** Hématocrite, **PLT:** Plaquette, **TCMH:** Taux corpusculaire moyenne en Hémoglobine, **CCMH:** Concentration corpusculaire moyenne en Hémoglobine, **VGM:** Volume globulaire moyen, **RDW:** Indice de distribution des globules rouges (IDR). **L 1:** lot traité par l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus* ; **L 2:** lot traité par l'extrait méthanolique des bulbes d'*Allium sativum* ; **L 3:** lot traité par l'extrait méthanolique des graines de *T. foenum græcum*. Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (erreur standard sur la moyenne, n = 06). **ns:** différence statistique non significative.

Les valeurs des globules rouges, l'hématocrite, l'hémoglobine et le MCHC ont été bien comparés avec les valeurs du lot témoin (Tableau 20). Ceci est une indication que les extraits des trois plantes testées n'ont pas causé la destruction des globules

rouges existant et n'ont pas inhibé ou stimulé la libération d'érythropoïétine dans le rein, qui est le régulateur humoral de la production de globules rouges, l'hémoglobine et les globules rouges sont très essentiels pour transférer les gaz respiratoires (Lawal *et al.*, 2016). Cette constatation indique également que la capacité de transport d'oxygène du sang et la quantité d'oxygène délivrée aux tissus n'ont pas été compromises par l'administration des extraits des plantes testés.

IV.1.3.2. Paramètres biochimiques

La toxicité hépatorénale a été étudiée par le dosage de quelques paramètres biochimiques et par l'analyse histopathologique du rein et du foie. L'ALT (Alanine aminotransférases) est une enzyme cytosolique sécrétée dans les cellules hépatiques d'où elle est libérée dans le sang en cas de nécrose cellulaire hépatique (Dufour *et al.*, 2000 ; Kaneko *et al.*, 2008). C'est une enzyme spécifique au foie, ce qui en fait un important indicateur très sensible de l'hépatotoxicité (Pratt et Kaplan, 2000 ; Al-Habori *et al.*, 2002). L'AST (Aspartate aminotransférases) est également un indicateur de la destruction des hépatocytes même si en plus du foie on la retrouve dans le coeur, les muscles squelettiques, les poumons et les reins (Dufour *et al.*, 2000). Les taux d'ALT et d'AST s'élèvent rapidement lorsque le foie est endommagé pour diverses raisons incluant les nécroses cellulaires hépatiques, l'hépatite, les cirrhoses ainsi que l'hépatotoxicité de certaines drogues (Dufour *et al.*, 2000; Pratt et Kaplan, 2000).

Les extraits méthanoliques des feuilles de *P. lentiscus*, des bulbes d'*A. sativum* et des graines de *T. fœnum graecum* ont été sans effet sur les paramètres biochimiques plasmatique. Ainsi, La concentration de ces deux enzymes (ALAT et ASAT) n'a pas été perturbée au cours de ce travail (Figure 37). Cela montre que le foie et à un degré moindre les muscles n'ont pas été atteints.

Les phosphatases alcalines (PAL) sont souvent utilisées pour évaluer l'intégrité de la membrane plasmique et du réticulum endoplasmique (Akanji *et al.*, 2013). La différence non significative observée par rapport aux valeurs du témoin dans les activités de la PAL après l'administration de la dose unique (2 g/kg P.C.) (Figure 37) des différents extraits a suggéré que l'intégrité et la fonctionnalité du réticulum endoplasmique et de la membrane plasmique n'ont pas été perturbées (Yakubu et Musa, 2012). elle a également indiqué que les extraits n'ont pas inhibé ou activé les activités de la molécule d'enzyme *in situ* (Adeyemi *et al.*, 2015).

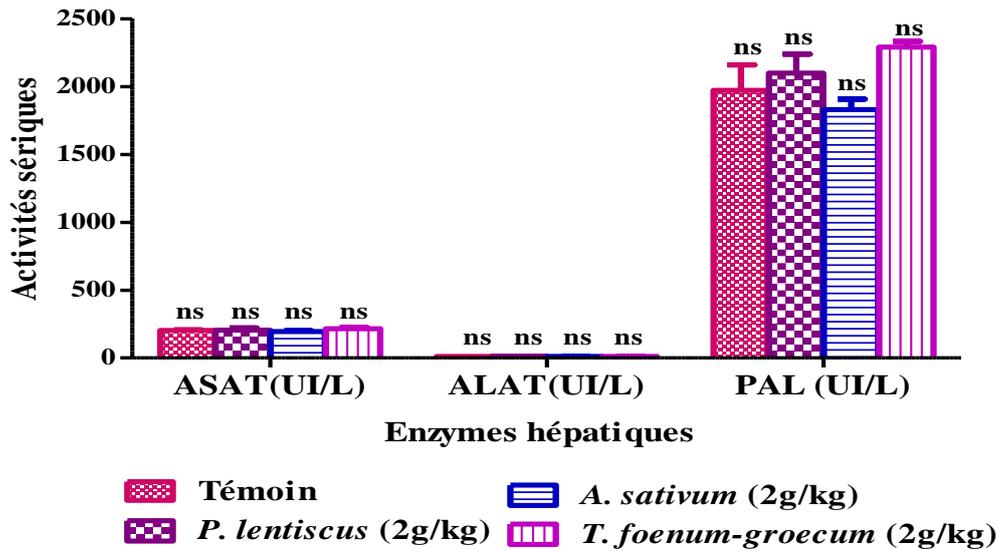


Figure 37: Effet des extraits méthanoliques des feuilles de *P. lentiscus*, des bulbes d'*A. sativum* et des graines de *T. foenum græcum* sur les activités sériques de certaines enzymes hépatique des poussins après 14 jours de traitement par voie orale

ALAT: Alanine aminotransférases, ASAT: Aspartate aminotransférases, PAL: phosphatases alcalines, ns: différence non significative.

Les paramètres plasmatiques tels que l'urée et la créatinine n'ont pas varié significativement ($P < 0.05$), Les valeurs normales de l'urée et de la créatinine suggèrent que ces extraits n'ont pas modifié la structure et les fonctions rénales (Figure 38). En effet, des travaux ont montré que ces valeurs sont élevées en cas d'altération des reins (Angelo *et al.*, 2016).

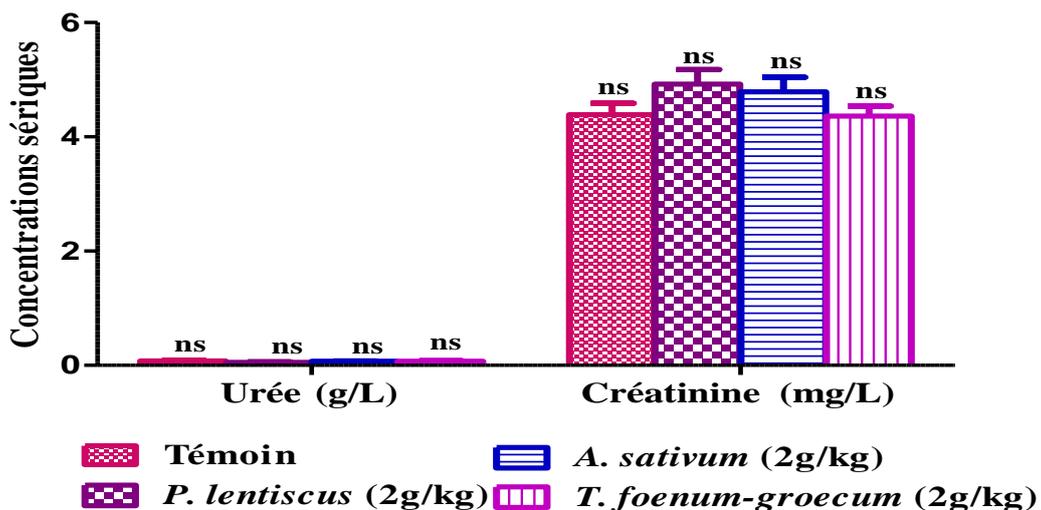


Figure 38: Effet des extraits méthanoliques des feuilles de *P. lentiscus*, des bulbes d'*A. sativum* et des graines de *T. foenum græcum* sur les paramètres rénales des poussins après 14 jours de traitement par voie orale,

ns: différence non significative.

Les dosages de bilirubine totale (bilirubine T), de bilirubine directe (bilirubine D) et glycémie n'ont montré aucune variation significative de ces paramètres par rapport aux témoins ($P < 0.05$) (Figure 39). En effet, des travaux ont montré que les altérations dans les biomolécules sécrétoires, synthétiques et excrétoires du foie, telles que l'albumine, la bilirubine, la globuline peuvent également être utilisées comme indicateurs de dysfonctionnement de l'organes (Yakubu et Musa, 2012 ; Akanji *et al.*, 2013).

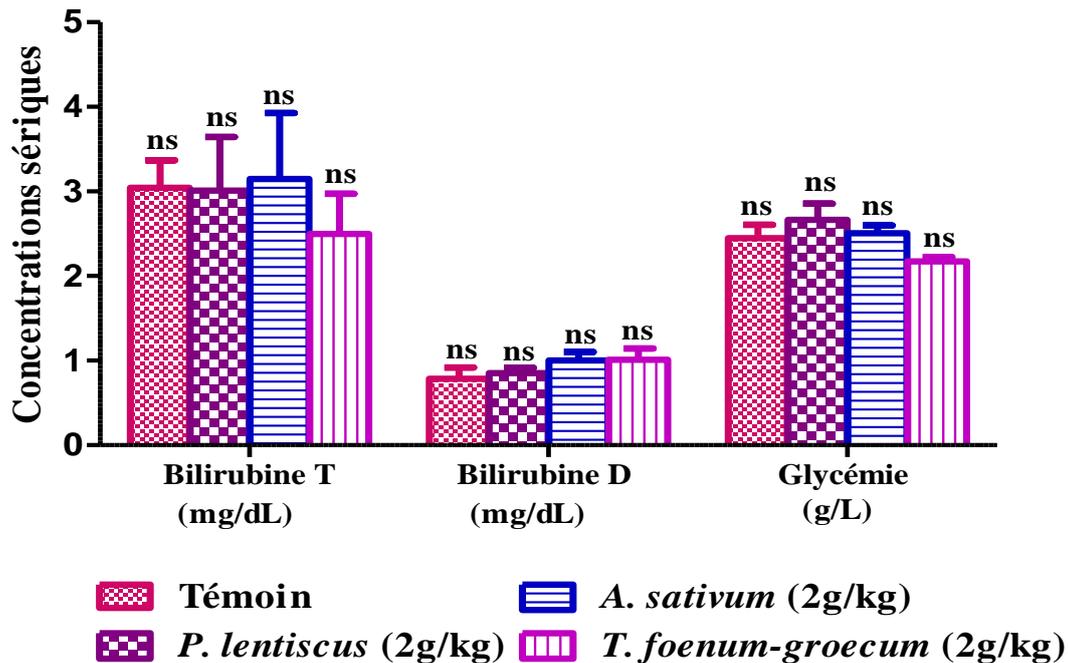


Figure 39: Effet des extraits méthanoliques des feuilles de *P. lentiscus*, des bulbes d'*A. sativum* et des graines de *T. foenum græcum* sur quelques paramètres biochimiques des poussins après 14 jours de traitement par voie orale

Bilirubine T: Bilirubine Totale, **Bilirubine D:** Bilirubine Directe, **ns:** différence non significative.

L'innocuité des extraits des plantes testées a été rapportée par plusieurs auteurs. L'extrait aqueux des feuilles de *P. lentiscus* ont montré une activité hépatoprotective significative contre l'hépatotoxicité induite par le tétrachlorure de carbone (CCl_4) chez les rats en réduisant le taux de bilirubine et l'activité des enzymes hépatiques (Janakat et Al-Merie, 2002; Bozorgi *et al.*, 2013). Attoub *et al.* (2014) ont suggéré un bon profil d'innocuité de l'utilisation orale à court terme de l'huile de *P. lentiscus* en monothérapie dans le traitement de divers troubles cutanés, respiratoires et gastro-intestinaux.

Les travaux de Mikail (2010) ont démontré qu'à la concentration de 2200 mg/kg, l'ail n'a pas d'effet toxique chez les lapins. Dans l'étude de toxicité aiguë par voie orale de l'extrait aqueux d'*A. Sativum*, aucun des animaux n'est décédé au cours du test ou n'a présenté de signes et de symptômes de toxicité jusqu'à une dose de 2000 mg/kg (Gamboa-Leon *et al.*, 2014). L'extrait éthyle acétate d'*A. Sativum* n'est pas toxique aux concentrations testées 300 mg/kg, 2000 mg/kg et 5000 mg/kg de poids corporel des animaux (Njue *et al.*, 2015).

Ghedira *et al.* (2010) avait rapporté que la toxicologie de la graine de fenugrec a été vérifiée et ils ont noté aucune altération des paramètres hépatiques ou hématologiques (Ghedira *et al.*, 2010). L'administration intragastrique d'extrait aqueux de graines de *T. foenum-gracum* n'a montré aucune manifestation toxique jusqu'à 2000 mg/kg (Mequanente *et al.*, 2006). Au cours de l'essai de toxicité aiguë d'extrait éthanolique des graines de fenugrec (*T. foenum graecum*), aucun signe alarmant de toxicité n'a été observé, à l'exception d'une légère augmentation de la respiration et de l'excitation chez les animaux traités avec la dose la plus élevée de 3 g/kg (Al-Ashban *et al.*, 2010).

En conclusion, les extraits de *P. lentiscus*, *A. sativum* et *T. foenum graecum* n'ont pas provoqué de changements dans les paramètres biochimiques et hématologiques. Par conséquent, ces extraits se sont avérés atoxiques et peuvent être considérés comme sûrs et pourraient être explorés comme remède oral à cette dose.

IV.1.4. Histopathologie

IV.1.4.1. Histologie des reins

Les coupes histologiques des reins des trois lots expérimentaux traités ont montré une conservation de l'architecture cellulaire, par rapport au lot témoin.

-Lot témoin: Parenchyme rénal normal, un infiltrat inflammatoire et une péricanaulaire lymphocytaire.

-Lot traité par l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*: Il s'agit d'un parenchyme rénal congestif.

-Lot traité par l'extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum*: Parenchyme rénal congestif, un infiltrat inflammatoire et un amas lymphocytaires.

-Lot traité par l'extrait méthanolique des graines de *T. foenum graecum*: un infiltrat inflammatoire et une péricanaulaire et interstitiel lymphocytaires (Figure 40).

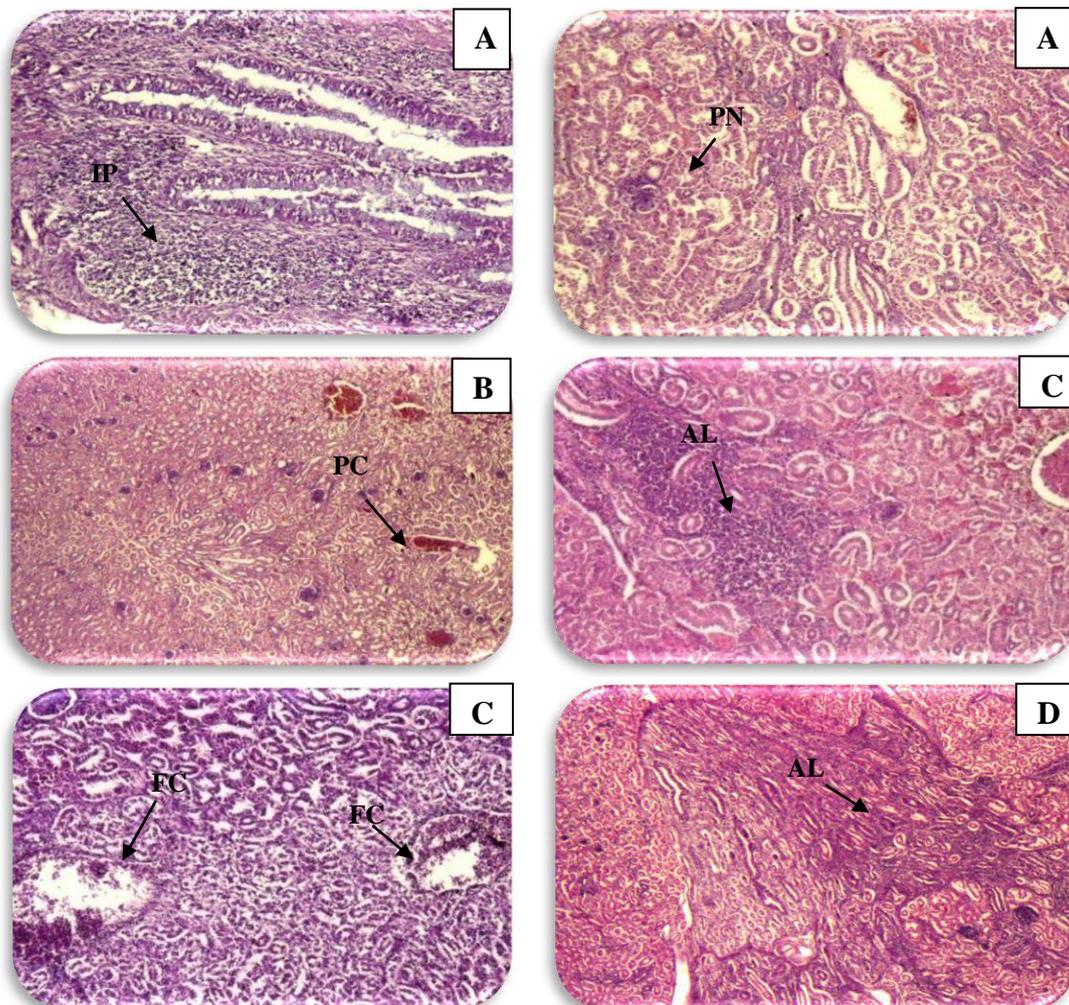


Figure 40: Photographies des coupes histologiques du tissu rénal des poulets. (A) Lot témoin ; IP : infiltrat péricanaulaire, PN : parenchyme normal (H & E X 10) ; (B) Lot traité avec l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus* ; PC : parenchyme congestif (H & E X 4) ; (C) Lot traité avec l'extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* ; AL : amas lymphoïdes, FC : foyer de souffrance cellulaire en bas (H & E X 4) ; (D) Lot traité avec l'extrait méthanolique des graines de *T. foenum graecum* ; AL : amas lymphoïdes (H & E X 4).

IV.1.4.2. Histologie de foie

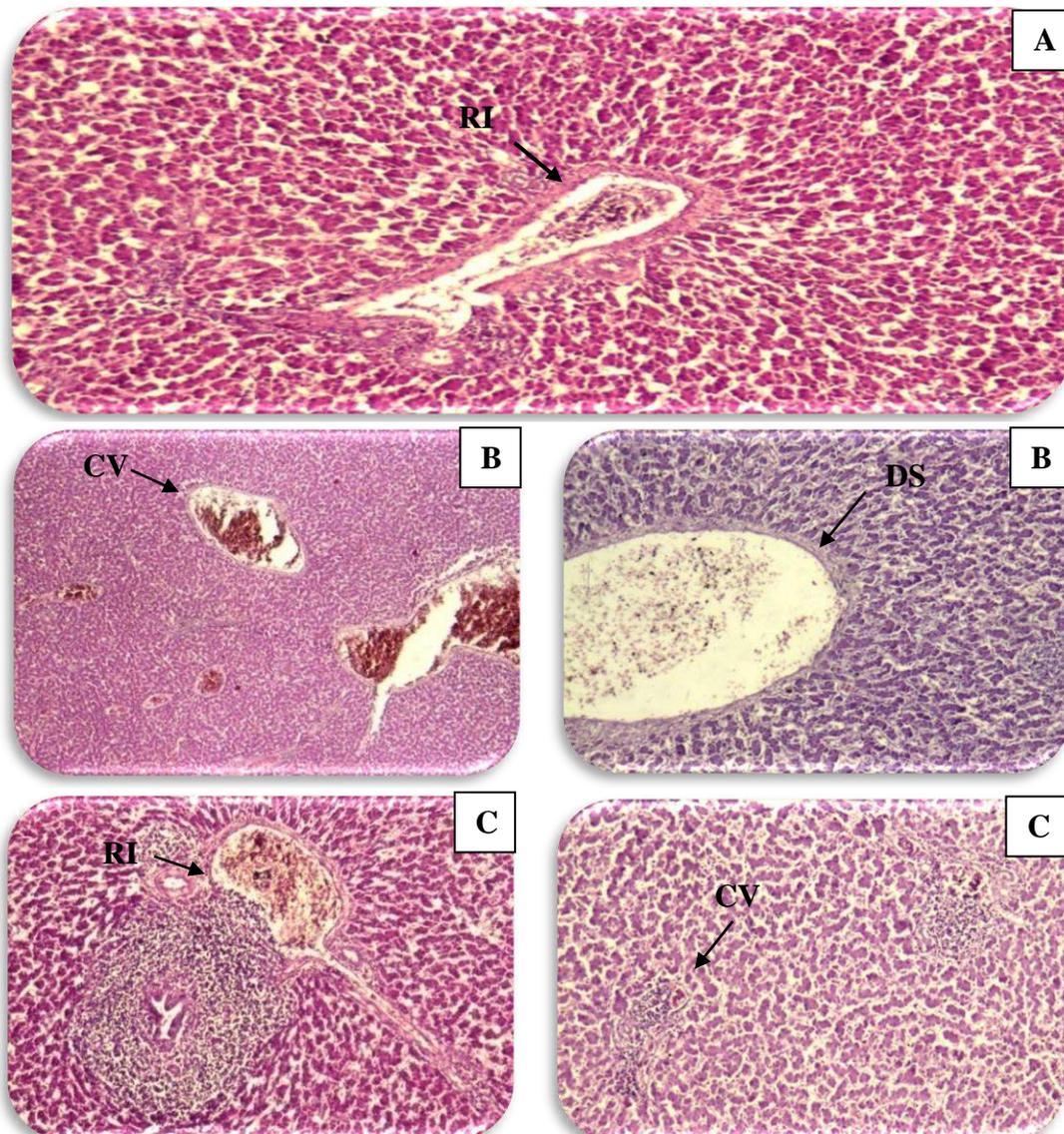
L'observation des coupes histologiques de foie des quatre lots expérimentaux à révélé que le parenchyme hépatique a une architecture grossièrement conservée.

-Lot témoin: réaction portale de faible à moyenne abondance lymphocytaire.

-Lot traité par l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus*: Il s'agit d'une congestion vasculaire, dilatation sinusale, réaction inflammatoire portale de moyenne abondance lymphocytaire.

-Lot traité par l'extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum*: congestion vasculaire, dilatation sinusale, réaction inflammatoire portale de moyenne abondance lymphocytaire.

-Lot traité par l'extrait méthanolique des graines de *T. foenum graecum*: congestion vasculaire, dilatation sinusale, réaction inflammatoire portale de moyenne abondance lymphocytaire (Figure 41).



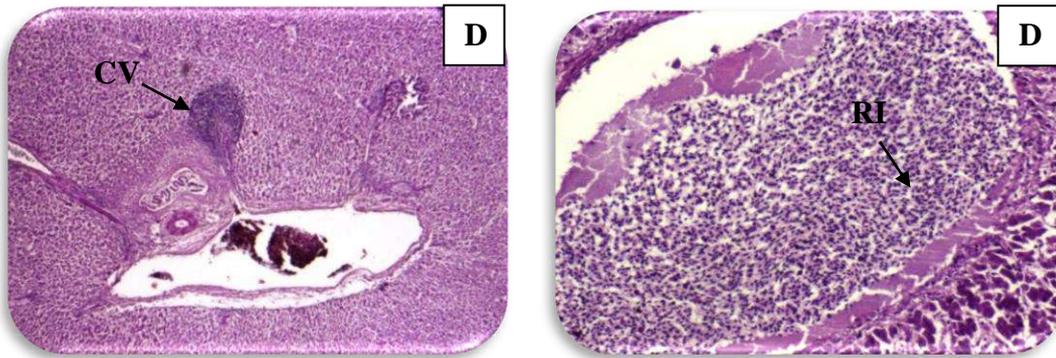


Figure 41: Photographies des coupes histologiques du tissu hépatique des poulets (A) Lot témoin; **RI** : espace porte avec réaction inflammatoire faible (H & E X 10) ; (B) Lot traité avec l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus* ; **CV** : congestion vasculaire (H & E X 4) et **DS** : dilatation sinusale (H & E X 10) ; (C) Lot traité avec l'extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* ; **RI** : réaction inflammatoire portale lymphocytaire (H & E X 10) et **CV** : congestion vasculaire avec éléments inflammatoires (H & E X 10) ; (D) Lot traité avec l'extrait méthanolique des graines de *T. foenum graecum*; **CV** : congestion vasculaire avec **RI** : réaction inflammatoire portale (H & E X 4) et congestion (H & E X 10).

L'observation des coupes histologiques du foie des poulets traités par rapport aux témoins a permis de constater la conservation de l'architecture cellulaire (lobulaire et tubulaire) de ces deux organes, cependant quelques particularités ont été envisagées. Une congestion vasculaire et une dilatation sinusale avec une réaction inflammatoire portale de moyenne abondance lymphocytaire enregistrée sur les tissus hépatiques chez les poulets traités par les extraits méthanoliques des trois plantes avec la dose 2000 mg/kg. De manière générale, les coupes histologiques du foie n'ont pas montré de modifications de la structure par rapport aux coupes témoins (Figure 41). Cependant, l'examen du rein a révélé la présence de parenchyme rénal congestif, lorsqu'on a exploité l'effet de la dose 2000 mg/kg d'extrait méthanolique de *P. lentiscus* par rapport au témoin (Figure 40). De plus, les coupes du rein des poulets traités par l'extrait méthanolique d'*A. sativum* et l'extrait méthanolique de *T. foenum graecum* ont marqué des particularités importantes avec la même dose; une congestion vasculaire autour des vaisseaux, un infiltrat inflammatoire et une péricanalaire et interstitiel lymphocytaire.

Les coupes histologiques du tissu hépatique et rénal des poulets traités n'ont pas montré de changements remarquables par rapport à ceux des poulets témoins. Ces résultats sont en conformité avec les analyses biochimiques effectuées.

Les résultats obtenus nous permettent de constater que le changement dans les tissus hépatiques et rénaux des poulets n'est pas dû à l'administration des trois extraits des plantes étudiées car il a été aussi remarqué au sein du lot témoin.

Récemment, beaucoup d'attention a été concentrée sur le développement des alternatives au test DL₅₀ classique pour réduire le nombre des animaux utilisés ou améliorer les procédures pour rendre le test moins stressant. L'OCDE a adopté plusieurs méthodes alternatives pour déterminer la toxicité aiguë par voie orale. La procédure à dose fixe ne fournit pas une estimation ponctuelle de la DL₅₀ mais elle permet d'identifier l'ampleur du danger des produits chimiques.

IV.2. Activité anticoccidienne

IV.2.1. Identification des espèces *Eimeria spp.*

L'identification précise d'*Eimeria spp.* est importante non seulement pour le diagnostic de la maladie, mais aussi pour la gestion de l'infection subclinique. Le développement et l'application de stratégies de contrôle efficaces, et l'étude biologique et épidémiologique. Traditionnellement, l'identification d'*Eimeria spp.* a été fondée sur les caractéristiques morphologiques des oocystes, la biologie parasitaire, les signes cliniques des animaux atteints et les lésions macroscopiques typiques évaluées lors de la nécropsie (Güven *et al.*, 2013 ; Gyorke *et al.*, 2013). Cependant, dans un milieu naturel, les infections mixtes de différentes *Eimeria spp.* sont fréquemment rencontrés et les caractéristiques morphologiques et les changements pathologiques peuvent se chevaucher, entravant le diagnostic précis et compromettant la détection d'une maladie subclinique. Ainsi, il a été suggéré que ces méthodes ne devraient pas être utilisées isolément pour différencier les espèces d'*Eimeria*. Les alternatives comprennent des approches moléculaires ou informatiques (Kumar *et al.*, 2014).

a. Morphométrie

La morphométrie est une approche pour l'identification des parasites dans le cas d'*Eimeria spp.* du poulet 50 oocystes sporulés ont été pris au hasard, 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.* (1978), on a pu identifier trois espèces d'*Eimeria sp.* avec les proportions suivantes: *E. tenella* (68%), *E. mitis* (18%) et *E. acervulina* (14%) (Tableau 21). Ces proportions témoignent de la dominance de la coccidiose cæcale essentiellement due à *E. tenella*. Ces résultats sont appuyés par les observations des intestins et cæca prélevés.

Les espèces d'*Eimeria* ont été identifiées en combinant la taille des oocystes, leur localisation dans l'intestin et l'aspect des lésions (Conway et McKenzie, 2007 ; McDougald et Fitz-Coy, 2008). Les poulets infectés ont montré des signes typiques de la coccidiose cæcale, y compris la diarrhée sanglante et la perte de poids. La nécropsie a montré un cæca élargi et distendu rempli de sang. *E. tenella* a été identifié par son site de prédilection (cæca), ses lésions caractérisées (saignement), ses oocystes ovoïdes (Figure 42) et la présence de grappes de grands schizontes dans le cæcum (Adamu *et al.*, 2013).

Tableau 21: Mesures (μm) de la longueur, la largeur et du rapport (longueur/largeur) des oocystes

Oocyste	Longueur	Ecart type	Largeur	Ecart type	rapport
1	22.14	0.59	18.96	0.17	1.16
2	22.68	0.17	19.50	0.08	1.16
3	21.96	0.33	18.60	0.17	1.18
4	23.88	0.17	20.58	0.25	1.16
5	23.94	0.08	20.46	0.08	1.17
6	20.04	0.33	17.10	0.42	1.17
7	23.88	0.17	20.58	0.08	1.16
8	22.92	0.17	19.50	0.08	1.17
9	22.86	0.08	19.62	0.08	1.16
10	22.38	0.25	19.14	0.08	1.16
11	20.94	0.08	18.12	0.17	1.15
12	21.02	0.29	17.87	0.09	1.17
13	21.02	0.29	18.21	0.72	1.15
14	22.14	0.42	18.96	0.00	1.16
15	22.56	0.17	19.38	0.08	1.16
16	22.08	0.33	18.72	0.17	1.17
17	23.76	0.17	20.46	0.25	1.16
18	21.18	0.08	18.36	0.17	1.15
19	20.28	0.33	17.34	0.42	1.17
20	22.56	0.67	19.44	0.17	1.16
21	21.03	0.04	18.24	0.08	1.15
22	21.19	0.10	18.33	0.38	1.15
23	20.10	0.25	17.04	0.50	1.18
24	20.34	0.08	17.34	0.25	1.17
25	20.58	0.42	17.52	0.50	1.17
26	21.09	0.03	18.00	0.17	1.17
27	20.37	0.29	17.37	0.04	1.17
28	20.37	0.03	17.37	0.03	1.17
29	21.08	0.11	18.01	0.15	1.17
30	21.07	0.11	18.21	0.12	1.15
31	23.82	0.25	20.52	0.17	1.16
32	23.70	0.08	20.49	0.13	1.15
33	21.33	0.13	18.19	0.11	1.17
34	21.20	0.11	18.30	0.09	1.15
35	17.94	0.08	15.06	0.08	1.13
36	17.00	0.00	14.72	0.17	1.10
37	16.78	0.42	14.32	0.17	1.12
38	19.28	0.09	16.03	0.27	1.14
39	18.80	0.27	16.40	0.00	1.10
40	16.11	0.09	13.38	0.09	1.12
41	16.98	0.09	14.19	0.18	1.13
42	17.24	0.27	14.77	0.46	1.11
43	15.58	0.04	13.86	0.23	1.14
44	19.22	0.25	14.88	0.17	1.25
45	18.33	0.09	14.65	0.64	1.25
46	19.60	0.09	15.44	0.04	1.25
47	19.79	0.04	14.54	0.09	1.25
48	19.33	0.09	14.65	0.64	1.25
49	20.10	0.08	16.08	0.17	1.25
50	19.35	0.21	15.18	0.08	1.25



Figure 42: Oocystes d'*Eimeria* observés sous microscope optique (Objectif X40)
(A) Oocyste non sporulé; (B) Oocyste sporulé; (C) Sporocystes Libérés

b. PCR nichée

Afin d'identifier les espèces, la technique de PCR nichée est utilisée (Figure 43). L'ADN des coccidies présents dans l'isolat est amplifié en présence d'amorces spécifiques complémentaires de la séquence ITS1 comprise entre les gènes codant pour les ARN ribosomiaux 18S et 5.8S des *Eimeria*. Un marqueur de taille et des témoins positifs de chaque espèce (ADN d'une souche pure) sont utilisés pour s'assurer de la fiabilité de la réaction.

La PCR nichée utilisant l'amorce ITS-1 a été normalisée avec l'ADN pur des sept espèces d'*Eimeria*. Dans notre échantillon, la PCR nichée basée sur l'ITS-1 a identifié d'une manière semi quantitative *E. acervulina*, *E. mitis* et avec la dominance *E. tenella* (Figure 44). De même, *E. mitis* a été identifié par des amorces spécifiques à la fois pour *E. mitis1* et *E. mitis5*.

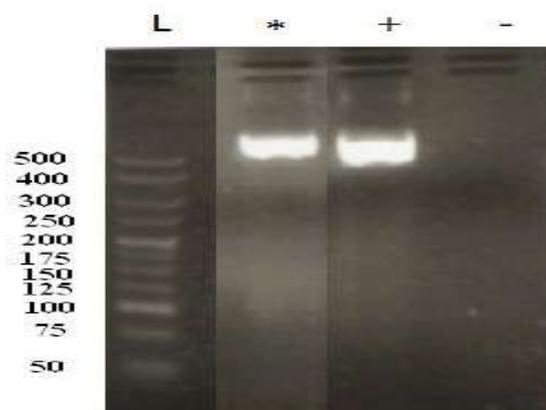
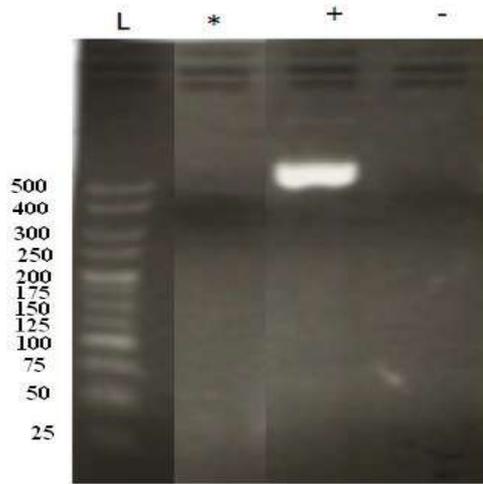
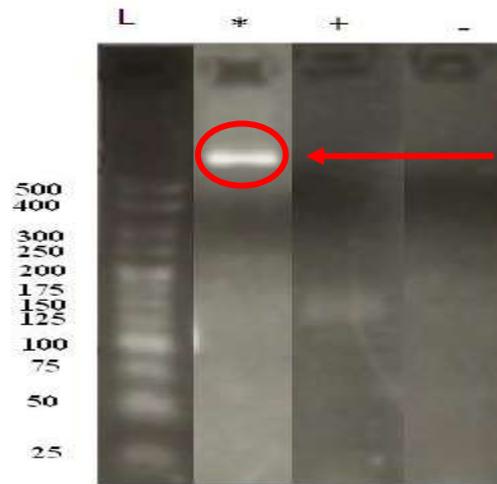


Figure 43: Électrophorèses sur gel d'agarose de produits d'amplification par PCR de l'ADN ribosomal ITS1 à partir d'échantillons d'ADN d'oocystes d'*Eimeria spp.* 1^{er} étape de la PCR nichée avec le premier couple d'amorce= PCR primaire spécifique au genre = Réaction positive. * = Échantillon, + = contrôle positif, - = contrôle négatif, L= marqueur de poids moléculaire.

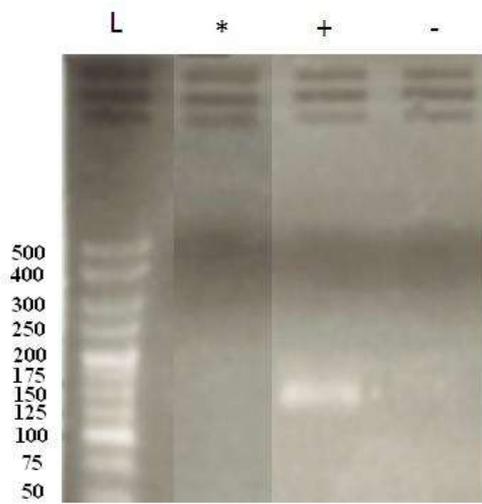


E. brunetti

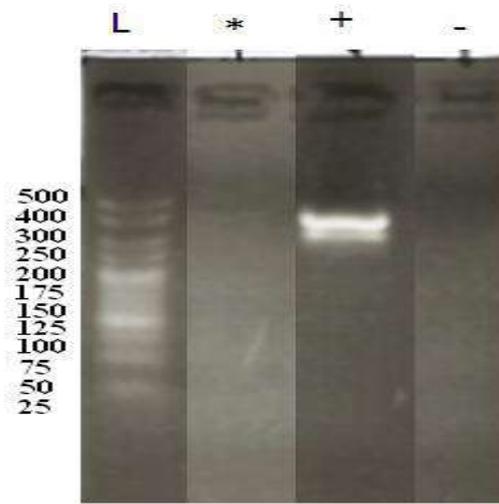


Amplification non spécifique

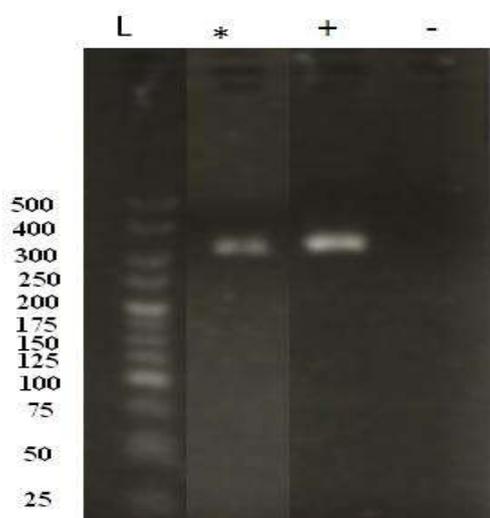
E. praecox



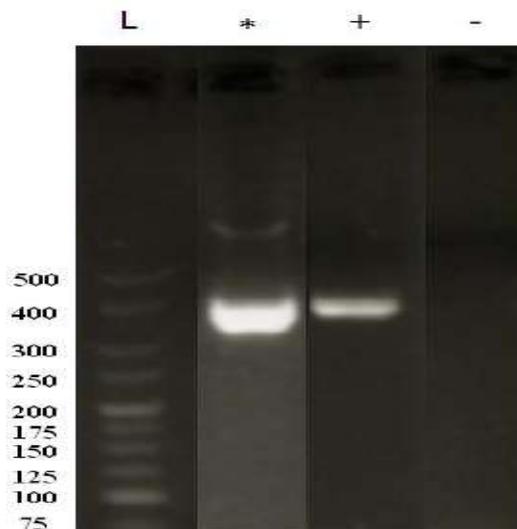
E. maxima



E. necatrix



E. acervulina



E. tenella

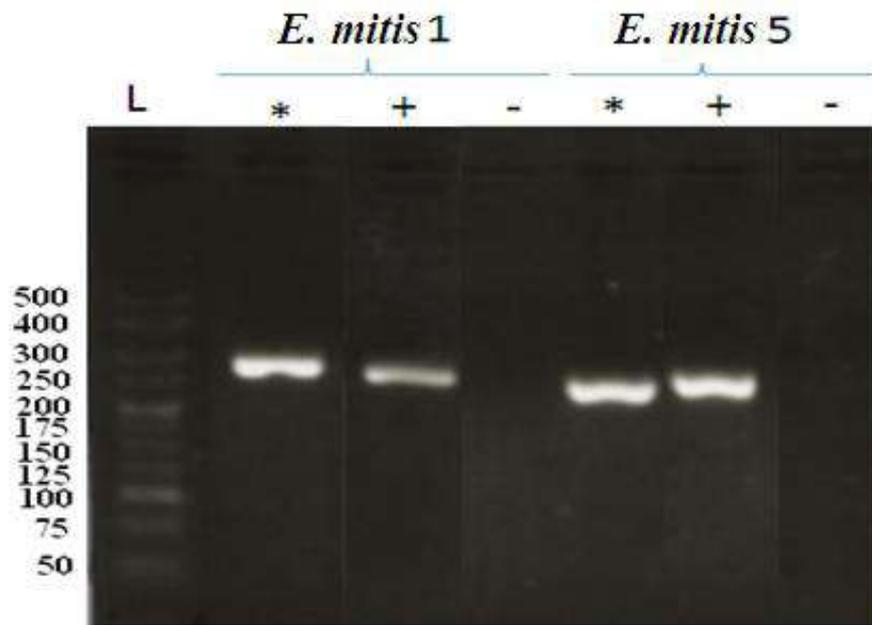


Figure 44: Électrophorèses sur gel d'agarose de produits de PCR spécifiques aux espèces d'*Eimeria*.

Réaction de polymérisation en chaîne basée sur l'amplification des séquences spécifiques aux espèces, ITS-1 de l'ADNr génomique, (2^{ème} étape de la PCR nichée avec le deuxième couple d'amorce= PCR secondaire spécifiques de l'espèce). * = Échantillon, + = contrôle positif, - = contrôle négatif, L= marqueur de poids moléculaire.

Réaction positif : *E. acervulina*, *E. mitis* et *E. tenella*.

Réaction négatif : *E. necatrix*, *E. maxima*, *E. brunetti* et *E. praecox*.

Le fait que la région ITS1 soit moins conservée que les gènes ARNr, montrant des variations dans la séquence et la longueur de l'ADN, rend la conception des amorces directe et réduit le risque de réactions croisées entre différentes espèces (Patra *et al.*, 2010).

Le résultat de cette étude démontre clairement que le test de PCR basé sur l'amplification des régions ITS1 d'*Eimeria* chez la volaille peut être utilisé pour la détection et l'identification du parasite. Cette technique de PCR, par rapport aux méthodes conventionnelles, est beaucoup plus rapide et techniquement plus facile à utiliser. Sa sensibilité est beaucoup plus élevée car elle permet de détecter la présence de l'ADN génomique d'au moins 10-20 oocystes (Patra *et al.*, 2010 ; Kumar *et al.*, 2014).

IV.2.2. Paramètres cliniques

a. Signes cliniques

Les poulets du lot 1 (Non Infesté Non Traité) ne présentent aucun signe de maladie. Par contre, ceux des lots infectés présentent tous les signes cliniques de la coccidiose qui sont apparus à partir du 4^{ème} jour post-inoculation (P.-I.), caractérisés par une prostration avec position en boule, plumes ébouriffées, ailes tombantes et œil fermé et d'un signe clinique très facilement reconnaissable de diarrhée sanglante caractéristique de la coccidiose cæcale (Figures 45). Ces résultats sont en accord avec ceux de Patra *et al.* (2010). Les signes cliniques observés, et le moment de leur apparition après l'inoculation (4^{ème} jour P.-I.), correspondent à une infection coccidienne cæcale à *Eimeria tenella* (Drăgan *et al.*, 2010).



Figure 45: Signes cliniques observés après l'inoculation par les oocystes d'*Eimeria sp.* (A) Frilosité et abattement des poulets, (B) Fientes sanglantes

Après autopsie des cadavres frais, on a observé des lésions hémorragiques au niveau des caeca avec un score de 4. La coccidiose cæcale est due à *E. tenella* (Hachimi *et al.*, 2008 ; Patra *et al.*, 2010). On a des saignements et un amas central plus ou moins dur formé par une importante accumulation de sang et de desquamations à la surface de la muqueuse.

L'intensité des symptômes était variable suivant les lots et les signes cliniques les plus sévères ont été observés dans le lot 2 (Infecté Non Traité) et lot 9 (Infecté Traité à l'extrait méthanolique des bulbes d'ail). Cependant, les manifestations cliniques étaient moins prononcées chez les animaux recevant le toltrazuril suivi de ceux des lots traités avec la plante d'ail (lot 5: ITAP), extrait du fenugrec (lot 10: ITFE) et association des extraits des trois plantes (lot 11: ITAE).

b. Mortalité

La surveillance des poulets a permis de noter des mortalités aussi bien dans le lot témoin infecté non traité que ceux traités.

Les mortalités sont survenues à J6 et J8 après l'inoculation et ont été observées dans tous les lots infestés. Selon Patra *et al.* (2010), le taux de mortalité le plus élevé se situe entre le sixième et le huitième jour après l'infection, en raison de la perte excessive de sang. Les taux de mortalité enregistrés sont présentés dans le tableau 22.

Tableau 22: Taux de mortalité en période post-infection (J6 et J8 P.-I.)

Lots expérimentaux	Non infectés	Infectés										
	L1	L2	L3	L4	L5	L6	L7	L8	L9	L10	L11	L12
	NINT	INT	ITM	ITPP	ITAP	ITFP	ITASP	ITPE	ITAE	ITFE	ITASE	ITT
Nombre de sujets morts	0	10	6	6	5	6	6	8	10	5	5	3
Taux de mortalité (%)	0	83.33	50	50	41.66	50	50	66.66	83.33	41.66	41.66	25

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), **L2:** Infecté Non Traité (INT), **L3:** Infecté Traité au monensin (ITM), **L4:** Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), **L5:** Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), **L6:** Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-graecum* (ITFP), **L7:** Infecté Traité avec l'ASsociation de Plante (ITASP), **L8:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), **L9:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), **L10:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* (ITFE), **L11:** Infecté Traité avec l'ASsociation des Extraits des plantes (ITASE), **L12:** Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

Les résultats obtenus montrent que dans le lot témoin non infecté non traité, aucun cas de mortalité n'a été enregistré (Tableau 22). Par contre, dans tous les lots infestés la mortalité a été observée mais avec des taux variables allant de 25% à 83.33%. La présence des cas de mortalité dans tous les lots confirme la pathogénicité et la virulence de l'espèce inoculée (Abu-Akkada et Awad, 2012). Le taux de mortalité le plus élevé a été observé dans le lot 2 (INT) et le lot 9 (ITAE) où l'on a enregistré un taux de 83.33%. Le taux le plus faible a été obtenu avec le lot 12 (ITT) suivi par lot 5 (ITAP), lot 10 (ITFE) et lot 11 (ITASE).

Eimeria tenella est l'espèce la plus pathogène et la plus redoutée par les aviculteurs puisqu'elle peut causer une mortalité de 20% ou plus en 2 ou 3 jours (Mpoame *et al.*, 2003).

La coccidiose est une maladie qui a un impact économique important sur l'industrie de la volaille, entraînant une mortalité élevée (Abbas *et al.*, 2010 ; Yang *et*

al., 2015). Des études épidémiologiques ont montré que la mortalité des poulets atteints peut aller de 5 à 70% (Zhang *et al.*, 2012). *E. tenella*, agent de la coccidiose cæcale, est l'espèce la plus pathogène (Drăgan *et al.*, 2014) et la plus redoutée par les aviculteurs puisqu'elle peut causer une mortalité importante chez les poulets atteints (Conway et McKenzie, 2007) qui est de 20% ou plus en 2 ou 3 jours (Mpoame *et al.*, 2003).

Selon Abu-Akkada et Awad (2012), le taux d'infection et de mortalité causé par *E. tenella* chez le poulet sont de 20 à 100% et de 20 à 60%, respectivement. La sévérité des deux signes dépend de la génétique du poulet et des espèces d'*Eimeria*. Par exemple, la mortalité des poulets causée par différents isolats d'*E. tenella* peut atteindre jusqu'à 40% (Dakpogan *et al.*, 2012). Dans une autre étude menée par Yang *et al.* (2015) l'isolat d'*E. tenella*, utilisé a causé ~40% de mortalité et cette mortalité élevée a été attribuée à la virulence de cet isolat. Amer *et al.* (2010) ont rapporté un taux de mortalité totale de 90% chez des poussins mâles âgés de 14 jours causé par des oocystes d'espèces *Eimeria*. Shumard et Callender (1968) in Conway et McKenzie (2007) ont rapporté que les niveaux d'infection dans neuf essais avec *E. tenella* ont entraîné une mortalité élevée (35% -100%) dans les lots infectés non traités. Une autre étude réalisée par Ryley et Wilson (1975) in Conway et McKenzie (2007), dans une série d'expériences, ont rapporté qu'un inoculum de 4×10^5 oocysts/sujet d'*E. tenella* a entraîné une mortalité de 94% dans les lots infectés non traités. Il en va de même dans nos observations où le taux de mortalité le plus élevé a été enregistré dans le lot 2 (INT) et lot 9 (ITAE) qui est de 83.33%.

Il est à noter que les taux de mortalité enregistrés chez le lot 3 (ITM) infecté traité au monensin, lot 4 (ITPP) infecté traité avec la plante *P. lentiscus*, lot 6 (ITFP) infecté traité avec la plante fenugrec et lot 7 (ITAP) infecté traité avec l'association de plante, sont comparables (50%), de même pour le lot 5 (ITAP), lot 10 (ITFE) et lot 11 (ITAE) ; le taux de mortalité obtenu est de 41.66%. Un effet anticoccidien semble se manifester dans le lot 8 (ITPE) infecté traité avec l'extrait méthanolique de *P. lentiscus* avec un taux de mortalité plus au moins élevé (66.66%). La diminution du taux de mortalité dans les lots supplémentés semble confirmer l'effectivité des plantes entières et des extraits sur le contrôle du développement d'*E. tenella*, Par contre, tous les poulets contaminés, supplémentés ou non, sont cliniquement très atteints. Les molécules testées n'ont entraîné aucune diminution de la morbidité (Bichet *et al.*, 2003).

Vu l'apparition de mortalité dans le lot 3 (ITM) traité au monensin et le lot 12 (ITT) traité au toltrazuril. Un échec thérapeutique, dont les causes sont multiples, pourrait être incriminé dans ce cadre ; Une éventuelle résistance de la souche étudiée n'est pas à exclure, en raison de l'émergence du phénomène (Shirley et Lillehoj, 2012 ; Abbas *et al.*, 2017). Aussi, la sévérité de l'exposition au test est importante car la résistance à l'ionophore était souvent efficace avec une coccidiose légère mais inefficace à une exposition modérée ou sévère (Abbas *et al.*, 2010).

Dans le lot 3 (ITM) traité au monensin, le taux de mortalité de 50% est comparable à celle des lots 4 (ITPP), 6 (ITFP) et 7 (ITASP) est inférieur à celui enregistré dans les lots 5 (ITAP), 10 (ITFE), 11 (ITASE), 12 (ITT) (Tableau 22). On pourrait conclure que les plantes pourraient constituer une source potentielle de protection contre la coccidiose (Abbas *et al.*, 2010).

La sévérité de l'infection coccidienne peut varier avec l'isolat, le nombre d'oocystes ingérés et l'état immunitaire de l'oiseau (Adamu *et al.*, 2013). La diminution du taux de mortalité avec les différentes plantes semble confirmer l'effectivité de ces dernières sur le contrôle du développement d'*E. tenella*, en même temps qu'elle relève l'importance du type de préparation du produit traitant.

III.2.3. Paramètres zootechniques

a. Consommation d'aliment

Les quantités cumulées ingérées au cours de la période de l'infection (de J0 à J7 P.-I.) sont présentées dans la figure 46.

On note une diminution de la consommation alimentaire dans les lots infectés, bien que variable d'un groupe à l'autre, cette variabilité semble être liée au degré d'infestation parasitaire. En comparaison avec le lot témoin non infecté correspondant, les quantités cumulées d'aliment ont connu une diminution dans l'ensemble des lots infectés. Les poulets du lot témoin 1 (NINT) ont consommé la quantité d'aliment la plus élevée (520.83 g/sujet), qui est numériquement supérieur à la quantité d'aliment consommé (242.50 g/sujet) par le lot 2 (INT) au cours de cette période de J0 à J7 P.-I. qui est traduite par une mauvaise conversion alimentaire. Il n'y a pas de différence significative ($P < 0.05$) entre tous lots infectés excepté le lot 1 (NINT) qui est significativement plus élevée.

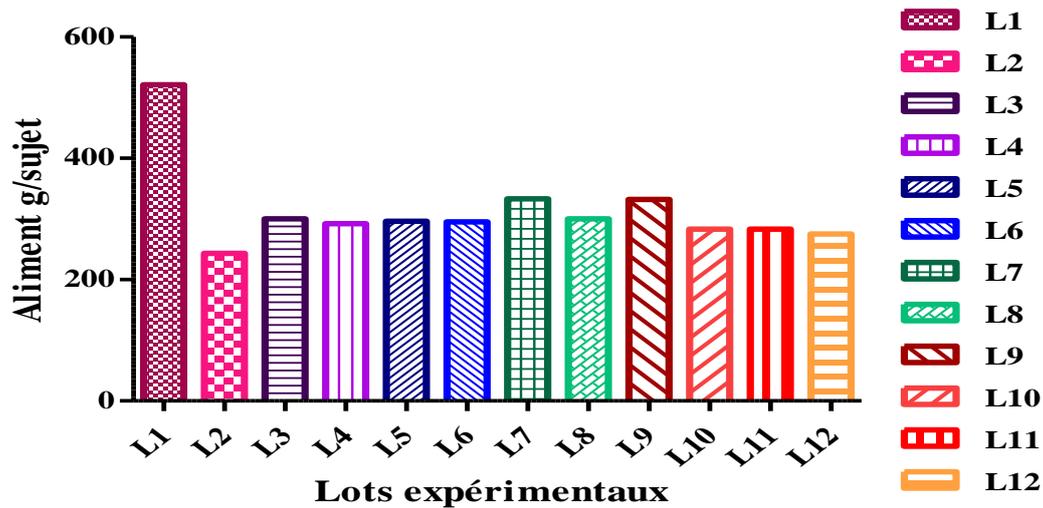


Figure 46: Consommation alimentaire cumulée durant la période d'infection (J0 à J7 P.-I.)

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), **L2:** Infecté Non Traité (INT), **L3:** Infecté Traité au monensin (ITM), **L4:** Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), **L5:** Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), **L6:** Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-graecum* (ITFP), **L7:** Infecté Traité avec l'ASsociation de Plante (ITASP), **L8:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), **L9:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), **L10:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* (ITFE), **L11:** Infecté Traité avec l'ASsociation des Extraits des plantes (ITASE), **L12:** Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

Dans notre travail, nous avons constaté une diminution de la prise alimentaire dans l'ensemble des lots infectés, au cours de la période coïncidant avec la phase de multiplication des oocystes (0-7^{ème} jour P.-I.). La destruction des cellules épithéliales cæcales serait à l'origine d'un état de stress qui a engendré une diminution de l'appétit chez les poulets (Williams, 1996).

Notons que la multiplication des coccidies est responsable d'une destruction massive de la muqueuse cæcale (Patra *et al.*, 2010 ; Kadhim, 2014). Cette destruction est d'autant plus grave que le nombre de coccidies est important (Conway et McKenzie, 2007).

Une étude a été menée par Williams (1996) pour la mise en évidence d'éventuelles relations entre la consommation d'eau et d'aliments au cours des coccidioses, il a été constaté une diminution simultanée de la prise d'eau et d'aliments, 4 jours après l'infection par *E. acervulina* ou *E. maxima*, et 4 à 6 jours après l'infection par *E. tenella*. Ce phénomène a été associé à une réduction du gain de poids et une mauvaise conversion alimentaire. Il a été ainsi conclu que les prises d'eau et d'aliments sont réduits simultanément pendant la coccidiose aiguë, et que la réduction se produit avant que le cycle évolutif ne s'achève.

Dans une autre étude, Reid et Pitois (1965) ont montré que la réduction de la consommation d'aliments et d'eau a été amorcée le quatrième jour après l'inoculation par *E. mivati*, *E. acervulina* et *E. necatrix* et le cinquième jour après l'inoculation par *E. maxima*, *E. brunetti* et *E. tenella*. Plus précisément, il a été établi que les poulets atteints de coccidiose continueront à boire mais ne mangeront pas au cours des derniers stades de la maladie (Reid et Pitois, 1965).

Selon Akhtar *et al.* (2015), la diminution de la prise de poids chez les poulets atteint de coccidiose peut être due à une réduction de la consommation d'aliments et à leur malabsorption (El-Katcha *et al.*, 2018). Cette diminution pourrait également être corrélée à un mauvais état immunitaire.

Contrairement à nos résultats, Dossou *et al.* (2009) ont observé chez les poulets infestés non traités une consommation plus élevée surtout dans la 5^{ème} semaine. Cette augmentation serait due à l'effet des coccidies qui pourrait se traduire par une conservation voire une exacerbation de l'appétit, ceci dans le but de compenser les déficits en apports de nutriments provoqués par les lésions intestinales.

Dans les différents lots infectés traités avec les différentes plantes testées nos constatations rejoignent celles de Williams (1996) et Reid et Pitois (1965); une diminution de la prise d'aliments et les différentes plantes testées n'ont pas eu d'effet sur la préservation de l'appétit des animaux. De même, l'incorporation du monensin dans l'aliment du lot 3 (ITM) et la distribution du toltrazuril dans le lot 12 (ITT) n'ont pas pu prévenir cette chute, témoignant de leur inefficacité dans la préservation de l'appétit des animaux.

b. Croissance pondérale

Les pesées ont été effectuées à J1, J7, J14, J21, J28 et J35 d'âge des poulets. Les résultats sont représentés dans la figure 47.

A la fin de l'expérience à J35, aucun des lots infectés n'a pu atteindre le poids du lot témoin non infecté: 1444.38 g/sujet pour le lot 1 (NINT). Parmi les lots infectés, le meilleur poids moyen a été enregistré dans le lot 7 (ITASP) traité avec les trois plantes : 955 g/sujet. Le poids le plus faible a été enregistré chez les poulets du lot 4 (ITPP) traité avec la plante *P. lentiscus*: 845 g/sujet.

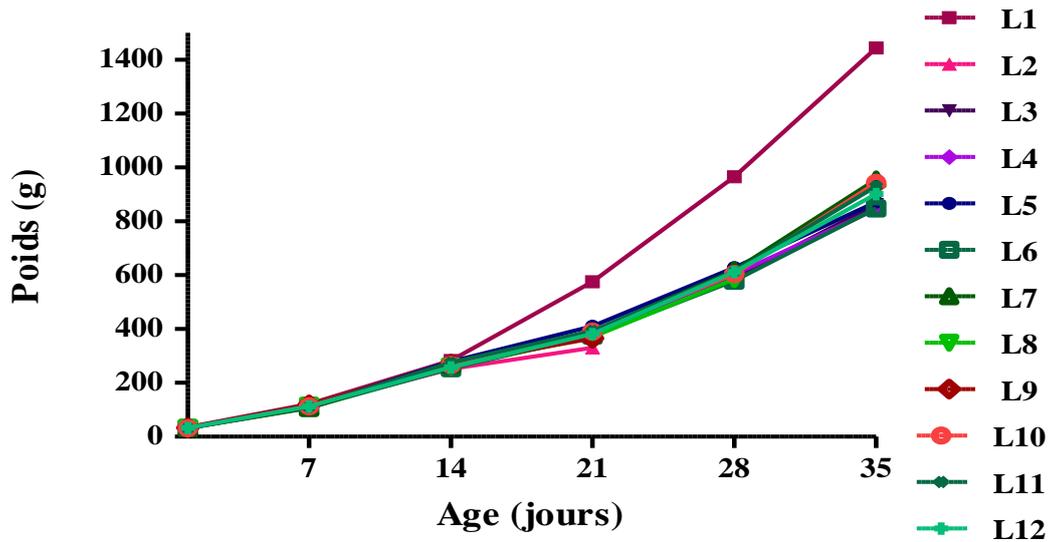


Figure 47: Évolution pondérale de J1 à J35 d'âge des poulets

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), **L2:** Infecté Non Traité (INT), **L3:** Infecté Traité au monensin (ITM), **L4:** Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), **L5:** Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), **L6:** Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-graecum* (ITFP), **L7:** Infecté Traité avec l'ASsociation de Plante (ITASP), **L8:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), **L9:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), **L10:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* (ITFE), **L11:** Infecté Traité avec l'ASsociation des Extraits des plantes (ITASE), **L12:** Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

La présente étude a montré une diminution significative du gain de poids corporel chez les groupes infectés par les oocystes d'*Eimeria* en raison d'effets indésirables sur la digestion, l'absorption et l'assimilation des nutriments. Des résultats similaires ont été obtenus par Habibi *et al.* (2016) chez les poulets de chair inoculés par voie orale avec des oocystes sporulés (3×10^3 oocystes d'*E. tenella*) au 22^{ème} jour d'âge. Ce résultat concorde avec celui de Christaki *et al.* (2004) qui ont montré que le gain de poids moyen dans le groupe infecté avec *E. tenella* était plus faible que dans tous les autres groupes alors que dans le groupe Apacox (contient des extraits de plantes *Agrimonia eupatoria*, *Echinacea angustifolia*, *Ribes nigrum* et *Cinchona succirubra*) était plus élevé que dans le groupe témoin infecté. De même, Abbas *et al.* (2010) ont constaté que la prise de poids chez les groupes traités au curcuma était significativement plus élevée que chez les sujets infectés (*E. tenella*) non traités.

La diminution de la croissance peut être due à des lésions cœcales causées par *E. tenella* et à la malabsorption subséquente des nutriments, à l'anorexie et à l'apathie des oiseaux (Abu-Akkada et Awad, 2012). L'infection par *E. tenella* a significativement réduit le gain de poids et la prise alimentaire, et augmente les valeurs de l'indice de conversion alimentaire, mettant en évidence l'effet néfaste de

l'infection par ce parasite sur les performances des poulets de chair (Christaki *et al.*, 2004).

Les poules des lots contaminés ont accusé une baisse de poids par rapport au lot non contaminé (Lot1) du 21^{ème} jour au 35^{ème} jour. Cette diminution s'est prolongée jusqu'à la fin de notre étude pour tous les lots contaminés. L'analyse statistique a montré qu'il existe une différence significative ($P < 0.05$) entre les gains de poids des lots contaminés et traités et le lot témoin à partir de J21.

La diminution du gain de poids observée chez les oiseaux infectés peut être attribuée aux changements dans la morphologie intestinale et le raccourcissement des villosités intestinales à la suite d'une blessure causée par l'invasion et la réplication du parasite, affectant ainsi l'absorption normale des nutriments. Cela peut être confirmé par les lésions macroscopiques et histopathologiques observées dans les groupes infectés. La diminution observée du gain de poids pourrait aussi être due à l'effet combiné de l'anorexie et de la dégradation musculaire survenant au stade aigu de l'infection par *Eimeria* (Jatau *et al.*, 2014).

L'infection coccidienne a eu un effet négatif sur le poids corporel chez les oiseaux infectés par rapport à celui des poulets témoins non infectés. Cette diminution du gain de poids pourrait être due à une mauvaise absorption des nutriments. Cependant, les poulets infectés par *Eimeria* ont été observés mangeant moins de nourriture que les poulets non infectés, ce qui a probablement aussi contribué à la baisse des gains de poids. Cette diminution de l'apport alimentaire et de la malabsorption pourrait aussi être corrélée à un mauvais état immunitaire (Akhtar *et al.*, 2015).

Fréquemment, les changements de poids corporel sont également mesurés comme une indication supplémentaire des effets du traitement sur la gravité de l'infection coccidienne. Normalement, le gain de poids corporel n'est pas affecté ou est seulement légèrement réduit dans les infections bénignes, tandis que dans les infections sévères, les gains de poids peuvent être jusqu'à 40 à 60% plus faibles que chez les poulets témoins non infectés (Conway *et al.*, 1990).

Il n'y avait pas de différence significative ($P < 0.05$) entre le gain de poids corporel du groupe de poulets traités avec toltrazuril et tous les autres groupes infectés traités. L'augmentation du gain de poids peut être attribuée à la diminution du nombre d'oocystes d'*Eimeria* dans l'intestin. Cependant, le groupe non traité a perdu 14.0 % de son poids initial; Cela pourrait être dû à l'effet néfaste causé par le parasite coccidien dans l'intestin du poulet, qui altère l'absorption des nutriments et d'eau. L'amélioration du poids corporel des poulets traités avec *Morinda lucida* pourrait également être attribuée à la diminution de l'excrétion d'oocystes dans les fèces, ce qui se traduit par une réduction des dommages de l'épithélium intestinal par les sporozoïtes du parasite (Ola-Fadunsin et Ademola, 2014).

E. tenella est l'un des plus répandu et le plus pathogène. Les lésions causées par ce parasite perturbent l'absorption des nutriments, provoquant plusieurs changements en glucides, lipides, protéines et le métabolisme des macros et des oligo-éléments (Patra *et al.*, 2010). L'inoculation avec *E. tenella* provoque une perte de poids significative chez le poulet de chair sensible avec des scores lésionnels de 3 ou 4 six jours après inoculation, mais les gains de poids chez les oiseaux immunisés avec des scores lésionnels similaires n'ont pas été affectés (Conway *et al.*, 1990).

D'autres maladies peuvent favoriser la coccidiose en réduisant la résistance de l'hôte et en diminuant la consommation et par conséquent l'ingestion d'anticoccidiens. Les coccidioses peuvent provoquer une anorexie, une malabsorption d'éléments nutritifs, une diminution de l'assimilation de l'arginine et d'autres acides aminés. D'où une atteinte de l'état général, avec perturbation des systèmes respiratoire, digestif, immunitaire, une diminution des performances (chute de poids) et une mortalité qui peut atteindre 90 à 100 % en cas de pseudo peste aviaire (Hachimi *et al.*, 2008).

L'infection des poulets avec *E. acervulina* ou *E. tenella* entraîne une diminution de l'appétit, une perte de poids et une diminution de l'efficacité alimentaire. Cependant, les mécanismes de la pathologie semblent différer entre les deux espèces, les formes intestinales entraînant une diminution de l'absorption des nutriments, tandis que les saignements associés à *E. tenella* provoquent une pathologie par perte de protéines sanguines et sériques. Ces différences de pathologie peuvent expliquer l'absence de relation claire entre la gravité de l'infection (Fetterer and Allen, 2001).

Certains extraits de plantes ont déjà démontré une activité coccidiostatique. Les extraits et les huiles essentielles de plantes aromatiques présentent un intérêt pour la coccidiose car plusieurs études ont montré une activité antimicrobienne et antioxydante importante. Cette activité biologique a été principalement attribuée aux composés phénoliques. Des tests *in vivo* et *in vitro* ont montré que les phénols peuvent être spécifiquement utilisés comme oocysticides contre *E. tenella*. Les effets antimicrobiens des phénols, connus depuis plus d'un siècle, ciblent la paroi cellulaire bactérienne affectant la structure de la paroi cellulaire. Les phénols interagissent avec la membrane cytoplasmique en modifiant sa perméabilité pour les cations, comme H⁺ et K⁺. La dissipation des gradients ioniques entraîne une altération des processus essentiels dans la cellule, permet une fuite des constituants cellulaires, entraînant un déséquilibre de l'eau, un effondrement du potentiel membranaire et une inhibition de la synthèse de l'ATP et enfin la mort cellulaire (Christaki *et al.*, 2004).

L'amélioration de la conversion alimentaire des poussins nourris avec des extraits de plantes aromatiques mélangés avec des acides organiques peut être due aux conditions acides. Le pH acide rend les nutriments plus disponibles, assure de meilleures performances et permet l'implantation des micro-organismes, en particulier *Lactobacillus spp.* et empêche la croissance d'*E. Coli* et ces conditions rendent la zone d'absorption plus bénéfique. Les acides organiques ont plusieurs effets bénéfiques tels que l'amélioration de l'appétit et l'amélioration de la conversion alimentaire; stimuler les enzymes endogènes, augmenter la rétention du calcium et l'absorption des nutriments et réguler la flore microbienne intestinale. Des auteurs ont détecté que l'addition d'acides organiques dans les régimes alimentaires des poulets de chair a augmenté (P<0.05) le gain de poids corporel et la viabilité. Une telle amélioration peut être attribuée aux propriétés qui pourraient agir non seulement comme antibactérien, antiprotozoaire et antifongique mais aussi comme antioxydants. De plus, les effets positifs de ces additifs peuvent être attribués à la fonction biologique ou aux activités pharmacologiques de ces composants de l'extrait (carvacrol, cinnamaldéhyde et capsaïcine) (Tollba *et al.*, 2010).

Les saponines sont des glycosides stéroïdiens ayant une forte activité tensioactive, réduisant la tension superficielle des fluides et permettant une meilleure absorption des nutriments par l'épithélium intestinal, ce qui entraîne de meilleurs gains de poids. Les saponines provoquent l'inhibition du développement des

protozoaires en interagissant avec le cholestérol présent sur la membrane cellulaire du parasite, ce qui entraîne la mort du parasite. Dans cette étude, l'amélioration des gains de poids dans les groupes traités avec HC (complexe à base de plantes) pourrait être due aux effets stimulant la croissance des teneurs en saponines de la plante *Calotropis procera* (Zaman *et al.*, 2012).

a. Indice de consommation

L'indice de consommation est le ratio qui mesure la conversion de la quantité d'aliments consommés en poids vif corporel. L'augmentation des valeurs des indices de consommation au cours des infections coccidiennes témoigne d'une mauvaise utilisation alimentaire, conséquence directe des troubles digestifs engendrés par le développement parasitaire.

Dans les conditions normales d'élevage, l'IC est compris entre 1.9 et 2.1 un poulet ayant consommé environ 2 kg d'aliments produit 1 kg de poids vif. Pour une valeur supérieure, il faut chercher les causes tout en les hiérarchisant: gaspillage d'aliment, qualité de l'aliment, surconsommation, poussin de mauvaise qualité, quantité et qualité d'eau d'abreuvement, conditions d'ambiance non respectées et un taux de mortalité élevé. L'IC augmente suite au développement de la pathologie dans l'hôte (Hachimi *et al.*, 2008).

Dans l'ensemble des lots infectés, les indices de consommation ont augmenté (supérieur à 2) entre le 14^{ème} au 21^{ème} jour par rapport au lot1 non infecté non traité (NINT). Mais une amélioration des IC a été observée au cours du temps depuis J28 jusqu'à J35 d'âge des poulets (J14 à J21 P.-I.) avec des indices compris entre 2.06 et 2.95 (Figure 48). L'augmentation de ce dernier fait suite à la survenue d'épisodes pathologiques au cours de l'élevage (coccidiose) et qui ont contribué à ces mauvaises performances. Les poulets atteints de la coccidiose clinique ou subclinique ont été prédisposés car il est reconnu et établi qu'un organisme parasité est vulnérable aux affections microbiennes et autres stress (Sahraoui *et al.*, 2016) et l'augmentation de l'IC au cours de l'infection par *E. tenella* a été également constatée par Christaki *et al.* (2004).

Sur la période de J14 à J21 d'âge des poussins (J1 à J7 P.-I.); les résultats relatifs à l'indice de consommation montrent que les lots traités avec les différentes

plantes et anticoccidiens sont meilleurs par rapport au lot 2 (INT) et lot 9 (ITEA) qui ont présenté un IC de 3.57 et 3.45, respectivement. Nos résultats concordent avec ceux de Sahraoui *et al.* (2016) qui ont constaté que l'anticoccidien à base de plante naturelle utilisé induit un effet positif sur l'efficacité alimentaire. Kouakou *et al.* (2010) ont montré que *Thonningia sanguinea* (THOS) a réduit l'indice de consommation des poules infectées avec *E. necatrix* et *E. tenella*. Selon Kouakou *et al.* (2010), les extraits végétaux à base de tanins et de saponines améliorent les performances zootechniques des poulets.

En terme numérique, il est constaté un meilleur indice de consommation pour le lot12 infecté traité au toltrazuril (ITT) par rapport aux autres lots à partir de J21 jusqu'à J35 d'âge (J7 à J21 P.-I.). Cela pourrait être expliqué par l'effet bénéfique de toltrazuril dans le contrôle de la coccidiose, réduisant ainsi les effets néfastes du parasitisme sur l'utilisation alimentaire (Claeskens *et al.*, 2007).

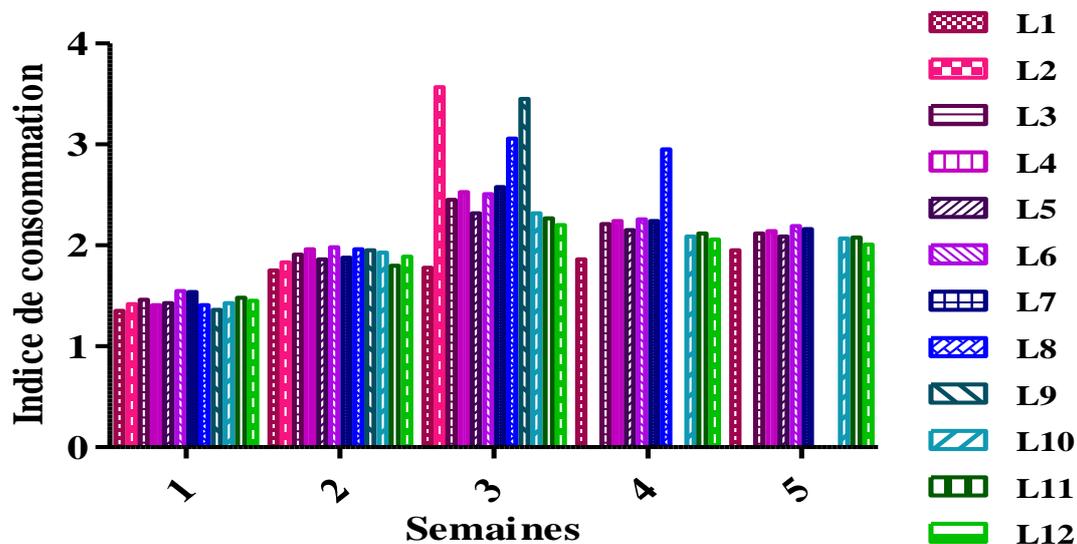


Figure 48: Évolution de l'indice de consommation

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), **L2:** Infecté Non Traité (INT), **L3:** Infecté Traité au monensin (ITM), **L4:** Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), **L5:** Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), **L6:** Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-graecum* (ITFP), **L7:** Infecté Traité avec l'ASsociation de Plante (ITASP), **L8:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), **L9:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), **L10:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* (ITFE), **L11:** Infecté Traité avec l'ASsociation des Extraits des plantes (ITASE), **L12:** Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

III.2.4. Paramètres parasitologiques

a. Excrétion d'oocystes [OPG (*Oocysts Per Gram*)]

L'excrétion d'oocystes dans l'ensemble des lots infectés a connu une augmentation progressive à partir du 5^{ème} jour jusqu'au 7^{ème} jour après l'infection, puis une diminution au-delà du 8^{ème} jour P.-I. (Figure 49).

Au 5^{ème} et au 6^{ème} jour P.-I., l'excrétion d'oocystes a été significativement réduite ($P < 0.05$) dans les lots infectés traités en comparaison avec le lot 2 (INT) infecté non traité et lot 9 (ITAE) infecté traité à l'extrait d'*A. sativum*. Au 7^{ème} jour P.-I., l'excrétion d'oocystes a été fortement augmentée, est statistiquement différente par rapport au lot 2 (INT) infecté non traité et lot 9 (ITAE) infecté traité à l'extrait d'*A. sativum*. Au 8^{ème} et 9^{ème} jour après l'infection, la réduction de l'excrétion d'oocystes a été significativement ($P < 0.05$) réduite dans tout les lots infectés traités en comparaison avec le lot 8 (ITPE) infecté traité à l'extrait de *P. lentiscus* ($P < 0.05$).

Au 10^{ème} jour après l'infection, la réduction de l'excrétion d'oocystes a été statistiquement différente dans tous les lots infectés traités par rapport au lot 8 (ITPE) infecté traité à l'extrait de *P. lentiscus* ($P < 0.05$). Au-delà du 11^{ème} jour post-infection, la réduction de l'excrétion d'oocystes a été statistiquement non différente dans presque tous les lots infectés traités par rapport au lot 8 (ITPE) infecté traité à l'extrait de *P. lentiscus* ($P < 0.05$) (Figure 49).

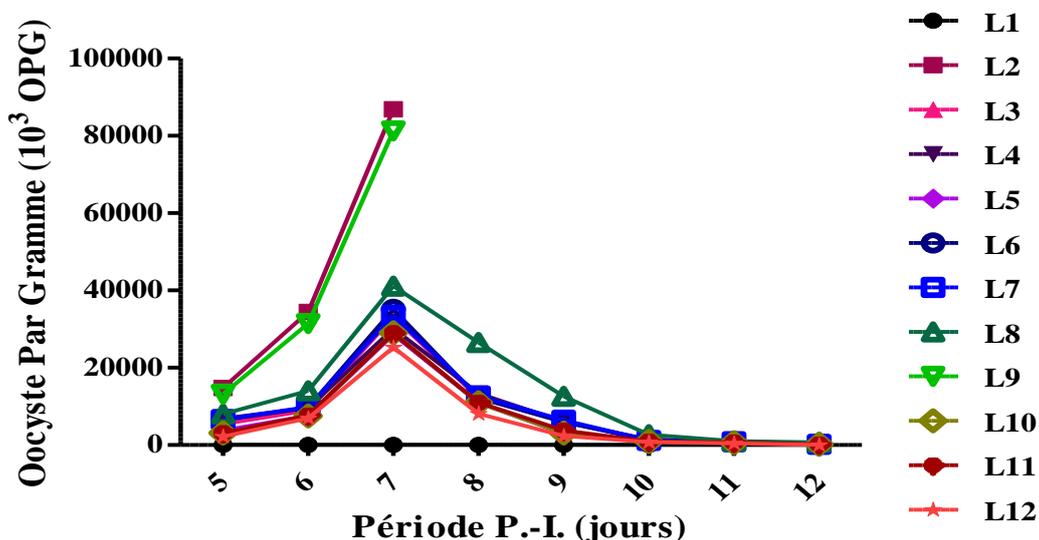


Figure 49: Excrétion d'oocystes chez les poulets infectés

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), L2: Infecté Non Traité (INT), L3: Infecté Traité au monensin (ITM), L4: Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), L5: Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), L6: Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-graecum* (ITFP), L7: Infecté Traité avec l'ASsociation de Plante (ITASP), L8: Infecté Traité avec l'EXtrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), L9: Infecté Traité avec l'EXtrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), L10: Infecté Traité avec l'EXtrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* (ITFE), L11: Infecté Traité avec l'ASsociation des EXtraits des plantes (ITASE), L12: Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

Le lot 2 (INT) infecté non traité présentait, en moyenne, un nombre élevé d'oocystes (86.86×10^6 oocystes/g de fèces). Ce résultat est probablement dû à l'absence de traitement dans ce groupe et par conséquent, à l'existence de conditions favorables à la reproduction du parasite.

L'excrétion d'oocystes a été légèrement diminuée dans le lot 9 (ITAE) (81.31×10^6 oocystes/g de fèces) infecté traité à l'extrait d'*A. sativum* en comparaison avec le lot 2 (INT) infecté non traité, mais elle était statistiquement non différente ($P < 0.05$). En revanche, les lots ayant reçu les autres différents produits traitants ont montré un nombre significativement réduit d'oocystes, ces résultats concordent avec ceux de Michels *et al.* (2011).

La réduction de l'excrétion d'oocystes observée dans ces lots traités, excepté le lot 9 (ITAE) infecté traité à l'extrait d'*A. sativum*, peut s'expliquer par l'apparition d'une destruction intense de l'intégrité cellulaire dans l'intestin de ces poulets traités, ce qui a interrompu le cycle de développement *in vivo* d'*Eimeria* (Michels *et al.*, 2011).

L'effet des différentes plantes testées a été comparable à celui du monensin sauf l'extrait d'*A. sativum* utilisé dans le lot 9 (ITAE). La légère différence dans la réduction des oocystes entre le médicament de synthèse utilisé et les extraits de plantes s'explique par la présence d'une faible concentration de l'élément actif dans les extraits de plante par rapport à l'anticoccidien synthétique où les composés chimiques sont isolés sous forme pure (Ola-Fadunsin et Ademola, 2014).

Le groupe traité avec le toltrazuril a donné l'effet inhibiteur le plus élevé sur les oocystes dans les fèces, ce qui indique qu'il est plus efficace que les autres lots traités, mais pas à un niveau significatif ($P < 0.05$) ces résultats sont en accord avec ceux de Ola-Fadunsin et Ademola, (2014).

L'incapacité des autres produits traitants à réduire l'excrétion d'oocystes comme décrit pour le toltrazuril est peut être dû au fait que les produits traitants ont été administrés dans l'eau car il s'agit d'un solvant non toxique et sachant que le parasite coccidien étant intracellulaire, un degré de solubilité lipidique semble important. Le toltrazuril est très soluble dans les lipides et il est susceptible d'atteindre

une concentration intracellulaire plus élevée que les composés hydrosolubles (Naidoo *et al.*, 2008).

Zaman *et al.* (2012), ont réalisé une étude pour l'évaluation des effets anticoccidien de différentes concentrations d'un complexe à base de 4 plantes (feuilles d'*Azadirachta indica* et *Nicotiana tabacum*, fleurs de *Calotropis procera* et graines de *Trachyspermum ammi*) chez le poulet de chair en comparaison avec l'anticoccidien amprolium (ionophore). Le complexe de plantes a démontré un effet anticoccidien intéressant contre *Eimeria tenella* (75×10^3 oocystes/sujet), à travers l'amélioration du gain de poids, l'indice de consommation et une réduction de l'excrétion d'oocystes.

Selon Zaman *et al.* (2012), l'excrétion d'oocystes a été significativement réduite ($P < 0.05$) dans les groupes infectés traités au complexe de plantes par rapport au groupe infecté non traité, et par rapport au groupe traité à l'amprolium. Ces mêmes auteurs ont attribué la réduction des effets pathogènes d'*Eimeria tenella* (diarrhée sanglante, réduction de l'excrétion d'oocystes et amélioration du score lésionnel) à la teneur du complexe de plantes en tanins. Il a été rapporté que les tanins se complexent avec les polysaccharides et que les tanins condensés lient les parois cellulaires des bactéries, empêchant la croissance et l'activité des protéases. L'une des actions moléculaires des tanins est de se complexer avec les protéines par des forces dites non-spécifiques telles que la liaison hydrogène et interactions hydrophobes, ainsi que par la formation de liaisons covalentes. Ils ont également la capacité d'inactiver les adhésines microbiennes, les enzymes, les protéines de transport de l'enveloppe cellulaire, etc. Leur mécanisme d'action anticoccidien est dû à l'induction du stress oxydatif contre les espèces d'*Eimeria* (Zaman *et al.*, 2012).

Selon Markovics *et al.* (2012), La consommation de feuilles de lentisque (*Pistacia lentiscus* L.) après une infection coccidienne naturelle a diminué l'excrétion fécale des oocystes. Cet effet anticoccidien peut être attribué aux tanins. Comme les consommateurs ont des perceptions négatives des coccidiostatiques chimiques, les tanins alimentaires pourraient être une alternative écologique, en particulier dans la gestion bio-organique du bétail, où les coccidiostatiques sont interdits.

Une autre étude a été réalisée par Christaki *et al.* (2004), pour évaluer l'effet de l'incorporation dans l'aliment d'une préparation commerciale (Apacox®), contenant un mélange d'extraits de plantes (*Agrimonia eupatoria*, *Echinacea angustifolia*, *Ribesnigrum* et *Cinchona succirubra*), sur le développement d'une coccidiose expérimentale due à *E. tenella* (6×10^4 oocystes/sujet). Le nombre d'oocystes excrétés dans les groupes traités à l'Apacox® a été plus faible que dans le groupe témoin infecté non traité. Les auteurs ont conclu que l'Apacox® a un effet coccidiostatique contre *E. tenella*. Ces auteurs ont attribué l'activité anticoccidienne aux composants phénoliques, contenus dans les plantes étudiées. Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que ces composés peuvent être utilisés de manière efficace pour leur effet oocysticide contre *E. tenella*. Les effets antimicrobiens des phénols, connus depuis plus d'un siècle, s'expriment sur la paroi de la cellule microbienne en affectant sa structure. Les phénols interagissent avec la membrane cytoplasmique et modifient sa perméabilité aux cations, comme H^+ et K^+ . La dissipation des gradients ioniques conduit à l'altération des processus essentiels dans la cellule, permet la fuite des constituants cellulaires, entraînant un déséquilibre de l'eau, un effondrement du potentiel membranaire et une inhibition de la synthèse de l'ATP (Christaki *et al.*, 2004).

Dans une étude menée par Ola-Fadunsin et Ademola, (2014) ont montré que le groupe traité avec 6.0 g/kg de poids corporel d'extraits de feuilles de *Morinda lucida* a produit le pourcentage le plus élevé de réduction d'oocystes d'*Eimeria* au 7^{ème} jour de l'étude. Cependant, le pourcentage de réduction est plus faible que le groupe traité avec le toltrazuril, bien que la différence ne soit pas significative ($P < 0.05$). Ces auteurs ont attribué l'effet anticoccidien de *M. lucida* à ses propriétés antioxydantes. D'autres auteurs ont rapporté les propriétés antioxydantes de *M. lucida* aux composés phénoliques. D'autres auteurs indiquent que les plantes ayant un effet antioxydant possèdent des activités anticoccidiennes. Et sachant que la destruction des cellules hôtes induite par le parasite de la coccidiose étant associée au stress oxydatif et à la peroxydation lipidique, les antioxydants qui ont la capacité de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS) sont protecteurs en raison de leur capacité de piégeage de ces derniers (Naidoo *et al.*, 2008).

Naidoo *et al.* (2008) qui ont utilisé des feuilles d'*Artemisia afra* à 150 mg / kg de poids corporel et des feuilles de *Tulbaghia violacea* à 35 mg / kg de poids corporel ont obtenu 66.7 % et 44.7 % de réduction d'oocystes, respectivement, au 7^{ème} jour de leur étude.

L'excrétion d'oocystes dans l'ensemble des lots infectés a connu une diminution progressive à partir du 8^{ème} jour jusqu'au 12^{ème} jour après l'infection. Selon Naidoo *et al.* (2008), le rétablissement naturel des oiseaux était prévu, car aucune réinfection ne pourrait se produire si les oiseaux n'étaient pas en contact direct avec leurs fèces. Il était intéressant de noter que, quel que soit le traitement, tous les oiseaux ont cessé d'excréter des oocystes au même moment, ce qui suggère que cela était davantage lié au cycle de vie du parasite qu'au traitement.

b. Scores lésionnels et longueur des cæca

Johnson et Reid (1970) ont établi des scores lésionnels de 0 à 4 pour évaluer la gravité de l'infection coccidienne. Ces scores sont utilisés en routine pour le diagnostic des coccidioses, l'évaluation de l'efficacité des anticoccidiens, et aide à l'identification des différentes espèces de coccidies. Les scores lésionnels peuvent être établis à partir de l'observation de plusieurs parties intestinales après sacrifice de l'animal. Pour chaque espèce, le risque de coccidiose existe pour un score lésionnel supérieur à 2 (Hachimi *et al.*, 2008 ; Sahraoui *et al.*, 2016).

Après autopsie, une observation des lésions hémorragiques au niveau des cæca avec un score de 4 (Figure 50), des saignements et un amas central plus ou moins dur formé par une importante accumulation de sang et de desquamations à la surface de la muqueuse de telles constatations ont été rapportées par Hachimi *et al.* (2008) ; Hachimi *et al.* (2009).



Figure 50: Lésions d'*E. tenella* au niveau des cæca à J5 P.-I.

Les lésions cœcales ont été classées selon leur degré de sévérité suivant une échelle allant de 0 à 4. Les résultats consignés dans le tableau 23 représentent des moyennes arithmétiques obtenues à partir des valeurs chiffrées (0, 1, 2, 3 ou 4) attribuées aux lésions cœcales observées chez les poulets soumis à une même expérience (Palo, 1987).

Tableau 23: Score lésionnel chez les poulets infectés

Période (Jours)	J7 P.-I.	J12 P.-I.	J21 P.-I.
L 1	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
L 2	4.00±0.00 ^a	/	/
L 3	4.00±0.00 ^a	2.50±0.70 ^a	0.00±0.00
L 4	4.00±0.00 ^a	3.00±1.41 ^a	0.50±0.70 ^a
L 5	3.50±0.70 ^a	2.50±0.70 ^a	0.00±0.00
L 6	4.00±0.00 ^a	3.00±1.41 ^a	0.50±0.70 ^a
L 7	3.50±0.70 ^a	2.50±0.70 ^a	1.00±1.41 ^a
L 8	4.00±0.00 ^a	3.50±0.70 ^a	/
L 9	4.00±0.00 ^a	/	/
L 10	3.50±0.70 ^a	1.50±0.70 ^a	0.00±0.00
L 11	3.50±0.70 ^a	2.50±0.70 ^a	0.00±0.00
L 12	3.50±0.00 ^a	1.00±1.41 ^a	0.00±0.00

Les valeurs sont exprimées par la moyenne ± SD (n=2).

Les moyennes d'une colonne portant la même lettre ne sont pas significativement différentes (P<0.05).

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), **L2:** Infecté Non Traité (INT), **L3:** Infecté Traité au monensin (ITM), **L4:** Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), **L5:** Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), **L6:** Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-græcum* (ITFP), **L7:** Infecté Traité avec l'ASsociation de Plante (ITASP), **L8:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), **L9:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), **L10:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-græcum* (ITFE), **L11:** Infecté Traité avec l'ASsociation des Extraits des plantes (ITASE), **L12:** Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

A J7 P.-I., les autopsies de 2 poules par lot ont montré que toutes les poules étaient infectées dans les 11 lots contaminés. Les lésions dues à *E. tenella* étaient sévères; scores lésionnel moyen étaient compris entre 3.5 et 4 (Figure 51 ; Tableau 23). Les résultats que nous avons obtenus, sont en accord avec ceux rapportés par Bichet *et al.* (2003) qui ont montré que l'indice lésionnel moyen majoritaire des lots infectés avec *E. tenella*, est l'indice 4 et que l'analyse statistique montre, en effet, qu'il n'existe aucune différence lésionnelle significative, à 5%, entre les 11 lots contaminés, qu'ils soient ou non supplémentés.

A J12 et J21 post infection, nous avons observé une diminution des lésions cæcales dans les lots traités avec les différentes plantes et les anticoccidiens utilisés (Figure 51 ; Tableau 23). L'analyse statistique n'a montré aucune différence significative ($P < 0.05$) entre les différents indices lésionnels à J7, J12 et J21 post infection. Aucune lésion n'a été observée dans le lot non contaminé lors des autopsies.

La corrélation entre les scores lésionnels et OPG indique indirectement qu'une plus grande quantité de parasites dans le cæcum entraîne un score lésionnel plus élevé (Bogado *et al.*, 2010).

L'effet bénéfique des extraits de plantes contre des infections multiples ou mono-spécifiques avec soit *E. tenella*, soit *E. acervulina* a été déjà mis en évidence par plusieurs auteurs (Christaki *et al.*, 2004; Michels *et al.*, 2011; Ola-Fadunsin ; Ademola, 2014). Cet effet bénéfique peut être dû à la présence de flavonoïdes, des tanins, des alcaloïdes et des saponines, qui présentent des propriétés anti-inflammatoires, anti-oxydantes et antiparasitaires (Abudabos *et al.*, 2017).

Les scores lésionnels et les numérations d'oocystes sont des paramètres couramment utilisés pour évaluer l'efficacité anticoccidienne des médicaments. Il semble que la relation entre la numération des oocystes et les scores lésionnels ne soit pas cohérente, car le nombre des oocystes augmente plus rapidement que la gravité des lésions (Zhang *et al.*, 2012). Selon Raman *et al.* (2011), les scores lésionnels fournissaient une mesure de l'infection parasitaire et des lésions macroscopiques associées.

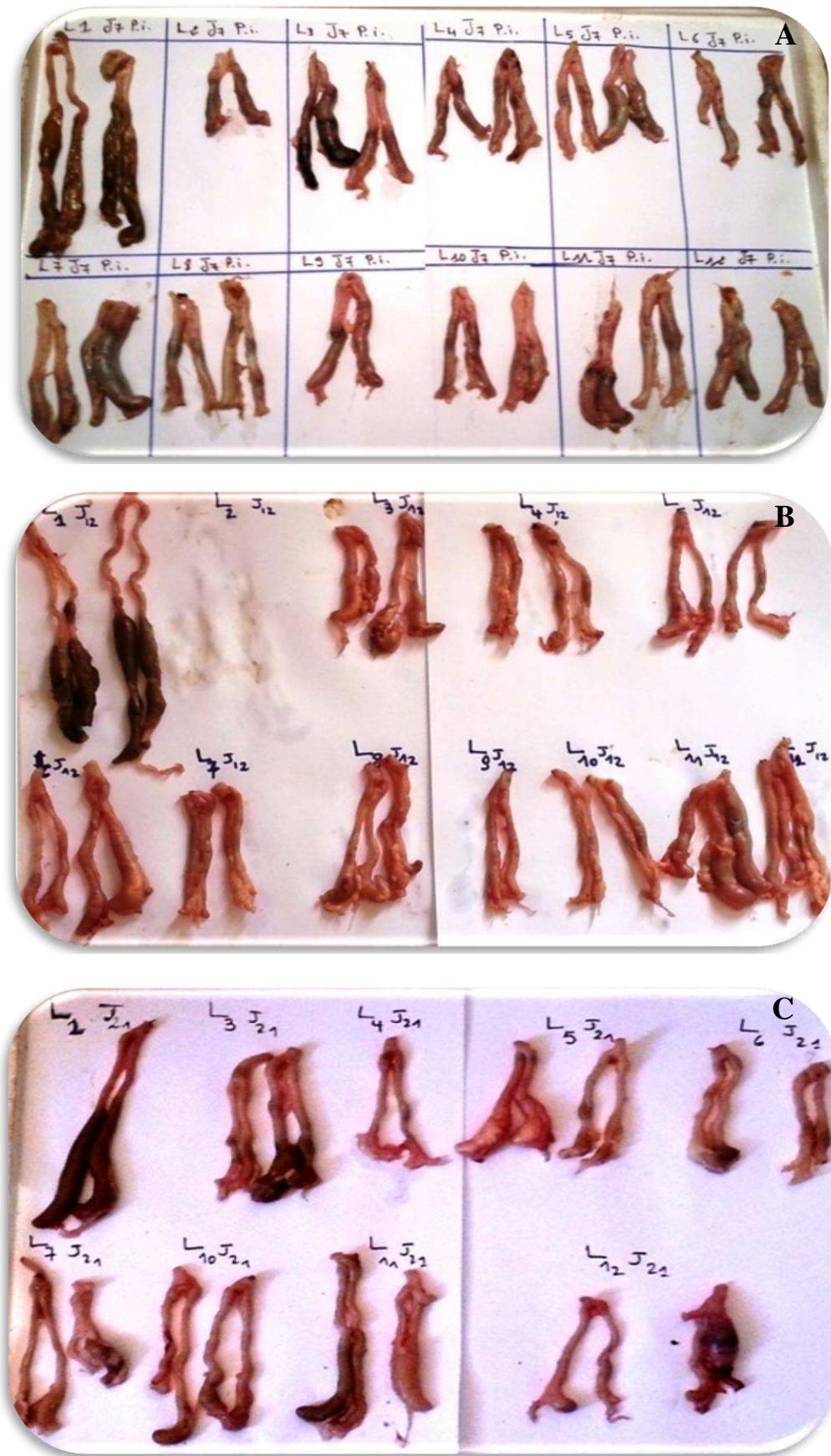


Figure 51: Lésions d'*E. tenella* ; (A) à J7 P.-I. ; (B) à J12 P.-I. ; (C) à J21 P.-I.

Zaman *et al.* (2012) ont étudié l'effet anticoccidien d'un complexe à base de 4 plantes chez le poulet de chair et ont comparés les effets du complexe à ceux de l'amprolium. Ils ont démontré que tous les groupes traités ont présenté une réduction significative ($P < 0.05$) du score lésionnel en comparaison avec le groupe infecté non traité. L'amélioration du score lésionnel a été attribuée aux tanins dans cette étude.

Dans l'ensemble des lots infectés, une réduction marquée de la longueur moyenne des cæca a été observée au cours du temps depuis J7 jusqu'à J21 P.-I. en comparaison avec le lot 1 (NINT) non infecté non traité (Figure 51).

Les lésions cæcales ont été significativement importantes, notamment à J7 P.-I. dans le lot 2 (INT) infecté non traité, qui a marqué la longueur du cæcum la plus faible qui est de 4.65 ± 0.21 cm (Tableau 24).

Tableau 24: Longueur moyenne des cæca des poulets infectés (cm)

Période (Jours)	J7 P.-I.	J12 P.-I.	J21 P.-I.
L 1	12.50 ± 0.70^a	15.50 ± 0.70^a	14.00 ± 1.41^a
L 2	4.65 ± 0.21^c	/	/
L 3	7.60 ± 0.28^b	6.50 ± 1.14^b	9.00 ± 1.41^b
L 4	6.05 ± 0.21^{bc}	6.95 ± 0.07^b	6.75 ± 0.35^b
L 5	6.25 ± 1.06^{bc}	8.05 ± 0.07^b	7.25 ± 0.35^b
L 6	7.05 ± 0.07^b	8.25 ± 1.06^b	7.25 ± 0.35^b
L 7	7.05 ± 0.77^b	6.35 ± 0.21^b	7.50 ± 2.12^b
L 8	6.60 ± 0.42^{bc}	7.55 ± 0.07^b	/
L 9	6.30 ± 0.14^{bc}	/	/
L 10	6.25 ± 0.35^{bc}	7.65 ± 0.49^b	9.25 ± 1.06^b
L 11	6.65 ± 0.77^{bc}	7.05 ± 0.07^b	9.00 ± 1.41^b
L 12	6.70 ± 0.14^{bc}	8.75 ± 1.76^b	6.50 ± 0.70^b

Les valeurs sont exprimées par la moyenne \pm SD (n=2).

Les moyennes d'une colonne portant la même lettre ne sont pas significativement différentes ($P < 0.05$).

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), **L2:** Infecté Non Traité (INT), **L3:** Infecté Traité au monensin (ITM), **L4:** Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), **L5:** Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), **L6:** Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-græcum* (ITFP), **L7:** Infecté Traité avec l'ASsociation de Plante (ITASP), **L8:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), **L9:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), **L10:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-græcum* (ITFE), **L11:** Infecté Traité avec l'ASsociation des Extraits des plantes (ITASE), **L12:** Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

Dans une étude, Chandrakesan *et al.* (2009) ont testé l'efficacité anticoccidienne d'un complexe à base de plantes composé de *Solanum nigrum* (35%), d'*Aloe vera* (15%), de *Moringa indica* (35%) et de *Mentha arvensis* (15%) contre l'infection à *E. tenella* chez les poulets de chair. Les poussins âgés de trente jours ont été divisés en 5 groupes expérimentaux, chaque groupe comprenant 6 poussins et ont été maintenus sous un régime sans anticoccidiens. Les groupes A, B, C et D ont été contaminés avec 30 000 oocystes sporulés d'*E. tenella* au 28^{ème} jour, tandis que le groupe E servait de témoin non infecté non traité. Après 3 jours post-infection, les oiseaux appartenant aux groupes A et B ont été traités avec le complexe à base de plantes à la dose de 5 et 10% pendant 7 jours de façon continue. Le groupe C a été nourri avec de la salinomycine mélangée pendant la même période. Les résultats de l'étude ont indiqué que la longueur moyenne des cæca chez les oiseaux appartenant aux groupes A, B, C et D était respectivement de 9.6 ± 1.19 , 11.5 ± 2.34 , 10.6 ± 1.92 et 9.75 ± 0.55 cm par rapport à la longueur normale du cæca de 16.9 ± 1.2 cm chez le groupe témoin non infecté non traité. La comparaison de la longueur des cæcums entre les groupes a révélé une réduction marquée dans les groupes A et D, tandis que les groupes B et C présentaient une longueur des cæca modérés.

La littérature ne contient que peu d'informations sur l'évaluation des altérations hématologiques chez les oiseaux infectés par *E. tenella*. Les quelques études qui ont analysé les paramètres hématologiques sont limitées au profil leucocytaire et au type de réponse immunitaire à l'infection causée par le parasite (Bogado *et al.*, 2010). Bien que certaines études évaluent les effets de l'infection coccidienne sur les cellules sanguines, ces études se limitent principalement à une espèce particulière d'*Eimeria* et à la détermination de certains constituants plasmatiques tels que caroténoïdes, lipides et protéines plasmatiques totales (Conway *et al.* 1993; Akhtar *et al.*, 2015).

III.2.5. Paramètres du sang

a. Paramètres hématologiques

Dans l'ensemble des lots infectés le taux des différents paramètres hématologiques a significativement baissé dès le 7^{ème} jour P.-I. (Tableau 25), notamment dans le lot 2 (INT) infecté non traité, A J12 P.-I. et à J21 P.-I., le rétablissement a été définitif pour l'ensemble des lots infectés (Tableau 26, 27).

Tableau 25: Résultats de l'analyse des paramètres hématologiques au 7^{ème} jour P.-I.

Lots	GB (10 ⁹ /L)	GR (10 ¹² /L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	VGM (fl)	TCMH (pg)	CCMH (g/dL)	Granulocyte (%)	Lymphocyte (%)	Monocyte (%)
L 1	74.00±1.34 ^a	3.27±0.03 ^a	11.10±0.28 ^a	35.70±0.57 ^a	140.15±0.64 ^a	46.40±1.56 ^a	30.95±2.33 ^a	25.45±2.47 ^a	51.10±0.42 ^a	7.65±0.21 ^a
L 2	99.50±0.57 ^b	1.91±0.22 ^b	7.05±0.49 ^b	22.95±0.35 ^b	110.35±0.49 ^b	33.50±1.98 ^b	23.75±0.35 ^b	35.10±0.14 ^b	72.75±2.19 ^b	10.30±0.28 ^a
L 3	98.05±0.78 ^b	2.12±0.13 ^b	7.50±0.57 ^b	26.55±0.78 ^b	113.60±3.54 ^b	38.30±1.70 ^b	23.60±0.42 ^b	37.55±2.33 ^b	70.30±0.28 ^b	10.65±0.49 ^a
L 4	98.80±0.42 ^b	2.13±0.20 ^b	8.10±0.28 ^b	25.90±0.99 ^b	114.20±2.55 ^b	37.25±0.92 ^b	24.10±1.27 ^b	36.50±0.42 ^b	71.10±0.57 ^b	10.00±0.28 ^a
L 5	97.70±0.99 ^b	2.09±0.10 ^b	8.45±0.92 ^b	26.95±1.20 ^b	114.00±2.83 ^b	37.25±3.18 ^b	23.70±0.71 ^b	37.25±0.35 ^b	73.05±0.78 ^b	9.90±0.42 ^a
L 6	99.10±0.14 ^b	2.12±0.25 ^b	8.50±0.28 ^b	24.45±0.07 ^b	113.50±3.54 ^b	36.60±0.99 ^b	24.00±2.83 ^b	37.30±0.28 ^b	73.55±0.78 ^b	10.50±0.57 ^a
L 7	98.90±0.42 ^b	2.24±0.23 ^b	8.35±1.20 ^b	25.75±1.34 ^b	113.75±2.47 ^b	35.00±1.41 ^b	22.90±0.57 ^b	38.90±0.85 ^b	73.45±1.48 ^b	10.00±0.28 ^a
L 8	97.20±1.70 ^b	2.08±0.09 ^b	8.40±0.85 ^b	24.95±0.92 ^b	116.50±2.12 ^b	34.00±1.41 ^b	23.85±1.20 ^b	37.80±0.57 ^b	71.30±1.27 ^b	9.90±0.14 ^a
L 9	98.95±0.49 ^b	1.76±0.08 ^b	7.85±0.07 ^b	23.50±0.14 ^b	113.50±0.71 ^b	34.40±1.98 ^b	24.65±0.78 ^b	38.70±1.13 ^b	69.70±0.99 ^b	10.15±0.35 ^a
L 10	98.65±0.64 ^b	2.08±0.03 ^b	8.60±0.42 ^b	26.50±2.12 ^b	116.35±1.34 ^b	37.70±0.57 ^b	25.25±0.21 ^b	35.55±1.20 ^b	70.60±1.84 ^b	10.15±0.35 ^a
L 11	98.25±0.21 ^b	2.17±0.19 ^b	8.90±1.27 ^b	24.00±1.27 ^b	115.80±0.42 ^b	37.90±1.98 ^b	24.55±1.77 ^b	38.95±0.64 ^b	72.80±0.28 ^b	10.65±0.78 ^a
L 12	95.75±2.19 ^b	1.84±0.06 ^b	8.20±1.13 ^b	26.35±2.05 ^b	114.85±1.20 ^b	37.55±1.77 ^b	24.40±0.71 ^b	37.80±1.13 ^b	72.65±1.77 ^b	10.80±0.99 ^a

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n=12).

Les moyennes d'une colonne portant la même lettre ne sont pas significativement différentes (P<0.05).

GB: globules blancs ; **GR:** globules rouges ; **HGB:** hémoglobines ; **HCT:** hématocrite ; **VGM:** volume globulaire moyen ; **CCMH:** concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; **TCMH:** taux corpusculaire moyen en hémoglobine.

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), **L2:** Infecté Non Traité (INT), **L3:** Infecté Traité au monensin (ITM), **L4:** Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), **L5:** Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), **L6:** Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-graecum* (ITFP), **L7:** Infecté Traité avec l'ASsociation de Plante (ITASP), **L8:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), **L9:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), **L10:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* (ITFE), **L11:** Infecté Traité avec l'ASsociation des Extraits des plantes (ITASE), **L12:** Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

Tableau 26: Résultats de l'analyse des paramètres hématologiques au 12^{ème} jour P.-I.

Lots	GB (10 ⁹ /L)	GR (10 ¹² /L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	VGM (fl)	TCMH (pg)	CCMH (g/dL)	Granulocyte (%)	Lymphocyte (%)	Monocyte (%)
L 1	73.15±2.76 ^a	3.39±0.01 ^a	11.25±0.49 ^a	36.60±1.56 ^a	135.00±2.40 ^a	44.10±2.26 ^a	32.70±2.26 ^a	26.55±3.61 ^a	52.05±4.03 ^a	8.50±0.57 ^a
L 2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
L 3	94.70±1.41 ^b	2.42±0.11 ^a	9.65±1.06 ^a	33.75±1.34 ^a	139.45±0.92 ^a	43.85±0.64 ^a	31.55±0.21 ^a	36.00±2.26 ^b	64.00±3.68 ^b	10.00±1.41 ^a
L 4	94.05±3.04 ^b	2.34±0.04 ^a	9.95±1.20 ^a	33.25±1.34 ^a	132.60±4.67 ^a	42.05±2.33 ^a	31.70±0.57 ^a	34.25±0.35 ^b	67.30±1.13 ^b	8.45±0.78 ^a
L 5	95.70±0.71 ^b	2.28±0.35 ^a	10.30±0.71 ^a	33.15±0.04 ^a	135.00±4.38 ^a	42.75±1.63 ^a	31.90±1.70 ^a	33.95±1.63 ^b	69.30±5.52 ^b	6.75±3.89 ^a
L 6	94.90±0.99 ^b	2.25±0.07 ^a	9.40±0.28 ^a	33.25±0.64 ^a	137.65±0.78 ^a	46.65±0.07 ^a	33.95±0.21 ^a	37.00±0.57 ^b	64.25±0.35 ^b	10.25±0.92 ^a
L 7	98.15±2.33 ^b	2.32±0.10 ^a	10.15±0.78 ^a	39.20±1.13 ^a	138.30±3.68 ^a	41.05±2.76 ^a	29.65±1.20 ^a	37.80±0.42 ^b	63.60±0.00 ^b	9.05±1.06 ^a
L 8	97.70±2.83 ^b	2.41±0.57 ^a	10.30±2.69 ^a	32.95±3.32 ^a	137.20±0.85 ^a	42.55±1.20 ^a	31.10±0.99 ^a	36.60±1.27 ^b	64.50±3.54 ^b	8.65±1.91 ^a
L 9	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
L 10	94.25±1.34 ^b	2.30±0.04 ^a	10.05±0.64 ^a	33.75±0.49 ^a	140.75±2.62 ^a	44.00±0.57 ^a	30.05±0.49 ^a	33.55±0.64 ^b	67.95±0.78 ^b	8.20±0.99 ^a
L 11	97.60±0.57 ^b	2.21±0.01 ^a	9.55±0.07 ^a	32.80±1.98 ^a	136.80±0.28 ^a	42.45±0.21 ^a	32.05±2.05 ^a	38.70±0.99 ^b	63.65±0.92 ^b	8.80±0.57 ^a
L 12	94.90±4.24 ^b	2.34±0.25 ^a	10.00±0.28 ^a	38.85±1.34 ^a	139.65±0.07 ^a	42.30±0.85 ^a	30.95±1.77 ^a	33.80±1.56 ^b	68.50±2.55 ^b	7.70±0.99 ^a

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n=12).

Les moyennes d'une colonne portant la même lettre ne sont pas significativement différentes (P<0.05).

GB: globules blancs ; **GR:** globules rouges ; **HGB:** hémoglobines ; **HCT:** hématocrite ; **VGM:** volume globulaire moyen ; **CCMH:** concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; **TCMH:** taux corpusculaire moyen en hémoglobine.

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), **L2:** Infecté Non Traité (INT), **L3:** Infecté Traité au monensin (ITM), **L4:** Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), **L5:** Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), **L6:** Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-graecum* (ITFP), **L7:** Infecté Traité avec l'ASsociation de Plante (ITASP), **L8:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), **L9:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), **L10:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* (ITFE), **L11:** Infecté Traité avec l'ASsociation des Extraits des plantes (ITASE), **L12:** Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

Tableau 27: Résultats de l'analyse des paramètres hématologiques au 21^{ème} jour P.-I.

Lots	GB (10 ⁹ /L)	GR (10 ¹² /L)	HGB (g/dL)	HCT (%)	VGM (fl)	TCMH (pg)	CCMH (g/dL)	Granulocyte (%)	Lymphocyte (%)	Monocyte (%)
L 1	74.85±1.48 ^a	3.23±0.04 ^a	11.00±0.85 ^a	35.25±2.62 ^a	135.05±1.48 ^a	46.70±0.14 ^a	40.05±2.90 ^a	29.25±1.20 ^a	60.70±2.26 ^a	10.05±1.06 ^a
L 2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
L 3	95.70±1.98 ^b	2.43±0.08 ^a	10.65±0.49 ^a	32.55±0.07 ^a	141.05±2.90 ^a	40.40±2.83 ^a	36.25±2.90 ^a	28.95±3.18 ^a	61.45±4.45 ^a	9.60±1.27 ^a
L 4	98.65±0.21 ^b	2.25±0.14 ^a	9.45±0.07 ^a	34.65±0.78 ^a	143.70±0.14 ^a	45.40±0.14 ^a	40.35±0.35 ^a	30.40±0.14 ^a	59.55±0.35 ^a	10.15±0.07 ^a
L 5	94.15±0.64 ^b	1.75±1.05 ^a	10.35±1.91 ^a	34.70±1.84 ^a	138.40±3.39 ^a	42.10±0.71 ^a	39.10±0.42 ^a	28.90±0.42 ^a	61.30±1.27 ^a	9.65±0.64 ^a
L 6	94.65±0.21 ^b	2.42±0.06 ^a	11.30±0.28 ^a	33.20±0.28 ^a	139.60±0.85 ^a	43.40±0.28 ^a	39.20±0.14 ^a	36.10±0.28 ^a	51.85±0.21 ^a	11.75±0.35 ^a
L 7	95.15±0.35 ^b	2.94±1.30 ^a	9.25±1.91 ^a	32.25±0.21 ^a	141.80±3.96 ^a	43.65±1.48 ^a	39.35±0.92 ^a	30.00±1.84 ^a	60.50±2.83 ^a	9.50±0.99 ^a
L 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
L 9	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
L 10	97.00±1.41 ^b	2.22±0.17 ^a	10.10±0.42 ^a	35.95±0.78 ^a	140.60±2.55 ^a	43.60±1.98 ^a	37.95±0.64 ^a	33.40±2.40 ^a	55.20±4.24 ^a	10.20±0.14 ^a
L 11	93.95±0.07 ^b	2.48±0.11 ^a	10.25±0.78 ^a	33.80±0.42 ^a	139.50±2.12 ^a	43.30±0.28 ^a	39.60±2.12 ^a	32.25±0.49 ^a	58.05±0.21 ^a	9.70±0.28 ^a
L 12	96.05±3.61 ^b	2.58±0.30 ^a	10.45±0.21 ^a	32.50±1.98 ^a	141.60±1.84 ^a	42.95±3.32 ^a	37.95±1.91 ^a	33.85±3.18 ^a	55.75±3.46 ^a	10.40±0.28 ^a

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n=12).

Les moyennes d'une colonne portant la même lettre ne sont pas significativement différentes (P<0.05).

GB: globules blancs ; **GR:** globules rouges ; **HGB:** hémoglobines ; **HCT:** hématocrite ; **VGM:** volume globulaire moyen ; **CCMH:** concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine ; **TCMH:** taux corpusculaire moyen en hémoglobine.

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), **L2:** Infecté Non Traité (INT), **L3:** Infecté Traité au monensin (ITM), **L4:** Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), **L5:** Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), **L6:** Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-graecum* (ITFP), **L7:** Infecté Traité avec l'Association de Plante (ITASP), **L8:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), **L9:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), **L10:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* (ITFE), **L11:** Infecté Traité avec l'Association des Extraits des plantes (ITASE), **L12:** Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

Les résultats de la présente étude concordent avec ceux de Patra *et al.* (2010) ; Adamu *et al.* (2013) ; Dar *et al.* (2014) et Ola-Fadunsin et Ademola (2014) qui ont observé une diminution des valeurs hématologiques chez les poulets de chair infectés par des coccidies.

Les taux réduits d'hémoglobine, d'hématocrite et la diminution du nombre total d'érythrocytes observés dans notre étude pour les poulets infectés pourraient être attribuée à des hémorragies dans le cæca suivies d'un développement de lésions cæcales. Il peut y avoir libération de grandes quantités d'histamine en raison d'une lésion des tissus qui augmente la perméabilité des capillaires permettant l'écoulement de grandes quantités de liquide (Patra *et al.*, 2010 ; Akhtar *et al.*, 2015). La présence d'une anémie hypochrome macrocytaire chez les poulets infectés par la coccidiose cæcale a été révélée par de faibles taux de MCV et de MCHC (Patra *et al.*, 2010).

Les résultats de la numération leucocytaire ont montré que les poulets infectés par des espèces mixtes d'*Eimeria* présentaient une augmentation significative ($P < 0.05$) du nombre de lymphocytes et granulocyte par rapport aux C témoins non infectés (Tableau 25). Cette augmentation pourrait être due à l'induction d'une réponse immunitaire chez les poulets infectés en raison de l'augmentation de la lymphopoïèse comme première étape du mécanisme de défense contre l'infection (Patra *et al.*, 2010 ; Tollba *et al.*, 2010). En revanche, le nombre de monocytes et granulocyte est resté dans les limites normales des différents groupes dans la présente étude, les différences entre les groupes infectés et le témoin étant statistiquement non significatives ($P < 0.05$) ce qui concorde avec ce que rapportent Akhtar *et al.* (2015).

L'augmentation du nombre de lymphocytes peut être attribuée à l'effet de l'inflammation du cæca et de l'intestin. La stimulation antigénique chronique peut entraîner une accumulation importante de lymphocytes circulants parce que les fonctions primaires des lymphocytes sont la réponse immunologique, la formation d'anticorps humoraux et l'immunité à médiation cellulaire. Il existe de plus en plus de preuves que l'immunité à médiation cellulaire joue un rôle majeur dans la résistance à l'infection car les lymphocytes T réagissent à l'infection coccidienne par la production de cytokines et une attaque cytotoxique directe sur les cellules infectées (Adamu *et al.*, 2013).

L'amélioration des paramètres hématologiques au cours du temps peuvent être attribuées à la réduction quotidienne de l'excrétion d'oocystes dans les fèces (Tableau 26, 27), ce qui est en accord avec les résultats d'Ola-Fadunsin et Ademola (2014).

b. Paramètres biochimiques

Protéïnémie

Un abaissement du taux de protéines totales plasmatiques a été observé à J7 P.-I. chez les poulets des onze lots infectés, il a été particulièrement marqué chez ceux du lot 2 (INT) infecté non traité où on a enregistré les taux les plus faibles. Au 12^{ème} et 21^{ème} jour après l'infection, le rétablissement du taux de protéines totales plasmatiques a été marqué pour l'ensemble des lots infectés (Tableau 28).

Tableau 28: Taux de protéines totales (g/L) chez les poulets aux 7^{ème}, 12^{ème} et 21^{ème} jours P.-I.

Période (Jours)	J7 P.-I.	J12 P.-I.	J21 P.-I.
L 1	31.15±0.35 ^a	29.85±0.64 ^a	31.85±0.78 ^a
L 2	19.65±0.35 ^b	/	/
L 3	21.00±1.27 ^b	31.80±0.71 ^a	32.95±2.05 ^a
L 4	21.15±1.06 ^b	27.65±1.63 ^a	30.50±0.71 ^a
L 5	24.35±1.06 ^b	29.50±1.13 ^a	31.65±1.34 ^a
L 6	21.10±1.27 ^b	30.35±3.61 ^a	32.95±0.21 ^a
L 7	20.85±1.20 ^b	29.05±0.35 ^a	32.90±2.12 ^a
L 8	20.20±1.70 ^b	26.60±3.39 ^a	/
L 9	20.10±1.20 ^b	/	/
L 10	24.75±0.78 ^b	28.95±1.63 ^a	32.55±0.49 ^a
L 11	22.85±1.48 ^b	31.20±0.57 ^a	31.20±1.27 ^a
L 12	24.65±2.47 ^b	29.50±3.11 ^a	30.15±2.19 ^a

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n=12),

Les moyennes d'une colonne portant la même lettre ne sont pas significativement différentes (P<0.05).

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), **L2:** Infecté Non Traité (INT), **L3:** Infecté Traité au monensin (ITM), **L4:** Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), **L5:** Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), **L6:** Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-graecum* (ITFP), **L7:** Infecté Traité avec l'Association de Plante (ITASP), **L8:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), **L9:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), **L10:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* (ITFE), **L11:** Infecté Traité avec l'Association des Extraits des plantes (ITASE), **L12:** Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

Dans notre étude l'hypoprotéïnémie observée au 7^{ème} jour après l'infection a concerné l'ensemble des lots infectés. Elle coïncide avec la période où les lésions cœcales et la diarrhée hémorragique étaient les plus sévères. La prise alimentaire au cours de cette période, a connu également une diminution dans les lots infectés, sous l'effet du stress consécutif au parasitisme. L'hypoprotéïnémie a été la plus marquée dans le lot 2 (INT) infecté non traité (19.65 g/L) en comparaison avec le lot 1 (TNINT) témoin non infecté non traité (31.15 g/L) (Tableau 28).

La chute des protéines totales plasmatiques (hypo-protéïnémie) chez les poulets infectés par des coccidies a été rapportée par El-Katcha *et al.* (2018) et qui pourrait être due à un stress aigu qui entraîne la sécrétion de cortisol et le catabolisme des protéines. Hémorragie aiguë à J7 P.-I. provoque une perte importante de protéines plasmatiques suivie d'un mouvement rapide du liquide interstitiel sans protéine dans le compartiment plasmatique pour induire une hypo-protéïnémie aiguë. Au jour 9 P.-I., le niveau de protéine atteint la normale, ce qui suggère un état de récupération confirmé par l'examen post mortem (Mondal *et al.*, 2011).

Des études biochimiques ont révélé une diminution significative ($P < 0.05$) des valeurs de protéines totales plasmatiques, d'albumine et des globulines dans les groupes infectés et traités par rapport au groupe témoin. Ces résultats sont conformes à ceux de Mondal *et al.* (2011), Patra *et al.* (2010) et Dar *et al.* (2014) qui ont constaté une réduction marquée des valeurs des protéines totales plasmatiques et de l'albumine qui pourrait être due à une malabsorption des nutriments, à des lésions hépatocellulaires, à une entérite hémorragique marquée, à un dysfonctionnement rénal ou à une inappétence (Dar *et al.*, 2014)

Lipidémie

Un abaissement du taux de lipides plasmatiques totaux a été observé à J7 P.-I. chez les poulets des lots infectés. Il a été particulièrement marqué chez les poulets du lot 2 (INT) infecté non traité où l'on a enregistré les taux les plus faibles. Dans les autres lots infectés traités avec les différentes plantes, l'abaissement a été moins marqué en comparaison avec le lot 2 (INT) (Tableau 29). Au-delà du 12^{ème} jour après l'infection, le rétablissement du taux de lipides plasmatiques a été marqué pour l'ensemble des lots infectés (Tableau 29).

Tableau 29: Taux de lipides totaux (g/L) chez les poulets aux 7^{ème}, 12^{ème} et 21^{ème} jours P.-I.

Période (Jours)	J7 P.-I.	J12 P.-I.	J21 P.-I.
L 1	4.91±0.05 ^a	3.95±0.75 ^a	4.49±0.01 ^a
L 2	1.87±0.48 ^b	/	/
L 3	2.28±0.10 ^b	3.53±0.21 ^a	4.48±0.69 ^a
L 4	2.65±0.37 ^b	3.50±1.10 ^a	4.31±0.01 ^a
L 5	2.69±0.47 ^b	3.99±0.38 ^a	4.14±0.52 ^a
L 6	2.43±0.01 ^b	3.68±0.82 ^a	4.18±0.04 ^a
L 7	2.38±0.61 ^b	3.56±0.13 ^a	4.36±0.67 ^a
L 8	2.90±0.45 ^b	3.40±0.37 ^a	/
L 9	1.89±0.07 ^b	/	/
L 10	2.72±0.48 ^b	3.81±0.02 ^a	4.04±0.56 ^a
L 11	2.76±0.59 ^b	3.75±0.33 ^a	3.57±0.37 ^a
L 12	2.63±0.32 ^b	3.61±0.96 ^a	3.71±0.94 ^a

Les valeurs sont exprimées en moyenne ± SEM (n=12),

Les moyennes d'une colonne portant la même lettre ne sont pas significativement différentes (P<0.05).

L1: Non Infecté Non Traité (NINT), **L2:** Infecté Non Traité (INT), **L3:** Infecté Traité au monensin (ITM), **L4:** Infecté Traité avec la Plante *P. lentiscus* (ITPP), **L5:** Infecté Traité avec la Plante d'*A. sativum* (ITAP), **L6:** Infecté Traité avec la Plante *T. foenum-graecum* (ITFP), **L7:** Infecté Traité avec l'ASsociation de Plante (ITASP), **L8:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique de *P. lentiscus* (ITPE), **L9:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE), **L10:** Infecté Traité avec l'Extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* (ITFE), **L11:** Infecté Traité avec l'ASsociation des Extraits des plantes (ITASE), **L12:** Infecté Traité au Toltrazuril (ITT).

Dans cette étude, la chute du taux de lipides totaux à partir du 7^{ème} jour après l'infection chez les poulets des lots infectés a été survenue juste après une période durant laquelle la prise alimentaire était très diminuée. D'un autre coté, l'infection a été réalisée au 14^{ème} jour d'âge, à cet âge les poulets n'ont pu cumuler que de petites quantités de réserves lipidiques, qui auraient été mobilisées au cours des premiers jours après l'infection, en raison de la diminution de la prise alimentaire.

Plusieurs études ont pu mettre en évidence la chute du taux de lipides plasmatiques au cours des coccidioses (Patra *et al.*, 2010 ; Tollba *et al.*, 2010 ; Mondal *et al.*, 2011).

La diminution du taux plasmatique de triglycérides chez le poulet infecté par *E. acervulina* peut être due à l'anorexie et à la malabsorption des nutriments chez le poulet. L'anorexie peut être une raison majeure du déclin du taux de triglycérides chez les oiseaux atteints de coccidies. Lors de la malnutrition, le taux élevé de mobilisation des graisses et l'effondrement de la plus grande partie du tissu adipeux sont évidents (Mondal *et al.*, 2011).

III.2.6. Histopathologie

Les principaux changements histopathologiques observés chez les poulets infectés étaient compatibles avec ceux associés à l'infection provoquée par les espèces d'*Eimeria* et aux lésions causées par les stades invasifs du parasite. Les dommages causés par l'invasion des mérozoïtes de deuxième génération dans les muqueuses du cæcum affectent l'intégrité fonctionnelle du cæcum, ce qui peut entraîner une infection bactérienne secondaire et une infiltration cellulaire; ceci pourrait peut-être expliquer l'infiltration cellulaire diffuse observée histopathologiquement dans les groupes des poulets infectés (Jatau *et al.*, 2014).

Le lot 1 non infecté non traité (NINT) a montré une histologie normale caractérisée par une muqueuse, une couche sous-muqueuse et des cellules cryptées normales (Figure 52). En revanche, le lot 2 infecté non traité (INT) et le lot 9 infecté traité avec l'extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE) ont présenté des lésions très sévères (Figure 53, 60) qui s'est traduite par le taux de mortalité le plus élevé (83.33%).

L'examen histopathologique de sections de cæca appartenant à différents lots infectés (Figure 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62 et 63) a montré une désintégration de la muqueuse, une infiltration cellulaire inflammatoire, principalement des lymphocytes et des éosinophiles qui ont envahi les couches des cæca, un abcès et une fibrose dont l'intensité variait d'un lot à l'autre. En outre, le nombre de schizontes et leur emplacement dans la paroi des cæca varient considérablement. L'épithélium peut contenir suffisamment de cellules parasitées pouvant provoquer une dégénérescence des tissus conjonctifs environnants ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par plusieurs auteurs; Deyab et Laji (2007); Chandrakesan *et al.* (2009); De Pablos *et al.* (2010); Patra *et al.* (2010); You, (2014).

La pathologie macroscopique et microscopique a été spécifiquement utilisée pour démontrer la gravité de la maladie chez les poulets infectés par *E. tenella*. La présence d'un nombre élevé d'oocystes, de schizontes et de lésions tissulaires sévères dans le cæcum indique la gravité de l'infection due à *E. tenella*. L'examen histopathologique des cæca affectés a montré des résultats similaires à ceux rapportés par Adamu *et al.*, (2013) et McDougald et Fitz-Coy (2008), qui ont constaté que les modifications pathologiques causé par *E. tenella* sont principalement dues à la maturation des schizontes de deuxième génération, qui s'accompagne de lésions tissulaires excessives, de saignements, de

perturbations des glandes cæcales et de la destruction de la muqueuse et de la couche musculaire.

Les lots infectés traités avec les différentes plantes ont présenté une désintégration de la muqueuse au 7^{ème} jour post-infection mais y a eu une régénération au 12^{ème} jour post-infection (Figure 54, 55, 56, 57, 58, 59, 61, 62 et 63). Ces constatations sont en accord avec celles qui ont été rapporté par McDougald et Fitz-Coy (2008), que la régénération de l'épithélium et des glandes peut être complète au dixième jour dans les infections légères, mais l'épithélium peut ne jamais se rétablir complètement dans les infections graves. La musculature perdue n'est pas remplacée et la sous-muqueuse devient fortement fibreuse.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Michels *et al.* (2011), qui ont constaté que les groupes traités par coumestans (la fraction acétate d'éthyle de l'extrait méthanolique de parties aériennes d'*Eclipta alba*, contenant les coumestans) ont présenté une diminution significative du nombre d'oocystes depuis le 21^{ème} jour de vie par rapport au lot infecté non traité et une destruction grave de la muqueuse cæcale de poulets de chair nourris avec une dose de coumestans de 180 ppm.

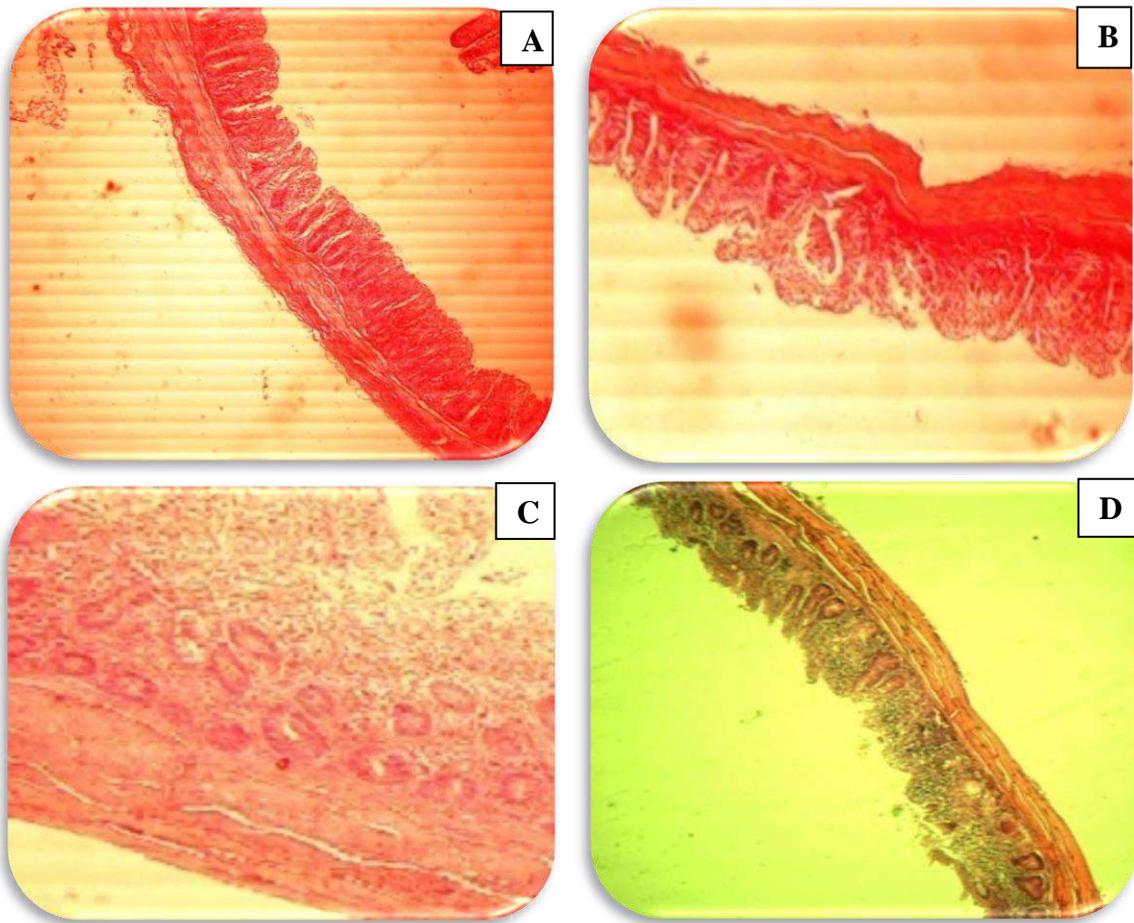


Figure 52: Photographies des coupes histologiques préparées à partir des cæca du lot 1 non infecté non traité (NINT) avec une histologie normale de la muqueuse, la sous-muqueuse et des cellules des cryptes. (A) Au 7^{ème} jour P.-I. (H&E X40); (B) Au 12^{ème} jour P.-I. (H&E X40); (C) Au 21^{ème} jour P.-I. (H&E X100); (D) Au 21^{ème} jour P.-I. (H&E X40).

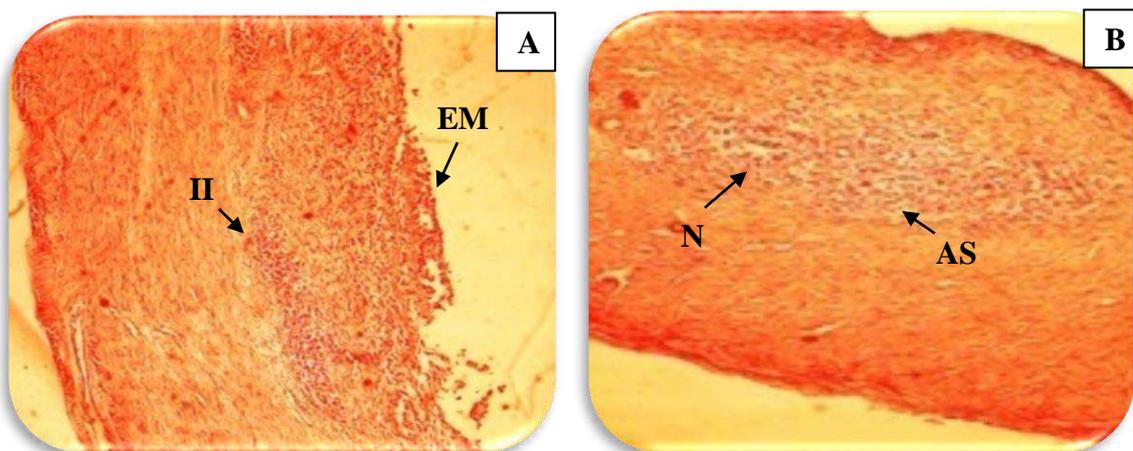


Figure 53: Photographies des coupes histologiques préparées à partir des cæca du lot 2 infecté non traité (INT), (A) et (B) : présentant EM : une érosion de la muqueuse et AS : un amas de gros schizontes dans la sous muqueuse, associée à une N : nécrose et II : une infiltration par un grand nombre de cellules inflammatoires aiguës et chroniques plus une fibrose au 7^{ème} jour P.-I. (H&E X40).

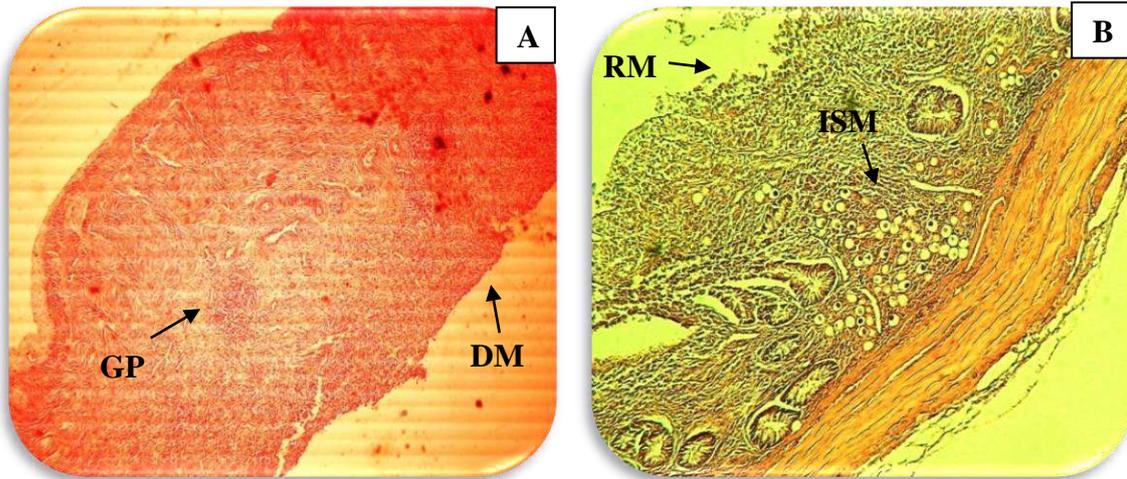


Figure 54: Sections des cæca des poussins du lot 3 Témoin Infecté Traité au Monensin (ITM). (A): **DM:** Une désintégration de la muqueuse et une inflammation de la paroi intestinale avec **GP** : un granulome parasite composé de cellules inflammatoires au 7^{ème} jour P.-I. (H&E X100); (B): Une sévère **ISM:** invasion sous-muqueuse de schizontes accompagnée d'une inflammation transmurale affectant toutes les couches de la paroi intestinale associée à **RM:** la régénération de la muqueuse au 12^{ème} jour P.-I. (H & E X100).

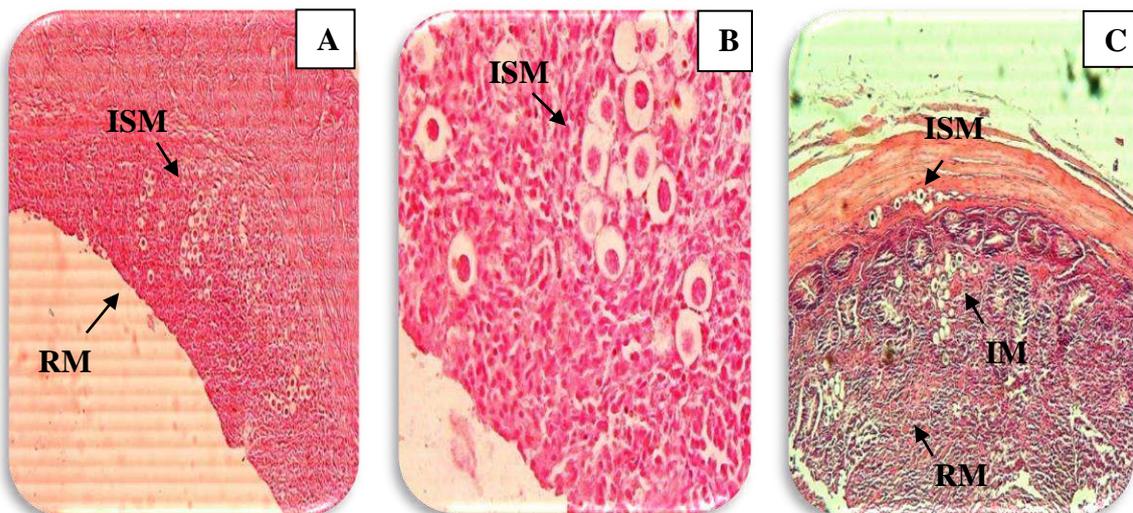


Figure 55: Photographies des coupes histologiques préparées à partir des cæca du lot 4 Infecté Traité aux feuilles de la plante *P. lentiscus* (ITPP); présentant **EM:** une érosion de la muqueuse, **ISM:** envahissement de la sous muqueuse par les stades de développement d'*E. tenella* schizontes et gamétocystes et épaissement de la musculature (A) Au 7^{ème} jour P.-I. (H&E X100); (B) Au 7^{ème} jour P.-I. (H&E X400); (C) **IM:** Une invasion de la muqueuse et **ISM:** sous muqueuse par des schizontes avec une fibrose marquée de la paroi intestinale associée à **RM:** la régénération de la muqueuse au 12^{ème} jour P.-I. (H&E X100).

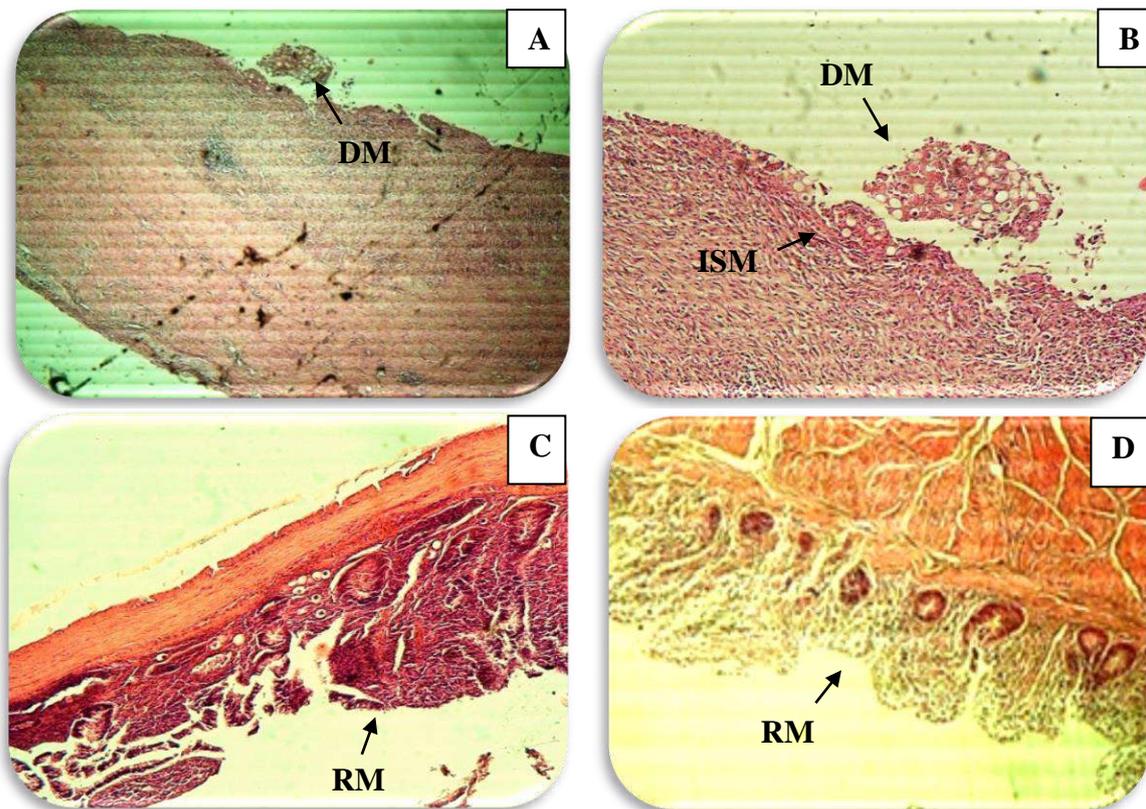


Figure 56: Sections des cæca des poussins du lot 5 Infecté Traité aux bulbes d'*A. sativum* (ITAP) montrant **DM**: une désintégration de la muqueuse, **ISM**: invasion de la sous muqueuse par des schizontes associée à **N**: une nécrose et **II**: une infiltration par un grand nombre de cellules inflammatoires aiguës et chroniques (A) Au 7^{ème} jour P.-I. (H&E X40); (B) Au 7^{ème} jour P.-I. (H&E X100) ; (C): **RM**: Régénération de la muqueuse avec **II**: des cellules inflammatoires aiguës et chroniques recueillies à la profondeur des muqueuses des cryptes au 12^{ème} P.-I. (H&E X100) et (D) **RM**: Régénération de la muqueuse au 21^{ème} jour P.-I. (H&E X100).

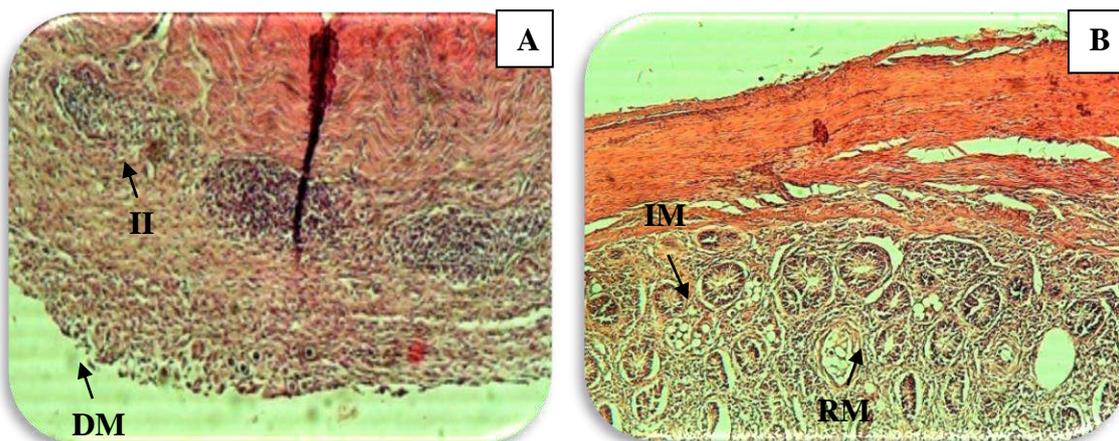


Figure 57: Sections des cæca des poussins du lot 6 infecté traité aux graines de *T. foenum-græcum* (ITFP) ; (A) **DM**: Une désintégration de la muqueuse et une inflammation de la paroi intestinale avec un granulome parasite composé **II**: de cellules inflammatoires chroniques et d'une fibrose au 7^{ème} jour P.-I. (H & E X 100) ; (B): **IM**: Une invasion de la muqueuse par des schizontes avec une fibrose marquée de la paroi intestinale associée à la **RM**: régénération de la muqueuse au 12^{ème} jour P.-I. (H & E X 100).

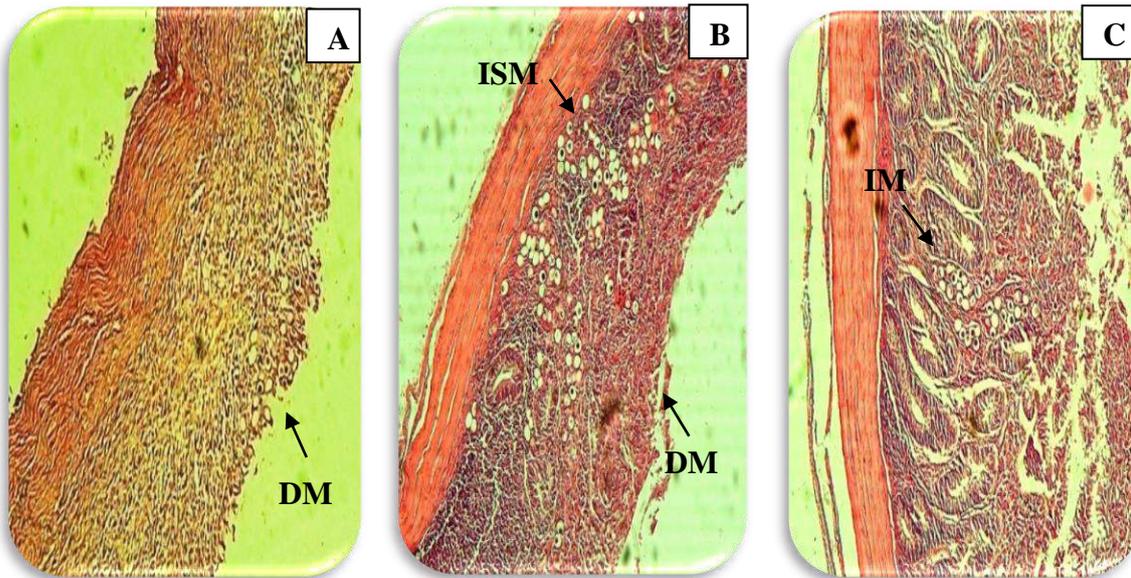


Figure 58: Sections des cæca des poussins du lot 7 Infecté Traité aux bulbes d'*A. sativum* en association avec les feuilles de *P. lentiscus* et les graines de *T. foenum-græcum* (ITASP), (A): **ISM:** Une invasion sous-muqueuse de schizontes accompagnée d'une inflammation transmurale associée à **DM:** une désintégration de la muqueuse au 7^{ème} jour P.-I. (H & E X40); (B) et (C) Montrant **IM:** une sévère invasion de la muqueuse par des schizontes avec une fibrose marquée de la paroi intestinale associée à une nécrose et une perte partielle de la muqueuse et une infiltration par un grand nombre de cellules inflammatoires aiguës et chroniques au 12^{ème} jour P.-I. (H & E X100).

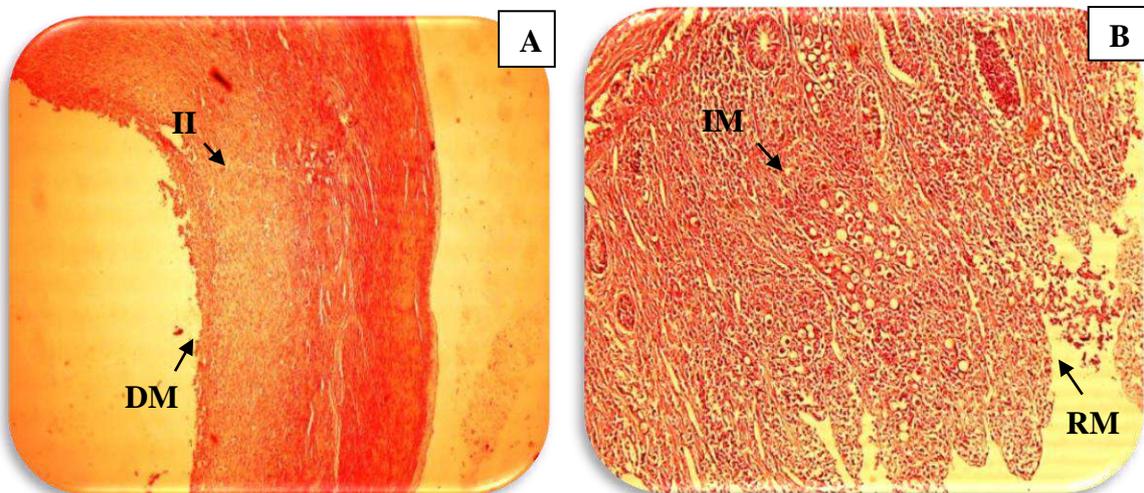


Figure 59: Sections des cæca des poussins du lot 8 infecté traité avec l'extrait méthanolique des feuilles de *P. lentiscus* (ITPE). (A): **DM:** Désintégration de la muqueuse avec **II:** infiltrat inflammatoire marqué et fibrose étendue au 7^{ème} jour post-infection (H & E X40). (B): Une perte d'épithélium de surface et une perte intestinale des villosités avec infiltrat inflammatoire marqué et fibrose étendue et **IM:** une sévère invasion de la muqueuse par des schizontes d'*E. tenella* au 12^{ème} jour P.-I. (H & E X100).

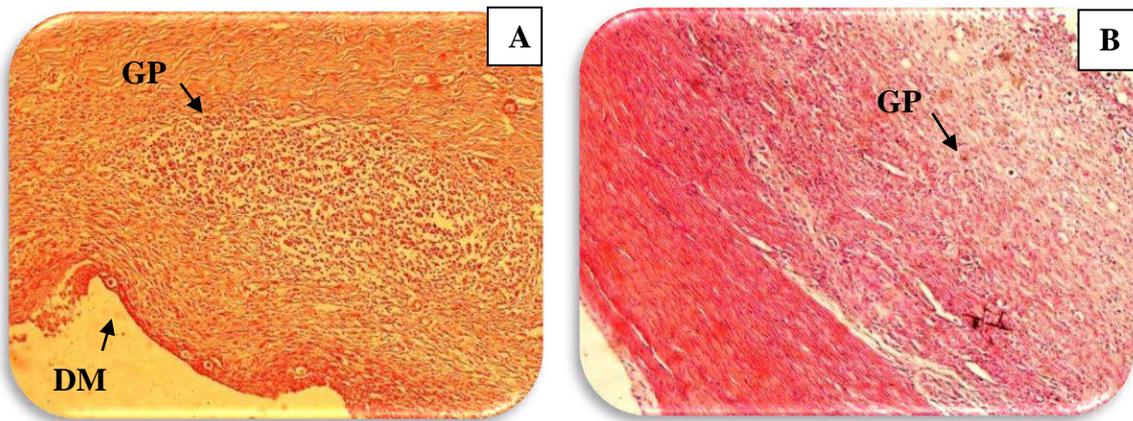


Figure 60: Sections des cæca des poussins du lot 9 Infecté Traité avec l'extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (ITAE) au 7^{ème} jour P.-I., (A) et (B): présentant une inflammation de toute la paroi intestinale avec **GP**: un granulome parasite composé de cellules inflammatoires chroniques et d'une fibrose avec **DM**: une désintégration de la muqueuse (H & E X100).

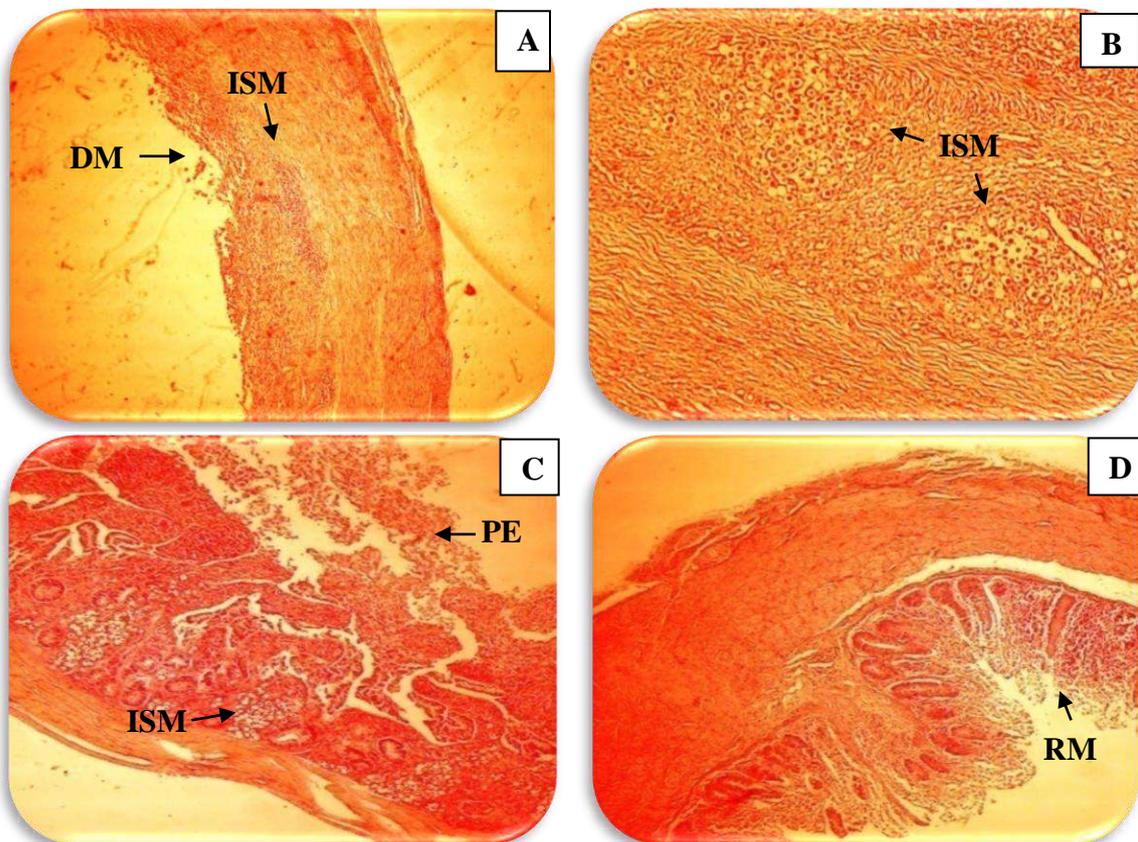


Figure 61: Sections des cæca des poussins du lot 10 Infecté Traité avec l'extrait méthanolique des graines de *T. foenum-graecum* (ITFE), montrant **DM**: une désintégration de la muqueuse, **ISM**: invasion de la sous muqueuse par des schizontes associée à une nécrose et une infiltration par un grand nombre de cellules inflammatoires aiguës et chroniques. (A) Au 7^{ème} jour P.-I. (H&E X40). (B): Au 7^{ème} jour P.-I. (H&E X100). (C): **PE**: Une perte d'épithélium de surface et une perte intestinale des villosités avec **II**: infiltrat inflammatoire marqué et fibrose étendue associée à **ISM**: une invasion sous-muqueuse de schizontes au 12^{ème} jour P.-I. (H&E X40). (D): **RM**: Régénération de l'épithélium de surface avec une fibrose marquée de la paroi intestinale au 35^{ème} jour P.-I. (H & E X40).

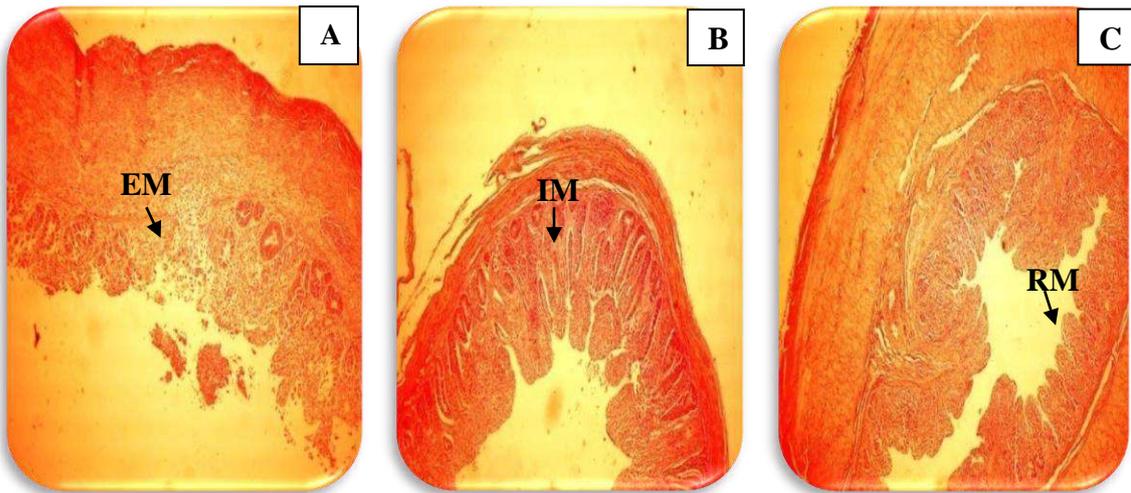


Figure 62: Sections des cæca des poussins du lot 11 infecté traité aux extraits de bulbes d'*A.sativum* en association avec l'extrait de feuilles de *P.lentiscus* et l'extrait des graines de *T.foenum-græcum* (ITASE). (A): **EM**: Une érosion de la muqueuse avec un abcès de crypte composé de schizontes d'*E.tenella* et de cellules inflammatoires chroniques au 7^{ème} jour P.-I. (H & E X40). (B): **IM**: Une invasion de la muqueuse par des schizontes avec une fibrose marquée de la paroi intestinale associée à **RM**: la régénération de la muqueuse au 12^{ème} P.-I. (H & E X 40), (C): Régénération de la muqueuse au 21^{ème} jour P.-I. (H & E X40).

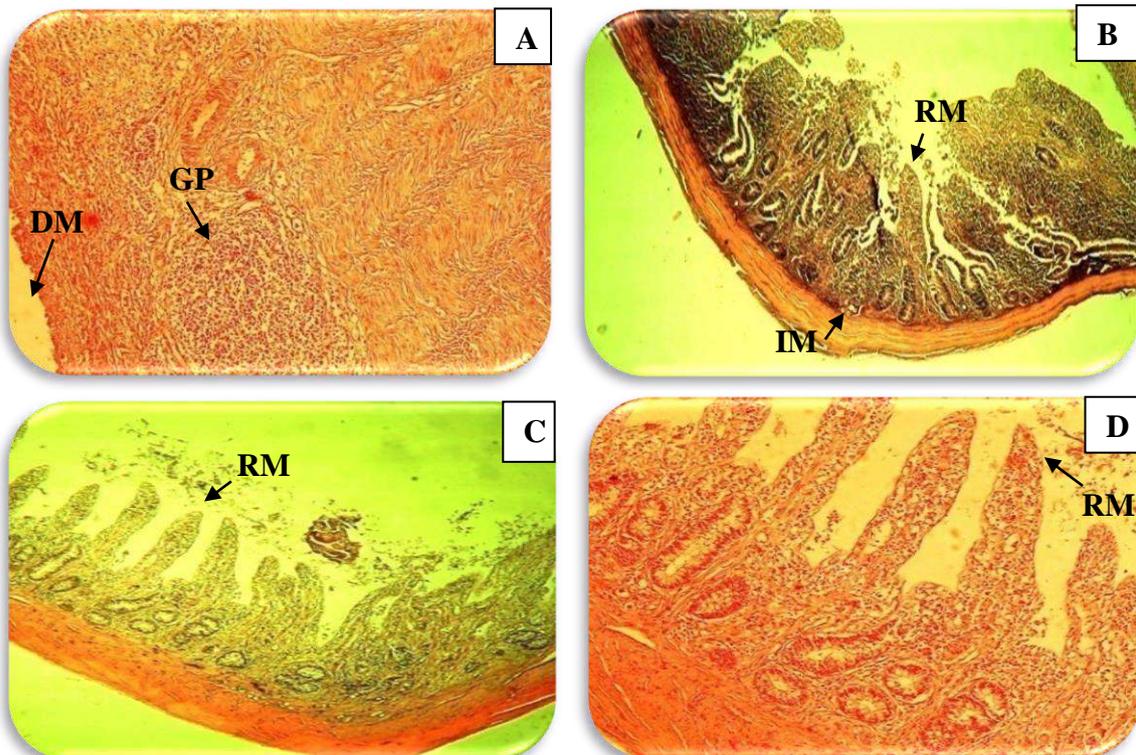


Figure 63: Sections des cæca des poussins du lot 12 infecté traité au toltrazuril (ITT). (A): Une nécrose et **DM**: de la désintégration de la muqueuse avec **GP**: un granulome parasite composé de cellules inflammatoires chroniques et d'une fibrose au 7^{ème} jour P.-I. (H&E X100). (B): **IM**: Une invasion de la muqueuse par des schizontes associée à **RM**: la régénération des villosités au 12^{ème} jour P.-I. (H & E X40), (C): **RM**: Régénération des villosités au 21^{ème} jour P.-I. (H & E X 40) et (D) Au 21^{ème} jour P.-I. (H & E X100).

Conclusion

Conclusion et perspectives

L'investigation pharmacologique des plantes médicinales traditionnelles reste importante pour offrir des bases scientifiques pour l'usage traditionnel des plantes et fournir à la société de nouvelles sources de médicaments sains et efficaces. Les objectifs visés par ce travail sont l'évaluation qualitative et quantitative de l'activité antimicrobienne vis-à-vis de souches Gram positives, Gram négatives et de champignons, l'évaluation du pouvoir antioxydant, ainsi qu'à l'évaluation de l'activité anticoccidienne des extraits des feuilles de *P. lentiscus*, les graines de *T. foenum-graecum* et les bulbes d'*A. sativum*.

La méthode adoptée vise à extraire les composés phénoliques et elle a permis d'obtenir quatre extraits par plante. Les résultats du dosage des composés phénoliques contenus dans ces différents extraits ont révélé des teneurs considérables avec des quantités appréciables en phénols totaux, tanins et flavonoïdes dans les extraits de feuilles de *P. lentiscus*.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne des extraits à différentes concentrations contre les souches testées a révélé que l'extrait flavonoidique des feuilles de *P. lentiscus* possède un effet inhibiteur très intéressant vis-à-vis de *S. aureus*. D'autre part, le même extrait a manifesté aussi des effets relativement importants, notamment contre les bactéries à Gram négatif ; *S. typhi* et *P. aeruginosa* et la souche fongique *C. albicans*. Ceci pourrait refléter soit le large spectre d'activité d'un ou des composés phénoliques de cet extrait ou bien la variabilité des métabolites secondaires qui le constitue.

L'évaluation quantitative de cette activité par la détermination des CMI et CMB, montre que l'extrait flavonoidique des feuilles de *P. lentiscus* est le plus actif contre le *SARM*, *V. cholerae* et *C. albicans*.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits est réalisée par deux méthodes complémentaires, à savoir le pouvoir réducteur et le piégeage du radical DPPH. Les extraits des feuilles de *P. lentiscus* exercent les meilleurs pouvoirs réducteurs, ceux d'*A. sativum* ont enregistré les plus faibles activités antioxydantes.

L'étude de la toxicité aiguë des extraits des trois plantes a permis de conclure que les extraits méthanoliques des feuilles de *P. lentiscus*, graines de *T. foenum-graecum* et bulbes d'*A. sativum* ne sont pas toxiques par voie orale.

Les plantes testées et leurs extraits méthanoliques ont une activité anticoccidienne intéressante, à travers la prévention de la mortalité et la diminution de l'excrétion d'oocystes induite par *E. tenella*. L'extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* (lot 9) a présenté des résultats similaires à ceux du lot 2 (INT) infecté non traité.

Les profils hématologiques et biochimiques étaient altérés chez les poulets de chair infectés par des espèces mixtes d'*Eimeria* (*E. tenella*, *E. acervulina* et *E. mitis*) par rapport aux profils de poulets de contrôle non infectés à J7 P.-I. De plus, les lésions histopathologiques étaient moins sévères que chez les poulets du lot 2 (INT) infecté non traité et lot 9 (ITAE) infecté traité avec l'extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum* et ont montré une augmentation significative des infiltrations de lymphocytes; indicatif de la réponse immunitaire à médiation cellulaire ce qui suggère que les plantes sont capables de stimuler l'immunité des poulets présentant une infection clinique ou sub-clinique de coccidies suite à une exposition ultérieure, ce qui confirme que les plantes testées et leurs extraits méthanoliques ont une capacité de réparation des lésions cellulaires. A J12 P.-I. et J21 P.-I., le rétablissement de ces paramètres a été définitif pour l'ensemble des lots infectés traités.

Les résultats de la présente étude donnent un aperçu général sur le potentiel antimicrobien, antioxydant et anticoccidien des plantes testées et de leurs extraits méthanoliques. Des études sur ces plantes méritent d'être poursuivies et les perspectives qui en résultent sont:

- Réalisation de tests complémentaires tels que les activités anti-inflammatoire et inhibition d'enzymes.
- Purification et identification des composés des extraits actifs de plantes étudiées, ainsi que la détermination de leurs modes d'action. Il serait aussi très utile de tester leurs cytotoxicités dans le but de mettre en place des traitements naturels de maladies infectieuses mieux tolérés.
- L'augmentation du nombre d'espèces de coccidies et la réalisation d'essais sur des effectifs plus importants *in vivo*.

Références bibliographiques

A

- Abbas, A., Iqbal, Z., Abbas, R.Z., Khan, M.K., Khan, J.A., Hussain, K., Mahmood, M.S. & Rizwan, H.M. (2017). Immunomodulatory effects of *camellia sinensis* against coccidiosis in chickens. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 27 (2): 415-421.
- Abbas, R.Z., Colwell, D.D. & Gilleard, J. (2012). Botanicals: an alternative approach for the control of avian coccidiosis. *World's Poultry Science Journal*, 68 (2): 203-215.
- Abbas, R.Z., Iqbal, Z., Khan, M.N., Zafar, M.A., & Zia, M.A. (2010). Anticoccidial activity of *Curcuma longa* L. in broilers. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 53 (1): 63-67.
- Abdelwahed, A., Bouhlel, I., Skamdrani, I., Valenti, K., Kadri, M., Guiraud, P., Steiman, R., Mariotte, A.-M., Gherdia, K., Laporte, F., Dijoux-Franca, M.-G. & Chekir-Ghedira, L. (2007). Study of antimutagenic and antioxidant activities 1, 2, 3, 4, 6-pentagalloylglucose from *Pistacia lentiscus* confirmation by microarray expression profiling. *Chemico-Biological Interactions*, 165: 1-13.
- Abu-Akkada, S.S., & Awad, A.M. (2012). Isolation, propagation, identification and comparative pathogenicity of five Egyptian field strains of *Eimeria tenella* from broiler chickens in five different provinces in Egypt. *Research in veterinary science*, 92: 92-95.
- Abu-Akkada, S.S. & Awad, A.M. (2012). Isolation, propagation, identification and comparative pathogenicity of five Egyptian field strains of *Eimeria tenella* from broiler chickens in five different provinces in Egypt. *Research in veterinary science*, 92: 92-95.
- Abudabos, A.M., Alyemni, A.H., Swilam, E.O. & Al-Ghadi, M. (2017). Comparative anticoccidial effect of some natural products against *Eimeria spp.* infection on performance traits, intestinal lesion and oocyt number in broiler. *Pakistan Journal of Zoology*, 49(6): 1989-1995.
- Adamu, M., Boonkaewwan, C., Gongruttananun, N. & Vongpakorn, M. (2013). Hematological, biochemical and histopathological changes caused by coccidiosis in chickens. *Kasetsart Journal*, 47 (3): 238-246.
- Adetumbi, M.A. & Lau, B.H.S. (1983). *Allium sativum* (garlic) - A natural antibiotic. *Medical Hypotheses*, 12: 227-237.
- Adeyemi, O.T., Osilesi, O., Adebawo, O.O., Onajobi, F.D., Oyedemi, S.O. & Afolayan, A. J. (2015). Alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) activities in selected tissues of rats fed on processed atlantic horse mackerel (*Trachurus trachurus*). *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 6 (03): 139-152.
- Akanji, M.A., Salau, A.K. & Yakubu, M.T. (2013). Safety evaluation of aqueous extract of *Crateva adansonii* leaves on selected tissues of rats. *Fountain Journal of Natural and Applied Sciences*, 2(1): 17-28.
- Akhtar, M., Awais, M.M., Anwar, M.I., Ehtisham-ul-Haque, S., Nasir, A., Saleemi, M.K. & Ashraf, K. (2015). The effect of infection with mixed *Eimeria* species on hematology and immune responses following Newcastle disease and infectious bursal disease booster vaccination in broilers. *Veterinary Quarterly*, 35 (1): 21-26.
- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T. & Iwatsuki, K. (2001). Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48: 487-491.
- Al-abdeen, S.S.Z., Faraj, B.M. & Nasrulla, O.J. (2010). Antibacterial effects of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*). *Basrah Journal of Veterinary Research*, 10 (2): 133-140.

- Al-Ashban, R.M., Abou-Shaaban, R.R. & Shah, A.H. (2010). Toxicity studies on *Trigonella foenum-graecum* L. seeds used in spices and as a traditional remedy for diabetes. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*, 10 (2): 66-78.
- Albaladejo, R.G., Sebastiani, F., Aparicio, A., Buonamici, A., González-Martínez, S.C. & Vendramin, G.G. (2008). Development and characterization of eight polymorphic microsatellite loci from *Pistacia lentiscus* L. (Anacardiaceae). *Molecular Ecology Resources*, 8: 904-906.
- Alcaráz, L.E., Blanco, S.E., Puig, O.N., Tomas, F. & Ferretti, F.H. (2000). Antibacterial activity of flavonoids against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* stains. *Journal of theoretical Biology*, 205: 231-240.
- Al-Gawad, A.A., Mahdy, O.A., El-Massry, A.A. & Al-Aziz, M.S. (2012). Studies on coccidia of Egyptian Balady breed chickens. *Life Science Journal*, 9 (3): 568-576.
- Al-Habori, M., Al-Aghbari, A., Al-Mamary, M. & Baker, M. (2002). Toxicological evaluation of *Catha edulis* leaves: a long term feeding experiment in animals. *Journal of ethnopharmacology*, 83(3): 209-217.
- Ali, N.A.A., Julich, W.-D., Kusnick, C. & Lindequist, U. (2001). Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 74: 173- 179.
- Alizadeh, Sh., Dargahi, H., Kashani Khatib, Z. & Mossahebi, M. (2013). Investigation of antineoplastic effects of *Trigonella foenum graecum* seeds extract on some acute leukemic cell lines. *International Journal of Research In Medical and Health Sciences*, 2 (2): 1-9.
- Allen, P.C. & Fetterer, R.H. (2002). Recent advances in biology and immunobiology of *Eimeria* species and in diagnosis and control of infection with these coccidian parasites of poultry. *Clinical microbiology reviews*, 15 (1): 58-65.
- Al-Momani, W., Abu-Basha, E., Janakat, S., Nicholas, R.A.J. & Ayling, R.D. (2007). *In vitro* antimycoplasmal activity of six Jordanian medicinal plants against three *Mycoplasma* species. *Tropical Animal Health and Production*, 39: 515–519.
- Allothman, M., Bhat, R. & Karim, A.A. (2009). Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115: 785–788.
- AL-Saghir, M.G. & Porter, D.M. (2012). Taxonomic Revision of the Genus *Pistacia* L. (Anacardiaceae). *American Journal of Plant Sciences*, 3: 12-32.
- Alzoreky, N.S. & Nakahara, K. (2003). Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, 80: 223-230.
- Alzoreky, N.S. & Nakahara, K. (2003). Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. *International Journal of Food Microbiology*, 80: 223-230.
- Amer, M.M., Awaad, M.H.H., El-Khateeb, R.M., Abu-Elezz, N.M.T., Sherein-Said, A., Ghetas, M. M. & Kutkat, M. A. (2010). Isolation and identification of *Eimeria* from field coccidiosis in chickens. *Journal of American Science*, 6 (10): 1107-1114.
- Amhamdi, H., Aouinti, F., Paul, J., Wathelet & Elbachiri, A. (2009). Chemical Composition of the Essential Oil of *Pistacia lentiscus* L. from Eastern Morocco. *Records of Natural Products*, 3 (2): 90-95.
- Andzi Barhé, T. & Feuya Tchouya, G.R. (2016). Comparative study of the anti-oxidant activity of the total polyphenols extracted from *Hibiscus Sabdariffa* L., *Glycine max* L. Merr., yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals. *Arabian Journal of Chemistry*, 9: 1-8.
- Angelo, A.F.B., Augustin, A.K., Parfait, K.B.G. & Anthelme, N.B.S. (2016). Acute toxicity of the aqueous extract of roasted and ground beans of *Coffea canephora robusta* in the wistar rat. *The Pharma Innovation Journal*, 5 (12): 1-5.

- Anton, R. (2016). Les constituants spécifiques des Alliaceae. *Phytothérapie*, 14:149-153.
- Attoub, S., Karam, S.M., Nemmar, A., Arafat, K., John, A., Al-Dhaheri, W., Al Sultan, M.A. & Raza, H. (2014). Short-term effects of oral administration of *Pistacia lentiscus* oil on tissue-specific toxicity and drug metabolizing enzymes in mice. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 33 (5): 1400-1410.
- Auger, J., Dugravot, S., Naudin, A., Abo-Ghali, A., Pierre, D. & Thibout, E. (2002). Utilisation des composés allelochimiques des *Allium* en tant qu'insecticides. *The International Organization for Biological and Integrated Control wprs (West Palearctic Regional Section) Bulletin*, 25: 1-13.
- Ayuda-Durán, B., González-Manzano, S., González-Paramás A. M. & Santos-Buelga, C. (2020). *Caenorhabditis elegans* as a Model Organism to Evaluate the Antioxidant Effects of Phytochemicals. *Molecules*, 25: 1-23.

B

- Babayi, H., Kolo, I., Okogun, J.I. & Ijah, U.J.J. (2004). The antimicrobial activities of methanolic extracts of *Eucalyptus camaldulensis* and *Terminalia catappa* against some pathogenic microorganisms. *Biokemistri*, 16 (2):106-111.
- Bahorun, T. (1997). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approchement visionnement potentielle. *Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius*, Pp: 83-94.
- Balasundram, N., Sundram, K. & Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99: 191-203.
- Baljeet, S.Y., Simmy, G., Ritika, Y. & Roshanlal, Y. (2015). Antimicrobial activity of individual and combined extracts of selected spices against some pathogenic and food spoilage microorganisms. *International Food Research Journal*, 22 (6): 2594-2600.
- Bammou, M., Bouhlali, E.D.T. Sellam, K., El-Rhaffari, L., Ibijbjen, J., Nassiri, L. (2020). Évaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits aqueux des feuilles et des fleurs de *Bituminaria bituminosa* (L.) Stirton. *Phytothérapie*, 1-8.
- Bammou, M., Daoudi, A., Slimani I., Najem M., Bouiamrine El H., Ibijbjen J. & Nassiri L. (2015). Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus* L.»: Étude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. *Journal of Applied Biosciences*, 86: 7966-7975.
- Bandera, M.D.C.D.L., Traveset, A., Valladares, F. & Gulrás, J. (2008). Gender, season and habitat: Patterns of variation in photosynthetic activity, growth and fecundity in *Thymelaea velutina*. *Acta Oecologica*, 34: 294–302.
- Bansemir, A., Blume, M., Schröder, S. & Lindequist, U. (2006). Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria. *Aquaculture*, 252: 79-84.
- Bashige, C.V., Bakari, A.S., Numbi wa, I.E., Kalonda, M.E., Okusa, N.P., Kahumba, B. J. & Lumbu Simbi, JB. (2018). Criblage Phytochimique et activité antimicrobienne de sept fleurs comestibles utilisées en médecine traditionnelle à Lubumbashi (RDC). *Journal of Applied Biosciences*, 124: 12455-12467.
- Basile, A., Giordano, S., López-Sáez, J.A. & Cobianchi, R.C. (1999). Antibacterial activity of pure flavonoids isolated from mosses. *Phytochemistry*, 52: 1479-1482.
- Baxter, N.J., Lilley, T.H., Haslam, E. & Williamson, M.P. (1997). Multiple Interactions between Polyphenols and a Salivary Proline-Rich Protein Repeat Result in Complexation and Precipitation. *Biochemistry*, 36: 5566-5577.
- Bekara, A., Hamadouche, N.A., Kahloula, K., Sadi, N. & Abd-el-Kader, A. (2016). Etude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L. *Algerian Journal of Natural Products*, 4 (3): 299-307.

- Benabderrahmane, M., Benali, M., Aouissat, H. & Jordán Bueso, M.-J. (2009). Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Pistacia atlantica* Desf. de l'Algérie. *Phytothérapie*, 7: 304-308.
- Benhouda, A., Yahia, M., Benhouda, D., Bousnane, N.E., Benbia, S., Hannachi, N.E. & Ghecham, A. (2014). Antimicrobial and Antioxidant activities of various extracts of *Hyoscyamus albus* L. and *Umbilicus rupestris* L. leaves. *Algerian Journal of Natural Products*, 2 (1): 4-17.
- Benmeddour, T., Laouer, H., Benabdi, A.A. & Brahimi, S. (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de trois espèces du genre *Allium*: *A. cepa*, *fistulosum* ET *sativum* cultivées dans le périmètre agricole de Doussan (wilaya de Biskra). *Courrier du Savoir*, 19: 09-14.
- Benmeddour, T., Laouer, H., Benabdi, A.A. & Brahimi, S. (2015). Evaluation of antibacterial and antifungal activity of extracts from three species of the genus *Allium*: *A. cepa*, *fistulosum* and *sativum* grown in agricultural area of Doussan (wilaya of Biskra). *Courrier du Savoir*, 19: 09-14.
- Bennick, A. (2002). Interaction of plant polyphenols with salivary proteins. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13 (2): 184-196.
- Benyagoub, E., Boulanouar, A., Ahmed, M.S., Nebbou, N. & Bouloufa, A. (2016). Essai d'évaluation de l'activité antibactérienne de la gomme arabique d'*Acacia tortilis* (Forssk) contre quelques souches bactériennes pathogènes Evaluation test of antibacterial activity of the Arabic gum of *Acacia tortilis* (Forssk) against some pathogenic bacterial strains. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85: 237-252.
- Berger, M.M. (2006). Manipulations nutritionnelles du stress oxydant: Etat des connaissances. *Nutrition clinique et métabolisme*, 20: 48-53.
- Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Saidani Tounsi, M., Fauconnier, M.L. & Ksouri, R. (2017). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Lavandula dentate* extracts. *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 39 (2): 2096-2105.
- Bhandari, P. R. (2012). Garlic (*Allium sativum* L.): A review of potential therapeutic applications. *International Journal of Green Pharmacy*, 118-129.
- Bichet, H., Sanaa, M., Dorchies, P.H. & Reperant, J.M. (2003). Mise en évidence de coccidies multi-résistantes chez la poule pondeuse au Sénégal. *Revue de médecine vétérinaire*, 154 (6): 439-445.
- Bidié, A.P., N'guessan, B.B., Yapo, A.F., N'guessan, J.D. & Djaman, A.J. (2011). Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne. *Sciences & Nature*, 8 (1): 1-11.
- Boban, N., Tonkic, M., Modun, D., Budimir, D., Mudnic, I., Davorka Sutlovic, D., Punda-Polic, V. & Boban, M. (2010). Thermally treated wine retains antibacterial effects to food-born pathogens. *Food Control*, 21: 1161-1165.
- Bogado, A.L.G., Garcia, J.L., Silva, P.F.N.D., Balarin, M.R.S., Junior, G. & da Silva, J. (2010). Post-challenge hematological evaluation with virulent strain of *Eimeria tenella* in broilers immunized with attenuated strain or sporozoite proteins from homologous strain. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 19 (1): 1-6.
- Botsaris, G., Orphanides, A., Yiannakou, E., Gekas, V. & Goulas, V. (2015). Antioxidant and antimicrobial effects of *Pistacia lentiscus* L. extracts in pork sausages. *Food technology and biotechnology*, 53 (4): 472-478.
- Bouchenak, F., Degaichia, H., Lamgharbi, A. & Benrebiha, F. (2018). Evaluation *in vitro* du potentiel antifongique de l'huile essentielle et des extraits méthanoliques d'une asteraceae *Artemisia absinthium* l. *Revue Agrobiologia*, 8 (1): 886-895.
- Bouchenak, O., Yahiaoui, K., Benhabyles, N., Laoufi, R., Toubal, S., EL Haddad, D., Oussaid, S., Blizak, D. & Arab K. (2020). Criblage phytochimique et évaluation du

- pouvoir antioxydant des feuilles de *Myrtus communis* L. et *Rhamnus alaternus* L. *Revue Agrobiologia*, 10 (1): 1749-1761.
- Bouhafoun, A., Yilmaz, M.A., Boukeloua, A., Temel, H. & Harche, M.K. (2018).** Simultaneous quantification of phenolic acids and flavonoids in *Chamaerops humilis* L. using LC–ESI-MS/MS. *Food Science and Technology*, 38: 242-247.
- Boussaada, O., Jihène Chriaa, J., Nabli, R., Ammar, S., Saidana, D., Ali Mahjoub, M., Chraeif, I., Helal, A.N. & Mighri, Z. (2008).** Antimicrobial and antioxidant activities of methanol extracts of *Evax pygmaea* (Asteraceae) growing wild in Tunisia. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 24: 1289-1296.
- Bouzouita, N., Kachouri, F., Ben Halima, M. & Chaabouni, M.M. (2008).** Composition chimique et activités antioxydante, antimicrobienne et insecticide de l'huile essentielle de *Juniperus phoenicea*. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 10: 119-125.
- Bozorgi, M., Memariani, Z., Mobli, M., Salehi Surmaghi, M.H., Shams-Ardekani, M.R. & Rahimi, R. (2013).** Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. *The Scientific World Journal*, 1-33.
- Brada, M., Bezzina, M., Marlier, M., Carlier, A. & Lognay, G. (2007).** Variabilité de la composition chimique des huiles essentielles de *Mentha rotundifolia* du Nord de l'Algérie. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 11 (1): 3-7.
- Brenes, A., Vivero, A., Goñi, I., Centeno, C., Saura-Calixto, F. & Arija, I. (2010).** Effect of grape seed extract on growth performance, protein and polyphenol digestibilities, and antioxidant activity in chickens. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 8 (2): 326-333.
- Brown, J. E., Khodr., H., Hider, R. C. and Rice-Evans, C. A. (1998).** Structural dependence of flavonoid interactions with Cu^{2+} ions : implications for their antioxidant properties. *Biochemical Journal*, 330: 1173-1178.
- Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie plantes médicinales. 3^{ème} Edition. Éd. *TEC et DOC*. Lavoisier .Paris. 1120p.
- Buzzini, P., Turchetti, B., Ieri, F., Goretti, M., Branda, E., Mulinacci, N. & Romani, A. (2007).** Catechins and proanthocyanidins: naturally occurring *O*-heterocycles with antimicrobial activity. *Topics in Heterocyclic Chemistry*, 10: 239-263.
- ### C
- Cacace, J.E. & Mazza, G. (2001).** Extraction à l'eau sulfurée des anthocyanines et d'autres composés phénoliques du cassis. *Agriculture et Agroalimentaire Canada*, 12: 1-15.
- Cacace, J.E. & Mazza, G. (2003).** Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries. *Journal of Food Engineering*, 59: 379-389.
- Cai, Y.Z., Sun, M., Xing, J., Luo, Q. & Corke, H. (2006).** Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life sciences*, 78 (25): 2872-2888.
- Carillon, A. (2009).** Place de la phytothérapie dans les systèmes de santé au XXI^o s. – Conférence SIPAM –Djerba.
- Castañón, C.A., Fraga, J.S., Fernandez, S., Gruber, A. & Costa, L.D.F. (2007).** Biological shape characterization for automatic image recognition and diagnosis of protozoan parasites of the genus *Eimeria*. *Pattern Recognition*, 40 (7): 1899-1910.
- Cevallos-Casals, B.A. & Cisneros-Zevallos, L. (2010).** Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*, 119: 1485-1490.
- Chalghoumi, R., Mabrouki, S., Abdouli, H. & Line, J. (2016).** *In vitro* evaluation of the antibacterial activity of fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum*) crude extracts against a rabbit *Escherichia coli* isolate. *Academia Journal of Microbiology Research*, 4 (11): 139-144.

- Chan, E.W.C., Lim, Y.Y. & Mohammed Omar. (2007). Antioxidant and antibacterial activity of leaves of *Etlingera* species (Zingiberaceae) in Peninsular Malaysia. *Food Chemistry*, 104: 1586-1593.
- Chandrakesan, P., Muralidharan, K., Dinesh Kumar, V., Ponnudurai, G., Jeyagopal Harikrishnan, T. & Senthil Veland Natarajan Rani, K. (2009). Efficacy of a herbal complex against caecal coccidiosis in broiler chickens. *Veterinarski arhiv*, 79 (2): 199-203.
- Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A., Kilburn, J.D. & Rakariyatham, N. (2007). Antimicrobial gallic acid from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. *Food Chemistry*, 100: 1044-1048.
- Chapman, H.D. (1998). Evaluation of the efficacy of anticoccidial drugs against *Eimeria* species in the fowl. *International Journal for Parasitology*, 28 (7):1141-1144.
- Chapman, H.D. (2014). Milestones in avian coccidiosis research: a review. *Poultry science*, 93 (3): 501-511.
- Chapman, H.D. & Shirley, M.W. (2003). The Houghton strain of *Eimeria tenella*: a review of the type strain selected for genome sequencing. *Avian Pathology*, 32 (2): 115-127.
- Chapman, H., Cherry, T.E., Danforth, H.D., Richards, G., Shirley, M.W. & Williams, R.B. (2002). Sustainable coccidiosis control in poultry production: the role of live vaccines. *International Journal for Parasitology*, 32 (5): 617-629.
- Charef, M., Yousfi, M., Saidi, M. & Stocker, P. (2008). Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85: 921-924.
- Chebat, A., Skalli, S., Errihani, H., Boulaâmane, L., Mokrim, M., Mahfoud, T., Soulaymani, R. & Kahouadji, A. (2014). Étude de prévalence des effets indésirables liés à l'utilisation des plantes médicinales par les patients de l'Institut National d'Oncologie, Rabat. *Phytothérapie*, 12: 25-32.
- Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *American Society for Clinical Nutrition*, 81: 223-229.
- Cheynier, V. (2005). Polyphenols in foods are more complex than often thought. *American Society for Clinical Nutrition*, 81: 223-229.
- Chira, K., Suh, J.-H., Saucier, C. & Teissèdre, P.-L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6: 75-82.
- Chirikova, N.K., Olennikov, D.N., Tankhaeva, L.M. (2010). Quantitative Determination of Flavonoid Content in the Aerial Part of Baical Scullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi). *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 36 (7): 915-922.
- Cho, Y.S., Schiller, N.L., Kahng, H.Y. & Oh, K.H. (2007). Cellular Responses and Proteomic Analysis of *Escherichia coli* Exposed to Green Tea Polyphenols. *Current Microbiology*, 55: 501-506.
- Christaki, E., Florou-Paneri, P., Giannenas, I., Papazahariadou, M., Botsoglou, N.A. & Spais, A.B. (2004). Effect of a mixture of herbal extracts on broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. *Animal Research*, 53: 137-144.
- Cimolai, N. & Cimolai, T. (2007). The cranberry and the urinary tract. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 26: 767-776.
- Claeskens, M., Verdonck, W., Heesen, H., Froyman, R. & Torres, A. (2007). A field study assessing control of broiler coccidiosis by Paracox™ vaccination or by Toltrazuril (Baycox®) stand-alone treatment. *Parasitology research*, 101: 105-112.
- Conway, D.P. & McKenzie, M.E. 2007. Poultry Coccidiosis : Diagnostic and Testing Procedures. Third Edition. Blackwell Publishing. Pp : 1-163.
- Conway, D.P., McKenzie, M.E. & Dayton, A.D. (1990). Relationship of coccidial lesion scores and weight gain in infections of *Eimeria acervulina*, *E. maxima* and *E. tenella* in broilers. *Avian Pathology*, 19 (3): 489-496.

- Conway, D.P., Sasai, K., Gaafar, S.M. & Smothers, C.D. (1993). Effects of different levels of oocyst inocula of *Eimeria acervulina*, *E. tenella*, and *E. maxima* on plasma constituents, packed cell volume, lesion scores, and performance in chickens. *Avian Diseases*, 37: 118-123.
- Coombs, G.H., Denton, H., Brown, S.M. & Thong, K.W. (1997). Biochemistry of the coccidia. In *Advances in parasitology*, 39: 141-226.
- Cortina, J., Green, J.J., Baddeley, J.A. & Watson, C.A. (2008). Root morphology and water transport of *Pistacia lentiscus* seedlings under contrasting water supply: A test of the pipe stem theory. *Environmental and Experimental Botany*, 62: 343-350.
- Cos, P.L., Ying, L., Calomme, M., Hu, J.P., Cimanga, K., Van Poel, B., Pieters, L., Vlietinck, A.J., & Berghe, D.V. (1998). Structure-Activity Relationship and Classification of Flavonoids as Inhibitors of Xanthine Oxidase and Superoxide Scavengers. *Journal of Natural Products*, 61 (1): 71-76.
- Cotelle, N. (2001). Role of flavonoids in oxidative stress. *Current topics in medicinal chemistry*, 1: 569-590.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12 (4): 564-582.
- Cushnie, T.P.T. & Lamb, A.J. (2005a). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26: 343-356.
- Cushnie, T.P.T., Hamilton, V.E.S. & Lamb, A.J. (2003). Assessment of the antibacterial activity of selected flavonoids and consideration of discrepancies between previous reports. *Microbiological Research*, 158: 281-289.
- D**
- D'Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R. Claudio Giovannini, C. & Masella, R. (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *The Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 4 (43): 348-361.
- Dabé D., Guédé Noël Z. & Adolphe Z. (2017). Propriétés Antifongiques Des Légumineuses Médicinales De Côte d'Ivoire : Cas De *Crotalaria retusa* L. (*Fabaceae*) Sur La Croissance *in vitro* De *Phytophthora sp.* Et *Fusarium solani*, Deux Champignons Phytopathogènes. *European Scientific Journal January*, 13 (3): 371-384.
- Dakpogan, H.B., Salifou, S., Mensah, G.A., Gbangbotche, A., Youssao, I., Naciri, M. & Sakiti, N., (2012). Problématique du contrôle et de la prévention de la coccidiose du poulet. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6 (6): 6088-6105.
- Dall'Agno, R., Ferraz, A., Bernardi, A.P., Albring, D., Nör, C., Sarmiento, L., Lamb, L., Hass, M., von Poser, G. & Schapoval, E.E.S. (2003). Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. *Phytomedicine*, 10: 511-516.
- Dar, R.A., Brahman, P.K., Khurana, N., Wagay, J.A., Lone, Z.A., Ganaie, M.A. & Pitre, K. S. (2017). Evaluation of antioxidant activity of crocin, podophyllotoxin and kaempferol by chemical, biochemical and electrochemical assays. *Arabian Journal of Chemistry*, 10: S1119-S1128.
- Dar, S.A., Verma, P., Ashfaq, M., Zargar, A.A. & Mir, I.A. (2014). Effect of garlic extract on haematobiochemical changes in *Eimeria tenella* infected broiler chicken. *National Academy Science Letters*, 37 (4): 311-316.
- De Billerbeck, V.-G. (2007). Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. *Phytothérapie*, 5: 249-253.
- De Bruyne, T., Pieters, L., Deelstra, H. & Vlietinck, A. (1999). Condensed vegetable tannins: Biodiversity in structure and biological activities. *Biochemical Systematics and Ecology*, 27: 445-459.
- De Franco, E. P. D., Jares Contesini, F., Lima da Silva, B., de Piloto Fernandes, A. M. A., Wielewski Leme, C., Gonçalves Cirino, J. P., Bueno Campos, P. R. and de Oliveira Carvalho, P. (2020). Enzyme-assisted modification of flavonoids from

- Matricaria chamomilla*: antioxidant activity and inhibitory effect on digestive enzymes. *Journal of enzyme inhibition and medicinal chemistry*, 35 (1) : 42-49.
- De Pablos, L.M., dos Santos, M.F.B., Montero, E., Garcia-Granados, A., Parra, A. & Osuna, A. (2010). Anticoccidial activity of maslinic acid against infection with *Eimeria tenella* in chickens. *Parasitology research*, 107 (3): 601-604.
- Deby-Dupont G., Deby C. & Lamy M. (2002). Données actuelles sur la toxicité de l'oxygène. *Réanimation*, 11: 28-39.
- Del Cacho, E., Gallego, M., Francesch, M., Quílez, J., & Sánchez-Acedo, C. (2010). Effect of artemisinin on oocyst wall formation and sporulation during *Eimeria tenella* infection. *Parasitology international*, 59 (4): 506-511.
- Dembitsky, V.M. (2005). Astonishing diversity of natural surfactants: 6. biologically active marine and terrestrial alkaloid glycosides- a review. *lipids*, 40 (9): 869-900.
- Derbel S. & Ghedira K. (2005). Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie*, 1: 28-34.
- De-Rijke, E., Out, P., Niessen, W.M.A., Ariese, F., Gooijer, C. & Brinkman, U.A.T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography A*, 1112: 31-63.
- Deyab, A.F. & Laji, N.M. (2007). Effect of *Nigella sativa* and *Curcuma Longa* on experimental *Eimeria tenella* infections in chicks. *Egyptian Journal of Medical Microbiology*, 16 (4): 583-591.
- Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97: 654-660.
- Djidel, S., Khennouf, S., Ameni, D., Baghiani, A., Arrar, L. & Charef, N. (2013). Antioxidant proprieties of *Pistacia lentiscus* L. leaves extracts. *Pharmacognosy Communications*, 3: 28-34.
- Dossou, A.D., Gbati, O.B., Ayessou, N., Ayssiwede, S.B. & Missohou, A. (2009). Effets du tourteau de Neem (*Azadirachta indica*) sur les coccidioses aviaires. *Revue Africaine de Santé et de Productions Animales*, 7: 15-20.
- Drăgan, L., Györke, A., Ferreira, J.F., Pop, I.A., Dunca, I., Drăgan, M., Mircean, V., Dan, I. & Cozma, V. (2014). Effects of *Artemisia annua* and *Foeniculum vulgare* on chickens highly infected with *Eimeria tenella* (Phylum Apicomplexa). *Acta veterinaria scandinavica*, 56 (1): 1-7.
- Drăgan, L., Titilincu, A., Dan, I., Dunca, I., Drăgan, M. & Mircean, V. (2010). Effects of *Artemisia annua* and *Pimpinella anisum* on *Eimeria tenella* (Phylum Apicomplexa) low infection in chickens. *Scientia Parasitologica*, 11 (2): 77-82.
- Dufour, D.R., Lott, J.A., Nolte, F.S., Gretch, D.R., Koff, R.S. & Seeff, L.B. (2000). Diagnosis and monitoring of hepatic injury. II. Recommendations for use of laboratory tests in screening, diagnosis, and monitoring. *Clinical chemistry*, 46 (12): 2050-2068.
- Duraipandiyan, V., Ayyanar, M. & Ignacimuthu, S. (2006). Antimicrobial activity of some ethnomedicinal plants used by Paliyar tribe from Tamil Nadu, India. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 6 (35): 1-7.

E

- Ebrahimzadeh, M.A., Khalili, M. & Dehpour, A.A. (2018). Antioxidant activity of ethyl acetate and methanolic extracts of two marine algae, *Nannochloropsis oculata* and *Gracilaria gracilis* -an in vitro assay. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 54 (1): 1-6.
- Edeas, M. (2007). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytothérapie*, 5: 264-270.
- Eldeen, I.M.S., Elgorashi, E.E. & Van Staden, J. (2005). Antibacterial anti-inflammatory anti-cholinesterase and mutagenic effects of extracts obtained from some trees used in South African traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology*, 102: 457-464.

- Elion Itou, R.D.G., Etou Ossibi, A.W., Epa C., Nsonde Ntandou, G.F., Bokia, C.B., Ouamba, J.M. & Abena, A.A. (2017). Anti-inflammatory and analgesic effects of leaves of *Chromolaena odorata* L. (King and Robinson). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 11 (17): 217-223.
- El-Kamali, H.H. & EL-Karim, E.M.A. (2009). Evaluation of antibacterial activity of some medicinal plants used in Sudanese traditional medicine for treatment of wound infections. *Academic Journal of Plant Sciences*, 2 (4): 246-251.
- El-Katcha, M.I., Soltan, M.A., El-Shall, N.A. & El-Desoky, A.M. (2018). Effect of High Dietary Level of Some Amino acids and Coccidial Infection on Growth Performance and Health Status of Broiler Chicken. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, 58 (1): 147-165.
- El-Khtam, A.O., El Latif, A.A. & El-Hewaity, M.H. (2014). Efficacy of turmeric (*Curcuma longa*) and garlic (*Allium sativum*) on *Eimeria* species in broilers. *International Journal of Basic and Applied Sciences*, 3 (3): 349-356.
- Elnour, A.A.M., Mirghani, M.E.S., Musa, K.H., Kabbashi, N.A., & Alam, M.Z. (2018). Challenges of Extraction Techniques of Natural Antioxidants and Their Potential Applications Opportunities as Anti-Cancer Agents. *Health Science Journal*, 12 (5): 1-25.
- Eloff, J.N. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica*, 64: 711-714.
- Erenler, R., Genç, N., Elmastaş, M. & Eminağaoğlu, Ö. (2019). Evaluation of antioxidant capacity with total phenolic content of *Galanthus krasnovii* (Amaryllidaceae). *Turkish Journal of Biodiversity*, 2 (1): 13-17.
- Estevinho, L., Pereira, A.P., Moreira, L., Dias, L.G. & Pereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 3774-3779.
- Etobo, K.J.P., Oleko, W.R. & Nshimba, S.M. (2017). Study of the antibacterial activity of some medicinal plants on the isolates of *Staphylococcus* resistant to current antibiotics at kisangani (Dr Congo). *International Journal of Innovation and Scientific Research*, 30 (2): 259-268.
- Evenamede, K.S., Kpegba, K., Simalou, O., Boyode, P., Agbonon, A. & Gbeassor, M. (2017). Etude comparative des activités antioxydantes d'extraits éthanoliques de feuilles, d'écorces et de racines de *Cassia sieberiana*. *Journal of Biological and Chemical Sciences*, 11 (6): 2924-2935.
- ### F
- Fadili, K., Zerkani, H., Smail Amalich, S., Zair, T. (2017). Phytochemical study and evaluation of antioxidant activity of leaves and fruits of *Capparis spinosa* L. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 5 (2): 108-118.
- Falleh, H., Ksouri, R., Chaieb, K., Karray-Bouraoui, N., Trabelsi, N., Boulaaba, M. & Abdelly, C. (2008). Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, 331: 372-379.
- Fante, L. & Noreña, C.P.Z. (2015). Quality of hot air dried and freeze-dried of garlic (*Allium sativum* L.). *Journal of Food Science and Technology*, 52(1): 211-220.
- Farah, H. & Abdelhafid, B. (2008). Huiles essentielles, utilisations et activités biologiques. Application à deux plantes aromatiques. *Les technologies de laboratoire*, 8: 20-27.
- Fazeli-nasab, B. & Fooladvand, Z. (2014). Classification and Evaluation of medicinal plant and medicinal properties of mastic. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2: 2155-2161.
- Fazeli-nasab, B. & Fooladvand, Z. (2014). Classification and Evaluation of medicinal plant and medicinal properties of mastic. *International journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2: 2155-2161.

- Fazilatun Nessa, Zhari Ismail & Nornisah Mohamed. (2010). Xanthine oxidase inhibitory activities of extracts and flavonoids of the leaves of *Blumea balsamifera*. *Pharmaceutical Biology*, 48 (12): 1405–1412.
- Fertout-Mouri, N., Latreche, A., Mehdadi, Z. & Bengherraz, Z. (2016). Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège*, 85: 253-262.
- Fetterer, R.H. & Allen, P.C. (2001). *Eimeria tenella* infection in chickens: effect on plasma and muscle 3-methylhistidine. *Poultry science*, 80: 1549-1553.
- Frutos, P., Hervás, G., Giráldez, F.J. & Mantecón, A.R. (2004). Review. Tannins and ruminant nutrition. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 2 (2): 191-202.
- Fusco, R., Cordaro, M., Siracusa, R., D'Amico, R., Genovese, T., Gugliandolo, E., Peritore, A. F., Crupi, R., Impellizzeri, D., Cuzzocrea, S. & Di Paola, R. (2020). Biochemical Evaluation of the Antioxidant Effects of Hydroxytyrosol on Pancreatitis-Associated Gut Injury. *Antioxidants*, 9: 1-18.

G

- Gaherwal, S., Johar, F., Wast, N. & Prakash, M.M. (2014). Anti-bacterial activities of *Allium sativum* against *Escherichia coli*, *Salmonella* Ser. Typhi and *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Microbiological Research*, 5 (1): 19-22.
- Gamboa-Leon, R., Vera-Ku, M., Peraza-Sanchez, S.R., Ku-Chulim, C., Horta-Baas, A. & Rosado-Vallado, M. (2014). Antileishmanial activity of a mixture of *Tridax procumbens* and *Allium sativum* in mice. *Parasite*, 21: 1-7.
- Gambogou, B., Ameyapoh, Y.A., Gbekley, H.E., Djeri, B., Soncy, K., Anani, K. & Karou, S.D. (2019). Revue sur l'Ail et ses Composés Bioactifs. *European Scientific Journal*, 15 (6): 74-90.
- Gardeli, C., Papageorgiou, V., Mallouchos, A., Theodosis, K. & Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107: 1120-1130.
- Gardeli, C., Papageorgiou, V., Mallouchos, A., Theodosis, K. & Komaitis, M. (2008). Essential oil composition of *Pistacia lentiscus* L. and *Myrtus communis* L.: Evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. *Food Chemistry*, 107: 1120-1130.
- Genet, R. (2018). Antibiorésistance en santé animale et dans l'environnement Épidémiologie et modélisation en antibiorésistance. *Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*, 1-15
- Gerges Geagea A. (2015). Les Bienfaits de l'Ail sur la Santé. *Phytothérapie*, 46-47.
- Ghedira, K., Goetz, P. & Le Jeune, R. (2010). Fenugrec : *Trigonella foenum-græcum* L. (Fabaceae ex. Leguminosae). *Phytothérapie*, 8: 180-4.
- Ghedira, K. (2005). Les flavonoïdes: structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 4: 162-169.
- Ghedira, K. (2007). Etudes biologiques de quelques plantes médicinales appartenant à la flore tunisienne, Pp : 45-47. In : VIIIe Symposium international d'aromathérapie et plantes médicinales, Grasse 2006 (II), *Phytothérapie*.
- Ghedira, K., Goetz, P.L.J.R. & Le Jeune, R. (2010). Fenugrec: *Trigonella fœnum-græcum* L. (Fabaceae ex. Leguminosae). *Phytothérapie*, 8 (3): 180-184.
- González, I., Morales, M. A. Rojas, A. (2020). Polyphenols and AGEs/RAGE axis. Trends and challenges. *Food Research International*, 129 : 1-12.
- Guillot, J.F. (2014). Evaluation des risques d'émergence d'antibiorésistance liés aux modes d'utilisation des antibiotiques dans le domaine de la santé animale. *Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail*, 1-218.
- Goetz P. & Ghedira K. (2012). *Phytothérapie anti-infectieuse*. Ed .Springer-Verlag France. Paris. Pp: 1-382.
- Goli, A.H., Barzegar, M. & Sahari, M.A. (2004). Antioxidant activity and total phenolic compounds of pistachio (*Pistachia vera*) hull extracts. *Food Chemistry*, 92: 521-525.

- González-Segovia, R., Quintanar, J.L., Salinas, E., Ceballos-Salazar, R., Aviles-Jiménez, F. & Torres-López, J. (2008). Effect of the flavonoid quercetin on inflammation and lipid peroxidation induced by *Helicobacter pylori* in gastric mucosa of guinea pig. *Journal of Gastroenterology*, 43: 441–447.
- Gras, S., Byzia, A., Gilbert, F.B., McGowan, S., Drag, M., Silvestre, A., Niepceron, A., Lecaille, F., Lalmanach, G., Brossier, F. (2014). Aminopeptidase N1 (EtAPN1), an M1 metalloprotease of the apicomplexan parasite *Eimeria tenella*, participates in parasite development. *Eukaryotic cell*, 13 (7): 884-895.
- Guignard, J.L. (1996). Les composés phénoliques. Biochimie végétale. Edition Masson, Paris, Pp: 167-231.
- Gulçin I., Mshvildadze V., Gepdiremen A. & Elias R. (2006). Screening of antiradical and antioxidant activity of onodesmosides and crude extract from *Leontice smirnowii* tuber. *Phytomedicine*, 13: 343-351.
- Gülçin, I., Uğuz, M.T., Oktay, M., Beydemir, S. & Küfrevioğlu, O.I. (2004). Evaluation of the Antioxidant and Antimicrobial Activities of Clary Sage (*Salvia sclarea* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28: 25-33.
- Gulçin, I., Mshvildadze, V., Gepdiremen, A. & Elias, R. (2006). Screening of antiradical and antioxidant activity of monodesmosides and crude extract from *Leontice smirnowii* tuber. *Phytomedicine*, 13 (5): 343-351.
- Guo, F.C., Suo, X., Zhang, G.Z. & Shen, J.Z. (2007). Efficacy of decoquinate against drug sensitive laboratory strains of *Eimeria tenella* and field isolates of *Eimeria spp.* in broiler chickens in China. *Veterinary parasitology*, 147: 239-245.
- Güven, E., Beckstead, R.B., Kar, S., Vatansever, Z. & Karaer, Z. (2013). Molecular identification of *Eimeria* species of broiler chickens in Turkey. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 60: 245-250.
- Guyonnet, V. (2015). Coccidioses. In : Manuel de pathologie aviaire. ED; association française pour l'avancement des sciences (AFAS). Paris. France. Pp: 408-417.
- Györke, A., Pop, L. & Cozma, V. (2013). Prevalence and distribution of *Eimeria* species in broiler chicken farms of different capacities. *Parasite*, 20: 1-8.

H

- Habibi, H., Firouzi, S., Nili, H., Razavi, M., Asadi, S.L. & Daneshi, S. (2016). Anticoccidial effects of herbal extracts on *Eimeria tenella* infection in broiler chickens: *in vitro* and *in vivo* study. *Journal of parasitic diseases*, 40 (2): 401-407.
- Hachimi, M., Belghyti, D. & Akhka, A. (2009). Coccidiosis in chicken meat in Gharb region of Morocco. *Biosciences, Biotechnology Research Asia*, 6 (2): 497-507.
- Hachimi, M., Belghyti, D., El Kharrim, K. & El Guamri, Y. (2008). Coccidioses du poulet dans la région du Gharb (maroc). *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 147: 49-60.
- Hachimi, M., Belghyti, D., El Kharrim, K. & El Guamri, Y. (2008). Coccidioses du poulet dans la région du Gharb (maroc). *Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux*, 147: 49-60.
- Haddouchi F., Chaouche T.M. & Halla N. 2016. Screening phytochimique, activités antioxydantes et pouvoir hémolytique de quatre plantes sahariennes d'Algérie. *Phytothérapie*, Pp: 1-9.
- Haddouchi, F., Lazouni, H.A., Meziane, A. & Benmansour, A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences et Technologie*, 5 (2): 246-259.
- Hagerman, A.E. & Butler, L.G. (1978). Protein precipitation method for quantitative determination of tannins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 26: 809-812.

- Hamidinejat, H., Shapouri, M.S., Mayahi, M. & Borujeni, M.P. (2010). Characterization of *Eimeria* species in commercial broilers by PCR based on ITS1 regions of rDNA. *Iranian journal of parasitology*, 5 (4): 48-54.
- Hamliche, V. (2015). Treatment of cough based on traditional kabylian pharmacopoeia. *Phytothérapie*, 13: 358-372.
- Hamouda Ali, I. & Doumandji, A. (2017). Comparative phytochemical analysis and *in vitro* antimicrobial activities of the cyanobacterium *Spirulina platensis* and the green alga *Chlorella pyrenoidosa*: potential application of bioactive components as an alternative to infectious diseases. *Bulletin de l'Institut Scientifique*, 39: 41-49.
- Han, X., Shen, T. & Lou, H. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance-a review. *International Journal of Molecular Sciences*, 8: 950-988.
- Harchane H., El Addas H., Amsaguine S., El Amrani N. & Radallah D. (2012). Effets de l'extrait aqueux des graines du fenugrec (*Trigonella foenum graecum*) sur l'amélioration du profil lipidique et la prise de poids chez le rat. *Phytothérapie*, 10: 357-362
- Hayet, E., Maha, M., Samia, A., Mata, M., Gros, P., Raida, H., Mohamed Ali, M., Si Mohamed, A., Gutmann, L., Mighri, Z. & Mahjoub, A. (2008). Antimicrobial, antioxidant, and antiviral activities of *Retama raetam* (Forssk.) Webb flowers growing in Tunisia. *World Journal of Microbiology Biotechnology*, 24: 2933-2940.
- Heim, K.E., Tagliaferro, A.R. & Bobilya, D.J. (2002). Flavonoids antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13: 572-584.
- He-Long B., Jing W., Chun-Ming L. & Li L. (2010). Isolation and Purification of Flavonoids from *Ziziphus jujuba* by High-Speed Counter-Current Chromatography. *Journal of the Chinese Chemical Society*, 57: 1071-1076.
- Herzberg, D., Strobel, P., Chihuailaf, R., Ramirez-Reveco, A., Müller, H., Werner, M. & Bustamante, H. (2019). Spinal Reactive Oxygen Species and Oxidative Damage Mediate Chronic Pain in Lame Dairy Cows. *Animals*, 9: 1-10.
- Hidayat, M.A., Fitri, A. & Kuswandi, B. (2017). Scanometry as microplate reader for high throughput method based on DPPH dry reagent for antioxidant assay. *Acta pharmaceutica sinica B*, 7 (3): 395-400.
- Holdsworth, P.A., Conway, D.P., McKenzie, M.E., Dayton, A.D., Chapman, H.D., Mathis, G.F., Skinner, J.T., Mundt, H.C. & Williams, R.B. (2004). World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) guidelines for evaluating the efficacy of anticoccidial drugs in chickens and turkeys. *Veterinary Parasitology* 121: 189-212.
- Hong, S., Oh, G.W., Kang, W.G. & Kim, O. (2016). Anticoccidial effects of the *Plantago asiatica* extract on experimental *Eimeria tenella* infection. *Laboratory animal research*, 32 (1): 65-69.
- Hosseinzadeh, H., Mirshojaeian, M. & Razavi, B.M. (2008). Antiemetic effect of *Pistacia vera* L. (*Pistachio*) leaves and nuts aqueous extracts in Young Chicken. *PharmacologyOnline*, 2: 568-571.
- I**
- Indu, M.N., Hatha, A.A.M., Abirosh, C., Harsha, U. & Vivekanandan, G. (2006). Antimicrobial activity of some of the south-Indian spices against serotypes of *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* and *Aeromonas hydrophila*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37: 153-158.
- Ismail A. & Hong S.T. (2002). Antioxidant Activity of Selected Commercial Seaweeds. *Mal Journal of Nutrition*, 8 (2): 167-177.

J

- Janakat, S. & Al-Merie, H. (2002).** Evaluation of hepatoprotective effect of *Pistacia lentiscus*, *Phillyrea latifolia* and *Nicotiana glauca*. *Journal of ethnopharmacology*, 83: 135-138.
- Jatau, I.D., ODIKA, A.N., Thlama, M., Talba, A.M., Bisalla, M. & Musa, I.W. (2014).** Response of 2 breeds of broiler chicks to experimental infection with low dose of *Eimeria tenella* sporulated oocysts. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 38: 398-404.
- Johnson, J. & Reid, W.M. (1970).** Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Experimental parasitology*, 28 (1): 30-36.
- Ju, E.M., Lee, S.E., Hwang, H.J. & Kim, J.H. (2004).** Antioxidant and anticancer activity extract from *Betula platyphylla* var. *Japonica* *Life Science*, 74: 1013-1026.

K

- Kadhim, L.I. (2014).** Histopathological changes of broilers immunized with sonicated oocysts against *Eimeria tenella*. *International Journal of Advanced Biological Research*, 4 (1): 31-35.
- Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S. & Heinonen, M. (1999).** Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 47: 3954-3962.
- Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L. & Vergnes, M.-F. (2008).** Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6: 160-164.
- Kamelé, K.Y., Clémentine, K.-K.A., Carole, K.A., Mesmin, K.Y., Bi Fézan Honora, T. & Kablan, T. (2019).** Antifungal *in vitro* Activity of Five Plants from Local Traditional Medicine of Côte d'Ivoire on *Colletotrichum Higginsianum*, *Fusarium Oxysporum* and *Rhizopus Stolonifer*, Pathogens of Pawpaw (*Carica Papaya* L.) and Tomatoes (*Solanum Lycopersicum* L.). *European Scientific Journal*, 15 (9): 304-321.
- Kanase, V.D.J. Mane. (2018).** A pharmacognostic and pharmacological review on *alstonia scholaris*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11 (12): 22-26.
- Kaneko, J.J., Harvey, J.W. & Bruss, M.L. (2008).** Concepts of Normality in Clinical Biochemistry. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Pp: 1-904.
- Karou, D., Dicko, M.H., Simporé, J. & Traore, A.S. (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethnomedicinal plants of Burkina Faso. *African Journal of Biotechnology*, 4 (8): 823-828.
- Kaur, G., Jabbar, Z., Athar, M. & Alam, M.S. (2006).** *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogate Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food Chemical Toxicology*, 44: 984-993.
- Kaur, G., Jabbar, Z., Athar, M., & Alam, M.S. (2006).** *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogates Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice. *Food and Chemical Toxicology*, 44 (7): 984-993.
- Kausar, S., Wang, F. & Cui, H. (2018).** The Role of Mitochondria in Reactive Oxygen Species Generation and Its Implications for Neurodegenerative Diseases. *Cells*, 7: 1-19.
- Khalid, N., Ahmed, I., Latif, M.S.Z., Rafique, T. & Fawad, S.A. (2014).** Comparison of antimicrobial activity, phytochemical profile and minerals composition of garlic *Allium sativum* and *Allium tuberosum*. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 57 (3): 311-317.
- Khashan, A.A. (2014).** Antibacterial activity of garlic extract (*Allium sativum*) against *Staphylococcus aureus* *in vitro*. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology*, 3 (4): 346-348.

- Keita, Y., Koné, O., Ly, K.A. & Häkkinen V. (2004). Étude chimique et de l'activité antibactérienne des distillats de quelques variétés de mangue de Guinée. *Comptes Rendus Chimie*, 7: 1095-1100.
- Kim, D.K., Lillehoj, H.S., Lee, S.H., Jang, S.I., Lillehoj, E.P. & Bravo, D. (2013). Dietary Curcuma longa enhances resistance against *Eimeria maxima* and *Eimeria tenella* infections in chickens. *Poultry science*, 92 (10): 2635-2643.
- Kim, T.J., Silva, J.L., Kim, M.K. & Jung, Y.S. (2010). Enhanced antioxidant capacity and antimicrobial activity of tannic acid by thermal processing. *Food Chemistry*, 118: 740-746.
- Kintzios, S.E. & Barberaki, M.G. (2004). Plant that fight cancer. Edition CRC Press (Washington, Etats Unis). Pp: 16-18.
- Klančnik, A., Piskernik, S., Jeršek, B. & Možina, S.S. (2010). Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods*, 81: 121-126.
- Kontoghiorghes, G. J. (2020). advances on chelation and chelator metal complexes in medicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 21: 1-8.
- Kordali, S., Cakir, A., Zengen, H., & Duru, M.E. (2003). Antifungal activities of the leaves of three *Pistacia* species grown in Turkey. *Fitoterapia*, 74: 164-167.
- Kouakou, S.K., Toure, A., Ouattara, K. & N'Guessan, J.D. (2010). Activité anticoccidienne in vivo de l'extrait aqueux des inflorescences de *Thonningia sanguinea* (Balanophoraceae) chez la poule pondeuse. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 4 (4): 864-870.
- Kuete, V., Metuno, R., Ngameni, B., Mbaveng Tsafack, A., Ngandeu, F., Fotso, G.W., Bezabih, M., Etoa, F.-X., Ngadjui, B.T., Abegaz, B.M. & Beng, V.P. (2007). Antimicrobial activity of the methanolic extracts and compounds from *Treculia obovoidea* (Moraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 531-536.
- Kumar, S., Garg, R., Moftah, A., Clark, E.L., Macdonald, S.E., Chaudhry, A.S., Sparagano, O., Banerjee, P.S., Kundu, K., Tomley, F.M. & Blake, D.P. (2014). An optimised protocol for molecular identification of *Eimeria* from chickens. *Veterinary parasitology*, 199: 24-31.
- Kurek-Górecka, A., Rzepecka-Stojko, A., Górecki, M., Stojko, J., Sosada, M. & Świerczek-Zięba, G. (2014). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*, 19: 78-101.

L

- Lacombe, A., Wu, V.C.H., Tyler, S. & Edwards, K. (2010). Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolics, anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157:H7. *International Journal of Food Microbiology*, 139:102-107.
- Landete, J.M., Curiel, J.A., Rodríguez, H., de las Rivas, B. & Muñoz, R. (2008). Study of the inhibitory activity of phenolic compounds found in olive products and their degradation by *Lactobacillus plantarum* strains. *Food Chemistry*, 107: 320-326.
- Landoulsi, A., Roumy, V., Rivière, C., Sahpaz, S., Benhamida, J. & Hennebelle, T. (2018). Composition chimique et activités pharmacologiques des espèces tunisiennes du genre *Eryngium* L. (Apiaceae). *OpenScience*, 1-23.
- Larousse, (2001). Encyclopédie des plantes médicinales : Identification, préparations, soins. Pp: 28-31.
- Lawal, B., Shittu, O.K., Oibiokpa, F.I., Mohammed, H., Umar, S.I. & Haruna, G.M. (2016). Antimicrobial evaluation, acute and sub-acute toxicity studies of *Allium sativum*. *Journal of Acute Disease*, 5 (4): 296-301.
- Lee, J.J., Kim, D.H., Lim, J.J., Kim, D.G., Min, W., Kim, G.S., Lee, H.J., Rhee, M.H., Park, H., Kim, S.C., Chang, H.H., Kim, S. (2012). Anticoccidial effect of supplemental dietary Galla Rhois against infection with *Eimeria tenella* in chickens. *Avian pathology*, 41 (4): 403-407.

- Lew, A.E., Anderson, G.R., Minchin, C.M., Jeston, P.J. & Jorgensen, W.K. (2003). Inter-and intra-strain variation and PCR detection of the internal transcribed spacer 1 (ITS-1) sequences of Australian isolates of *Eimeria* species from chickens. *Veterinary Parasitology*, 112: 33-50.
- Li, H.B., Cheng, K.W., Wong, C.C., Fan, K.W., Chen, F. & Jiang, Y. (2007). Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. *Food Chemistry*, 102: 771-776.
- Lim, T.K. (2015). *Allium sativum*. *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants*, 9: 210-360.
- Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H. & Chen, H. (2016). An overview of plant phenolic compounds and their importance in human nutrition and management of type 2 diabetes. *Molecules*, 21: 1-19.
- Lin, S., Zhang, G., Liao, Y., Pan, J. & Gong, D. (2015). Dietary Flavonoids as Xanthine Oxidase Inhibitors: Structure–Affinity and Structure–Activity Relationships. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63 (35) : 7784-7794.
- Lindberg, L.E., Willför, S.M. & Holmbom, B.R. (2004). Antibacterial effects of knotwood extractives on paper mill bacteria. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 31: 137–147.
- Ling, K.H., Rajandream, M.A., Rivaller, P., Ivens, A., Yap, S.J., Madeira, A.M., Mungall, K., Billington, K., Yee, W.Y., Bankier, A.T., Carroll, F., Durham, A.M., Peters, N., Loo, S.-S., Mat Isa, M.N., Novaes, J., Quail, M., Rosli, R., Shamsudin, M.N., Sobreira, T.J.P., Tivey, A.R., Wai, S.-F., White, S., Wu, X., Kerhornou, A., Blake, D., Mohamed, R., Shirley, M., Gruber, A., Berriman, M., Tomley, F., Dear, P.H. & Wan, K.-L. (2007). Sequencing and analysis of chromosome 1 of *Eimeria tenella* reveals a unique segmental organization. *Genome research*, 17 (3): 311-319.
- Long, P.L. (1993). Avian Coccidiosis. In: *Parasitic protozoa*. Pp. 1-88. Academic Press.
- Longo, L., Scardino, A. & Vasapollo, G. (2007). Identification and quantification of anthocyanins in the berries of *Pistacia lentiscus* L., *Phillyrea latifolia* L. and *Rubia perigrina* L. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8: 360-364.
- Lopez, A., Hudson, J.B. & Towers, G.H.N. (2001). Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 77: 189-196.
- López-Osorio, S., Chaparro-Gutiérrez, J.J. & Gómez-Osorio, L.M. (2020). Overview of Poultry *Eimeria* Life Cycle and Host-Parasite Interactions. *Frontiers in Veterinary Science*, 7: 1-8.
- Lugasi, A., Hovari, J., Sagi, K.V. & Biro, L. (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegediensis*, 47(4): 119-125.
- Luthar, Z. (1992). Polyphenol classification and tannin content of buckwheat seeds (*Fagopyrum esculentum* Moench). *Fagopyrum*, 12: 36-42.

M

- Macdonald, S.E., Nolan, M.J., Harman, K., Boulton, K., Hume, D.A., Tomley, F.M., Stabler, R.A. & Blake, D.P. (2017). Effects of *Eimeria tenella* infection on chicken caecal microbiome diversity, exploring variation associated with severity of pathology. *PLoS one*, 12 (9): 1-17.
- Macheix, J.J., Fleuriet, A. & Jay- Allemand, C.H. (2005). Les composés phénoliques des végétaux. *Presses Polytechniques et Universitaires Romandes*, Pp : 1-31.
- Majhenič, L., Škerget, M. & Knez, Z. (2007). Antioxidant and antimicrobial activity of guarana seed extracts. *Food Chemistry*, 104: 1258-1268.
- Maksimović, Z., Malencić, N.D. & Kovacević, N. (2004). Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts. *Bioresource Technology*, 96 (8): 873-877.

- Markovics, A., Cohen, I., Muklada, H., Glasser, T.A., Dvash, L., Ungar, E.D., Azaizeh, H. & Landau, S. Y. (2012). Consumption of *Pistacia lentiscus* foliage alleviates coccidiosis in young goats. *Veterinary parasitology*, 186: 165-169.
- Martin S. & Andriantsitohaina R. (2002). Cellular mechanism of vasculo-protection induced by polyphenols on the endothelium. *Annales de cardiologie et d'angéiologie*, 51: 304-315.
- Marín, L., Gutiérrez-del-Río, I., Entrialgo-Cadierno, R., Villar, C.J. & Lombó, F. (2018). De novo biosynthesis of myricetin, kaempferol and quercetin in *Streptomyces albus* and *Streptomyces coelicolor*. *PLoS one*, 13 (11): 1-16.
- Martini, N. & Eloff, J.N. (1998). The preliminary isolation of several antibacterial compounds from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 62: 255-263.
- Martins N., Petropoulos S. & Ferreira I.C.F.R. (2016). Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre- and post-harvest conditions: A review. *Food Chemistry*, 211: 41-50.
- Martins, N., Petropoulos, S. & Ferreira, I.C. (2016). Chemical composition and bioactive compounds of garlic (*Allium sativum* L.) as affected by pre-and post-harvest conditions: A review. *Food chemistry*, 211: 41-50.
- Masella R., Benedetto R.D., Vari R., Filesì C. & Giovannini C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16: 577-586.
- Mathabe, M.C., Nikolova, R.V., Lall, N. & Nyazema, N.Z. (2006). Antibacterial activities of medicinal plants used for the treatment of diarrhoea in Limpopo Province, South Africa. *Journal of Ethnopharmacology*, 105: 286-293.
- Mbaïhougadóbé, S., Ngakegni-Limbili, A.C., Gouollaly, T., Koane, J.N., Ngaïssona, P., Loumpangou, C.N., Mahmoud, Y. & Ouamba, J.-M. (2017). Evaluation de l'activité anti-oxydante de trois espèces de plantes utilisées dans le traitement de la goutte au Tchad. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 18 (2): 28-35.
- McDougald, L.R. & Fitz-Coy, S.H. (2008). Protozoal Infections. Pp: 1067-1085. In: Diseases of Poultry. 12 th Edition. Blackwell Publishing.
- Mehlhorn, H. (2016). Protozoan Parasites. *Animal Parasites*. Pp: 33-249.
- Mequanente, S., Makonnen, E. & Debella, A. (2006). Gastroprotective effect of aqueous *Trigonella feonum-graecum* and *Linum ussitatissimum* seed extracts in mice. *PharmacologyOnline*, 2: 324-334.
- Mhamdi, A. & Van Breusegem, F. (2018). Reactive oxygen species in plant development. *Development*, 145: 1-12.
- Michels, M.G., Bertolini, L.C.T., Esteves, A.F., Moreira, P. & Franca, S.C. (2011). Anticoccidial effects of coumestans from *Eclipta alba* for sustainable control of *Eimeria tenella* parasitosis in poultry production. *Veterinary parasitology*, 177: 55-60.
- Middleton, E., Kandaswami, C. & Theoharides, T.C. (2000). The effect of flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacology Review*, 52 (4): 651-674.
- Migdal C., Serres M. (2011). Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*, 27: 405-412.
- Mikail, H.G. (2010). Phytochemical screening, elemental analysis and acute toxicity of aqueous extract of *Allium sativum* L. bulbs in experimental rabbits. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4 (4): 322-326.
- Min, B.R.1., Pinchak, W.E.1., Merkel, R., Walker, S., Tomita, G. & Anderson, R.C. (2008). Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens. *Scientific Research and Essay*, 3 (2): 66-73.

- Mirzoeva, O.K., Grishanin, R.N. & Calder, P.C. (1997). Antimicrobial action of propolis and some of its components: the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiological Research*, 152: 239-246.
- Mohamad Ibrahim, M.N., Nor Nadiyah, M.Y. & Amirul A.A. (2005). Extraction of Tannin from Oil Palm Empty Fruit Bunch as a Rust Deactivator. *Regional Symposium on Chemical Engineering*, MI08: 197-201.
- Mohos, V., Fliszár-Nyúl, E. & Poór, M. (2020). Inhibition of xanthine oxidase-catalyzed xanthine and 6-mercaptopurine oxidation by flavonoid aglycones and some of their conjugates. *International Journal of Molecular Sciences*, 21: 1-10.
- Molyneux, P. (2004). Use of DPPH to estimate antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science Technology*, 26 (2): 211-219.
- Mondal, D.K., Chattopadhyay, S., Batabyal, S., Bera, A.K. & Bhattacharya, D. (2011). Plasma biochemical indices at various stages of infection with a field isolate of *Eimeria tenella* in broiler chicken. *Veterinary World*, 4 (9): 404-409.
- Mpoame, M., Tegua, A. & Akoa Etoa, J.M. (2003). Evaluation de l'efficacité des extraits aqueux de graines de papaye (*Carica papaya*) dans le traitement de la coccidiose cæcale à *Eimeria tenella* chez le poulet de chair. *Tropicicultura*, 21 (3): 153-156.
- Muthamiselvan, T., Kuo, T.F., Wu, Y.C. & Yang, W.C. (2016). Herbal remedies for coccidiosis control: A review of plants, compounds, and anticoccidial actions. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 1-19.
- N**
- Naciri, M. (2001). Les moyens de lutte contre la coccidiose aviaire. *Nouzilly: Institut national de la recherche agronomique (INRA)*. Pp :1-2.
- Naciri, M. & Brossier, F. (2009). Les coccidioses aviaires: importance et perspectives de recherche. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. Pp : 47-50.
- Nacz, M. & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054: 95-111
- Nacz, M. & Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis- a review. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41: 1523-1542.
- Nagao, A., Seki, M. & Kobayashi, H. (1999). Inhibition of Xanthine Oxidase by Flavonoids. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 63 (10): 1787-1790.
- Nahida, Ansari, S.H. & Siddiqui, A.N. (2012). *Pistacia lentiscus*: a review on phytochemistry and pharmacological properties. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4: 16-20.
- Naidoo, V., McGaw, L.J., Bisschop, S.P.R., Duncan, N. & Eloff, J.N. (2008). The value of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. *Veterinary parasitology*, 153: 214-219.
- Najjaa, H., Ben Arfa A., Enrico, D., Boubakri, A., Trabelsi, N., Falleh, H., Tlili H. & Nefati, M. (2020). Phenolic composition of some Tunisian medicinal plants associated with anti-proliferative effect on human breast cancer MCF-7 cells. *The EuroBiotech Journal*, 4: 104-112.
- Najjaa, H., Zouari, S., Arnault, I., Auger, J., Ammar, E. & Nefati, M. (2011). Différences et similitudes des métabolites secondaires chez deux espèces du genre *Allium*, *Allium roseum* L. et *Allium ampeloprasum* L. *Acta Botanica Gallica*, 158 (1): 111-123.
- Nandagopal, S., Dhanalakshmi, D.P., Kumar, A.G. & Sujitha, D. (2012). Phytochemical and antibacterial studies of fenugreek *Trigonella foenum-graecum* L.-A multipurpose medicinal plant. *Journal of Pharmacy Research*, 5 (1): 413-415.
- Natarajan, D., John Britto, S., Srinivasan, K., Nagamurugan, N., Mohanasundari, C. & Perumal, G. (2005). Antibacterial activity of *Euphorbia fusiformis*-A rare medicinal herb. *Journal of Ethnopharmacology*, 102:123-126.

- Naumann, H., Sepela, R., Rezaire, A., Masih, S.E., Zeller, W.E., Reinhardt, L.A., Robe, J.T., Sullivan, M.L. & Hagerman, A. (2018). Relationships between Structures of Condensed Tannins from Texas Legumes and Methane Production During *In Vitro* Rumen Digestion. *Molecules*, 23, 1-16.
- Navarro, V., Villarreal, M.L., Rojas, G. & Lozoya, X. (1996). Antimicrobial evaluation of some plants used in Mexican traditional medicine for the treatment of infectious diseases. *Journal of Ethnopharmacology*, 53: 143-147.
- Nawaz, H., Shi, J., Mittal, G.S. & Kakuda, Y. (2006). Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 48: 176–181.
- Neda, S.L., Neda, M.M.D., Jelena, M.I. & Biljana, N.B. (2010). Antioxidant properties of *Galium verum* L. (Rubiaceae) extracts. *Central European Journal of Biology*, 331-337.
- Nenaah, G. (2013). Antimicrobial activity of *Calotropis procera* Ait.(Asclepiadaceae) and isolation of four flavonoid glycosides as the active constituents. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29 (7): 1255-1262.
- Nita, M. & Grzybowski, A. (2016). The Role of the Reactive Oxygen Species and Oxidative Stress in the Pathomechanism of the Age-Related Ocular Diseases and Other Pathologies of the Anterior and Posterior Eye Segments in Adults. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 1-23.
- Njue, L.G, Ombui, J.N., Kanja, L.W., Gathumbi J.K. & Nduhiu, J.G. (2015). Evaluation of oral toxicity level of ethyl acetate extract, from garlic (*Allium sativum*) in onorrh dawleys rats as per OECD guidelines 423. *Journal of Food Science and Technology*, 2 (3): 056-064,
- Norziah, M.H., Fezea, F.A., Bhat, R. & Ahmad, M. (2015). Effect of extraction solvents on antioxidant and antimicrobial properties of fenugreek seeds (*Trigonella foenum-graecum* L.). *International Food Research Journal*, 22 (3): 1261-1271.
- O**
- Odabasoglu, F., Aslan, A., Cakir, A., Suleyman, H., Karagaz, Y., Malicim & Bayir, Y. (2004). Comparaison of antioxidant activity and phenolic contents of three lichen species. *Phototherapy Research*, 18: 38-941.
- Ogueke, C.C., Ogbulie, J.N., Okoli, I.C. & Anyanwu, B.N. (2007). Antibacterial Activities And Toxicological Potentials Of Crude Ethanolic Extracts Of *Euphorbia hirta*. *Journal of American Science*, 3 (3): 11-16.
- Okusa, P.N., Penge, O., Devleechouwer, M. & Duez, P. (2007). Direct and indirect antimicrobial effects and antioxidant activity of *Cordia gillettii* De Wild (Boraginaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 476-481.
- Ola-Fadunsin, S.D. & Ademola, I.O. (2014). Anticoccidial effects of *Morinda lucida* acetone extracts on broiler chickens naturally infected with *Eimeria* species. *Pharmaceutical biology*, 52 (3): 330-334.
- Olounladé, A.P., Attakpa, Y.E., Azando Erick, V.B., Hounzangbé – Adoté Mawulé, S. & Hoste, H. (2017). Effet *In Vivo* De *Newbouldia laevis* (Bignoniaceae) Sur Des Strongles Gastro-Intestinaux Des Moutons. *European Scientific Journal*, 13 (12): 335-351.
- Onyeagba, R.A., Ugbogu, O.C., Okeke, C.U. & Iroakasi, O. (2004). Studies on the antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* Linn), ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and lime (*Citrus aurantifolia* Linn). *African Journal of Biotechnology*, 3 (10): 552-554.
- Orhan, D.D., Özçelik, B. Özgen, S. & Ergun, F. (2010). Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids. *Microbiological Research*, 165 (6): 496-504.
- Orzechowski, A., Ostaszewski, P., Jank, M. & Berwid, S.J. (2002). Bioactive substances of plant origin in food–impact on genomics-a review. *Reproduction Nutrition Development*, 42: 461-477.

- Oueslati, H.-A. & Ghédira, K. (2015). Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum graecum*. *Phytothérapie*, 13: 234-238.
- Ouzid, Y., Smail-Saadoun, N. & Houali, K. (2018). Comparative study of in vitro antioxidant activity of foliar endophytic fungi and leaves extracts of *Peganum harmala* of Dayate aiat (Laghouat, Algeria). *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 10 (1): 147-157.

P

- Palacio, S., Milla, R. & Montserrat-Marti, G. (2005). A phenological hypothesis on the thermophilous distribution of *Pistacia lentiscus* L. *Flora*, 200: 527-534.
- Palo, P. E. (1987). La coccidiose du poulet de chair au Burkina. I. Pathogénicité de l'infection expérimentale à *Eimeria tenella*. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 40 (3): 253-258.
- Park, E.-J. & Jhon, D.-Y. (2010). The antioxidant, angiotensin converting enzyme inhibition activity, and phenolic compounds of bamboo shoot extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 655-659.
- Patra, G., Ali, M. A., Chanu, K.V., Jonathan, L., Joy, L.K., Prava, M., Ravindran, R., Das, G. & Devi, L.I. (2010). PCR based diagnosis of *Eimeria tenella* infection in broiler chicken. *International Journal of Poultry Science*, 9 (8): 813-818.
- Penny, H.H., Yuli, P.K., April, H.W., Sigit, P., Liliana, M.R. & Da, S. (2018). Chicken Coccidiosis in Central Java, Indonesia: A Recent Update. *Veterinary Medicine International*, 1-7.
- Pesewu, G.A., Cutler, R.R. & Humber, D.P. (2008). Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA. *Journal of Ethnopharmacology*, 116: 102-111.
- Peterson, J. & Dwyer, J. (1998). Flavonoïds: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutrition Research*, 18 (12): 1995-2018.
- Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxydants. *Journal of Natural Products*, 63:1035-1042.
- Pinelo, M., Del Fabbro, P., Manzocco, L., José Nunez, M. & Nicoli, M.C. (2005). Optimization of continuous phenol extraction from *Vitis vinifera* by products. *Food Chemistry*, 92: 109-117.
- Pop, L.M., Györke, A., Pop, I.A., Friss, Z., Bărburaș, D., Toma-Naic, A., Kálmar, Z., Magdaș, V., Pinteș, A., Mircean, V., Lobonțiu, I., Lobonțiu, I. & Cozma, V. (2015). *Artemisia annua* improves chickens performances but has little anticoccidial effect in broiler chickens. *Scientia Parasitologica*, 16 (3): 95-102.
- Pratt, D.S. & Kaplan, M.M. (2000). Evaluation of abnormal liver-enzyme results in asymptomatic patients. *New England Journal of Medicine*, 342 (17): 1266-1271.
- Predrag, L., Hui, S., Uri, C., Hassan, A. & Arieh, B. (2005). The effects of aqueous extracts prepared from the leaves of *Pistacia lentiscus* in experimental liver disease. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 198-204.
- Proestos, C., Boziaris, I.S., Nychas, G.J.E. & Komaitis, M. (2006). Analysis of flavonoids and phenolic acids in Greek aromatic plants: Investigation of their antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Food Chemistry*, 95: 664-671.
- Prowse, S.J. (1991). Cell-mediated immunity to *Eimeria* in the fowl: the absence of cross-species protection is not due to the lack of cross-reactive T cells. *International journal for parasitology*, 21 (1): 133-135.
- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Alakomi, H.-L. & Oksman-Caldentey, K.-M. (2005a). Bioactive berry compounds-novel tools against human Pathogens. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67: 8-18.
- Puupponen-Pimiä, R., Nohynek, L., Alakomi, H.-L. & Oksman-Caldentey, K.-M. (2005b). The action of berry phenolics against human intestinal pathogens. *BioFactors*, 23: 243-251.

Q

- Quiroz-Castañeda, R.E. & Dantán-González, E. (2015). Control of avian coccidiosis: future and present natural alternatives. *BioMed research international*, Pp: 1-11.

R

- Rahman, S., Parvez, A.K., Islam, R. & Khan, M.H. (2011). Antibacterial activity of natural spices on multiple drug resistant *Escherichia coli* isolated from drinking water, Bangladesh. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 10 (1): 1-4.
- Rahman, T., Hosen, I., Towhidul Islam, M. M. & Uddin Shekhar, H. (2012). Oxidative stress and human health. *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3 : 997-1019.
- Rahmani, M., Hamel, L., Toumi-Benali, F., Dif, M.M., Moumen, F. & Rahmani, H. (2018). Determination of antioxidant activity, phenolic quantification of four varieties of fenugreek *Trigonella foenum graecum* L. seed extract cultured in west Algeria. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 9: 1656-1661.
- Rahmani, M., Toumi-Benali, F., Hamel, L. & Dif, M.M. (2015). Aperçu ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Trigonella foenum graecum* L. *Phytothérapie*, 1-2.
- Rajandream, M.-A., Shirley, M.W., Wan, K.-L., Berriman, M., Tomley, F.M. & Pain, A. (2014). Genomic analysis of the causative agents of coccidiosis in domestic chickens. *Genome research*, 24 (10): 1676-1685.
- Raman, M., Banu, S.S., Gomathinayagam, S. & Raj, G.D. (2011). Lesion scoring technique for assessing the virulence and pathogenicity of Indian field isolates of avian *Eimeria* species. *Veterinarski arhiv*, 81 (2): 259-271.
- Ramdan, B., Amakran, A., Bakrim, N., Vannier, B., Greche, H. & Nhiri, M. (2017). Anti-glycation and radical scavenging activities of hydro-alcohol and aqueous extracts of nine species from Lamiaceae family. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 5 (1): 331-345.
- Reed, J.D. (1995). Nutritional Toxicology of Tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes. *Journal Animal Science*, 73: 1516-1528.
- Reid, A.J., Blake, D.P., Ansari, H.R., Billington, K., Browne, H.P., Bryant, J., Dunn, M., Hung, S.S., Kawahara, F., Miranda-Saavedra, D., Malas, T.B. Mourier, T., Naghra, H., Nair, M., Otto, T.D., Rawlings, N.D., Rivailler, P., Sanchez-Flores, A., Sanders, M., Subramaniam, C., Tay, Y.-L., Woo, Y., Wu, X., Barrell, B., Dear, P.H., Doerig, C., Gruber, A., Ivens, A.C. & Parkinson, J., Rajandream, M.A., Shirley, M.W., Wan, K.L., Berriman, M., Tomley, F.M. & Pain, A. (2014). Genomic analysis of the causative agents of coccidiosis in domestic chickens. *Genome Research*, 24 (10): 1676-1685.
- Reid, M.W., Calnek, B.W. & Mc Dougald, L.R. (1978). Protozoa- coccidiosis. In: Diseases of poultry. 7ème ed. Ames Iowa (USA): Iowa State University Press, Pp: 783-814.
- Reid, W.M. & Pitois, M. (1965). The influence of coccidiosis on feed and water intake of chickens. *Avian diseases*, 9 (3): 343-348.
- Reig-Armiñana, J., Calatayud, V., Cerveró, J., García-Breijo, F.J., Ibars, A. & Sanz, M.J. (2004). Effects of ozone on the foliar histology of the mastic plant (*Pistacia lentiscus* L.). *Environmental Pollution*, 132: 321-331.
- Remila, S., Atmani-Kilani, D., Delemasure, S., Connat, J.-L., Azib, L., Richard, T. & Atmani, D. (2015). Antioxidant, cytoprotective, anti-inflammatory and anticancer activities of *Pistacia lentiscus* (Anacardiaceae) leaf and fruit extracts. *European Journal of Integrative Medicine*, 7: 274-286.
- Ribéreau-Gayon, P. (1968). Notions générales sur les composés phénoliques, méthodes générales d'étude des composés phénoliques. In : Les composés phénoliques des végétaux. Edition Dunod, Pp: 1-27.
- Richter, G. (1993). Les composés phénoliques métabolisme des végétaux, (physiologie et biochimie), Edition Dunod, Pp: 331-337.

- Ritika. (2016). *Trigonella foenum-graecum* L.: a review of its ethnobotany, pharmacology and phytochemistry. *International Journal of Advance Reseach in Science and Engineering*, 5 (9):192-204.
- Roamba, E. N., Dibala, C. I., Bengaly, M. D., Diao, M., Konate, K. & Dicko, M. H. (2020). Evaluation of the nutritional and antioxidant potentialities of *Capparis corymbosa*. *African Journal of Food Science*, 14 (7): 201-208.
- Robard, I. (2004). Plantes médicinales d'outre-mer et pharmacopées : aspects juridiques, économiques et culturels. *Phytothérapie*, 1: 16-21.
- Rodríguez-Pérez, C., Quirantes-Piné, R., Amessis-Ouchemoukh, N., Madani, K., Segura-Carretero, A. & Fernández-Gutierrez, A. (2013). A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 77: 167-174.
- Romani, A., Pinelli, P., Galardi, C., Mulinacci, N. & Tattini, M. (2002). Identification and Quantification of Galloyl Derivatives, Flavonoid Glycosides and Anthocyanins in Leaves of *Pistacia lentiscus* L. *Phytochemical Analysis*, 13: 79-86.
- Rousset, J.J. (1993). Copro-parasitologie pratique: Intérêt et méthodologie, notions sur les parasites du tube digestif. De Boeck Secundair. Editions ESTEM. Pp : 1-89.

S

- Sahraoui, N., Brahim Errahmani, M., Ammi-Baaziz, D., Hezil, N., Bennadji, M.A., Boulariah, H., Chaouadi, D., Hornick, J.L. & Guetarni, D. (2015). L'effet de l'extrait végétal de *Yucca Schidigera* sur l'excrétion oocystale chez le poulet de chair. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 3 (2): 53-57.
- Sahraoui, N., Larbi, R., Lakhdari, M., Brahim Errahmani, M., Guetarni, D. & Hornick, J.L. (2016). Impact d'un extrait végétal «*Origanum majorana*» sur les paramètres zootechniques et l'état de santé du poulet de chair. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 4 (3) :72-77.
- Salama, H.M.H. & Marraiki, N. (2010). Antimicrobial activity and phytochemical analyses of *Polygonum aviculare* L. (Polygonaceae), naturally growing in Egypt. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 17: 57-63.
- Šamec, D., Gruz, J., Strnad, M., Kremer, D., Kosalec, I., Jurišić Grubešić, R., Karlović, K., Lucic, A. & Piljac-Zegarac, J. (2010). Antioxidant and antimicrobial properties of *Teucrium arduini* L. (Lamiaceae) flower and leaf infusions (*Teucrium arduini* L. antioxidant capacity). *Food and Chemical Toxicology*, 48: 113-119.
- Samy, R.P. & Gopalakrishnakone, P. (2008). Therapeutic potential of plants as antimicrobials for drug discovery—a review. *Evidence-based complementary and alternative medicine*, 7 (3): 283-294.
- Sánchez-Rodríguez, C., Peiró, C., Rodríguez-Mañas, L. and Nevado, J. (2020). polyphenols attenuate highly-glycosylated haemoglobin-induced damage in human peritoneal mesothelial cells. *Antioxidants*, 9 : 1-15.
- Santos-Sánchez, N.F., Salas-Coronado, R., Hernández-Carlos, B. & Villanueva-Cañongo, C. (2019). Shikimic Acid Pathway in Biosynthesis of Phenolic Compounds. *Plant Physiological Aspects of Phenolic Compounds*, 1-15
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30: 3875-3883.
- Schnitzler, B.E., Thebo, P.L., Mattsson, J.G., Tomley, F.M. & Shirley, M.W. (1998). Development of a diagnostic PCR assay for the detection and discrimination of four pathogenic. *Eimeria* species of the chicken. *Avian Pathology*, 27 (5): 490-497.
- Schwarz, R.S., Jenkins, M.C., Klopp, S. & Miska, K.B. (2009). Genomic analysis of *Eimeria* spp. populations in relation to performance levels of broiler chicken farms in Arkansas and North Carolina. *Journal of Parasitology*, 95 (4): 871-880.
- Seasotiya, L., Siwach, P., Bai, S., Malik, A., Bharti, P. & Dalal, S. (2014). Free radical scavenging activity, phenolic contents and phytochemical analysis of seeds of *Trigonella foenum graecum*. *Asian Pacific Journal of Health Sciences*, 1 (3): 219-226.

- Seidel, V. (2005). Initial and Bulk Extraction. In: Natural products isolation. *Humana Press (Totowa)*, pp: 27-37.
- Shan, B., Cai, Y.-Z., Brooks, J.D. & Corke, H. (2007). The *in vitro* antibacterial activity of dietary spice and medicinal herb extracts. *International Journal of Food Microbiology*, 117: 112-119.
- Sharma, A., Patel, V.K. & Ramteke, P. (2009). Identification of vibriocidal compounds from medicinal plants using chromatographic fingerprinting. *World journal of microbiology & biotechnology*, 25: 19-25.
- Sharma, V., Singh, P. & Rani, A. (2017). Antimicrobial Activity of *Trigonella foenum-graecum* L.(Fenugreek). *European Journal of Experimental Biology*, 7 (1): 1-4.
- Shiota, S., Shimizu, S., Mizushima, T., Ito, H., Hatano, T., Yoshida, T. & Tsuchiya, T. (2004). Mechanisms of action of Corilagin and Tellimagradin I that remarkably potentiate the activity of β -lactams against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Immunology*, 48: 67-73.
- Shirley, M.W. (1992). Research on avian coccidia: an update. *British Veterinary Journal*, 148 (6): 479-499.
- Shirley, M.W. (1994). Coccidial parasites from the chicken: discrimination of different populations of *Eimeria tenella* by DNA hybridisation. *Research in veterinary science*, 57 (1): 10-14.
- Shirley, M.W. (1995). Cryopreservation of avian *Eimeria* stages. In: Biotechnology. Guidelines on techniques in coccidiosis research. Pp: 1-24. Directorate-General XII Science, Research and Development Agriculture Biotechnology. Luxembourg.
- Shirley, M.W. & Lillehoj, H.S. (2012). The long view: a selective review of 40 years of coccidiosis research. *Avian Pathology*, 41 (2): 111-121.
- Shirley, M.W. & Harvey, D.A. (2000). A genetic linkage map of the apicomplexan protozoan parasite *Eimeria tenella*. *Genome research*, 10 (10): 1587-1593.
- Shirley, M.W. (1995). *Eimeria* species and strains of chickens. Pp: 1-24. In: Biotechnology. Guidelines on techniques in coccidiosis research. Brussels· Luxembourg.
- Song, J.-H., Yang, T.-C., Chang, K.-W., Han, S.-K., Yi, H.-K. & Jeon, J.-G. (2007). *In vitro* effects of a fraction separated from *Polygonum cuspidatum* root on the viability, in suspension and biofilms, and biofilm formation of mutans streptococci. *Journal of Ethnopharmacology*, 112: 419-425.
- Spigno, G., Tarmelli, L. & De Faveri, D.M. (2007). Effect of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81 (1): 200-208.
- Spigno, G., Tramelli, L. & De Faveri, D.M. (2007). Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81: 200-208.
- Sreenivasan, S., Ibrahim, D. & Kassim, M.J.N.M. (2007). Free radical Scavenging Activity and Total Phenolic Compounds of *Gracilaria Changii*. *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 1 (3): 115-117.
- Stahlhut, S.G., Siedler, S., Malla, S., Harrison, S.J., Maury, J., Neves, A.R. & Forster, J. (2015). Assembly of a novel biosynthetic pathway for production of the plant flavonoid fisetin in *Escherichia coli*. *Metabolic engineering*, 31: 84-93.
- Stepanović, S., Antić, N., Dakić, I. & Švabić-Vlahović, M. (2003). *In vitro* antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiological Research*, 158: 353-357.
- Strika, I., Bašić, A. & Halilović, N. (2017). Antimicrobial effects of garlic (*Allium sativum* L.). *Bulletin of the Chemists and Technologists of Bosnia and Herzegovina*, 47: 17-20.
- Sulaiman, F.A., Kazeem, M.O., Waheed, A.M., Temowo, S.O., Azeez, I.O., Zubair, F.I., Adeyemi, T.A., Nyang, A. & Adeyemi, O.S. (2014). Antimicrobial and toxic

potential of aqueous extracts of *Allium sativum*, *Hibiscus sabdariffa* and *Zingiber officinale* in Wistar rats. *Journal of Taibah University for Science*, 8: 315-322.

- Sun, Y.F., Liang, Z.S., Shan, C.J., Viernstein, H. & Unger, F. (2011). Comprehensive evaluation of natural antioxidants and antioxidant potentials in *Ziziphus jujuba* Mill. var. *spinosa* (Bunge) Hu ex HF Chou fruits based on geographical origin by TOPSIS method. *Food Chemistry*, 124: 1612-1619.

T

- Tagnaout, I., Zerkani, H., Mahjoubi, M., Bourakhouadar, M., Alistiqsa, F., Bouzoubaa, A. & Zair, T. (2016). Phytochemical study, antibacterial and antioxidant activities of extracts of *Capparis spinosa* L. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8 (12): 1993-2006.
- Taguri, T., Tanaka, T. & Kouno, I. (2006). Antibacterial spectrum of plant polyphenols and extracts depending upon hydroxyphenyl structure. *Biology Pharmacology Bulltin*, 29 (11): 2226-2235.
- Talbi, H., Boumaza, A., El-mostafa, K., Talbi, J. & Hilali, A. (2015). Evaluation de l'activité antioxydante et la composition physico-chimique des extraits méthanolique et aqueux de la *Nigella sativa* L. (Evaluation of antioxidant activity and physico-chemical composition of methanolic and aqueous extracts of *Nigella sativa* L.). *Journal of Materials and Environmental Science*, 6 (4): 1111-1117.
- Tan, L., Li, Y., Yang, X., Ke, Q., Lei, W., Mughal, M.N., Fang, R., Zhou, Y., Shen, B. & Zhao, J. (2017). Genetic diversity and drug sensitivity studies on *Eimeria tenella* field isolates from Hubei Province of China. *Parasites & Vectors*, 10 (137) :1-10.
- Tanoh, S.K., N'Gaman-Kouassi, C.C., Boa, D., Mamyrbekova-Békro, J.A. & Békro, Y.-A. (2019). Activité antioxydante des extraits bruts hydroéthanoliques et hydroacétoniques des organes de quatre plantes de Côte d'Ivoire médicinales. *Nature et Technologie*, 11 (2): 28-34.
- Tian, F., Li, B., Ji, B., Yang, J., Zhang, G., Chen, Y. & Luo, Y. (2009). Antioxidant and antimicrobial activities of consecutive extracts from *Galla chinensis*: The polarity affects the bioactivities. *Food Chemistry*, 113: 173-179.
- Tollba, A.A.H., Shabaan, S.A.M. & Abdel-Mageed, M.A.A. (2010). Effects of using aromatic herbal extract and blended with organic acids on productive and physiological performance of poultry 2-the growth during cold winter stress. *Egyptian Poultry Science Journal*, 30 (1): 229-248.
- Tomley, F.M., Clarke, L.E., Kawazoe, U., Dijkema, R. & Kok, J.J. (1991). Sequence of the gene encoding an immunodominant microneme protein of *Eimeria tenella*. *Molecular and biochemical parasitology*, 49 (2): 277-288.
- Topçu, G., Ay., M., Bilici, A., Sarikurkcu, C., Ozoturk, M. & Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103: 816-822.
- Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Soumaya, B., Hajlaoui, H. & Abdelly, C. (2010). Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 632-639.
- Triki, M.A., Krichen, W., Hammemi Mallouli, I., Samira, K., Manel, Cheffi, Aouissaoui, H., Ikram, J., Drira, N. & Hassaïri, A. (2012). Activité antifongique de l'extrait d'ail *vis-à-vis* de quelques champignons isolés d'oliviers en déperissement. *Revue Ezzaitouna*, 13: 1-11.
- Tsao, R. & Deng, Z. (2004). Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography B*, 812: 85-99.

U

- Umeno, A., Horie, M., Murotomi, K., Nakajima, Y. & Yoshida, Y. (2016). Antioxidative and Antidiabetic Effects of Natural Polyphenols and Isoflavones. *Molecules*, 21: 1-15.

- Urszula Szymanowska and Barbara Baraniak. (2019).** Antioxidant and Potentially Anti-Inflammatory Activity of Anthocyanin Fractions from Pomace Obtained from Enzymatically Treated Raspberries. *Antioxidants*, 8 : 1-13.

V

- Vaillancourt, J.P. (2015).** Les productions avicoles dans le monde. In :Manuel de pathologie aviaire. ED; association française pour l'avancement des sciences (AFAS). Paris. France. Pp: 2-7.
- van Vuuren, S.F. (2008).** Antimicrobial activity of South African medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 119: 462–472.
- Vannereau, A. & Mellouki, F. (1996).** Quelques exemples d'activités biologiques des substances soufrées des *Allium* utilisées en phytothérapie. *Acta Botanica Gallica*, 143-148.
- Vaquero, R.M.J., Tomassini Serravalle, L.R., Manca de Nadra, M.C. & Strasser de Saad, A.M. (2010).** Antioxidant capacity and antibacterial activity of phenolic compounds from argentinean herbs infusions. *Food Control*, 21: 779-785.
- Vaquero, R.M.J., Alberto, M.R. & Manca de Nadra, M.C. (2007a).** Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 18: 93-101.
- Vaquero, R.M.J., Alberto, M.R. & Manca de Nadra, M.C. (2007b).** Influence of phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, 18: 587-593.

W

- Waldenstedt, L., Elwinger, K., Lunden, A., Thebo, P. & Uggl, A. (2001).** Sporulation of *Eimeria maxima* oocysts in litter with different moisture contents. *Poultry science*, 80 (10): 1412-1415.
- Walli, R.R., Al-Musrati, R.A., Eshtewi, H.M. & Sherif, F.M. (2015).** Screening of antimicrobial activity of fenugreek seeds. *Pharmacy and Pharmacology International Journal*, 2: 1-4.
- Wang, J., Xu, J., Gong, X., Yang, M., Zhang, C. & Li, M. (2019).** Biosynthesis, Chemistry, and Pharmacology of Polyphenols from Chinese *Salvia* Species: A Review. *Molecules*, 24: 1-23.
- Weerasekera, D., Fernando, N., Bogahawatta, L.B.A.E., Rajapakse-Mallikahewa, R. & Naulla, D.J. (2008).** Bactericidal effect of selected spices, medicinal plants and tea on *Helicobacter pylori* strains from Sri Lanka. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 36 (1): 91-94.
- Widsten, P., Heathcote, C., Kandelbauer, A., Guebitz, G., Nyanhongo, G.S., Prasetyo, E.N. & Kudanga, T. (2010).** Enzymatic surface functionalisation of lignocellulosic materials with tannins for enhancing antibacterial properties. *Process Biochemistry*, 45 (7): 1072-1081.
- Williams, R.B. (1996).** The ratio of the water and food consumption of chickens and its significance in the chemotherapy of coccidiosis. *Veterinary Research Communications*, 20: 437-441.
- Williams, R.B. (1999).** A compartmentalised model for the estimation of the cost of coccidiosis to the world's chicken production industry. *International journal for parasitology*, 29 (8): 1209-1229.

Y

- Yakubu, M.T. & Musa, I.F.M. (2012).** Liver and kidney functional indices of pregnant rats following the administration of the crude alkaloids from *Senna alata* (Linn. Roxb) leaves. *Iranian Journal of Toxicology*, 6 (16): 615-625.
- Yala, J.F., Ntsameso-Mve-Mba, V., Issembe, Y.A., Lepengue, N.A. & Souza, A. (2016).** Évaluation in vitro de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Eryngium*

foetidum récolté dans la ville de Franceville. *Journal of Applied Biosciences*, 103 (1): 9886-9893.

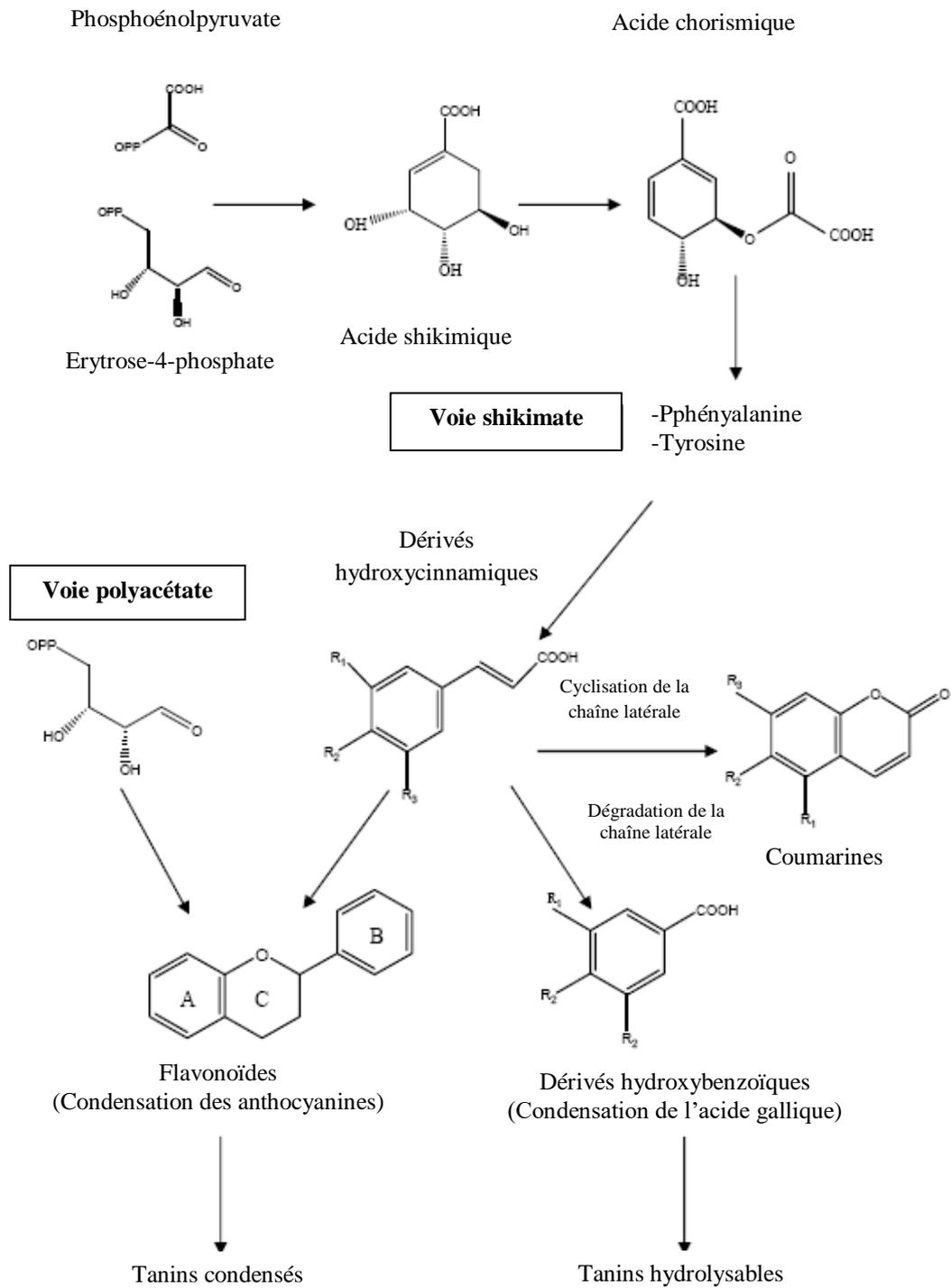
- Yang, J., Guo, J. & Yuan, J. (2008). *In vitro* antioxidant properties of rutin. *LWT-Food Science and Technology*, 41 (6): 1060-1066.
- Yang, W.C., Tien, Y.J., Chung, C.Y., Chen, Y.C., Chiou, W.H., Hsu, S.Y., Liu, H.Y., Liang, C.L. & Chang, C.L.T. (2015). Effect of *Bidens pilosa* on infection and drug resistance of *Eimeria* in chickens. *Research in veterinary science*, 98: 74-81.
- Yazdani, D., Zainal Abidin, M.A., Tan, Y.H., Kamaruzaman, S. & Jaganath, I.B. (2012). Screening of phytochemical from ethnomedicinal plants in Malaysia for use against toxigenic *Aspergillus flavus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6 (42): 5464-5468.
- Yoda, Y., Hu, Z.-Q., Zhao, W.-H. & Shimamura, T. (2004). Different susceptibilities of *Staphylococcus* and Gram-negative rods to epigallocatechin gallate. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 10: 55-58.
- You, M.J. (2014). The comparative analysis of infection pattern and oocyst output in *Eimeria tenella*, *E. maxima* and *E. acervulina* in young broiler chicken. *Veterinary World*, 7: 2231-0916.
- Youn, H.J. & Noh, J.W. (2001). Screening of the anticoccidial effects of herb extracts against *Eimeria tenella*. *Veterinary parasitology*, 96 (4): 257-263.

Z

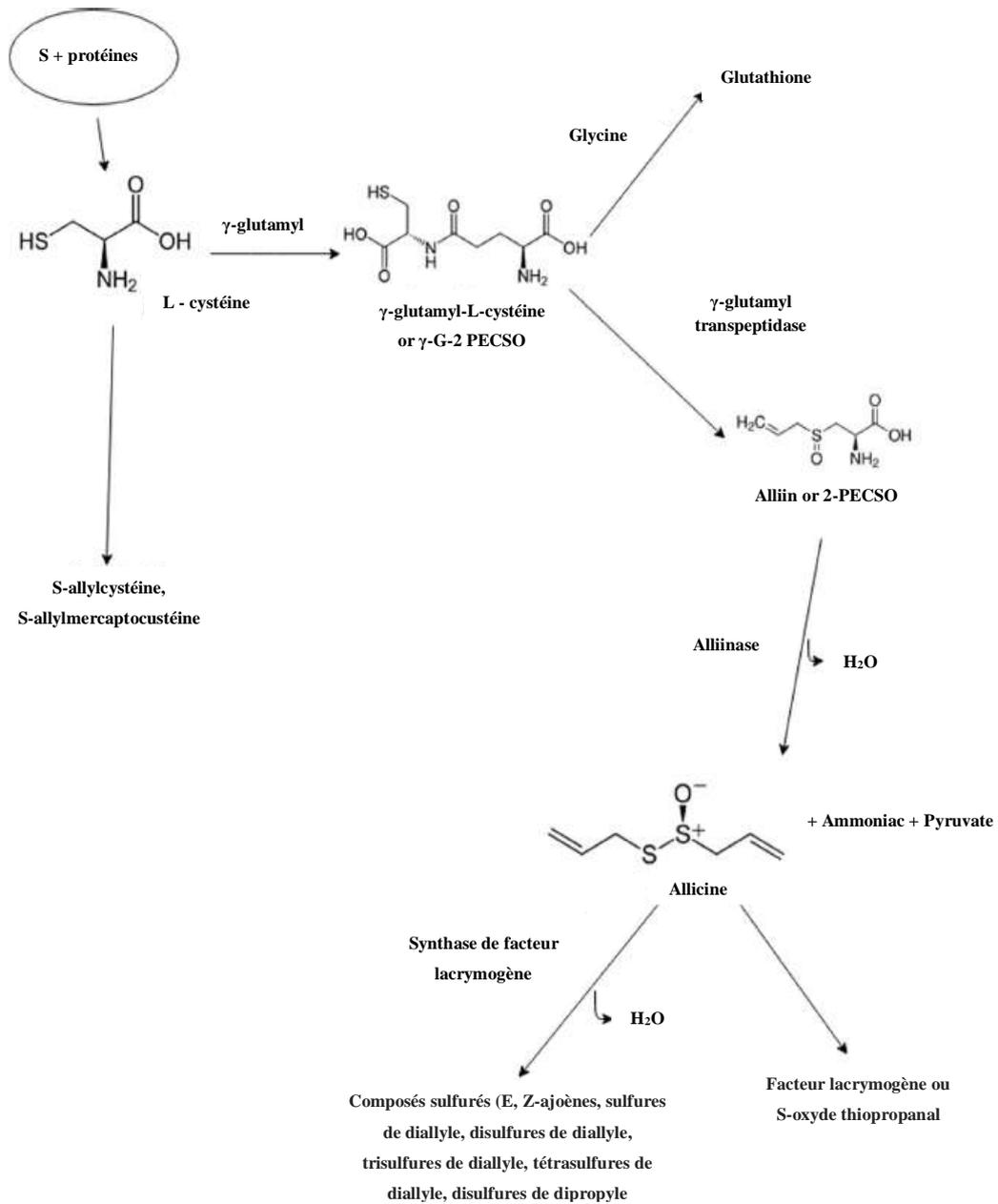
- Zalepugin, D.Y., Tilkunova, N.A. & Chernyshova, I.V. (2015). Stability of thiosulfates from garlic (*Allium sativum* L.) supercritical extracts in polar and nonpolar solvents. *Russian Journal of Physical Chemistry B*, 9 (7): 1032-1042.
- Zaman, M.A., Iqbal, Z., Abbas, R.Z. & Khan, M.N. (2012). Anticoccidial activity of herbal complex in broiler chickens challenged with *Eimeria tenella*. *Parasitology*, 139: 237-243.
- Zarkovic, N. (2020). Roles and Functions of ROS and RNS in Cellular Physiology and Pathology. *Cells*, 9 : 1-5.
- Zbadi, R., Mohti, H. & Moussaoui, F. (2018). Stress oxydatif: évaluation du pouvoir antioxydant de quelques plantes médicinales. *Médecine translationnelle*, 24 (2): 134-141.
- Zhang, D.F., Sun, B.B., Yue, Y.Y., Zhou, Q.J. & Du, A.F. (2012). Anticoccidial activity of traditional Chinese herbal *Dichroa febrifuga* Lour. extract against *Eimeria tenella* infection in chickens. *Parasitology research*, 111: 2229-2233.
- Zhang, L., Liu, R., Song, M., Hu, Y., Pan, B., Cai, J. & Wang, M. (2013). *Eimeria tenella*: interleukin 17 contributes to host immunopathology in the gut during experimental infection. *Experimental parasitology*, 133 (2): 121-130.
- Zhao, X., Sun, H., Hou, A., Zhao, Q., Wei, T. & Xin, W. (2005). Antioxidant properties of two gallotannins isolated from the leaves of *Pistacia weinmannifolia*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1725: 103-110.
- Zhou, S.-H., Fang, Z.-X., Lü, Y., Chen, J.-C., Liu, D.-H. & Ye, X.-Q. (2009). Phenolics and antioxidant properties of bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) Pomace. *Food Chemistry*, 112: 394-399.
- Zulpo, D.L., Peretti, J., Morteau Ono, L., Longhi, E., Oliveira, M.R., Gomes Guimarães, I., Headley, S.A., da Silva Guimarães Junior, J. & Garcia, J. L. (2007). Pathogenicity and histopathological observations of commercial broiler chicks experimentally infected with isolates of *Eimeria tenella*, *E. acervulina* and *E. maxima*. *Semina: Ciências Agrárias*, 28 (1): 97-104.

Annexes

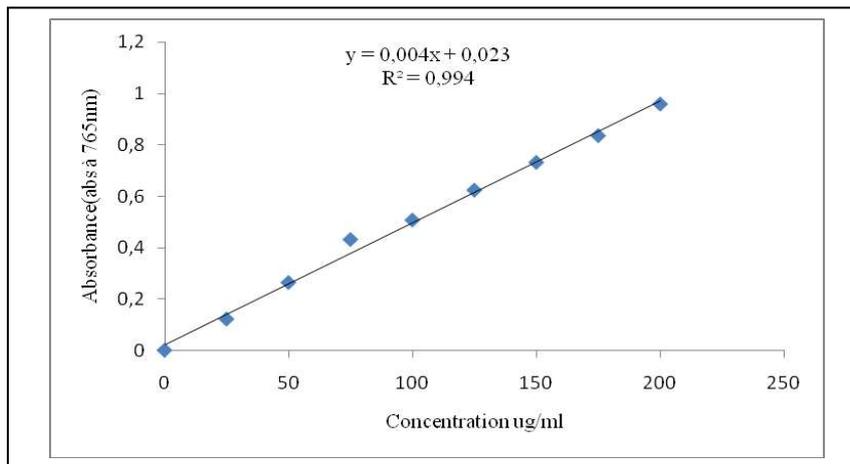
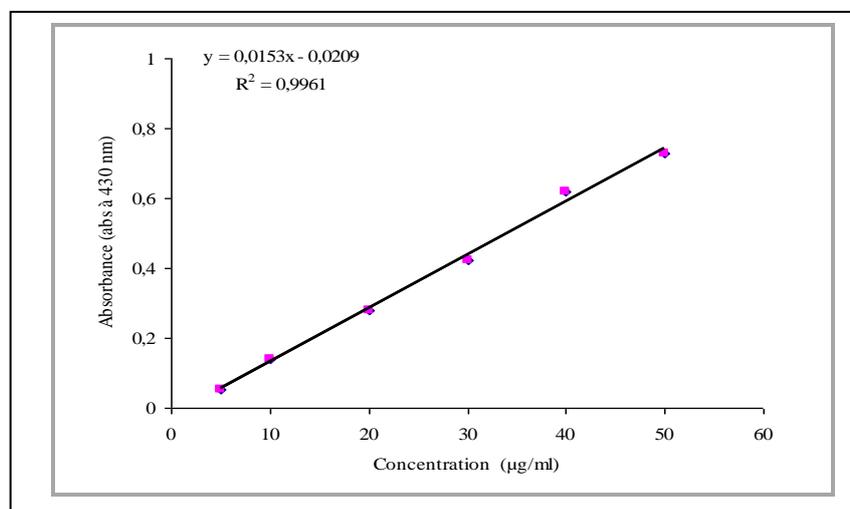
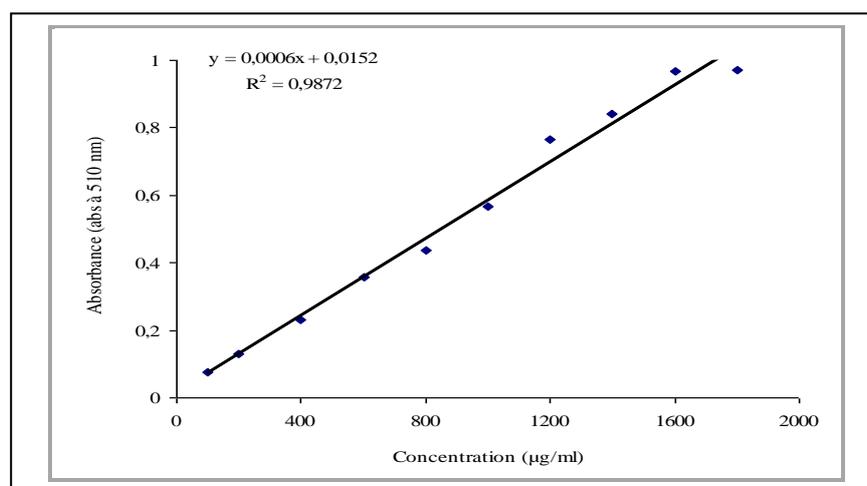
Annexe I: Voies de biosynthèse des différentes classes de composés phénoliques



Annexe II : Voies biosynthétiques des principaux composés organosulfurés d'*A. sativum* L. (Martins *et al.*, 2016)



Annexe III: Courbes d'étalonnages

**Figure 1:** Courbe d'étalonnage avec la catéchine pour le dosage des phénols totaux**Figure 2:** Courbe d'étalonnage avec la rutine pour le dosage des flavonoïdes**Figure 3:** Courbe d'étalonnage avec l'acide tanique pour le dosage des tanins

Annexe IV: Préparation des réactifs pour le dosage des tanins

1. Préparation du tampon A: (Acide acétique 0,2M / NaCl 0,17M, pH 4,9)

Faire dissoudre 9,86 g de NaCl dans 800 ml d'eau distillée, ajuster à pH 4,9 puis ajuster à 1 litre. Ajouter 11,4 ml d'acide acétique glacial.

2. Préparation de l'albumine sérum bovine (BSA)

Pour 1 mg de BSA on ajoute 1 ml du tampon A (préparer le jour même).

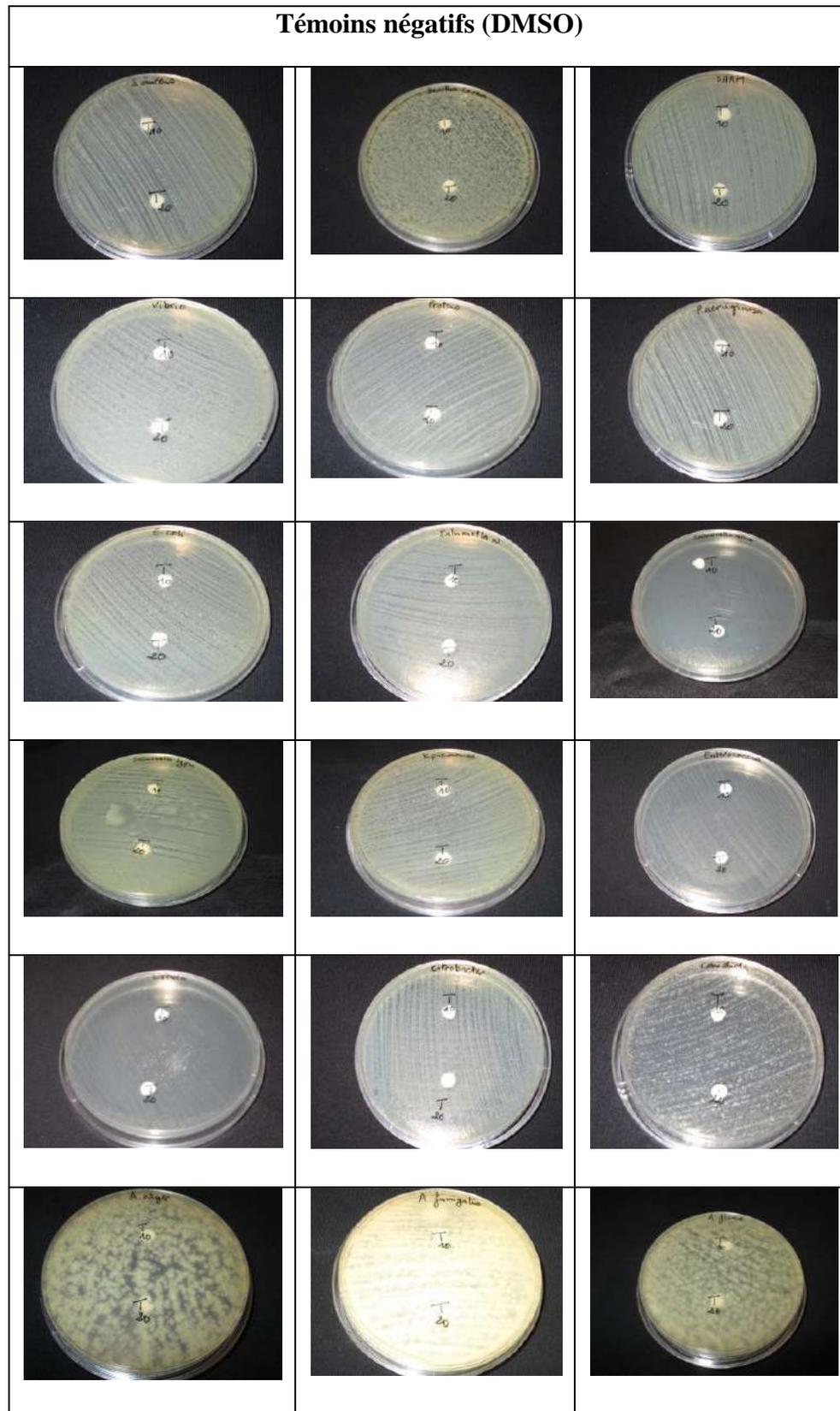
3. Préparation du sodium dodécyl sulfate / triéthanolamine (SDS/TEA)

Faire dissoudre 10 g du SDS dans 50 ml du TEA puis ajuster à 1 litre.

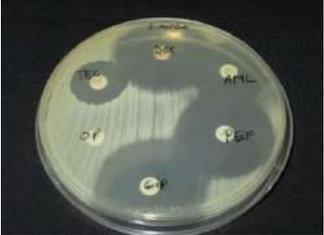
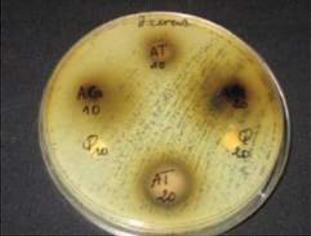
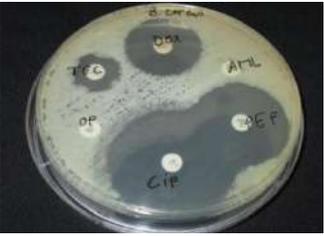
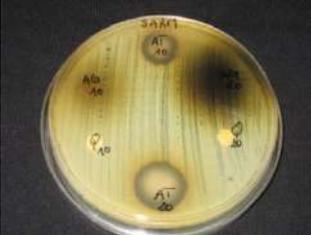
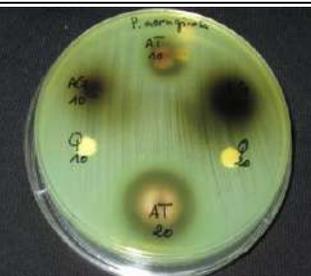
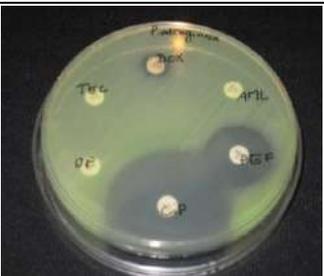
4. Préparation du chlorure ferrique (FeCl_3) 0,01M dans du HCl 0,1M

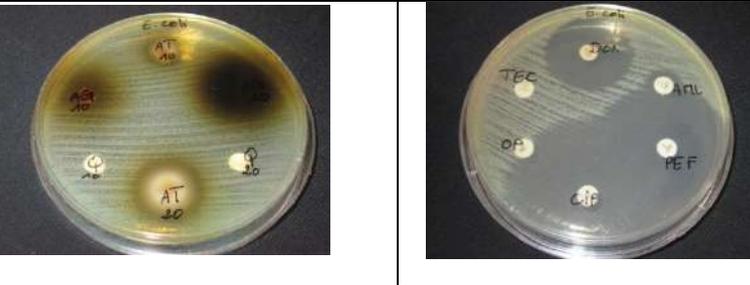
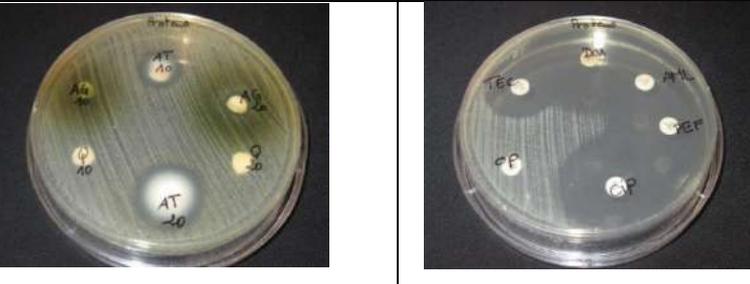
Mettre 1,62 g de FeCl_3 dans 1 litre d'une solution HCl, laisser cette solution reposer pendant 24h à 4°C puis faire une filtration.

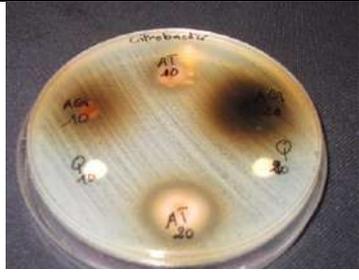
Annexe V : Témoins négatifs



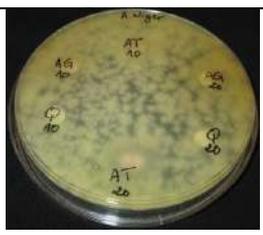
Annexe VI: Activité des composés phénoliques purs vis-à-vis des bactéries utilisées

		Les souches bactériennes	
		Composés phénoliques purs	Antibiotiques
	<i>S. aureus</i>		
	<i>B. cereus</i>		
	<i>L. innocua</i>		
	<i>SARM</i>		
	<i>P. aeruginosa</i>		

Les souches bactériennes	
<i>V. cholerae</i>	
<i>E. coli</i>	
<i>P. mirabilis</i>	
<i>S. typhi</i>	
<i>S. typhimurium</i>	
<i>S. enterica</i>	

Les souches bactériennes	<i>Enterococcus</i>		
	<i>C. freundii</i>		
	<i>K. pneumoniae</i>		

Annexe VII: Activité des composés phénoliques purs *vis-à-vis* des champignons

Les souches fongiques			
Composés phénoliques purs	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>	<i>A. flavus</i>
			

Activité des extraits des feuilles de *P. lentiscus* sur *S. aureus* ; *SARM* ; *B.cereus* ; *L. innocua* ; *E. freundii* ; *E. coli* ; *S. typhi* ; *S. enterica* ; *V. cholerae* ; *P. mirabilis* ; *P. aeruginosa*. **PM₁₀** : extraits méthanolique à 1 mg/disque ; **PM₂₀** : extraits méthanolique à 2 mg/disque. **PA₁₀** : extraits aqueux à 1 mg/disque ; **PA₂₀** : extraits aqueux à 2 mg/disque. **PT₁₀** : extraits tanique à 1 mg/disque ; **PT₂₀** : extraits tanique à 2 mg/disque. **PF₁₀** : extraits flavonoidique à 1 mg/disque ; **PF₂₀** : extraits flavonoidique à 2 mg/disque.

Annexe VIII : Taille des oocystes d'*Eimeria sp.* selon Reid *et al.* (1978).

Espèces	Taille (µm)				Longueur/Largeur
	Extrêmes		Moyenne		
	Longueur	Largeur	Longueur	Largeur	
<i>Eimeria mitis</i>	14.3 19.6	13 17	16.2	16	1.01
<i>Eimeria maxima</i>	21.5 42.5	16.5 29.8	30.5	20.7	1.47
<i>Eimeria tenella</i>	19.5 26	16.5 22.8	22	19	1.16
<i>Eimeria acervulina</i>	17.7 20.2	13.7 16.3	18.3	14.6	1.25
<i>Eimeria praecox</i>	19.8 24.7	15.7 19.8	21.3	17.1	1.24
<i>Eimeria necatrix</i>	13.2 22.7	11.3 18.3	20.4	17.2	1.19
<i>Eimeria hagani</i>	15.8 20.9	14.3 19.5	19.1	17.6	1.08
<i>Eimeria brunetti</i>	20.7 30.3	18.1 24.2	24.6	18.8	1.31
<i>Eimeria mivati</i>	11.1 19.9	10.5 16.2	15.6	13.4	1.16

Annexe IX: Micromètre oculaire et objectif**-Micromètre oculaire (oculaire micrométrique)**

L'oculaire micrométrique est un disque en verre transparent portant une échelle graduée divisée en 100 petites divisions (**Figure 25, A**). La valeur de chaque division est différente selon le grossissement de l'objectif et calculée en se servant d'un micromètre objectif.

-Micromètre objectif (lame micrométrique)

Il consiste en une lame de verre sur laquelle est collé un disque gravé finement d'un trait gradué représente 1mm divisée en fractions de 0,1mm, elles-mêmes divisées en fractions de 0,01mm =10µm

-Étalonnage

Les graduations du micromètre oculaire seront étalonnées pour chaque grossissement d'objectif en utilisant un micromètre objectif (figure 29) (**Rousset, 1993**).

L'étalonnage consiste à superposer les graduations visibles dans l'oculaire aux graduations du micromètre objectif (**Rousset, 1993**).

-Retirer l'oculaire du microscope et insérer le micromètre oculaire, puis mettre le micromètre objectif sur la platine du microscope.

-Choisir l'objectif (par exemple $\times 40$) et orienter l'oculaire et le positionner sur le micromètre-objectif de telle manière que les échelles des deux soient parallèles et proches voire superposées ;

-Compter le nombre de divisions de l'échelle du micromètre-objectif qui correspond à un nombre entier de divisions de l'échelle du micromètre oculaire ;

-Diviser la valeur observée sur l'échelle du micromètre-objet par le nombre de divisions comptabilisées sur l'échelle du micromètre oculaire afin de déterminer la valeur de chaque division de l'échelle du micromètre oculaire ;

-Répéter le même mode opératoire pour chaque objectif.

• **Exemple**

Pour chaque objectif :

x divisions de l'oculaire = y μm (au niveau du micromètre-objectif)

1 division oculaire = y/x μm

4 divisions = 0.09mm (90 μm)

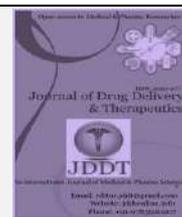
1 division oculaire = $90/4$ μm = 22,5 μm

Available online on 15.02.2020 at <http://jddtonline.info>

Journal of Drug Delivery and Therapeutics

Open Access to Pharmaceutical and Medical Research

© 2011-18, publisher and licensee JDDT, This is an Open Access article which permits unrestricted non-commercial use, provided the original work is properly cited



Open Access

Research Article

Antimicrobial and Antioxidant Activities of Flavonoids Extracted from *Pistacia lentiscus L.*, Leaves

Bakli Sabrina ^{1,2*}, Harzallah Daoud ¹, Zerroug Amina ¹, Sadrati Nouari ¹, Bouguerra Asma ¹, Gaamoune Soufiane ^{1,3} and Naili Oumaima ¹

¹: Laboratory of Applied Microbiology, Faculty of Natural Sciences and Life, University Ferhat Abbas Setif1, Setif 19000, Algeria.

²: Department of Natural Sciences and Life, University of Abdel Hafid Boussouf, Mila 43000, Algeria.

³: National Institute of Agriculture Research, Setif 19000, Algeria.

ABSTRACT

Increasingly, the flavonoids becoming the subject of biomedical researches, and many groups have isolated and identified the structures of flavonoids possessing important biological activities. This assess investigates the antimicrobial fight and the antioxidant strengths of flavonoids extracted from *Pistacia lentiscus L.* leaves. The extract was first analyzed for its phenolic content, then the flavonoids were tested for their antimicrobial capacities by the method of diffusion against fourteen bacteria, two fungi and one yeast. The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of flavonoids were determined using the dilution method on solid medium, however, the antioxidant activity was evaluated through the ability of the extract to scavenge DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radicals and the reducing power assay. The results indicate that flavonoids extract contain other phenolics groups. On the other side, the Antibacterial tests exhibited different activities depending on the strains. Unlike, the MIC and the MBC showed that the flavonoids extract showed a best activity against *Candida albicans* and *Vibrio cholerae*. Concerning antioxidant activity, the results indicate a moderate capacity of the flavonoid extract. These preliminary results may justify the use of this plant in the treatment of some diseases and may be exploited for therapeutic purposes.

Keywords: Antimicrobial, Antioxidant, *Pistacia lentiscus*, flavonoids, MIC, MBC.

Article Info: Received 26 Nov 2019; Review Completed 18 Jan 2020; Accepted 27 Jan 2020; Available online 15 Feb 2020



Cite this article as:

Bakli S, Harzallah D, Zerroug A, Sadrati N, Bouguerra A, Gaamoune S, Naili O, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Flavonoids Extracted from *Pistacia lentiscus L.*, Leaves, Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2020; 10(1-s):82-89 <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i1-s.3895>

*Address for Correspondence:

Bakli Sabrina, Laboratory of Applied Microbiology, Faculty of Nature and Life Sciences, University Ferhat Abbas Setif1, Setif 19000, Algeria.

INTRODUCTION

P. lentiscus leaves contain differing types of secondary metabolites. Among these, the most abundant compounds in *P. lentiscus* leaves are reportedly flavonoids that have displayed a powerful antioxidant capacity as well as hepatoprotective, anti-inflammatory, anticancer effects, antimicrobial, antiviral, anticholinesterase, anti-inflammatory, antinociceptive, antidiabetic, antitumor, antihyperlipidemic, antiatherosclerotic and hepatoprotective activities and also their beneficial effects in gastrointestinal disorders [1]. Thus, the characterization of bioactive compounds from *P. lentiscus* leaves extracts has relevance for developing nutraceuticals and dietary supplements [2].

Nowadays, the development of resistance of a pathogen to a large number of commonly used antibiotics encourages the search for new antimicrobial agents to fight infections and

overcome the resistance and side effects of antimicrobial agent currently available [3]. Due to the alarming increase in the incidence of new and re-emerging infectious diseases, there is a continuing and urgent need to find new antimicrobial compounds with different chemical structures and new mechanisms of action. Another major concern is the development of antibiotic resistance in current clinical use [4]. Flavonoids are increasingly the subject of anti-infectious research. Several flavonoids have antibacterial and antifungal activities [5].

The aim of this study is to evaluate the antioxidant and antimicrobial activities of flavonoids extract obtained from leaves of *P. lentiscus*, in order to find new molecules able to reduce the use of synthetic medicines.

MATERIAL AND METHODS

Plant material

The leaves of *P. lentiscus* were harvested in July 2014, in Bni Ourtilan – Setif– Algeria. The *P. lentiscus* leaves were air-dried in the shade at room temperature. After drying, the plant material was ground to a fine powder using an electric mill.

Flavonoids extraction

The powder was taken up three times with 70 % ethanol (raw material: solvent ratio was 1: 10) for 90 minutes at 100 °C. The extracts were combined and concentrated under vacuum to collect the aqueous residue (10 mL), which was extracted with hexane and chloroform, then acidified with 20 % H₂SO₄ (pH = 5) and finally extracted with ethyl acetate. The appearance of an interphase precipitate was observed during extraction with ethyl acetate. The ethyl acetate fraction was taken as a flavonoids fraction for our experiment [6].

Determination of total flavonoids contents

The flavonoids contents in the extract was estimated by the Aluminium chloride solution according to the method described by Mimica-Dukić (1992) in Maksimović *et al.* [7]. Briefly, 2 mL of the methanol solution of the extract was added to 1 mL of AlCl₃ (133 mg crystalline aluminium chloride and 400 mg crystalline sodium acetate were dissolved in 100 mL of distilled water) in methanol. After 10 minutes, the absorbance was determined at 430 nm. Results were expressed as mg equivalent rutin per gram of extract (mg ER/GE).

Antioxidant activities

DPPH radical scavenging activity

The DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of the flavonoids extract was measured according to the procedure described by Sreenivasan *et al.* [8]. Briefly; 50 µL of the extract at different concentrations were added to 5 mL (0,04 %) of DPPH methanolic solution. The decrease in absorbance was determined at 517 nm, after incubation for 30 minutes at laboratory temperature in the dark.

The antiradical activity was expressed as IC₅₀ (micrograms per millilitre) and the antiradical dose required to cause a 50 % of inhibition. A lower IC₅₀ value corresponds to a better antioxidant activity. The ability to scavenge DPPH radical was calculated by employing the subsequent equation:

$$\text{DPPH scavenging effect (\%)} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100$$

Where A₀ is the absorbance of the control at 30 minutes and A₁ is the absorbance of the sample at 30 minutes. BHT was used as a standard and samples were analyzed in triplicate.

Ferric reducing power (FRP)

The reducing power of the extract was measured with a method described by Kaur *et al.* [9]. One millilitre of the extract at different concentrations was mixed with 2.5 mL of phosphate buffer solution (0.2 M, pH 6.6) and 2.5 mL of potassium ferricyanide (1 %). The mixture was incubated for 20 minutes at 50 °C. After cooling, 2.5 mL of 10 % trichloroacetic acid was added and the mixture was centrifuged at 3000 rpm for 10 minutes. 2.5 mL of supernatant was mixed with 2.5 mL of distilled water and 0.5 mL of ferric chloride (0.1 %). The absorbance of the mixture thus obtained is measured at 700 nm against a blank.

Higher absorbance indicates higher reducing power. EC₅₀ value (µg extract/mL) is the effective concentration at which the absorbance was 0.5 for reducing power, obtained by interpolation from linear regression analysis. BHT was used as standards.

Antimicrobial activity test

Microorganisms

Evaluation of the antimicrobial activity of extract was performed against fourteen strains of pathogenic bacteria, obtained from the American Type Culture Collection, namely: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *methicillin resistant Staphylococcus aureus (MRSA)* ATCC 43300, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Enterococcus faecalis* ATCC 49452, *Citrobacter freundii* ATCC 8090, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Salmonella typhi* ATCC 14028, *Salmonella enterica* ATCC43972, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus mirabilis* ATCC 35659, *Vibrio cholerae* ATCC 14035 and *Listeria innocua* CLIP 74915 from Collection *Listeria* Pasteur Institute.

Two fungi: *Aspergillus niger* 2CA936, *Aspergillus flavus* NRRL 3357 and one yeast: *Candida albicans* ATCC1024. Sabouraud Dextrose agar and Mueller–Hinton agar were used for fungi and bacteria, respectively.

Screening for antibacterial activity

The screening of antibacterial activity of flavonoids extract of *P. lentiscus* was carried out with agar disc diffusion method [10].

The extract was dissolved in dimethylsulfoxide (DMSO) to a final concentration of 200 mg/mL and sterilized by filtration through a 0.22 µm membrane filter. The bacteria inoculum was prepared by suspending colonies during 24 hours culture. The cell density of each inoculum was adjusted at 10⁸ CFU/mL suspension with a spectrophotometer (DO=0.08-0.1 / λ = 600 nm) [11]. The discs Watt-man paper discs N°3 of 6 mm diameter were each impregnated with 10 µL and 20 µL of extract equal to 2mg and 4mg by disc, respectively. The plates were held for 3 hours at 4 °C for diffusion of extract into the agar [12] [13] and then incubated at 37 °C for 24 hours. Amoxicillin, Ciprofloxacin, Teicoplanin, Doxycyclin, Pefloxacin, Optochin were used as standards and dimethylsulfoxide as a control.

The activity is determined by the measurement of the inhibitory zone diameter in mm. The antibacterial activity is considered starting from a diameter of 6 mm or higher, and is classified as follows [14]:

- ✓ Very sensitive: diameter ≥ 20 mm;
- ✓ Sensitive enough: diameter between 15-19 mm;
- ✓ Sensitive: diameter between 09-14 mm;
- ✓ Resistant: diameter ≤ 08 mm.

Screening for Antifungal activity

The antifungal activity was tested by disc diffusion method [15]. The Sabouraud plates were inoculated with each fungal culture.

The spore suspension was prepared in saline solution (0.9 % NaCl), adjusted to a concentration of 10⁶ spores/mL [15] [16] corresponding to 0.15 to 0.17 absorption at 530 nm [15]. One hundred microliter of suspension was placed over agar in Petri dishes and dispersed using a sterile swab. Then, the sterile paper discs (6 mm diameter) were placed on agar to load 10 µL and 20 µL equal to 2 mg and 4mg by disc, respectively. And the plates were held for 3 h at 4 °C for diffusion of extracts into the agar and then incubated at 37 °C

for 48 hours for *C. albicans* and 72 hours at 28 °C for the fungi.

Nystatin, clotrimazon and amphotericin were used as standards and dimethylsulfoxide as a control.

Determination of Bactericidal and Fungicidal Activity

Minimum inhibition concentration (MIC)

The MIC of the extract was determined using agar dilution method that has been already described by [17]. One milliliter of different concentrations of extract was added to 14 mL of nutrient agar to make the final concentration ranging from 10 mg/mL to 0.05 mg/mL. Standardized inocula approximately containing 1×10^4 CFU/mL [18] were spotted on solidified plates containing various concentrations of the extract. The lowest concentration of extract inhibiting any visible bacterial or fungal growth after an incubation period of 24 h at 37 °C and 48 h at 28 °C, respectively, was taken as the minimum inhibitory concentration [17][19].

Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and Minimal Fungicidal Concentration (MFC)

Samples were taken from the nutrient agar plates that showed no visible growth after 24 hours incubation and sub cultured into tubes containing nutrient broth. The least concentration that did not produce growth after 24 hours was regarded as the minimal bactericidal concentration [17].

Statistical analysis

Experiments were carried out in triplicate and expressed as the mean \pm standard deviation, data were analysed and compared using the one-way ANOVA and Tukey Multiple Comparison with 95 % confidence limits ($P < 0.05$), using Graphpad prism 5 Demo Software.

RESULTS AND DISCUSSION

Flavonoids extracted from the leaves of *P. lentiscus* reach the yield of 3.91 % with 278.507 ± 0.377 mg ER/GE of total flavonoids.

Antioxidant activity

The isolated compounds were screened for antioxidant activity. The results of DPPH test were showed in figure 1.

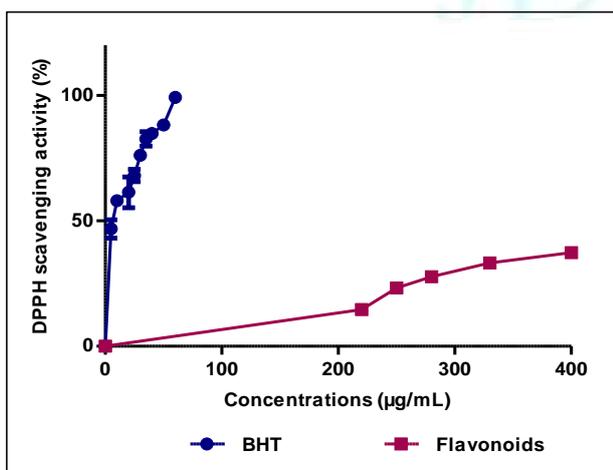


Figure 1: Scavenging activity on the DPPH radical of flavonoids extracted from leaves of *P. Lentiscus*

The IC_{50} of flavonoids extract was $455 \pm 0,048$ µg/mL*** against $4,31 \pm 0,79$ µg/mL for BHT.

Studies have recently shown that flavonoids have an antioxidant effect on human health. These compounds

scavenge free radicals and chelate metal thus avoiding the Fenton reaction to occur [20]. The role of antioxidants in the inhibition of oxidant processes occurring in living organisms consists of scavenging free radicals and quenching singlet oxygen, disconnection of radical reactions, chelate metals which catalyze the oxidation process, inhibition of certain enzymes (eg., oxidases). Flavonoids are active in these processes [21]. However the weakness of our extract due to the presence of other molecules which affect the ability of scavenging in terms of hydrogen donating ability.

In addition, it is known that only flavonoids having a certain structure and in particular a hydroxyl position in the molecule can act as proton donors and show a radical scavenging activity [22][23].

The reducing capacity of a compound can be considered as an important indicator of its antioxidant activity [24]. Their absorption values increased with increase in concentration, showing that as the concentration of the extract was increased their ability to reduce Fe^{3+} to Fe^{2+} was also increased. Figure 2 shows the dose-dependent curve for the reducing power of the extract:

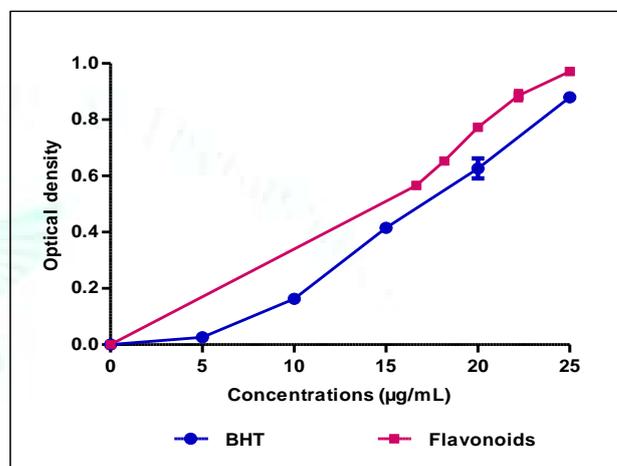


Figure 2: Reducing power of flavonoids extracted from the leaves of *P. lentiscus*

An increase in absorbance corresponds to an increase in the reducing power of the extract tested. Flavonoids showed increased ferric reducing power with the increasing concentration with EC_{50} correspond to 15.0 ± 0.001 µg/mL against 16.0 ± 0.001 µg/mL of BHT. The extract expressed electron donating activity and its power was equal to BHT.

High reducing power of flavonoids extract suggested its remarkable potency to donate electrons to reactive free radicals, thus, converting them into more stable non-reactive species and finally terminate the free radical chain reaction [25]. It was confirmed that the hydroxyl groups at C-3' and C-4' of the B-ring to be more active in reducing iron concentration [26]; this may explain our results.

The study of correlation between radical scavenging power and the capacity of metal ions chelation seems interesting. Firstly because oxidative stress is the cause of formation of free radicals through metals transition (iron, copper) via Fenton reaction [20]. Secondly, the evaluation of the plant antioxidant effect is made by combining the results of at least two *in vitro* assays [27].

Antimicrobial activity

The results obtained from antimicrobial assay are presented in Table 1, 2 and 3:

Table 1: Antibacterial activities of flavonoids, pure phenolic compounds, standards and control

Bacterial strains	Zone of inhibition (mm)													
	<i>S. aureus</i>	<i>SARM</i>	<i>L. innocua</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. enterica</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>C. freundii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>E. faecalis</i>
Flavonoids (200 mg/mL)														
10µL	12,7±0,47 ^a	9,0±0,0 ^a	-/-	8,0±0,00 ^a	-/-	-/-	9,0±0,0 ^a	-/-	-/-	-/-	9,0±0,0 ^a	7,3±0,47 ^a	10,3±0,47 ^a	-/-
20µL	18,8±0,24 ^c	13,0±0,41 ^b	8,3±0,47 ^a	14,7±0,47 ^c	8,8±0,24 ^a	-/-	11,5±0,41 ^b	8,7±0,47 ^a	-/-	-/-	14,0±0,00 ^e	13,0±0,0 ^b	12,7±0,47 ^b	8,3±0,47 ^a
Pure phenolic compounds														
Tannic acid														
10µL	13,8±0,3 ^a	14,0±0,0 ^b	-/-	10,0±0,6 ^b	-/-	-/-	18,0±0,0 ^c	12,0±0,0 ^b	-/-	-/-	12,0±0,0 ^c	14,0±0,0 ^b	15,5±0,7 ^c	8,0±0,0 ^a
20µL	17,3±0,6 ^b	18,0±0,0 ^c	11,3±0,6 ^b	16,5±0,5 ^d	12,0±0,0 ^b	-/-	20,3±0,6 ^d	15,7±0,6 ^e	-/-	-/-	13,0±0,0 ^d	18,2±0,8 ^c	22,0±0,0 ^d	12,3±0,6 ^b
Gallic acid														
10µL	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
20µL	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	8,0±0,0 ^a	11,0±0,0 ^a	-/-
Quercetin														
10µL	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
20µL	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Standards														
Amoxicillin	30,0±0,0 ^d	9,0±0,0 ^a	23,0±0,0 ^d	-/-	12,0±0,0 ^b	-/-	22,0±0,0 ^e	23,0±0,0 ^f	-/-	-/-	-/-	39,67±0,47 ^f	22,0±0,0 ^d	22,0±0,0 ^d
Ciprofloxacin	34,7±0,47 ^{ef}	35,0±0,0 ^e	32,0±0,0 ^e	37,3±0,47 ^g	46,0±0,0 ^e	32,0±0,0	32,0±0,0 ^g	26,7±0,47 ^g	45,3±0,47	51,3±0,47	37,7±0,47 ^g	33,67±0,47 ^e	49,0±0,82 ^g	31,7±0,47 ^f
Teicoplanin	19,7±0,47 ^c	20,0±0,0 ^d	21,0±0,0 ^c	15,0±0,0 ^c	-/-	-/-	22,3±0,47 ^e	20,0±0,0 ^d	-/-	16,8±0,62	-/-	25,0±0,0 ^d	26,0±0,0 ^e	20,0±0,0 ^c
Doxycycline	36,0±0,0 ^f	39,0±1,0 ^f	34,0±0,0 ^f	26,0±0,0 ^e	30,0±0,0 ^c	10,0±0,0	50,0±0,0 ^h	30,0±0,0 ^h	25,0±0,0	28,0±0,0	10,0±0,0 ^b	44,0±0,0 ^g	44,0±0,0 ^f	37,0±0,0 ^g
Pefloxacin	33,7±0,6 ^e	35,5±0,5 ^e	-/-	30,5±0,7 ^f	44,0±0,0 ^d	26,0±0,0	25,0±0,0 ^f	22,0±0,0 ^e	40,0±0,0	46,0±0,0	22,0±0,0 ^f	40,0±0,0 ^f	44,0±0,0 ^f	30,0±0,0 ^e
Optochin	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
Control	No inhibition	No inhibition	No inhibition	No inhibition	No inhibition	No inhibition	No inhibition	No inhibition	No inhibition	No inhibition	No inhibition	No inhibition	No inhibition	No inhibition

-/-: No zone of inhibition

In the same column, means followed by the same letters are not significantly different ($p < 0.05$)

Table 2: Antifungal activities of flavonoids, pure phenolic compounds, standards and control

Fungal strains	Zone of inhibition (mm)		
	<i>Aspergillus flavus</i> NRRL3357	<i>Aspergillus niger</i> 2CA936	<i>Candida albicans</i> ATCC1024
Flavonoids (200 mg/mL)			
10µL	-/-	-/-	12,67±0,47 ^b
20µL	-/-	-/-	14,0±0,0 ^b
Purphenolic compounds			
Tannic acid			
10µL	11,3± 0,6 ^a	-/-	18,8± 1,0 ^d
20µL	12,9± 0,3 ^b	-/-	25,0±0,0 ^e
Galic acid			
10µL	-/-	-/-	-/-
20µL	-/-	-/-	-/-
Quercetin			
10µL	-/-	-/-	-/-
20µL	-/-	-/-	-/-
Standards			
Amphotericin	16,67±0,29 ^d	17,17±0,29 ^c	15,67±0,29 ^c
Clotrimazon	23,50±,50 ^e	15,67±0,29 ^b	44,67±0,58 ^f
Nystatin	15,17±0,29 ^c	9,17±0,29 ^a	9,17±0,29 ^a
Control	No inhibition	No inhibition	No inhibition

-/-: No zone of inhibition;

In the same column, means followed by the same letters are not significantly different (p < 0.05)

Table 3: MIC and MBC of flavonoids and pure phenolic compounds against the tested microbial strains

Strains	MIC et MBC/MFC (mg/mL)															Fungal strains	
	Bacterial strains															<i>C. albicans</i>	<i>A. flavus</i>
	<i>S. aureus</i>	MRSA	<i>B. cereus</i>	<i>L. innocua</i>	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. typhi</i>	<i>S. enterica</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>C. freundii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>E. faecalis</i>			
Flavonoids																	
MIC	2	0,5	1	5	4	NT	0,6	5	NT	NT	3	3	0,3	5	0,1	NT	
MBC/MFC	3	1	6	5	5	NT	3	6	NT	NT	5	3	0,5	5	5	NT	
Pure phenolic compounds																	
Tannic acid																	
MIC	0,4	0,3	0,3	1	> 10	NT	<50 ug	1	NT	NT	0,9	0,1	0,1	1	0,1	> 10	
MBC/MFC	0,4	0,3	0,6	2	> 10	NT	3	8	NT	NT	0,9	0,3	0,1	5	5	> 10	
Galic acid																	
MIC	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	10	8	NT	NT	NT	
MBC/MFC	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	10	8	NT	NT	NT	
Quercetin																	
MIC	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
MBC/MFC	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
Antibiotic standards																	
Amoxicillin	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
Ciprofloxacin	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
Teicoplanin	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
Doxycyclin	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
Pefloxacin	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
Optochin	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
Antifongic standards																	
Amphotericin	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
Clotrimazon	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	
Nystatin	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT	

NT : Not Tested.

The first table (**table 1**) indicates that the flavonoids extract is weak to moderate inhibitory activities against the tested bacteria even zero against some strains. The flavonoids at 4 mg/disc showed variable inhibitory activity against all bacteria (Gram-positive and Gram-negative) with inhibition zone diameters ranging from 8.33–18.83 mm. An extract is considered active when it reveals a zone of inhibition greater than or equal to 9 mm [14]. Furthermore, the assayed extract indicates no activity against tested fungi *A. niger* and *A. flavus* (**Table 2**), but showed an important antifungal activity against *C. albicans* with inhibition zone of 14.0±0.0 mm. This inhibition was low compared to Amphotericin.

Antimicrobial activity of pure phenolic compounds showed that tannic acid has more impact on *V. cholerae* (22.0±0.0 mm) (**Table 1**). Galic acid has showed minimum zone of inhibition on *P. mirabilis* (8.0±0.0 mm) and *V. Cholera* (11.0±0.0 mm). On the other hand tannic acid showed significant activity against *C. albicans* (25.0±0.0 mm) compared to standards nystatin (9.17±0.29mm) and amphotericin (15.67±0.29mm) and low activity against *A. flavus* (12.9±0.3 mm) (**Table 2**) while quercetin shows no inhibitory effect.

Among the six different types of antibiotics used in the study, Ciprofloxacin has a broad spectrum of activity on all species of human pathogenic bacteria and the widest zone of inhibition was observed against *C. freundii* (51.33±0.47 mm) (**Table 1**). Whereas the minimum zone of inhibition was exhibited in Amoxicillin (9.0±0.0 mm) against MRSA. Optochin has no antibacterial activity on the selected test organisms.

The MICs results are not in good agreement with those of the antibiogram for all tested species (**Table 3**); since the smallest MIC was observed with *C. albicans* (0.1 mg/mL) and the latter has small zone of inhibition (14.0±0.0 mm), when *S. aureus* showed a high MIC (2mg/mL) and the largest zone of inhibition (18.83±0.24 mm).

These results show that the flavonoids extract has a lower value of MIC 0.1 mg/mL on the fungal strain *C. albicans*, also showed a remarkable activity on *V. Cholera* with value of MBC 0.3 mg/mL and the best activity were obtained with tannic acid with MIC value of <50ug /mL against *S. typhi* and MBC 0.1 mg/mL against *V. Cholera*.

In this study, we find out that the extract could give higher inhibition to Gram-positive bacteria compared to Gram-negative bacteria (**Table 1**). These results can be explain that Gram-negative microorganisms are typically more resistant to antimicrobial agents than Gram-positive bacteria. This has long been explained by the presence of an outer-membrane permeability barrier in Gram-negative bacteria, which limits access of the antimicrobial agents to their targets in the bacterial cells [28] [29]. In addition, the periplasm contains enzymes that destroy foreign molecules introduced from the outside [30].

Antimicrobial activity that is observed in this study is due to the presence of flavonoids compounds in this extract because flavonoids are known for their antimicrobial activity against a wide range of microorganisms [31] [32] and they are multiple cellular targets and may apply to different components and functions in the bacterial cell [33] [34]. Extracts of various medicinal plants containing phenolics and flavonoids have been previously reported to possess antimicrobial activity [35] [36]. The presence of these compounds might contribute to antimicrobial activity of *P. lentiscus leaves* since **Cushnie et Lamb** [37] reported that flavonoids (kaempferol, myricetin, naringin, quercetin and rutin) have antimicrobial activity against human pathogenic

microorganisms with some mechanisms of action such as inhibition of nucleic acid synthesis, cytoplasmic membrane function by perforation mechanism and energy metabolism [35] [37] [38]. The antimicrobial activity of the flavonoids extract of *P. lentiscus leaves* might be due to one of the mechanisms of action mentioned above.

The results of the present study are quite encouraging as the flavonoids extract exhibited antimicrobial activity against most of the pathogens. However, the antimicrobial activity varies widely, depending on the microorganism.

CONCLUSION

Recently there is a huge interest in the use of plant material as an alternative method to control pathogenic microorganism and antioxidant agents.

This study shows that flavonoids extract of *P. lentiscus leaves* was potent as antimicrobial substances and powerful chelating capacity. It is suggested that could be considered as source of antimicrobial and antioxidant agent which might be applied in pharmaceutical and cosmetic products.

Further studies are needed to purify and investigate the molecular composition of this natural product which constitutes an alternative of the synthetic medicines.

REFERENCES

- [1] Bozorgi M, Memariani Z, Mobli M, Salehi Surmaghi MH, Shams-Ardekani MR, Rahimi R, Five *Pistacia* species (*P. vera*, *P. atlantica*, *P. terebinthus*, *P. khinjuk*, and *P. lentiscus*): A Review of Their Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology, *The Scientific World Journal*, 2013; 1-32.
- [2] Rodríguez-Pérez C, Quirantes-Piné R, Amessis-Ouchemoukh N, Madani K, Segura-Carretero A, Fernández-Gutierrez A, A metabolite-profiling approach allows the identification of new compounds from *Pistacia lentiscus* leaves, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2013; 77:167-174.
- [3] Ali-Shtayah MS, YaghmourReem M-R, Faidi YR, Salem k, Al-Nuri MA, Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area, *Journal of Ethnopharmacology*, 1998; 60:265-271.
- [4] Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O, Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants, *Journal of Ethnopharmacology*, 2003; 88:199-204.
- [5] Jayshree N, Narayanan N, Sriram L, Antibacterial, antifungal and antimycobacterial studies on some synthetic dimethoxy flavones, *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 2012; 5 (1):101-103.
- [6] Chirikova N K, Olennikov DN, Tankhaeva LM, Quantitative Determination of Flavonoid Content in the Aerial Part of Baical Scullcap (*Scutellaria baicalensis* Georgi), *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2010; 36 (7):915-922.
- [7] Maksimović Z, Malencić ND, Kovacević N, Polyphenol contents and antioxidant activity of *Maydis stigma* extracts, *Bioresource Technology*, 2004; 96 (8):873-877.
- [8] Sreenivasan S, Ibrahim D, Kassim MJNM, Free radical Scavenging Activity and Total Phenolic Compounds of *Gracilaria Changii*, *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 2007; 1 (3):115-117.
- [9] Kaur G, Jabbar Z, Athar M, Alam MS, *Punica granatum* (pomegranate) flower extract possesses potent antioxidant activity and abrogate Fe-NTA induced hepatotoxicity in mice, *Food Chemical Toxicology*, 2006; 44:984-993.
- [10] Benhammou N, AlikBenkkara F, Panovska TK, Antioxidant and antimicrobial activities of the *Pistacia lentiscus* and *Pistacia atlantica* extracts, *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2008; 2 (2):022-028.

- [11] Haddouchi F, Lazouni HA, Meziane A, Benmansour A, Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss & Reut, Afrique SCIENCE, 2009; 05(2):246-259.
- [12] Ali NAA, Julich W-D, Kusnick C, Lindequist U, Screening of Yemeni medicinal plants for antibacterial and cytotoxic activities, Journal of Ethnopharmacology, 2001; 74:173-179.
- [13] Bansemir A, Blume M, Schröder S, Lindequist U, Screening of cultivated seaweeds for antibacterial activity against fish pathogenic bacteria, Aquaculture, 2006; 252:79-84.
- [14] Chaouche T, Atik Bekkara F, Haddouchi F, Boucherit Z, Antibacterial activity of different extract of *Echium pycnanthum pommel*, Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 2012; 4(1):216-220.
- [15] Yazdani D, Zainal Abidin M A, Tan YH, Kamaruzaman S, Jaganath IB, Screening of phytochemical from ethnomedicinal plants in Malaysia for use against toxigenic *Aspergillus flavus*, Journal of Medicinal Plants Research, 2012; 6(42):5464-5468.
- [16] Nenaah, Antimicrobial activity of *Calotropisprocera* Ait. (*Asclepiadaceae*) and isolation of four flavonoid glycosides as the active constituents, World Journal Microbiology Biotechnology, 2013; 29:1255-1262.
- [17] Oyeleke SB, Dauda BEN, Boye OA, Antibacterial activity of *Ficuscapensis*, African Journal of Biotechnology, 2008; 7(10):1414-1417.
- [18] Ahameethunisa, Hopper, *In vitro* antimicrobial activity on clinical microbial strains and antioxidant properties of *Artemisia parviflora*, Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials, 2012; 11:30.
- [19] Hamouda Ali I, Doumandji A, Comparative phytochemical analysis and *in vitro* antimicrobial activities of the cyanobacterium *Spirulina platensis* and the green alga *Chlorella pyrenoidosa*: potential application of bioactive components as an alternative to infectious diseases, Bulletin de l'Institut Scientifique, 2017; 39:41-49.
- [20] Ramdan B, Amakran A, Bakrim N, Vannier B, Greche H, Nhiri M, Anti-glycation and radical scavenging activities of hydro-alcohol and aqueous extracts of nine species from *Lamiaceae* family, Journal of Medicinal Plants Studies, 2017; 5(1):331-345.
- [21] Nijveldt RJ, van Nood E, van Hoorn DN, Boelens PG, van Norren K, van Leeuwen PAM, Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, Journal of Clinical Nutrition, 2001; 74:418-425.
- [22] Nickavar B, Kamalinejad M, Izadpanah H, *In vitro* free radical scavenging activity of five *Salvia* species, Pak. J. Pharm. Sci., 2007; 20(4):291-294.
- [23] Wojdyło A, Oszmiański J, Czemerys R, Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs, Food Chemistry, 2007; 105 (3):940-949.
- [24] Hsu B, Coupar IM, NgK, Antioxidant activity of hot water extract from the fruit of the Doum palm, *Hyphaenethebaica*, Food Chemistry, 2006; 98:317-328.
- [25] Zha XQ, Wang JH, Yang XF, Liang H, Zhao LL, Bao SH, Luo JP, Xu YY, Zhou BB, Antioxidant properties of polysaccharide fractions with different molecular mass extracted with hot-water from rice bran, Carbohydrate Polymers, 2009; 78:570-575.
- [26] Moran JF, Klucas RV, Grayer RJ, Abian J, Becana M, Complexes of iron with phenolic compounds from soybean nodules and other legume tissues: Prooxidant and antioxidant properties, Free Radical Biology and Medicine, 1997; 22:861-870.
- [27] Bekara A, Ait Hamadouche N, Kahloula K, Sadi N, Aoues A, Etude phytochimique et activité antioxydante de l'extrait aqueux de *Pimpinella anisum* L., Algerian Journal of Natural Products, 2016; 4 (3):299-307.
- [28] Lacombe A, Wu VCH, Tyler S, Edwards K, Antimicrobial action of the American cranberry constituents; phenolics, anthocyanins, and organic acids, against *Escherichia coli* O157:H7, International Journal of Food Microbiology, 2010; 139:102-107.
- [29] Fertout-Mouri N, Latreche A, Mehdadi Z, Bengherraz Z, Activité antibactérienne de quatre extraits de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale), Bulletin de la Société royale des Sciences de Liège, 2016; 85:253-262.
- [30] Klančnik A, Piskernik S, Jeršek B, Možina SS, Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts, Journal of Microbiological Methods, 2010; 81:121-126.
- [31] Orhan DD, Özçelik B, Özgen S, Ergun F, Antibacterial, antifungal and antiviral activities of some flavonoids, *Microbiological Research*, 2010; 165:496-504.
- [32] Yala J-F, Ntsameso-Mve-Mba V, Azzizet Issembe Y, Lepengue NA, Souza A, Évaluation *in vitro* de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux d'*Eryngium foetidum* récolté dans la ville de France ville, Journal of Applied Biosciences, 2016; 103:9886-9893.
- [33] Rodriguez-Vaquero MJ, Alberto MR, Manca de Nadra MC, Influence of phenolic compounds from wines on the growth of *Listeria monocytogenes*, Food Control, 2007; 18 (5):587-593.
- [34] Boban N, Tonkic M, Modun D, Budimir D, Mudnic I, Davorica Sutlovic D, Punda-Polic V, Boban M, Thermally treated wine retains antibacterial effects to food-borne pathogens, Food Control, 2010; 21(8):1161-1165.
- [35] Cowan MM, Plant products as antimicrobial agents, Clinical Microbiology Reviews, 1999; 12 (4):564-582.
- [36] Benyagoub E, Boulanouar A, Souid Ahmed M, Nebbou N, Bouloufa A, Essai d'évaluation de l'activité antibactérienne de la gomme arabique d'*Acacia tortilis*(Forssk) contre quelques souches bactériennes pathogènes, Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège, 2016; 85:237-252.
- [37] Cushnie TPT, Lamb AJ, Antimicrobial activity of flavonoids, International Journal of Antimicrobial Agents, 2005; 26:343-356.
- [38] Ahmad A, Kaleem M, Ahmed Z, Shafiq H, Therapeutic potential of flavonoids and their mechanism of action against microbial and viral infections-A review, Food Research International, 2015; 77:221-235.

ملخص

ركزت هذه الدراسة على الأنشطة المضادة للميكروبات و المضادات للأكسدة و المضادات للكوكسيديا لمستخلصات أوراق *P. lentiscus* و بذور *T. foenum-graecum* و فصوص *A. sativum*. تم اختبار مختلف المستخلصات لمستويات مركبات الفينول، أظهرت النتائج احتواء أوراق *P. lentiscus* على أعلى نسبة من عديدات الفينول الكلي (0.81±840.39 ميكروغرام مكافئ كاتشين/غ من المستخلص)، و البذغ (1.66±574.33 ميكروغرام مكافئ حمض التانيك/غ من المستخلص) و الفلافونويدات (0.37±278.50 ميكروغرام مكافئ روتين/غ من المستخلص). تم تقييم النشاط المضاد للميكروبات باستعمال تقنية الانتشار على الأغار ضد عشرة سلالات بكتيرية (Gram⁺)، أربع سلالات بكتيرية (Gram⁻)، إثنان أعفان و خميرة. معظم السلالات الميكروبية التي تم اختبارها حساسة لمستخلصات أوراق *P. lentiscus*. و لوحظ وجود نشاط جد هام مضاد للميكروبات للمستخلص الفلافونويدي لأوراق نفس النبات ضد بكتريا *S. aureus* (0.3±18.8 ملم). من ناحية أخرى، تم تحديد التركيز الأدنى للتثبيطي (CMI) و التركيز الأدنى القاتل (CMB) للمستخلصات النشطة المختلفة بطريقة الانحلال في وسط صلب و النتائج أظهرت أن المستخلص الفلافونويدي لأوراق *P. lentiscus* هو الأكثر فعالية تجاه كل من *MRSA* و *V. cholerae* و *C. albicans* بنسبة CMI / CMB من 0.5 / 1 ؛ 0.3 / 0.5 و 0.1 / 5 مغ.م⁻¹ على التوالي. تم تقييم القدرة المضادة للأكسدة باستعمال كل من اختبار جذر DPPH و اختبار القدرة الإرجاعية، النتائج أظهرت امتلاك مستخلصات أوراق *P. lentiscus* لأفضل الأنشطة المضادة للجذور الحرة و الأنشطة الإرجاعية. أثبتت دراسة السمية الحادة للمستخلصات الميثانولية أن أخذ جرعة 2 غ.كغ⁻¹ عن طريق الفم ليست ضارة مقارنة بالشواهد. إعطاء النباتات المختبره مع الغذاء (بذور الضرو 5 غ.كغ⁻¹ و وزن حي) و في مياه الشرب (أوراق الضرو 3 غ.كغ⁻¹ و وزن حي و فصوص الثوم 7 غ.كغ⁻¹ و وزن حي) و إعطاء مستخلصاتها الميثانولية بجرعة 2 غ.كغ⁻¹ أظهر نشاطًا مثيرًا للاهتمام مضادًا لكوكسيديا الدجاج اللحم، تبين ذلك من خلال الوقاية و التقليل في الوفيات و الحد من إنتاج بيوض *E. tenella*. ظهر تغير واضح في المؤشرات الدموية و البيوكيميائية في بلازما دم الدجاج المصاب مقارنة مع الدجاج الشاهد غير المصاب. كما أكدت الدراسة التيسجية المرضية انخفاض حدة التأثير مقارنة بدجاج المجموعة 9 (ITAE) المصابة و المعالجة بالمستخلص الميثانولي لفصوص الثوم و بدجاج المجموعة 2 (INT) المصابة غير المعالجة. كما لوحظ في اليوم 12 و اليوم 21 بعد الإصابة، استعادة هذه المؤشرات لحالتها الطبيعية عند جميع المجموعات المصابة و المعالجة. من هذه النتائج الأولية يمكن تبرير استعمال هذه النباتات في علاج بعض الأمراض التي تسببها الميكروبات و التي يمكن استغلال مركباتها الفينولية لأغراض علاجية، بما في ذلك مضاد للجراثيم.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للكوكسيديا، النشاط المضاد للميكروبات، نشاط مضادات الأكسدة، المركبات الفينولية، الدجاج اللحم.

Résumé

Cette étude a porté sur l'activité antioxydante, antimicrobienne et anticoccidienne des extraits des feuilles de *P. lentiscus*, des graines de *T. foenum-graecum* et des bulbes d'*A. sativum*. Les différents extraits ont été analysés pour leurs teneurs en composés phénoliques et les résultats montrent que les feuilles de *P. lentiscus* sont les plus riches en polyphénols totaux (840,39±0,81 mg Eq Cat/g d'extrait), en tanins (574,33±1,66 mg Eq AT/g d'extrait) et en flavonoïdes (278,50±0,37 mg Eq Rut/g d'extrait). L'activité antimicrobienne a été évaluée par la technique de diffusion sur milieu gélosé *vis-à-vis* de dix bactéries à Gram négatif, quatre bactéries à Gram positif, deux champignons et une levure. La plupart des souches microbiennes testées sont sensibles aux extraits des feuilles de *P. lentiscus*. Une activité antimicrobienne intéressante est notée pour l'extrait flavonoïdique des feuilles de la même plante *vis-à-vis* de *S. aureus* (18,8±0,3 mm). D'autre part, la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) des extraits actifs ont été déterminées par la méthode de dilution en milieu solide et leurs résultats ont montré que l'extrait flavonoïdique des feuilles de *P. lentiscus* est le plus actif à l'égard de *SARM*, *V. cholerae* et *C. albicans* avec des CMI / CMB de 0.5 / 1 ; 0.3 / 0.5 et 0.1 / 5 mg.mL⁻¹, respectivement. La mise en évidence de l'activité antioxydante des extraits a été réalisée par la technique du piégeage du radical libre DPPH et le pouvoir réducteur, les résultats ont montré que les extraits des feuilles de *P. lentiscus* exercent les meilleures activités antiradicalaire et réductrice. L'étude de la toxicité aiguë des extraits méthanoliques révèle qu'ils ne sont pas nocifs lorsqu'ils sont administrés par voie orale à une dose de 2 g.kg⁻¹. L'incorporation des plantes testées dans l'alimentation (graines de *T. foenum-graecum* à 5 g.kg⁻¹ de P.V.) et dans l'eau de boisson (feuilles de *P. lentiscus* à 3 g.kg⁻¹ de P.V. et bulbes d'*A. sativum* à 7 g.kg⁻¹ de P.V.) et l'administration de leurs extraits méthanoliques à 2 g.kg⁻¹ ont montré une activité anticoccidienne intéressante chez le poulet de chair, à travers la prévention de la mortalité et la diminution de l'excrétion d'oocystes induite par *E. tenella*. Les profils hématologiques et biochimiques étaient altérés chez les poulets de chair infectés par rapport aux profils des poulets témoins non infectés. De plus, les lésions histopathologiques étaient moins sévères que chez les poulets du lot 2 (INT) infecté non traité et lot 9 (ITAE) infecté traité avec l'extrait méthanolique des bulbes d'*A. sativum*. A J12 P.-I. et J21 P.-I., le rétablissement de ces paramètres a été définitif pour l'ensemble des lots infectés traités. Ces résultats préliminaires pourraient permettre de justifier l'usage de ces plantes dans le traitement de certaines affections d'origine microbienne et que ses composés phénoliques pourraient être exploités à des fins thérapeutiques, notamment antimicrobiennes.

Mots clés: Activité anticoccidienne, activité antimicrobienne, activité antioxydante, composés phénoliques, poulet de chair.

Abstract

The current study is focused on the antioxidant, antimicrobial and anticoccidial activities of different extracts from the leaves of *P. lentiscus*, the seeds of *T. foenum-graecum* and the bulbs of *A. sativum*. Various extracts were analysed for their phenolic content and the results show that the leaves of *P. lentiscus* show the highest contents in various polyphenols (840.39±0.81 mg CE / g of extract), in tannins (574.33±1.66 mg TAE / g of extract) and in flavonoids (278.50±0.37 mg Rut / g of extract). Antimicrobial activity was studied using disc diffusion method against four Gram positive bacteria, ten Gram negative bacteria, two fungal strains and yeast. The most of the microbial strains tested are sensitive to *P. lentiscus* leaves extracts. An interesting antimicrobial activity is noted for the flavonoid extract of the leaves of the same plant against *S. aureus* (18.8±0.3 mm). On the other side, the minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of active extracts were determined using the dilution method on solid medium and their results showed that the flavonoid extract of *P. lentiscus* leaves is the most active against *MRSA*, *V. cholerae* and *C. albicans* with MICs / MBC 0.5 / 1 ; 0.3 / 0.5 and 0.1 / 5 mg.mL⁻¹, respectively. Antioxidant activity of extracts was evaluated by the methods of scavenging of free radical DPPH and the reducing power, the results showed that *P. lentiscus* leaves extracts exert the best anti-radical and reducing activities. The study of acute toxicity of methanolic extracts reveals that they are not harmful when administered by the oral route to broiler chickens at 2 g.kg⁻¹. The incorporation of the plants tested in the diet (seeds of *T. foenum-graecum* at 5 g.kg⁻¹ body weight) and in the drinking water (leaves of *P. lentiscus* at 3 g.kg⁻¹ body weight and bulbs of *A. sativum* at 7 g.kg⁻¹ body weight) and the administration of their methanolic extracts at 2 g.kg⁻¹ have an interesting anticoccidial activity in broiler chickens, through the prevention of mortality and the reduction of oocyst excretion induced by *E. tenella*. The haematological and biochemical profiles were altered in broilers infected compared to the profiles of uninfected control chickens. In addition, histopathological lesions were less severe than in chickens of group 2 (INT) infected untreated and group 9 (ITAE) infected treated with *A. sativum* methanolic extract. On day 12 and 21 post-infection, the reestablishment of these parameters was final for all of the infected and treated groups. These preliminary results may justify the use of these plants in the treatment of certain microbial diseases and that phenolic compounds may be exploited for therapeutic purposes, especially antimicrobial.

Key words: Anticoccidial activity, antimicrobial activity, antioxidant activity, phenolic compounds, broiler chickens.