



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES FES

DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA VIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

DE

MASTER SCIENCES ET TECHNIQUES

"GESTION & CONSERVATION DE LA BIODIVERSITE"

**Action oocysticide des huiles essentielles et leurs
composés majoritaires *in vitro* / Application *in vivo*
sur la coccidiose sévère de la dinde.**

Présenté par :

Tanghort Mariam

Encadré par :

- Pr. Haloti Said

- Pr. Remmal Adnane

Soutenu le 18 juin 2013, devant le jury composé de :

PR. ELGHADRAOUI LAHCEN	FST-FES	PRESIDENT
PR. HALOTI SAID	FST-FES	ENCADRANT
PR. REMMAL ADNANE	FSDM-FES	ENCADRANT
PR. AZZOUZI AMAL	FST-FES	EXAMINATRICE
PR. BENCHEIKH RACHID	FST-FES	EXAMINATEUR
DR. CHAOUNI ABDELFTTAH	CVC -FES	EXAMINATEUR
DR. HALAOUI MOHAMMED	SOCIETE SAVOB -FES	EXAMINATEUR

Année Universitaire : 2012/2013

Faculté des Sciences et Techniques Fès

B.P. 2202, Route d'Imouzzer FES

☎ 212 (35) 60 80 14 – 212 (35) 60 96 35 📠 212 (35) 60 82 14

www.fst-usmba.ac.ma

Dédicace

Avec un très grand amour et beaucoup de respect, je dédie ce modeste travail :

A ma très chère Mère, pour sa tendresse, son éducation, son assistance et les conseils prodigués tout au long de mes études et du chemin déjà parcouru. Pour tous les sacrifices que tu as consenti pour notre bien-être, et bien plus encore. Je te serai, éternellement reconnaissante et redevable. J'espère toujours me montrer à la hauteur de ton investissement et de tes attentes.

A mon très cher Père, qui m'a tout donné sans retenue et qui m'a tout le temps encouragé avec patience pendant mes longues années d'études, en témoignage de mon affection et ma reconnaissance pour tous les sacrifices qu'il m'a consenti. Aucune dédicace ne saurait, exprimer ma gratitude, mon amour et mon profond respect.

A mes sœurs Malika, Sanae et Fatima-ezzahra, que j'aime plus que tout au monde, et à qui je souhaite une meilleure réussite.

A ma belle sœur Widad, à qui je souhaite le bonheur.

A ma nièce, que Dieu la protège.

A mon frère Tarik, que j'aime, et à qui je souhaite une réussite et une bonne continuation au travail.

A toute ma famille.

A mes collègues étudiants de ma promotion 2013.

A tous mes amis Dina, Ferdaous, Ilham et Meryem

A toutes les personnes qui aiment MARIAM.

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et mes très vifs remerciements à mon professeur encadrant **Said Haloti** enseignant à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant que je travaille sous sa direction. Qu'il me soit permis de lui témoigner ma très haute considération.

Aucun mot ne suffira pour remercier mon professeur **Adnane REMMAL** pour son intérêt, son soutien depuis longtemps. J'exprime au professeur toute ma gratitude et mon profond respect, pour son enseignement, son encadrement, ses conseils précieux, ses qualités humaines qui m'ont permis de travailler dans un cadre agréable et professionnel. J'espère que mon travail sera à la hauteur de sa confiance.

J'adresse mes plus vifs remerciements au responsable de notre Master professeur **Lahcen ELGHADRAOUI**, pour l'enthousiasme avec lequel il nous a orienté durant notre formation. Sa gentillesse et son sens profond de l'humanité m'ont beaucoup impressionné. Je le remercie aussi pour l'honneur qu'il m'a fait en acceptant de présider le jury.

Je remercie vivement Mme **Amal AZZOUZI** professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de juger ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à Mr **Rachid BENCHEIKH** professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, qui a accepté d'être parmi les membres de jury.

Je suis très honorée par la présence de Dr **Abdelfettah CHAOUNI BENABDELLAH**, qui a bien voulu juger ce travail. Je le remercie aussi pour son aide, ses conseils et son orientation au début de mon stage. Je tiens à remercier à travers lui la société UMA volailles pour les dindons fournis afin de réaliser ce travail.

Je voudrais remercier très sincèrement Dr **Mohammed ELHALAOUI** directeur général de la société SAVOB d'avoir accepté d'être parmi les membres de jury de ce travail. Je tiens à remercier à travers lui la société SAVOB pour la quantité d'aliments fournis en vue de réaliser ce travail.

Je n'oublierai jamais l'aide précieuse, les conseils et les encouragements de **Mounia OUKHOUIA** et **Samia EL BAKKALI**, les deux doctorantes du laboratoire durant la réalisation de ce travail.

J'ai eu le plaisir de connaître, au laboratoire de biotechnologie de Fès la compagnie fraternelle et amicale de mesdemoiselles **Aouatef MZABI**, **Hanane CHEFCHAOU** et **Meryem MERZOUK**.

Je ne terminerai pas ces remerciements sans être reconnaissante envers mes autres professeurs qui ont intervenu dans la formation de mon Master durant les deux ans. Ce travail est le fruit de vos enseignements. Trouvez ici l'expression de mon profond respect.

Enfin j'exprime ma reconnaissance à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Résumé

Le but de la présente étude est d'évaluer *in vitro* et *in vivo* la capacité de certaines huiles essentielles (HE) et leurs composés majoritaires de détruire les oocystes d'*Eimeria sp* (*E. meleagrimitis*, *E. adenoides*, *E. gallopavonis*, *E. dispersa*, *E. meleagridis*, *E. subrotunda*, et *E. innocua*) chez la dinde chair.

La première partie de ce travail consiste à tester et à comparer l'activité oocysticide *in vitro* de cinq HE et de deux composés majoritaires, sur un mélange d'oocystes d'*Eimeria sp*. Les résultats obtenus montrent que les HE du thym, d'origan et de l'arbre à thé ainsi que le composé majoritaire thymol sont les plus efficaces.

La deuxième partie consiste à tester *in vivo* le pouvoir anticoccidien du NP1600 sur les oocystes d'*Eimeria sp* chez la dinde chair, dans le but de l'utiliser comme traitement dans l'aliment et dans l'eau de boisson. En comparaison avec les animaux témoins nourris avec l'aliment ne contenant ni anticoccidiens ni antibiotiques, les résultats montrent que le NP1600 est très efficace dans la prévention et le traitement de la coccidiose chez la dinde.

Mots clés : *Eimeria sp*, activité anticoccidienne, effet oocysticide, huile essentielle, composé majoritaire, et dinde chair.

Abstract

The purpose of this study was to evaluate the ability of some essential oils and their major compounds to destroy a mixture of *Eimeria* oocysts *in vitro* and *in vivo* (*E. meleagrimitis*, *E. adenoeides*, *E. gallopavonis*, *E. dispersa*, *E. meleagridis*, *E. subrotunda*, and *E. innocua*) in turkey meat.

The first part of this work is to test and compare the *in vitro* activity of five oocysticidal essential oils and two of their major compounds, to destroy the mixture of oocysts of *Eimeria sp.* The results showed that the essential oils of thyme, oregano and tea tree as well as the major compound thymol are the most effective.

The second part is to test the *in vivo* anticoccidial power of NP1600 on *Eimeria sp* oocysts on broiler turkey, in order to be used as a treatment in their food and drinking water. In comparison with the control, our results showed that the NP1600 is very effective in the prevention and treatment of coccidiosis in broiler turkey

Keywords: *Eimeria sp*, anticoccidial activity, oocysticidal effect, Essential oil, major components and broiler turkey.

Liste des tableaux

Tableau 1: Différentes espèces d' <i>Eimeria</i> chez le poulet.....	8
Tableau 2: Différentes espèces d' <i>Eimeria</i> chez la dinde.....	9
Tableau 3: Autorisations de coccidiostatiques en tant qu'additifs pour l'alimentation animale dans la législation communautaire (2008).....	16
Tableau 4 : Effet de différentes concentrations des HE sur le nombre d'oocystes après 1h.....	26
Tableau 5: Effet de différentes concentrations des HE sur le nombre d'oocystes après 24h.....	26
Tableau 6: Effet de différentes concentrations des composés majoritaires sur le nombre d'oocystes après 1h.....	27
Tableau 7: Effet de différentes concentrations des composés majoritaires sur le nombre d'oocystes après 24 h.....	28
Tableau 8: Effet du traitement par le NP1600 par rapport au témoin.....	34
Tableau 9 : Nombre d'oocystes selon la taille	35
Tableau 10 : Nombre de bactéries dans chaque lot.....	36

Liste des figures

Figure 1: Dindonneaux (SIAM, 2013).....	3
Figure 2 : Cercles de démarrage (MERIAL).....	4
Figure 3 : Dindons (femelles) en période de croissance.....	4
Figure 4 : Dindons males (SIAM ,2013).....	5
Figure 5 : Dindons femelles (SIAM ,2013).....	5
Figure 6 : Cycle évolutif des coccidies (Crevieu et Naciri, 2001).....	10
Figure 7: Diarrhée hémorragique.....	12
Figure 8: Trace du sang.....	12
Figure 9 : Lésions nécrotiques et hémorragiques dans la coccidiose caecale. (Boka, 2006)	13
Figure 10 : Gavage des dindons.....	23
Figure 11 : Mise en contact des oocystes avec des HE à différentes concentrations.....	24
Figure 12 : Diminution du nombre d'oocystes en fonction de la concentration des HE après 1 heure.....	25
Figure 13 : Diminution du nombre d'oocystes en fonction de la concentration des HE après 24 heures.....	26
Figure 14 : Diminution du nombre d'oocystes en fonction de la concentration des composés majoritaires après 1 heures.....	27
Figure 15 : Diminution du nombre d'oocystes en fonction de la concentration des composés majoritaires après 24 heures.....	28
Figure 16 : Effet des traitements par rapport au témoin en fonction du temps.....	34
Figure 17: Nombre d'oocystes en fonction de la taille.....	35
Figure 18: Comparaison du nombre de bactéries entre les lots traités et le témoin.....	36

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE	1
Revue bibliographique	2
I-Données générales sur la dinde	3
1-Historique	3
2- Méthodes de production de dinde type chair	3
a- Démarrage :	3
b- Période de croissance	4
c- Finition et abattage	5
3- Aliment	5
Les caractéristiques du régime alimentaire pour la dinde	5
II-Les maladies de la dinde	6
1-Maladies d'origine bactériennes	6
2-Maladies virales	6
3-Maladies parasitaires	7
III-Coccidiose aviaire	7
1-Définition	7
2-Classification	7
3-Espèces	8
a-Chez le poulet	8
b-Chez le dindon	9
4-Cycle du développement d' <i>Eimeria</i>	9
5-Modalité de contamination	10
6-Symptômes	11
a-Coccidioses aiguës	11
b-Coccidioses chroniques	12
7-Lésions accompagnants la coccidiose	12
a-Lésions macroscopiques	12
b-Lésions microscopiques	13
8-Diagnostic	13
a-Diagnostic clinique	13

b-Diagnostic nécropsique	13
9-Lutte contre les coccidioses	14
a-Traitements anticoccidiens	14
b-La vaccination	15
IV-Utilisation des huiles essentielles dans le secteur avicole.....	18
1-Définition.....	18
2-Répartition botanique	18
3-Toxicité.....	18
4-Mode d'action des huiles essentielles.....	19
Première partie : Etude de l'action oocysticide des huiles essentielles et des composés majoritaires <i>in vitro</i> sur les oocystes d'<i>Eimeria sp.</i>	20
Introduction	21
I-Matériel et méthodes.....	22
1- Les huiles essentielles et leurs constituants	22
2-Dispersion des HE et leurs composés majoritaires.....	22
3-Préparation de la suspension de thymol et de carvacrol.....	22
4-Préparation de la suspension d'oocystes d' <i>Eimeria sp</i> et leur multiplication	22
5-Dénombrement des oocystes	23
6-Effet des huiles essentielles sur le nombre d'oocystes d' <i>Eimeria sp.</i>	24
7-Effet des composés majoritaires : le thymol et le carvacrol sur le nombre d'oocystes d' <i>Eimeria sp.</i>	24
II-Résultats.....	25
1- Effet des HE sur le nombre d'oocystes d' <i>Eimeria sp.</i>	25
2- Effet du thymol et du carvacrol sur le nombre d'oocystes d' <i>Eimeria sp.</i>	27
III-Discussion	29
1- Effet des HE sur le nombre d'oocystes d' <i>Eimeria sp.</i>	29
2- Effet des composés majoritaires sur le nombre d'oocystes d' <i>Eimeria sp.</i>	29
Conclusion :.....	30
Deuxième partie : Evaluation <i>in vivo</i> de l'action du NP1600 sur la coccidiose sévère chez le dindon.	31
A-Matériel et méthodes.....	32
I- Le traitement curatif de la coccidiose	32
1-Les animaux d'expérience	32
2- Traitement utilisé dans l'eau de boisson et dans l'aliment.....	32

3- La description de l'expérience.....	32
4-Le suivi des excréctions d'oocystes	33
II-Dénombrement des germes totaux	33
B-Résultats.....	34
1-traitement curatif :	34
2- Dénombrement des germes totaux	36
C-Discussion.....	37
Conclusion.....	38
Conclusion Générale	40
Perspectives.....	41
Annexes	48

INTRODUCTION GENERALE

Le secteur avicole constitue l'une des activités agricoles les plus dynamiques au Maroc avec un taux d'accroissement moyen sur les trois dernières décennies, d'environ 7,4 % pour la production de viande de volailles et 5,7 % pour la production d'œufs de consommation. Compte tenu de leurs prix relativement bas par rapport aux autres denrées animales, les produits avicoles sont largement consommés et constituent un apport en protéines de choix pour l'amélioration de la sécurité alimentaire.

En 2012, les besoins du Maroc en produits avicoles ont été couverts par une production de 510 milles tonnes de viande de volailles (correspondant à plus de la moitié de la production nationale total en viandes) et 4, 3 milliards d'œufs (FISA 2012).

L'élevage intensif de la volaille a bouleversé les pratiques de l'éleveur et celles du vétérinaire, posant de nouveaux problèmes sanitaires. Parmi les problèmes qui engendrent des pertes consistantes répétées en aviculture, la coccidiose est l'une des préoccupations prioritaires des éleveurs, tant pour la mortalité et la morbidité qu'elle induit que pour les pertes économiques qu'elle engendre. Connue depuis longtemps, elle est difficile à contrôler par de simples mesures sanitaires.

Les plans de prophylaxie médicale sont principalement fondés sur trois moyens de lutte contre cette maladie:

- l'utilisation d'additifs coccidiostatiques dans l'aliment;
- Le traitement anticoccidien systématique au cours de l'élevage;
- Plus récemment la vaccination.

L'objectif de cette étude est de :

- ❖ Mettre au point une composition coccidiocide à base d'huiles essentielles (HE), ou de composés majoritaires purifiés à partir des HE, pouvant représenter une alternative aux anticoccidiens utilisés dans l'aliment.
- ❖ Tester l'efficacité anticoccidienne de notre composition sur des dindons expérimentalement infectés avec une forte charge d'oocystes correspondant aux conditions de la coccidiose sévère.

Revue bibliographique

I-Données générales sur la dinde

L'élevage de la dinde a connu des progrès importants au cours des dernières années. Ceci est dû en partie à la vitesse de croissance élevée de la dinde, à son poids, et à sa masse musculaire développée, ce qui fournit une viande de qualité à moindre coût (Mallak, 2000).

1-Historique

Le dindon dont le nom scientifique est *Meleagris gallopavo*, dérivé du mot latin *gallus* signifiant coq et *pavo* semblable au poulet, appartient à la famille des *Phasianideae* de l'ordre des *Galliformes*. Il est parfois placé dans la sous-famille des *Meleagrididae* (Villate, 1997). Cette espèce est originaire d'Amérique centrale, elle fut introduite en Europe par les Espagnols. L'histoire rapporte que la première dinde était consommée en Europe en 1570 à l'époque de Charles XI en France. Le roi a décidé d'élever la dinde dans la forêt de Saint Germain. La dinde est devenue par la suite un plat pour les nobles français. Ensuite, elle a été importée en Bretagne à travers l'Espagne. Au début du 16^{ème} siècle, la majorité des dindes étaient élevées pour la fête de Noël et jusqu'en 1950, la production se faisait d'une manière traditionnelle (Brant, 1998).

L'élevage industriel de la dinde n'a débuté que durant les années cinquante du siècle dernier avec l'apparition et le développement des techniques de la production et l'expansion du marché des médicaments. A l'heure actuelle, et avec l'instauration de l'insémination artificielle et la sélection d'organismes performantes, la production a considérablement augmenté (Mouhri, 2005).

2- Méthodes de production de dinde type chair

a- Démarrage :

C'est une phase très importante lors de l'élevage de la dinde, elle s'étend jusqu'à six semaines d'âge. Durant cette période les dindonneaux (figure 1) sont très sensibles aux variations de la température et des changements des facteurs d'ambiance.

Les dindonneaux seront confinés quelques jours à un endroit où l'eau, l'aliment et la chaleur correspondent à leurs besoins.

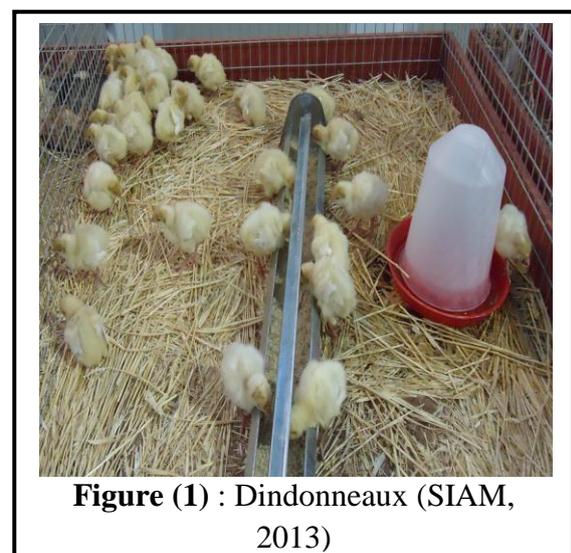


Figure (1) : Dindonneaux (SIAM, 2013)

Ceci est obtenu par l'utilisation de cercle de démarrage (figure 2) qui supporte entre 250 à 350 dindonneaux.

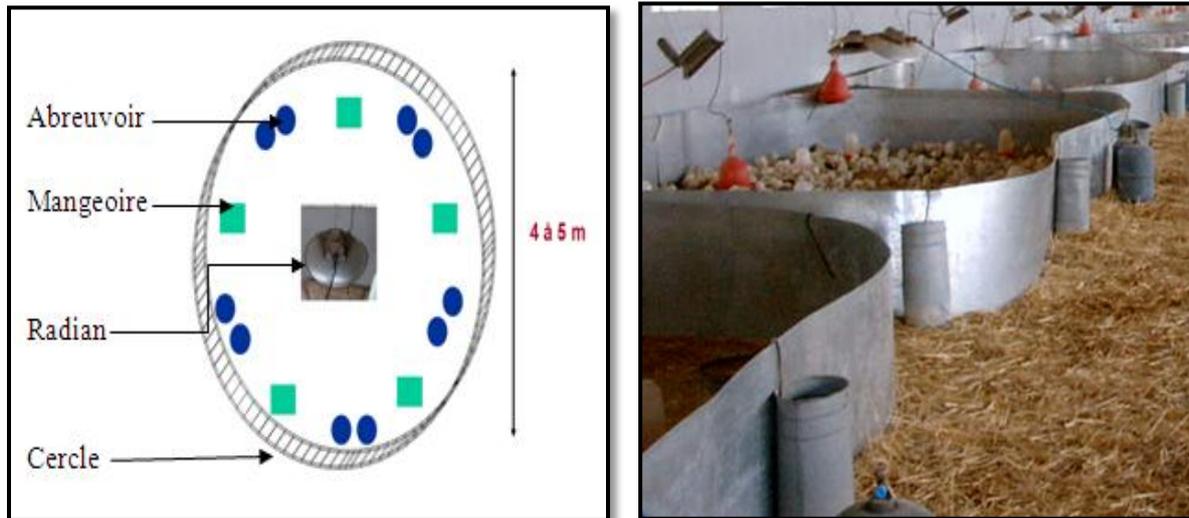


Figure (2): Cercles de démarrage (MERIAL)

b- Période de croissance

Cette période commence vers la 5^{ème} semaine d'âge et s'étend jusqu'à l'âge de 11 à 12 semaines pour les femelles et de 14 à 15 semaines pour les mâles. Les cercles de démarrage sont enlevés et les dindonneaux sont répartis sur tout le bâtiment. La mise en place du matériel d'abreuvement et d'alimentation a été installée et celui du démarrage a été enlevé progressivement (Barkok, 2007). A 10 semaines d'âge la femelle a un poids de 4,81 kg (figure 3) alors que le mâle pèse 6,17 kg.



Figure (3) : Dindons (femelles) en période de croissance.

c- Finition et abattage

La finition est la période entre la phase de croissance et l'abattage des dindes. Elle débute à la 12^{ème} semaine d'âge chez la femelle (figure 5) qui pèse 6-7 kg et à la 15^{ème} semaine chez le mâle (figure 4) avec un poids de 10 à 12 kg.



Figure (4) : Dindons males (SIAM, 2013)



Figure (5) : Dindons femelles (SIAM, 2013)

3- Aliment

Les caractéristiques du régime alimentaire pour la dinde

Les dindes se développent très rapidement et sont capables de convertir les nutriments en une viande de haute qualité. Par conséquent, l'alimentation des dindonneaux doit assurer un apport en nutriments très variable dans le temps afin de les ajuster correctement aux besoins selon les périodes d'élevage (Larbier et Leclercq, 1992). Il y a lieu de souligner deux caractéristiques importantes dans l'alimentation de la dinde:

- Des besoins élevés en protéines, en minéraux et en vitamines;
- Chaque étape caractérisée par un type d'aliment à granulation différente.

Les aliments de démarrage et de croissance sont supplémentés par des additifs anticoccidiens et antihistomonoses.

A partir de la première semaine, la distribution du grit est nécessaire pour limiter les problèmes d'ingestion de paille ou de copeaux de bois. Le grit à distribuer est d'un diamètre de 2 mm jusqu'à 3 semaines d'âge, 4 mm de 4 à 6 semaines d'âge et de 6mm de 6 semaines à l'abattage (Barkok, 2007). (*Le grit est constitué d'un mélange broyé de coquilles d'huîtres,*

fossiles, de pierres de rivière et de charbon de bois. Il favorise une meilleure digestion des aliments consommés par les animaux).

II-Les maladies de la dinde

La dinde est une espèce particulière. En plus de ses particularités anatomiques et physiologiques, elle présente des réactions variables vis-à-vis des agents infectieux. En effet, la dinde est très sensible à un grand nombre de pathologies et elle manifeste des symptômes et des lésions très sévères par rapport aux autres espèces (poulet).

1-Maladies d'origine bactériennes

Chez la dinde plusieurs bactéries ont un pouvoir pathogène, en provoquant des perturbations de l'équilibre physiologique et une altération de l'état de santé. Selon l'ordre d'importance et de sévérité d'infection, la dinde peut être infectée par :

- Salmonelloses dont l'agent causal est *Salmonella gallinarum*, *S.pollurum*, *S.arizonae*,
- Colibacillose l'agent causal est *Escherichia coli* ;
- Mycoplasmoses l'agent causal est *Mycoplasma gallisepticum*, *Mycoplasma synoviae*;
- Choléra aviare l'agent causal est *Pasteurella multocida*;
- Enteritencrotique l'agent causal est *Clostridium perfringens*;
- Ornithobacteriose l'agent causal est *Ornithobacterium rhinotracheale*;
- Coryza infectieux l'agent causal est *Avibacterium paragallinarum*;
- Riemerellose l'agent causal est *Riemerella anapestifer*....

2-Maladies virales

Les virus sont des agents très diversifiés et très pathogènes pour la dinde. Certains d'entre eux peuvent provoquer des lésions et symptômes très graves et même des pertes importantes. Les maladies suivantes sont les pathologies dominantes à étiologie virale chez la dinde :

- Newcastle;
- Rhinotracheite;
- Influenza;
- Entérite hémorragique;
- Hépatite virale;
- Variole;
- Infection à Rotavirus....

3-Maladies parasitaires

Elles touchent particulièrement les jeunes en provoquant des maladies parfois mortelles. Les maladies les plus importantes sont :

- Les parasites internes provoqués par *Hétérakis gallinarum* et *Ascaridia galli*;
- Les parasites externes provoqués par les puces et les poux;
- Les coccidioses provoquées par *Eimeria meleagrimitis*, *E. adenoides*,... ;
- Les histomonoses provoqués par *Histomonas meleagridis*;
- La syngamose provoqués par *Syngamus trachealis*;
- Les capillariose provoqués par *Capillaria. Obsignata*, *C. caudinflata*, et *C. contorta*.

III-Coccidiose aviaire

1-Définition

La coccidiose est une maladie parasitaire infectieuse, transmissible, contagieuse. Ce protozoaire digestif est du à la multiplication, dans les cellules de la muqueuse de l'intestin ou des cæcums de coccidies pathogènes spécifiques de la famille des Eimeriidés. Elle est caractérisée cliniquement par les différentes formes: les formes graves se traduisent par des troubles digestifs mais il existe également des formes sub-cliniques qui se traduisent par des baisses de production et ont une incidence économique (Chermette et Buissera, 1992).

2-Classification

La classification d'*Eimeria*, (Levine et coll., 1980), (Kreier et coll., 1987).

Règne : Protistes, organisme, eucaryotes, unicellulaires;

Embranchement : Protistes, hétérotrophes;

Sous-embranchement : Apicomplexa, protozoaires parasites intracellulaires obligatoires ;

Classe : Sporozoasida, absence de flagelles chez les sporozoïtes;

Sous classe : Coccidiasina, localisation intracellulaire, hôtes vertébrés;

Ordre : Eucoccidiorida, multiplication asexuée par mérogonie ;

Famille : Eimeriidae, développement à l'intérieur de cellules épithéliales. La sporulation est exogène;

Genre : *Eimeria*, les oocystes sporulés contiennent quatre sporocystes renfermant chacun deux sporozoïtes.

3-Espèces

Les espèces d'*Eimeria* ont été identifiées en fonction de leur localisation intestinale, des lésions induites et de la taille de leurs oocystes. D'autres paramètres comme la durée de sporulation et la forme des oocystes (ovoïde, ellipsoïde, sub-sphérique ou circulaire), peuvent aider à la détermination des espèces de coccidies.

a-Chez le poulet

Neuf espèces d'*Eimeria* spécifiques du poulet, ont été distinguées (tableau 1) dont deux sont des pathogènes majeurs *E. necatrix* ; *E. tenella* (Ruff et coll., 1977).

Tableau (1): Différentes espèces d'*Eimeria* chez le poulet.

Espèce	Localisation	Période prépatente	Longueur largeur d'oocyste (µm)	Forme de l'oocyste	Degré de la pathogénicité
<i>E. necatrix</i> (Johnson, 1930)	partie moyenne de l'intestin grêle	138 heures	20,4 /17,2	Sub globuleux Ovoïde	Pathogènes majeurs
<i>E. tenella</i> (Railliet et coll., 1891)	cæcums	115 heures	22,0 /19,0	Ovoïde	
<i>E. brunetti</i> (Levine, 1942)	intestin grêle, caecum et rectum	120 heures	24,6 /18,8	Ovoïde	Très pathogène mais rare
<i>E. maxima</i> (Tyzzer, 1929)	jéjunum	121 heures	30,5 /20,7	Ovoïde	Moyennement pathogènes mais très fréquentes
<i>E. acervulina</i> (Tyzzer, 1929)	duodénum, 1 ^{er} tiers du grêle	96 heures	18, 3 /14,6	Ovoïde	
<i>E. mitis</i> (Tyzzer, 1929)	1 ^{ère} moitié de l'intestin grêle	93 heures	15,6 /14,2	Sub globuleux	Peu ou pas pathogènes
<i>E. praecox</i> (Johnson, 1930)	duodénum	83 heures	21, 3 /17,1	Ovoïde	
<i>E. hagani</i> (Levine, 1938)	duodénum	7 jours	19 /17	Ovoïde	
<i>E. mivati</i> (Edgar, 1964)	duodénum et intestin grêle	4-5 jours	16 /13	Ovoïde	

b-Chez le dindon

Sept espèces d'*Eimeria* peuvent toucher la dinde (tableau 2) dont trois sont les plus pathogènes et les plus rencontrées dans les élevages : *Eimeria meleagrimitis*, *Eimeria adenoeide* et *Eimeria gallopavonis* (Hein, 1969 ; Joyner, 1973).

Tableau (2): Différentes espèces d'*Eimeria* chez la dinde.

Espèce	Localisation	Période prépatente	Longueur largeur d'oocyste (µm)	Forme de l'oocyste	Degré de la pathogénicité
<i>E. meleagrimitis</i> (Tyzzer, 1929)	Tout l'intestin grêle	103 heures	19,2 /16,3	Ellipsoïde	Très pathogènes
<i>E. adenoeides</i> (Moore et Brown, 1951)	Caeca, iléon terminal et rectum	103 heures	25,6 /16,6	Ovoïde	
<i>E. gallopavonis</i> (Hawkins, 1952)	l'iléon, le rectum et les caeca	105 heures	27,1 /17,2	Ellipsoïde	Pathogène
<i>E. dispersa</i> (Tyzzer, 1929)	duodénum, intestine grêle	120 heures	26,1 /21,0	Ovoïde	Moyennement pathogènes
<i>E. meleagridis</i> (Tyzzer 1927)	caeca, rectum	110 heures	24, 8 /18,1	Ellipsoïde	
<i>E. subrotunda</i> (Moore, rown et Carter 1954)	duodénum, jéjunum et haut de l'iléon.	95 heures	21,8 /19,8	Sub-sphérique	Peu ou pas pathogènes
<i>E. innocua</i> (Moore et Brown, 1952)	Intestine grêle	114 heures	22, 4 /20,9	Sub-sphérique	

4-Cycle du développement d'*Eimeria*

Les coccidies ont un cycle de développement biphasique (figure 6) avec une phase extérieure à l'hôte (phase de résistance et de dissémination) et une phase intérieure à l'hôte (phase de multiplication et de reproduction). Pendant la phase de résistance et de dissémination, l'oocyste va résister aux conditions du milieu extérieur et se transformer en éléments infestants par sporulation. Cette sporulation se fait à la faveur des conditions favorables d'humidité et de température et conduit à la formation de quatre sporocystes contenant chacun deux sporozoïtes. L'ingestion des oocystes mûrs (oocystes sporulés) par l'hôte sensible amorce la deuxième phase, au cours de laquelle les oocystes mûrs libèrent dans l'intestin des sporozoïtes. Ces derniers pénètrent à l'intérieur des entérocytes et s'y multiplient de façon asexuée: c'est la schizogonie qui conduit à la formation des schizontes doués d'un

pouvoir de division rapide. Les mérozoïtes, libérés des schizontes mûrs, pénètrent activement dans d'autres cellules et recommencent un nouveau cycle asexué, ou se différencient en gamètes: c'est la gamogonie.

Après la fécondation, les zygotes s'entourent d'une coque et forment ainsi les oocystes qui sont libérés dans la lumière intestinale et excrétés avec les fientes.

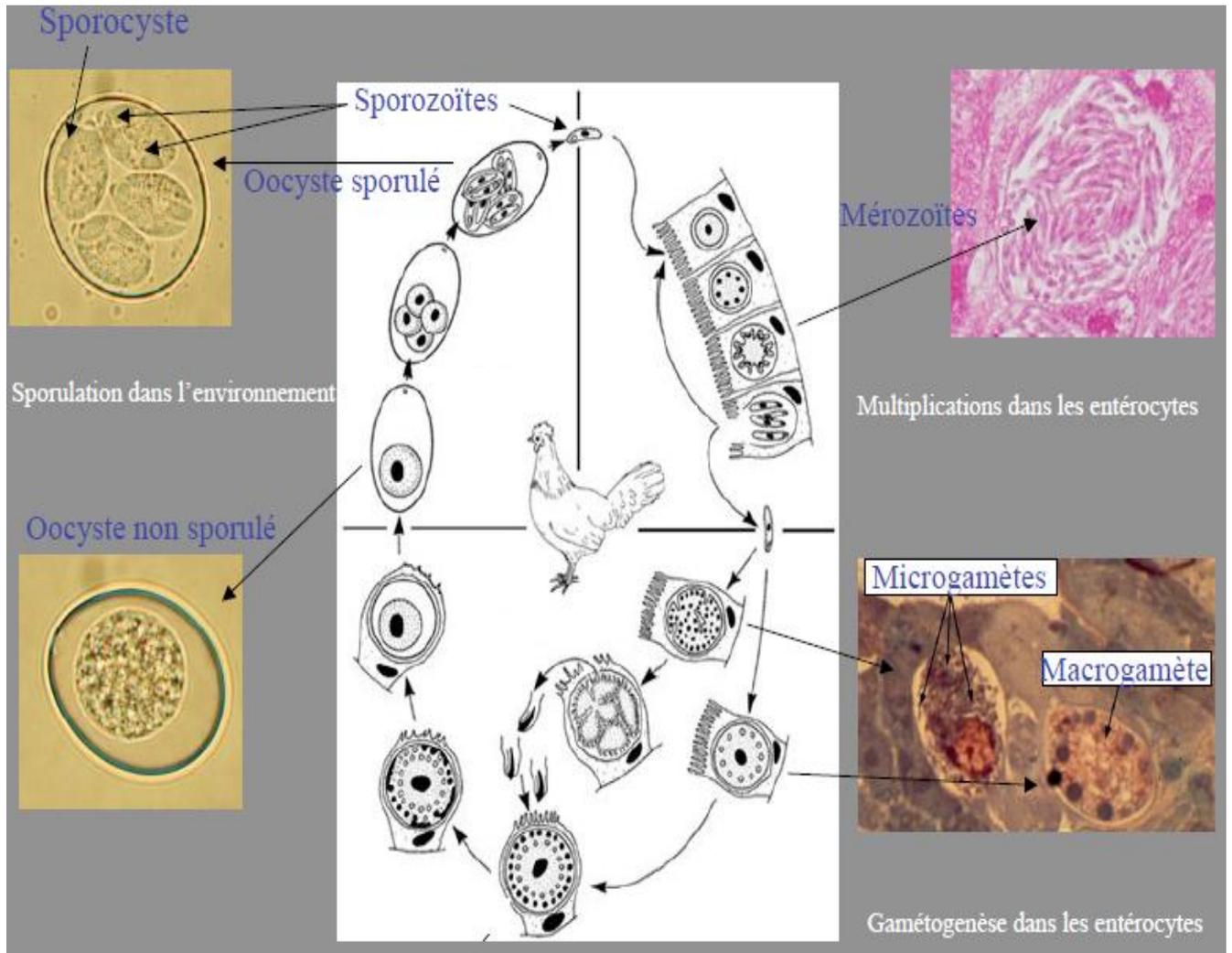


Figure (6) : Cycle évolutif des coccidies chez le poulet (Crevieu et Naciri, 2001).

5-Modalité de contamination

Les parasites peuvent être disséminés de différentes manières :

- Par les animaux parasités (pigeons et tout oiseau sauvage) ;
- Par le personnel de l'élevage, pouvant véhiculer sur ses chaussures des débris de litière ou des fèces contaminés,
- Par l'intervention d'insectes coprophages.

La pérennité de la contamination est assurée par la grande résistance de l'oocyste dans un milieu favorable, puis au sein de la nouvelle bande (*nouvelle bande : c'est la mise en place des poussins d'1 jour, qui vont être élevés jusqu'à l'enlèvement pour l'abattage.*). Au contact d'un animal réceptif, le parasite se multipliera, sera excréte en grand nombre et pourra contaminer tout le parquet.

Les oocystes sont donc toujours présents dans un poulailler pour trois raisons : le parasite est résistant, le milieu est favorable et l'animal est réceptif.

6-Symptômes

Suivant les espèces de coccidies en cause, l'âge des oiseaux et le mode d'élevage, on peut observer deux formes de coccidioses : les coccidioses aiguës et les coccidioses chroniques.

a-Coccidioses aiguës

Elles sont surtout observées chez les jeunes, fortement infestés, et ne recevant pas de coccidiostatiques dans l'alimentation puis les adultes stressés ou affaiblis par d'autres maladies aussi bien en élevage industriel qu'en élevage traditionnel. (Boka, 2006).

❖ *La coccidiose caecale hémorragique* : elle peut apparaître sur les animaux de 2 à 3 semaines (Villate, 2001). Les oiseaux sont frileux, tristes, en boules et font une diarrhée très hémorragique (figures 7 et 8) puis meurent en 2 à 5 jours. Les oiseaux, qui survivent après 8 jours, guérissent et demeurent sans valeurs économiques (Fortineau et Troncy, 1985).



Figure (7): Diarrhée hémorragique



Figure (8) : Trace du sang

❖ *La coccidiose intestinale* : a une symptomatologie plus frustrée que la précédente. Elle entraîne une perte de l'appétit, un amaigrissement, une pâleur de la crête et des barbillons (signe d'anémie), des symptômes de la paralysie locale et une diarrhée jaunâtre parfois sanguinolente. La morbidité et la mortalité dépendent de l'espèce en cause (Villate, 2001).

b-Coccidioses chroniques

Elles sont dangereuses parce qu'elles sont souvent occultes. Observées en général chez les sujets âgés, elles se traduisent cliniquement par un abattement, un appétit capricieux, une diarrhée intermittente de mauvaise odeur. Les dindons ont donc un retard de la croissance, parfois une paralysie, une pâleur de la crête et des barbillons et une chute de ponte chez les pondeuses (Boka, 2006).

7-Lésions accompagnants la coccidiose

a-Lésions macroscopiques

Elles sont observées à l'autopsie et varient en fonction des espèces de Coccidies. Au cours de la coccidiose chronique, en plus des lésions d'entérite, des lésions hépatiques peuvent être observées et elles apparaissent comme des points miliaires blanchâtres ou grisâtres. Dans les cas des coccidioses aigus, par exemple dans la coccidiose caecale, les lésions sont nécrotiques et hémorragiques (Meklati, 2003) (figure 9).



Figure (9): Lésions nécrotiques et hémorragiques dans la coccidiose caecale (Boka, 2006).

b-Lésions microscopiques

Elles se traduisent par une nécrose intestinale et une atrophie des villosités intestinales. Les lésions observées, dans la forme aiguë, sont dominées par des phénomènes vasculaires (congestion, œdèmes et hémorragies) (Boka, 2006).

8-Diagnostic

a-Diagnostic clinique

Il est facile et basé sur l'observation des signes cliniques. Il peut se confirmer aisément à l'examen coprologique (Belot et Pangu, 1986).

b-Diagnostic nécropsique

Il repose sur l'autopsie qui a pour but de rechercher les lésions de coccidioses et de faire des prélèvements pour des examens microscopiques (des produits de raclage de la muqueuse intestinale et des fragments d'intestins). Ces examens permettent de mettre en évidence soit la présence d'oocystes de coccidie, soit des lésions caractéristiques de la coccidiose (nécrose, hémorragie, coccidies dans la muqueuse intestinale). Par ailleurs, les lésions observées peuvent faire l'objet d'une classification selon la technique de Johnson et Reid (1970) qui consiste à attribuer un score, sur une échelle de 0 à 4 à chacune des portions de l'intestin suivant le degré de sévérité de l'inflammation provoquée par les parasites, l'épaississement de la muqueuse intestinale et l'état de digestion du contenu intestinal.

Ces scores sont utilisés en routine pour le diagnostic des coccidioses, l'évaluation de l'efficacité des anticoccidiens, et l'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.

- 0 pas de lésion ;
- 1 légère lésion ;
- 2 lésion moyenne ;
- 3 lésion sévère ;
- 4 sévère ou mortelle.

9-Lutte contre les coccidioses

Aucune mesure sanitaire ne permet de contrôler parfaitement ce parasitisme. Les coccidioses restent un problème majeur en élevage avicole. L'industrialisation a pris en compte des critères de rentabilité et a augmenté les possibilités de développement du parasite et de contamination des animaux. Par opposition à ce qui précède, les méthodes de lutte ne sont pas totalement efficaces mais elles peuvent réduire la pression parasitaire.

a-Traitements anticoccidiens

Le traitement est basé sur l'utilisation d'une gamme variée d'anticoccidiens, dont on peut citer deux groupes :

❖ Les coccidiocides : qui détruisent les coccidies pendant leur développement (Diclazuril, Toltrazuril, Dinitolmide et ionophores) (Manger, 1991 et Fowler, 1995).

Les sulfamides sont les plus utilisés, soit seuls, soit associés à d'autres médicaments tels que l'amprolium et les pyrimidines (Saville, 1999). Ils sont utilisés, de préférence, dans l'eau de boisson mais ils peuvent aussi être ajoutés dans l'aliment.

Bien que le traitement soit efficace, des cas de résistance et de toxicité ont été souvent observés (Fowler, 1995 ; Peek et coll., 2003 ; Abbas et coll., 2011a).

❖ Les coccidiostatiques : sont des substances chimiques qui stoppent ou inhibent la croissance des coccidies tout en permettant une infection latente après retrait des médicaments. Ils sont de deux types: les produits de synthèse et les anticoccidiens ionophores

(des substances qui contiennent un groupe polyéther et sont produites par fermentation avec plusieurs souches de *Streptomyces spp.* et d'*Actinomadura spp.*).

Actuellement, la réglementation Internationale a interdit l'usage d'un grand nombre de produits chimio-thérapeutiques pour des raisons de risque de toxicité pour le consommateur ou pour l'environnement (Story et Doube, 2004 ; Kosal et Anderson, 2004). Les autorisations actuelles, limitées dans le temps, expirent entre 2009 et 2017. Les informations contenues dans ces autorisations sont résumées au tableau (3).

❖ Problèmes de toxicité

Bien que les anticoccidiens soient efficaces contre la coccidiose, les ionophores ne sont pas sans danger pour la volaille. A des doses supérieures à celles recommandées par les fabricants, ils entraînent des intoxications importantes. Le plus souvent, ces intoxications apparaissent suite à des erreurs lors de leur administration (Zouzoua, 1990). La toxicité du "monensin" a été plus fréquemment signalée, car il est le plus ancien et le plus utilisé chez la volaille. Ainsi, son utilisation, à des doses croissantes, a entraîné des problèmes d'anorexie, de diarrhée, d'amaigrissement et de faiblesse musculaire. Cette toxicité se présente également sous forme d'une congestion généralisée des viscères et d'une atteinte cardiaque.

b-La vaccination

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

❖ des vaccins vivants virulents : contre les coccidioses du poulet et du dindon (*Coccivac* et *Immucox* respectivement aux Etats-Unis et au Canada). Ils sont interdits en France; car ils sont composés de souches virulentes et leur utilisation risque d'introduire des coccidioses.

❖ des vaccins vivants atténués: Il s'agit de vaccins tels que *Paracox*®-8, *Paracox*®-5 et *Livacox*®. Le *Paracox*®-8 (8 souches d'*Eimeria*) est destiné aux volailles à vie longue; tandis que le *Paracox*®-5, récemment mis sur le marché, est réservé au poulet de chair (Boka, 2006).

Tableau 3: Autorisations de coccidiostatiques en tant qu'additifs pour l'alimentation animale dans la législation communautaire (2008).

Noms des produits	Titulaire de l'autorisation	Date de l'autorisation	Fin de la période d'autorisation	Espèces cibles	D.A	LMR
Décoquinat (Deccox)	Alpharma AS	2004	17/07/2014	Poulets d'engraisement	3 jours	---
Monensin- sodium (Elancoban)	Eli Lilly and Company Limited	2004	30/07/2014	Poulets, poulettes destinées à la ponte, et dindes < 16 semaines	3 jours	25 µg/kg : Peau et graisse 8 µg/kg : foie, rein et muscle
Monensin-sodium (Coxidin)	Huvepharma NV Belgium	2007	06/02/2017	Poulets et dindes < 16 semaines	3 jours	25 µg/kg : Peau + graisse 8 µg/kg : foie, rein et muscle
Chlorhydrate de Robénidine (Cycostat)	Alpharma (Belgium) BVBA	2004	29/10/2014	Poulets, dindes et lapins	5 jours	---
Lasalocid sodium (Avatec)	Alpharma (Belgium) BVBA	2004	20.8.2014	Poulet poulettes destinées à la ponte (< 16 semaines)	5 jours	20 µg/kg: muscle; 100 µg/kg: peau, graisse et foie 50 µg/kg :rein 150 µg/kg :oeufs
		1999	30.9.2009	Dindes (< 12 semaines)		
Salinomycine sodium (Sacox)	Huvepharma NV	2004	21.8.2014	Poulets d'engraisement	1 jour	---
		2003	11.11.2013	Poulettes destinées à la ponte < 12 semaines	---	---
		2001	31.5.2011	Poulets d'engraisement	5 jours	5 µg/kg : tous les tissus

Maduramicine Ammonium (Cygro)	Alpharma AS	1999	30/09/2009	Poulets d'engraissement	5 jours	---
		2001	15.12.2011	Dinde<16 semaines		
Diclazuril (Clinacox)	Janssen Animal Health BVBA	2003	20.1.2013	Poulettes destinées à la ponte<16 semaines		
		2001	28.2.2011	Dinde<16 semaines		
		1999	30.9.2009	Poulets d'engraissement		
Salinomycine sodium (Salinomax)	Alpharma (Belgium)	2005	22/04/2015	Poulets d'engraissement	1 jour	5 µg/kg tous les tissus
Narasin Nicarbazine (Maxiban)	Eli Lilly and Company Ltd	1999	30.9.2009	Poulets d'engraissement, dindes d'engraissement	5 jours	---
Semduramicine sodium (Aviax)	Phibro Animal Health,	2006	20.10.2016	Poulets d'engraissement	5 jours	---

D.A : Délai d'attente

LMR : Limites maximales de résidus

IV-Utilisation des huiles essentielles dans le secteur avicole

L'interdiction en Europe d'un certain nombre d'additifs en production animale (facteurs de croissance antibiotique, coccidiostats, antihistomoniques, ...) a conduit à rechercher des alternatives à ces molécules. Différentes stratégies sont possibles, en particulier l'utilisation des extraits végétaux, plus connues sous le terme de « Phytothérapie », dans le traitement de maladies avicole.

1-Définition

Les huiles essentielles sont des produits de composition généralement complexe, qui renferment des principes volatiles contenus dans les végétaux et qui sont plus au moins modifiés au cours de la préparation (Grosmond, 2001). Ces différents extraits ne sont pas forcément d'aspect huileux. Ce sont des mélanges de molécules variées, comprenant en particulier des terpènes et des composés oxygénés.

2-Répartition botanique

Les HE sont largement réparties dans le règne végétal. Certaines familles en sont particulièrement riches : Conifères, Myrtacées, Ombellifères, Labiées (Boulos, 1983 et Sauvage, 1974). Elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries, écorce, racines, fruit, bois,...etc. Dans une même plante, elles peuvent être présentes dans différents organes. La composition des HE peut alors varier d'un organe à l'autre (Paris et Hurabielle, 1981).

3-Toxicité

En règle générale, les huiles essentielles ont une toxicité aiguë faible ou très faible par voie orale: une DL50 comprise entre 2 et 5 g/kg pour la majorité des huiles couramment utilisées (anis, eucalyptus, girofle, etc.) ou le plus fréquemment supérieure à 5 g/kg (camomille, citronnelle, lavande, marjolaine, vétiver, etc.) ; d'autres ont une DL50 inférieure à 1g/kg : l'essence de moutarde (0.34 g/kg) ; les essences d'origan et de la sarriette (1.37 g/kg) ; les huiles essentielles du basilic, de l'estragon et de l'hysope (1.5 ml/kg). Tandis que la toxicité chronique est assez mal connue (Bruneton, 1999; Benzeggouta, 2005).

4-Mode d'action des huiles essentielles

Les HE sont connues pour avoir un pouvoir antiseptique puissant. Certaines d'entre elles, comme celles provenant de la sarriette (*Satureia montana*) du ¹ *Revue bibliographique* présentent une activité antibactérienne marquée à faible dose. Elles sont actives contre les champignons et les parasites et certaines ont parfois une activité antivirale (Franchomme et Penoel, 1990 ; Mazet, 2007).

❖ Histomonose : *Histomonas meleagridis*

Plusieurs études ont été réalisées sur *H. meleagridis*. Les HE obtenues à partir de feuilles de cannelle de Chine (0,5µl/ml), du péricarpe de fruits de citronnier (1µl/ml) et de bulbes d'ail (1µl/ml) ont une action « létale » sur *H. meleagridis* (Zenner et coll., 2003). Récemment, une nouvelle étude a été réalisée sur différents isolats d'*H. meleagridis*, de *Tetratrichomonas gallinarum* et de *Blastocystis*. Différents composants naturels ont été testés *in vitro* (le carvacrol, l'huile de *Cassia*, une saponine *Quillaja saponaria*) et des différences de létalité ont été observées sur les différents isolats d'*H. meleagridis* (Grabensteiner et coll., 2007).

❖ Coccidiose : *Eimeria sp*

De nombreuses méthodes alternatives aux anticoccidiens sont proposées en pratique, telles que l'homéopathie, la phytothérapie et l'aromathérapie (Répérant 2001), et utilisées en particulier dans les élevages biologiques.

➤ La bétaine : qui est un sous-produit de l'industrie de la betterave sucrière, a fait récemment l'objet de plusieurs travaux aux USA et en Suède. Elle semble avoir un effet positif dans la lutte contre les coccidioses. Ainsi, en Suède (Waldenstedt et coll., 1999) l'addition de bétaine à l'aliment réduit la perte de gain de poids durant une infection par un mélange de différentes espèces coccidiennes aussi bien intestinales que caecales.

➤ Artémisinine, issue de l'armoise amère ordinaire (*Artemisia annua*). Une équipe coréenne montre que les extraits d'*Artemisia annua* améliorent le gain de poids, l'efficacité alimentaire, et diminuent les lésions lors d'une infection par *E. tenella* (Oh et coll., 1995).

➤ Origan : Les huiles essentielles d'*Origanum vulgare* sont connues pour leurs actions anti-bactériennes (Hammer et coll., 1999) et aussi contre certains parasites (Milhau et coll., 1997 ; Giannenas et coll., 2003 ; Bona et coll., 2012). Elles seront en particulier bénéfiques pour les animaux souffrant de coccidiose.

Première partie :

**Etude de l'action oocysticide des huiles essentielles et
des composés majoritaires *in vitro* sur
les oocystes d'*Eimeria sp.***

Introduction

Au cours de sa vie, la volaille de type chair est soumise à diverses infections bactériennes, virales et parasitaires. La coccidiose est la plus redoutable parmi toutes les maladies. Elle est répandue dans tous les élevages. En dépit du progrès de la chimiothérapie et de l'amélioration de la gestion des élevages, de la prévention et du traitement, cette maladie demeure un problème majeur auquel les éleveurs doivent faire face (Saadé, 2005).

Jusqu'à l'année 2003, l'aviculture moderne a utilisé des anticoccidiens dans les aliments à titre préventif. Ce traitement prophylactique est à l'origine de plusieurs problèmes:

- Toxicité rénale et hépatiques de certains anticoccidiens (ionophores) (Abbas *et coll.*, 2012)
- Développement de la résistance des oocystes (Abbas *et coll.*, 2011) ;
- Résidus dans la chair des animaux présentant un danger pour la santé du consommateur (Saadé, 2005) ;
- Accroissement important du coût de revient (Doussou *et coll.*, 2009);
- Pollution de l'environnement (eau, sol). (Story et Doube , 2004 ; Kosal et Anderson, 2004).

Par conséquent, il est nécessaire et urgent de trouver d'autres solutions afin de lutter contre les coccidioses aviaires en dehors des produits chimio-thérapeutiques, d'où l'intérêt de la présente étude.

L'objectif de cette partie est d'évaluer:

- L'efficacité *in vitro* de 5 huiles essentielles de familles chimiques différentes sur *Eimeria sp.*
- L'effet sur *Eimeria sp* des composés majoritaires présents dans les huiles essentielles ayant montré la meilleure activité.

I-Matériel et méthodes

1- Les huiles essentielles et leurs constituants

Cinq HE ont été utilisées dans ce premier chapitre : l'HE du thym (*Thymus vulgaris*), l'HE du romarin (*Rosmarinus officinalis.*), l'HE d'origan (*Origanum compactum*), l'HE d'armoise (*Artemisia absinthium*) et l'HE d'arbre à thé (*Melaleuca alternifolia*). Elles sont fournies par Mentholindia.

Deux composés majoritaires ont été utilisés : le thymol et le carvacrol, tous les deux faisant partie des constituants des HE de thym et d'origan. Ces deux composés ont été fournis par FLUKA.

2-Dispersion des HE et leurs composés majoritaires

Les HE sont d'abord dispersés à la concentration 1/10ème préparée en ajoutant 100 µl d'HE à 900 µl d'une solution stérile, légèrement visqueuse d'agar-agar à 0,2 % (Remmal et coll., 1993).

Les concentrations finales des agents anticoccidiens étudiés :(0,3 mg/ml ; 0,5 mg/ml ; 1 mg/ml ; 2 mg/ml), sont obtenues par addition de volumes variables d'HE ou composé majoritaire à partir de la solution mère (10%) à différents volumes d'agar-agar 0,2%.

3-Préparation de la suspension de thymol et de carvacrol

Le thymol commercialisé sous forme de poudre cristallisée est solubilisé dans un bain-marie à 50°C puis, mis en émulsion à une concentration de 10% dans une solution de 0,2% d'agar (solution mère).

Le carvacrol est dispersé à la concentration 1/10ème préparée en ajoutant 100 µl de carvacrol à 900 µl d'une solution stérile, légèrement visqueuse d'agar-agar à 0,2 % (Remmal et coll., 1993).

4-Préparation de la suspension d'oocystes d'*Eimeria sp* et leur multiplication

Les excréments frais ont été prélevés à partir des échantillons de dindons de type chair souffrant de la coccidiose. Ces derniers sont fournis par la société UMA Volailles) (région de Fès). Les fèces ont été purifiés par flottation dans une solution saturée (333g de chlorure de

sodium et 200g de sucrose dans 1 litre d'eau distillée (Shirley, 1995)), ensuite ils ont été filtrés 2 fois à travers un tamis fin.

Un nombre d'oocystes compris entre 50 et 320.10^8 oocystes est inoculé par gavage (figure 10) à des dindons âgés de 47 jours en vue de les multiplier dans l'organisme de l'animal et provoquer ainsi la coccidiose. Cette opération a été répétée chaque jour pendant un mois.

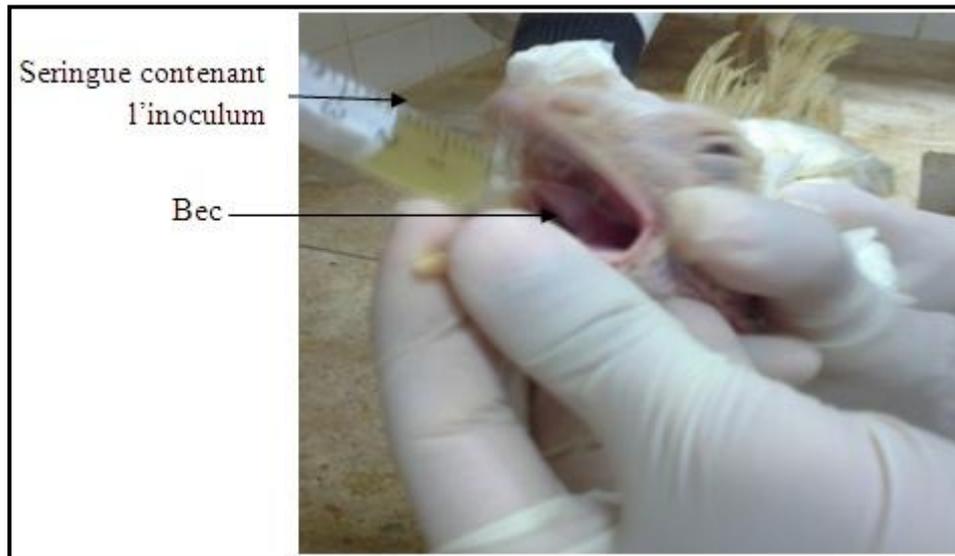


Figure (10) : Gavage des dindons

5-Dénombrement des oocystes

Les oocystes ont été dénombrés sous microscope à l'aide d'une cellule de Malassez. Le comptage du nombre d'oocystes par carré moyen a été fait en respectant les caractéristiques de la lame utilisée (surface : $0,0025 \text{ mm}^2$, profondeur : $0,2\text{mm}$). Le grossissement utilisé est de 40 x. Les oocystes d'*Eimeria sp.* ont été comptés dans 10 champs de vue en utilisant des standards (Ryley et coll., 1976), et le nombre moyen d'oocystes d'*Eimeria sp.* par millilitre d'échantillon a été calculée selon la formule suivante :

$N = (n / V) \times f$ avec :-n : nombre d'oocystes comptées.

-V : volume de dilution.

-f : facteur de dilution.

-N : nombre d'oocystes par millilitre.

6-Effet des huiles essentielles sur le nombre d'oocystes d'*Eimeria sp.*

Dans des tubes eppendorfs, 25 μl d'oocystes (le nombre d'oocyste est compris entre 1,9 et 2,2 $10^{10}/\text{ml}$) ont été mis en contact direct avec 40 μl d'HE à diverses concentrations (0 ; 1/3000=0,3mg/ml; 1/2000=0,5mg/ml; 1 /1000=1mg/ml; 1/500=2mg/ml) afin de déterminer l'activité anticoccidienne, dans un volume final de 200 μl (Remmal et *coll.*, 2011) Le schéma suivant (Figure 11) montre la préparation de différentes concentrations des HE. Les expériences ont été faites en triplicate en vue de déterminer la valeur moyenne.

Les DL_{50} seront déduites des histogrammes par détermination de la concentration à laquelle le nombre d'oocystes était égal à la moitié du nombre initial.

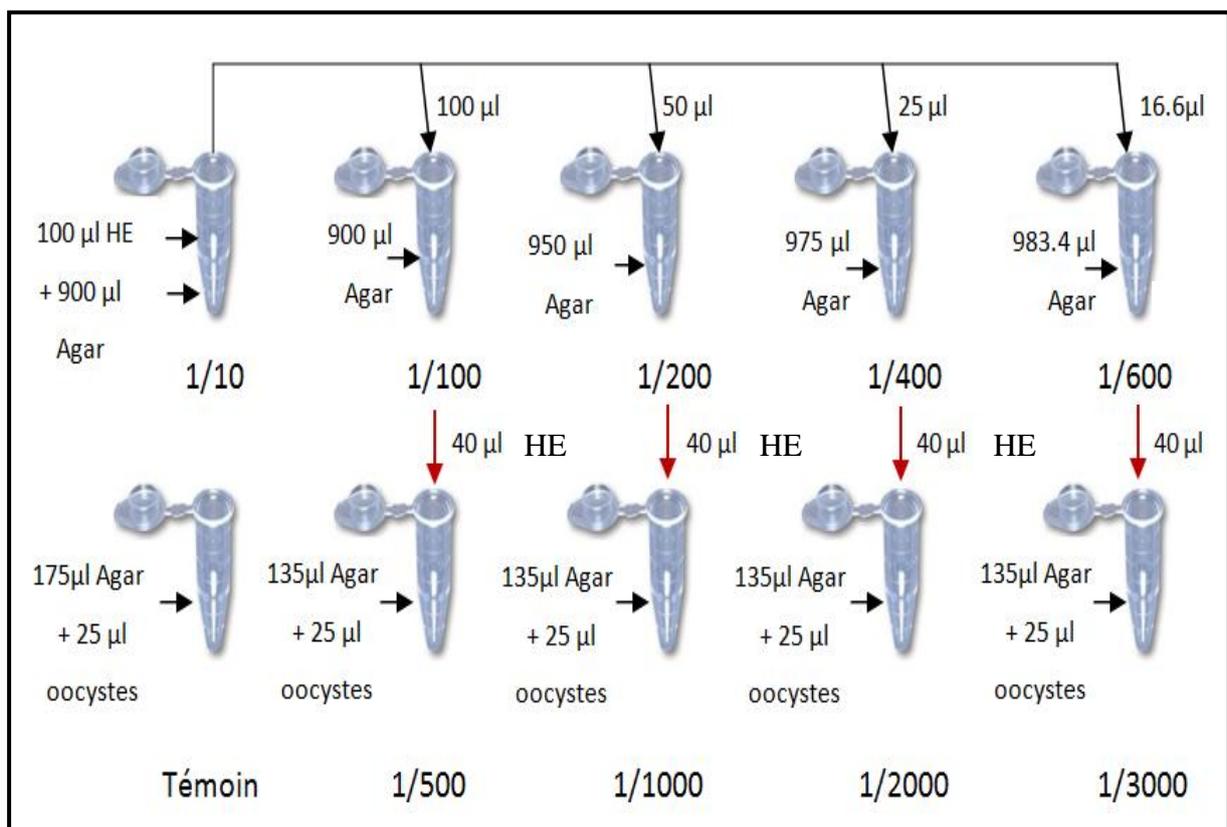


Figure (11) : Mise en contact des oocystes avec des HE à différentes concentrations.

7-Effet des composés majoritaires : le thymol et le carvacrol sur le nombre d'oocystes d'*Eimeria sp.*

De la même manière, le thymol et le carvacrol, ont été mis en contact direct avec 25 μl d'oocystes à diverses concentrations (0 ; 1/3000 = 0,3mg/ml; 1/2000 = 0,5mg/ml; 1 /1000 = 1mg/ml; 1/500 = 2mg/ml) afin de déterminer l'activité anticoccidienne, dans un volume final de 200 μl (Remmal et *coll.*, 2011).

II-Résultats

1- Effet des HE sur le nombre d'oocystes d'*Eimeria sp.*

Les cinq HE testées montrent une diminution progressive du nombre d'oocystes en parallèle avec l'augmentation de la concentration d'HE après un traitement d'une heure (figure 12 et tableau 4) puis de 24 heures (figure 13 et tableau 5), d'une manière dose-dépendante à une concentration comprise entre 0,3 et 2 mg/ml. L'HE du thym suivie par celle d'origan et l'HE de l'arbre à thé semblent être les plus efficaces. Les HE de l'armoise et du romarin sont moyennement efficaces.

➤ Résultat après une heure de traitement:

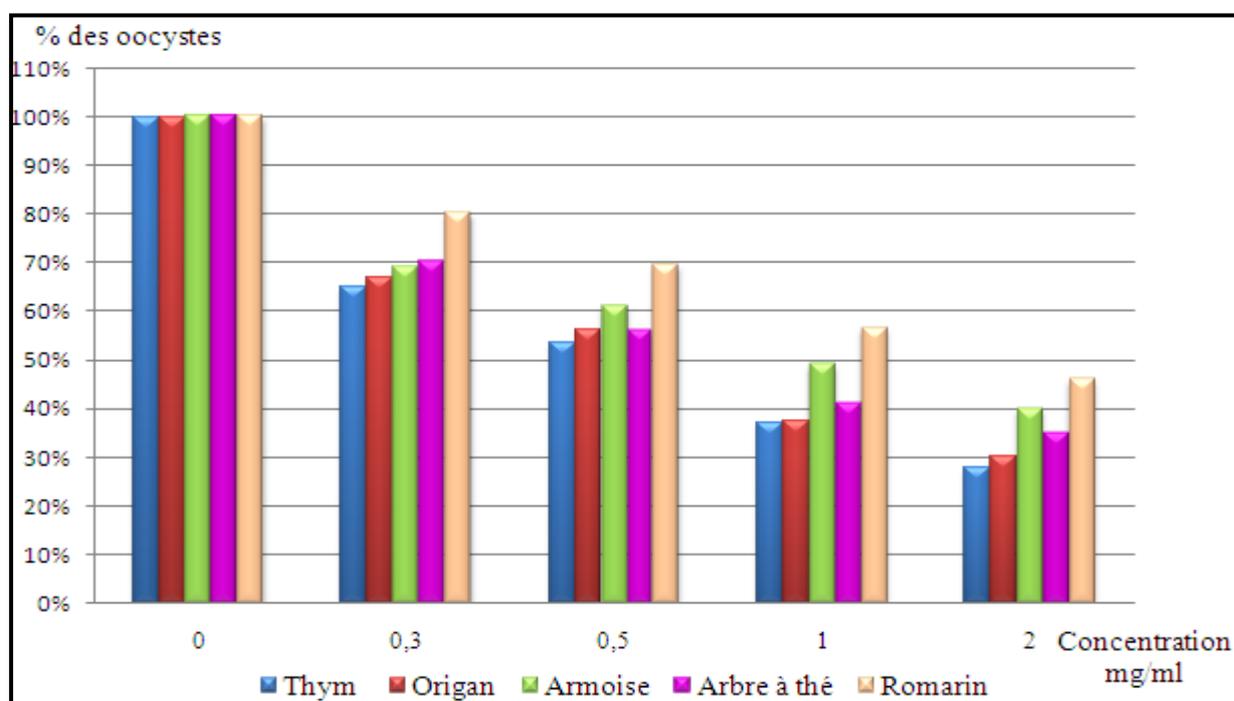


Figure (12) : Diminution du nombre d'oocystes en fonction de la concentration des HE après une heure.

Tableau (4) : Effet de différentes concentrations des HE sur le nombre d’oocystes après une heure.

Concentration des HE mg/ml	0	0,3	0,5	1	2
Pourcentage d’oocystes restants					
Thym	100%	(65 ± 3)%	(53.50± 3.3)%	(37 ± 1.7)%	(28 ± 2.4) %
Origan	100%	(67 ± 3.7)%	(56 ± 4)%	(37.5 ± 2.7)%	(30 ± 1.3)%
Armoise	100%	(69 ± 2.6)%	(61 ± 2.5)%	(49 ± 2.3)%	(40 ± 3.9)%
Arbre à thé	100%	(70 ± 2.1)%	(56 ± 3.5)%	(41 ± 3.5)%	(35 ± 2.2)%
Romarin	100%	(80 ± 2.6)%	(69.5 ± 4)%	(56.5 ± 2.5)%	(46 ± 3.3)%

➤ Résultat après 24 heures de traitement:

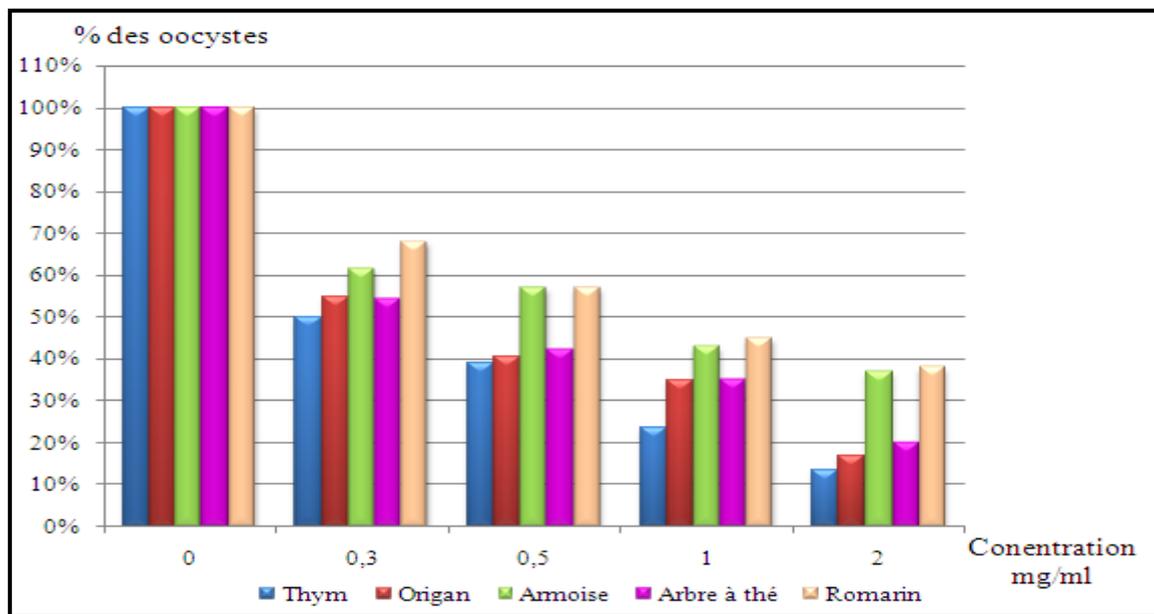


Figure (13) : Diminution du nombre d’oocystes en fonction de la concentration des HE après 24 heures.

Tableau 5: Effet de différentes concentrations des HE sur le nombre d’oocystes après 24heures.

Concentration des HE mg/ml	0	0,3	0,5	1	2
Pourcentage d’oocystes restants					
Thym	100%	(50 ± 3.5 %)	(39 ± 2.4%)	(23,5 ± 1.5)%	(13,5 ± 0.5)%
Origan	100%	(55 ± 2.9%)	(40,5 ± 2%)	(35 ± 2.8)%	(17 ± 1.2)%
Armoise	100%	(61,5 ± 2.9)%	(57 ± 1.7%)	(43 ± 4) %	(37 ± 0.8)%
Arbre à thé	100%	(54,5 ± 2.6)%	(42,5 ± 1.3)%	(35 ± 3.5)%	(20 ± 1.5)%
Romarin	100%	(68 ± 3.9)%	(57 ± 2.9)%	(45 ± 0,6)%	(38 ± 2.3) %

2- Effet du thymol et du carvacrol sur le nombre d’ocystes d’*Eimeria* sp.

Les deux composés majoritaires testés montrent que le nombre d’ocystes diminue progressivement en parallèle avec l’augmentation de la concentration, d’une manière dose-dépendante à une concentration comprise entre 0,3 et 2 mg/ml, après traitement d’une heure (figure 14 et tableau 6) puis de 24 heures (figure 15 et tableau 7).

➤ Résultat après une heure de traitement:

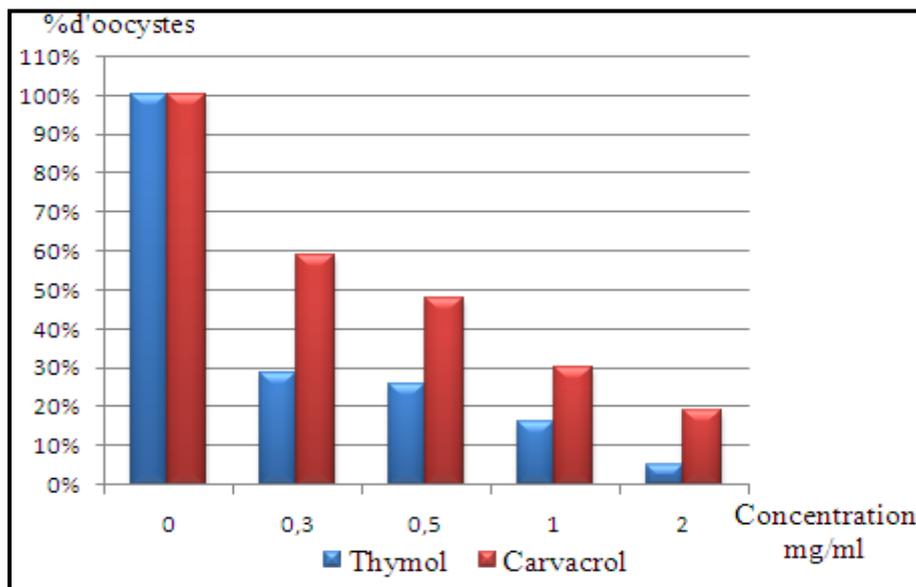


Figure (14) : Diminution du nombre d’ocystes en fonction de la concentration des composés majoritaires après une heure.

Tableau 6: Effet de différentes concentrations des composés majoritaires sur le nombre d’ocystes après une heure.

Concentration des composés majoritaires mg/ml	0	0,3	0,5	1	2
Pourcentage d’ocystes restants					
Thymol	100%	(28,5 ± 1.8)%	(26 ± 1.6)%	(16 ± 1.2)%	(5 ± 1.3)%
Carvacrol	100%	(59 ± 2.1)%	(48 ± 0.9)%	(30 ± 0.4)%	(19 ± 2)%

➤ Résultat après 24 heures de traitement:

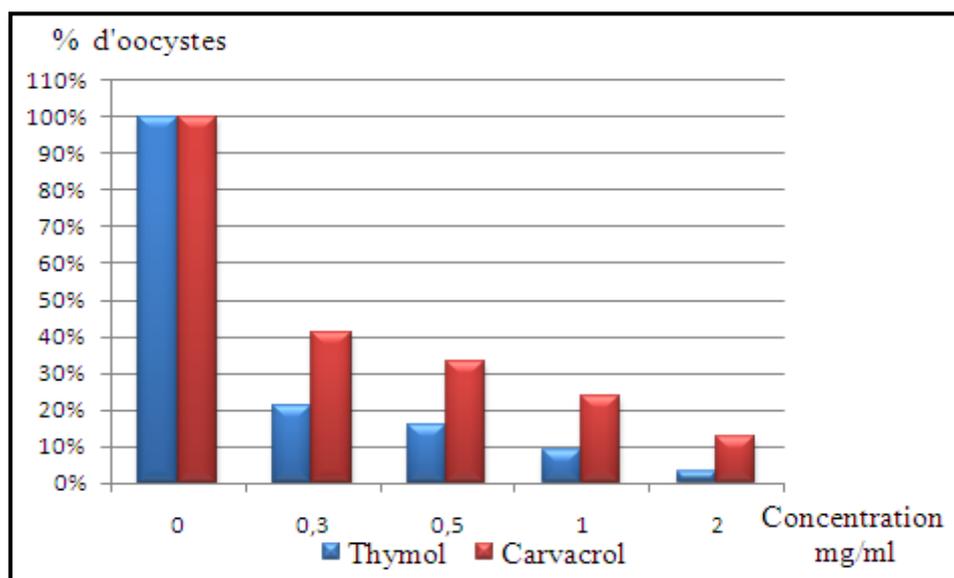


Figure (15) : Diminution du nombre d'oocystes en fonction de la concentration des composés majoritaires après 24 heures.

Tableau 7: Effet de différentes concentrations des composés majoritaires sur le nombre d'oocystes après 24 heures.

Concentration des composés majoritaires mg/ml	0	0,3	0,5	1	2
Pourcentage d'oocystes restants					
Thymol	100%	(21 ± 0.7%)	(16 ± 0.6%)	(9 ± 1.5%)	(3 ± 0.3 %)
Carvacrol	100%	(41 ± 2.1%)	(33 ± 1.2%)	(23,5 ± 1.3%)	(12,5 ± 0.3%)

III-Discussion

1- Effet des HE sur le nombre d'oocystes d'*Eimeria sp.*

D'après les résultats obtenus, toutes les HE testées sont capables de détruire les oocystes d'*Eimeria sp* ($DL_{50} < 1$ mg/ml). Les trois HE les plus coccidiocides étaient l'HE de thym suivie par celles de l'origan et de l'arbre à thé. Ces trois HE sont bien connues pour leur pouvoir antiparasitaire à très faible dose (Arczewska et coll., 2012). A notre connaissance notre laboratoire a été le premier à décrire l'activité oocysticide *in vitro* de ces HE sur des espèces d'*Eimeria* isolées des poulets de chair (Remmal et coll., 2011). Par ailleurs l'HE de l'armoise, très réputée pour son activité antiparasitaire n'a montré qu'un effet moyen sur les oocystes (62 % de réduction après 24 heures).

L'observation microscopique des oocystes traités par les HE montre une destruction totale de ces oocystes de telle sorte qu'on arrive à observer que quelque débris d'oocystes vidés et déformés. Sachant que les oocystes représentent une forme de résistance de ce parasite, que même les acides et les détergents les plus forts n'arrivent pas à détruire.

2- Effet des composés majoritaires sur le nombre d'oocystes d'*Eimeria sp.*

Le thymol et le carvacol, les composés majoritaires des HE du thym et de l'origan, ont été choisis afin de tester leurs activités sur les oocystes d'*Eimeria sp* isolées chez la dinde.

Ces deux composés majoritaires possèdent un effet oocysticide à faibles doses (79% de réduction d'oocyste après 24h pour le thymol, et 59 % pour le carvacrol après 24h).

Des études récentes menées *in vivo* ont montré l'activité anticoccidienne du thymol et du carvacrol ainsi que le maintien de l'intégrité intestinale, (Greathead et coll., 2006; Silva et coll., 2009). Ces deux composés majoritaires ont été utilisés en tant qu'additifs alimentaire pour la volaille (Lee et coll., 2004 ; Luna et coll., 2010). Les deux composés ont une toxicité très faible avec une DL_{50} par voie orale d'environ 1 à 3g/kg de poids corporel et par 24 heures (Lee et coll., 2003)

Notre laboratoire, à la recherche du mécanisme d'action oocysticide des HE et des composés majoritaires, a montré une lyse des oocystes provoquant la libération du contenu intracellulaire absorbant à 273 nm. Le matériel absorbant à 273 nm est probablement constitué d'acides aminés aromatiques et de nucléotides (Remmal et coll., 2011 ; Remmal et coll., 2013).

Conclusion :

Les résultats obtenus indiquent que les cinq HE et les deux composés majoritaires testés peuvent détruire les oocystes d'*Eimeria sp* isolées de la dinde. Parmi ces HE, celles de thym et d'origan ont un effet destructeur des oocystes à des concentrations particulièrement faibles. Les composés majoritaires de ces HE, carvacrol et thymol ont un effet oocysticide à des concentrations encore plus faibles.

L'efficacité de ces HE et leurs composés majoritaires à faible concentration pourrait avoir des avantages significatifs au cas où ils seraient utilisés pour traiter le bétail contre la coccidiose car leur forte efficacité à faible concentration permettrait d'avoir une bonne appétence, un faible coût, moins de toxicité et moins de résidus.

Sur la base de ces résultats, nous avons mis au point une composition stable contenant des principes actifs oocysticides et des excipients permettant leur stabilité, leur solubilité, et une bonne biodisponibilité au niveau intestinal. Cette composition a été brevetée et sera bientôt disponible sur le marché sous l'appellation NP1600 (Natural Promotor 1600).

Deuxième partie :

Evaluation *in vivo* de l'action du NP1600

sur la coccidiose sévère chez le dindon.

A-Matériel et méthodes

I- Le traitement curatif de la coccidiose

Cette expérience a été effectuée pour déterminer si le traitement avec le NP1600 serait actif dans la réduction des effets de l'infection par *Eimeria* (*E. meleagrimitis*, *E. adenoides*, *E. gallopavonis*, *E. dispersa*, *E. meleagridis*, *E. subrotunda* et *E. innocua*) chez la dinde.

1-Les animaux d'expérience

L'étude a porté sur un effectif de 9 dindons femelles, type chair, amenés à l'animalerie du laboratoire, à l'âge de 47 jours. Elles ont été fournies par la société UMA volaille Fès. L'essai a duré 45 jours (j47- j92). Les animaux sont restés dans l'animalerie jusqu'à l'âge de 77 jours avant de commencer l'expérience. Elles ont été inoculées (50 et 320 x 10⁸ oocystes) par gavage chaque jour pendant 30 jours afin de provoquer la coccidiose.

2- Traitement utilisé dans l'eau de boisson et dans l'aliment

Le produit utilisé a pour appellation commerciale NP1600 fabriqué par la société LIPAV (Laboratoire Industriel de Produits Agricoles et Vétérinaires, Casablanca). Le NP1600 est utilisé dans une proportion de 2Kg /Tonne lorsqu'il est rajouté à l'aliment et 1kg /1000L d'eau lorsqu'il est rajouté à l'eau de boisson.

3- La description de l'expérience

Les dindons infectés expérimentalement, sont répartis à l'âge de 77 jours en 3 lots de 3 dindons chacun.

Lot 1: témoin Animaux infectés non traités, ils ont été nourris par l'aliment industriel exempt des anticoccidiens et des antiparasitaires, fournis par la société SAVOB-Fès (Annexe 1);

Lot 2: Animaux infectés traités pendant 15 jours au NP1600 dans l'aliment;

Lot 3 : Animaux infectés traités par NP1600 dans l'eau de boisson pendant 15 jours. Ces animaux ont consommé un aliment blanc.

Les animaux avaient un accès libre à l'aliment et à l'eau de boisson pendant toute la durée de l'expérience. Les fèces ont été prélevés toutes les 48 heures pour voir l'effet des traitements sur les oocystes d'*Eimeria sp.*

4-Le suivi des excréments d'oocystes

Des prélèvements de fientes de chaque animal, ont été effectués tous les 48 heures afin de suivre l'effet de traitement sur le nombre d'oocystes excrétés. Les fientes sont purifiées par flottation dans une solution saturée (333g de chlorure de sodium et 200g de sucrose dans 1 litre d'eau distillée (Shirley, 1995)), ensuite filtrés 2 fois à travers un tamis fin, puis comptés à l'aide de la cellule de Malassez.

Le comptage des oocystes dans les fèces lors du dernier prélèvement a été effectué en fonction de leur taille, afin d'évaluer l'effet sur les oocystes de grande taille et de petite taille :

- Les oocystes de petite taille sont *E.meleagrimitis*, *E. innocua* et *E. subrotunda* ;
- Les oocystes de grande taille comprennent *E. adenoeides*, *E. meleagridis*, *E. gallopavonis* et *E. dispersa*.

II-Dénombrement des germes totaux

Dans les tubes à essais, un gramme de fientes de chaque animal est suspendu dans 9 ml d'eau physiologique stérile (9g NaCl/ litre d'eau distillée). La suspension a subi une série de dilutions en cascade allant de 10^{-1} jusqu'à 10^{-9} . Après un test préliminaire, il a été décidé d'utiliser la dilution 10^{-6} . Le dénombrement des bactéries est effectué par le dépôt de 100 μ l de la dilution 10^{-6} à la surface d'une boîte de Pétri contenant 20 ml de milieu nutritif gélosé "Plate Count Agar" (PCA) (Annexe2). Après incubation à 37 °C pendant 48 h, les germes totaux sont dénombrés, et les résultats sont exprimés en nombre d'Unités Formant Colonie (UFC).

B-Résultats

1-traitement curatif :

Les traitements de la coccidiose (chez les lots 2 et 3) dans l'aliment ou bien dans l'eau de boisson, montrent qu'il y'a une diminution progressive du nombre d'ocystes en fonction du temps. Après 15 jours de traitement, plus de 80% d'ocystes ont été détruit (figure 16 et tableau 8), avec une supériorité intéressante de l'action oocysticide au traitement dans l'eau de boisson par rapport au traitement dans l'aliment. Au contraire on note une augmentation remarquable du nombre d'ocystes le lot témoin en fonction du temps, elle dépasse 50%.

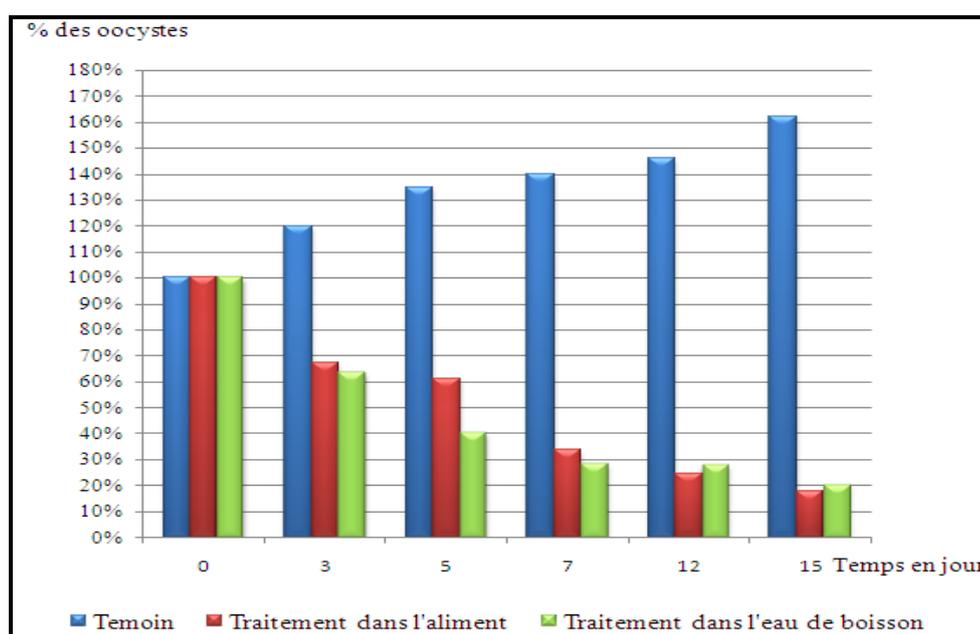


Figure (16) : Effet des traitements par rapport au témoin en fonction du temps sur le nombre d'ocystes.

Tableau 8 : Effet du traitement par le NP1600 par rapport au témoin

	J0	J3	J5	J7	J12	J15
Les lots	Pourcentage d'ocystes restants					
Témoin	100%	(120 ± 3)%	(135 ± 1) %	(140 ± 2)%	(146±4)%	(162 ± 3)%
Traitement dans l'aliment	100%	(67,5 ± 6)%	(61 ± 4) %	(33,75 ± 6)%	(24,75±3)%	(18 ± 6)%
Traitement dans l'eau de boisson	100%	(63,5 ± 8)%	(40,5 ± 7) %	(28,5 ± 9)%	(28 ± 3)%	(20,5 ± 7)%

➤ Résultat du comptage en fonction de la taille des oocystes :

D'après le comptage, une diminution très importante jusqu'à la disparition (0,5-1%) des oocystes de grande taille a été observée chez les deux lots traités. Au contraire chez le lot témoin 50% des oocystes de grande taille a été observée (figure 17 et tableau 9). Donc le traitement effectué dans l'aliment ou bien dans l'eau de boisson est capable à diminuer les oocystes est plus particulièrement les oocystes de grande taille.

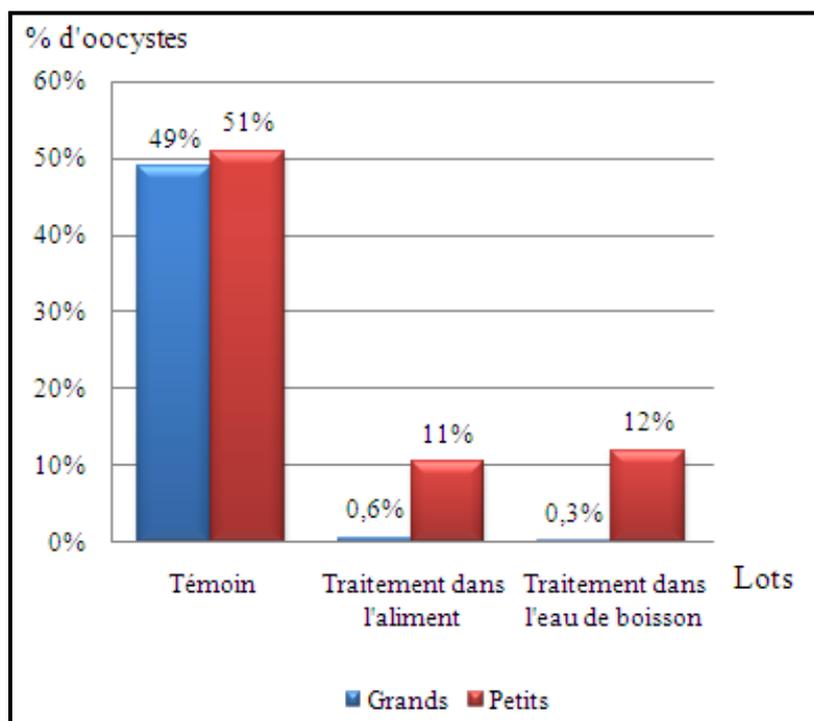


Figure (17): nombre d'oocystes excrétés en fonction de la taille à j 15 (T : témoin, A : Traitement dans l'aliment et E.B : Traitement dans l'eau de boisson)

Tableau 9 : nombre d'oocystes excrétés selon la taille à j 15

Lots d'animaux	Témoin	Traitement dans l'aliment	Traitement dans l'eau de boisson
Pourcentage des oocystes			
Grands	(80 ± 4)%	(1 ± 0)%	(0,5 ± 0)%
Petits	(82,5 ± 6)%	(17 ± 5)%	(20 ± 3)%

2- Dénombrement des germes totaux

Les résultats du dénombrement des germes totaux dans la flore intestinale ont décelé la présence d'un nombre très élevé de germes par gramme de fèces autour de $9,9 \cdot 10^9$ UFC/g chez le lot témoin, de $1,4 \cdot 10^9$ UFC/g chez le lot traité dans l'aliment et $4,8 \cdot 10^8$ UFC/g chez le lot traité dans l'eau de boisson (figures 18 et tableau 12). Donc le traitement dans l'eau de boisson est plus efficace pour faire baisser les germes totaux dans la flore intestinale.

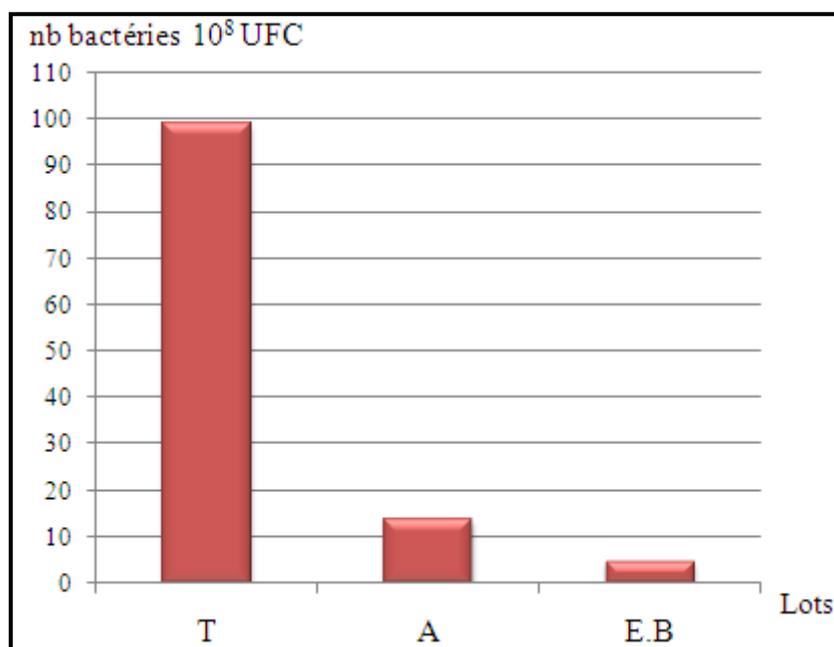


Figure (18): Comparaison du nombre de bactéries entre les lots traités et le lot témoin. (T : témoin, A : Traitement dans l'aliment et E.B : Traitement dans l'eau de boisson)

Tableau 10 : Nombre de bactéries dans chaque lot

Lots d'animaux	Témoin	Traitement dans l'aliment	Traitement dans l'eau de boisson
Nombre de bactéries 10^8 /UFC	$(99 \pm 7,4)$	$(14 \pm 1,8)$	$(4,8 \pm 0,7)$

C-Discussion

Les conditions sanitaires des élevages, sont assez difficiles du fait que les programmes anticoccidiens combinent les molécules chimiques et la vaccination. Dans ce cadre l'utilisation d'extraits de végétaux est une voie à explorer, afin d'éviter les conséquences dues à l'utilisation excessive de ces molécules en les incluant dans l'aliment.

Le comptage des oocystes dans les fèces fraîches des animaux, montre une réduction très importante chez les lots traités, que le traitement soit incorporé dans l'aliment ou bien dans l'eau de boisson et ce, en comparaison avec le lot témoin chez qui le nombre d'oocystes a augmenté avec le temps (plus de 50%). Les oocystes de grande taille sont les plus éliminés par le traitement, dont deux sont pathogènes *Eimeria adenoeides* et *Eimeria gallopavonis*.

Le comptage des germes totaux dans les fèces après le traitement par le NP1600 a été effectué. La flore intestinale est plus faible chez le lot dont le traitement est incorporé dans l'eau de boisson que chez le lot traité via l'aliment. Les animaux du lot témoin ont une flore intestinale plus importante que les deux lots traités. L'analyse de ces résultats montre l'activité antimicrobienne de la composition NP1600 puisqu'elle permet de réduire la flore intestinale.

D'autres auteurs (Hume et *coll.*, 2006 ; Oviedo-Rondo'n et *coll.*, 2006) ont rapporté que des mélanges spécifiques d'HE semblent être efficaces dans la modulation des communautés microbiennes intestinales mieux que l'ionophore monensin.

Les travaux de Kroismayr et *coll.*, 2007 comparant un mélange d'HE d'origan, l'anis, et pelures d'agrumes avec un antibiotique stimulateur de croissance chez des animaux infectés de la coccidiose. Ils ont noté une diminution de l'activité microbienne dans l'iléon terminal, le caecum et le colon par les additifs alimentaires. Des observations comparables ont été noté en utilisant des huiles essentielles et des oléorésines sur l'activité du microbiote intestinal des porcs et de poulets de chair (Manzanilla et *coll.*, 2004 ; Castillo et *coll.*, 2006).

Notre laboratoire a réalisé et publié plusieurs travaux montrant l'efficacité antimicrobienne de certaines HE et de leurs composés majoritaires (Rhayour et *coll.*, 2003 ; Chami et *coll.*, 2005 ; Bennis et *coll.*, 2004).

Conclusion

- La composition NP1600 permet de réduire les oocystes excrétés quel que soit le traitement. Elle peut donc être utile pour le traitement préventif en tant qu'additif alimentaire, ou bien dans l'eau de boisson pour le traitement curatif. Cette composition permet aussi d'assurer une meilleure intégrité intestinale et une meilleure conversion de l'aliment comme le confirment les tests bactériologiques.
- La composition utilisée est capable de réduire considérablement les oocystes pathogènes d'*Eimeria* de grande taille chez la dinde (*E. adenoides*, *E. gallopavonis*).
- Enfin, cette composition pourrait remplacer les anticoccidiens utilisés dans l'aliment, ainsi que d'autres produits qui laissent, dans la chair et les abats des dindons, des résidus chimiques très néfastes pour la santé humaine.

Conclusion générale et perspectives

Conclusion Générale

Face aux exigences des consommateurs à l'égard des additifs alimentaires, de la sécurité alimentaire, du bien-être de l'animal et de la qualité de l'environnement, l'aviculture se diversifie. Ainsi plusieurs pays (USA, Europe) ont supprimé les anticoccidiens de l'alimentation des volailles. Les produits naturels représentent une alternative idéale à l'utilisation de médicaments anticoccidiens pour le contrôle de la coccidiose.

Dans la première partie de ce travail, l'activité oocysticide *in vitro* de cinq HE de familles chimiques différentes et de deux composés majoritaires ont été testés sur les oocystes d'*Eimeria sp*, en utilisant une méthode standardisée dans notre laboratoire. Les résultats obtenus ont montré que les HE du thym, de l'origan et le composé majoritaire thymol ont une activité oocysticide très importante.

Les tests *in vivo* ont été réalisés par le produit NP1600 mis au point sur la base des résultats obtenus dans la première partie. Ces tests *in vivo* montrent une réduction importante des oocystes dans les fèces fraîches des dindons infectés expérimentalement.

Perspectives

Il serait intéressant de tester les HE et leurs composés majoritaires pour:

- Désinfecter les locaux d'élevage ainsi que tout le matériel utilisé, sans toxicité pour le personnel qui effectue la désinfection, même en présence des animaux ;
- Traiter les autres maladies parasitaires qui touchent principalement la dinde comme l'histomonose ;
- Traiter la coccidiose chez d'autres animaux comme les bovins et les ovins ;
- Traiter les maladies bactériennes aviaires tel que la colibacillose, la salmonellose et la mycoplasmoses, puisque les résultats obtenus *in vivo* ont montré un effet antibactérien important de la composition utilisée sur la flore intestinale.

Références

- Abbas RZ, Colwell D, et Gilleard J. (2012).** Botanicals: an alternative approach for the control of avian coccidiosis. *Worlds Poult. Sci. J.*, 68: 203–215.
- Abbas RZ, Iqbal Z, Blake D, Khan MN et Saleemi MK. (2011).** Anticoccidial drug resistance in fowl coccidia: the state of play revisited. *World's Poult. Sci. J.*, 67: 337–350
- Abbas RZ, Iqbal Z, Sindhu ZD, Khan MN et Arshad M. (2008).** Identification of cross resistance and multiple resistance in *Eimeria tenella* field isolates to commonly used anticoccidials in Pakistan. *J. Appl. Poult. Res.*, 17: 361–368
- Allen PC, et Danforth HD. (1998).** Effects of dietary supplementation with n-3 fatty acid ethyl esters on coccidiosis in chickens. *Poult. Sci.*, 77: 1631–1635.
- Almeida GF, Horsted K, Thamsborg SM, Kyvsgaard NC, Ferreira JFS, et Hermansen JE. (2012).** Use of *Artemisia annua* as a natural coccidiostat in free-range broilers and its effects on infection dynamics.
- Arab HA, Rahbari S, Rassouli A, Moslemi MH, et Khosravirad F. (2006).** Determination of artemisinin in *Artemisia sieberi* and anticoccidial effects of the plant extract in broiler chicken. *Trop. Anim. Health Prod.*, 38: 497–503
- Arczewska-Wlosek A, et Swiatkiewicz S. (2012).** The effect of a dietary herbal extract blend on the performance of broilers challenged with *Eimeria* oocysts. *J. Anim. Feed Sci.*, 21: 133–142.
- Barkok A. (2007).** Guide Pratique de l'élevage de la dinde. MADRPM, Direction de l'élevage.
- Barkok A. (2011).** Structures de production des élevages de dinde, 6^{ème} journées avicoles de l'ANPA.
- Belot J, et Pangui JL. (1986).** Observation sur l'excrétion oocystaire des volailles dans quelques élevages de Dakar et des environs. *Bull. An. Hlth. Prod. Afr.*, 34: 286-289.
- Bennis S, Chami F, Chami N, Bouchikhi T, et Remmal A. (2004).** Surface alteration of *Saccharomyces cerevisiae* induced by thymol and eugenol. *Lett. Appl. Microbiol.*, 38: 454-458.
- Benzeggouta N. (2005).** Etude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. *Mémoire de magister*, Université de Constantine, Algérie, 110p.
- Boka MO. (2006).** Evaluation de l'effet des anticoccidiens ionophores sur les performances zootechniques des poulets de chair en élevage semi-industriel. Université Cheikh Anta Diop De Dakar
- Bona TDMM, Pickler L, Miglino LB, Kuritza LN, Vasconcelos SP, et Santin E. (2012).** Oregano, rosemary, cinnamon essential oil and pepper extract to control *Salmonella*, *Eimeria* and *Clostridium* in broiler chickens Source: *Pesq. Vet. Brasil.*, 32: 411–418

- Boulos L. (1983).** Medicinal plants of north Africa, Ed. Reference Publication Inc., Michigan.
- Brant W. (1998).** A brief history of the turkey", World's-Poultry-Science-Journal (United Kingdom), 54: 365-373.
- Bruneton J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3 ème édition. Ed. Tec et doc, Paris, 1120p.
- Castillo M, Martin-Orue SM, Roca M, Manzanilla EG, Badiola I, Perez JF, et Gasa J. (2006).** The response of gastrointestinal microbiota to avilamycin, butyrate, and plant extracts in early-weaned pigs. J. Anim. Sci., 84: 2725–2734.
- Chami F, Chami N, Bennis S, Bouchikhi T, et Remmal A. (2005).** Oregano and clove essential oils induce surface alteration of *S. cerevisiae*. Phytother. Res., 19: 405-408.
- Chapman HD. (1997).** Biochemical, genetic and applied aspects of drug resistance in *Eimeria* parasites of the fowl. Avian Pathology. 26: 221-244.
- Chapman HD. (1984).** Drug resistance in avian coccidia (a review). Vet. Parasitol, 15(1):11-27.
- Chapman HD. (2009).** A landmark contribution to poultry science –prophylactic control of coccidiosis in poultry. Poult. Sci., 88: 813–815.
- Chermette E, et Bussiera S. (1992).** Parasitologie Vétérinaire vol II: Protozoologie Imprimerie du Cercle des Elèves ENVA-1992, 42-58 et 160-168
- Crevieu G, et Naciri M. (2001).** Effet de l'alimentation sur les coccidioses chez le poulet. Paris : INRA Prod. Anim, 14: 231-246.
- Dalloul RA, et Lillehoj HS. (2005).** Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against coccidiosis. Avian Dis, 49: 1–8.
- Dossou AD, Gbati OB, Ayessou N, Ayssiwede SB, et Missohou A. (2009).** Effets du tourteau de Neem (*Azadirachta indica*) sur les coccidioses aviaires. Revue Africaine de Santé et de Productions Animales, E.I.S.M.V. de Dakar.
- Edgar SA. (1964).** Stable Coccidiosis Immunization United States Patent, 3: 147,186.
- FAO:** Food and Agriculture Organization 2012. http://www.fao.org/index_en.htm
- FISA :** Fédération Interprofessionnelle de Secteur Avicol. <http://fisamaroc.org.ma/>
- Fortineau O, et Troncy PM. (1985).** Coccidiose, maladies animales majeures : Les coccidioses du poulet. Rev. Elev. Méd. Vét. Nouvelle Calédonie: 917.
- Fowler NG. (1995).** Anticoccidial information including safety, toxicity, incompatibilities and associated matters. CANTERBURY (GBR): ANITEC ASSOCIATES, 182 p.
- Franchomme P, et Penoel D. (1990).** L'aromathérapie exactement. Ed. Roger Jollois, Limoges, 446p.
- Gaadi M. (2007).** Filière dinde au Maroc. Évolution, analyse et perspectives. Session du 9 septembre

-
- Giannesnas PM, Florou-Paneri M, Papazahariadou E, Christaki E, Botsoglou NA, et Spais AB. (2003).** Effect of dietary supplementation with oregano essential oil on performance of broilers after experimental infection with *Eimeriatenella*. *Arch. Anim. Nut.*, 57: 99–106
- Grabensteiner E, Arshad N, et Hess M. (2007).** Differences in the *in vitro* susceptibility of mono-eukaryotic cultures of *Histomonas meleagridis*, *Tetratrichomonas gallinarum* and *Blastocystis* sp. to natural organic compounds. *Parasitol. Res.*, 101(1), 193-9.
- Greathead H, et Kamel C. (2006).** Encapsulated plant extracts to fight coccidiosis. *Feed Mix.*, v.14, p.18-21.
- Grosmond G. (2001).** L'aromathérapie. *Bulletin des G.T.V. Hors-série. Elevage et agriculture biologique*, 146-148.
- Guzman VB, Silva DAO, et Keo U. (2003).** A comparison between IgG antibodies against *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, and *E. tenella* and oocyst shedding in broiler-breeders vaccinated with live anticoccidial vaccines. *Vaccine*. 21: 4225-4233.
- Hafez HM. (2011).** Enteric Diseases of Poultry with Special Attention to *Clostridium perfringens*. *Pakistan Vet. J.*, 31: 175–184
- Hammer KA, Carson CF, et Riley TV. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microbiol.*, 86, 985-990.
- Hampson RJ. (1999).** La coccidiose aviaire *Agriculture et affaires rurales : fiche technique*.
- Harper CG, et Makatouni A. (2002).** Consumer perception of organic food production and farm animal welfare. *Br. Food J.*, 104, 287-299.
- Hawkins PA. (1952).** Coccidiosis in turkeys. *Technical Bulletin 226*. East Lansing, MI : Michigan State College Agricultural Experiment Station .
- Hein H. (1969).** *Eimeria adenoeides* and *E. meleagridis*: pathogenic effect in turkey poults. *Exper. Parasitol.* 24, 173-170.
- Hume ME, Clemente-Hernández S, et Oviedo-Rondo'n EO. (2006).** Effects of Feed Additives and Mixed *Eimeria* Species Infection on Intestinal Microbial Ecology of Broilers. *Poult. Sci.*, 85: 2106-2111.
- Johnson J, et Reid WM (1970).** Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Exp. Parasitol.*, 28, 30-36.
- Johnson WT. (1930).** A study of *Eimerianatrix*. *Agric. Exp. Sta.*, 538: 30-33.
- Joyner LP. (1973).** Coccidiosis in turkeys and its control. *Folia vet. Lat.* 3, 110-123.
- Kennedy DG, Smyth WG, Hewitt SA, et McEvoy JD. (1998).** Monensin carry-over into unmedicated broiler feeds. *Analyst.*, 123(12): 2529-2533.
- Kosal ME, et Anderson DE. (2004).** An unaddressed issue of agricultural terrorism: a case study on feed security, *J. Anim. Sci.*, 82: 3394–3400
- Kreier JP, et Baker JR. (1987).** In: *Parasitic Protozoa.*, Ed. Allen and Unwin, Boston, MA

-
- Kroismayr A, Sehm J, Pfaffl M, Plitzner C, Foissy H, Etle T, Mayer H, Schreiner M, et Windisch W. (2007).** Effects of essential oils or Avilamycin on gut microbiology and blood parameters of weaned piglets. *J. Land Manage., Food Environ.*
- Larbier M, et Leclerq B. (1992).** Nutrition et alimentation des volailles. Ed. INRA Paris France.
- Lee KW, Everts H, et Beynen AC. (2004).** Essential oils in broiler nutrition. *Int. J. Poult. Sci.*, 3: 738-752.
- Lee KW, Everts H, Kappert HJ, Yeom KH, et Beynen AC. (2003).** Dietary carvacrol lowers body weight gain but improves feed conversion in female broiler chickens. *J. Appl. Poult. Res.*, 12: 394-399.
- Levine ND, Corliss JO, et Cox FE (1980).** A newly revised classification of the protozoa. *J. Protozool*, 27, 1, 37-58.
- Levine PP. (1938).** *Eimeria hageni* n. sp. (Protozoa: Eimeriidae), a new coccidium of the chicken. *Cornell Vet.*, 28: 263-66.
- Levine PP. (1942).** A new coccidium pathogenic for chickens. *Eimeria brunetti* n. sp. (Protozoa: Eimeriidae). *Cornell Veterinarian*. 32: 430-439.
- Luna A, Labaque MC, Zygadlo JA, et Marin RH. (2010).** Effects of thymol and carvacrol feed supplementation on lipid oxidation in broiler meat. *Poult. Sci.*, 89: 366-370.
- Mallak N. (2000).** Conduite de l'élevage de la dinde de chair, Espace vétérinaire, N°27.
- Manger BR. (1991).** In *Veterinary applied, Pharmacology and Therapeutics, Part III Control of infectious disease chemotherapy*, Chapitre 33: Anticoccidials, 5th edition, Ed Bailliere Tindall, London, UK
- Manzanilla EG, Perez JF, Martin M, Kamel C, Baucells F, et Gasa J. (2004).** Effect of plant extracts and formic acid on the intestinal equilibrium of early-weaned pigs. *J. Anim. Sci.*, 82: 3210-3218.
- Mazet M. (2007).** Culture *in vitro* et caractérisation d'enzymes hydrogénosomales chez *Histomonas meleagridis*, protozoaire flagellé parasite de gallinacés, p 41. université blaise pascal n° d.u: 1768
- Meklati M. (2003).** Incidence pathologique de la coccidiose en aviculture. Thèse de magister. Université Montouri-Canstantine, Faculté des sciences.
- Milhau G, Valentin A, Benoit F, Mallie M, Bastide JM, Pelissier Y, et Bessiere JM (1997).** *In vitro* antimalarial activity of eight essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 9, 329- 333.
- Min, W., Dalloul, R.A. and Lillehoj, H.S. (2004).** Application of biotechnological tools for coccidian vaccine development. *J. Vet. Sci.*, 5: 279-288
- Moore EN, Brown JA, et Carter RD. (1954).** A new coccidium of turkeys, *Eimeria subrotunda* n. sp. (Protozoa :Eimeriidae). *Poultry Science*, 33 : 925-929
- Moore EN, et Brown JA. (1951).** A new coccidium pathogenic for turkeys, *Eimeria adenoides* n. sp. (Protozoa :Eimeriidae). *The Cornell Veterinarian*, 41 : 124-135.

- Moore EN, et Brown JA. (1952).**A new coccidium of turkeys, *Eimeriainnocua* n. sp. (Protozoa: Eimeriidae). *The CornellVeterinarian*, 52: 395-402.
- Mouhri S. (2005).** Etude sérologique de la maladie de Newcastle et de la rhinotracheite infectieuse en élevages de la dinde de chair. p 5. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II Rabat.
- Naidoo V, McGaw LJ, Bisschop SPR, Duncan N, et Eloff JN. (2008).**Thevalue of plant extracts with antioxidant activity in attenuating coccidiosis in broiler chickens. *Vet Parasitol*, 153: 214-219.
- Oh HG, Youn HG, Noh HJ, Jang J W, et Kang YB. (1995).**Anticoccidial effects of artemisin on the *Eimeriatenella*. *Korean J. Vet. Res.*, 35, 123-130.
- Oviedo-Rondo´n EO, Hume ME, Hernandez C, et Clemente-Hernandez S. (2006).** Intestinal Microbial Ecology of Broilers Vaccinated and Challenged with Mixed *Eimeria* Species, and Supplemented with Essential Oil Blends. *Poult. Sci.*, 85: 854–860.
- Paris M et Hurabielle. (1981).**Abrégé de matière médicale. Pharmacognosie. Tome 1. Masson. Paris. France.
- Peek HW, etLandman WJ. (2003).** Resistance to anticoccidial drugs of Dutch avian *Eimeria* spp. field isolates originating from 1996, 1999 and 2001. *AvianPathol.*, 32: 391-401.
- Remmal A, Tantaoui-Elaraki A, Bouchikhi T, Rhayour K, et Ettayebi M. (1993).** Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in agar medium.*J. Essent. Oil Res.*, 5: 1179-1184.
- Remmal A, Achahbar S, BouddineL, Chami N, et ChamiF. (2011).** "In Vitro Destruction of *Eimeria*Oocysts by EssentialOils," *Veterinary Parasitology*, 182 121-126.
- Remmal A, Achahbar S, Bouddine L, Chami N, et ChamiF. (2013).** "Oocysticidal Effect of Essential Oil Componentsagainst Chicken *Eimeria*Oocysts", *InternationalJournal of Veterinary Medicine: Research et Reports*, DOI: 10.5171/2013.599816
- Répérant JM. (2001).** Présent et avenir du contrôle des coccidioses aviaires. Quatrièmes Journées de la Recherche Avicole, Nantes, France, 419-421.
- Rhayour K, Bouchikhi T, Tantaoui-Elaraki A, Sendide K, et Remmal A. (2003).** The mechanism of bacterial action of oregano and clove essential oils and of their phenolic major components on *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis*.*J. Essent. Oil Res.*, 15: 286-292
- Ruff MD, et Reid WM (1977).** Avian Coccidia In "Parasitic Protozoa", vol III « Gregarines, Haemogregarines, Coccidia, plasmodia, Haemoproteids », edited by KREIER JP, Academic Press, INC New York, San Francisco, London.
- Ryley JF, Meade R, Hazelhurst J, et Robinson TE. (1976).** Methods in coccidiosis research: separation of oocysts from faeces. *J. Parasitol.* 73: 311-326.
- Saadé AB, 2005 .**Effet de l'huile essentielle de la *Salvia libanotica* sur la coccidiose des Poulets. *Annales de recherche scientifique*. pp. 33-45.

- Saima MZUK, Jabbar MA, Mehmud A, Abbas MM, et Mahmood A. (2010).**Effect of lysine supplementation in low protein diets on the performance of growing broilers.Pakistan Vet. J., 30: 17–20.
- Sauvage C. (1974).** L'état actuel de nos connaissances sur la flore du Maroc. Colloque du CNRS n° 235, la flore du bassin méditerranéen, Paris.
- Saville P. (1999).** La coccidiose aviaire Santé animale : fiche technique N°3/ Communauté du pacifique.
- Shirley MW. (1995).** Eimeria species and strain of chickens. In Eckert, J., Braun, R., Shirley, M.W., Coudert, P. (Eds.), Cost 89/820. Biotechnology.Guidelines on Techniques in Coccidiosis Research. pp. 1-24. The European Commission.
- Silva MA, Pessotti BMS, Zanini SF, Colnago GL, Rodrigues MRA, Nunes LC, Zanini MS, et Martins IVF. (2009).**Intestinal mucosa structure of broiler chickens infected experimentally with Eimeriatenella and treated with essential oil of oregano.Ciência Rural, Santa Maria, 39: 1471-1477.
- Story P, et Doube A. (2004).**A case of human poisoning by salinomycin, an agricultural antibiotic, N Z Med. J. 117, U799.
- Tamasaukas R, Ruiz H, Theis W, et De Basilio V. (1996).** Evaluation of the efficacy of Salstop and Digestor Broilers (Citate C.A.): products derived from the seeds of citrus fruit for the control of avian coccidiosis : floor pen studies. [Esp]. Parasitol.Dia, 20, 118-124.
- Tyzzer EE. (1929).**Coccidiosis in gallinaceous birds. Am. J. Hyg., 10: 269-283.
- Tyzzer EE. (1927).** Species and strains of coccidia in poultry. Journal of Parasitology, 13 : 215.
- Vermeulen AN, Schaap DC, etSchetters TM. (2001).** Control of coccidiosis in chickens by vaccination.Vet. Parasitol., 100: 13-20.
- Villate D. (1997).** Maladies des volailles. Ed France agricole.
- Villate D. (2001).** Maladies des volailles. Paris : éd. France agricole.
- Waldenstedt L, Elwinger K, Thebo P, etUggla A. (1999).**Effect of betaine supplement on broiler performance during an experimental coccidial infection. Poult.Sci, 78, 182-189.
- Williams RB. (2002).**Anticoccidial vaccines for broiler chickens: pathways to success. AvianPathol., 31: 317-353.
- Zenner L, Callait MP, Granier C, et Chauve C. (2003).***In vitro* effect of essential oils from cinnamomumaromaticum, citrus limon and allium sativum on two intestinal flagellates of poultry, Tetratrichomonasgallinarum and Histomonasmeleagridis. Parasite, 10, 153-157.
- Zouzoua M. (1990).** Prophylaxie médicale de la coccidiose du poulet de chair à l'aide d'antibiotiques polyéthers ionophores.Thèse : Méd. Vét. : Nantes.

Annexes

Annexe 1 : Aliment de finition 1 dinde type chair

Composition:

Protéines brutes.....	.18%
Méthionine.....	0,35%
Méthionine + cystine.....	0,69%
Lysine.....	1%
Sodium.....	0,16%
Chlore.....	0,14%
Calcium.....	0,97%
Phosphore.....	0,5%

Vitamines aux 100 Kg

Vitamine A.....	8000 U.I/Kg
Vitamine D ₃	1200 U.I/Kg
Vitamine E.....	15 mg/Kg

Annexe 2: Plate Count Agar (PCA)

Composition en grammes par litre d'eau distillée :

Tryptone	5,0g
Extrait autolytique de levure	2,5g
Glucose	1,0g
Agar agar	12,0g (Biokar)
pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,0 ± 0,2.	