



UNIVERSITE  
JEAN LOROUGNON GUEDE  
UFR AGROFORESTERIE

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE

Union-Discipline-Travail

-----

Ministère de l'Enseignement Supérieur et  
de la Recherche Scientifique

ANNEE : 2024-2025

N° D'ORDRE :

.....135.....

CANDIDAT

Nom : OUATTARA

Prénom : ANZOUMANA  
LASSINAN

# THESE DE DOCTORAT

**Mention : Biologie-Santé**

**Spécialité : Biochimie-Microbiologie**

**Etude des pouvoirs thérapeutique et anti-stress oxydatif des extraits de *Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr., chez les poussins infectés par *Salmonella typhimurium*.**

## JURY

**Président :** Monsieur BEUGRE Grah Avit Maxwell, Professeur Titulaire de Biochimie-Nutrition, UJLoG Daloa.

**Directeur :** Monsieur OUATTARA Abou, Maître de Conférences de Biochimie-Microbiologie, UJLoG Daloa.

**Rapporteur :** Monsieur KIPRE Gueyraud Rolland, Maître de Recherches de Biochimie-Parasitologie, UFHB Abidjan.

**Examineur 1 :** Monsieur OUSSOU Kouamé Raphael, Maître de Conférences de Chimie Organique et Substances Naturelles, UJLoG Daloa.

**Examineur 2 :** Monsieur OUATTARA Karamoko, Professeur Titulaire de Biochimie-Microbiologie, UPSP San-Pédro.

**Soutenu publiquement  
le : 24 mai 2025**

## TABLE DES MATIERES

DEDICACE.....	viii
AVANT PROPOS.....	ix
REMERCIEMENTS.....	x
LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS.....	xiii
LISTE DES TABLEAUX.....	xv
LISTE DES FIGURES.....	xvi
INTRODUCTION.....	18
PREMIERE PARTIE : GENERALITES.....	5
1. Généralités sur <i>Anogeissus leiocarpus</i> (DC.) Guill. & Perr.....	6
1.1. Classification et caractères morphologiques.....	6
1.1.1. Classification.....	6
1.1.2. Caractères morphologiques.....	6
1.2. Distribution.....	6
1.3. Utilisations en médecines traditionnelles.....	7
1.4. Données pharmacologiques.....	7
1.5. Composition chimique.....	8
2. Généralités sur les Salmonelles.....	8
2.1. Genre <i>Salmonella</i> : taxonomie et nomenclature.....	8
2.2. Habitats, mode de contamination.....	10
2.3. Salmonelles chez l’Homme.....	11
2.3.1. Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes.....	11
2.3.2. Gastroentérites ou Salmonelloses non typhiques.....	11
2.4. Salmonelles dans les élevages des volailles.....	12
2.4.1. Différentes voies de transmission de <i>Salmonella</i> chez les volailles.....	12
2.4.2. Pathogénicité de <i>Salmonella</i> chez les volailles.....	16
2.4.2.1. Adhésion et invasion des cellules épithéliales intestinales.....	16

2.4.2.2. Survie et multiplication de <i>Salmonella</i> dans les cellules hôtes.....	16
2.4.2.3. Propagation extra-intestinale de <i>Salmonella</i> .....	18
2.4.3. Stratégies de lutte contre les Salmonelles chez la volaille.....	19
2.4.3.1. Biosécurité.....	19
2.4.3.2. Utilisation des Antibiotiques.....	19
2.4.3.3. Prébiotiques.....	20
2.4.3.4. Probiotiques.....	21
2.4.3.5. Synbiotiques ou symbiotiques.....	21
2.4.3.6. Postbiotiques.....	22
2.4.3.7. Phytobiotiques.....	23
2.4.3.8. Bactériophages.....	24
2.4.3.9. Vaccination contre <i>Salmonella</i> chez les volailles.....	25
2.4.3.9.1. Vaccin vivant atténué.....	25
2.4.3.9.2. Vaccin tué ou inactivé.....	25
2.4.3.9.3. Vaccins sous-unitaires.....	26
3. Généralités sur le stress oxydatif.....	26
3.1. Stress oxydatif.....	26
3.2. Stress oxydatif dans l'élevage des poulets.....	27
3.2.1. Facteurs responsables du stress oxydatif dans l'élevage des poulets.....	27
3.2.1.1. Stress oxydatif dû à une température ambiante élevée.....	27
3.2.1.2. Stress oxydatif dû à un dysfonctionnement des mitochondries.....	28
3.2.1.3. Stress oxydatif dû aux toxines présentes dans les aliments.....	29
3.2.1.4. Stress oxydatif et microbiote intestinal.....	30
3.2.2. Stratégies de réduction du stress oxydatif.....	30
3.3.1. Mécanisme cellulaire et moléculaire.....	32
3.3.1.1. Mécanisme au niveau des acides nucléiques.....	32
3.3.1.1.1. Acide Désoxyribonucléique (ADN).....	32

3.3.1.1.2. Acide Ribonucléique (ARN).....	32
3.3.1.2. Mécanisme au niveau des lipides.....	32
3.3.1.3. Mécanisme au niveau des protéines.....	32
3.3.2. Méthodes d'étude du stress oxydatif.....	33
4. Généralités sur la résistance aux antibiotiques.....	33
4.1. Définition d'un antibiotique.....	33
4.2. Utilisation des antibiotiques dans les élevages de volaille .....	34
4.3. La résistance des bactéries aux antibiotiques.....	34
4.3.1. Mécanismes de résistance des bactéries aux des antibiotiques.....	35
4.3.1.1 Réduction de la perméabilité ou apparition de systèmes d'efflux .....	35
4.3.1.2. Modification de la cible de l'antibiotique .....	35
4.3.1.3. Inactivation de l'antibiotique. ....	36
4.4. Bactéries multirésistantes « BMR ».....	36
DEUXIEME PARTIE : .....	38
MATERIEL ET METHODES .....	38
1. Matériel .....	39
1-1. Matériel biologique .....	39
1.1.1. Matériel végétal .....	39
1.1.2. Animaux d'élevage .....	39
1.1.3. Souches microbiennes.....	39
1.1.4. L'oxytétracycline (Molécule de référence).....	39
1.2. Matériel technique .....	40
1.2.1. Milieux de culture .....	40
1.2.2. Matériel d'élevage.....	40
1.2.3. Autres matériels .....	40
2. Méthodes .....	43

2.1. Tri phytochimique et évaluation des activités antisalmonelles <i>in vitro</i> des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	43
2.1.1. Préparation des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	43
2.1.2. Méthode de préparation des milieux de culture .....	45
2.1.3. Préparation des suspensions bactériennes de <i>Salmonella typhimurium</i> multirésistantes .....	45
2.1.4. Test de sensibilité des souches de <i>Salmonella typhimurium</i> aux extraits aqueux et hydroéthanoliques 70% .....	45
2.1.5. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides des extraits aqueux et hydroéthanoliques 70% .....	45
2.1.5.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits de plantes .....	45
2.1.5.2. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) des extraits de plante .....	46
2.1.5.3 Evaluation de l'effet bactéricide ou bactériostatique des extraits .....	47
2.1.6. Tri phytochimique des extraits aqueux et hydroéthanoliques 70% de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	47
2.1.6.1. Recherche des alcaloïdes .....	47
2.1.6.2- Recherche des polyphénols et des tanins .....	47
2.1.6.3- Recherche des flavonoïdes .....	48
2.1.6.4- Recherche des saponosides .....	48
2.1.6.5- Recherche des glycosides cardiotoniques .....	48
2.1.6.6- Recherche des stérols et polyterpènes .....	49
2.2. Détermination des teneurs en composés phénoliques et évaluation des activités antioxydantes <i>in vitro</i> des extraits de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	49
2.2.1. Détermination des teneurs en composés phénoliques des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	49
2.2.1.1. Détermination des teneurs en polyphénols totaux .....	49

2.2.1.2. Détermination des teneurs en flavonoïdes totaux.....	49
2.2.2. Evaluation des activités antioxydantes <i>in vitro</i> des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	50
2.2.2.1. Mesures de l'activité antiradicalaire par DPPH .....	50
2.2.2.2. Test d'ABTS .....	50
2.2.2.3. Chélation du fer par le test de FRAP.....	51
2.3. Etude de la toxicité orale aigüe des extraits de <i>Anogeissus leiocarpus</i> sur des poulets de chair.....	52
2.3.1. Principe de l'essai .....	52
2.3.2. Administration d'une substance d'essai .....	53
2.3.3. Observations du comportement .....	54
2.4. Evaluation de l'efficacité thérapeutique de l'extrait aqueux de <i>A. leiocarpus</i> .....	54
2.4.1. Souche infectante .....	54
2.4.2. Méthode d'élevage.....	54
2.4.3. Préparation de l'inoculum bactérien .....	55
2.4.4. Contamination des poussins.....	56
2.4.5. Traitement des poussins .....	56
2.4.6. Evaluation du pouvoir antimicrobien <i>in vivo</i> de l'extrait aqueux.....	57
2.4.6.1. Description des indices cliniques des poussins.....	57
2.4.6.2. Evaluation des charges bactériennes des fèces des poussins après induction de la salmonellose .....	57
2.4.6.3. Détermination du gain de poids moyen des poussins .....	58
2.4.6.4. Détermination de l'indice de consommation alimentaire des poussins .....	59
2.5. Pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux .....	59
2.5.1. Mesure de l'activité de la catalase .....	60
2.5.2. Mesure de l'activité de la peroxydase .....	60
2.5.3. Dosage du monoxyde d'azote.....	60
2.5.4. Dosage du malondialdéhyde.....	61

2.6. Analyses statistiques.....	61
TROISIEME PARTIE : .....	62
RESULTATS ET DISCUSSION.....	62
1. Résultats .....	63
1.1. Tri phytochimique et évaluation des activités antisalmonelles <i>in vitro</i> des extraits aqueux et hydroéthanolique (70%) de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	63
1.1.1. Tests de sensibilité des souches de <i>Salmonella typhimurium</i> aux extraits aqueux et hydroéthanolique (70%) de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	63
1.1.2. Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides des extraits aqueux et hydroéthanoliques 70% de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	64
1.1.3. Tri phytochimie des extraits aqueux et hydroéthanoliques 70% de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	68
1.2. Teneurs en composés phénoliques et activités antioxydantes <i>in vitro</i> des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	68
1.2.1. Teneurs en composés phénoliques de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	68
1.2.2. Activités antioxydantes <i>in vitro</i> des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	70
1.3. Toxicité orale aigüe des extraits de plante sur les poussins de chair.....	72
1.4. Pouvoir antimicrobien de l'extrait aqueux de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	74
1.4.1. Effet de l'extrait aqueux de <i>Anogeissus leiocarpus</i> sur les indices cliniques et le comportement des poussins .....	74
1.4.1.1. Aspect des fientes au cours du traitement .....	74
1.4.1.2. Taux d'humidité des fientes au cours du traitement.....	76
1.4.1.3. Comportement des poussins au cours du traitement .....	77
1.4.1.4 Charges bactériennes des fèces des poussins au cours du traitement.....	79
1.4.2. Gains de poids moyen des poussins pendant l'expérimentation .....	80
1.4.3. Indice de consommation alimentaire des poussins pendant l'expérimentation .....	81
1.5. Effet de l'extrait aqueux de <i>Anogeissus leiocarpus</i> sur quelques paramètres biomarqueurs du stress oxydatif chez les poussins.....	84

1.5.1. Effet de l'extrait aqueux de <i>Anogeissus leiocarpus</i> sur l'activité de la catalase .	84
1.5.2. Effet de l'extrait aqueux sur l'activité de la peroxydase .....	86
1.5.3. Effet de l'extrait aqueux sur la production du monoxyde d'azote .....	88
2. Discussion .....	92
CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	101
REFERENCES .....	105

## **DEDICACE**

A toi ma chérie NINA, ma tendre épouse qui as toujours été un soutien pour moi dans toutes mes entreprises, trouve dans ce travail le fruit de nos efforts conjugués.

A vous FRANCINE et JOSEPH mes bien-aimés enfants, trouvez à travers cet important travail intellectuel la voie que vous indique votre Père que je suis : celle de la foi, du courage, de la persévérance et de la confiance en soi et ce ; en toute circonstance.

Que vos études commencent là ou je laisserai les miennes.

A vous mes parents qui avez toujours cru en moi, ce PhD est le fruit de votre soutien constant.

## AVANT PROPOS

Notre étude a consisté à trouver un extrait actif à partir des feuilles de *Anogeissus leiocarpus* et à évaluer ses activités antisalmonelles et antioxydantes sur des poussins infectés par *Salmonella typhimurium* au cours d'un élevage expérimental.

Ce travail sanctionne la fin de notre formation Doctorale entamée à travers une formation académique théorique de troisième cycle d'une part, et qui s'achève par une expérience de recherche sur un sujet d'actualité, innovant, d'intérêt économique, social, environnemental et culturel d'autre part. Cette formation est initiée et effectuée par l'Unité de Formation et de Recherche (UFR) de l'Agoforesterie au sein de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa (UJLoG).

Cette étude s'est déroulée sur une période de trois ans et nous a conduit successivement à :

- récolter les organes de la plante et préparer les extraits aqueux et hydroéthanolique à partir des feuilles de *Anogeissus leiocarpus* ;
- réaliser le triphytochimique ;
- effectuer les tests de sensibilité des souches de *Salmonella typhimurium* aux extraits de *Anogeissus leiocarpus* ;
- déterminer les teneurs en composés phénoliques des extraits de *Anogeissus leiocarpus* et en évaluer les activités antioxydantes ;
- évaluer le pouvoir thérapeutique de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* sur une salmonellose induite chez les poussins au cours d'un élevage expérimental, tout en déterminant quelques paramètres biomarqueurs du stress oxydatif ;
- rédiger le présent document.

Ainsi, grâce à plusieurs soutiens et collaborations et notamment à l'encadrement rigoureux du Dr. OUATTARA Abou, notre Directeur de Thèse, nous avons pu mener à bien cette activité Doctorale qui a pour finalité la soutenance publique, devant un jury, d'une Thèse Unique en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université Jean Lorougnon Guédé.

Par ailleurs ce travail est une modeste contribution à la valorisation de la pharmacopée africaine, en général et ivoirienne en particulier.

## REMERCIEMENTS

Au terme de cette étude nous voudrions remercier très sincèrement tous ceux qui, à quelque niveau que ce soit, se sont engagés à nos côtés et ont contribué effectivement à sa réalisation.

Notre gratitude va à l'endroit de :

**Madame ADOHI Krou Adjo Viviane**, Professeur Titulaire qui, en tant que Présidente de l'Université Jean Lorougnon Guédé assure la responsabilité administrative ainsi que la caution morale et scientifique de la Formation Doctorale Agriculture et Environnement Tropical (FD AET) mise en place par son Institution ; et au-delà, toutes les Autorités Universitaires et l'ensemble des Enseignants-Chercheurs de cette Prestigieuse Institution pour leurs conseils.

**Monsieur SORO Dognimeton**, Professeur Titulaire, Vice-président de l'Université Jean Lorougnon Guédé, chargé de la Pédagogie et de la vie Universitaire, pour ses conseils avisés, notamment concernant les formalités administratives.

**Monsieur KONE Issiaka**, Professeur Titulaire, Vice-Président de l'Université Jean Lorougnon Guédé en charge de la Recherche, de l'Innovation Technologique et des relations extérieures, pour ses conseils.

**Monsieur OUATTARA Karamoko**, Professeur Titulaire, Vice-Président de l'Université de San-Pedro chargé de la Recherche, de l'Innovation Technologique et des Relations Extérieures, pour ses encouragements soutenus. Mais surtout pour son apport précieux en acceptant de participer à ce jury en tant qu'Examineur en vue de contribuer à l'amélioration de notre travail.

**Monsieur KOUASSI kouassi Clément**, Professeur Titulaire, Directeur de l'UFR Agroforesterie, pour avoir autorisé notre inscription dans l'Unité de Formation et de Recherche qu'il dirige.

**Monsieur BEUGRE Grah Avit Maxwell**, Professeur Titulaire, Directeur du Laboratoire de d'Agrovalorisation de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour nous avoir accueilli dans son laboratoire et pour ses conseils mais notamment pour avoir accepté de présider ce jury.

**Monsieur OUATTARA Abou**, Maître de Conférences, Enseignant-Chercheur à l'UFR Agroforesterie de l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, d'une part, pour avoir spontanément accepté la tutelle et la responsabilité scientifiques de ce travail ; et d'autre part, pour avoir véritablement joué un rôle essentiel dans notre encadrement grâce à une disponibilité

exceptionnelle, à la rigueur scientifique, à l'honnêteté intellectuelle et à l'amour du travail bien fait qui le caractérisent.

**Monsieur OUSSOU Kouamé Raphael**, Maître de Conférences de Chimie Organique et Substances Naturelles à l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour sa grande disponibilité à participer à ce jury en tant qu'Examineur en vue de contribuer à l'amélioration de notre travail.

**Monsieur KIPRE Gueyraud Rolland**, Maître de Recherches de Biochimie-Parasitologie à l'Université Félix Houphët-Boigny d'Abidjan qui en tant que Rapporteur a émis un avis favorable à la soutenance de notre Thèse devant un jury, après avoir fait de précieuses recommandations.

**Monsieur YAVO William**, Professeur Titulaire, Directeur Général de l'Institut National de Santé Publique (INSP) pour nous avoir facilité l'accès aux laboratoires de son Institution.

**Madame AKE-ASSI Emma épouse Kouassi**, Professeur Titulaire, Enseignant-Chercheur à l'UFR Biosciences de l'Université Félix Houphouët Boigny, Chercheur associé au Centre National de Floristique (CNF), Laboratoire des systématique, Herbarium et Musée Botanique pour l'accueil chaleureux à nous réservé et sa disponibilité.

**Monsieur TANO Konan Dominique**, Chargé de Recherche, Chef de l'Unité de Phytothérapie et nouvelles Molécules Antipaludiques (UPMA) au Centre de Recherche et de lutte contre le Paludisme (CRLP) de l'INSP pour sa grande disponibilité et ses encouragements.

**Madame KOFFI Akissi Jeanne**, Chargé de Recherche au Centre de Recherche et de lutte contre le Paludisme à l'INSP pour ses conseils.

**Monsieur KOUAME Rivière Assandi**, Docteur en Biotechnologies-Biosécurité et Bioressources, Assistant au Laboratoire de Biochimie, Biotechnologie, Science et Technologie des Aliments de l'Université Alassane Ouattara de Bouaké, pour sa collaboration pendant nos manipulations.

**Madame KANGA Nadia**, Chercheur au Laboratoire d'Amélioration de la production agricole à Daloa, pour ses conseils.

**Monsieur SOUMAHORO Mégbe**, Docteur en Génétique et amélioration des plantes pour sa solidarité.

Nous ne saurions oublier les Doctorants :

**Mademoiselle KOUADIO N'gbé Ange Emmanuella**, Doctorante en génétique et amélioration des plantes au Laboratoire d'Amélioration de la Production Agricole à l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa, pour sa collaboration et sa disponibilité exceptionnelle.

**Monsieur KONAN Kouadio Franck**, Doctorant au Laboratoire d'Amélioration de la Production Végétale à l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa pour sa grande disponibilité.

**Monsieur KAMAGATE Moustapha** et **Mademoiselle KOFFI Amino Florence**, tous Doctorants au Laboratoire d'Amélioration et Agrovalorisation à l'Université Jean Lorougnon Guédé de Daloa pour leur collaboration.

Que tous ceux qui nous ont apporté leur soutien de tous ordres trouvent ici l'expression de notre sincère reconnaissance.

## **LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS**

ABTS : 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique

ADN : Acide Déoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucleique

CAT : Catalase

CCOMS : Centre Collaborateur de l'Organisation Mondiale de la Santé

CMB : Concentration Minimale Bactéricide

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CNF : Centre National de Floristique

DPPH : 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyle

EDTA : Ethyl Diamine Tétra Acétique

ERO : Espèces Réactives à l'Oxygène

FAO: Food and Agriculture Orgaization of the United Nations

FOANI: Ferme Ouattara Ali Nanan Issa

FOS: Fructo Oligosaccharides

FRAP: Ferric Reducing Antioxidant Power

GLASS: Global Antimicrobial Resistance and use Surveillance System

GPX : Glutathion Peroxydase

GSS : Gélose *Salmonella Shigella*

IPRAVI : Inter Profession Avicole Ivoirienne

MDA: Malonaldéhyde

MHA: Mueller Hinton Agar

MOS : Manna Oligosaccharides

OCDE : Organisation de Coopération et de Développement Economique

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ON : Oxyde Nitrique

POD : Peroxydase

SCV : *Salmonella* Contenant des Vacuoles

SOD: Super Oxyde Dismutase

TGI: Tractus Gastro Intestinal

TIAC : Toxi-infection Alimentaire Collective

UFHB : Université Félix HOUPHOUET-BOIGNY

UFR : Unité de Formation et de Recherche

UJLoG: Université Jean LOROUGNON GUÉDÉ

UPSP: Université Polytechnique de San Pédro

WHO: World Health Organization

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Nombre de serovars dans chaque espèce et sous-espèce du genre <i>Salmonella</i> .....	9
<b>Tableau II</b> : Caractères biochimiques d'identification de <i>Salmonella</i> .....	12
<b>Tableau III</b> : Origine et profils antibiotiques des souches de <i>S. typhimurium</i> étudiées .....	42
<b>Tableau IV</b> : Diamètres d'inhibition des extraits de <i>Anogeissus leiocarpus</i> sur les souches de <i>Salmonella typhimurium</i> .....	63
<b>Tableau V</b> : Paramètres antibactériens comparés des extraits de <i>Anogeissus leiocarpus</i> sur les souches de <i>Salmonella typhimurium</i> .....	66
<b>Tableau VI</b> : Tri phytochimique des extraits de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	68
<b>Tableau VII</b> : Activités antioxydantes des extraits de <i>A. leiocarpus</i> par les méthodes de ABTS et FRAP .....	71
<b>Tableau VIII</b> : Signes cliniques et comportement observés après administration des différents extraits de <i>Anogeissus leiocarpus</i> aux animaux.....	74
<b>Tableau IX</b> : Aspect des fientes des poussins de chair des différents lots .....	75
<b>Tableau X</b> : Comportements des poussins des différents lots.....	78
<b>Tableau XI</b> : Activité de la catalase dans le sérum et dans les organes des poussins .....	85
<b>Tableau XII</b> : Activités de la peroxydase dans le sérum et dans les organes des poussins ....	87
<b>Tableau XIII</b> : Teneurs en monoxyde d'azote dans le sérum et les organes des poussins.....	89
<b>Tableau XIV</b> : Teneurs en malonaldéhyde dans le sérum et dans les différents organes des poussins.....	91

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> : La classification du genre <i>Salmonella</i> .....	9
<b>Figure 2</b> : Aperçu des différentes voies de transmission de <i>Salmonella</i> .....	13
<b>Figure 3</b> : Schéma de l'appareil digestif de la poule .....	15
<b>Figure 4</b> : <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	41
<b>Figure 5</b> : poussin d'élevage autour d'une mangeoire .....	42
<b>Figure 6</b> : Préparation de l'extrait aqueux de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	44
<b>Figure 7</b> : Réalisation de la toxicité orale aiguë .....	53
<b>Figure 8</b> : Compartiments comportant les différents lots d'élevage .....	55
<b>Figure 9</b> : Identification de <i>Salmonella</i> pour préparation de l'inoculum .....	56
<b>Figure 10</b> : inhibition de la croissance bactérienne en milieu gélosé .....	64
<b>Figure 11</b> : tubes présentant l'évaluation de la croissance en milieu liquide .....	67
<b>Figure 12</b> : Aspect d'une boîte de petri ayant servi à la détermination des CMB.....	67
<b>Figure 13</b> : Effets antibactériens comparés des extraits de <i>Anogeissus leiocarpus</i> .....	67
<b>Figure 14</b> : Teneurs en polyphénols totaux des extraits de <i>A. leiocarpus</i> .....	69
<b>Figure 15</b> : : Teneurs en flavonoïdes totaux des de <i>A. leiocarpus</i> xtraits.....	70
<b>Figure 16</b> : Evolution de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH.....	72
<b>Figure 17</b> : Valeurs $CI_{50}$ des extraits de <i>A. leiocarpus</i> dans le test de DPPH .....	72
<b>Figure 18</b> : Vue d'ensemble des organes sains.....	73
<b>Figure 19</b> : Aspect des fientes (liquide et solide) .....	76
<b>Figure 20</b> : Evolution des taux d'humidité des fientes des poussins dans les différents lots .	76
<b>Figure 21</b> : Evolution des charges bactériennes dans les fientes des poussins dans les lots ..	80
<b>Figure 22</b> : Evolution du gain en poids des poussins dans les différents lots .....	81
<b>Figure 23</b> : Evolution des indices de consommation dans les différents lots de poussins .....	82

**Figure 24** : Quelques observations cliniques chez les poussins lors de l'expérimentation..... 82

# **INTRODUCTION**

Ces dernières années, la viande de volaille est devenue la source de protéine la plus consommée à travers le monde et pourrait représenter la moitié de la production mondiale de viande dans les dix prochaines années (Campos, 2019).

Le secteur avicole ivoirien a enregistré une croissance soutenue ces dernières années. Selon les responsables de l'Inter Profession Avicole Ivoirienne (IPRAVI), la production avicole permet aujourd'hui à notre pays de renforcer la couverture des besoins en protéines des populations. Cette situation positionne ladite filière comme étant le seul secteur des productions animales pour lequel la Côte d'Ivoire couvre les besoins de la population locale. Elle devient ainsi un acteur majeur de la sécurité alimentaire (Patrick, 2024).

En effet, elle a réalisé en 2022, un chiffre d'affaire de 380 milliards de F CFA contre 80 milliards de F CFA en 2010. Soit une augmentation de 4,75 % entre 2010 et 2022. C'est une production de 97 000 tonnes de volailles en 2022 correspondant à un taux moyen de consommation de 3,62 kg/ habitant contre 23 000 tonnes en 2010 ; soit un taux moyen de consommation de 1 kg/ habitant et une hausse de 32,1% enregistrée entre ces deux années (Patrick, 2024).

Par ailleurs, sur le plan social, ce sont 280 000 emplois directs et indirects créés en 2022, contre 70 000 en 2010 ; soit un volume d'emplois multiplié par quatre, au cours de cette période selon l'Inter Profession Avicole Ivoirienne.

Ainsi, la filière avicole, par sa capacité d'absorption de la main d'œuvre contribue-t-elle activement à la politique d'insertion des jeunes, mais également à la lutte contre la pauvreté dans le milieu rural (Patrick, 2024).

Malheureusement, la maîtrise du risque sanitaire reste problématique aussi bien dans les pays développés que ceux en voie de développement ; si bien que les salmonelloses sont devenues des infections redoutables tant pour les volailles que pour les consommateurs. De plus, les aliments d'origine animale, notamment les viandes de volaille constituent le réservoir principal de *Salmonella* causant ainsi un véritable problème de santé publique à travers le monde (Sangare *et al.*, 2022).

En aviculture, les salmonelloses engendrent également de grandes pertes économiques chez les éleveurs (Youssef *et al.*, 2023). Ainsi, pour faire face à cette situation et lutter contre les salmonelloses aviaires, les fermiers ont-ils recours aux antibiotiques tels que les Pénicillines, les Tétracyclines et les Cloramphénicols (Marshall & Levy, 2011). Cependant, l'utilisation abusive et excessive des antibiotiques dans l'aviculture, dans un but métaphylactique

(traitement du lot entier d'animaux quand certains sont malades), prophylactique (à titre préventif) ou comme promoteur de croissance est à la base de l'émergence du phénomène de résistance des souches bactériennes à ces molécules (Eckert *et al.*, 2007). Par ailleurs, l'utilisation des antibiotiques est souvent associée à la destruction des bactéries intestinales bénéfiques qui aident à combattre les pathogènes entériques chez les volailles (Karon *et al.*, 2007). De plus, les utilisations abusives de ces antibiotiques ne sont pas sans effets toxiques pour les consommateurs de volailles (Karon *et al.*, 2007).

De nombreux travaux ont déjà rapporté des cas de multirésistance observée chez des bactéries pathogènes du genre *Salmonella* isolées de volailles à travers le monde (Bonny *et al.*, 2021). Le phénomène de résistance aux antibiotiques se présente donc comme une véritable menace pour l'homme et l'animal et pose un réel problème de santé publique au plan mondial. C'est pourquoi l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a estimé en 2022 que la résistance aux antimicrobiens s'attaque aux fondements de la médecine moderne et met en péril la vie de millions de personnes (OMS, 2022).

En outre, les contaminations des volailles par des bactéries et notamment par les salmonelles créent un stress oxydatif chez celles-ci susceptibles de fournir des molécules hautement réactives issues du métabolisme de l'oxygène (Madigan & Martinko, 2007). Une production assez élevée de ces molécules hautement réactives peut entraîner une altération des lipides membranaires qui finit par détériorer l'état de la viande des volailles (Lunga *et al.*, 2014). La destruction de la flore intestinale bénéfique pour les volailles par l'usage des antibiotiques engendre également un stress oxydatif susceptible d'altérer la qualité de la viande (Ali *et al.*, 2021). Toutefois, l'utilisation abusive de suppléments alimentaires, généralement riches en antioxydants de synthèse a montré parfois ses limites dans la prise en charge du stress oxydatif chez les poussins.

Ainsi, pour lutter efficacement contre les salmonelloses et le stress oxydatif en aviculture, plusieurs stratégies ont-elles été élaborées ; au nombre desquelles, l'étude de thérapies nouvelles à base de substances naturelles végétales, occupe une place de choix. Les phytobiotiques se présentent alors comme une alternative aux antibiotiques usuels utilisés chez les animaux d'élevage en général, et chez les volailles en particulier.

En effet, des études ont montré que les molécules issues des phytobiotiques sont des composés biologiquement actifs, obtenus à partir de plantes utilisées comme antibiotiques et additifs alimentaires naturels en raison de leurs bienfaits sur la santé et la croissance pondérale des animaux d'élevage y compris la volaille. (Kamagaté *et al.*, 2017).

*Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr. (Combretaceae) est une plante qui se développe aussi bien dans la savane sèche que dans les forêts humides dans plusieurs pays d'Afrique, dont les feuilles sont déjà connues pour leurs propriétés antimicrobiennes et antihelminthiques (Andary *et al.*, 2005). Les feuilles de *A. leiocarpus* sont utilisées dans le traitement des maladies de la peau, de la fièvre, de la diarrhée, du paludisme, et des infections de l'estomac (Chaabi *et al.*, 2008). Cette plante est couramment utilisée dans le nord de la Côte d'Ivoire par les éleveurs pour traiter différentes pathologies chez les animaux d'élevage (Koné *et al.*, 2019). Julienne *et al.* (2021), lors de leurs études ont confirmé que *A. leiocarpus* est utilisée en médecine vétérinaire et notamment dans le traitement des maladies parasitaires causées par *Haemonchus contortus*. L'extrait méthanolique d'écorce de tige de *A. leiocarpus* a exprimé une activité antitrypanosomiase contre quatre souches de *Trypanosoma* (Shuaibu *et al.*, 2008a) et une activité leishmanicide (Shuaibu *et al.*, 2008b). Au Burkina Faso, des études ont montré que le décocté des feuilles de *Anogeissus leiocarpus* est utilisé traditionnellement contre diverses formes d'ulcères (Dayok *et al.*, 2018).

Ainsi, dans le cadre de la valorisation de la pharmacopée ivoirienne, nous sommes- nous proposés de réaliser la présente étude dont l'objectif général était de contribuer à la lutte contre les infections bactériennes à *Salmonella* et le stress oxydatif dans l'élevage de poulets de chair par l'emploi d'extraits de feuilles de *Anogeissus leiocarpus* comme alternatives aux antibiotiques et suppléments alimentaires de synthèses utilisés en aviculture.

Pour y parvenir, nous avons décliné cet objectif général en trois objectifs spécifiques ; il s'est agit pour nous notamment :

- d'évaluer d'abord *in vitro*, les activités antibactérienne et antioxydante des extraits aqueux et hydroethanolique 70% des feuilles de *Anogeissus leiocarpus* sur deux (02) souches multirésistantes de *Salmonella typhimurium* d'origine aviaire ;
- d'évaluer ensuite la toxicité orale aiguë des extraits de *Anogeissus leiocarpus* sur les poussins ;
- de déterminer enfin *in vivo*, l'efficacité thérapeutique et l'activité antioxydante de l'extrait aqueux des feuilles de *A. leiocarpus* sur une salmonellose induite chez les poussins.

**PREMIERE PARTIE :**  
**GENERALITES**

## 1. Généralités sur *Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr.

Le genre *Anogeissus* compte huit (8) espèces, dont cinq se trouvent en Asie tropicale, deux en Arabie et une en Afrique tropicale. La seule espèce du genre *Anogeissus* trouvée en Afrique est *Anogeissus leiocarpus* ; également connu sous le nom de *Anogeissus leiocarpa* ou *Anogeissus schimperi*, Hochest. Ex Hutch & Dalz. *Anogeissus leiocarpus* est un arbre polyvalent largement utilisé en médecine traditionnelle (Julienne *et al.*, 2021).

### 1.1. Classification et caractères morphologiques

#### 1.1.1. Classification

Règne : végétal

Embranchement : Spermaphytes

Classe : Dicotylédone

Sous-classe : Rosidae

Ordre : Myrtales

Famille : Combretaceae

Genre : *Anogeissus*.

Espèce : *Anogeissus leiocarpus*.

#### 1.1.2. Caractères morphologiques

C'est un arbre qui peut atteindre 30 m de haut avec des écorces grises, jaunâtres, écailleuses, devenant noirâtres avec l'âge et exsudant une gomme foncée. Il a des rameaux fins et retombants, des feuilles solitaires ou opposées, ovales, de 4 à 7 cm de long et à pétiole court. Elles sont pointues à la base et mucronées à la pointe, possédant 4 à 8 nervures latérales et une face inférieure légèrement poilue. Les fleurs sont vert-jaune à blanc crème avec un calice rouge à 5 sépales soudés et de longues étamines réunies en boules insérées axillairement sur des pédoncules de 5 à 10 mm. Les fruits sont petits (environ 10 à 15 mm), en forme de cônes, se cassent facilement renfermant plusieurs graines (Von Maydell, 1983).

### 1.2. Distribution

*Anogeissus leiocarpus* est présente en Afrique de l'Ouest, du Sénégal au Cameroun et étendue à l'Ethiopie et à l'Afrique de l'Est. Poussant dans les forêts sèches et les forêts galeries, sa répartition s'étend du Sahara jusqu'à la couche externe des forêts tropicales humides (Arbab, 2014 ; Ouédraogo *et al.*, 2013).

### 1.3. Utilisations en médecines traditionnelles

*Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr. (Combretaceae), également connu sous le nom de bâton à mâcher ou l'arbre d'essieu, a une longue histoire d'utilisation traditionnelle pour son emploi contre plusieurs maladies humaines. Les feuilles de *A. leiocarpus* sont utilisées dans le traitement des maladies de peau, de la fièvre, de la diarrhée, du paludisme, et des infections de l'estomac (Chaabi *et al.*, 2008). *A. leiocarpus* est utilisée pour traiter des infections bactériennes. Les racines et brindilles de cette plante sont utilisées comme bâtons à mâcher pour l'hygiène bucco dentaire. Diverses parties de *A. leiocarpus* (racines, feuilles, écorces de tige et brindilles) sont utilisées dans la lutte contre la gonorrhée, la toux, les plaies, les infections aiguës des voies respiratoires, les infections de l'estomac, la fièvre, la tuberculose, la dysenterie amibienne, le paludisme, la trypanosomiase, la fièvre jaune, la jaunisse, les vers intestinaux et plusieurs types d'infections microbiennes (Aké Assi, 1992 ; Salih *et al.*, 2017).

Cette plante est couramment utilisée dans le nord de la Côte d'Ivoire par les éleveurs pour traiter différentes pathologies. Koné *et al.* (2019) et Julienne *et al.* (2021), lors de leurs études ont confirmé que *A. leiocarpus* est une plante utilisée en médecine vétérinaire et notamment dans le traitement des maladies parasitaires causées par *Haemonchus contortus*.

### 1.4. Données pharmacologiques

Les propriétés antihelminthiques, antidiabétiques, antioxydantes, antimicrobiennes, antibactériennes, antispasmodiques, analgésiques, anti-inflammatoires, antihypertensives sont les activités pharmacologiques les plus attribuées à *Anogeissus leiocarpus* (Julienne *et al.*, 2021). L'extrait méthanolique de l'écorce de tige de *A. leiocarpus* a montré une activité antitrypanosomiase contre quatre souches de *Trypanosoma* (Shuaibu *et al.*, 2008a) et une activité leishmanicide (Shuaibu *et al.*, 2008b). Il a été également rapporté que l'extrait aqueux de l'écorce de tige de *A. leiocarpus* combat la dysfonction érectile chez les Rats Wistar mâles (Ademosun *et al.*, 2019). Une diminution spontanée de la glycémie chez des rats diabétiques a été observée après administration de l'extrait aqueux des feuilles de *A. leiocarpus* (Etuk & Mohammed, 2009). Cette diminution de la glycémie serait liée à l'action inhibitrice de l' $\alpha$ -amylase et de l' $\alpha$ -glucosidase par l'extrait aqueux de cette plante (Adefegha *et al.*, 2016). Des études ont montré aussi que l'écorce du tronc de *A. leiocarpus* exerce des effets antihypertenseurs significatifs sur la NG-nitro-L-arginine chez des rats hypertendus induits par l'ester méthylique (Belemnaba *et al.*, 2017). Les extraits méthanolique et acétate d'éthyle des feuilles de *A. leiocarpus* ont montré des propriétés antioxydantes et antibactériennes (Victor & Grace, 2013). Quant à l'extrait dichlorométhane de *A. leiocarpus*, il a montré une activité

antiplasmodiale *in vitro* contre *Plasmodium falciparum* (CI<sub>50</sub> de 3,8 g/ml), le parasite protozoaire qui est responsable du paludisme chez l'homme (Vonhron-Sénécheau *et al.*, 2003). Un groupe de chercheurs a étudié l'effet de l'extrait méthanolique de *A. leiocarpus* sur la fonction hépatique chez des souris infectées par *Plasmodium berghei* (Akanbi *et al.*, 2014). Certains auteurs ont montré l'action antioxydante et inhibitrice des extraits de *A. leiocarpus* contre des enzymes clés liées au diabète de type II, la maladie d'Alzheimer et l'hyperpigmentation cutanée. D'autres chercheurs ont obtenu également des effets antiprolifératifs potentiels avec *Anogeissus latifolia* sur les cellules cancéreuses du côlon en particulier la lignée cellulaire HCT116 du cancer du côlon humain (Diab *et al.*, 2015). Les propriétés antioxydantes de l'extrait aqueux d'écorce de tige de *Anogeissus leiocarpus* ont été montrées contre l'ulcère gastrique induit par l'éthanol chez le rat (Hafsat *et al.* 2021).

### 1.5. Composition chimique

Selon Julienne *et al.* (2021), de nombreux métabolites secondaires dont les alcaloïdes, les flavonoïdes, les tanins, les saponines, les quinones, les coumarines sont présents dans les différents organes de *Anogeissus leiocarpus*, lui conférant ses propriétés pharmacologiques. D'ailleurs, de nombreux constituants bioactifs ont été isolés de *Anogeissus leiocarpus* tels que l'acide gallique, l'acide ellagique, les glycosides de l'acide ellagique et de l'acide flavellagique tels que l'acide 3,3'-di-*O*-methyllellagic, l'acide 4'-β-D-xyloside et l'acide 3,4,3'-tri-*O*-methylflavellagique ; ainsi que la quercétine, la rutine, la castalagine, l'anolignane A, B, C, l'anogeissinine et d'autres composés (Lin *et al.*, 1991).

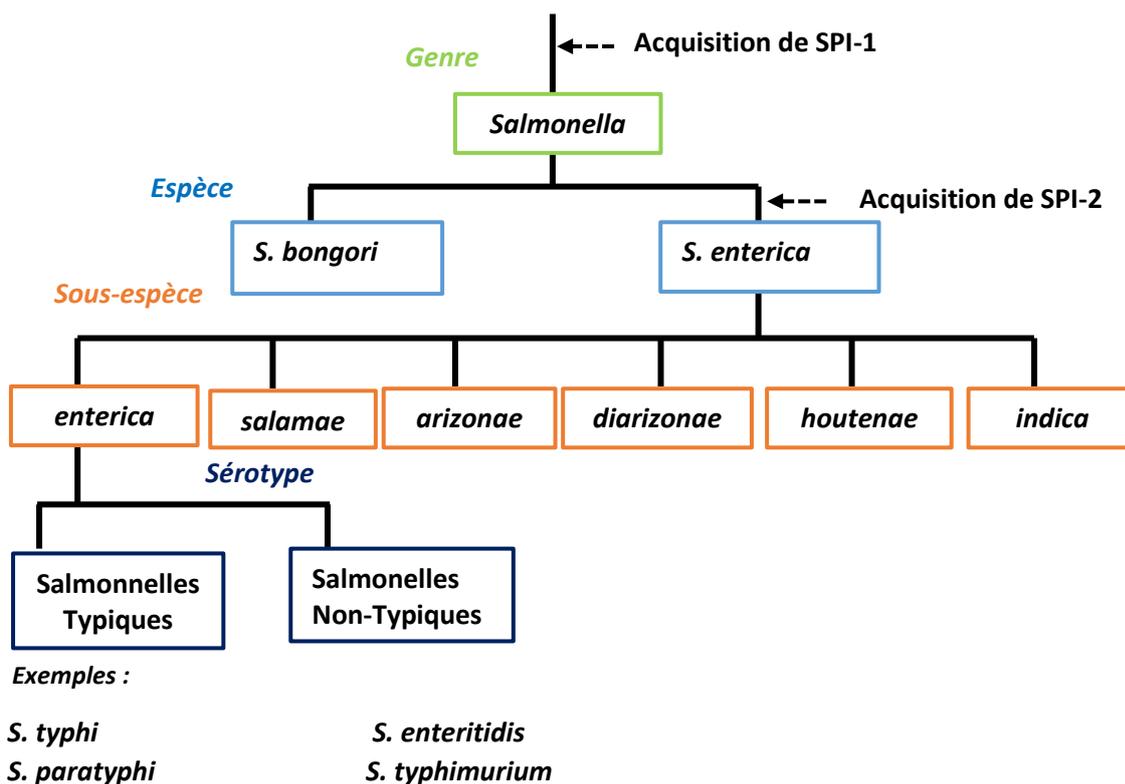
## 2. Généralités sur les Salmonelles

### 2.1. Genre *Salmonella* : taxonomie et nomenclature

Les Salmonelles (genre *Salmonella*) sont des bactéries Gram négatif de la famille des *Enterobacteriaceae*. De forme allongée dite bacille, elles mesurent avec le flagelle entre 2 et 5 µm de long pour un diamètre de 0,6 à 1 µm. Elles sont aéro-anaérobies facultatives, oxydase négative, catalase positive et non sporogènes. Elles sont à l'origine de nombreuses maladies chez l'Homme, mais aussi chez les animaux.

La nomenclature du genre *Salmonella* a longtemps été débattue (Agbaje *et al.*, 2011). Initialement, la classification était basée sur des données épidémiologiques, biochimiques et sérologiques. Avec le développement de nouvelles techniques d'analyse comme l'hybridation ADN-ADN, de nombreuses espèces du genre *Salmonella* ont été regroupées (Ryan *et al.*, 2017). Aujourd'hui, deux espèces sont reconnues par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) :

*Salmonella enterica* et *Salmonella bongori*. La première étant divisée en 6 sous-espèces : *enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae* et *indica* (Figure 1).



**Figure 1** : Classification du genre *Salmonella*. (Source : Issenhuth-Jeanjean, 2014)

Chaque nouveau sérotype identifié est enregistré au Centre Collaborateur de l'OMS (CCOMS) pour le typage et la sensibilité des Salmonelles aux antibiotiques (Institut Pasteur – France), selon le schéma de White Kauffmann - Le Minor, basé sur la description de trois antigènes de surface (O, H et K). A ce jour, plus de 2600 sérotypes ont été enregistrés avec plus de 50% appartenant à la sous-espèce *S. enterica enterica* (Tableau I), responsable à 99% des infections chez l'Homme et chez les animaux (Brenner *et al.*, 2000).

**Tableau I** : Nombre de sérovars dans chaque espèce et sous-espèce du genre *Salmonella* (Issenhuth-Jeanjean *et al.*, 2014)

<i>Salmonella enterica</i>	Nombre de sérovars
Sous espèce <i>enterica</i>	1586
Sous espèce <i>salamae</i>	522
Sous espèce <i>arizonae</i>	102
Sous espèce <i>diarizonae</i>	338
Sous espèce <i>houtenae</i>	76
Sous espèce <i>indica</i>	13
<i>Salmonella bongori</i>	22
TOTAL	2659

## 2.2. Habitats, mode de contamination

Les salmonelles sont largement répandues dans le monde. Elles peuvent infecter les animaux de rente tels que les volailles, les bovins, les ovins, les porcins, les poissons (Ferrari *et al.* 2019), les animaux sauvages et les animaux de compagnie (Kiebler *et al.*, 2020). L'Homme peut être facilement infecté *via* la consommation d'aliments ou d'eau contaminés (Cho *et al.*, 2020). En fonction du type d'hôte et des symptômes qu'ils provoquent, trois groupes de *Salmonella enterica enterica* peuvent être identifiés (Bäumler *et al.*, 1998) :

- Les Salmonelles provoquant des fièvres typhoïdes ou paratyphoïdes chez l'Homme telles que *S. typhi* et *S. paratyphi* ;
- Les Salmonelles provoquant des salmonelloses non typhiques (SNT) chez l'Homme et adaptées à de nombreuses espèces animales (bovins, ovins, volailles, souris, ...) telles que *S. typhimurium* et *S. enteritidis*.
- Les Salmonelles adaptées à un type d'espèce comme par exemple *S. gallinarum* chez la poule ou *S. abortusovis* chez les ovins.

### 2.3. Salmonelles chez l'Homme

#### 2.3.1. Fièvres typhoïdes et paratyphoïdes

Les sérotypes responsables des fièvres typhoïdes et paratyphoïdes sont *S. typhi* et *S. paratyphi*. Les bactéries se transmettent par l'intermédiaire de nourriture ou d'eau contaminée et par contact entre malades. La maladie se propage plus facilement dans les pays en voie de développement où les conditions d'hygiène sont précaires. Les principaux symptômes sont la fièvre, les maux de tête, l'anorexie, l'abattement et les douleurs abdominales avec diarrhée ou constipation. Après plusieurs semaines, en fonction de la génétique de l'hôte, de la sévérité de l'infection et de facteurs environnementaux, le patient peut éliminer complètement la bactérie. Cependant, dans 5% des cas, il peut devenir porteur sain asymptomatique, on parle alors de portage chronique (Gunn *et al.*, 2014). Ce réservoir environnemental pourrait expliquer la résurgence continue d'infections dans la population humaine.

#### 2.3.2. Gastroentérites ou Salmonelloses non typhiques

Les principaux sérotypes responsables de gastroentérites ou Salmonelloses Non Typhiques (SNT) sont *S. enteritidis* et *S. typhimurium* (EFSA, 2021). Les élevages d'animaux de rente sont les principaux réservoirs environnementaux des Salmonelles responsables de SNT chez l'Homme. Les SNT sont des zoonoses ; les bactéries sont transmises à l'Homme par la consommation de viande, d'œuf, de lait cru ou de fromages contaminés. Les principaux symptômes sont la fièvre, la diarrhée, les vomissements et les douleurs abdominales. En Afrique, les SNT sont l'une des principales causes de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). Plusieurs caractères biochimiques propres aux Salmonelles pouvant être mis en évidence par différents tests permettent leur identification (Tableau II).

**Tableau II** : Caractères biochimiques d'identification de *Salmonella* (Gledel, 1996)

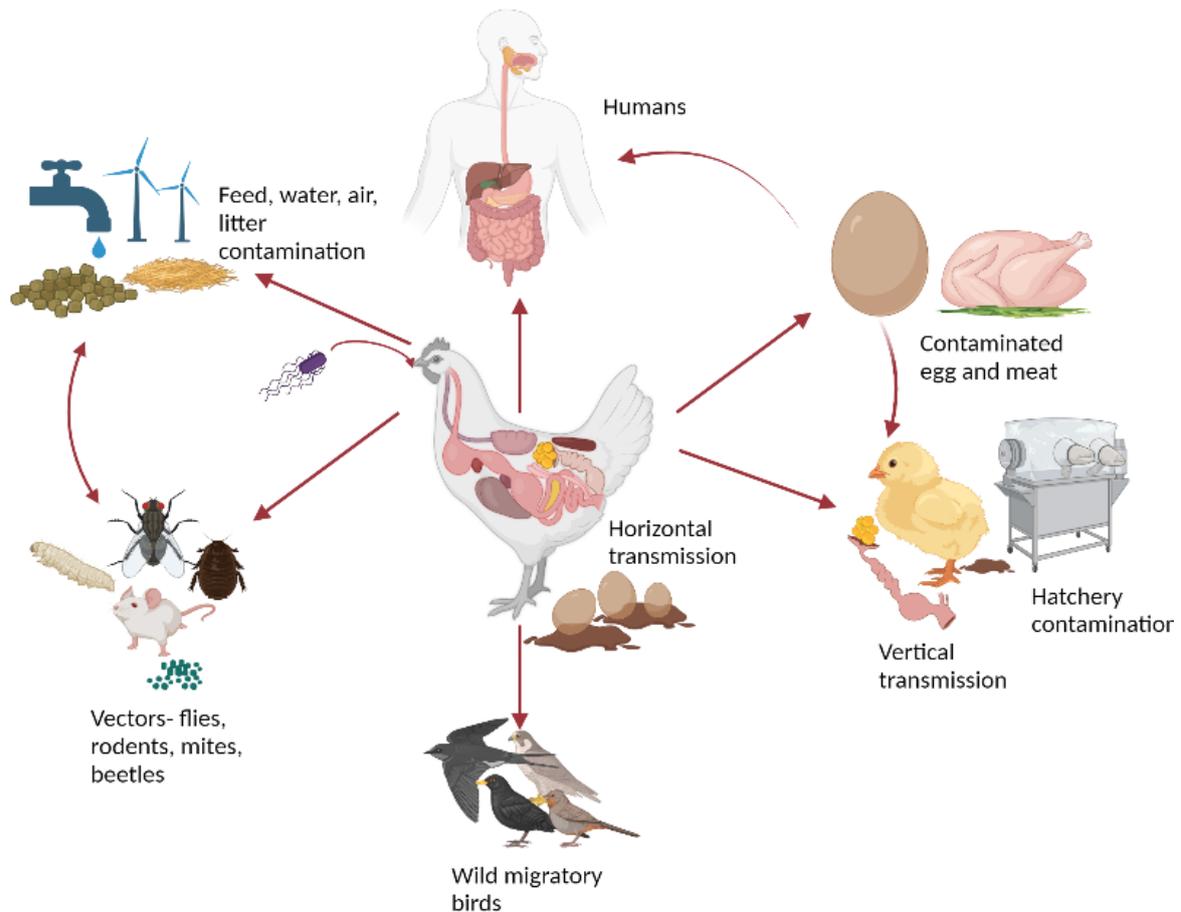
Tests	Réaction	Tests	Réaction
Mobilité	+	Fermentation de	
Reduction des nitrates	+	Glucose avec gaz	+
Oxydase	-	Mannitol	+
Catalase	+	Maltose	+
Uréase	-	Lactose	-
Indole	-	Saccharose	-
Production d'H <sub>2</sub> S	+	Salicine	-
Utilisation du citrate	+	Adonitol	-
Rouge de méthyle	+	Dulcitol	+
Vogue – Proskauer	-	Lysine décarboxylase	+
Gélatinase	+/-	Arginine dihydrolase	+
ONPG	+/-	Ornithine décarboxylase	+
Tétrathionate réductase	+	Désaminase de la phénylalanine	-

## 2.4. Salmonelles dans les élevages des volailles

### 2.4.1. Différentes voies de transmission de *Salmonella* chez les volailles

Les volailles, lors d'une infection par *S. enteritidis* ou *S. typhimurium*, ne présentent pas de symptômes particuliers : on parle de portage asymptomatique (Mughini-Gras *et al.*, 2014). Après une infection systémique très rapide, pouvant mener à la mort de très jeunes individus, la bactérie persiste dans les caecae des animaux et est excrétée dans les fientes (Figure 2) (Menanteau *et al.*, 2018).

Toutefois, au cours du cycle de production, les volailles peuvent être infectées par des salmonelles par différentes voies, notamment par contact avec des animaux porteurs comme les rongeurs, les chats et les insectes. Les aliments pour volailles contaminés, la litière, l'eau et la transmission par aérosol contribuent également à la transmission de *Salmonella* (O'Bryan *et al.*, 2022).



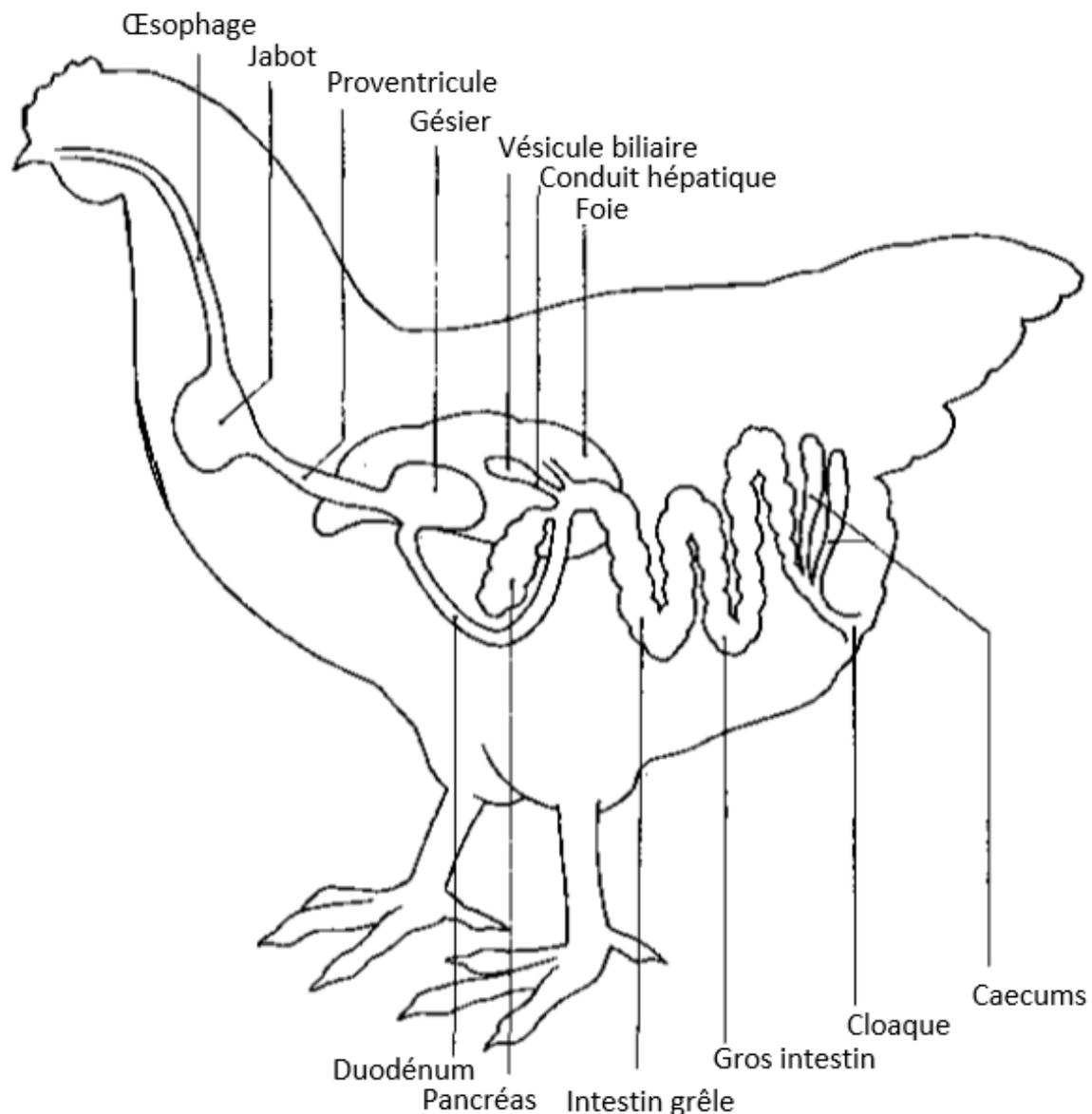
**Figure 2.** Aperçu des différentes voies de transmission de *Salmonella* (Menanteau *et al.*, 2018 ; O'Bryan *et al.*, 2022).

La contamination des œufs par les *Salmonelles* peut se faire soit par la voie horizontale soit par la voie verticale, notamment par le sérotype *S. enteritidis*. En transmission verticale ou transovarienne, l'infection se produit directement dans le jaune d'œuf, la membrane vitelline et l'albumen avant la ponte de l'œuf. L'infection prend son origine dans les organes reproducteurs tels que l'ovaire et l'oviducte par *S. enteritidis*. En conséquence, les bactéries pénètrent dans l'œuf avant même que la coquille ne soit formée dans l'oviducte (De Reu *et al.*, 2006). Lors d'une transmission horizontale ou fécale-orale, les œufs sont contaminés par la pénétration de la coquille à partir du tractus gastrointestinal (TGI) colonisé. De plus, les matières fécales contaminées transfèrent l'agent pathogène aux œufs pendant ou après la ponte. Les excréments servent de réservoirs de nutriments pour la croissance de *Salmonella*, contaminant l'environnement et infectant potentiellement le reste du troupeau dans le même enclos. La pénétration bactérienne de l'œuf est plus rapide au cours des premières minutes post-oviposition, car certaines cuticules sont immatures et peu de pores sont ouverts (Padron, 1990).

La contamination de la coquille externe par *Salmonella* est évidente dans les œufs collectés dans des nids et des couvoirs contaminés. Certaines études ont rapporté qu'il n'y avait pas de relation directe entre l'épaisseur de la coquille des œufs et la pénétration de *Salmonella typhimurium*, mais les œufs avec des coquilles à densité élevée ont tendance à offrir plus de résistance contre la pénétration de *S. enteritidis* (De Reu *et al.*, 2006).

Les insectes peuvent agir comme vecteurs de *Salmonella* dans les élevages de volailles. Les blattes, par exemple, ont le potentiel d'introduire des agents pathogènes d'origine alimentaire comme *Salmonella* dans les installations de production de volaille en raison de leur capacité à contaminer de manière croisée et à transmettre l'agent pathogène à des individus non infectés au sein de leur groupe. Des études ont indiqué que les blattes infectées par *S. typhimurium* peuvent transférer la bactérie à la surface de l'œuf (Kopanac *et al.*, 1994). Il a été démontré que les mouches capturées dans les élevages de volailles hébergent des salmonelles. L'acarien des volailles (*Dermanyssus gallinae*) a été impliqué comme vecteur biologique de *Salmonella enteritidis* et il a été signalé qu'il transportait la bactérie dans les locaux avicoles. Il est suggéré que la principale source d'infection pourrait être l'ingestion orale d'acariens contaminés écrasés par les poussins, ainsi que le repas de sang de l'acarien (Sparagano, 2009). Il a été constaté que *Alphitobius diaperinus*, également connu sous le nom de coléoptère de la litière, transmettait *Salmonella* aux volailles lors d'une infection expérimentale (Leffer *et al.*, 2010). Aussi, des rongeurs tels que les souris peuvent être porteurs de *Salmonella* dans les troupeaux de pondeuses (Meerburg, 2007). Les souris sauvages présentes dans les élevages de volailles peuvent constituer une riche source de multiples phénotypes et génotypes de *S. enteritidis* (Meerburg, 2007). Dans les pays africains, *S. kentucky* et *S. enteritidis* étaient les principaux sérotypes isolés des lézards et des rongeurs habitant les poulaillers. On émet l'hypothèse que les excréments des lézards et des rongeurs pourraient contaminer la nourriture et la litière, constituant ainsi une menace pour la biosécurité (Raufu *et al.*, 2019). Les Salmonelles peuvent coloniser les intestins des oiseaux sauvages et les transformer en réservoirs asymptomatiques. Différents sérotypes de *Salmonella* ont été isolés chez des oiseaux sauvages, principalement des passereaux, dans le nord de l'Angleterre (Hughes *et al.*, 2008). La souche DT160 de *S. typhimurium* a provoqué une mortalité importante chez les oiseaux sauvages et des maladies gastrointestinales chez l'homme en Nouvelle Zélande en 2000, indiquant un risque zoonotique (Alley *et al.*, 2002). Des oiseaux sauvages comme un ibis à cou chamoisé, un seriema à pattes rouges et une tourterelle à oreilles capturés à proximité d'installations avicoles étaient infectés par *Salmonella*.

De plus, *S. typhimurium* dominait le sérotype isolé des pigeons sauvages (Sousa *et al.*, 2010). On suppose que ces oiseaux jouent un rôle essentiel dans la transmission des sérotypes de *Salmonella* aux volailles et aux humains lors de la migration, des mouvements saisonniers et de l'alimentation (Fu *et al.*, 2022). En outre d'autres études ont révélé que 32,3 % des agents pathogènes bactériens identifiés dans la population d'oiseaux sauvages d'un parc national d'Ukraine étaient positifs à *S. enteritidis*. Ces oiseaux migrent vers diverses parties du monde, contribuant à la distribution de l'agent pathogène dans des endroits éloignés (Obukhovska, 2013).



**Figure 3** : Schéma de l'appareil digestif de la poule (De Reu *et al.*, 2006)

---

## 2.4.2. Pathogénicité de *Salmonella* chez les volailles

### 2.4.2.1. Adhésion et invasion des cellules épithéliales intestinales

La pathogénèse de *Salmonella* peut être divisée en plusieurs étapes, notamment l'adhésion et l'invasion des cellules épithéliales intestinales, la survie, la multiplication au sein des cellules hôtes et la propagation extra-intestinale. *Salmonella*, étant un pathogène entérique, atteint l'intestin par ingestion orale (transmission horizontale) à partir d'aliments et d'eau contaminés. Même une très faible dose infectieuse de *Salmonella enteritidis*, aussi faible que 1 à 5 cellules bactériennes, peut entraîner une infection chez les poussins d'un jour. La période d'incubation des *Salmonella* est généralement de 7 à 14 jours (Tajkarim, 2007). La capacité de la bactérie à résister à un pH de 3,7 dans l'estomac aide la bactérie à traverser l'environnement acide de l'estomac (Tajkarim, 2007). En atteignant l'intestin grêle, *Salmonella* envahit et adhère aux cellules épithéliales intestinales à l'aide d'adhésines fimbriales. L'entrée des salmonelles dans la muqueuse intestinale est facilitée principalement par les cellules M situées au-dessus des plaques de Peyer (tissus lymphoïdes associés à la muqueuse). D'autres voies incluent l'internalisation par les cellules dendritiques et l'absorption par les entérocytes médiées par des protéines effectrices associées aux gènes de virulence dans les Ilots de Pathogénicité de type I (IPSI) et les Systèmes de Sécrétion de type III (SSTT) (Higginson *et al.*, 2016 ; Broz *et al.*, 2012).

Les cellules M, cellules spécialisées d'échantillonnage d'antigènes de l'épithélium intestinal, jouent un rôle essentiel dans l'absorption et le transport actif (transcytose) de *Salmonella* vers les follicules lymphoïdes sous-jacents. Cette absorption de l'antigène bactérien par les cellules M est vitale dans le développement des réponses immunitaires muqueuses et systémiques, car les antigènes de *Salmonella* sont délivrés aux phagocytes mononucléés comme les cellules dendritiques (DC) et les macrophages (Kobayashi *et al.*, 2019).

### 2.4.2.2. Survie et multiplication de *Salmonella* dans les cellules hôtes

Les macrophages peuvent internaliser les Salmonelles mais sont incapables de les tuer car les bactéries peuvent inhiber la fusion des phagosomes avec les lysosomes secondaires, mécanisme utilisé par les macrophages pour détruire les agents pathogènes intracellulaires. Cela améliore la capacité de survie intracellulaire des bactéries (Buchmeier & Heffron, 1991). *Salmonella* prolifère à l'intérieur des macrophages au sein d'une structure appelée vacuole contenant des salmonelles (VCS) et finit par se déplacer largement vers les ganglions lymphatiques mésentériques drainants, conduisant à une bactériémie et à une invasion d'organes systémiques tels que le foie, la rate, les ovaires et la vésicule biliaire

---

(Buchmeier & Heffron, 1991). Les oiseaux jeunes et adultes sont généralement infectés par l'espèce envahissante *S. enteritidis*. Les jeunes oiseaux ont tendance à développer une maladie systémique avec des taux de mortalité élevés, tandis que les oiseaux adultes peuvent rester porteurs asymptomatiques après la colonisation par l'agent pathogène bactérien. La dose d'infection joue un rôle essentiel dans le développement des signes cliniques, la Salmonellose clinique étant plus susceptible de se développer chez certains oiseaux infectés par de fortes doses de *S. enteritidis* (Velge *et al.*, 2005).

La fièvre typhoïde est causée par la dissémination sanguine du sérotype *Typhi* de *S. enterica* (WHO, 2003). Les sérotypes non invasifs du SNT sont confinés au tractus gastro-intestinal, où ils provoquent une inflammation importante, notamment une infiltration, une nécrose des cellules épithéliales, un œdème et éventuellement une entérocolite (Coburn *et al.*, 2007). En bref, *Salmonella* a orchestré des mécanismes pour co-évoluer avec leurs hôtes en modifiant les processus cellulaires favorisant la survie bactérienne et la prolifération intracellulaire.

Les facteurs pathogènes de *Salmonella* sont contrôlés par des gènes de virulence et des plasmides, situés dans les Ilots de pathogénicité de *Salmonella* (IPS). Les IPS sont un groupe de gènes situés dans des zones spécifiques des chromosomes bactériens qui englobent plusieurs facteurs de virulence, notamment les invasines, les adhésines et les toxines. *Salmonella* contient un total de vingt trois IPS, IPS1 et IPS2 étant les deux plus critiques. Ces deux IPS codent pour un appareil moléculaire appelé système de sécrétion de type III (SSTT) ou seringue moléculaire, responsable de l'injection de protéines effectrices produites par *Salmonella* dans la cellule hôte, établissant ainsi la survie intracellulaire et la propagation de *Salmonella* à l'intérieur de l'hôte (Coburn *et al.*, 2007).

Le genre *Salmonella* possède deux types de systèmes de sécrétion de type III, T3SS1 et T3SS2, trouvés respectivement dans SPI1 et SPI2. En bref, T3SS1 est responsable du transfert des protéines effectrices nécessaires à l'invasion bactérienne, à la biogenèse du VCS et à l'inflammation. D'autre part, le T3SS2 facilite le transport des protéines effectrices qui favorisent la maturation du VCS, la biogenèse des Filaments Induits par *Salmonella* (FIS), la survie intracellulaire de l'agent pathogène et son mouvement à l'intérieur des vacuoles contenant des *Salmonella* (Bhunja, 2018).

Les effecteurs de SPI2/T3SS impliqués dans la maturation du VCS et la biogenèse du FIS sont essentiels à la conversion du VCS précoce (endosomes) en VCS tardif, où se produit la

réplication bactérienne. Les VCS sont des structures spécialisées exprimées par SSTT sur les IPS2 utilisées par les bactéries pour résider à l'intérieur des cellules épithéliales et des macrophages pour échapper à la destruction par les macrophages grâce à l'inhibition de la fusion lysosomale (Higginson *et al.*, 2016). Les filaments induits par *Salmonella* (FIS) sont des tubules endosomaux qui s'étendent à partir du VCS. Ils sont caractérisés par des glycoprotéines lysosomales et des marqueurs endocytaires tels que Rab4, Rab9, Rab11 et Rab5, entre autres. Ces FIS à l'intérieur du cytoplasme de la cellule hôte forment une niche répliquative complexe. Le rôle exact des SIF dans l'infection à *Salmonella* est encore inconnu (Knuff & Finlay, 2017). Il a été rapporté que le complexe SifASKIPRab9 diminuait le recrutement de M6PR (marqueurs endosomal/lysosomal tardifs vers la membrane du VCS) et réduisait le mouvement des enzymes lysosomales vers le VCS. Cette réduction du mouvement des enzymes lysosomales, augmentant la population de VCS, contribue à protéger les salmonelles intracellulaires des mécanismes de défense de l'hôte (McGourty *et al.*, 2012).

#### 2.4.2.3. Propagation extra-intestinale de *Salmonella*

En outre, des études ont montré qu'une infection par *Salmonella typhimurium* amène les entérocytes à se transformer en cellules M, exacerbant ainsi l'inflammation et la réponse immunitaire associée à une translocation accrue des bactéries à travers la sous muqueuse. Cette différenciation des cellules intestinales amorcées en cellules M favorise la colonisation par *Salmonella* et l'invasion de l'hôte. Le mécanisme est contrôlé par la protéine effectrice de type III SopB via la voie de signalisation  $\beta$  caténine (Tahoun *et al.*, 2012). Il a été également rapporté que la suppression de SPI1 entraînait une diminution de la colonisation de *Salmonella typhimurium* dans le caecum et la rate des poulets. Aussi, la suppression de SPI2/T3SS n'affectait pas de manière significative la colonisation caecale par *S. typhimurium*. Cependant, la mutation SPI2 réduit la capacité de *S. typhimurium* à envahir la rate chez les poussins d'une semaine (Dieye *et al.*, 2009). De plus, il a été rapporté que la perturbation du spaS, une composante essentielle du SPI-1 T3SS a eu peu d'influence sur la colonisation caecale chez les poussins d'un jour. En revanche, il a été démontré que la souche mutante spaS réduisait la colonisation caecale et diminuait l'invasion du foie lors d'une infection expérimentale à *S. typhimurium* chez des oiseaux âgés d'une semaine (Dieye *et al.*, 2009). De plus, la suppression d'un autre gène, ssaU, qui code pour des composants majeurs du SPI-2 T3SS n'a pas affecté la colonisation bactérienne de l'intestin mais a présenté une réduction significative de la dissémination de *S. typhimurium* dans le foie tout au long de l'étude (Jones *et al.*, 2007).

Une étude réalisée également sur *S. typhimurium* a montré que la suppression des gènes SPI-1 et SPI-2 a eu un impact négatif sur la capacité de la souche mutante à coloniser et provoquer des lésions systémiques du caecum et du foie chez les poulets d'un jour (Pico-Rodríguez *et al.*, 2023). *Salmonella spp.* a la capacité de former des biofilms à température ambiante sur des surfaces en environnements avicoles et dans des usines de transformation des aliments. Ces cellules en biofilm sont très résistantes aux antimicrobiens et contribuent à la virulence accrue des bactéries, établissant ainsi une infection chronique. La capacité de *Salmonella* à survivre dans un biofilm pose des défis pour les procédures de désinfection dans les environnements avicoles (Merino *et al.*, 2019).

### **2.4.3. Stratégies de lutte contre les Salmonelles chez la volaille**

#### **2.4.3.1. Biosécurité**

La mise en œuvre de bonnes mesures de biosécurité joue un rôle clé dans la lutte contre la transmission de *Salmonella* et l'amélioration de la sécurité alimentaire (Fraser *et al.*, 2010). Les contrôles de biosécurité comprennent la propreté à l'entrée et sur le site, la vaccination, le trempage des bottes et l'hygiène des mains des employés. De plus, un meilleur contrôle des rongeurs et des mouches, un contrôle des acariens et une désinfection entre les troupeaux sont recommandés pour réduire l'incidence de *Salmonella* et arrêter le cycle de la maladie dans les élevages (Gosling *et al.*, 2014). Pour réduire la prévalence de *Dermanyssus gallinae*, un vecteur biologique de *Salmonella*, des mesures de biosécurité appropriées doivent être utilisées (Sylejmani *et al.*, 2016). Une bonne gestion des détritiques a été associée à une diminution du risque de détection de *Salmonella* dans les poulaillers. De plus, une contamination plus élevée par *Salmonella* était liée à des copeaux de bois frais utilisés en lieu et place de litières plus anciennes (Volkova *et al.*, 2011). Par conséquent, un recyclage approprié des détritiques à l'aide de méthodes telles que le compostage permet de réduire le nombre de *Salmonella* dans les détritiques de volailles (Eid *et al.*, 2023). En outre, l'utilisation de désinfectants appropriés est essentielle pour limiter l'introduction et la dissémination de maladies chez les oiseaux (Abdulghaffar *et al.*, 2016). Ainsi, des mesures strictes de biosécurité sont-elles nécessaires pour lutter contre la prévalence saisonnière de *Salmonella* chez les volailles.

#### **2.4.3.2. Utilisation des Antibiotiques**

Les antibiotiques sont utilisés dans l'alimentation des volailles depuis les années 1940, principalement en raison de leurs avantages sur l'efficacité alimentaire des oiseaux, l'amélioration de leurs performances de croissance et l'inhibition des pathogènes entériques (Alagawany *et al.*, 2018). La liste des antibiotiques utilisés comme additifs alimentaires pour

lutter contre les pathogènes entériques comprend de petites quantités de pénicilline, de tétracycline et de chloramphénicol (Marshall & Levy, 2011). Cependant, l'utilisation thérapeutique des antibiotiques dans l'alimentation des volailles est à revoir en raison de l'inquiétude croissante concernant la résistance aux antibiotiques dans la chaîne alimentaire humaine (Eckert *et al.*, 2010). Des sérotypes de *Salmonella* résistants ont été signalés contre des antibiotiques tels que les quinolones, le chloramphénicol et les céphalosporines dans le monde entier (Karon *et al.*, 2007). De plus, les utilisations d'antibiotiques sont associées à la destruction des bactéries intestinales bénéfiques qui aident à combattre les pathogènes entériques (Karon *et al.*, 2007). Par conséquent, les alternatives aux antibiotiques comme les probiotiques, les prébiotiques, les symbiotiques, les postbiotiques, sont aujourd'hui de plus en plus utilisées aussi bien chez les humains que chez les animaux.

### 2.4.3.3. Prébiotiques

Les prébiotiques et les probiotiques jouent un rôle important dans la promotion de la santé intestinale et dans l'équilibre de la flore intestinale bénéfique chez les volailles. Selon l'Association Scientifique Internationale pour les Probiotiques et les Prébiotiques, les prébiotiques peuvent être définis comme « un substrat qui est utilisé sélectivement par les microorganismes hôtes conférant ainsi un bénéfice pour la santé » (Gibson *et al.*, 2017). La FAO et l'ONU ont défini les prébiotiques comme un « composant alimentaire non viable qui confère un bénéfice pour la santé de l'hôte associé à la modulation du microbiote » (Pineiro *et al.*, 2008). Un prébiotique doit être capable de résister à l'hydrolyse des acides gastriques, à des enzymes et à l'absorption par le tractus gastro-intestinal supérieur (Ricke *et al.*, 2020). Un prébiotique idéal devrait également être métabolisable par le microbiote intestinal, être un composé sélectif qui favorise la croissance de la flore intestinale bénéfique, qui a la capacité de réguler la réponse immunitaire en faveur de l'hôte tout en supprimant les agents pathogènes, améliorant ainsi la santé et les performances de celui-ci (Hajati & Rezaei, 2010). Il a été démontré que les prébiotiques tels que les oligosaccharides et les polysaccharides non digestibles inhibent la survie et la colonisation d'agents pathogènes comme *Salmonella* en produisant de Courtes Chaînes d'Acides Gras (CCAG) comme du butyrate et de l'acétate dans les caecums, qui aident à abaisser le pH intestinal (Bogusławska-Tryk *et al.*, 2012). Certains oligosaccharides dérivés de la paroi cellulaire des levures (Fomentini *et al.*, 2016), les fructo-oligosaccharides l'inuline, et les xylo-oligosaccharides sont quelques exemples de prébiotiques utilisés dans les systèmes de production avicole pour contrôler divers agents pathogènes, y compris les Salmonelles (Pourabedin *et al.*, 2015 ; Adhikari *et al.*, 2017).

#### 2.4.3.4. Probiotiques

Les probiotiques, également connus sous le nom d'aliments microbiens, sont définis par la FAO comme des « microorganismes vivants, lorsqu'ils sont administrés en quantités adéquates, confèrent un bénéfice pour la santé de l'hôte ». Morelli *et al.* (2012) et Lilly & Stillwell, (1965) ont été les premiers à utiliser ce terme et à définir les probiotiques comme des « facteurs produits par les micro-organismes favorisant la croissance ». Dans ce contexte, les probiotiques confèrent leurs effets bénéfiques sur l'hôte à travers une exclusion compétitive, améliorant la santé, la fonction barrière, l'immunomodulation, la digestion, l'absorption, favorisant ainsi la croissance et la performance. Les qualités potentielles de candidats probiotiques sont (1) l'origine de l'hôte ; (2) non pathogène et bénéfique pour l'hôte en adhérant à la muqueuse intestinale (formation de biofilm) ; (3) tolérer l'acide gastrique et les sels biliaires ; (4) propriétés antimicrobiennes contre les agents pathogènes ; et (5) survivre au stress du post-traitement et du stockage (Fathima *et al.*, 2022). Les microorganismes probiotiques utilisés pour la supplémentation des volailles comprennent les *Bacillus* spp., levure *Saccharomyces*, *Entérocooccus* spp. (Simon *et al.*, 2001), *Streptococcus* spp. *Lactobacilles* spp. et Bifidobactérie spp. (Kabir *et al.*, 2004).

Les probiotiques disponibles sur le marché comprennent des préparations monospécifiques ou multispécifiques, ce dernier étant préféré en raison de sa capacité à agir sur plusieurs sites pour faire émerger un effet synergique global (Krysiak *et al.*, 2021). L'administration de probiotiques aux poules pondeuses a amélioré la production d'œufs, le poids et la qualité des œufs (Menconi *et al.*, 2014). La colonisation par la souche probiotique *Bacillus subtilis* CSL2 a normalisé le niveau du microbiote fécal et a augmenté les Lactobacilles chez des poules pondeuses Hy-line Brown contaminées par *Salmonella* (Oh *et al.*, 2017). La supplémentation en probiotiques contenant *Lactobacillus fermentum* et *Saccharomyces cerevisiae* chez les poulets de chair a amélioré l'efficacité alimentaire et le pourcentage des lymphocytes T intestinaux (CD4+ et CD8+) (Bai *et al.* 2013). La supplémentation continue en probiotique à base de *Bacillus* a restauré le microbiote intestinal, a diminué la charge des Salmonelles dans l'intestin et a augmenté le niveau de butyrate chez les oiseaux soumis à une infection à *S. typhimurium* (Khan *et al.*, 2020).

#### 2.4.3.5. Synbiotiques ou symbiotiques

Les synbiotiques font référence à la combinaison synergique de prébiotiques et de probiotiques, un concept utilisé pour la première fois par Gibson & Roberfroid, (1995). Dans les symbiotiques, les prébiotiques sont utilisés pour soutenir et entretenir les micro-organismes

probiotiques en modifiant la microflore intestinale, améliorant finalement la capacité des probiotiques à survivre et inhibant la colonisation de l'épithélium intestinal par des agents pathogènes. La supplémentation en symbiotiques a montré des avantages significatifs pour les animaux hôtes par rapport à l'utilisation séparée des prébiotiques et des probiotiques (Khomayezi & Adewolé, 2022). L'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO) recommande d'utiliser le terme symbiotique uniquement si l'effet combiné sur la santé est synergique (Pineiro *et al.*, 2008).

Des exemples de symbiotiques incluent des combinaisons comme les fructo-oligosaccharides avec les bifidobactéries et le lactitol avec les lactobacilles (Yadav *et al.*, 2016). La supplémentation synbiotique a été documentée pour améliorer les performances de production et atténuer le stress thermique chez des poulets de chair. Les oiseaux nourris avec des symbiotiques ont montré moins de comportements de stress thermique que les oiseaux nourris avec un régime alimentaire régulier (Mohammed *et al.*, 2018). La supplémentation en symbiotiques contenant les *Lactobacillus spp.*, de la levure *Saccharomyces cerevisiae* et l'inuline ont montré un effet positif sur la prolifération des bactéries intestinales bénéfiques comme *Bifidobacterium spp.* et *Lactobacillus spp.* chez les poulets de chair (S'liz' *et al.*, 2020). Des études ont porté sur l'effet de la supplémentation symbiotique sur les performances de production, les paramètres immunitaires et la charge des Salmonelles dans le caecum des poules pondeuses infectées. Elles ont révélé une amélioration du gain en poids corporel, la production d'œufs par poule plus élevée, une diminution des charges caecales en Salmonelles dans la colonisation caecale et une augmentation des IgA biliaires anti-Salmonelles (Luoma *et al.*, 2017). En outre, les symbiotiques peuvent aider à moduler les organes lymphoïdes, à augmenter la taille des follicules de la bourse et stimuler les immunoglobulines, améliorant ainsi l'immunocompétence contre les infections à *Salmonella typhimurium* chez les poulets de chair (Villagràn-de la Mora *et al.*, 2020). Ces résultats suggèrent que les symbiotiques ont des effets prometteurs et pourraient servir de candidats potentiels de croissance dans la production de volaille.

#### 2.4.3.6. Postbiotiques

Les postbiotiques sont des produits bactériens non viables ou des sous-produits métaboliques, soit sécrétés par des bactéries vivantes, soit dérivées après lyse cellulaire de micro-organismes probiotiques, qui confèrent des propriétés bénéfiques à l'hôte. En général, les postbiotiques vont des Courtes Chaines d'Acides Gras (CCAG) aux enzymes, en passant par les acides organiques (acide propionique et 3-phénylacétique), les peptides, les

plasmalogènes, les vitamines, les acides teichoïques, et les mucopeptides. Les postbiotiques imitent les probiotiques dans leur mode d'action, sauf qu'ils ne sont pas vivants (Aguilar-Toalá *et al.*, 2018). Les facteurs solubles sont obtenus à partir de micro-organismes probiotiques dans les parois cellulaires et cytoplasme, tels que les *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Bacillus spp.*, et *Saccharomyces cerevisiae*. Les postbiotiques profitent de l'hôte en produisant des effets immunomodulateurs, en diminuant le pH intestinal, en inhibant des bactéries pathogènes dans l'intestin, en renforçant les propriétés antioxydantes, en améliorant la santé intestinale, en protégeant l'intégrité de la barrière intestinale, et en améliorant les performances de production (Abd El-Ghany, 2020). Les postbiotiques les plus couramment utilisés sont des métabolites avec des combinaisons produits par des souches de *Lactobacillus* plantaire (Van Thu *et al.*, 2011).

Chez la volaille, des recherches ont montré des effets positifs des postbiotiques sur divers aspects de la santé et de la performance. Chez les poulets de chair exposés au stress thermique, la supplémentation postbiotique obtenue à partir de *Lactobacillus* plantaire RI11 à 0,6% (v/w) a montré des effets positifs sur les gènes liés à la santé de la barrière intestinale et a réduit l'expression des gènes de la protéine de choc thermique indiquant la fonction antioxydante du postbiotique (Humam *et al.*, 2021). Des performances de croissance accrues ont également été observées suite à l'ajout de postbiotiques produits par *L. plantaire* sur des poulets de chair maintenus dans des conditions de stress thermique (Humam *et al.*, 2019).

#### 2.4.3.7. Phytobiotiques

Les phytobiotiques sont des composés biologiquement actifs obtenus à partir de plantes utilisées en production animale comme additifs alimentaires car ils offrent des bienfaits pour la santé et favorisent la croissance de la production animale, y compris la volaille. Ces substances bioactives issues des plantes comprennent majoritairement les saponines, les flavonoïdes, les terpénoïdes et alcaloïdes (Yang *et al.*, 2015). Ces composés auraient des propriétés antioxydantes, antivirales, antimicrobiennes, anticoccidiennes, antiparasitaires, immunomodulatrices, et anti-inflammatoire (Mohammadi & Kim, 2018 ; Arain *et al.*, 2022). Il a été démontré qu'une supplémentation diététique des aliments pour volailles avec de la poudre d'ail (Pourali *et al.*, 2010), du clou de girofle (Chalghoumi *et al.*, 2013), de la poudre de menthe poivrée (Asadi *et al.*, 2017), et du gingembre (Mohamed *et al.*, 2012) améliore les performances globales de production, le taux de conversion alimentaire et le gain en poids corporel. D'autres exemples de plantes utilisées comme phytobiotiques comprennent le cumin noir, le curcuma (Ghosh *et al.*, 2020), le calendula, l'origan, le thé vert et le fenouil (El-Ghany *et al.*, 2020).

Il a été rapporté qu'une supplémentation en phytobiotique nommé *Intebio* dans le régime alimentaire des volailles en croissance infectées par *S. enteritidis* aurait diminué la réponse inflammatoire précoce via la régulation négative d'IL6, IL8L2, CASP6 et IRF7 ; ce qui limite la colonisation du pathogène. Laptev *et al.* (2019) ont découvert que la supplémentation en huile essentielle d'origan dans l'eau potable inhibait et traitait les infections liées à *S. Pullorum* et *S. Gallinarum* dans l'élevage des poulets. De plus, ils ont indiqué que l'huile essentielle d'origan utilisée en prévention était plus efficace comparativement à son usage à titre curatif. Un régime contenant 40 à 80 mg/mL de l'extrait d'ail a révélé des propriétés antimicrobiennes chez les poussins de chair infectés avec *S. typhimurium* en réduisant la mortalité et en améliorant le poids corporel (Salem *et al.*, 2017). Certains composés comme le trans-cinnamaldéhyde et l'eugénol ont diminué la croissance de *S. enteritidis* et la colonisation caecale chez les poulets de chair contaminés après dix jours d'infection (Kollanoor-Johny *et al.*, 2012). De plus, il a été rapporté que la capsaïcine naturelle dérivée du piment contrôle l'invasion des organes internes (foie, rate) par *S. Enteritidis* chez les poules pondeuses infectées (Vicente *et al.*, 2007). Toutes ces études indiquent le grand potentiel des phytobiotiques comme substitut antimicrobien contre les Salmonelles chez la volaille et son application dans les fermes commerciales.

#### 2.4.3.8. Bactériophages

Les bactériophages sont des virus qui infectent les bactéries et utilisent la machinerie hôte pour proliférer à l'intérieur de la cellule hôte. Ces phages pénètrent leur ADN dans la cellule hôte et subissent une multiplication, suivie de la libération d'un grand nombre de nouveaux bactériophages, conduisant finalement à la lyse de la bactérie pour libérer les bactériophages descendants. Dans le cycle lysogène, l'ADN du phage s'intègre dans le chromosome bactérien et peut rester en dormance pendant un certain temps sans provoquer de lyse cellulaire (Voyles, 1993). Les bactériophages sont utilisés comme alternatives aux antibiotiques de par leur spécificité, leurs moindres effets secondaires et leurs innocuités pour la flore normale de l'hôte (Iqbal *et al.*, 2016). Le traitement des carcasses de volaille contaminées par *S. Enteritidis* avec un nombre plus élevé de bactériophages a pu réduire de 93% le pourcentage de bactéries (Higgins *et al.*, 2005). L'application de cocktail de phages (F1055S, F12013S) sur les œufs infectés par *S. enteritidis* lors de leur transfert des incubateurs aux éclosiers a réduit le transfert horizontal de Salmonelles (Henriques *et al.*, 2013). De plus, l'inoculation orale de phages de *S. enteritidis* et *S. typhimurium* a réduit la dépression, la perte d'appétit et la diarrhée dans des Salmonelloses induites.

Il y a eu également une diminution significative de la colonisation caecale de Salmonelles après l'administration de phages chez les poussins infectés (Nabil *et al.*, 2018). Chez les poussins infectés par *S. typhimurium* multirésistant, une combinaison de phages a amélioré le taux de survie des poussins de 100%. Cette combinaison a diminué la charge bactérienne dans les organes internes mais n'a pas amélioré le gain en poids corporel, a rétabli le microbiote intestinal (Hao *et al.*, 2023). Ces données suggèrent que le traitement aux bactériophages pourrait améliorer le taux de survie des poulets infectés par les Salmonelles tout en réduisant la colonisation bactérienne des organes internes. La faible efficacité des phages à résister au pH acide gastrique chez des poulets lors de l'administration orale a favorisé la technique d'encapsulation (Malik, 2021). Cependant, le principal inconvénient de la phagothérapie est l'émergence de la résistance aux phages (Luong *et al.*, 2020).

### **2.4.3.9. Vaccination contre *Salmonella* chez les volailles**

#### **2.4.3.9.1. Vaccin vivant atténué**

Les vaccins vivants atténués, comme leur terme l'indique, sont des vaccins contenant les agents pathogènes bactériens qui ont été rendus inactifs ou avirulents à l'aide des méthodes d'atténuation (Tennant & Levine, 2015 ; Jia *et al.*, 2020). Ces vaccins imitent une infection naturelle car ils adhèrent à la muqueuse intestinale lorsqu'ils sont administrés par voie orale, provoquant de puissantes réponses immunitaires humorales et à médiation cellulaire (Jia *et al.*, 2020). Chez les poussins nouvellement éclos avec un système immunitaire immature, ces vaccins vivants favorisent la résistance à l'infection aux Salmonelles en inhibant la colonisation intestinale (Van *et al.*, 2005).

#### **2.4.3.9.2. Vaccin tué ou inactivé**

Les vaccins à base de bactéries tuées fabriqués à partir de préparations de bactéries entières inactivées ont été largement utilisés pour contrôler les infections liées à Salmonelle chez la volaille. Les préparations de vaccins tués font intervenir la chaleur, le formaldéhyde, l'acétone, l'oxyde d'éthylène, le bêta-propiolactone et les rayonnements ultraviolet ou gamma (Rabie & Amin, 2020). Des études ont montré que les vaccins tués disponibles contre les Salmonelles sont spécifiques à un sérovar. Il a été démontré que les vaccins tués confèrent principalement une immunité humorale et ne suscitent pas de fortes réponses immunitaires à médiation cellulaire. Par conséquent, une vaccination de rappel est nécessaire pour une protection à long terme (Singh, 2009 ; Deguchi *et al.*, 2009). Malgré l'absence d'une solide immunité à médiation cellulaire, les vaccins tués sont préférés aux vaccins vivants pour des raisons de biosécurité et de sûreté (Acevedo-Villanueva *et al.*, 2021).

---

En plus, ces vaccins multivalents sont nécessaires pour contenir la propagation d'un large éventail de sérovars de *Salmonella* présents chez la volaille (Huberman *et al.*, 2022 ; Marouf *et al.*, 2022).

#### 2.4.3.9.3. Vaccins sous-unitaires

Les vaccins sous-unitaires, constitués d'antigènes, sont utilisés chez la volaille et sont supposés être plus sûrs que les vaccins vivants atténués ou inactivés (Kang *et al.*, 2022). Les vaccins dérivés des protéines de la membrane externe et des protéines du flagelle de *Salmonella enterica serovar enteritidis* avec des adjuvants ont été utilisés pour inhiber et tuer les bactéries chez la volaille et pour induire une réponse immunitaire spécifique à l'antigène spécifique contre *Salmonella*. De plus, un vaccin trivalent a été évalué contre trois sérotypes de *Salmonelles*. Ce vaccin a augmenté également les IgY sériques et a amélioré les performances de production chez la volaille (Acevedo-Villanueva, *et al.*, 2022).

### 3. Généralités sur le stress oxydatif

#### 3.1. Stress oxydatif

Le déséquilibre entre les radicaux libres et les enzymes antioxydantes au sein des cellules ou tissus vivants, conduisant à l'oxydation des lipides, des protéines et des acides nucléiques, est une cause fondamentale du stress oxydatif. Il existe diverses sources de stress dans le secteur de l'élevage commercial, allant des problèmes environnementaux aux problèmes nutritionnels et de gestion qui compromettent les performances et la santé de la production avicole. Ces Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) sont nécessaires dans les cellules en petites quantités car elles fonctionnent également comme molécules de signalisation pendant l'homéostasie. Or, une production excessive de ces espèces entraîne un stress oxydatif. Il existe un mécanisme dans les cellules vivantes pour réduire le nombre d'espèces oxydatives grâce à l'élimination physiologique. De nombreuses espèces réactives de l'oxygène telles que le superoxyde et le peroxyde d'hydrogène sont produites au cours du métabolisme de l'oxygène. Lorsque le mécanisme antioxydant au sein des cellules vivantes s'affaiblit, la production de radicaux libres augmente dans le cadre du métabolisme physiologique de l'oxygène (Estévez, 2015). C'est pourquoi il est important que l'équilibre soit maintenu au sein des cellules grâce au bon rapport entre la formation et l'élimination des oxydants. A cet égard, différentes enzymes de récupération, notamment la superoxyde dismutase (SOD), la glutathion peroxydase (GPX) et la catalase, assurent la réduction des espèces réactives de l'oxygène (Lin *et al.*, 2006). La SOD catalyse l'anion superoxyde des radicaux tandis que l'enzyme catalase le décompose

en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub>, et l'enzyme GPX réduit les hydroperoxydes lipidiques grâce à l'ajout de glutathion (Loyau *et al.*, 2015). D'autre part, les espèces réactives de l'azote (ERN) sont produites au cours du métabolisme de l'oxyde nitrique et s'expriment uniquement dans des régions intestinales spécifiques. Les radicaux libres d'oxyde nitrique aident le fonctionnement cellulaire en matière d'immunomodulation et de neurotransmission, mais leur surproduction est mortelle pour la muqueuse intestinale (Altan *et al.*, 2003).

### **3.2. Stress oxydatif dans l'élevage des poulets**

#### **3.2.1. Facteurs responsables du stress oxydatif dans l'élevage des poulets**

##### **3.2.1.1. Stress oxydatif dû à une température ambiante élevée**

La température ambiante élevée est l'un des facteurs de stress environnementaux les plus étudiés et discutés, ce qui est considéré comme un défi important pour le secteur avicole commercial dans les régions chaudes du monde. Dans la production avicole, le stress thermique est principalement associé à une consommation alimentaire réduite, une croissance médiocre, une mortalité élevée et une qualité de viande compromise (Hashizawa *et al.*, 2013). Une température ambiante élevée crée un déséquilibre pro-oxydant et oxydant en augmentant la production de pro-oxydants et déclenche un stress oxydatif (Gonzalez-Rivas *et al.*, 2020). Les oiseaux soumis à un stress thermique ont montré des changements sans précédent dans la microstructure de l'intestin grêle. Ils présentaient une profondeur de crypte et une hauteur de villosités réduites de l'intestin grêle, ce qui endommageait la capacité d'absorption de l'intestin grêle (Marchini *et al.*, 2011). En dehors de cela, les poulets élevés sous un stress thermique cyclique ont présenté des lésions épithéliales, une apoptose et une hyperperméabilité, conduisant à l'entrée de bactéries de la région intestinale dans le système circulatoire sanguin. Le stress thermique stimule l'hypothalamus du poulet, l'axe hypophyso-surrénalien, ce qui entraîne un taux élevé de glucocorticoïdes sériques dans le sang qui réduit successivement la consommation alimentaire, la prise de poids, le poids relatif des organes immunitaires et l'immunité naturelle. Ce dysfonctionnement neuro-immunitaire modifie davantage les barrières immunitaires intestinales, permettant aux micro-organismes infectieux de migrer à travers la muqueuse entérique et de générer un infiltrat inflammatoire. L'inflammation de l'intestin entraîne une réduction de l'absorption des nutriments et entrave par conséquent la prise de poids (Zhao *et al.*, 2017).

### 3.2.1.2. Stress oxydatif dû à un dysfonctionnement des mitochondries

Chez les organismes vivants, l'énergie cellulaire est générée dans les mitochondries par phosphorylation oxydative. Ce processus de production d'énergie repose principalement sur l'action bien organisée de quatre complexes enzymatiques respiratoires. Au cours de ce processus physiologique normal de production d'énergie, près de 1 à 4 % (Costantini, 2019) de l'oxygène ne se transforme pas en eau. Cependant, il génère de l'oxygène réactif en raison de la fuite d'électrons lors des complexes I et III des chaînes respiratoires. Les cellules sont équipées de voies de dismutation efficaces ; c'est-à-dire que CuZnSOD agit dans la zone intermembranaire (également présente dans le cytosol) et MnSOD agit dans la matrice pour réduire le superoxyde en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ). En présence d'ions ferriques et cuivreux,  $H_2O_2$  est souvent encore réduit au groupe très réactif et dangereux ( $OH^\circ$  ; réaction de Fenton). Contrairement à  $O_2^{\circ-}$  et  $OH^\circ$ ,  $H_2O_2$  diffusera dans le cytoplasme via des membranes, entraînant de nouvelles réactions moléculaires retirées du site d'assemblage et atteignant ensuite de nouvelles cellules et tissus. La transmission aux cellules et tissus voisins se produira très rapidement à travers plusieurs centimètres de tissu en une fraction de seconde (Costantini, 2019). On pense que dans les conditions physiologiques traditionnelles, cette génération d'espèces d'éléments chimiques réactifs (ROS) n'est finalement pas nocive et est fermement contrôlée par les mécanismes de défense antioxydants.

En dehors de cela, le stress thermique favorise l'activité de la phospholipase A2 intracellulaire (PLA2) et de l'acide arachidonique en présence de  $Ca^{2+}$  intracellulaire chez le poulet de chair (Soares *et al.*, 2003). Cette activité enzymatique est un facteur inducteur pour initier la détérioration de la viande en augmentant significativement les réactions de peroxydation. Cette oxydation plus élevée des lipides et la production relative excessive d'acide arachidonique dans les échantillons de viande ont corroboré l'hypothèse précédente selon laquelle l'activité PLA2 était directement liée à l'apparition du syndrome (Soares *et al.*, 2009). Pour résumer, une température ambiante élevée induit des enzymes pro-oxydantes qui agissent sur les membranes phospholipidiques libérant de l'acide arachidonique et des lysophospholipides, ce qui peut potentiellement affecter la libération de  $Ca^{2+}$  du réticulum sarcoplasmique (Cheah *et al.*, 1986). La présence d'acide arachidonique en quantité substantielle dans la viande PSE révèle son rôle potentiel dans l'endommagement des membranes cellulaires. Des résultats antérieurs révèlent l'importance de l'activité de la

---

phospholipase A2 sous l'élévation de  $Ca^{2+}$  en tant que facteur déclenchant qui initie des processus dégénératifs intracellulaires dans le muscle squelettique (Soares *et al.*, 2009).

### 3.2.1.3. Stress oxydatif dû aux toxines présentes dans les aliments

Dans certains cas, les aliments pour volailles sont contaminés par un large éventail de substances adultérantes telles que la saleté, les produits chimiques, les micro-organismes, les toxines environnementales et fongiques, et sont considérés comme nuisibles à la santé et aux performances de celles-ci. Dans des conditions physiologiques normales, la muqueuse de l'intestin et les protéines de jonction serrée présentes parmi les cellules épithéliales empêchent l'absorption de ces adultérants. Malheureusement, le stress oxydatif modifie ce mécanisme de défense en altérant le processus cellulaire normal dans l'intestin. Les mycotoxines sont produites par divers champignons communément appelés moisissures, notamment l'aflatoxine, la zéaralénone, le déoxynivalénol, la fumonisine, les trichothécènes et l'ochratoxine. L'exposition de l'une de ces toxines aux cellules épithéliales intestinales induit un stress oxydatif.

Des études ont montré que la toxicité chronique provoquée par les mycotoxines endommage gravement l'immunité et l'intégrité intestinale des volailles (Wu *et al.*, 2017). L'exposition à long terme à ces mycotoxines induit la production d'Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO), qui à leur tour modifient la signalisation au niveau cellulaire, altèrent la capacité antioxydante et l'intégrité intestinale. L'exposition continue aux toxines rend l'épithélium intestinal hyperperméable. Toutes les mycotoxines intensifient l'apoptose cellulaire et affectent la santé et la production des volailles.

L'arsenic est une autre toxine mortelle, largement présente dans l'eau, les aliments pour animaux et l'environnement. Il est potentiellement toxique et provoque des effets hostiles sur la digestion et l'absorption des nutriments, entraînant des pertes potentielles de croissance des volailles. Une toxicité étendue et à long terme de l'arsenic provoque une peroxydation lipidique, réduit les antioxydants et active par conséquent l'apoptose dans les tissus du poulet (Zhao *et al.*, 2017). La toxicité de l'arsenic combinée aux traces de cuivre déclenche le gonflement et l'annihilation de la muqueuse intestinale (Wang *et al.*, 2018).

Le mauvais système de ventilation des poulaillers est responsable de l'accumulation d'ammoniac dans le hangar, rendant l'air contaminant. Les poulets ne peuvent pas respirer confortablement, ce qui entraîne une détresse respiratoire et un stress oxydatif, réduisant finalement l'efficacité de la production des volailles (Miles *et al.*, 2004). L'exposition chronique

à l'ammoniac entraîne de nombreux problèmes de santé et compromet le bien-être des poulets de chair (Feng-Xian *et al.*, 2012). La capacité d'absorption de l'intestin dépend uniquement du nombre et de la taille des villosités. Les poulets de chair soumis à une concentration élevée d'ammoniac ont une hauteur de villosités courte et une profondeur de crypte réduite entre les différentes sections de l'intestin grêle. L'ammoniac a des implications négatives sur le fonctionnement et le développement des organes immunitaires chez les poulets, compromettant ainsi l'absorption des nutriments et le système immunitaire (Feng-Xian *et al.*, 2012). Une autre étude a montré que la toxicité de l'ammoniac augmente l'activité de la créatine kinase et diminue l'activité sérique de la T-SOD, exerçant ainsi un stress oxydatif et l'apoptose de la structure muqueuse (Zhang *et al.*, 2015).

#### **3.2.1.4. Stress oxydatif et microbiote intestinal**

Dans la production de poulets de chair, le système digestif, y compris le Tractus Gastro Intestinal (TGI), joue un rôle crucial car l'efficacité alimentaire et le taux de croissance optimal sont directement liés au système digestif. Le TGI est principalement composé de microbiote qui comprend plusieurs micro-organismes tels que des bactéries, des protozoaires et des champignons. Cette population du microbiote varie selon les différents segments du TGI (Gabriel *et al.*, 2006). Lorsque l'épithélium intestinal interagit avec le microbiote, il induit la génération des ERO, qui fonctionnent comme une signalisation cellulaire dans des conditions physiologiques normales. Les jonctions serrées entre l'épithélium intestinal agissent comme des barrières et protègent l'intestin de l'oxydation (Ulluwishewa *et al.*, 2011). Des études ont rapporté que l'interaction de la muqueuse avec le microbiote intestinal et ses toxines induit une tension oxydative. La coccidiose est l'une des principales maladies parasitaires des volailles. *Eimeria* est un autre parasite pathogène responsable du stress oxydatif et des dommages à la barrière épithéliale dûs au dysfonctionnement des jonctions serrées. Les oiseaux infestés par ce parasite présentent une consommation alimentaire réduite, une absorption moyenne des vitamines et un faible taux de croissance (Naidoo *et al.*, 2008). La charge environnementale influence aussi les cellules épithéliales intestinales et stimule de la même manière les bactéries intestinales.

#### **3.2.2. Stratégies de réduction du stress oxydatif**

Comme indiqué précédemment, une mauvaise digestion et absorption des nutriments génère des espèces réactives qui déséquilibrent le statut redox de la muqueuse intestinale et conduisent à la défaillance du système antioxydant. En outre, le stress oxydatif endommage la muqueuse intestinale, entrave l'efficacité digestive et l'absorption des nutriments et influence

négalement la croissance moyenne des animaux (Yara *et al.*, 2013). La supplémentation alimentaire en nutriments ayant des propriétés antioxydantes réduit les radicaux libres intestinaux et aide à préserver la muqueuse intestinale. Il est donc indispensable de formuler une alimentation économique et appropriée contenant des agents antioxydants pour atténuer le stress oxydatif. Il a été rapporté que la supplémentation en vitamines E et C aide les poulets à lutter contre le stress oxydatif et à renforcer le fonctionnement immunitaire de ceux-ci (Min *et al.*, 2018). L'acide alpha-lipoïque, à la fois gras et soluble dans l'eau, est un puissant antioxydant et constitue un bouclier contre les dommages oxydatifs dans le Tractus Gastro Intestinal de la volaille (El-Senousey *et al.*, 2018). De nombreuses études suggèrent qu'une supplémentation en vitamine E dans l'alimentation prévient l'oxydation des lipides et qu'il est bénéfique d'éviter la décoloration de la viande. Outre l'oxydation et la décoloration des lipides, la vitamine E permet également d'éviter des pertes économiques par écoulement de la viande de poulet dans un environnement stressant. La combinaison de micronutriments antioxydants, notamment le magnésium, le zinc, le sélénium et les vitamines, peut principalement protéger la qualité de la viande de la détérioration induite par le stress oxydatif (Ismail *et al.*, 2013 ; Guo & Dalrymple, 2017). Il a été rapporté que la méthionine et le sélénium donnent des résultats positifs en cas de stress oxydatif, car ils préservent la capacité de rétention d'eau et la pigmentation de la viande.

La supplémentation alimentaire en composés polyphénoliques présente une activité antioxydante efficace (Gerasopoulos *et al.*, 2015). Equol est également un composé antioxydant obtenu à partir de l'isoflavonoïde daidzéine, une isoflavone de soja qui peut freiner la charge oxydative induite par les ERO (Liu *et al.*, 2006). En effet, Equol protège l'épithélium intestinal contre le stress oxydatif en améliorant l'expression des gènes antioxydants, en renforçant le fonctionnement des enzymes antioxydantes et en améliorant la capacité antioxydante (Lin *et al.*, 2016). L'inclusion de composés phénoliques dans la volaille s'est avérée efficace dans la lutte contre le stress oxydatif lors de la production et de la transformation de la viande de volaille. De nombreuses plantes sont riches en composés phénoliques comme les écorces de pomme, les catéchines du thé, les marcs de raisin, les graines de pois, les feuilles de romarin et différents légumes. Ces plantes sont de puissants antioxydants ; leur supplémentation dans l'alimentation pourrait améliorer la digestion des poulets de chair. Ce sont des sources naturelles d'antioxydants et des études suggèrent que ces plantes phyto-gènes sont beaucoup plus puissantes que les antioxydants synthétiques.

### **3.3.1. Mécanisme cellulaire et moléculaire**

Les radicaux étant très réactifs, ils peuvent endommager les trois classes importantes de molécules biologiques ; notamment les acides nucléiques, les lipides et les protéines.

#### **3.3.1.1. Mécanisme au niveau des acides nucléiques**

##### **3.3.1.1.1. Acide Désoxyribonucléique (ADN)**

Les Espèces Réactives de l'Oxygène (ERO) peuvent endommager les acides nucléiques par oxydation. L'ADN mitochondrial est plus vulnérable à l'attaque des ERO que l'ADN nucléaire car il se trouve à proximité du site de génération de celles-ci. Les ERO et le radical hydroxyl (OH<sup>•</sup>) réagissent directement avec tous les composants de l'ADN, tels que les bases puriques et pyrimidiques, le squelette du sucre désoxyribose et provoquent un certains nombres d'altérations, y compris des cassures simples et double brins dans l'ADN.

##### **3.3.1.1.2. Acide Ribonucléique (ARN)**

Les Espèces Réactives de l'Oxygène peuvent attaquer différents ARN produits dans l'organisme. L'ARN est plus sujet aux dommages oxydatifs que l'ADN, en raison de sa nature monocaténaire, de l'absence de mécanisme de réparation actif par l'ARN oxydé, d'une protection moindre par les protéines que l'ADN ; de plus, ces ARN cytoplasmiques sont situés à proximité des mitochondries où des charges d'Espèces Réactives de l'Oxygène sont produites. (Estévez, 2015).

##### **3.3.1.2. Mécanisme au niveau des lipides**

Les lipides membranaires, en particulier les résidus d'acides gras polyinsaturés des phospholipides sont plus sensibles à l'oxydation par les radicaux libres. La peroxydation des lipides est très importante *in vivo* en raison de son implication dans diverses conditions pathologiques. Cette oxydation des lipides entraîne une perte de fonctionnement des membranes par une diminution de la fluidité, l'inactivation des enzymes et des récepteurs liés aux membranes. La peroxydation des lipides est déclenchée lorsqu'un radical libre attaque et prélève l'hydrogène d'un groupe méthylène (CH<sub>2</sub>) dans un acide gras (Estévez, 2015).

##### **3.3.1.3. Mécanisme au niveau des protéines**

L'oxydation des protéines peut être induite par des espèces radicales tels que l'hydroxyl et le peroxy, comme par des espèces non radicalaires tels que le peroxyde d'hydrogène et l'ozone. Les Espèces Réactives de l'Oxygène oxydent différents acides aminés présents dans les protéines provoquant la formation de liaisons transversales protéines-protéines, entraînant ainsi la dénaturation et la perte de fonctionnement des protéines, la perte d'activité enzymatique, la

perte de fonction des récepteurs et des protéines de transport. L'attaque des différents acides aminés par les Espèces Réactives de l'Oxygène entraîne la formation de différents produits d'oxydation tels que tryptophane et la kynurémie (Estévez, 2015).

### 3.3.2. Méthodes d'étude du stress oxydatif

Un grand nombre de techniques ou de méthodes d'étude actuellement utilisables pour évaluer le stress oxydatif ont fait l'objet de publications. Toutefois, ce domaine de la biologie n'a pas encore été étudié avec la rigueur et le souci de standardisation et d'optimisation des méthodes. Par ailleurs, il existe des difficultés inhérentes à cette exploration, liées à la rapide fugacité des espèces radicalaires, à l'oxydabilité des paramètres redox, ainsi qu'à la localisation de ce stress dans un type donné de cellules dans un tissu sain. Cependant, l'exploration du statut radicalaire peut se faire par trois méthodes (Costantini, 2019) :

- la mesure de la production de radicaux (statut prooxydant) ;
- la mesure des capacités de défense (statut antioxydant) ;
- la mesure de l'étendue des désordres biochimiques spécifiques résultant d'un déséquilibre entre la balance antioxydants / prooxydants.

## 4. Généralités sur la résistance aux antibiotiques

### 4.1. Définition d'un antibiotique

Par définition, un antibiotique est une substance antibactérienne d'origine biologique, produite soit par des micro-organismes (champignons microscopiques et bactéries), soit par synthèse chimique (synthétiques, semi-synthétiques). C'est une molécule capable soit d'inhiber la croissance d'un microorganisme donné (effet bactériostatique) soit de le tuer (effet bactéricide). En pratique clinique, un antibiotique est caractérisé par une action spécifique sur les germes visés sans perturber le fonctionnement des cellules hôtes (Kouamé, 2023). On distingue plusieurs mécanismes d'action des antibiotiques :

- antibiotiques actifs par inhibition de la synthèse des précurseurs du peptidoglycane ;
- antibiotiques actifs par inhibition du transfert des précurseurs de la paroi bactérienne ;
- antibiotiques actifs sur la synthèse protéique ;
- antibiotiques actifs sur le métabolisme des acides nucléiques et de leurs précurseurs ;
- antibiotiques actifs sur la membrane plasmique des bactéries.

#### 4.2. Utilisation des antibiotiques dans les élevages de volaille

Les antibiotiques sont largement utilisés aussi bien en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire. Cependant, l'utilisation abusive et excessive des antibiotiques dans l'aviculture, dans un but métaphylactique (traitement du lot entier d'animaux quand certains sont malades), prophylactique (à titre préventif) ou comme promoteur de croissance est à la base de l'émergence du phénomène de résistance des souches bactériennes à ces molécules (Eckert *et al.*, 2007). En 2012, une enquête réalisée sur l'emploi des antibiotiques dans des fermes en Côte d'Ivoire, a montré une utilisation abusive de plusieurs familles d'antibiotiques ; notamment les cyclines (oxytétracycline), les sulfamides, les fluoroquinolones et les  $\beta$ lactamines (Kouamé, 2023).

#### 4.3. La résistance des bactéries aux antibiotiques

L'antibiorésistance ou résistance aux antibiotiques est la capacité que possèdent ou qu'acquièrent certaines espèces microbiennes, à pouvoir survivre et même à se développer en présence d'antibiotiques. La résistance des bactéries aux antibiotiques est soit naturelle, soit acquise. La résistance naturelle d'une espèce ou d'un genre est une caractéristique propre, appartenant à l'ensemble des souches de cette espèce ou de ce genre, quelles qu'en soient les conditions d'isolement. Elle est toujours transmissible à la descendance (transmission verticale), car portée par le chromosome, alors que la transmission horizontale est très rare ou inexistante. La résistance naturelle détermine les phénotypes « sauvages » des espèces bactériennes vis-à-vis des antibiotiques. La résistance acquise ne concerne, elle, qu'une proportion plus ou moins importante, variable dans le temps, de souche d'une espèce ou d'un genre ; elle existe grâce à l'acquisition de mécanismes de résistance qui déterminent un phénotype bien précis de résistance, différent du phénotype sauvage caractérisant les souches n'ayant pas acquis ce mécanisme. Ces mécanismes sont mieux connus par rapport à ceux de la résistance naturelle. La résistance acquise, souvent médiée par un support génétique faisant partie d'un élément mobile (plasmides, transposon), a la faculté d'être transmissible horizontalement, parfois même entre des espèces différentes (rôles dans les épidémies). La transmission verticale est également possible, mais elle est généralement aléatoire en l'absence d'une forte pression de sélection antibiotique.

Les bactéries ont développé, tant sur le plan biochimique que génétique, de nombreux mécanismes de résistance à ces molécules. Un antibiotique agit du fait de son affinité pour une cible vitale pour la bactérie. Sa fixation spécifique inhibe le fonctionnement de cette cible. La cible des antibiotiques est en général une enzyme ou une structure clé impliquée dans la

synthèse de la paroi, des acides nucléiques, des protéines ou de la membrane cytoplasmique. On dénombre généralement trois principales catégories de mécanismes de résistance des micro-organismes aux antibiotiques (Kouamé, 2023).

#### **4.3.1. Mécanismes de résistance des bactéries aux des antibiotiques**

##### **4.3.1.1 Réduction de la perméabilité ou apparition de systèmes d'efflux**

La baisse de la perméabilité concerne surtout les bactéries à Gram négatif (membrane externe) dont les porines s'obturent partiellement ou totalement ou alors disparaissent. Le passage peut également être ralenti consécutivement à certaines mutations touchant le lipopolysaccharide qui, de ce fait, diminue l'accessibilité des antibiotiques aux porines sur l'extérieur de la membrane externe. Des modifications dans la membrane cytoplasmique peuvent également être mises en cause beaucoup plus rarement (ex : les mutants « respiratoires » résistants aux aminosides par modification des systèmes de transport). Les systèmes d'efflux sont constitués de protéines particulières jouant le rôle de pompe à extrusion, utilisant une force proton-motrice et expulsant l'antibiotique dès qu'il apparaît dans la cellule bactérienne. Ces systèmes ont déjà été décrits chez plusieurs espèces, *E. coli* et *P. aeruginosa* entre autres. Ils peuvent concerner des antibiotiques très variés, tels les fluoroquinolones, le chloramphénicol, les tétracyclines, les  $\beta$ -lactamines. Ils peuvent constituer des systèmes de résistance multiple (Kouamé, 2023).

##### **4.3.1.2. Modification de la cible de l'antibiotique**

Ce type de résistance peut aller jusqu'à l'absence de cible. Il s'agit alors d'une résistance naturelle ; c'est le cas par exemple, de la résistance des mycoplasmes, dépourvus de peptidoglycane, aux bêta-lactamines. On connaît également la mauvaise affinité naturelle des céphalosporines pour les PLP d'entérocoques, parmi d'autres exemples. En termes de résistance acquise, on peut observer une modification partielle de la nature de la cible, une modification du nombre (hyperproduction), un changement total (nouvelle cible), parfois une association de plusieurs de ces mécanismes. Ces modifications se font soit par mutation(s) dans les gènes codant pour la cible de l'antibiotique, soit par acquisition de gènes étrangers (Kouamé, 2023) :

##### **Mutations :**

- Résistance acquise aux fluoroquinolones par modification de l'ADN gyrase ou de la topoisomérase IV.
- Résistance des mycobactéries à la streptomycine, à la rifampicine, aux microlides par modification du ribosome ou de l'ARN polymérase
- Résistance acquise de *S. aureus* à la méticilline (PLP2 → PLP2a).

---

**Acquisition de gènes exogènes :**

- Résistance acquise des pneumocoques aux bêta-lactamines.
- Résistance acquise des entérocoques aux glycopeptides, etc...

**4.3.1.3. Inactivation de l'antibiotique.**

C'est le mécanisme le plus fréquent en pathologie infectieuse. Il peut s'agir d'une destruction de l'antibiotique, telle l'hydrolyse des bêta-lactamases, ou d'une modification de la molécule par ajout de radicaux telles les estérifications des aminosides par les aminosides-phosphotransférases (APH), nucléotidyltransférases (ANT), acétyltransférases (AAC).

**4.4. Bactéries multirésistantes « BMR »**

Le problème majeur de la résistance aux antibiotiques est lié aux « Bactéries Multirésistantes aux antibiotiques » (BMR). Les BMR sont définies comme des micro-organismes ayant accumulé des résistances acquises à aux moins trois familles d'antibiotiques. La multirésistance est une étape qui précède l'impasse thérapeutique. Cela concerne aussi bien les infections nosocomiales que les infections communautaires. Les conséquences en sont très nombreuses, dont une augmentation de la morbidité et de la mortalité, un accroissement des coûts des soins de santé et la nécessité d'utiliser des médicaments plus coûteux et souvent plus toxiques. De nombreuses infections résistent même à la grande majorité des antibiotiques disponibles sur le marché (Kouamé, 2023). Ce sont environ un demi-million de nouveaux cas de tuberculose résistante à la rifampicine (tuberculose-RR) recensés dans le monde, dont la grande majorité présente une tuberculose multirésistante (tuberculose-MR), une forme de tuberculose qui est résistante aux deux antituberculeux les plus puissants qui sont la rifampicine et l'isoniazide (OMS, 2022). Selon un rapport sur la résistance aux antibiotiques, si rien ne change, la résistance aux antibiotiques pourrait être responsable de 10 millions de morts par an en 2050 (OMS, 2022). Les BMR les plus souvent détectées en microbiologie par ordre de fréquence sont les Entérobactéries avec les bêta-lactamases à spectre étendu ou élargi (BLSE), les *Staphylococcus aureus* méticilline-résistant ou SARM et l'Entérocoque *Enterococcus faecium* vancomycine résistant ou VRE. La résistance aux bactéries qui concerne aussi bien les bactéries à gram positif que les bactéries à gram négatif, constitue un réel problème de santé publique. L'absence d'étanchéité entre les écosystèmes animal - Homme - environnement aggrave souvent le risque de dissémination de la résistance aux antibiotiques. Les préoccupations de plus en plus soulevées actuellement, sont l'utilisation systématique des antimicrobiens dans la production d'aliments pour les animaux. Plusieurs espèces bactériennes sont des réservoirs de gènes de résistance aux antibiotiques du fait de leur capacité d'acquérir des gènes portés par des

plasmides, des transposons ou d'autres éléments génétiques mobiles et de les transporter vers d'autres espèces, directement de l'animal à l'Homme ou indirectement via l'alimentation. Les modalités d'acquisition d'une BMR sont doubles. Tout d'abord, l'acquisition peut être endogène dite verticale, par sélection d'un mutant résistant au sein de la flore bactérienne commensale. Cette sélection se fait à la faveur d'un facteur favorisant, principalement les antibiotiques qui sélectionnent les souches résistantes au sein de cette flore, de par une pression dite de sélection. La seconde modalité d'acquisition est dite exogène ou horizontale, c'est-à-dire par transmission croisée entre le réservoir et l'hôte soit directement, soit par l'intermédiaire d'un vecteur (manuporté, aérien etc.). La notion de réservoir est capitale et dépendante du type de pathogène. Le réservoir peut être humain, formé de porteurs connus ou méconnus, animal ou environnemental (Kouamé, 2023).

**DEUXIEME PARTIE :  
MATERIEL ET METHODES**

## 1. Matériel

### 1-1. Matériel biologique

#### 1.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal était constitué des feuilles de *Anogeissus leiocarpus* (Figure 4). Elles ont été récoltées à Lataha, village situé dans le département de Korhogo en mars 2022 et authentifiées par le Centre National de Floristique de l'Université Felix HOUPHOUËT-BOIGNY de Cocody-Abidjan.

#### 1.1.2. Animaux d'élevage

Pour cette étude, des poussins de chair de race COBB 500, âgés d'un jour, ont été fournis par l'entreprise locale "Ferme Ouattara Ali Nanan Issa" (FOANI) (Figure 5).

#### 1.1.3. Souches microbiennes

Deux souches bactériennes multirésistantes de *Salmonella typhimurium* d'origine aviaire ont fait l'objet de cette étude. Elles ont été fournies par l'Unité de Microbiologie du Laboratoire de Biotechnologies, de L'UFR Biosciences de l'Université Félix Houphouët-Boigny de Côte d'Ivoire (Tableau III).

#### 1.1.4. L'oxytétracycline (Molécule de référence)

L'oxytétracycline (OTC) est un antibiotique à large spectre, principalement actif contre les bactéries à Gram positif et négatif, aérobies et anaérobies, ainsi que contre les mycoplasmes, les chlamydiae et les rickettsies. Des résistances acquises à l'oxytétracycline, habituellement d'origine plasmidique, ont été rapportées. Une résistance croisée à d'autres tétracyclines est possible. Un traitement continu avec de faibles doses d'oxytétracycline peut aussi entraîner une résistance accrue à d'autres antibiotiques (Kouamé, 2023). L'oxytétracycline agit par inhibition de la synthèse protéique et entraîne par conséquent, un arrêt de la croissance de la culture bactérienne. L'activité de cet antibiotique, principalement bactériostatique, implique une pénétration de la substance dans la cellule bactérienne qui s'exerce à la fois par diffusion passive et active. L'absorption de cette molécule est de l'ordre de 48 % chez les volailles ; mais cette biodisponibilité peut être diminuée par la présence d'aliments dans l'estomac avant l'administration du médicament, qui se fait notamment par voie orale et après dilution dans l'eau de boisson des animaux. En effet, l'oxytétracycline forme des chélates insolubles avec des cations tels que le calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) et le magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ).

En 2012, une enquête réalisée sur l'emploi des antibiotiques dans des fermes en Côte d'Ivoire, a montré une utilisation abusive de plusieurs familles d'antibiotiques ; notamment les cyclines (oxytétracycline), les sulfamides, les fluoroquinolones et les  $\beta$ lactamines. Dans la présente étude, nous avons choisi l'oxytétracycline comme antibiotique de référence, en raison de sa large utilisation dans les élevages de poulets de chair et de poules reproductrices d'une part ; et du fait que de nombreux cas de résistance acquise aient déjà été signalés à propos de cette molécule, d'autre part (Kouamé, 2023).

## **1.2. Matériel technique**

### **1.2.1. Milieux de culture**

Les milieux utilisés comprenaient :

- des bouillons et géloses Mueller-Hinton pour l'étude des activités antisalmonelles ;
- de l'eau peptonnée tamponnée utilisée pour le pré-enrichissement ;
- bouillon Rappaport de Vassiliadis utilisé pour l'enrichissement sélectif des Salmonelles ;
- la gélose sélective Hektoen, milieu de choix pour l'isolement des Entérobactéries entéropathogènes. Ce milieu contient des sels biliaires qui assurent la survie et favorisent la croissance des Salmonelles même fragiles. Il a été utilisé pour l'isolement et l'identification des colonies de Salmonelles ;
- portoir réduit de Leminor composé de quatre milieux : Kigler-hajna, citrate de Simmons, Mannitol-mobilité, urée-indole.

### **1.2.2. Matériel d'élevage**

L'espace d'élevage, situé sur la ferme d'un particulier dans la commune de Bingerville, a été divisé en quatre (04) grands compartiments pour recevoir chacun un lot de vingt cinq (25) poussins. Les poussins ont été élevés au sol. Chaque compartiment recouvert de tôle, fait en bois et en grillage contenait des abreuvoirs et des mangeoires ordinaires d'élevage de poulets.

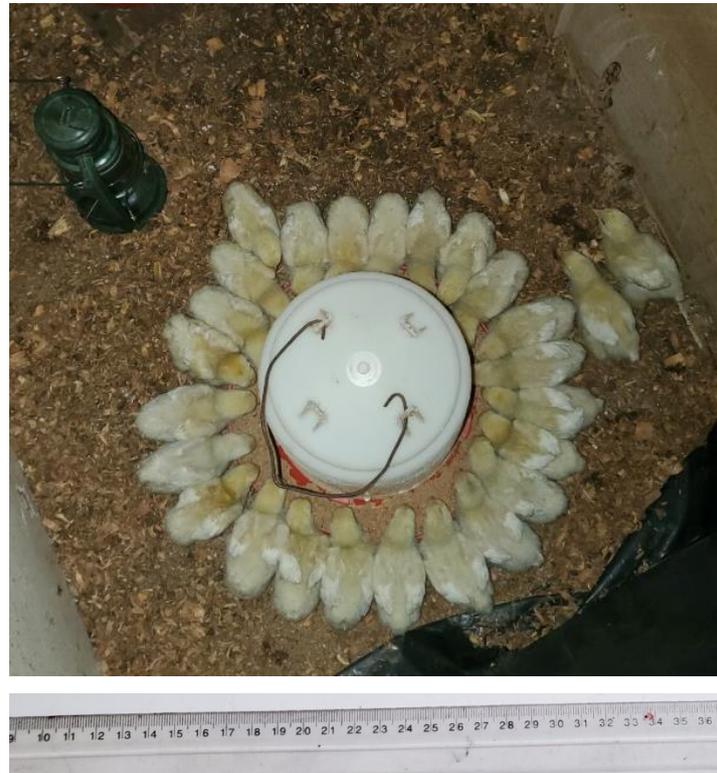
### **1.2.3. Autres matériels**

Plusieurs petits réactifs, solvants, matériels qu'on peut retrouver dans un laboratoire de biologie et pharmacologie des substances ont été utilisés dans cette étude. Il s'agit entre autres de : réactifs de Dragendorff et de Valser Mayer, réactif de Stiasny, éthanol, coton hydrophile, eau distillée, chloroforme, chlorure ferrique, bain Marie, acétate de sodium, solution d'ammonium, acétate d'éthyle, huile d'olive, acide sulfurique, papier Whatman, étuve de type Med Center Venticell, boîtes de Pétri, Anse de platine, Balance de précision, des gants jetables et toute la verrerie nécessaire.



**Figure 4 :** *Anogeissus leiocarpus* (source : la présente étude)

**a :** Feuilles ; **b :** Feuilles avec inflorescences ; **c :** Tronc



**Figure 5** : Poussins d'élevage autour d'une mangeoire

**Tableau III** : Origine et profils antibiotiques des souches de *S. typhimurium* étudiées

Souches de <i>Salmonella</i> testées	Origine	Profils antibiotiques
<i>Salmonella typhimurium</i> N°1	fientes des poulets de chair	AMP-CHL-STR-SUL-TE-AUG-CTX-CIP-NA
<i>Salmonella typhimurium</i> N°2	fientes des poulets de chair	AMP-CHL-STR-SUL-TE

**AMP** : ampicilline, **CHL** : chloramphénicol, **STR** : streptomycine, **SUL** : sulfamides, **TE** : tétracycline, **AUG** : amoxicilline- acide clavulanique, **CTX** : cefotaxime, **CIP** : ciprofloxacine, **NA** : acide nalidixique.

## 2. Méthodes

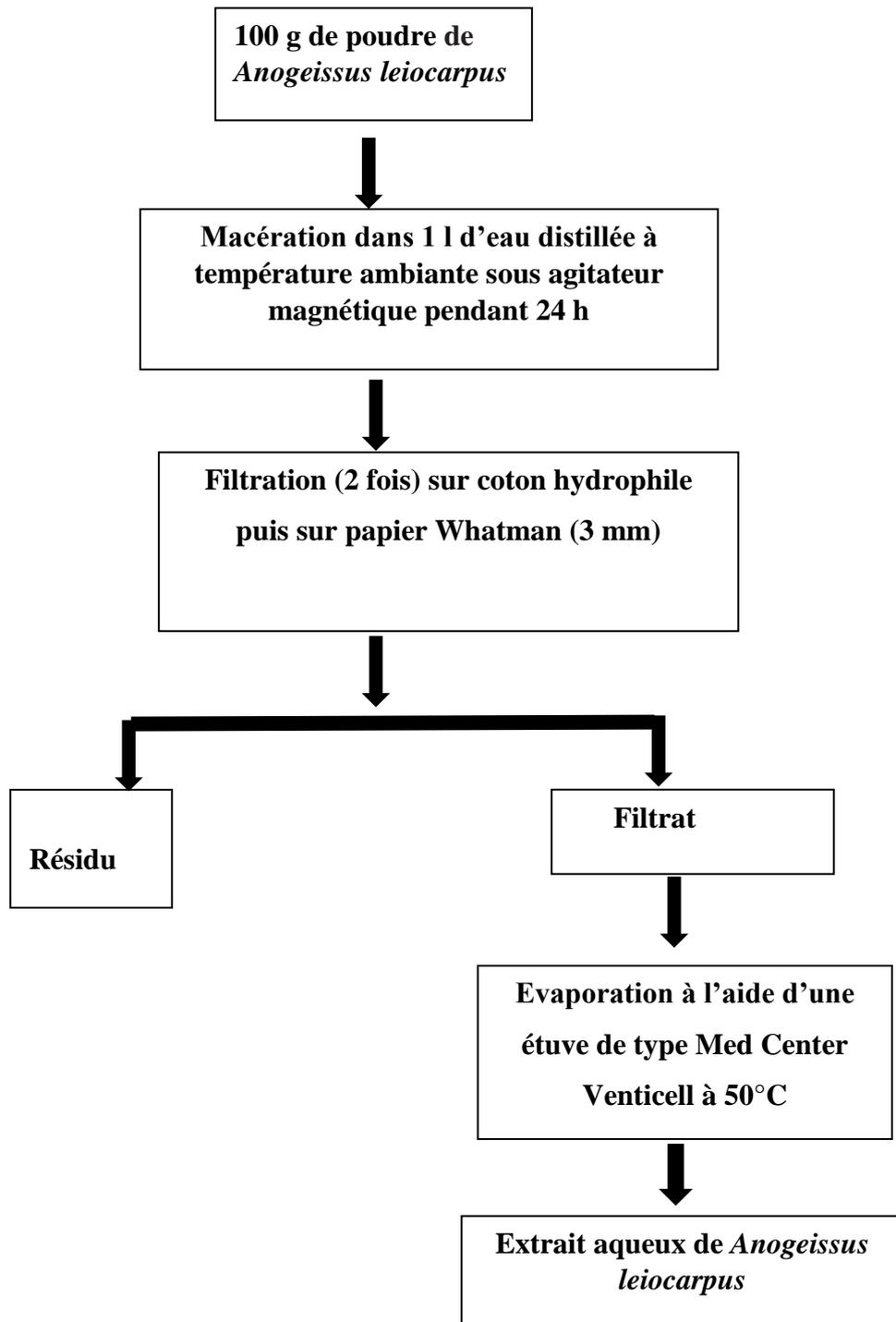
### 2.1. Tri phytochimique et évaluation des activités antisalmonelles *in vitro* des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de *Anogeissus leiocarpus*

Pour cette étude, ce sont deux souches multirésistantes de *Salmonella typhimurium* d'origine aviaire avec des profils antibiotiques différents qui ont subi l'effet de deux extraits issus de *Anogeissus leiocarpus*. Il s'agit des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de *Anogeissus leiocarpus*. Par la suite, un screening phytochimique a été réalisé en vue de déterminer les différentes familles de métabolites secondaires que renferment ces deux extraits.

#### 2.1.1. Préparation des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de *Anogeissus leiocarpus*

Les feuilles de *Anogeissus leiocarpus* ont été lavées, découpées et séchées à l'abri du soleil pendant deux semaines. Une fois séchés, ces éléments végétaux ont été broyés. Ainsi, 100 g de cette poudre ont été délayés dans 1 litre d'eau distillée. Le mélange a été homogénéisé à la température ambiante du laboratoire à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 24h. L'homogénat obtenu a été filtré successivement deux fois sur du coton hydrophile puis une fois sur du papier Whatman (3 mm). Le volume du filtrat obtenu a été réduit à l'aide d'une étuve de type Med Center Venticell à 50°C pour donner une poudre qui constitue l'extrait total aqueux.

La même opération a été réalisée en utilisant en lieu et place de l'eau distillée, de l'éthanol 70% (éthanol-eau distillée : 70/30 (v/v)), pour obtenir l'extrait hydroéthanolique 70% (Zirihi *et al.*, 2003). Les deux extraits végétaux obtenus ont été conservés au réfrigérateur pour la suite des essais (Figure 6).



**Figure 6** : Préparation de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* (Zirihi et al., 2003).

### **2.1.2. Méthode de préparation des milieux de culture**

Les milieux de culture ont été préparés selon les recommandations du fabricant.

Mueller Hinton : 38 g/L d'eau distillée. La poudre a été ajoutée à la quantité d'eau correspondante et le mélange homogénéisé puis chauffé jusqu'au début de l'ébullition. Ensuite l'homogénat a été stérilisé à l'autoclave à 121°C pendant 15 min. Après refroidissement les géloses ont été coulées dans des boîtes de Pétri. Les géloses ont une épaisseur de 4 millimètres.

### **2.1.3. Préparation des suspensions bactériennes de *Salmonella typhimurium* multirésistantes**

Les *inoculas* bactériens ont été préparés en homogénéisant deux (2) colonies jeunes de 18 h chaque souche de *Salmonella typhimurium* Multi-R dans 10 mL de bouillon Mueller-Hinton. Après une incubation d'environ 3 heures à 37°C, 0,1 mL du bouillon a été rajouté à 10 mL de bouillon Mueller-Hinton stérile pour constituer un inoculum à 10<sup>6</sup> bactéries/mL avec une turbidité de 0,5 Mac Farland.

### **2.1.4. Test de sensibilité des souches de *Salmonella typhimurium* aux extraits aqueux et hydroéthanoliques 70%**

Ce test est basé sur la détermination des zones d'inhibition de croissance. La méthode utilisée était celle des puits à l'emporte-pièce dans la gélose Mueller-Hinton. Ainsi, comme dans la réalisation classique d'un antibiogramme, nous avonsensemencé la gélose par inondation (inoculum à 10<sup>6</sup> bactéries/mL). Ensuite, des puits de 6 mm de diamètre ont été réalisés dans la gélose Mueller-Hinton. Puis chaque puits a été rempli avec 80 µL d'extrait végétal de concentration 200 mg/mL en prenant le soin de séparer les puits d'au moins 20 mm (Kwete *et al.*, 2004 ; Bssaibis *et al.*, 2009). Après une prédiffusion de 45 minutes à température ambiante sous la hotte, l'ensemble a été incubé à l'étuve à 37°C pendant 18 heures. Après l'incubation, l'action des extraits a été appréciée par la mesure des diamètres de zone d'inhibition de croissance (absence de colonies) autour des puits.

### **2.1.5. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides des extraits aqueux et hydroéthanoliques 70%**

#### **2.1.5.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des extraits de plantes**

Par définition, la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration pour laquelle l'extrait est capable d'empêcher le développement ou la croissance d'un microorganisme donné. Les différentes CMI ont été déterminées en milieu liquide dans

des tubes à hémolyse stériles. La CMI d'un extrait vis-à-vis d'une souche donnée correspond à la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance visible du germe à l'œil nu.

Pour ce faire, des gammes de concentrations des différents extraits à tester ont été préparées dans huit (8) tubes à hémolyse numérotés de 1 à 8. La CMI a été recherchée par la méthode de double dilution en milieu liquide. Dix millilitres (10 mL) de chaque extrait concentré à 400 mg/mL ont été préparés et stérilisés à l'autoclave à 121°C pendant 15 min. Pour chaque extrait, une gamme de concentrations stérile, allant de 400 à 3,12 mg/mL a été préparée dans des tubes à hémolyse. De même, pour chaque souche bactérienne, un inoculum dont la turbidité a été ajustée à 0,5 McFarland (soit  $10^8$  UFC/mL), dans du bouillon Mueller-Hinton a été préparé. Ensuite, 1 mL d'inoculum bactérien a été ajouté à 1 mL d'extrait végétal de concentration bien définie selon la gamme de concentrations préparées. Chaque extrait a subi alors une dilution de moitié et la gamme de concentrations s'étalait comme suit : 200 ; 100 ; 50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3,12 et 1,56 mg/mL.

Un tube témoin de croissance contenant 1 mL d'eau distillée stérile et 1 mL d'inoculum ; puis un tube témoin de stérilité contenant 1 mL d'eau distillée stérile et 1 mL de bouillon Mueller-Hinton stérile, ont été également préparés. L'ensemble des tubes ainsi préparés a été incubé à 37°C, pendant 18 heures. Après incubation, la croissance bactérienne dans chaque tube, qui se traduit par une turbidité du milieu a été observée. La CMI correspondait alors à la plus petite des concentrations ne montrant aucune croissance bactérienne visible à l'œil nu.

#### **2.1.5.2. Détermination de la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) des extraits de plante**

La concentration minimale bactéricide se définit comme étant la plus faible dose capable de tuer le microorganisme. Après l'ensemencement des tubes lors de la détermination des CMI, l'inoculum à  $10^8$  UFC/mL a servi à la réalisation d'un témoin de bactéricidie. À l'aide d'une anse calibrée de 10  $\mu$ L, les dilutions  $10^0$ ,  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$  et  $10^{-4}$  de l'inoculum, correspondant respectivement à 100%, 10%, 1%, 0,1% et 0,01% de survivants ont été ensemencées en bande sur une gélose Mueller-Hinton en boîte de Pétri, incubée ensuite à 37 °C pendant 24 h.

Après la lecture de la CMI, des repiquages des tubes sans croissance visible ont été effectués en bandes de 5 cm sur une gélose Mueller-Hinton neuve. Ces repiquages ont été ensuite incubés à 37°C pendant 24 h ; après l'incubation les bandes ont été comparées au témoin de bactéricidie. En pratique, la CMB correspond à la plus petite concentration dont le repiquage montre une croissance de germe inférieure ou égale au nombre de colonie observé à la dilution  $10^{-4}$ .

### **2.1.5.3 Evaluation de l'effet bactéricide ou bactériostatique des extraits**

Le rapport CMB/CMI permet de préciser le mode d'action d'une substance selon (Fauchère & Avril, 2002). Lorsque le rapport CMB/CMI est inférieur ou égal à 2, la substance est dite bactéricide. Par contre, si ce rapport est supérieur à 2, la substance est dite bactériostatique.

### **2.1.6. Tri phytochimique des extraits aqueux et hydroéthanoliques 70% de *Anogeissus leiocarpus***

Les deux extraits aqueux et hydroéthanolique 70%, étudiés pour leurs activités antisalmonelles ont subi un tri phytochimique basé sur les tests de précipitation et/ou de coloration afin de mettre en évidence en leur sein la présence ou l'absence des groupes de métabolites secondaires.

#### **2.1.6.1. Recherche des alcaloïdes**

Les méthodes classiques de caractérisation des alcaloïdes qui précipitent avec les réactifs de Dragendorff, Valser-Mayer et Bouchardat, sont les plus utilisées pour mettre en évidence ces composés. Nos tests ont été réalisés avec les réactifs de Dragendorff et de Valser-Mayer. L'extrait (0,5 g) a été dissout dans 10 mL de solution d'alcool et l'ensemble a été laissé au bain marie bouillant pendant 3 minutes puis filtré. A 5 mL du filtrat recueilli ont été ajouté 2 mL d'ammonium dilué au 1/2. Les alcaloïdes ont été par la suite extraits par ajout de 5 mL de chloroforme. La phase chloroformique résultante a été récupérée dans un tube dans lequel 10 mL d'acide acétique ont été ajoutés. La solution finale ainsi obtenue a été répartie dans deux tubes à essai. Dans le premier tube, deux gouttes de réactif de Dragendorff ont été ajoutées. L'apparition d'un précipité marron-rougeâtre a indiqué la présence des alcaloïdes.

Dans le deuxième tube, deux gouttes de réactif de Valser-Mayer ont été additionnées. L'apparition d'un précipité blanc crème indique une réaction positive (Savithramma *et al.*, 2011).

#### **2.1.6.2- Recherche des polyphénols et des tanins**

Les polyphénols sont des composés qui possèdent plusieurs groupements phénols et hydroxyles. Pour la mise en évidence des polyphénols : 0,5 g de chaque extrait a été dissout dans 10 mL d'eau bouillante contenu dans un tube. La solution obtenue a été par la suite filtrée. A 2 ml de filtrat a été ajoutée une goutte d'une solution de chlorure ferrique à 0,1%. Le chlorure ferrique provoque en présence de dérivés polyphénoliques l'apparition d'une coloration bleu-noirâtre ou verte-marron. Pour la mise en évidence des tanins catéchiques : 5 mL d'extrait ont

été évaporés à sec dans une capsule en porcelaine au bain de sable. A ce résidu, a été ajouté 15 mL du réactif de Stiasny. L'ensemble a été porté au bain-marie à 80°C pendant 30 minutes. L'observation de précipité en gros flocon après refroidissement indique la présence de tanins catéchiques. Pour la recherche des tanins galliques : la solution précédente a été filtrée et saturée à l'acétate de sodium. L'addition de 3 gouttes de FeCl<sub>3</sub> à 2% provoquant une coloration bleu-noire a indiqué la présence des tanins galliques dans le milieu (Touré *et al.*, 2011).

#### **2.1.6.3- Recherche des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des pigments jaunes très répandus chez les végétaux supérieurs ; ils existent sous forme d'hétérosides dont la génine est dérivée du noyau benzo-pyrone. Trois méthodes ont été utilisées pour mettre en évidence les flavonoïdes. La première a consisté à recueillir 1 mL de filtrat d'extrait auquel a été ajouté 2 à 3 gouttes de solution d'ammonium. L'apparition d'une coloration jaune a indiqué la présence des flavonoïdes. Pour la deuxième méthode, 5 mL d'ammonium dilué au ½ ont été additionnés à 5 mL de filtrat. L'addition complémentaire de 1 mL d'acide sulfurique concentré intensifie une coloration jaune qui indique la présence des flavonoïdes. La dernière méthode a consisté à dissoudre 0,5 g d'extrait dans 10 mL d'acétate d'éthyle puis l'ensemble a été porté au bain marie bouillant pendant 3 minutes. Le mélange a été par la suite filtré. 4 mL de filtrat ont été ainsi recueillis dans un tube dans lequel a été ajouté 1 mL de solution d'ammonium dilué au ½. La solution résultante a été agitée et l'apparition d'une coloration jaune justifie la présence des flavonoïdes.

#### **2.1.6.4- Recherche des saponosides**

Les saponosides sont des hétérosides à génine stéroïdiques ou triterpéniques doués de propriétés tensioactives. L'extrait (0,5 g) a été mis dans un tube à essai en présence de 5 mL d'eau distillée. Après avoir agité verticalement pendant quelques minutes, la hauteur de la mousse a été mesurée. Une hauteur de mousse supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides. L'ajout supplémentaire de trois gouttes de l'huile d'olive suivi d'une agitation engendre une émulsion (Touré *et al.*, 2011).

#### **2.1.6.5- Recherche des glycosides cardiotoniques**

Une quantité d'extrait a été reprise dans 2 mL d'acide acétique glacial à laquelle a été additionnée une goutte de FeCl<sub>3</sub> et 1 mL de l'acide sulfurique concentré. Après quelques minutes, il s'est développée une coloration marronne indiquant la présence des glycosides cardiotoniques (Savithramma *et al.*, 2011).

### 2.1.6.6- Recherche des stérols et polyterpènes

Une quantité (9 mL) de l'éthanol a été ajoutée à 1 g de l'extrait puis l'ensemble a été agité pendant 5 minutes. La solution obtenue a été par la suite filtrée et concentrée jusqu'à atteindre un volume de 2,5 mL. Ensuite, 5 mL d'eau distillée ont été additionnés à la solution concentrée.

Le mélange obtenu a été gardé pendant une heure et filtré. Au filtrat recueilli dans un tube à essai, ont été ainsi ajoutés 2,5 mL de chloroforme. 0,5 mL de la phase chloroformique a été ajouté dans un autre tube auquel a été additionné prudemment 1 mL de l'acide sulfurique concentré le long du tube. La présence des stérols est positive s'il y a apparition à l'interphase d'un anneau marron-rougeâtre. Pour la mise en évidence des terpènes, 0,5 mL de phase chloroformique a été récupéré puis évaporé à sec puis dissout dans 3 mL d'acide sulfurique. L'apparition d'une coloration grise indique la présence des terpènes (Savithramma *et al.*, 2011).

## 2.2. Détermination des teneurs en composés phénoliques et évaluation des activités antioxydantes *in vitro* des extraits de *Anogeissus leiocarpus*

### 2.2.1. Détermination des teneurs en composés phénoliques des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de *Anogeissus leiocarpus*

#### 2.2.1.1. Détermination des teneurs en polyphénols totaux

La méthode de Wood *et al.* (2002) a été utilisée pour le dosage des polyphénols totaux : un volume de 2,5 mL de réactif de Folin-Ciocalteu dilué au dixième a été ajouté à 30  $\mu$ L d'extrait végétal. Le mélange a été maintenu pendant 2 minutes dans l'obscurité à température ambiante, puis 2 mL de solution de carbonate de sodium ( $75 \text{ g.l}^{-1}$ ) ont été ajoutés. Ensuite, le mélange a été placé pendant 15 minutes au bain-marie à  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , puis refroidi rapidement. L'absorbance a été mesurée à 760 nm, avec de l'eau distillée comme blanc. Une droite d'étalonnage a été réalisée avec l'acide gallique à différentes concentrations. Les analyses ont été réalisées en triple, et la concentration en polyphénols a été exprimée en milligramme équivalent acide gallique par gramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

#### 2.2.1.2. Détermination des teneurs en flavonoïdes totaux

Le dosage des flavonoïdes a été réalisé selon la méthode décrite par Marinova *et al.* (2005). En effet, dans une fiole de 25 mL ; 0,75 mL de nitrite de sodium ( $\text{NaNO}_2$ ) à 5 % (m/v) ont été ajoutés à 2,5 mL d'extrait. Au mélange, 0,75 mL de chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 10 % (m/v) ont été additionnés, puis l'ensemble a été incubé pendant 6 minutes à l'obscurité. Une fois ce temps écoulé, 5 mL de soude ( $\text{NaOH}$  1 N) y ont été ajoutés et le volume a été complété à 25 mL. La préparation a été vigoureusement agitée avant le dosage des flavonoïdes totaux à

510 nm au spectrophotomètre UV-visible. Une droite d'étalonnage a été réalisée avec la quercétine à différentes concentrations. La teneur en flavonoïdes totaux de l'extrait a été exprimée en milligramme équivalent quercétine par gramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait). Les essais ont été réalisés en triple.

### 2.2.2. Evaluation des activités antioxydantes *in vitro* des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de *Anogeissus leiocarpus*

Trois méthodes, présentant l'avantage d'être fiables et faciles d'utilisation, ont été choisies pour évaluer l'activité antioxydante *in vitro*, de nos extraits de plantes à savoir : l'activité contre le radical libre 2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) qui mesure la capacité d'un antioxydant à fournir un électron et les méthodes utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP) et la capacité des composés à réduire le radical-cation Acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique ( ABTS<sup>°</sup>).

#### 2.2.2.1. Mesures de l'activité antiradicalaire par DPPH

La mesure de l'activité antiradicalaire des deux extraits de plantes a été effectuée par le test au 2, 2'-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH) selon la méthode de Parejo *et al.* (2000). Une gamme de concentrations (0-200 µg/mL) d'extrait de plantes ou de l'acide gallique (antioxydant de référence) a été préparée. Un volume de 2,5 mL de cette solution, a été mélangé à 2,5 mL de DPPH (100 µM) préparé dans du méthanol. Après homogénéisation, le mélange a été incubé à la température ambiante (25 °C) à l'abri de la lumière. Après 15 min d'incubation, l'absorbance est lue à 517 nm contre un « blanc » qui ne contient que du méthanol. Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été calculé selon l'équation suivante :

$$\text{Inhibition du DPPH (\%)} = (1 - (\text{DO essai} / \text{DOblanc})) \times 100 \quad (1)$$

La CI<sub>50</sub> est la concentration d'extrait de plante responsable de 50 % d'inhibition des radicaux DPPH. Elle est déterminée sur le graphique représentant le pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations des extraits et de l'acide gallique.

#### 2.2.2.2. Test d'ABTS

Cette méthode est basée sur la capacité des composés à réduire le radical-cation ABTS<sup>°</sup> (Acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique). Le test a été réalisé selon la méthode décrite par Choong *et al.* (2007). Le radical-cation ABTS<sup>°</sup> a été produit par réaction de 8 mM ABTS (87,7 mg dans 20 mL d'eau distillée) et 3 mM de persulfate de potassium (0,0162 g dans 20 ml eau distillée) dans un ratio 1 :1 (v/v). Le mélange a été ensuite incubé à

l'obscurité à température ambiante durant un temps variant de 12-16 heures. Cette solution d'ABTS<sup>o+</sup> a été diluée avec du méthanol de sorte à obtenir une solution dont l'absorbance a été de  $0,7 \pm 0,02$  à 734 nm. Ainsi, une prise d'essai de 3,9 mL de cette solution diluée d'ABTS<sup>o+</sup> a été ajoutée à 100  $\mu$ L du composé à tester. Après agitation, le mélange a été incubé pendant 6 min à l'obscurité ( $T=30 \pm 2^\circ\text{C}$ ). L'absorbance résiduelle du radical ABTS<sup>o+</sup> a été ensuite mesurée à 734 nm au spectrophotomètre UV-visible et devrait être comprise entre 20 % et 80 % de l'absorbance du blanc. Les essais ont été réalisés en triple et les résultats ont été exprimés en  $\mu$ mol Trolox équivalent par litre d'extrait ( $\mu$ mol TE/L). Une droite d'étalonnage a été réalisée avec les concentrations suivantes de Trolox : 0,375 $\mu$ M ; 0,5 $\mu$ M ; 0,625 $\mu$ M ; 1 $\mu$ M ; 1,125 $\mu$ M, 1,375 $\mu$ M et 1,5 $\mu$ M et le taux d'inhibition (% I) de l'ABTS<sup>o+</sup> a été exprimé comme suit (1) :

$$\% \text{ I} = [(\text{Abscontrôle} - \text{Absextrait}) / \text{Abscontrôle}] \times 100 \quad (2)$$

Abscontrôle = absorbance ABTS dilué,

Absextrait = absorbance ABTS dilué + échantillon

Par ailleurs, la concentration ou l'activité antioxydante à proprement dite est déterminée selon la relation suivante :

$$(\mu\text{M}\text{éq Trolox}) = (\% \text{I} \times \text{fd}) / ((4,99 \times 10)) \quad (3)$$

### 2.2.2.3. Chélation du fer par le test de FRAP

La capacité chélatrice des différents extraits est mesurée selon la méthode de Le *et al.* (2007). Des solutions d'extraits et de l'antioxydant de référence (EDTA 500  $\mu$ L) ont été initialement mélangées avec 100  $\mu$ L de FeCl<sub>2</sub> (0.6 mM dans l'eau distillée) et 900  $\mu$ L de méthanol. Après 5 min, 100  $\mu$ L de Ferrozine (5 mM dans le méthanol) ont été additionnés au milieu réactionnel. Le mélange a été bien agité puis laissé pour réagir pendant 10 min à température ambiante permettant ainsi la complexation du fer résiduelle et la formation d'un chromophore rouge (Fe (II)-Ferozine) ayant un maximum d'absorption à 562 nm. Le contrôle négatif contient tous les réactifs à l'exception de l'échantillon à tester qui a été remplacé par un volume égal de méthanol. Les lectures ont été effectuées à 562 nm contre un blanc de méthanol. L'effet séquestrant des échantillons vis-à-vis du fer est exprimé en pourcentage de chélation selon l'équation suivante :

$$\% \text{ Chélation} = [(\text{Abs contrôle} - \text{Abs test}) / \text{Abs contrôle}] \times 100 \quad (4)$$

### **2.3. Etude de la toxicité orale aiguë des extraits de *Anogeissus leiocarpus* sur des poulets de chair**

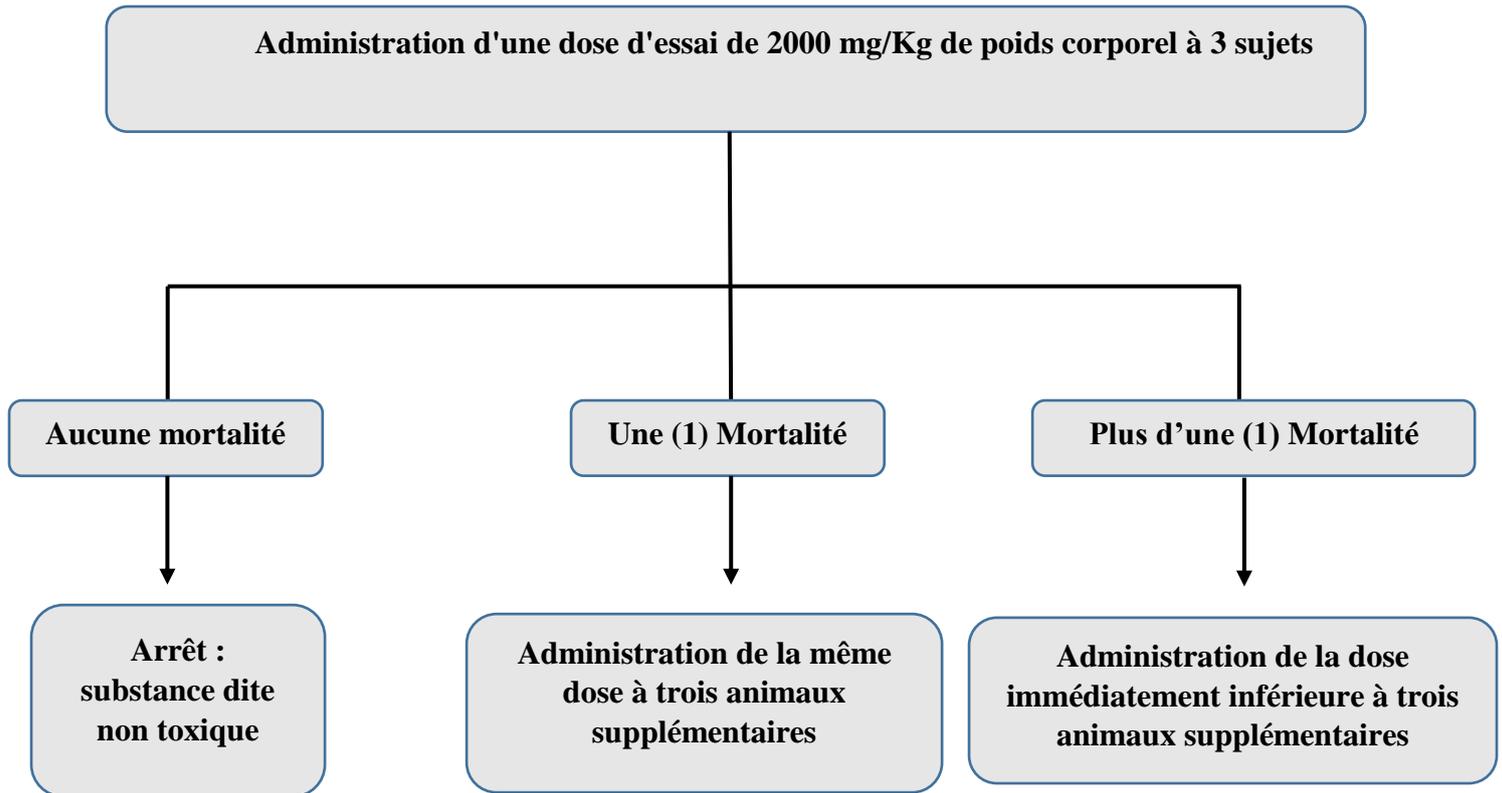
La toxicité orale aiguë des extraits aqueux et hydroéthanolique a été évaluée chez les poulets de chair conformément à la ligne directrice 425 de l'Organisation de Coopération et de Développement Economique (OCDE, 2008) pour les essais des substances chimiques. Cette étude expérimentale a été adaptée aux poulets de chairs de race COBB 500 utilisés dans notre travail avec l'autorisation du Comité National d'Ethique des Sciences de la Vie et de la Santé de Côte d'Ivoire (CNESVS) (Kouamé, 2023).

#### **2.3.1. Principe de l'essai**

Le principe de cet essai est basé sur un processus séquentiel, utilisant un nombre minimum d'animaux par étape. Des informations suffisantes sur la toxicité aiguë d'une substance, peuvent être obtenues pour permettre sa classification.

Pour chaque extrait, une dose déterminée de la substance a été administrée par voie orale à un groupe d'animaux. Cette substance a été testée dans un processus séquentiel dans lequel trois animaux sont utilisés à chaque étape. L'absence ou la manifestation de mortalité liée à la substance dans un groupe ayant reçu une dose à une étape donnée, détermine les autres étapes suivantes :

- arrêt de l'essai ;
- administration de la même dose à trois animaux supplémentaires ;
- administration de la dose immédiatement supérieure ou inférieure à trois animaux supplémentaires. (Figure 7).



**Figure 7** : Réalisation de la toxicité orale aiguë (OCDE, 2008)

### 2.3.2. Administration d'une substance d'essai

Pour cette étude, trois poussins âgés de 21 jours, avec une masse vive moyenne connue (850,128 g) ont été utilisés dans cette expérimentation qui a duré 7 jours. Les poussins avaient été acclimatés dans les conditions standards d'élevage. Pour cet essai, les animaux ont été soumis à un jeûne pendant une durée de 18 heures. Après la période de jeûne, les animaux ont été pesés et les extraits leur ont été administrés oralement par gavage, à l'aide d'une seringue de 5 mL dépourvue de l'aiguille. Concrètement, trois millilitres (3 mL) d'eau distillée stérile contenant 1700,256 mg d'extrait (2000 mg/kg pc) ont été administrés à chaque poussin. Des sujets ayant reçu uniquement de l'eau distillée par gavage ont servi de témoin.

Après le gavage, toute nourriture a été supprimée pendant 3 à 4 heures en dehors de l'eau. Ensuite les sujets ont été nourris par l'alimentation d'élevage fournie par la Société de Fabrication d'aliments Composés Ivoiriens (SOFACI) et de l'eau jusqu'à la fin de l'expérimentation.

### 2.3.3. Observations du comportement

Après traitement, les animaux ont été observés individuellement chaque heure pendant les six premières heures après administration des extraits. Ils ont ensuite été observés quotidiennement pendant les 7 jours après l'administration des extraits (Kouamé, 2023).

Les observations portaient sur l'activité motrice et le comportement des sujets, à savoir l'apparition de divers symptômes ou manifestations de tremblement, de toux, de convulsion, de diarrhée, de léthargie, de sommeil, de coma et de mortalité.

Par ailleurs, une observation macroscopique de certains organes vitaux a été faite après autopsie à la fin de l'expérience : cœur, foie, reins, poumons et rate.

### 2.4. Evaluation de l'efficacité thérapeutique de l'extrait aqueux de *A. leiocarpus*

Cette étude a été réalisée avec l'extrait aqueux. Ce choix s'explique par le fait que les deux extraits aient présenté le même mode d'action (effet bactéricide), avec la même valeur de CMB sur la souche la plus résistante et des pouvoirs antioxydants sensiblement équivalents d'une part, et du fait que l'eau est le solvant le plus polaire, le plus courant, accessible et moins onéreux d'autre part ; ceci dans la perspective de proposer un phyto-médicament disponible, facile à produire, efficace et moins cher.

#### 2.4.1. Souche infectante

La souche de *Salmonella typhimurium* multi-résistante d'origine aviaire de profil d'antibiorésistance large (AMP-CHL-STR-SUL-TE-AUG-CTX-CIP-NA) a été utilisée pour induire la salmonellose chez les poussins. (Tableau III).

#### 2.4.2. Méthode d'élevage

Cette partie de notre étude s'est déroulée dans une ferme située dans la commune de Bingerville, une sous-préfecture du district autonome d'Abidjan, limitée au Nord par la commune d'Anyama, à l'Est par celle de Cocody et au Sud par la lagune Ebrié. La situation périphérique et le climat font de Bingerville un site propice pour les activités agricoles et avicoles.

Pour l'étude expérimentale, 4 lots de 25 poussins de chair chacun ont été constitués (Figure 8).

- Lot 1 : poussins non contaminés et non traités avec l'extrait végétal (NC-NT) ;
- Lot 2 : poussins contaminés et non traités avec l'extrait végétal (C-NT) ;
- Lot 3 : poussins contaminés et traités avec l'extrait végétal (C-T. extr) ;
- Lot 4 : poussins contaminés et traités uniquement avec un antibiotique usuel, l'oxytétracycline (C-T.OTC). L'oxytétracycline est un antibiotique utilisé par de nombreux éleveurs contre les diarrhées à salmonelles.

Les lots de poussins non contaminés ont été suffisamment éloignés des lots malades pour éviter une éventuelle contamination horizontale entre eux. Au début de l'expérience, tous les poussins de chaque lot ont été numérotés de 1 à 25 et pesés. De plus, un examen clinique a été réalisé dans chaque lot d'animaux afin de s'assurer qu'ils ne présentent aucun signe de gastroentérite.

Tous les poussins ont été nourris de façon identique avec l'alimentation classique d'élevage de poulets de chair fournie par la Société de Fabrication d'Aliments Composés Ivoiriens (SOFACI). Les différents lots de poussins ont reçu les mêmes quantités d'aliments bien conditionnés dans des sacs propres de 25 kg.

Les animaux ont été manipulés selon les protocoles standards d'utilisation des animaux de laboratoire. Les études ont été menées conformément aux lignes directrices éthiques du Comité de Contrôle et de Surveillance des Expériences sur les Animaux telles que décrites dans « les lignes directrices de la Communauté Européenne, directive CEE 86/609/CEE » (CEE, 1986), sur l'utilisation des animaux pour la recherche scientifique (Kouamé, 2023).



**Figure 8** : Compartiments comportant les différents lots d'élevage

### **2.4.3. Préparation de l'inoculum bactérien**

Pour induire la salmonellose chez les poussins, un inoculum a été préparé. Deux (2) colonies jeunes de la souche de *Salmonella typhimurium* multi-résistante isolées sur gélose Hektoen et dont les caractères biochimiques ont été déterminés sur portoir rédiut de Leminor ont servi à ensemercer 10 mL de bouillon Mueller-Hinton. Ce dernier a été ensuite incubé à

37°C pendant environ 3 heures ; on a ainsi obtenu une préculture avec une charge bactérienne estimée à  $1,5 \cdot 10^5$  UFC/mL (Jean *et al.*, 2019) (Figure 9).

#### 2.4.4. Contamination des poussins.

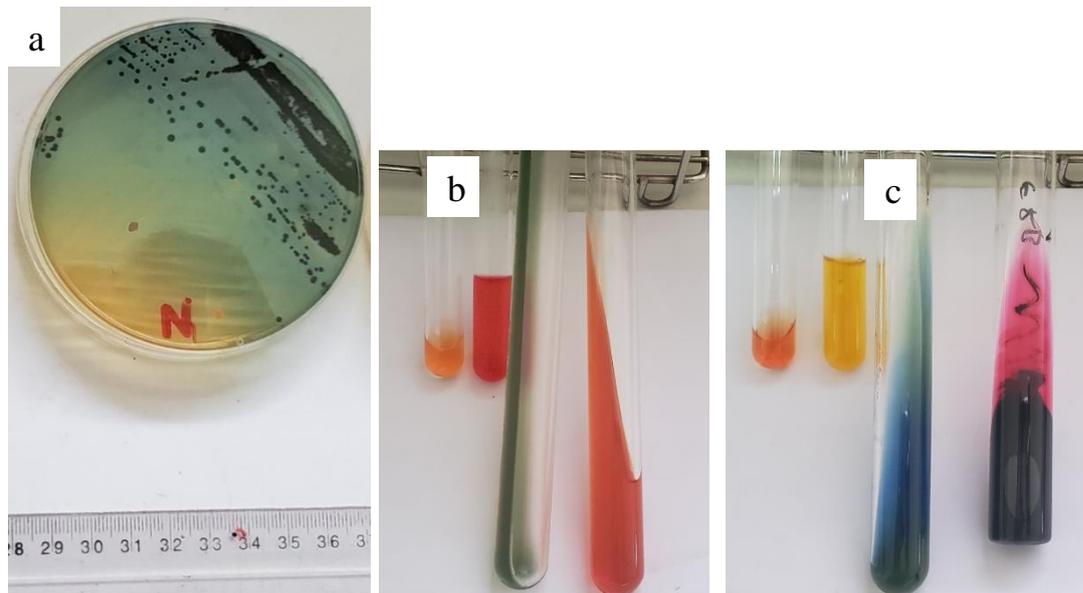
Pour l'induction de la salmonellose dans les lots 2, 3 et 4, 1 mL de la suspension bactérienne préparée a été administrée par voie orale à chaque poussin tout en maintenant le bec fermé pendant quelques secondes pour éviter le rejet de l'inoculum (Jean *et al.*, 2019).

Cette contamination des poussins s'est faite au huitième jour de l'expérimentation baptisé J<sub>0</sub>, c'est-à-dire après une semaine d'acclimatation des poussins dans la ferme.

#### 2.4.5. Traitement des poussins

Le traitement des poussins avec l'extrait aqueux et l'oxytétracycline (OTC) a commencé le jour où les premiers signes cliniques de la salmonellose sont apparus et a duré deux semaines (14 jours). Ce traitement a été effectué selon la méthode décrite par Ouattara *et al.* (2005). Ainsi, les poussins ont été traités tous les jours de la façon suivante :

- chaque jour à 07 heures du matin, chacun des poussins du lot 3 a reçu 1 mL de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* à 25,5 mg/mL pour un poussin de 300 g (0,3 kg) de poids corporel (soit 85 mg/kg pc) ;
- les poussins du lot 4 ont reçu de l'oxytétracycline (OTC). En effet, chaque poussin de ce lot a reçu 1 mL de cet antibiotique préparé à raison de 6 mg/mL (soit 20 mg/kg pc).



**Figure 9 :** Identification de *Salmonella* pour préparation de l'inoculum

**a :** culture sur gélose Hektoen ; **b :** aspect des milieux constitutifs du portoir réduit de leminor avant identification ; **c :** aspect des milieux constitutifs du portoir réduit de leminor après.

## 2.4.6. Evaluation du pouvoir antimicrobien *in vivo* de l'extrait aqueux

### 2.4.6.1. Description des indices cliniques des poussins.

L'aspect des fientes des poussins a été observé et décrit quotidiennement de même que leur comportement. L'évolution de l'aspect de ces fientes a été suivie par la détermination du taux d'humidité selon la méthode de Ouattara *et al.* (2005). Dans chaque lot, des prélèvements d'échantillons de fientes ont été réalisés à l'aide d'une spatule stérile chaque jour. Ensuite, ces fientes ont été pesées pour déterminer le poids humide (Ph). Après la pesée, elles ont été placées à l'étuve pendant 24 heures à 70°C. A l'issue de ce temps, les échantillons ont été pesés à nouveau en vue de déterminer le poids sec (Ps). Les pesées ont été faites à l'aide d'une balance électronique de précision. En faisant la différence entre le poids humide et le poids sec des fientes, le taux d'humidité a ainsi été déterminé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'humidité} = (\text{Ph} - \text{Ps}) \times 100 / \text{Ph} \quad (5)$$

**Ph** : poids humide des fientes ; **Ps** : poids sec des fientes

A la fin de l'expérimentation, le taux de mortalité a été déterminé dans chaque lot.

### 2.4.6.2. Evaluation des charges bactériennes des fèces des poussins après induction de la salmonellose

L'infection a été confirmée par l'apparition de signes cliniques tels que la diarrhée et l'excrétion fécale de *Salmonella*. Pour suivre l'effet de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* ainsi que l'efficacité du traitement, la quantité de colonies bactériennes présente dans les fèces des poussins a été évaluée selon le protocole suivant :

Les matières fécales fraîches de chaque lot de poussins ont été collectées dans des flacons stériles avec une spatule propre tous les jours avant le traitement. Les prélèvements ont été réalisés selon des recommandations de l'Organisation Internationale des Epizooties (O.I.E) pour la réalisation du prélèvement et l'expédition des échantillons pour le diagnostic de laboratoire. Les fèces de poussins ont été prélevés à la suite d'une observation macroscopique qui visait à identifier ceux présentant les symptômes d'infection à *Salmonella* à travers certains paramètres tels que l'aspect et la couleur.

L'analyse bactériologique, utilisée pour l'isolement des salmonelles dans les fèces des poussins s'est faite selon la norme NF EN ISO 6579 (ISO-6579, 2002) comportant 4 étapes : le pré-enrichissement, l'enrichissement, l'isolement et l'identification biochimique.

#### 2.4.6.2.1. Pré-enrichissement

Une masse de 10 g de chaque prélèvement a été introduite dans un flacon stérile de 120 mL, contenant 90 mL d'eau peptonée tamponnée. Ce flacon, contenant la culture de pré-enrichissement a été ensuite incubé à 37°C à l'étuve pendant 24h.

#### 2.4.6.2.2. Enrichissement sélectif

La culture de pré-enrichissement a été prélevée à l'aide de pipettes à usage unique de 1 mL. Un volume de 0,1 mL de culture de pré-enrichissement a été prélevé et rajouté à 10 mL de Bouillon Rappaport de Vassiliadis. Les tubes contenant le Bouillon Rappaport de Vassiliadis ont été ensuite incubés à l'étuve à 42 °C pendant 24 h.

#### 2.4.6.2.3. Isolement

Il a consisté à ensemencer par la technique de stries d'épuisement, des géloses sélectives Hektoen à partir des précédents bouillons enrichis. Les boîtes de Pétri contenant les géloses sélectives ensemencées, ont été incubées à 37°C à l'étuve pendant 24h. Les colonies caractéristiques bleu-vert avec centre noir sur gélose Hektoen ont été prélevées pour une coloration de Gram ; la recherche de l'oxydase et de la catalase a été effectuée en vue de confirmer leur appartenance à la famille des Enterobacteriaceae.

#### 4.4.6.2.4. Recherche d'autres caractères biochimiques

La recherche des autres caractères biochimiques a consisté à ensemencer un portoir réduit de Leminor constituée de 4 milieux de culture ; à savoir les milieux Kligler-Hajna, urée-indole, mannitol et le citrate de Simmons. Le tout a été incubé à 37 °C pendant 24 h. Ces milieux ont été utilisés respectivement pour la mise en évidence de la fermentation ou non du glucose et du lactose avec production ou non de gaz et d'hydrogène sulfuré, de la production ou non d'uréase ou d'indole, de l'utilisation du mannitol et du carbone du citrate.

#### 2.4.6.3. Détermination du gain de poids moyen des poussins

Les poussins ont été pesés individuellement avant l'expérimentation (le jour de l'inoculation des germes, soit à  $J_0$ ) et durant l'expérimentation soit de  $J_1$  à  $J_{14}$ . Les poids moyens des poussins par lot ont été déterminés à partir de la formule suivante :

$$P_m = \frac{\sum P_i}{N} \quad (6)$$

$P_m$  = Poids moyen des poussins (g)/lot.

$\Sigma P_i$  = Somme des poids individuels des poussins par lot (g).

$N$  = Nombre de poussins par lot.

Ces poids moyens par lot ainsi calculés ont permis de déterminer les gains de poids moyens des poussins par lot de façon suivante :

$$\boxed{GP_m = P_{mj} - P_{mp}} \quad (7)$$

$GP_m$  = Gain de poids moyen (g)/lot

$P_{mj}$  = Poids moyen du jour (g)

$P_{mp}$  = Poids moyen précédent (g)

#### 2.4.6.4. Détermination de l'indice de consommation alimentaire des poussins

L'indice de consommation (I.C) se définit comme étant le rapport entre la somme des quantités d'aliments consommées et le gain de poids moyen.

Tous les matins, les mangeoires ont été vidées et le reste éventuel d'aliments non ingérés par les animaux a été pesé. Ensuite, les poussins ont reçu à nouveau une nouvelle ration. Ce qui a permis de calculer la quantité d'aliment consommé quotidiennement de la façon suivante :

$$\boxed{Q_{ac} = Q_s - Q_r} \quad (8)$$

$Q_{ac}$  = Quantité d'aliment consommée/jour/lot (g)

$Q_s$  = Quantité d'aliment servi (g)

$Q_r$  = Quantité d'aliment restant (g)

L'indice de consommation (I.C) a été obtenu selon la formule ci-dessous :

$$\boxed{I.C = \frac{\Sigma Q_{ac}}{GP_m}} \quad (9)$$

$\Sigma Q_{ac}$  = Somme des quantités d'aliment consommé/jours (g).

$GP_m$  = Gain de poids moyen (g)/lot

#### 2.5. Pouvoir antioxydant de l'extrait aqueux

A la fin du traitement (**J14**), les poussins ont été mis à jeun pendant 12 h puis, plumés et saignés. 5 mL de sang ont été prélevés et collectés sur tube sec (sans anticoagulant) et centrifugé à 3000 tr/min pendant 15 minutes. Ensuite, le sérum (surnageant) a été prélevé et stocké à -18 °C avant l'analyse.

De même, l'homogénat de chaque organe (foie, rein, cœur, poumons et rate) a été dissout dans une solution saline tamponnée au phosphate pour donner une concentration de 15 % (soit 15 g d'organe dans 100 mL de solution) et centrifugé également à 3000 tr/min pendant 15 minutes. Les surnageants issus de ces organes ont été collectés. Ces sérums et surnageants ont été utilisés pour l'analyse des marqueurs biochimiques liés au stress oxydatif tels que la catalase (CAT), la peroxydase (POD), l'oxyde nitrique (NO) et le malondialdéhyde (MDA).

### **2.5.1. Mesure de l'activité de la catalase**

La méthode de Dimo *et al.* (2006) a été utilisée pour évaluer l'activité de la catalase. 10 µL de sérum ou d'homogénat de tissus ont été ajoutés dans 150 µL de tampon phosphate (pH 7,4). 40 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (50 mM) ont également été ajoutés à ce mélange. Après 1 min, 400 µL de bichromate de potassium (5 %) préparé dans de l'acide acétique (1%) a été introduit dans le mélange réactionnel. Le mélange a été chauffé par la suite au bain-mari bouillant pendant 10 minutes et refroidi immédiatement. L'absorbance a ensuite été mesurée à 570 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Une unité de l'activité enzymatique de la catalase correspond à l'activité nécessaire à la dégradation d'une millimole de peroxyde d'hydrogène pendant une minute. Elle a été exprimée en mmole/min par millilitre de sérum ou gramme de tissu.

### **2.5.2. Mesure de l'activité de la peroxydase**

Le niveau de peroxydase a été déterminé dans les tissus comme décrit par Habbu *et al.* (2008) avec de légères modifications. Deux cent cinquante microlitres (250 µL) d'homogénat d'organe ou de sérum ont été prélevés, auxquels ont été ajoutés 500 µL de solution de KI 10 (mM) et 500 µL d'acétate de sodium 40 (mM). L'absorbance du periodure de potassium a été lue à 353 nm, ce qui indique la quantité de peroxydase. Ensuite, 10 µL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 15 mM ont été ajoutés et une modification de l'absorbance en 5 minutes a été enregistrée. Une unité de l'activité enzymatique de la peroxydase correspond à la quantité d'enzyme nécessaire pour changer la densité optique par unité et par minute. Elle a été exprimée en µmole/min par millilitre de sérum ou gramme de tissu.

### **2.5.3. Dosage du monoxyde d'azote**

Le niveau de nitrite, reflet de la production de monoxyde d'azote (NO), a été estimé en utilisant le réactif de Griess. Des volumes égaux de 170 µL d'échantillon ou nitrite (nitrite de sodium 0,1 M dans l'eau pour l'étalon courbe) et 170 µL de solution de sulfanilamide (1% sulfanilamide dans 5% d'acide phosphorique) ont été mélangés et incubés à l'obscurité à température ambiante pendant 5min.

Après l'incubation, 170  $\mu\text{L}$  de la solution de N-1-dichlorhydrate de naphtyléthylènediamine (0,1% du N-1 dichlorhydrate de naphtyléthylènediamine dans l'eau) y ont été ajoutés et l'ensemble a été incubé dans les mêmes conditions que précédemment. La concentration de NO a été estimée en mesurant l'absorbance à 520 nm au spectrophotomètre et les résultats ont été exprimés en micromoles de NO par gramme de tissu ou par millilitre de sang en utilisant une courbe d'étalonnage du nitrite de sodium. (Jean- Baptiste *et al.* (2019).

#### 2.5.4. Dosage du malondialdéhyde

Le malondialdéhyde (MAD) est un produit final de la peroxydation lipidique. En effet, les teneurs de MAD peuvent être utilisées pour évaluer le degré de peroxydation lipidique. Ainsi la quantité de MAD a été mesurée dans les tissus ou sérum en utilisant l'acide thiobarbiturique grâce à la méthode modifiée de Serge *et al.* (2016). 50  $\mu\text{L}$  d'homogénat de tissu ou serum 250  $\mu\text{L}$  d'acide orthophosphorique à 1 % et 250  $\mu\text{L}$  d'un mélange précipitant (c'est-à-dire 1 % d'acide thiobarbiturique et 1 % d'acide acétique) ont été mélangés. Le mélange obtenu a été homogénéisé et chauffé au bain marie pendant 15 min et immédiatement refroidi. Il a ensuite été centrifugé à 3000 tr/min pendant 15 minutes et le surnageant a été récupéré puis l'absorbance a été mesurée à 532 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La teneur de MAD a été calculée en fonction du coefficient d'extinction molaire, et exprimée en termes de micromoles de MAD par gramme de tissu ou par millilitre de sang.

#### 2.6. Analyses statistiques

Les données ont été soumises à l'analyse de variance sous le logiciel Graph Pad Prism 9.5.1. L'exploitation des résultats a été effectuée en utilisant l'analyse des variables (ANOVA) et le test de comparaison multiple de Tukey pour la comparaison des moyennes. La différence est considérée comme significative pour un niveau de probabilité  $p < 0,05$ . Une valeur de  $p$  inférieure ou égale 0,05 a été considérée comme significative. Les différences statistiques ( $p$  inférieure ou égale 0,05) sont signalées dans les tableaux par une étoile (\*). Les différences statistiques moyennement significatives ( $p$  inférieure ou égale 0,01) sont représentées par deux étoiles (\*\*). Les différences statistiques très significatives ( $p$  inférieure ou égale 0,001) sont représentées par trois étoiles (\*\*\*) et les différences statistiques très hautement significatives ( $p$  inférieure ou égale 0,0001) par quatre étoiles (\*\*\*\*).

**TROISIEME PARTIE :**  
**RESULTATS ET DISCUSSION**

## 1. Résultats

### 1.1. Tri phytochimique et évaluation des activités antisalmonelles *in vitro* des extraits aqueux et hydroéthanolique (70%) de *Anogeissus leiocarpus*

#### 1.1.1. Tests de sensibilité des souches de *Salmonella typhimurium* aux extraits aqueux et hydroéthanolique (70%) de *Anogeissus leiocarpus*

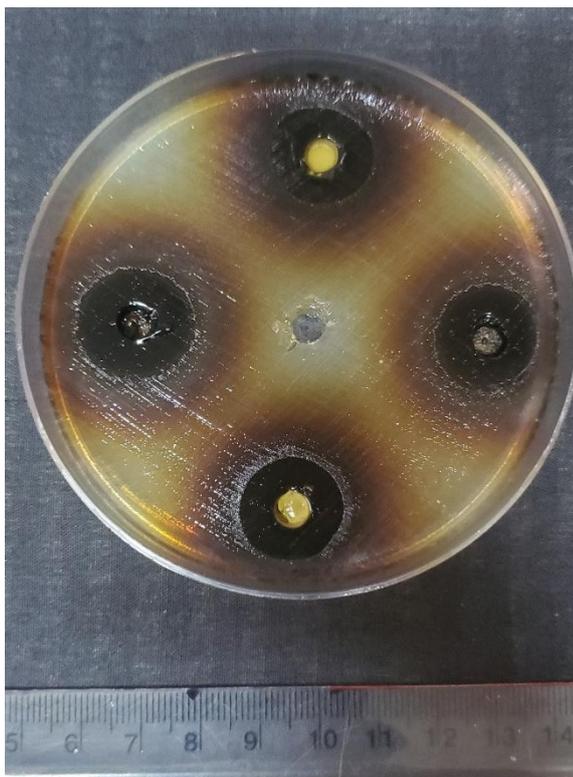
Le tableau IV présente les valeurs des diamètres des zones d'inhibition de croissance des germes de *Salmonella typhimurium* testés vis-à-vis des extraits aqueux et hydroéthanoliques 70% de *Anogeissus leiocarpus*. Il y apparaît que chacun des extraits préparés a eu une activité bien définie sur la croissance des souches bactériennes étudiées. Les diamètres d'inhibition étaient compris entre 13 et 22 mm. Ainsi, l'extrait aqueux a donné un diamètre d'inhibition de 13 mm sur *Salmonella typhimurium* N°1 et 19 mm sur la souche de *Salmonella typhimurium* N°2. Face à l'extrait hydroéthanolique 70% de *Anogeissus leiocarpus*, les diamètres d'inhibition enregistrés étaient de 16 mm et 22 mm respectivement pour les souches de *Salmonella typhimurium* N°1 et *Salmonella typhimurium* N°2.

La figure 10 présente des diamètres des zones d'inhibition de croissance par la méthode de diffusion sur gélose Mueller-Hinton.

**Tableau IV :** Diamètres d'inhibition des extraits de *Anogeissus leiocarpus* sur les souches de *Salmonella typhimurium*

Souches de <i>Salmonella</i> testées	Origine	Profils antibiotiques	Extrait aqueux	Extrait hydroéthanolique 70%
<i>Salmonella typhimurium</i> N°1	fientes des poulets de chair	AMP-CHL-STR- SUL-TE-AUG- CTX-CIP-NA	13 mm	16 mm
<i>Salmonella typhimurium</i> N°2	fientes des poulets de chair	AMP-CHL-STR- SUL-TE	19 mm	22 mm

AMP : ampicilline, CHL : chloramphénicol, STR : streptomycine, SUL : sulfamides, TE : tétracycline, AUG : amoxicilline acide clavulanique, CTX : cefotaxime, CIP : ciprofloxacine, NA : acide nalidixique



**Figure 10** : Inhibition de la croissance de *Salmonella* en milieu gélosé

**Puits avec fond jaune** : extrait aqueux ; **puits avec fond sombre** : extrait éthanolique, **puits avec fond transparent** : témoin (eau distillée stérile)

### 1.1.2. Concentrations Minimales Inhibitrices et Bactéricides des extraits aqueux et hydroéthanoliques 70% de *Anogeissus leiocarpus*

L'aspect des tubes pour la détermination de la CMI est illustré par la figure 11. Les valeurs des paramètres antibactériens (CMI et CMB) ainsi que celles des rapports CMB/CMI déterminées sont reportées dans le tableau V. Sur la souche de *Salmonella typhimurium* N°1, l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* a enregistré une Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) qui était égale à la Concentration Minimale Bactéricide (CMI = CMB = 25 mg/mL). Sur cette même souche de *Salmonella typhimurium* N°1, l'extrait hydroéthanolique 70% de *Anogeissus leiocarpus* a donné une Concentration Minimale Bactéricide de 25 mg/mL qui est le double de la Concentration Minimale Inhibitrice (12,5 mg/mL).

En présence, de la souche de *Salmonella typhimurium* N°2, la CMI de l'extrait aqueux de *A. leiocarpus* a été de 12,5 mg/mL avec également une CMB de 12,5 mg/mL. Par contre, l'extrait hydroéthanolique 70% de *A. leiocarpus* a donné une CMI de 6,25 mg/mL et une CMB de 12,5 mg/mL sur ce germe de *Salmonella typhimurium* N°2.

Toutefois, le rapport CMB/CMI de chaque extrait préparé et testés contre les deux souches de *Salmonella typhimurium* étudiées était égal à 1 ou 2.

Par ailleurs, on retient de cette première étude que les deux extraits aqueux et hydroéthanolique 70% ont donné des CMB de 25 mg/mL sur *Salmonella typhimurium* N°1 contre des CMB de 12.5 mg/mL sur *Salmonella typhimurium* N°2 (Figure 13).

**Tableau V.** Paramètres antibactériens comparés des extraits de *Anogeissus leiocarpus* sur les souches de *Salmonella typhimurium*

Souches de <i>Salmonella</i> testées	Profils antibiotiques	Extraits de <i>Anogeissus leiocarpus</i>	Paramètres antibactériens		Rapport CMB/CMI	Effet de l'extrait
			CMI (mg/mL)	CMB (mg/mL)		
<i>Salmonella typhimurium</i> N°1	AMP-CHL-STR-SUL-TE-AUG-CTX-CIP-NA	Aqueux	25	25	1	bactéricide
		hydroéthanolique 70%	12,5	25	2	bactéricide
<i>Salmonella typhimurium</i> N°2	AMP-CHL-STR-SUL-TE	Aqueux	12,5	12,5	1	bactéricide
		hydroéthanolique 70%	6,25	12,5	2	bactéricide

**AMP** : ampicilline, **CHL** : chloramphénicol, **STR** : streptomycine, **SUL** : sulfamides, **TE** : tétracycline, **AUG** : amoxicilline-acide clavulanique, **CTX** : ceftriaxone, **CIP** : Ciprofloxacin, **NA** : Acide Nalidixique.

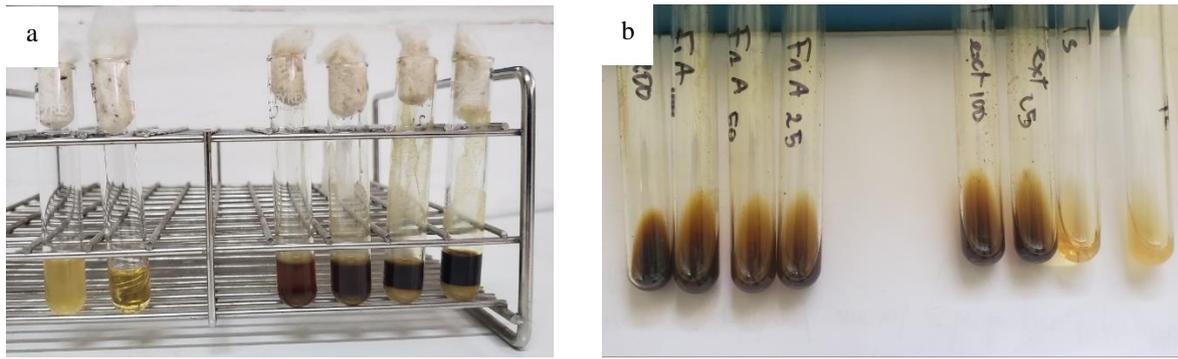


Figure 11 : Tubes présentant l'évaluation de la croissance en milieu liquide

a : inoculum bactérien ; b : gammes de concentration des extraits

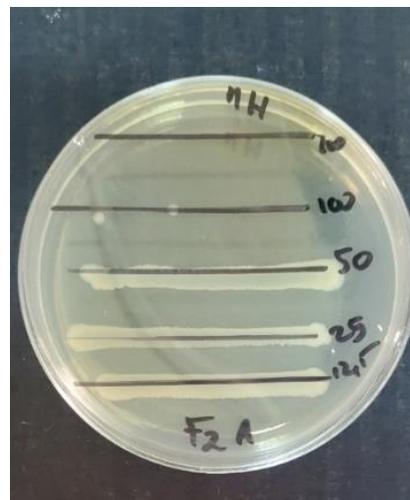


Figure 12 : Aspect d'une boîte de petri ayant servi à la détermination des CMB

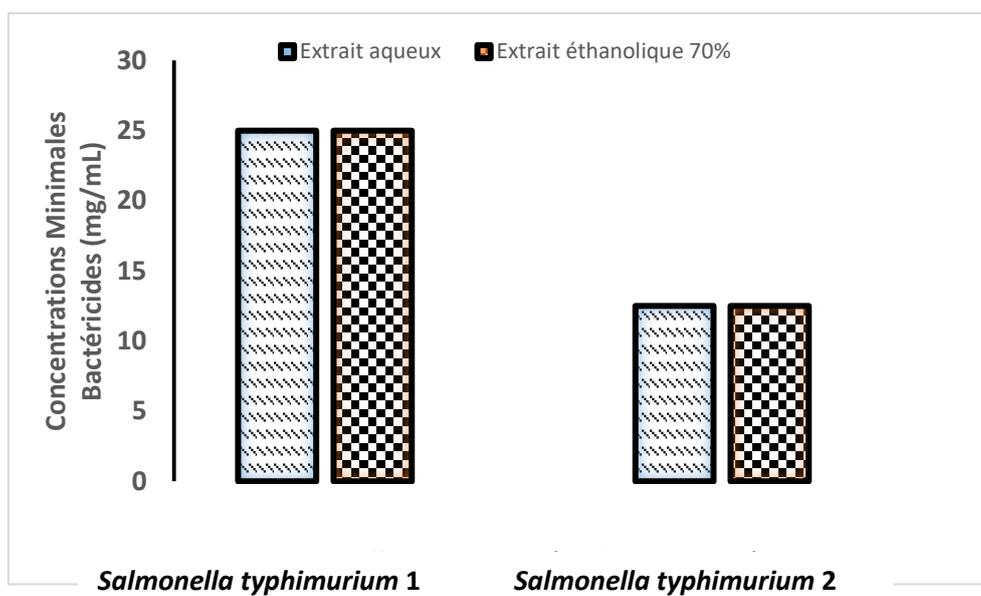


Figure 13 : Effets antibactériens comparés des extraits de *Anogeissus leiocarpus*

### 1.1.3. Tri phytochimie des extraits aqueux et hydroéthanoliques 70% de *Anogeissus leiocarpus*

L'analyse phytochimique des extraits étudiés a révélé la présence de plusieurs familles de métabolites secondaires dont les composés phénoliques, les glycosides cardiotoniques, les saponines, les alcaloïdes, les stérols et terpènes mais pas de tanins catéchiques. Néanmoins, ces métabolites secondaires sont repartis différemment au sein des extraits aqueux et hydroéthanolique 70%. Ainsi, dans la présente étude, l'extrait hydroéthanolique de *Anogeissus leiocarpus* contiendrait plus de composés phénoliques, notamment les flavonoïdes, comparativement à l'extrait aqueux (Tableau VI).

**Tableau VI :** Triphytochimie des extraits de *Anogeissus leiocarpus*

Composés recherchés	Test ou réactifs	Résultat éthanolique	Résultat aqueux
Stérols et polyterpènes	Liebermann	+	-
Polyphénols	Chlorure ferrique	+	+
Flavonoïdes	Solution d'ammonium	++	+
Saponosides	Agitation vigoureuse	+	+
Glycosides cardiotoniques	Acide Sulfurique concentré	+	+
Alcaloïdes	Dragendorff	+	+
	Valser-Mayer	+	+
Tanins	Catéchiques	-	-
	Galliques	++	+

(+) : Présence (++) : Forte présence

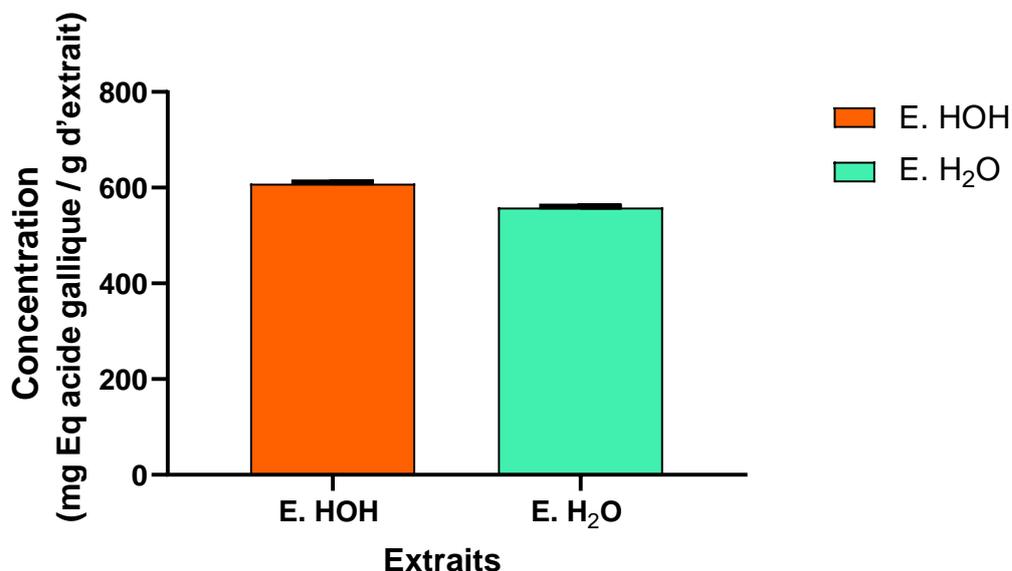
(-) : Absence

## 1.2. Teneurs en composés phénoliques et activités antioxydantes *in vitro* des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de *Anogeissus leiocarpus*

### 1.2.1. Teneurs en composés phénoliques de *Anogeissus leiocarpus*

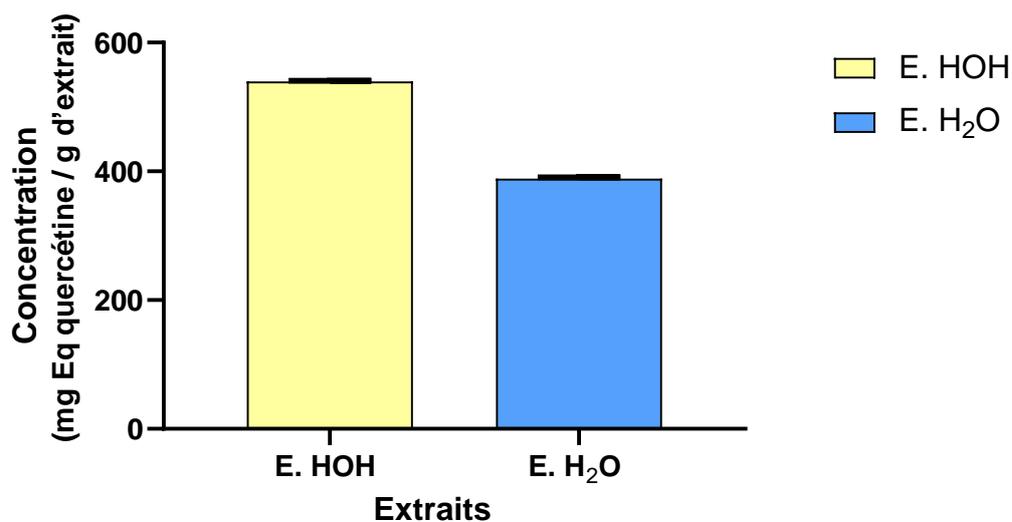
Le dosage des polyphénols totaux des deux extraits issus des feuilles de *Anogeissus leiocarpus* a montré que l'extrait hydro-éthanolique (E.HOH) et l'extrait aqueux (E.H<sub>2</sub>O)

présentaient des concentrations sensiblement équivalentes en polyphénols totaux qui sont respectivement de 608,41 mg EAG/g et 558,25 mg EAG/g (figure 14). Pour ce qui est des flavonoïdes totaux, l'extrait hydro-éthanolique des feuilles de *Anogeissus leiocarpus* en est plus riche (539,60 mg EQ/g) que l'extrait aqueux (388,95 mg EQ/g) (Figure 15).



**Figure 14** : Teneurs en polyphénols totaux des extraits de *A. leiocarpus*

E.HOH = extrait hydro éthanolique 70% ; E.H<sub>2</sub>O = Extrait aqueux



**Figure 15** : Teneurs en flavonoïdes totaux des extraits de *A. leiocarpus*

E.HOH = extrait hydro éthanolique 70% ; E.H<sub>2</sub>O = Extrait aqueux

### 1.2.2. Activités antioxydantes *in vitro* des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de *Anogeissus leiocarpus*

Pour une concentration de 100 µg/mL, le taux d'inhibition moyen du radical ABTS en présence de l'extrait hydro-éthanolique 70 % était de 11,56 µM Eq Trolox/g alors qu'il était de 8,32 µM Eq Trolox/g avec l'extrait aqueux. Pour ces deux extraits, les taux d'inhibition obtenus étaient beaucoup plus faibles comparativement à celui de l'acide gallique, l'antioxydant de référence qui a enregistré une valeur de 64,71 µM Eq Trolox/g (Tableau VII).

Les pourcentages moyens de chélation étaient de 31,93 ± 0,078 % (extrait hydroéthanolique 70%) et 20,92 ± 0,195 % pour l'extrait aqueux. Toutefois, ces valeurs sont nettement plus faibles que celle obtenue avec l'antioxydant de référence (EDTA) dont la moyenne du pourcentage de chélation a été estimée à 96,74 ± 0,275 %. Ces résultats sont représentés également dans le tableau VII.

Les résultats obtenus lors du test de mesure de la réduction du radical DPPH par nos deux extraits sont représentés sur les figures 16 et 17. Les concentrations correspondant à 50 % d'inhibition (CI<sub>50</sub>) pour les extraits hydro-éthanolique (4,4 µg/mL) et aqueux (6,0 µg/mL) de *A. leiocarpus* sont supérieures à celle de l'antioxydant de référence (Acide gallique) qui était de 3,6 µg/mL. La valeur de CI<sub>50</sub> étant inversement proportionnelle au pourcentage d'inhibition du DPPH, une plus faible CI<sub>50</sub> correspond donc à une activité antioxydante plus élevée. Les deux extraits ont donc montré des pouvoirs antioxydants intéressants mais relativement inférieurs à celui de l'acide gallique (antioxydant de référence).

**Tableau VII :** Activités antioxydantes des extraits de *A. leiocarpus* par les méthodes de ABTS et FRAP

Extraits/molécules de référence	Essais	
	ABTS (µM Eq Trolox/g)	FRAP (% de chélation)
E.H <sub>2</sub> O	8,32 ± 0,199	20,92 ± 0,195
E.HOH	11,56 ± 0,535	31,93 ± 0,078
Acide gallique	64,71 ± 0,519	-
EDTA	-	96,74 ± 0,275

**E.HOH :** extrait hydroéthanolique 70%, **E.H<sub>2</sub>O :** Extrait aqueux, - : Pas testé

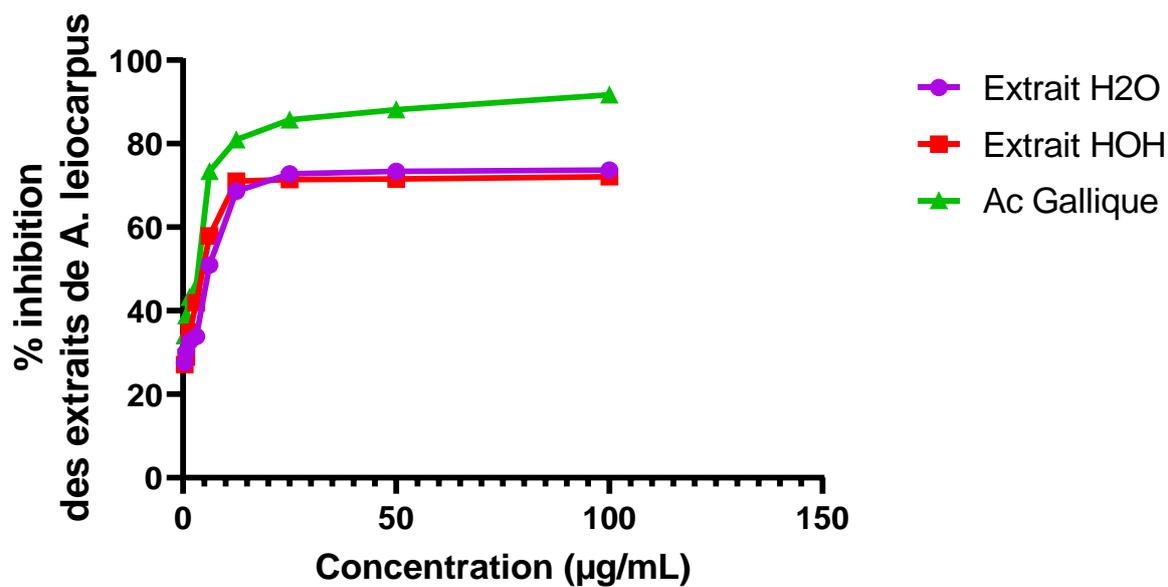


Figure 16 : Evolution de l'activité antiradicalaire par le test de DPPH

E.HOH : extrait hydroéthanolique 70%, E.H2O : Extrait aqueux

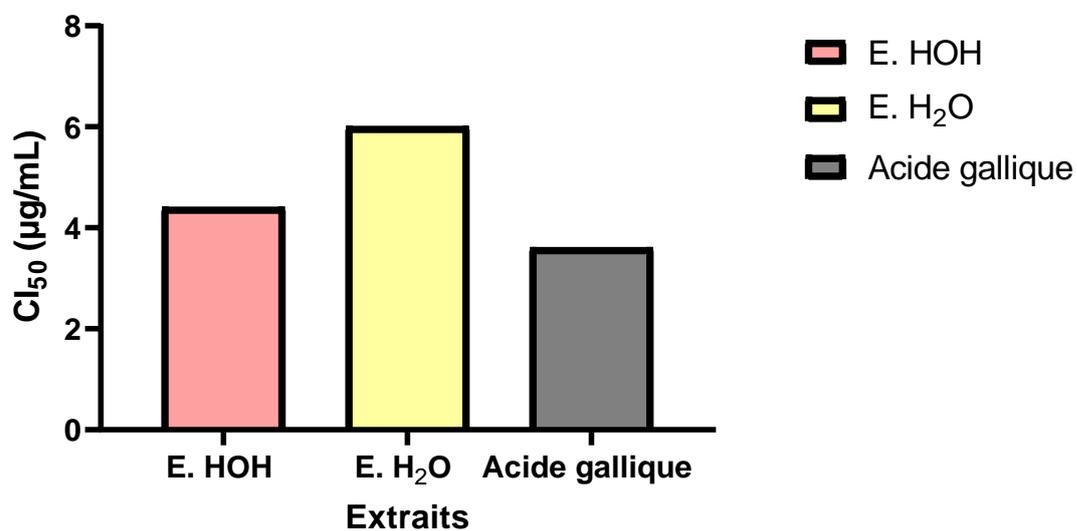


Figure 17 : Valeurs CI<sub>50</sub> des extraits de *A. leiocarpus* dans le test de DPPH

E.HOH : extrait hydroéthanolique 70%, E.H2O : Extrait aqueux,

### 1.3. Toxicité orale aiguë des extraits de plante sur les poussins de chair

Les résultats de l'étude sur la toxicité aiguë par voie orale des extraits sur les poulets de chairs sont donnés dans le tableau VIII. Ces résultats ne montrent aucun cas de mortalité. De plus, aucun signe clinique de toxicité après l'administration de l'extrait à la dose de 2000 mg/Kg de poids corporel (pc), n'a été enregistré. Tous les animaux ont survécu à l'issue des 7 jours d'observation, ce qui signifie que la DL<sub>50</sub> est supérieure à 2000 mg/kg de poids corporel. Les extraits sembleraient être non toxiques par voie orale, pour les poussins de chairs.

L'observation macroscopique des organes vitaux lors de l'autopsie des animaux n'a montré aucune atteinte de ceux-ci par leur aspect et couleur (Figure 18). En effet, une atteinte organique due à la consommation d'une substance est caractérisée par l'apparition d'une accumulation de liquide dans la cavité abdominale, de tissu cicatriciel, de liquide dans la cavité pulmonaire, et de tâche de coloration verte virant au jaune.

**Tableau VIII** : Signes cliniques et comportement observés après administration des différents extraits de *A leiocarpus* aux animaux

Extraits aqueux et hydroéthanoliques				
Signes cliniques comportement	Avant administration	2 h après	24 h après	7 jours après
Difficulté motrice	-	-	-	-
Tremblement	-	-	-	-
Somnolence	-	-	-	-
Toux	-	-	-	-
Convulsion	-	-	-	-
Diarrhée	-	-	-	-
Mortalité	-	-	-	-

+ : présence

- : absence



**Figure 18** : vue d'ensemble des organes sains

## **1.4. Pouvoir antimicrobien de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus***

### **1.4.1. Effet de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* sur les indices cliniques et le comportement des poussins**

#### **1.4.1.1. Aspect des fientes au cours du traitement**

Le tableau IX et la figure 19 présentent l'aspect des fientes des poussins de chair des différents lots. Après une semaine d'acclimatation et au premier jour de l'expérimentation ( $J_0$ ), les fientes des poussins présentaient toujours un aspect solide. Aussi, de  $J_0$  jusqu'au jour  $J_2$  c'est-à-dire au troisième jour de contamination, les fientes des poussins ont conservé leur aspect solide. Au 4<sup>ème</sup> jour de contamination ( $J_3$ ), les premiers signes cliniques sont apparus et se sont manifestés par la présence de diarrhée (fientes très liquides) dans les lots de poussins contaminés (lot 2, lot 3 et lot 4) alors que les fientes du lot témoin non contaminé (lot 1) étaient toujours solides.

Les fientes diarrhéiques liquides sont apparues au jour  $J_3$  dans les lots de poussins contaminés. Ainsi donc, ce jour  $J_3$  a été le premier jour de traitement. Au cours de l'expérimentation, les fientes des poussins du lot témoin (lot 1) ont montré un aspect solide tout le long de l'expérience jusqu'au jour  $J_{14}$  contrairement aux poussins des autres lots contaminés (lot 2, lot 3 et lot 4). Aussi, à partir du Jour  $J_3$ , les fientes des poussins du lot 2 (C-NT) se sont présentés sous forme de diarrhée liquide et ce, jusqu' à la fin de l'expérience soit à ( $J_{14}$ ). En revanche, dès le premier jour de traitement ( $J_3$ ) des poussins du lot 3 (C-Text), l'extrait aqueux a montré une efficacité faisant passer les fientes des poussins de l'aspect diarrhéique liquide à l'aspect peu liquide à  $J_5$ . Dans ce lot 3, la solidification des fientes a continué jusqu'à la fin de l'expérimentation ( $J_{14}$ ) contrairement au lot 4 (C-T.OTC), où les fientes des poulets sont restées liquides dès l'apparition des premiers signes de salmonellose jusqu'à la fin de l'expérience.

**Tableau IX :** Aspect des fientes des poussins de chair des différents lots

<b>Differents lots de poussins</b>				
<b>Jours</b>	<b>Lot 1 (NC-NT)</b>	<b>Lot 2 (C-NT)</b>	<b>Lot 3 (C-T.extr)</b>	<b>Lot 4 (C-T.OTC)</b>
<b>J<sub>0</sub></b>	S	S	S	S
<b>J<sub>1</sub></b>	S	S	S	S
<b>J<sub>2</sub></b>	S	S	S	S
<b>J<sub>3</sub></b>	S	DL	DL	DL
<b>J<sub>4</sub></b>	PS	DL	PL	L
<b>J<sub>5</sub></b>	S	DL	PL	L
<b>J<sub>6</sub></b>	S	DL	PS	L
<b>J<sub>7</sub></b>	S	DL	PS	L
<b>J<sub>8</sub></b>	S	DL	PS	L
<b>J<sub>9</sub></b>	S	DL	PS	L
<b>J<sub>10</sub></b>	S	DL	S	L
<b>J<sub>11</sub></b>	S	DL	S	L
<b>J<sub>12</sub></b>	S	DL	S	L
<b>J<sub>13</sub></b>	S	DL	S	L
<b>J<sub>14</sub></b>	S	DL	S	L

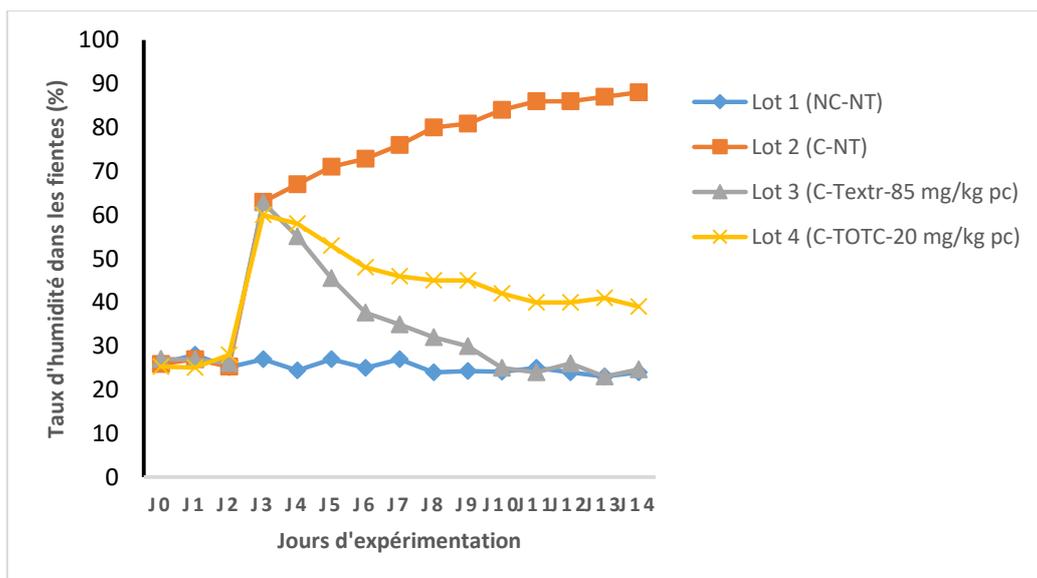
**S** : fiente Solide ; **PS** : fiente Peu Solide) ; **DL** : fiente avec Diarrhée Liquide ; **PL** : fiente Peu Liquide) ; **L** : fiente liquide, **Lot 1 (NC-NT)** : poussins non contaminés et non traités ; **Lot 2 (C-NT)**: poussins contaminés et non traités ; **Lot 3 (C-T.extr)** : poussins contaminés et traités avec l'extrait végétal ; **Lot 4 (C-T.OTC)** : poussins contaminés et traités avec l'oxytetracycline.



**Figure 19** : aspect des fientes (liquide et solide)

#### 1.4.1.2. Taux d'humidité des fientes au cours du traitement

La figure 20 montre l'évolution des taux d'humidité des fientes des poussins dans les différents lots. Avant la contamination, les poussins des 4 différents lots présentaient des fientes normales avec des taux d'humidité d'environ 25 %. Après la contamination, ce taux a significativement varié à partir de J<sub>2</sub> dans tous les lots contaminés. En effet, le taux d'humidité a fortement augmenté dans le lot 2 (C-NT) pour atteindre  $88 \pm 0,27\%$  à la fin de l'expérience ; alors que dans les lot 3 (C-T. extr) et lot 4 (C-T. OTC), le taux d'humidité, après une forte augmentation à J<sub>3</sub> a chuté de façon drastique pour atteindre des valeurs respectives de  $24,67 \pm 0,41\%$  et  $39 \pm 0,04\%$  à J<sub>14</sub>. Quant au lot 1 (NC-NT) témoin, le taux d'humidité des fientes a varié très peu entre  $24 \pm 0,03\%$  et  $27 \pm 0,33\%$  sur toute la période d'expérimentation.



**Figure 20** : Evolution des taux d'humidité des fientes des poussins dans les différents lots

**Lot 1 (NC-NT)** : poussins non contaminés et non traités ; **Lot 2 (C-NT)**: poussins contaminés et non traités ; **Lot 3 (C-T.extr)** : poussins contaminés et traités avec l'extrait végétal ; **Lot 4 (C-T.OTC)** : poussins contaminés et traités avec l'oxytetracycline.

### **1.4.1.3. Comportement des poussins au cours du traitement**

Le tableau X présente le comportement des poussins des différents lots. A J<sub>0</sub>, chaque poussin de tous les lots (lot 1 à lot 4) présentait un aspect normal et était vif. Après contamination, ces poussins étaient toujours vifs à J<sub>1</sub>. Les poussins du lot 1 (NC-NT) sont restés normaux toute la durée de cette expérimentation. A partir du troisième jour de contamination, soit au jour J<sub>2</sub>, les poussins des lots contaminés (lots 2, lot 3 et lot 4) ont montré une altération de leur état s'exprimant par un stress avec une baisse de l'appétit (inappétence). Cette altération s'est accentuée (plume ébouriffée, baisse la tête, isolement...) dans les lot 2 (C-NT) et lot 4 (C-T.OTC) jusqu'à la fin de l'expérimentation alors que les animaux du lot 3 (C-Tex) ont retrouvé leur vivacité progressivement à partir de J<sub>4</sub> jusqu'à retrouver leur état normal et vif de J<sub>10</sub> à J<sub>14</sub> suite au traitement avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*.

**Tableau X** : Comportements des poussins des différents lots

<b>Differents lots de poussins</b>				
<b>Jours</b>	<b>Lot 1 (NC-NT)</b>	<b>Lot 2 (C-NT)</b>	<b>Lot 3 (C-T.extr)</b>	<b>Lot 4 (C-T.OTC)</b>
<b>J<sub>0</sub></b>	N, V	N, V	N, V	N, V
<b>J<sub>1</sub></b>	N, V	N, V	N, V	N, V
<b>J<sub>2</sub></b>	N, V	Str, I	Str, I	Str, I
<b>J<sub>3</sub></b>	N, V	PE Bt Str, Is	PE, I, Bt, Str, Is	PE, I, Bt, Str, Is
<b>J<sub>4</sub></b>	N, V	PE, I, Bt, Str, Is, Som	PV	I, Bt, Str
<b>J<sub>5</sub></b>	N, V	PE, I, Bt, Str, Is, Som	PV	I, Bt, Str
<b>J<sub>6</sub></b>	N, V	PE, I, Bt, Str, Is, Som	PV	I, Bt, Str
<b>J<sub>7</sub></b>	N, V	PE, I, Bt, Str, Is, Som	PV	I, Bt, Str
<b>J<sub>8</sub></b>	N, V	PE, I, Bt, Str, Is, Som	PV	I, Bt, Str
<b>J<sub>9</sub></b>	N, V	PE, I, Bt, Str, Is, Som	PV	I, Bt, Str
<b>J<sub>10</sub></b>	N, V	PE, I, Bt, Str, Is, Som	NV	I, Bt, Str
<b>J<sub>11</sub></b>	N, V	PE, I, Bt, Str, Is, Som	NV	I, Bt, Str
<b>J<sub>12</sub></b>	N, V	PE, I, Bt, Str, Is, Som	NV	I, Bt, Str
<b>J<sub>13</sub></b>	N, V	PE, I, Bt, Str, Is, Som	NV	I, Bt, Str
<b>J<sub>14</sub></b>	N, V	PE, I, Bt, Str, Is, Som	NV	I, Bt, Str

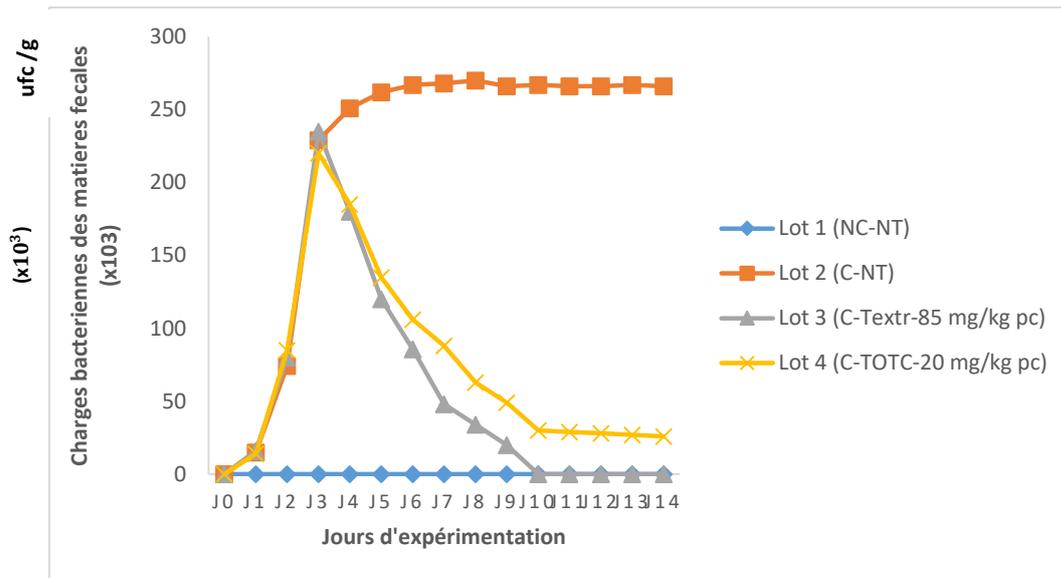
**N** : poussins Normaux ; **V** : poussins vifs ; **Str** : poussins Stressés ; **PE** : poussins avec Plumes Ebouffées, **I** : inappetence ; **PV** : poussins peu vifs **Bt** : baisse de la tête ; **Is** : isolement ; **Som** : somnolence ; **Lot 1 (NC-NT)** : poussins non contaminés et non traités ; **Lot 2 (C-NT)** : poussins contaminés et non traités ; **Lot 3 (C-T. extr)** : poussins contaminés et traités avec extrait végétal ; **Lot 4 (C-T.OTC)** : poussins contaminés et traités avec l'oxytetracycline.

#### 1.4.1.4 Charges bactériennes des fèces des poussins au cours du traitement

La figure 21 montre l'évolution des charges bactériennes dans les fientes de poussins des différents lots. On note une absence de germes de salmonelles dans les fientes des poussins du lot 1 (poussins non contaminés et non traités) sur toute la durée de l'expérience. Concernant les trois autres lots contaminés (lot 2, lot 3 et lot 4), les charges en salmonelles dans les fèces ont augmenté progressivement jusqu'à J<sub>3</sub>. En effet, pour ces lots 2, 3 et 4, les charges en salmonelles ont atteint les nombres de 229.10<sup>3</sup> UFC/g de matière fécale, 235.10<sup>3</sup> UFC/g de matière fécale et 220.10<sup>3</sup> UFC/g de matière fécale respectivement à J<sub>3</sub>.

A partir de J<sub>3</sub>, les charges en salmonelles dans les fèces des poussins du lot 2 (poussins contaminés et non traités) ont continué d'augmenter atteignant une charge de 268.10<sup>3</sup> UFC/g de matière fécale à J<sub>7</sub> qui est resté presque constant jusqu'à J<sub>14</sub> avec 266.10<sup>3</sup> UFC/g de matière fécale. Dans le lot 3 des poussins contaminés et traités avec l'extrait de *A. leiocarpus*, les nombres de colonies de salmonelles dans les fientes ont diminué passant de 235.10<sup>3</sup> UFC/g de matière fécale à J<sub>3</sub> à 48.10<sup>3</sup> UFC/g de matière fécale à J<sub>7</sub> puis à une charge nulle à J<sub>10</sub> restée constante jusqu'à J<sub>14</sub>. Quant aux poussins du lot 4 contaminés et traités avec l'oxytétracycline, les charges en salmonelles dans les fientes ont également diminué mais avec une faible ampleur comparativement au lot 3. En effet, pour ce lot 4, le nombre des colonies de salmonelles a chuté de 220.10<sup>3</sup> UFC/g de matière fécale (J<sub>3</sub>) à 88.10<sup>3</sup> UFC/g de matière fécale (J<sub>7</sub>) puis aux charges de 30.10<sup>3</sup> et 27.10<sup>3</sup> UFC/g de matière fécale respectivement aux jours J<sub>10</sub> et J<sub>14</sub>. Donc, on note la meilleure activité de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* contre la croissance des germes de *Salmonella typhimurium* comparativement à l'oxytétracycline.

Par ailleurs, sur toute la période d'expérimentation, les taux de mortalité enregistrés dans les différents lots de poussins ont été de 21%, 5% et 12% respectivement pour les lots 2, 3 et 4. Les mortalités sont survenues dans les lot 2 (poussins contaminés et non traités) et lot 4 (poussins contaminés et traités avec l'oxytétracycline) à partir de J<sub>3</sub> et ont continué tout le long de l'expérimentation. Pour le lot 3 (poussins contaminés et traités avec l'extrait aqueux), une seule mortalité est survenue uniquement à J<sub>4</sub>, c'est à dire un jour après le début de traitement. Quant au lot 1 témoin (poussins non contaminés et non traités), aucune mortalité n'a été enregistrée pendant l'expérimentation.

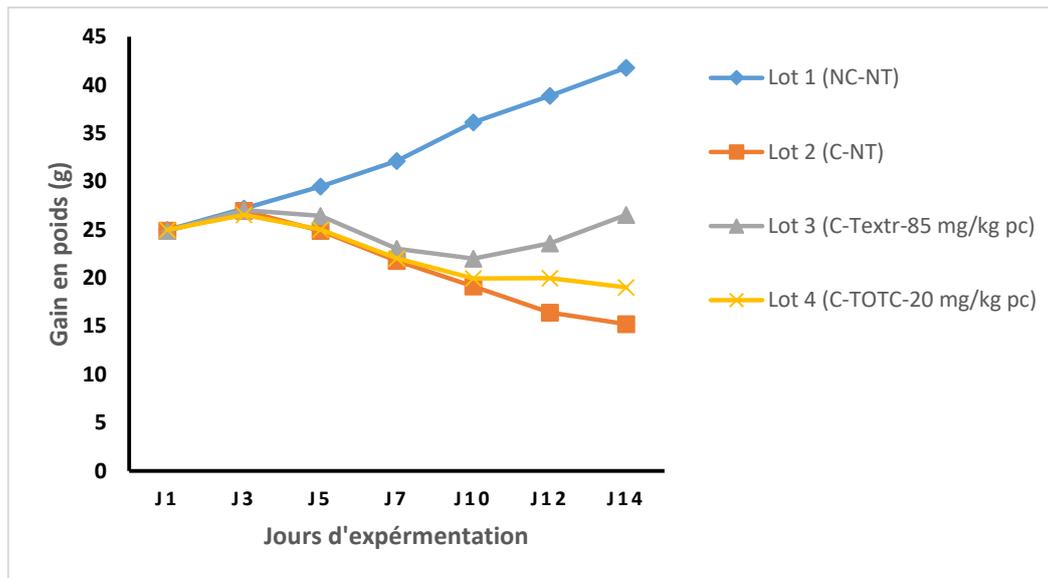


**Figure 21 : Evolution des charges bactériennes dans les fientes des poussins dans les différents lots**

**Lot 1 (NC-NT)** : poussins non contaminés et non traités ; **Lot 2 (C-NT)** : poussins contaminés et non traités ; **Lot 3 (C-T.extr)** : poussins contaminés et traités avec l'extrait végétal ; **Lot 4 (C-T.OTC)** : poussins contaminés et traités avec l'oxytétracycline.

#### 1.4.2. Gains de poids moyen des poussins pendant l'expérimentation

La figure 22 présente la variation du gain de poids moyen dans les différents lots de poussins. Les résultats ont montré que les gains de poids moyen n'ont pas été vraiment significatifs entre les jours J<sub>1</sub> et J<sub>3</sub> dans les différents lots de poussins avec des gains compris entre  $25 \pm 0,5$  g et  $27,04 \pm 0,6$  g. A partir de J<sub>3</sub>, les gains de poids moyen pour le lot 1 (poussins non contaminés et non traités) ont augmenté progressivement en passant de  $27,03 \pm 0,6$  g (J<sub>3</sub>) à  $41,6 \pm 1,02$  g (J<sub>14</sub>). Les résultats ont montré aussi une baisse du gain de poids moyen des poussins des lots contaminés 2, 3 et 4 comparativement au lot 1 témoin, à partir de l'apparition des premiers signes de la pathologie (J<sub>3</sub>) à des proportions différentes. En effet, pour le lot 2, les gains de poids moyen ont chuté passant de  $27 \pm 0,5$  g (J<sub>3</sub>) à  $19 \pm 0,6$  g (J<sub>10</sub>) puis à  $15 \pm 0,32$  g (J<sub>14</sub>). Par ailleurs, pour le lot 4, les gains de poids moyen ont chuté passant de  $26,5 \pm 0,22$  g (J<sub>3</sub>) à  $19,9 \pm 0,35$  g (J<sub>10</sub>) puis à  $19 \pm 0,5$  g (J<sub>14</sub>). Quant aux poussins du lot 3 traités avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*, d'abord, on a noté une baisse du gain de poids moyen à partir de J<sub>3</sub> jusqu'à J<sub>10</sub> ( $22,03 \pm 0,25$  g) puis une augmentation de ce gain à partir de ce jour jusqu'à J<sub>14</sub> ( $26,5 \pm 0,6$  g).

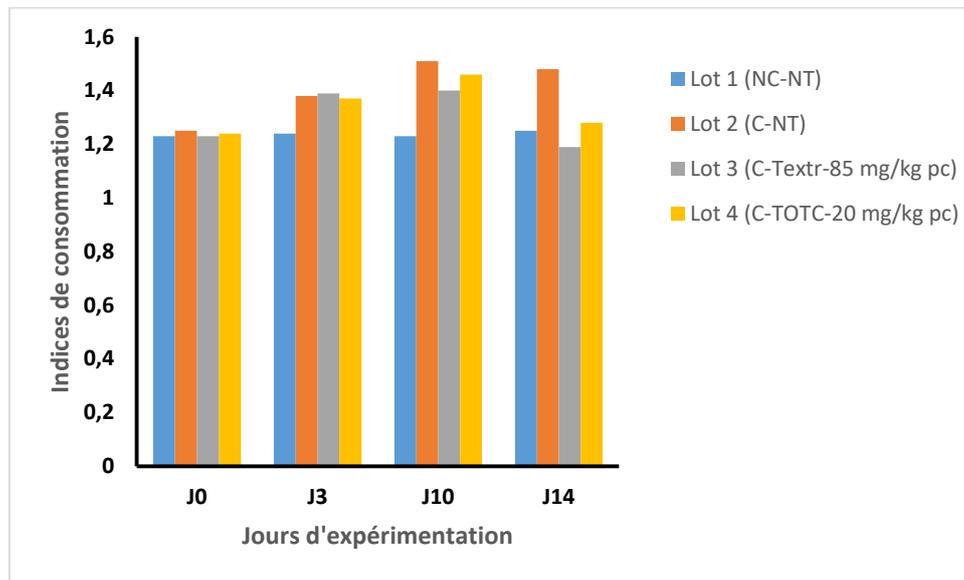


**Figure 22 : Evolution du gain en poids moyen des poussins dans les différents lots**

**Lot 1 (NC-NT)** : poussins non contaminés et non traités ; **Lot 2 (C-NT)** : poussins contaminés et non traités ; **Lot 3 (C-T. extr)** : poussins contaminés et traités avec l'extrait végétal ; **Lot 4 (C-T.OTC)** : poussins contaminés et traités avec l'oxytétracycline.

### 1.4.3. Indice de consommation alimentaire des poussins pendant l'expérimentation

La figure 23 présente l'évolution des indices de consommation des différents lots des poussins. Les indices de consommation des lots 2, 3 et 4 contaminés ont été en moyenne de  $1,38 \pm 0,01$  à J<sub>3</sub> où les premiers signes de la maladie sont apparus. Par la suite, ces indices de consommation ont augmenté pour les lots 2, 3 et 4 atteignant des valeurs respectives de 1,51 ; 1,40 et 1,46 à J<sub>10</sub>. Toutefois, à J<sub>14</sub> (fin des traitements), les lots 2, 3 et 4 ont enregistré des indices de consommation de 1,48 ; 1,19 et 1,28 respectivement. Quant au lot 1 non contaminé et non traité avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*, l'indice de consommation est resté presque constant autour de  $1,23 \pm 0,01$  durant toute l'expérimentation.



**Figure 23 : Evolution des indices de consommation dans les différents lots de poussins**

**Lot 1 (NC-NT)** : poussins non contaminés et non traités ; **Lot 2 (C-NT)** : poussins contaminés et non traités ; **Lot 3 (C-T. extr)** : poussins contaminés et traités avec l'extrait végétal ; **Lot 4 (C-T.OTC)** : poussins contaminés et traités avec l'oxytétracycline.



**Figure 24 :** Quelques observations cliniques chez les poussins lors de l'expérimentation.

**A :** Poussins après une semaine d'acclimatation dans la ferme ; **B :** Poussins du lot 2, atteints de salmonellose ; **C :** Aspect des fientes des poussins atteints de Salmonellose ; **D:** Fientes solides obtenues lors de traitement ; **E:** Poussins morts lors du traitement ; **F:** Poulet sain après traitement (lot 3).

## 1.5. Effet de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* sur quelques paramètres biomarqueurs du stress oxydatif chez les poussins

### 1.5.1. Effet de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* sur l'activité de la catalase

Le tableau XI montre les activités de la catalase dans le sérum et dans les différents organes des poussins. L'activité de la catalase a varié de  $0,21 \pm 0,014$  mmol/min/mL à  $0,25 \pm 0,02$  mmol/min/mL dans le sérum des différents lots de poussins. Toutefois, l'étude statistique n'a pas montré de différence significative ( $p > 0,05$ ) entre l'activité de la catalase dans le sérum des différents lots de poussins étudiés.

Au niveau du foie, les valeurs de l'activité de la catalase dans tous les lots variaient entre  $0,79 \pm 0,03$  mmol/min/g (lot 2) et  $0,94 \pm 0,07$  mmol/min/g (lot 1). Toutefois, cette variation n'est pas statistiquement significative ( $p > 0,05$ ). Par conséquent, nous en déduisons que l'infection par la souche de *Salmonella typhimurium* n'a pas modifié les activités de la catalase au niveau du sérum et du foie dans les différents lots de poussins comparativement au lot 1 témoin. En revanche, par rapport au lot témoin (lot 1), l'infection causée par la souche de *Salmonella typhimurium* (lot 2) a fait diminuer de façon significative l'activité de la catalase au niveau du rein, du cœur, du poumon et de la rate. Par ailleurs, comparativement au lot 1, cette diminution de l'activité de la catalase a été moyennement significative ( $p \leq 0,01$ ) au niveau de la rate ( $0,69 \pm 0,01$  mmol/min/g) alors qu'une diminution très hautement significative ( $p \leq 0,0001$ ) a été observée au niveau du cœur ( $1,13 \pm 0,07$  mmol/min/g) et du poumon ( $1,27 \pm 0,11$  mmol/min/g) des poussins du lot 2.

Le traitement des poussins contaminés avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* (lot 3) a permis une augmentation de l'activité de la catalase par rapport à celles du lot 2 (poussins contaminés et non traités) dans ces mêmes organes (reins, cœurs, poumons, rates). Ainsi, par comparaison avec le lot 1, le traitement des poussins infectés avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* a entraîné une normalisation de l'activité de la catalase au niveau du rein, du cœur, du poumon et de la rate. En effet, aucune différence significative n'a été observée entre l'activité de la catalase dans le rein, le cœur, le poumon et la rate du lot 1 témoin et l'activité de cette enzyme dans les mêmes organes des poussins du lot 3 (poussins contaminés et traités avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*). Par ailleurs, le traitement des poussins contaminés avec l'oxytétracycline n'a pu normaliser l'activité de la catalase au niveau du rein, du cœur, du poumon et de la rate, montrant même des différences de diminution significatives par comparaison avec le lot témoin (lot 1).

**Tableau XI** : Activités de la catalase dans le sérum et dans les organes des poussins

<b>Lots</b>	<b>Sérum</b> mmol/min /mL	<b>Foie</b> mmol/min /g	<b>Rein</b> mmol/min /g	<b>Cœur</b> mmol/min /g	<b>Poumon</b> mmol/min /g	<b>Rate</b> mmol/min /g
<b>Lot 1</b> (NC-NT)	0,24 ± 0,01	0,94 ± 0,07	0,93 ± 0,05	1,74 ± 0,06	1,79 ± 0,1	0,97 ± 0,15
<b>Lot 2</b> (C-NT)	0,21 ± 0,014	0,79 ± 0,03	0,65* ± 0,03	1,13**** ± 0,07	1,27**** ± 0,11	0,69** ± 0,01
<b>Lot 3</b> (C-T.extr)	0,25 ± 0,02	0,85 ± 0,04	0,79 ± 0,05	1,58 ± 0,10	1,70 ± 0,04	0,96 ± 0,2
<b>Lot 4</b> (C-T.OTC)	0,22 ± 0,03	0,83 ± 0,07	0,67* ± 0,06	1,14**** ± 0,04	1,33**** ± 0,07	0,72** ± 0,01

**Lot 1 (NC-NT)** : poussins non contaminés et non traités ; **Lot 2 (C-NT)** : poussins contaminés et non traités ; **Lot 3 (C-T. extr)** : poussins contaminés et traités avec l'extrait végétal ; **Lot 4 (C-T.OTC)** : poussins contaminés et traités avec l'oxytetracycline. **Zéro étoile** : non significative ( $p > 0,05$ ), **une étoile (\*)** : significative ( $p \leq 0,05$ ), **deux étoiles (\*\*)** : moyennement significative ( $p \leq 0,01$ ), **trois étoiles (\*\*\*)** : très significatives ( $p \leq 0,001$ ), **quatre étoiles (\*\*\*\*)** : très hautement significative ( $p \leq 0,0001$ ).

### 1.5.2. Effet de l'extrait aqueux sur l'activité de la peroxydase

Le tableau XII présente l'activité de la peroxydase dans le sérum et dans les différents organes des poussins. L'activité de la peroxydase dans le sérum était rangée entre  $0,38 \pm 0,02$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$  (lot 2) et  $0,68 \pm 0,02$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{mL}$  (lot 3). Quant à l'activité de la peroxydase dans les différents organes, elle a évolué entre  $1,24 \pm 0,02$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  (lot 2) et  $1,88 \pm 0,03$   $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g}$  (lot 3). L'analyse du tableau montre une diminution très hautement significative ( $p \leq 0,0001$ ) de l'activité de la peroxydase dans le sérum et dans les autres organes du lot 2 (poussins contaminés et non traités) à l'exception du poumon comparativement à celle du lot témoin (lot 1). De façon générale, par rapport au lot 2, l'activité de la peroxydase a augmenté lors du traitement des poussins malades avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*. Par ailleurs, aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) n'a été enregistrée au niveau de l'activité de la peroxydase dans le sérum, le foie, le rein et la rate entre les poussins des lots 1 et 3 contrairement à ceux des lots 1 et 2. Cependant des différences très hautement significatives et significatives ont été observées au niveau de l'activité de la peroxydase, respectivement dans le cœur et le poumon, entre les poussins du lot 1 d'une part, et ceux du lot 3 d'autre part. On retient alors que le traitement des poussins atteints de salmonellose avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* a entraîné non seulement une augmentation, mais surtout une normalisation de l'activité de la peroxydase dans le sérum, le foie, le rein et la rate des poussins du lot 3. En revanche, à l'exception du poumon, le traitement des poussins malades avec l'oxytétracycline a montré une baisse très hautement significative ( $p \leq 0,0001$ ), de l'activité de la peroxydase dans le sérum et dans les autres organes des poussins du lot 4 par rapport à ceux du lot témoin (lot 1).

**Tableau XII** : Activités de la peroxydase dans le sérum et dans les organes des poussins

<b>Lots</b>	<b>Sérum</b> μmol/min/mL	<b>Foie</b> μmol/min/g	<b>Rein</b> μmol/min/g	<b>Cœur</b> μmol/min/g	<b>Poumon</b> μmol/min/g	<b>Rate</b> μmol/min/g
<b>Lot 1</b> (NC-NT)	0,64 ± 0,02	1,70 ± 0,02	1,81 ± 0,03	1,47 ± 0,02	1,81 ± 0,01	1,79 ± 0,03
<b>Lot 2</b> (C-NT)	0,38****±0,02	1,49****±0,03	1,54****±0,02	1,24****±0,02	1,73*±0,01	1,56****±0,01
<b>Lot 3</b> (C-T.extr)	0,68 ± 0,02	1,70 ± 0,04	1,78 ± 0,02	1,33****±0,07	1,88*±0,03	1,82 ± 0,04
<b>Lot 4</b> (C-.OTC)	0,42****± 0,04	1,51****±0,02	1,60****±0,02	1,25****±0,03	1,75 ±0,02	1,60****±0,02

**Lot 1 (NC-NT)** : poussins non contaminés et non traités ; **Lot 2 (C-NT)** : poussins contaminés et non traités ; **Lot 3 (C-T. extr)** : poussins contaminés et traités avec l'extrait végétal ; **Lot 4 (C-T.OTC)** : poussins contaminés et traités avec l'oxytétracycline. **Zéro étoile** : non significative ( $p > 0,05$ ), **une étoile (\*)** : significative ( $p \leq 0,05$ ), **deux étoiles (\*\*)** : moyennement significative ( $p \leq 0,01$ ), **trois étoiles (\*\*\*)** : très significatives ( $p \leq 0,001$ ), **quatre étoiles (\*\*\*\*)** : très hautement significative ( $p \leq 0,0001$ ).

### 1.5.3. Effet de l'extrait aqueux sur la production du monoxyde d'azote

Le tableau XIII indique les teneurs en monoxyde d'azote (NO) dans le sérum et dans les différents organes des poussins. Aucune différence significative n'a été enregistrée au niveau des teneurs en monoxyde d'azote (NO) dans le sérum de tous les lots des poussins. La concentration moyenne en monoxyde d'azote (NO) était de  $0,20 \mu\text{mol/ml}$  dans le sérum pour les différents lots de poussins. Par ailleurs, des teneurs variables en NO ont été obtenues au niveau des organes des poussins (foie, rein, cœur, poumon et rate). Dans ces organes, les teneurs en NO étaient comprises entre  $1,65 \pm 0,09 \mu\text{mol/g}$  et  $3,59 \pm 0,04 \mu\text{mol/g}$ . Toutefois, à l'exception du rein où une différence très hautement significative ( $p \leq 0,0001$ ) a été observée (augmentation de teneurs en NO), l'induction de la salmonellose n'a pas montré de différence significative ( $p > 0,05$ ) dans la production de NO dans les sérums et organes des poussins du lot 2 comparativement au lot témoin 1. En outre, par rapport au lot 1, le traitement des poussins malades du lot 3 avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* n'a pas modifié les concentrations en NO ( $p > 0,05$ ) dans le sérum et les organes étudiés. Par conséquent, nous avons observé qu'en présence de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*, les concentrations en NO sont restées normales. Cependant, le traitement avec l'oxytétracycline a induit une augmentation très significative ( $p \leq 0,001$ ) des teneurs en NO uniquement dans le rein des poussins ( $3,25 \pm 0,18 \mu\text{mol/g}$ ) en comparaison avec le lot 1. Quant aux autres organes, le traitement avec l'oxytétracycline n'a pas influencé les teneurs en NO donnant une différence non significative ( $p > 0,05$ ) par comparaison au lot 1.

**Tableau XIII** : Teneurs en monoxyde d'azote dans le sérum et dans les organes

<b>Lots</b>	<b>Sérum</b> μmol/ml	<b>Foie</b> μmol/g	<b>Rein</b> μmol/g	<b>Cœur</b> μmol/g	<b>Poumon</b> μmol/g	<b>Rate</b> μmol/g
<b>Lot 1</b> (NC-NT)	0,20±0,02	2,98±0,16	2,82 ± 0,16	1,74±0,04	3,42 + 0,05	2,90 + 0,04
<b>Lot 2</b> (C-NT)	0,21±0,02	3,05±0,08	3,51****±0,08	1,80±0,08	3,59 ±0,04	2,98 ± 0,04
<b>Lot 3</b> (C-T.extr)	0,20±0,04	2,95±0,12	2,70 ± 0,06	1,65±0,09	3,48±0,003	2,87±0,02
<b>Lot 4</b> (C-.OTC)	0,20±0,02	2,99±0,08	3,25***± 0,18	1,66±0,06	3,50 ± 0,02	2,93±0,03

**Lot 1 (NC-NT)** : poussins non contaminés et non traités ; **Lot 2 (C-NT)** : poussins contaminés et non traités ; **Lot 3 (C-T. extr)** : poussins contaminés et traités avec l'extrait végétal ; **Lot 4 (C-T.OTC)** : poussins contaminés et traités avec l'oxytétracycline. **Zéro étoile** : non significative ( $p > 0,05$ ), **une étoile (\*)** : significative ( $p \leq 0,05$ ), **deux étoiles (\*\*)** : moyennement significative ( $p \leq 0,01$ ), **trois étoiles (\*\*\*)** : très significatives ( $p \leq 0,001$ ), **quatre étoiles (\*\*\*\*)** : très hautement significative ( $p \leq 0,0001$ ).

#### 1.5.4. Effet de l'extrait aqueux sur la production du malondialdéhyde

Les teneurs en malondialdéhyde (MDA) dans le sérum et dans les différents organes des poussins sont représentées dans le tableau XIV. L'analyse de ce tableau montre que, par rapport au lot 1, l'induction de la salmonellose a provoqué une augmentation très hautement significative des teneurs en MDA dans le foie et le poumon des poussins du lot 2. Par ailleurs, les concentrations en MDA dans le sérum, le rein, le cœur et la rate des poussins infectés du lot 2 n'ont pas été influencées et ont montré une différence non significative par rapport à celles du lot 1. Par contre, à l'exception du foie, le traitement avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* a réussi à stabiliser les concentrations en MDA dans le sérum et les autres organes (reins, cœurs, poumons, rates) des poussins rendus malades. En effet, une différence moyennement significative ( $p \leq 0,01$ ) a été observée au niveau des teneurs en MDA dans le foie, entre les poussins du lot 1 (témoin) et ceux du lot 3 (traité avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*). Au niveau du lot 4, le traitement des poussins atteints de salmonellose avec l'oxytétracycline n'a pas modifié véritablement les concentrations de MDA dans le sérum, le rein, le cœur et la rate des poussins par rapport au lot 1 ( $p > 0,05$ ). En revanche, malgré le traitement des poussins malades avec l'oxytétracycline, les teneurs en MDA ont augmenté au niveau du foie et du poumon des poussins du lot 4 montrant des différences très hautement significatives ( $p \leq 0,0001$ ) par rapport à celles du lot témoin (lot 1).

**Tableau XIV** : Teneurs en malondialdéhyde dans le sérum et dans les organes des poussins

<b>Lots</b>	<b>Sérum</b> μmol/mL	<b>Foie</b> μmol/g	<b>Rein</b> μmol/g	<b>Cœur</b> μmol/g	<b>Poumon</b> μmol/g	<b>Rate</b> μmol/g
<b>Lot 1</b> (NC-NT)	0,047± 0,002	0,14 ±0,001	0,11±0,004	0,23±0,004	0,24 ±0,004	0,12±0,002
<b>Lot 2</b> (C-NT)	0,050 ± 0,001	0,21**** ±0,002	0,11±0,002	0,24±0,005	0,30****±0,005	0,13±0,005
<b>Lot 3</b> (CT.extr)	0,045± 0,001	0,13**±0,001	0,11±0,001	0,22±0,001	0,24 ± 0,001	0,12±0,001
<b>Lot 4</b> (CT.OT)	0,049± 0,001	0,18****± 0,001	0,11± 0,01	0,23 ± 0,01	0,27****± 0,01	0,12± 0,01

**Lot 1 (NC-NT)** : poussins non contaminés et non traités ; **Lot 2 (C-NT)**: poussins contaminés et non traités ; **Lot 3 (C-T.extr)** : poussins contaminés et traités avec l'extrait végétal ; **Lot 4 (C-T.OTC)** : poussins contaminés et traités avec l'oxytetracycline.-**Zéro étoile** : non significative ( $p > 0,05$ ), **une étoile (\*)** : significative ( $p \leq 0,05$ ), **deux étoiles (\*\*)** : moyennement significative ( $p \leq 0,01$ ), **trois étoiles (\*\*\*)**: très significatives ( $p \leq 0,001$ ), **quatre étoiles (\*\*\*\*)**: très hautement significative ( $p \leq 0,0001$ ).

## 2. Discussion

Les premiers tests réalisés en vue de la détermination des zones d'inhibition ont montré la sensibilité des deux souches de *Salmonella typhimurium* étudiées face aux extraits aqueux et hydroéthanolique 70% des feuilles de *Anogeissus leiocarpus*. En effet, selon Biyiti *et al.* (2004), un extrait est considéré comme actif s'il induit une zone d'inhibition de diamètre supérieur ou égal à 10 mm. Or, à l'issue des tests réalisés, nous avons obtenu pour nos extraits des diamètres de zones d'inhibition situés entre 13 mm et 22 mm.

Des études similaires à la nôtre ont été menées par Prabhjot *et al.* (2014) sur des extraits aqueux et éthanoliques de cinq plantes médicinales ; à savoir, *Tinospora cordifolia*, *Ziziphus mauritiana*, *Swertia chirata*, *Erythrina blakei* et *Asparagus densiflorus*, visant à inhiber la croissance de *Salmonella typhimurium*. Les résultats des travaux de ces auteurs ont montré que les diamètres des zones d'inhibition des extraits aqueux de ces plantes sur la croissance *in vitro* de la souche étudiée variaient entre 8,7 mm et 10,3 mm tandis que ceux des extraits éthanoliques étaient compris entre 5.2 mm et 7.7 mm. Par ailleurs, Bahman *et al.* (2022), lors d'une étude ont également montré que les extraits des feuilles de *Rhazya stricta* avaient des effets variés sur l'inhibition de la croissance de huit souches de *S. typhimurium*. Ainsi, parmi les extraits de plantes étudiés par ces auteurs, l'extrait hydroalcoolique était plus efficace en inhibant la croissance de *S. typhimurium* avec un diamètre moyen de 12,25 mm. Cet extrait était suivi de l'extrait éthanolique avec un diamètre d'inhibition de 12,12 mm à différentes concentrations. Quant à Naphtali *et al.* (2020), ils ont montré que les extraits aqueux, issus de *Cymbopogon citratus*, *Psidium guajava* et *Anacardium occidentale* à une concentration de 400 mg/mL ont enregistré respectivement des diamètres d'inhibition de 11,14 et 17 mm sur une souche de *Salmonella typhimurium*.

En ce qui concerne *Anogeissus leiocarpus*, objet de notre étude, le rapport CMB/CMI de chaque extrait préparé et testé sur les souches de *Salmonella typhimurium* étudiées était égal à 1 ou 2. Par conséquent, nous en avons déduit que les extraits végétaux préparés ont eu une action bactéricide sur les deux germes mutirésistants de *Salmonella typhimurium* utilisés dans notre étude. En effet, selon Fauchere & Avril (2002), un extrait est dit bactéricide si le rapport CMB/CMI  $\leq 2$ .

Par ailleurs, on retient de cette étude que les deux extraits aqueux et hydroéthanolique 70% ont donné des CMB de 25 mg/mL sur *Salmonella typhimurium* N°1 contre des CMB de 12.5 mg/mL sur *Salmonella typhimurium* N°2. Ces résultats pourraient être expliqués par la résistance intrinsèque qui caractérise chaque souche de *Salmonella typhimurium*. Ils confirment

ainsi ceux de Bssaibis *et al.* (2009) qui ont prouvé que les activités antimicrobiennes sont en relation avec l'origine de l'extrait et de la souche testée tout comme la nature du solvant d'extraction utilisé.

Razieh *et al.* (2020), dans l'évaluation des activités antimicrobiennes de l'extrait hydroéthanolique de *Satureja sahendica* contre 20 isolats de *S. typhimurium* ont montré que les valeurs de CMI et CMB variaient de 0,29 à 4,68 mg/mL et de 75 à 150 mg/mL respectivement. Une étude a été réalisée par Dahiru *et al.* (2021) avec un extrait éthanolique de *Anogeissus leiocarpus* obtenu par extraction au soxhlet sur des bactéries productrices de  $\beta$ -lactamases ; à savoir *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi*. Des diamètres d'inhibition allant de 15,67 mm à 17,00 mm avec une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les bactéries testées ont été obtenus au cours de leur étude par la méthode des disques imprégnés. Ces auteurs ont également montré que les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) étaient comprises entre 16,67 mg/mL et 66,67 mg/mL alors que les Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) étaient rangées entre 106,67 mg/mL et 266,67 mg/mL. Dans leur étude, le rapport CMB/CMI montrait un effet bactériostatique pour *Escherichia coli* et *Salmonella typhi* et un effet bactéricide pour *Klebsiella pneumonie* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résultats ont montré encore que l'activité antibactérienne d'un extrait végétal dépend de plusieurs facteurs. Ces facteurs peuvent prendre en compte la nature de l'extrait végétal, le mode d'extraction, la nature des souches étudiées et de la méthodologie utilisée.

L'étude menée par Dahiru *et al.* (2021) à partir d'un extrait éthanolique de *Anogeissus leiocarpus* obtenu par extraction au soxhlet a permis d'identifier vingt-cinq (25) composés chimiques. Parmi ces composés, l'acide myristoléique ; Z-7-tétradécénal ; 4,5-diméthyl-4-Hexène-3-un ; le 1,15-hexadécadiène et le chlorure de linoléoyle ont été les plus abondants. Les activités antibactériennes des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de *Anogeissus leiocarpus* pourraient s'expliquer par leur richesse en certains métabolites secondaires révélés par l'analyse phytochimique de ces extraits. En effet, l'activité antimicrobienne de la plupart de ces composés notamment les flavonoïdes, les tanins, les alcaloïdes ainsi que des terpènes a déjà été mise en évidence par plusieurs chercheurs (Abbiw, 1990 ; Amvam *et al.* 1998 ; Jayasinghe *et al.*, 2003). Le mécanisme d'action serait tel que les substances actives inhibent la paroi cellulaire, la membrane cellulaire et les protéines de synthèse (Bhuiyan *et al.*, 2009 ; Pasril & Yuliasanti, 2014).

Dans notre étude, le dosage des composés phénoliques des deux extraits a montré que les extraits hydroéthanolique et aqueux des feuilles de *A. leiocarpus* renferment des concentrations sensiblement équivalentes en polyphénols totaux qui sont respectivement de 608,41 mg EAG/g et 558,25 mg EAG/g. Pour ce qui est des teneurs en flavonoïdes totaux, l'extrait hydroéthanolique des feuilles de *A. leiocarpus* en renferme une teneur plus élevée (539,60 mg EQ/g) que celle contenue dans l'extrait aqueux (388,95 mg EQ/g).

Nos résultats corroborent ceux des travaux de Koné *et al.* (2009) qui ont montré que les feuilles de *A. leiocarpus* sont riches en polyphénols totaux et surtout en flavonoïdes. En effet, les travaux des auteurs sus-cités qui ont porté sur un total de six plantes ont montré que *Anogeissus leiocarpus* contenait la plus forte teneur en polyphénols totaux (223,13 mg EAG/g) soit 4 fois plus que celle des feuilles de *Vepris heterophylla* qui renfermait la plus faible teneur en ces composés. Toutefois, cette teneur en polyphénols totaux reste largement inférieure à celle que nous avons obtenue qui était de 558,25 mg EAG/g (extrait aqueux) et de 608,41 mg EAG/g (extrait hydro-éthanolique).

Dans l'étude réalisée par ces mêmes auteurs Koné *et al.* (2009), l'écorce de tronc de *Anogeissus leiocarpus* renfermait des teneurs de 26,53 mg EAG/g en polyphénols totaux et 10,30 mg EQ/g en flavonoïdes totaux. Ces teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes sont également inférieures à celles que nous avons obtenues dans la présente étude. Par ailleurs, dans leur étude, les écorces de racines de *Terminalia macroptera* ont montré la plus forte activité antioxydante suivie de celle des feuilles de *A. leiocarpus* dans les tests utilisant l'ABTS et le DPPH ; avec les valeurs respectives suivantes : 468,8  $\mu$ M Eq Trolox/g et 350,30  $\mu$ M Eq Trolox/g (ABTS) et 361,60 mg/mL et 271,87 mg/mL (DPPH) (Koné *et al.*, 2009). De leur côté, Gheldolf *et al.* (2002) ; Holasova *et al.* (2002) ; Kumaran *et al.* (2005) ont montré qu'il existe une corrélation linéaire entre les teneurs en polyphénols totaux et les activités antioxydantes de ces plantes. Dans une autre étude réalisée par Barku *et al.* (2013), l'activité antioxydante des extraits méthanoliques de 5 plantes médicinales a été évaluée en utilisant le test de DPPH et le test utilisant le pouvoir réducteur des ions ferriques (FRAP). Ce sont *Amaranthus spinosus*, *Anogeissus leiocarpus*, *Spondia monbin*, *Corchorus olitorius* et *Mallotus oppositifolia*. Les résultats ont montré que toutes ces plantes possèdent une activité antioxydante. Cependant, *Anogeissus leiocarpus* a montré l'activité antiradicalaire la plus élevée ( $95,86 \pm 0,1\%$ ) suivie de celle de *Cochorus olitorius* ( $94,19 \pm 0,06\%$ ), comme pourcentages d'inhibition du radical DPPH ; alors que *Amaranthus spinosus* enregistrait la plus faible activité ( $40,87 \pm 2,5\%$ ). Aussi, *Anogeissus leiocarpus* avait le pouvoir réducteur le plus élevé suivi de celui de *Spondia monbin*, quand *Amaranthus spinosus* enregistrait le plus faible pouvoir réducteur.

Par ailleurs les feuilles de *Anogeissus leiocarpus* avaient également les plus fortes teneurs en polyphénols totaux ( $1294,81 \pm 30$  mg EAG) et en flavonoïdes ( $540,23 \pm 24,5$  mg EQ/g), pendant que *Amaranthus spinosus* a enregistré les plus faibles teneurs en ces mêmes composés avec les teneurs respectives de :  $48,01 \pm 2,0$  mg EAG et  $63,16 \pm 107$  mg EQ/g. A travers leurs travaux, ces auteurs, Barku *et al.* (2013) ont montré que les feuilles de *Anogeissus leiocarpus* sont riches en polyphénols totaux et en flavonoïdes d'une part et constituent une importante source d'antioxydants d'autre part.

Cette étude confirme que *Anogeissus leiocarpus* est une plante qui renferme des composés phénoliques. Les résultats obtenus sont en accord avec ceux de plusieurs autres auteurs. La recherche des métabolites secondaires dans les extraits hydroéthanolique et aqueux de *Anogeissus leiocarpus* par tri phytochimique a montré la présence de composés phénoliques, de glycosides cardiaques, de saponines, de stérols, de terpènes et d'alcaloïdes. Cependant, elle a révélé également que les teneurs en composés phénoliques, en flavonoïdes et les activités antioxydantes de *Anogeissus leiocarpus* varient d'un extrait à un autre, d'un organe à un autre, d'une région à une autre, d'une méthodologie à une autre. Ces observations sont en accord avec celles faites par d'autres auteurs qui affirment que les teneurs en composés phénoliques ainsi que leurs activités peuvent dépendre de plusieurs facteurs intrinsèques et extrinsèques. Ces facteurs regroupent généralement la nature de l'organe, la période de récolte, la technique d'extraction utilisée, le solvant utilisé, la situation géographique et la méthode de l'évaluation de l'activité antioxydante (Hanan *et al.*, 2022 ; Souad *et al.*, 2020).

L'activité antioxydante des extraits de *Anogeissus leiocarpus*, plante qui a fait l'objet de notre étude pourrait donc être attribuée aux composés phénoliques totaux et en particulier aux flavonoïdes totaux qu'elle renferme (Djeridane *et al.*, 2006). Aussi, la présence des composés phénoliques dans les feuilles de cette plante d'une part, ainsi que ses activités antioxydantes très intéressantes ( $CI_{50}$  faibles) d'autre part, justifieraient-elles sa forte utilisation par des éleveurs dans le Nord de la Côte d'Ivoire et en particulier ceux qui emploient les extraits de cette plante dans l'élevage de poulets de chair.

En effet, selon Gerasopoulos *et al.* (2015), les aliments enrichis avec des composés phénoliques donnent des activités antioxydantes importantes chez les poulets de chair. D'ailleurs, il a été rapporté que la supplémentation en vitamine E et C aide les poulets à lutter contre le stress oxydatif et à renforcer leur immunité (Min *et al.*, 2018). Par exemple, *Equol* qui est aussi un composé antioxydant obtenu à partir de l'isoflavonoïde *daidzéine*, une isoflavone de soja, peut réduire la charge oxydative induite par les ERO chez les volailles (Liu *et al.*, 2006). *Equol* protège également l'épithélium intestinal contre le stress oxydatif en renforçant

l'expression des gènes d'antioxydants ; notamment les gènes Nrf2, Bcl-2, GSH-Px3, SOD-1, stimulant ainsi le fonctionnement des enzymes antioxydantes et améliorant leur capacité antioxydante (Lin *et al.*, 2016).

De plus, l'utilisation des composés phénoliques de synthèse s'est avérée efficace pour lutter contre le stress oxydatif sur toute la chaîne de valeurs ; c'est-à-dire depuis l'élevage de la volaille, la transformation, la commercialisation jusqu'à la consommation de la viande mais avec des effets secondaires.

Dans la présente étude, les résultats ont montré d'une part, l'expression d'une activité antisalmonelle de *Anogeissus leiocarpus* sur des souches multirésistantes de *Salmonella typhimurium* isolées des fientes de poulets de chair d'élevage ; et d'autre part, le potentiel antioxydant de cette plante. L'utilisation massive de *Anogeissus leiocarpus* par certains éleveurs pourrait donc être justifiée en partie par ses teneurs en composés phénoliques et ses activités antioxydantes et antibactériennes qui en découlent.

Dans les pathologies aviaires, la diarrhée occupe une place importante. Cela est largement tributaire des conditions d'hygiène dans les fermes. Par conséquent, l'absence de diarrhée dans les différents lots de cette étude avant l'induction de la Salmonellose pourrait témoigner du respect des bonnes règles sanitaires au cours des manipulations. En effet, plusieurs auteurs ont montré que la mise en œuvre de bonnes mesures de biosécurité joue un rôle clé dans la lutte contre la transmission de *Salmonella* et l'amélioration de la sécurité alimentaire (Fraser *et al.*, 2010 ; Gosling *et al.*, 2014). Suite à la contamination des poussins, les premiers signes qui se sont exprimés par la diarrhée et une altération de l'état des poussins pourraient indiquer la forte virulence de la souche utilisée. Le traitement des poussins malades avec l'extrait aqueux a montré une efficacité se traduisant par l'arrêt progressif de la diarrhée, l'amélioration significative des indices cliniques et de la mortalité. Cette activité de l'extrait serait due à son pouvoir antibactérien sur les germes de *Salmonella typhimurium* à l'origine des diarrhées. En effet, de nombreux auteurs ont déjà mis en évidence des propriétés antimicrobiennes des extraits de *Anogeissus leiocarpus*. C'est le cas de Bamba *et al.* (2020) qui ont montré par des tests *in vitro*, les effets antibactériens de l'extrait méthanolique des racines de *Anogeissus leiocarpus* sur des souches multirésistantes en Côte d'Ivoire.

L'activité antidiarrhéique et anti-Salmonelle exprimée par l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* serait liée à sa richesse en métabolites secondaires.

En effet, l'étude phytochimique de différents extraits de feuilles et de racines de cette plante a révélé la présence de polyphénols totaux, de flavonoïdes et de tanins en abondance (Bamba *et al.*, 2020 ; Kuisseu *et al.*, 2021). Toutes ces molécules pourraient donc justifier l'arrêt de la

diarrhée et du stress oxydatif chez les poussins traités. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par plusieurs chercheurs dans le traitement des maladies diarrhéiques chez la volaille avec des plantes médicinales. Par exemple, Ouattara *et al.* (2005) ont traité une diarrhée expérimentale engendrée chez des poules pondeuses par une souche de *Salmonella enteritidis* lysotype 6 grâce à un extrait aqueux de *Thonningia sanguinea*. Quant à Kouakou *et al.* (2010), ils ont traité avec succès une maladie expérimentale d'origine parasitaire provoquée par le genre *Emeria* chez les poules pondeuses avec un extrait aqueux de *T. sanguinea*. De leur côté, Kamagate *et al.* (2017) ont montré l'efficacité thérapeutique de l'extrait aqueux de *Thonningia sanguinea* sur une colibacillose expérimentale chez des poulets de chair.

Comparativement à l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*, l'antibiotique usuel utilisé dans notre étude (oxytétracycline) a été moins efficace sur la diarrhée induite. Cela pourrait s'expliquer par l'utilisation abusive et incontrôlée de cette molécule dans les élevages aviaires (Hammoudi, 2009).

Par ailleurs, la charge en salmonelles dans les fèces des poussins du lot 1 (poussins non contaminés et non traités) qui est restée nulle pendant toute la durée de l'expérience témoigne de la non contamination de ces poussins par des germes de *Salmonella*. Cette absence de contamination pourrait être expliquée par la maîtrise des techniques d'élevage lors de notre expérience ; notamment en ce qui concerne les bonnes pratiques d'hygiène. Ainsi les poussins ont-ils montré une parfaite santé et une excellente immunité naturelle pendant toute l'expérimentation.

Dans les lots contaminés (lot 2, lot 3 et lot 4), les charges en salmonelles dans les fèces des poussins ont augmenté progressivement jusqu'à J<sub>3</sub> (quatrième jour après induction) où les premiers signes cliniques sont apparus. Ce constat montre encore la virulence dans le temps de la souche de *Salmonella typhimurium* utilisée comme agent infectant pour induire la Salmonellose chez les poussins. En effet, la pathogénicité de *Salmonella* peut être divisée en plusieurs étapes, notamment l'adhésion et l'invasion des cellules épithéliales intestinales, la survie, la multiplication au sein des cellules hôtes et la propagation extra intestinale (Tajkarim, 2007). Des études similaires ont été réalisées par Serge *et al.* (2015) qui ont évalué les activités de l'extrait aqueux de *Albizia gummifera* contre une salmonellose typhique induite chez des rats. Jean *et al.* (2019) confirmaient également les propriétés antisalmonelles de l'extrait hydroéthanolique de *Canarium schweinfurthii* dans une salmonellose expérimentale chez les poulets. Dans leurs travaux, Serge *et al.* (2015) ont aussi commencé à traiter les rats atteints de salmonellose pratiquement quatre jours après induction de la maladie. Quant à Jean *et al.* (2019), ils ont débuté le traitement de la salmonellose expérimentale induite chez les poulets

cinq jours après l'induction. Les différences constatées entre les débuts de traitement, en relation avec le délai d'apparition des premiers signes cliniques chez les animaux pourraient avoir plusieurs explications ; au nombre desquelles on pourrait citer la dose de bactéries ingérée, l'espèce animale utilisée et son état de santé, les caractéristiques des souches de *Salmonella* utilisées mais surtout l'âge de l'animal hôte. A cela, l'on pourrait ajouter les effets de stress oxydatif dans les systèmes d'élevage qui sont des facteurs pouvant influencer l'apparition des premiers signes cliniques et nécessitant donc le début des traitements.

A partir de J<sub>3</sub>, les nombres de colonies de salmonelles dans les fèces de poussins du lot 2 (poussins contaminés et non traités) ont continué d'augmenter ce qui peut s'expliquer par l'absence de traitement antibiotique et qui par conséquent aurait plus fragilisé l'immunité naturelle des poussins contaminés.

Dans le lot 3 des poussins contaminés et traités avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*, les charges en salmonelles dans les fèces des poussins ont diminué justifiant ainsi la présence dans cet extrait de molécules actives à propriétés antisalmonelles et surtout contre la souche de *Salmonella typhimurium* utilisée pour l'induction de la maladie.

Quant aux poussins du lot 4 contaminés et traités avec l'oxytétracycline, les charges en salmonelles dans les fèces ont également diminué, confirmant l'activité antisalmonelle de l'oxytétracycline qui est un antibiotique couramment utilisé en aviculture.

La meilleure activité de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* sur les charges de salmonelles dans les fèces de poussins, comparativement à celle de l'oxytétracycline témoigne de la présence des principes actifs essentiels dans cet extrait. En outre, contrairement à l'oxytétracycline, une molécule chimique pure, l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* aurait des principes actifs qui agiraient de façon synergique. La moindre efficacité exprimée par l'oxytétracycline par rapport à l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* pourrait être liée également à la forte utilisation de cet antibiotique en aviculture et surtout dans l'élevage des poulets de chair. En effet, les fortes pressions de sélection et l'utilisation abusive des antibiotiques de façon répétée occasionnent de multiples résistances des souches bactériennes. A la fin des traitements, le lot 3 (poussins contaminés et traités avec l'extrait aqueux de *A. leiocarpus*) a enregistré un indice de consommation qui a été significativement inférieur au lot 2 (poussins contaminés et non traités).

Quant au lot 1 non contaminé et non traité avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*, l'indice de consommation est resté presque constant durant l'expérimentation. Les résultats du lot 3 montrent ainsi une bonne action de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*

sur une efficacité de la conversion alimentaire. Cet extrait, en plus, de ses actions antisalmonelles aurait amélioré la digestibilité et l'absorption des aliments.

La catalase est une enzyme de défense contre les espèces réactives de l'oxygène. Il a été démontré par plusieurs chercheurs que la réduction des activités de la catalase chez les animaux peut provoquer une accumulation de composés hautement toxiques et de peroxyde d'hydrogène pouvant conduire à un stress (Serge *et al.*, 2016 ; Jean *et al.*, 2021). D'ailleurs, d'après Sharida *et al.* (2012) et Yu *et al.* (2016), une diminution significative de l'activité de la catalase indique un stress oxydatif. Les résultats de la présente étude confirment ceux de ces auteurs. En effet, l'infection causée par la souche de *Salmonella typhimurium* a fait diminuer de façon significative l'activité de la catalase dans le rein, le cœur, le poumon et la rate par comparaison au lot 1 témoin (poussins non contaminés et non traités). Le traitement des poussins malades avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* a entraîné une augmentation des activités de la catalase dans le rein, le cœur, le poumon et la rate comparativement au lot de poussins contaminés et non traités (lot 2). Le même traitement avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* a normalisé aussi l'activité de la catalase dans le rein, le cœur le poumon et rate par rapport au lot 1 témoin (poussins non contaminés et non traités). Dans la présente étude, cette augmentation significative de l'activité de la catalase montre l'effet antioxydant que cet extrait de plante possède. En effet, l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* aurait agi soit en piégeant directement les radicaux libres, soit en stimulant la production d'enzymes antioxydantes (Yu *et al.*, 2016 ; Yarru *et al.*, 2009 ; Sharida *et al.*, 2012).

La peroxydase est une enzyme qui catalyse la réduction des hydroperoxydes y compris les peroxydes d'hydrogène protégeant ainsi la cellule des dommages oxydatifs (Serge *et al.*, 2016). Selon certains auteurs, l'infection causée par des souches bactériennes provoque une réduction significative de l'activité de la peroxydase chez des poulets et rats (Jean *et al.*, 2019 ; Kodjio *et al.*, 2016). Les mêmes constats ont été faits dans notre étude. En l'occurrence nous avons observé une diminution significative de l'activité de la peroxydase dans le sérum et dans les organes des poussins du lot 2 (contaminés non traités) par comparaison au lot 1 témoin (non contaminés non traités). Par contre, les activités de la peroxydase ont nettement augmenté lors du traitement des poussins malades avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*. Cet extrait a même normalisé les activités de la peroxydase dans les sérums et la plupart des organes par rapport au lot 1 témoin (non contaminés et non traités). Cette performance pourrait s'expliquer par le fait que l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*, en stimulant une augmentation des activités de la peroxydase a empêché par la même occasion une accumulation des radicaux libres en excès et par conséquent a permis d'éviter le stress oxydatif (Jean *et al.*, 2019).

Le monoxyde d'azote (NO) est un modulateur physiopathologique produit par les macrophages. Ce modulateur peut s'associer à l'oxygène, le fer et les thiols pour exercer des effets bactériostatiques sur les salmonelles. Cependant, son association avec les superoxydes ( $O_2^-$ ) le rend bactéricide contre les Salmonelles (Jean *et al.*, 2019 ; Henard *et al.*, 2011). Toutefois, un excès de production de NO peut entraîner un stress oxydatif (Jean *et al.*, 2019). Dans cette étude, seuls les reins des poussins contaminés et non traités du lot 2 ont enregistré une augmentation très hautement significative des teneurs en NO par rapport au lot 1 témoin (non contaminés et non traités). Le traitement des poussins malades avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* a fait diminuer la teneur en NO dans les reins des poussins du lot 3 par rapport à ceux des poussins contaminés et non traités du lot 2. Ce traitement a également permis une normalisation des teneurs en NO dans les reins des poussins par comparaison au lot 1. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que l'extrait végétal aqueux de *Anogeissus leiocarpus* stimulerait plus le système immunitaire des poussins et en particulier les macrophages pour lutter contre cette souche de *Salmonella typhimurium* (Herman *et al.*, 2020). Par ailleurs, la capacité de cet extrait aqueux à réguler la présence de NO serait liée à la fois à ses activités antisalmonelle et antioxydante. D'ailleurs, Koné *et al.* (2009) sont parvenus à la même conclusion à l'issue de leurs travaux qui ont porté sur l'étude des activités antisalmonelles et antioxydantes de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus*.

Le malondialdéhyde (MDA) est un bon indicateur du niveau de peroxydation lipidique. C'est un produit final de dégradation oxydative des acides gras insaturés (Serge *et al.*, 2016 ; Jean *et al.*, 2021). Par ailleurs, une infection d'origine bactérienne, comme une Salmonellose peut induire un stress oxydatif qui peut aboutir à une peroxydation lipidique quantifiable. Dans cette étude, une diminution moyennement significative a été observée dans le foie des poussins malades traités avec l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* par rapport aux poussins contaminés et non traités du lot 2 (C-NT). Ces résultats montrent que l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* aurait agi en faveur de la réduction des teneurs en MDA, permettant ainsi d'éviter la destruction de la bicouche membranaire (Herman *et al.*, 2020).

De façon générale, dans cette étude, les activités antioxydantes intéressantes de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* seraient liées à l'action synergique des métabolites secondaires qu'il renferme. En effet, plusieurs travaux ont déjà montré la présence de plusieurs groupes de métabolites secondaires dans les extraits de *Anogeissus leiocarpus* dont les composés phénoliques en particulier les flavonoïdes qui inhibent la formation des radicaux libres et empêchent également l'oxydation des protéines membranaires (Herman *et al.*, 2020).

# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

La non maîtrise du risque sanitaire dans l'aviculture est à l'origine d'importantes pertes économiques liées à des infections bactériennes telles que les salmonelloses. A cela s'ajoute le stress oxydatif chez les poussins ; ce qui compromet les performances de la production avicole. L'utilisation abusive des antibiotiques de synthèse par les fermiers pour lutter contre les infections à salmonelles au niveau des volailles a entraîné l'émergence du phénomène de multirésistance des bactéries à plusieurs familles de ces molécules. C'est l'exemple de l'oxytétracycline (OTC), qui est un antibiotique à large spectre, principalement actif contre les bactéries à Gram positif et négatif, aérobies et anaérobies, ainsi que contre les mycoplasmes, les chlamydiae et les rickettsies.

Aussi, les suppléments alimentaires généralement riches en antioxydants de synthèse ne permettent plus une bonne prise en charge du stress oxydatif constaté chez les poussins de chair.

L'usage des plantes médicinales se présente alors comme une alternative aux antibiotiques usuels et suppléments alimentaires riches en antioxydants de synthèse. C'est dans cette optique que nous nous sommes proposés de réaliser cette étude en vue d'apporter notre modeste contribution à la résolution de ces deux problèmes majeurs rencontrés dans les élevages en général et dans l'aviculture en particulier.

Au terme de cette étude, les tests de sensibilité réalisés ont révélé que chacun des extraits préparés à partir des feuilles de *Anogeissus leiocarpus* a montré une activité bien définie sur la croissance des souches de *Salmonella typhimurium* étudiées. Cette activité s'est exprimée à travers un mode d'action bactéricide.

Dans notre étude, l'analyse phytochimique a révélé la présence de plusieurs familles de métabolites secondaires d'une part ; et le dosage des composés phénoliques des extraits a montré que les feuilles de *Anogeissus leiocarpus* constituent une importante source d'antioxydants ; d'où le pouvoir antioxydant intéressant enregistré.

Les extraits sembleraient être non toxiques par voie orale, pour les poussins de chairs. En effet, l'étude de la toxicité aiguë par voie orale des extraits n'a montré aucun cas de mortalité, ni aucun signe clinique de toxicité après l'administration des l'extraits.

Par ailleurs, l'extrait aqueux des feuilles de *Anogeissus leiocarpus*, utilisé dans le traitement de la Salmonellose induite chez les poussins au cours de cet élevage expérimental a montré le meilleur pouvoir thérapeutique, comparativement à l'oxytétracycline, antibiotique

couramment utilisé par certains fermiers dans les élevages de volaille. Il s'agit notamment de l'amélioration :

- de certains indices cliniques et du comportement des poussins de chair ;
- du gain de poids moyen ;
- de l'indice de consommation alimentaire ;
- de quelques paramètres biomarqueurs du stress oxydatif (activités de la catalase et peroxydase, teneurs en monoxyde d'azote et en malonaldéhyde).

Les pouvoirs antibactériens et antioxydants très intéressants exprimés par *Anogeissus leiocarpus* dans notre étude pourraient être liées à l'action synergique des métabolites secondaires qu'elle renferme. La richesse des extraits de cette plante en substances antisalmonelles et antioxydantes nous ouvre ainsi de larges perspectives de recherche dans le cadre de la valorisation de la pharmacopée africaine en général et ivoirienne en particulier.

Au vu donc des résultats obtenus et surtout des performances enregistrées à l'issue de la présente étude, nous pouvons dire que *Anogeissus leiocarpus* présente un intérêt particulier dans la perspective du développement et de l'utilisation de phytobiotiques comme une alternative aux antibiotiques et suppléments alimentaires en aviculture.

Par conséquent nous pensons qu'il serait utile de poursuivre des recherches sur les extraits de *Anogeissus leiocarpus* pour mieux les exploiter dans l'élevage des poulets. Ainsi, nous envisageons :

- approfondir les études sur leur toxicité cellulaire ;
- Doser certains paramètres biochimiques tels que les transaminases (ASAT et ALAT), l'urémie, la créatinine et la glycémie afin d'apprécier l'effet des extraits de *Anogeissus leiocarpus* sur le fonctionnement des organes vitaux chez les poulets ;
- isoler et caractériser les substances bioactives contenues dans ces extraits ;
- tester l'effet de *Anogeissus leiocarpus* sur d'autres souches microbiennes qui causent également de nombreux problèmes dans l'aviculture.
- Faire une caractérisation des substances inhibitrices contenues dans ces extraits par HPLC.

Pour notre part, nous pensons que toutes ces investigations pourraient contribuer au développement et à la mise sur le marché de médicaments traditionnels améliorés à base de *Anogeissus leiocarpus*. Ainsi, accessible à nos populations, ce phytomédicament pourrait être

efficace en aviculture dans la lutte contre les infections bactériennes et pour la prise en charge du stress oxydatif.

# **REFERENCES**

- Abbiw K.D. (1990). Useful plants of Ghana: West African uses of wild and cultivated plants. *Intermediate Technology Publications*, UK: 98-212.
- Abd El-Ghany W.A. (2020). Paraprobiotics and postbiotics: Contemporary and promising natural antibiotics alternatives and their applications in the poultry field. *Open Veterinary Journal*, 10(3): 323-330.
- Abdulghaffar T.A. & El Bahgy H.E. (2016). Effect of some disinfectants on some microorganisms isolated from poultry farm. *Benha Veterinary Medical Journal*, 31: 154-158.
- Acevedo-Villanueva K., Akerele G., Al-Hakeem W., Adams D., Gourapura R. & Selvaraj R. (2022). Immunization of broiler chickens with a killed chitosan nanoparticle *Salmonella* vaccine decreases *Salmonella enterica* serovar *enteritidis* load. *Frontiers in Physiology*, 13:1-18. Doi: 103389/fphys.2022920777.
- Acevedo-Villanueva K.Y., Akerele G.O., Al Hakeem W.G., Renu S., Shanmugasundaram R. & Selvaraj R.K.A. (2021). A novel approach against *Salmonella*: A review of polymeric nanoparticle vaccines for broilers and layers. *Vaccines*, 9:1-27. Doi :10.3390/vaccines9091041.
- Adama K. (2009). Activité anthelminthique de deux plantes tropicales testées *in vitro et in vivo* sur les strongles gastro intestinaux des ovins de race Mossi du Burkina Fasso. Thèse de Doctorat, Santé Animale Tropicale, Université Polytechnique de Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso), 167 p.
- Adefegha S.A., Oboh G., Omojokun O.S., Jimoh T.O. & Oyeleye S.I. (2016). *In vitro* antioxidant activities of African birch (*Anogeissus leiocarpus*) leaf and its effect on the amylase and glucosidase inhibitory properties of acarbose. *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 11: 236-242.
- Ademosun A.O., Adebayo A.A. & Oboh G. (2019). *Anogeissus leiocarpus* attenuates paroxetine-induced erectile dysfunction in male rats via enhanced sexual behavior, nitric oxide level and antioxidant status. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 111: 1029-1035.
- Adhikari P.A. & KimW.K. (2017). Overview of prebiotics and probiotics: Focus on performance, gut health and immunity-A review. *Annals of Animal Science*, 17: 949-966.

- Agaie B.M., Onyeyili P.A., Muhammad B.Y. & Landan M.J. (2007). Some toxic effects of aqueous leaf extract of *Anogeissus leiocarpus* in rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 2 (4): 396-401.
- Agbaje M., Begum R.H., Oyekunle M.A., Ojo O.E. & Adenubi O.T. (2011). Evolution of *Salmonella* nomenclature: a critical note. *Folia Microbiologica*, 56: 497-503.
- Aguilar-Toalá J.E., Garcia-Varela R., Garcia H.S., Mata-Haro V. González-Córdova A.F., Vallejo-Cordoba B. & Hernández-Mendoza A. (2018). Postbiotics: An evolving term within the functional foods field. *Trends Food Science & Technology*, 75: 105-114.
- Akanbi O.M., Omonkhua A.A. & Cyril-Olutayo C.M. (2014). Effect of crude methanolic extract of *Anogeissus leiocarpus* on the liver function of *Plasmodium berghei* infected mice. *International Journal of Infectious Diseases*, 21: 196-201.
- Aké A. (1992). Contribution au recensement des espèces végétales utilisées traditionnellement sur le plan zootechnique et vétérinaire en Afrique de l'Ouest. Thèse de Doctorat, Médecine Vétérinaire, Université Claude Bernard-Lyon I, France, 234 p.
- Alagawany M., Abd El-Hack M.E., Farag M.R., Sachan S., Karthik K. & Dhama K. (2018). The use of probiotics as eco-friendly alternatives for antibiotics in poultry nutrition. *Environmental Science and Pollution Research*, 25 : 10611-10618.
- Ali H.N. & Li Z. (2021). Oxidative stress in broiler chicken and its consequences on meat quality. *International Journal of Life Science Research Archive*, 1(1): 045-054.
- Alley M.R., Connolly J.H., Fenwick S.G., Mackereth G.F., Leyland M.J., Rogers L.E., Haycock M., Nicol C. & Reed C. (2002). An epidemic of Salmonellosis caused by *Salmonella typhimurium* DT160 in wild birds and humans in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 50: 170-176.
- Altan Ö., Pabuçcuoğlu A., Altan A., Konyalioğlu S. & Bayraktar H. (2003). Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers. *British Poultry Science*, 44(4): 545-550.
- Amvan Z.P.H., Biviti L., Tchoumbovngang F., Menut C., Lamatv G. & Boucet P.H. (1998). Aromatical plants of Tropical Central Africa, Part XXXII Chemical composition and antifungal activity of thirteen essential oils from aromatic plants of Cameroun. *Flavour and Fragrance Journal*, 13: 107-114.

- Andary C., Doumbia B., Sauvan N., Olivier M. & Garcia M. (2005). *Anogeissus leiocarpa* (DC.) Guill.& Perr. Enregistrement de Protabase. Jansen, PCM et Cardon, D. (éditeurs). PROTA (Plant Ressources of Tropical Africa) Wageningen, Pays-Bas, applications, 260 p.
- Arain M.A., Nabi F., Shah Q.A., Alagawany M., Fazlani S.A., Khalid M., Soomro F., Khand F.M. & Farag M.R. (2022). The role of early feeding in improving performance and health of poultry: Herbs and their derivatives. *World's Poultry Science Journal*, 78: 499-513.
- Arbab A.H. (2014). Review on *Anogeissus leiocarpus* a potent african traditional drug. *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry*, 4(3): 496-500.
- Asadi N., Husseini S.D., Tohidian M., Abdali N., Mimandipoure A., Rafieian-Kopaei M. & Bahmani M. (2017). Performance of broilers supplemented with peppermint (*Mentha piperita* L.) powder. *Journal of Evidence-Based Integrative Medicine*, 22: 703-706.
- Bahman F-N., Hassan A. & Mehrangiz G. (2022). Effects of different solvents to extract phytochemical materials of *Rhazya stricta* against *Salmonella typhimurium*. *Gene Cell Tissue*, 9 (1): 1-8.
- Bai S.P., Wu A.M., Ding X.M., Lei Y., Bai J., Zhang K.Y. & Chio J.S. (2013). Effects of probiotic-supplemented diets on growth performance and intestinal immune characteristics of broiler chickens. *Poultry Science*, 92: 663-670.
- Bamba M., Neut C., Bordage S., Dramane S., Kouadio N.J., Yacouba S., Samaille J., Zamble B.T., Tra B. & Sahpaz S. (2020). Screening phytochimique des extraits méthanoliques des feuilles de *Combretum collinum* et des racines de *Anogeneissus leiocarpus* et effet antibactérien *in vitro* sur les souches de *Staphilococcus aureus* multi-résistantes. *International Journal of Biology and Chemistry Science*, 14: 2362-2372.
- Barku V.Y.A., Yaw O.B., Ansah E.O. & Dayie N.T.K.D. (2013). *In-vitro* assessment of antioxidant and antimicrobial activities of methanol extracts of six wound healing medicinal plants. *Journal of Natural Sciences Research*, 3(1): 74-80.
- Bäumler A.J., Tsolis R.M., Ficht T.A. & Adams L.G. (1998). Evolution of host adaptation in *Salmonella enterica*. *Infection and Immunity*, 66: 4579-4587.
- Belemnaba L. (2007). Propriétés anti hypertensives de plantes médicinales du Burkina Faso. Etude comparée de trois plantes de la médecine traditionnelle. Mémoire de Diplôme

- d'Etudes Approfondies de Pharmacopée, Université de Ouagadougou, (Burkina-Faso), 156 p.
- Belemnaba L., Nitiema M., Ilboudo S., Ouedraogo N., Ouedraogo G.G., Belemilga M.B., Ouedraogo S. & Guissou I.P. (2017). Study on antihypertensive activity of an aqueous extract of *Anogeissus leiocarpus* (AEAL) DC Guill. et Perr. bark of trunk in L-NAME-induced hypertensive rats. *Biochemical Pharmacology*, 139: 105-141.
- Bhuiyan M.N.I., Chowdhury J.U. & Begum J. (2009). Chemical investigation of the leaf and rhizome essential oils of *Zingiber zerumbet* (L.) Smith from Bangladesh. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 4: 9-12.
- Bhunia A.K. (2018). Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis, 1<sup>st</sup> edition, New York, Springer USA, 269 p.
- Bidie 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.
- Biyiti L.F., Meko'o D.J.L., Tamzc V. & Amvam Z.P.H. (2004). Recherche de l'activité antibactérienne de quatre plantes médicinales camerounaises. *Pharmacologie et Médecine Traditionnelle en Afrique*, 13: 11-20.
- Bogusławska-Tryk M., Piotrowska A. & Burlikowska K. (2012). Dietary fructans and their potential beneficial influence on health and performance parameters in broiler chickens. *Journal of Central European Agriculture*, 13(2): 272-291.
- Bonny A.C. & Karou T.G. (2021). Phenotypic and molecular characterization of antibiotic resistance of isolated *Salmonella* strains from chickens in Côte d'Ivoire. *International Journal of current Microbiology and applied Sciences*, 10: 48-58.
- Bougandoura N. & Bendimerad N. (2013). Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha* ssp. *Nepeta* (L) Briq. *Nature & Technologie*, 5(2) :14-19.
- Bramen A.L. (1975). Toxicology and biochemistry of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 52: 59-63.
- Brenner F.W., Villar R.G., Angulo F.J., Tauxe R. & Swaminathan B. (2000). *Salmonella* nomenclature. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(7): 2465-2467.

- Broz P., Ohlson M.B. & Monack D.M. (2012). Innate immune response to *Salmonella typhimurium*, a model enteric pathogen. *Gut Microbes*, 3(2): 62-70.
- Bssaibis F., Gmira N. & Meziane M. (2009). Activité antibactérienne de *Dittrichia viscosa* (L.) W.Greuter. *Revue de Microbiologie Industrielle, Santé et Environnement*, 3: 44-55.
- Buchmeier N.A. & Heffron F. (1991). Inhibition of macrophage phagosome-lysosome fusion by *Salmonella typhimurium*. *Infection and Immunity*, 59(7): 2232-2238.
- Campos M. (2019). Poultry is king of proteins in IPC outlook: International Council <https://internationalpoultryconcil.org/2019/03/08/poultry-is-king-of-proteins-in-ipc-outlook/>. Consulté le 23/09/2022.
- Chaabi M., Benayache S., Benayache F., N’Gom S., Koné M., Anton R., Weniger B. & Lobstein A. (2008). Triterpenes and polyphenols from *Anogeissus leiocarpus* (Combretaceae). *Biochemical Systematics and Ecology*, 36(1): 59-62.
- Chalghoumi R., Belgacem A., Trabelsi I., Bouatour Y. & Bergaoui R. (2013). Effect of dietary supplementation with probiotic or essential oils on growth performance of broiler chickens. *International Journal of Poultry Science*, 12: 538-544.
- Cheah K.S., Cheah A.M. & Waring J.C. (1986). Phospholipase A2 activity, calmodulin, Ca<sup>2+</sup> and meat quality in young and adult halothane-sensitive and halothane-insensitive British Landrace pigs. *Meat Science*, 17(1): 37-53.
- Cho S., Jackson C.R. & Frye J.G. (2020). The prevalence and antimicrobial resistance phenotypes of *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Enterococcus sp.* in surface water. *Letters in Applied Microbiology*, 71(1): 3-25.
- Choong T.S.Y., Chuah T.G., Robiah Y., Koay F.L.G. & Azni I. (2007). Arsenic toxicity, health hazards and removal techniques from water : an overview. *Desalination*, 217(1-3): 139-166.
- Coburn B., Grassl G.A. & Finlay B.B. (2007). *Salmonella*, the host and disease: A brief review. *Immunology and Cell Biology*, 85: 112-118.
- Costantini D. (2019). Understanding diversity in oxidative status and oxidative stress: the opportunities and challenges ahead. *Journal of Experimental Biology*, 222: 1-9.

- Dahiru M., Adamu M.T., Kolawole O.S. & Isyaka M.S. (2021). *Anogeissus leiocarpus*: A potential inhibitor of some extended spectrum  $\beta$ -Lactamase bacteria. *Acta Microbiology*, 4: 71-81.
- Dayok O., Dawang D.N. & Da'am C.E. (2018). Antimicrobial activity of leaf extract of *Anogeissus leiocarpus* (African birch) on some selected clinical isolate. *Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 13(4): 36-40.
- De Reu K., Grijspeerdt K., Messens W., Heyndrickx M., Uyttendaele M., Debevere J. & Herman L. (2006). Eggshell factors influencing eggshell penetration and whole egg contamination by different bacteria, including *Salmonella enteritidis*. *International Journal of Food Microbiology*, 112(3): 253-260.
- Deguchi K., Yokoyama E., Honda T. & Mizuno K. (2009). Efficacy of a novel trivalent inactivated vaccine against the shedding of *Salmonella* in a chicken challenge model. *Avian Diseases*, 53(2): 281-286.
- Diab K.A., Guru S.K., Bhushan S. & Saxena A.K. (2015). *In vitro* anticancer activities of *Anogeissus latifolia*, *Terminalia bellerica*, *Acacia catechu* and *Moringa oleifera* Indian plants. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 16(15): 6423-6428.
- Dieye Y., Ameiss K., Mellata M. & Curtiss R. (2009). The *Salmonella* Pathogenicity Island (SPI) 1 contributes more than (SPI) 2 to the colonization of the chicken by *Salmonella enterica* serovar typhimurium. *BioMed Central Microbiology*, 9: 1-14.
- Dimo T., Tsala D.E., Dzeufiet D.P.D., Penlap B.V. & Njifutie N. (2006). Effects of *Alafia multiflora* stapf on lipid peroxidation antioxidant enzyme status in carbon tetrachloride treated rats. *Pharmacology Online*, 2: 76-89.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. & Vidal N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plant extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4): 454-460.
- Eckert N.H., Lee J.T., Hyatt D., Stevens S.M., Anderson S., Anderson P.N., Beltran R., Schatzmayr G., Mohnl M. & Caldwell D.J. (2010). Influence of probiotic administration by feed or water on growth parameters of broilers reared on medicated and nonmedicated diets. *Journal of applied Poultry Research*, 19(1): 59-67.

- EFSA (2021) The European Union One Health 2019 Zoonoses Report. *European Food Safety Authority Journal*, 19(2): 1-286.
- Eid S., Hassan H.M., Al-Atfeehy N.M., Selim K.M., El Oksh A.S. & Composting A. (2023). biosecurity measure to maximize the benefit of broilers' litter. *Journal of Advanced Veterinary and Animal Research*, 10(3): 458-468.
- El-Ghany A. (2020). Phytobiotics in poultry industry as growth promoters, antimicrobials and immunomodulators-A review. *Journal of World's Poultry Research*, 10(4): 571-579.
- El-Senousey H.K., Chen B., Wang J.Y., Atta A.M., Mohamed F.R. & Nie Q.H. (2018). Effects of dietary Vitamin C, Vitamin E, and alpha-lipoic acid supplementation on the antioxidant defense system and immune-related gene expression in broilers exposed to oxidative stress by dexamethasone. *Poultry Science*, 97(1): 30-38.
- Ercetin T., Sezer S.F., Orhan I.E. & Toker G. (2012). Comparative assessment of antioxidant and cholinesterase inhibitory properties of the marigold extracts from *Calendula arvensis* L. and *Calendula officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 36(1): 203-208.
- Estévez M. (2015) Oxidative damage to poultry: from farm to fork. *Poultry Science*, 94(6): 1368-1378.
- Etuk E. & Mohammed B. (2009). Informant consensus selection method: A reliability assessment on medicinal plants used in north western Nigeria for the treatment of diabetes mellitus. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3: 496-500.
- Fathima S., Shanmugasundaram R., Adams D., Selvaraj R.K. (2022). Gastrointestinal microbiota and their manipulation for improved growth and performance in chickens. *Foods*, 11: 1-30.
- Fauchere L.L. & Avril J.L. (2002). General and medical bacteriology. Editions Ellipses, Paris France, 365 p.
- Feng-Xian W., Bin X., Xiao-Fei H., Shao-Yu L., Fu-Zhu L., Quan-You S., Yu-Ping J. & Lin-Yi W. (2012). The effect of ammonia and humidity in poultry houses on intestinal morphology and function of broilers. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11(19): 3641-3646.

- Ferrari R.G., Rosario D.K.A., Cunha-Neto A., Mano S.B., Figueiredo E.E.S. & Conte-Junior C.A. (2019). Worldwide epidemiology of *Salmonella* serovars in animal-based foods: A meta-analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 85(14): 1-21.
- Fomentini M., Haese D., Kill J.L., Sobreiro R.P., Puppo D.D., Haddade I.R., Lima A.L. & Saraiva A. (2016). Probiotic and antimicrobials on performance, carcass characteristics, and antibody production in broilers. *Ciência Rural*, 46: 1070-1075.
- Fraser R.W., Williams N.T., Powell L.F. & Cook A. (2010). Reducing *Campylobacter* and *Salmonella* infection: Two studies of the economic cost and attitude to adoption of on-farm biosecurity measures. *Zoonoses Public Health*, 57: 109-115.
- Fu Y., M'ikanatha N.M., Lorch J.M., Blehert D.S., Berlowski-Zier B., Whitehouse C.A., Li S., Deng X., Smith J.C. & Shariat N.W. (2022). *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* isolates from wild birds in the United States represent distinct lineages defined by bird type. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(6): 1-16. [Pttps://Doi.org/10.1128/aem.01979-21](https://doi.org/10.1128/aem.01979-21).
- Gabriel I., Lessire M., Mallet S. & Guillot J.F. (2006). Microflora of the digestive tract: Critical factors and consequences for poultry. *World's Poultry Science Journal*, 62(3): 499-511. [Doi:https://doi.org/10.1017/s0043933906001115](https://doi.org/10.1017/s0043933906001115).
- Geldof N. & Engeseth N.J. (2002). Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of *in vitro* lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3050-3055.
- Gerasopoulos K., Stagos D., Kokkas S., Petrotos K., Kantas D., Goulas P. & Kouretas D. (2015). Feed supplemented with byproducts from olive oil mill wastewater processing increases antioxidant capacity in broiler chickens. *Food and Chemical Toxicology* 82: 42-49. [Doi:10.1016/j.fct.2015.04.021](https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.04.021).
- Ghosh T., Kumar A., Sati A., Mondal B.C., Singh S.K. & Kumar, R. (2020) Effect of dietary supplementation of herbal feed additives (black cumin, garlic and turmeric) in combination with linseed oil on production performance of white leghorn laying chickens. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 8(6): 478-482.

- Gibson G.R., Hutkins R., Sanders M.E., Prescott S.L., Reimer R.A., Salminen S.J., Scott K., Stanton C., Swanson K.S. & Cani P.D. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology*, 14(8): 491-502.
- Gibson G.R. & Roberfroid M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*, 125(6): 1401-1412.
- Gledel J.R. (1996). “Le genre *Salmonella* “. In: “*Microbiologie alimentaire: Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments*”, Editions Lavoisier-Tec & Doc, Paris, (France): 62-77.
- Gonzalez-Rivas P.A., Chauhan S.S., Ha M., Fegan N., Dunshea F.R. & Warner RD. (2020). Effects of heat stress on animal physiology, metabolism, and meat quality. *Meat Science*, 162: 1-9.
- Gosling R.J., Martelli F., Wintrip A., Sayers A.R., Wheeler K. & Davies R.H. (2014). Assessment of producers’ response to *Salmonella* biosecurity issues and uptake of advice on laying hen farms in England and Wales. *British Poultry Science*, 55(5): 559-568.
- Gunn J.S., Marshall J.M., Baker S., Dongol S., Charles R.C. & Ryan ET (2014) *Salmonella* chronic carriage: epidemiology, diagnosis, and gallbladder persistence. *Trends Microbiology*, 22(11): 648-655.
- Guo B., Dalrymple B.P. (2017). Transcriptomics of meat quality. In *new aspects of meat quality*, Elsevier, Amsterdam (Pays-Bas): 259-320.
- Habbu P.V., Shastry R.A., Mahadevan K.M., Joshi H. & Das S.K. (2008). Hepathoprotective and antioxidant effects of *Argyreia speciosa* in rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 5(2): 158-164.
- Hafsat R., Humphrey C. N. & Musa M.A. (2021). Antioxidant properties of aqueous stem bark extract of *Anogeissus leiocarpus* against ethanol-induced gastric ulcer in rats. *Science World Journal*, 16(3): 199-205.
- Hajati H. & Rezaei M. (2010) The application of prebiotics in poultry production. *International Journal of Poultry Science*, 9(3): 298-304.

- Hammoudi A. (2009). Study of avian colibacillosis. Epidemiology, antibiotic resistance and characterization of virulence genes by Polymerase Chain Reaction method. Doctoral Thesis, Es-Senia University, Oran (Algeria), 109 p.
- Hanen F., Chokri H., Ichrak M. & Riadh K. (2022). Evaluation of different procedures for extraction of phenolic compounds from medicinal plant: *Verbena officina*. *Biologie Aujourd'hui*, 225(3-4): 133-142.
- Hao G., Li P., Huang J., Cui K., Liang L., Lin F., Lu Z. & Sun S. (2023). Research Note: Therapeutic effect of a *Salmonella* phage combination on chicks infected with *Salmonella Typhimurium*. *Poultry Science*, 102(7): 1-7.
- Hashizawa Y., Kubota M., Kadowaki M. & Fujimura S. (2013). Effect of dietary vitamin E on broiler meat qualities, color, water-holding capacity and shear force value, under heat stress conditions. *Animal Science Journal*, 84(11): 732-736.
- Henard C.A. & Vázquez-Torres A. (2011). Nitric oxide and *Salmonella* pathogenesis. *Frontiers in Microbiology*, 2(1): 1-11.
- Henriques A., Sereno R. & Almeida A. (2013). Reducing *Salmonella* horizontal transmission during egg incubation by phage therapy. *Foodborne Pathogens and Disease*, 10(8): 718-722.
- Herman M., Biekop F., Marc K., Kouam G., Tchunte K. & Jean B. (2020). *In vivo* antioxidant activities of the ethanolic extract of *Zehneria scabra* leaves on *Salmonella enteritidis* infected quails. *International Journal of Applied Research*, 6(2): 46-53.
- Higgins J.P., Higgins S.E., Guenther K.L., Huff W., Donoghue A.M., Donoghue D.J. & Hargis B.M. (2005). Use of a specific bacteriophage treatment to reduce *Salmonella* in poultry products. *Poultry Science*, 84(7): 1141-1145.
- Higginson E.E., Simon R., & Tennant S.M. (2016). Animal models for Salmonellosis: Applications in vaccine research. *Clinical and Vaccine Immunology*, 23(9): 746-756.
- Holasova M., Fiedlerova V., Smrcinova H., Orsak-Lachman J. & Vavrienova S. (2002). Buckwheat-The source of antioxidant activity in functional foods. *Food Research International*, 35(2-3): 207-211.
- Huberman Y.D., Caballero-García M. Rojas R., Ascanio S., Olmos L.H., Malena R., Lomónaco J.; Nievas, P., Chero, P., Lévano-Gracia J. & Alfredo Mendoza-E. (2022). The efficacy

- of a trivalent inactivated *Salmonella* vaccine combined with the live *S. gallinarum* 9R vaccine in young layers after experimental infections with *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, and *Salmonella infantis*. *Vaccines*, 10(7): 1-13.
- Hughes L.A., Shopland S., Wigley P., Bradon H., Leatherbarrow., A.H., Williams N.J. Bennett M., de Pinna E., Lawson B., Cunningham A.A. & Julian C. (2008). Characterisation of *Salmonella enterica* serotype *typhimurium* isolates from wild birds in northern England from 2005–2006. *BMC Veterinary Research*, 4(4): 1-10.
- Humam A.M., Loh T.C., Foo H.L., Izuddin W.I., Zulkifli I., Samsudin A.A. & Mustapha N.M. (2021). Supplementation of postbiotic RI11 improves antioxidant enzyme activity, upregulated gut barrier genes, and reduced cytokine, acute phase protein, and heat shock protein 70 gene expression levels in heat-stressed broilers. *Poultry Science*, 100: 1-14.
- Humam A.M., Loh T.C., Foo H.L., Samsudin A.A., Mustapha N.M., Zulkifli I. & Izuddin W.I. (2019). Effects of feeding different postbiotics produced by *Lactobacillus plantarum* on growth performance, carcass yield, intestinal morphology, gut microbiota composition, immune status, and growth gene expression in broilers under heat stress. *Animals*, 9: 1-20.
- Iqbal A., Hasni S., Sajjad-ur-R., Aslam R. & Khan K. (2016). Preparation and evaluation of bacteriophage lysate specific for *Salmonella typhimurium*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(11): 828-835.
- Ismail I.B. Al-Busadah K.A., & El-Bahr S.M. (2013). Oxidative stress biomarkers and biochemical profile in broilers chicken fed zinc bacitracin and ascorbic acid under hot climate. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 3(2): 202-214. DOI:10.3923/jbmb.202.214.
- Issenhuth-Jeanjean S., Roggentin P., Mikoleit M., Guibourdenche M., De Pinna E., Nair S., Fields P.I. & Weill F-X. (2014). Supplement 2008-2010 (no. 48) to the White-Kauffmann-Le Minor scheme. *Research in Microbiology*, 165(7): 526-530.
- Jayasinghe L., Malika K.B., Nishantha J.K., Gayathri U.N., Ratnayake B., Noriyuki H. & Yoshinory F. (2003). Antifungal constituents of stem bark of *Bridelia retusta*. *Phytochemistry*, 62: 637-641.

- Jean B. S., Siméon P. C. F., Flavie G. D., Norbert K., Jean R. K., Alain B. F., Gabriel T. K. & Donatien G. (2019). Antisalmonellal and antioxidant potential of hydroethanolic extract of *Canarium schweinfurthii* Engl. (Burseraceae) in *Salmonella enterica* serovar *typhimurium*-infected chicks. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 9: 474-483.
- Jia S., McWhorter A.R., Andrews D.M., Underwood G.J. & Chousalkar K.K. (2020). Challenges in vaccinating layer hens against *Salmonella Typhimurium*. *Vaccines*, 8: 1-12.
- Jones M.A. Hulme S.D., Barrow P.A., Wigley P. (2007). The *Salmonella* pathogenicity island 1 and *Salmonella* pathogenicity island 2 type III secretion systems play a major role in pathogenesis of systemic disease and gastrointestinal tract colonization of *Salmonella enterica* serovar *typhimurium* in the chicken. *Avian Pathology*, 36: 199-203.
- Julienne K., Tony T.B.A.S., Pascal A.O., Claude G.H., Basile S.B.K., Fréjus T.A.Z., Ibikounle M., Severin B., Sylvie M.H-A. & Patrick A.E. (2021). *Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr. (Combretaceae), a medicinal plant traditionally used in small ruminant breeding in West and Central Africa: zootechnical performances, pharmacological activities and chemical compositions (bibliography synthesis). *International Journal of Biosciences*, 19(5): 10-26.
- Kabir S.L., Rahman M.M., Rahman M.B., Rahman M.M. & Ahmed S.U. (2004). The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers. *International Journal of Poultry Science*, 3: 361-364.
- Kamagate T., Ouattara A., Ouattara K., Sanogo M., Saraka N.D., Ouattara L. & Coulibaly A. (2017). Therapeutic activity of *Thonningia sanguinea* aqueous extract, Vahl on an experimental colibacillosis in chicken. *The Journal of Phytopharmacology*, 6(5): 282-287.
- Kang X., Huang T., Shen H. Meng C., Jiao X. & Pan Z. (2022). *Salmonella enteritidis* subunit vaccine candidate based on SseB protein co-delivered with simvastatin as qdjuvant. *Pathogens*, 11: 1-11.
- Karon A.E., Archer J.R., Sotir M.J., Monson T.A. & Kazmierczak J.J. (2007). Human multidrug-resistant *Salmonella* newport infections, Wisconsin, 2003-2005. *Emerging Infectious Diseases*, 13(11): 1777-1780.

- Khan S. & Chousalkar K.K. (2020). *Salmonella typhimurium* infection disrupts but continuous feeding of *Bacillus* based probiotic restores gut microbiota in infected hens. *Journal of animal Science and Biotechnology*, 11: 1-16.
- Khomayezi R. & Adewole D. (2022). Probiotics, prebiotics, and synbiotics: An overview of their delivery routes and effects on growth and health of broiler chickens. *World's Poultry Science Journal*, 78: 57-81.
- Kiebler C.A., Bottichio L. & Simmons L. (2020). Outbreak of human infections with uncommon *Salmonella* serotypes linked to pet bearded dragons, 2012-2014. *Zoonoses Public Health*, 67: 425-434.
- Knuff K. & Finlay B.B. (2017). What the SIF is happening-The role of intracellular *Salmonella*-induced filaments. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 7: 1-8.
- Kobayashi N., Takahashi D., Takano S., Kimura S. & Hase K. (2019). The roles of Peyer's patches and microfold cells in the gut immune system: Relevance to autoimmune diseases. *Frontiers in Immunology*, 10: 1-15.
- Kodjio N., Atsafack S., Njateng G., Sokoudjou J., Kuate J.R. & Gasting D. (2016). Antioxidant effect of aqueous extract of *Curcuma longa* rhizomes (Zingiberaceae) in the typhoid fever induced in wistar rats model. *Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences*, 7(3): 1-13.
- Kollanoor-Johny A., Mattson T., Baskaran S.A., Amalaradjou M.A., Babapoor S., March B., Valipe S., Darre M., Hoagland T. & Schreiber D. (2012). Reduction of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis colonization in 20-day-old broiler chickens by the plant-derived compounds trans-cinnamaldehyde and eugenol. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(8): 2981-2987. DOI:10.1128/AEM.07643-11.
- Koné D. (2009) Enquête ethnobotanique de six plantes médicinales maliennes : extraction, identification d'alcaloïdes, quantification de polyphénols : Etude de leur activité antioxydante. Thèse de Doctorat de Biologie Végétale, Université Paul Verlaine, Metz (France), 189 p.
- Koné K.H.C., Coulibaly K. & Konan K.S. (2019). Plantes à usage médicinale en élevage d'ovins à Sinématiali (Nord de la Côte d'Ivoire), *Journal of Animal & Plant Sciences*, 41(1): 6828-6839.

- Kopanic R.J.J., Sheldon B.W. & Wright, C.G. (1994). Cockroaches as vectors of *Salmonella*: Laboratory and field trials. *Journal of Food Protection*, 57(2): 125-131.
- Kouakou S.K., Toure A., Ouattara K. & N'guessan J.D. (2010). Activité anticoccidienne *in vivo* de l'extrait aqueux de *Thonningia sanguinea* (Balanophoraceae) chez la poule pondeuse. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 44: 864-870.
- Kouamé R.A. (2023). Utilisation d'extraits de plantes issues de la pharmacopée ivoirienne comme alternative de lutte contre l'antibiorésistance de souches de *Salmonella spp* multirésistantes dans l'aviculture. Thèse de Doctorat de Biotechnologie Agroalimentaire, Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan, Côte d'Ivoire, 149 p.
- Krysiak K., Konkol D. & Korczynski M. (2021). Overview of the use of probiotics in poultry production. *Animals*, 11: 1-24.
- Kuete V., Penlap-B.V., Etoa F-X., Modjo S.L., Bogne P., Assob J.C. & Lotsi D. (2004). Activités antimicrobiennes de l'extrait total et des fractions de jus de fruit *Citrus medica* Lin. (Rutaceae). *Pharmacopée et Médecine Traditionnelle Africaine*, 13: 91-101.
- Kuisseu U., Taofick B.T., Sounkere A., Olounlade A.P., Houssoukpe G.C., Konmy S.B.B., Zinsou T.A.F., Moudachirou I., Babatoundé S., Hounzangbe-Adote M.S. & Etorh A.P. (2021). *Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr. (Combretaceae), plante médicinale traditionnellement utilisée en élevage de petits ruminants en Afrique de l'Ouest et du centre : performances zootechniques, activités pharmacologiques et compositions chimiques (synthèse bibliographique). *International Journal of Bioscience*, 19: 10-26.
- Kumaran A.J. & Karunakaran R. (2007). *In vitro* antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India. *LWT-Food Science and Technology*, 40(2): 344-352.
- Laptev G.Y., Filippova V.A., Kochish I.I., Yildirim E.A., Ilina L.A., Dubrovin A.V., Brazhnik E.A., Novikova N.I., Novikova O.B. & Dmitrieva M.E. (2019). Examination of the expression of immunity genes and bacterial profiles in the caecum of growing chickens infected with *Salmonella enteritidis* and fed a phytobiotic. *Animals*, 9(9): 1-25. <https://doi.org/10.3390/ani9090615>.
- Le K., Chiu F. & Ng K. (2007). Identification and quantification of antioxidants in *Fructus lycii*. *Food Chemistry*, 105: 353-363.

- Leffer A.M., Kuttel J., Martins L.M., Pedroso A.C., Astolfi-Ferreira C.S., Ferreira F. & Ferreira A.J.P. (2010). Vectorial competence of larvae and adults of *Alphitobius diaperinus* in the transmission of *Salmonella enteritidis* in poultry. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 10(5): 481-487.
- Lilly D.M. & Stillwell R.H. (1965). Probiotics: Growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147: 747-748.
- Lin H., Jiao H.C., Buyse J. & Decuypere E. (2006). Strategies for preventing heat stress in poultry. *World's Poultry Science Journal*, 62(1): 71-86.
- Lin X., Jiang S., Jiang Z., Zheng C. & Gou Z. (2016). Effects of equol on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress in primary chicken intestinal epithelial cells. *Poultry Science*, 95(6): 1380-1386. DOI: 10.3382/ps/pew034.
- Liu H., Zhang C. & Zeng W. (2006). Estrogenic and antioxidant effects of a phytoestrogen daidzein on ovarian germ cells in embryonic chickens. *Domestic Animal Endocrinology*, 31(3): 258-268.
- Loyau T., Bedrani L., Berri C., Métayer-Coustard S., Praud C., Coustham V., Mignon-Grasteau S., Duclos M.J., Tesseraud S., Rideau N., Hennequet-Antier C., Everaert N., Yahav S., & Collin A. (2015). Cyclic variations in incubation conditions induce adaptive responses to later heat exposure in chickens: a review. *Animal*, 9(1): 76–85.
- Luoma A., Markazi A., Shanmugasundaram R., Murugesan G.R., Mohnl M. & Selvaraj R. (2017). Effect of synbiotic supplementation on layer production and cecal *Salmonella* load during a *Salmonella* challenge. *Poultry Science*, 96: 4208-4216.
- Luong T., Salabarria A. & Roach D.R. (2020). Phage therapy in the resistance era: Where do we stand and where are we going? *Clinical Therapeutics*, 42(9): 1659-1680.
- Madigan M. & Martinko J. (2007). Microbiological and immunological diagnosis. In : *Brock Biology of microorganisms* (11<sup>th</sup> edn), Pearson Education, Paris, France :149-152.
- Malik D.J. (2021). Bacteriophage encapsulation using spray drying for phage therapy. *Current Issues in Molecular Biology*, 40(1): 303-316.
- Marchini C.F.P., Silva P.L., Nascimento M.R.B.M., Beletti ME, Silva N.M. & Guimaraes E.C. (2011). Body weight, intestinal morphometry and cell proliferation of broiler chickens

- submitted to cyclic heat stress. *International Journal of Poultry Science*, 10(6): 455-460.
- Marinova D., Ribavora F. & Antanassova M. (2005). Total phenolics in bulgarian fruits and vegetables. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy*, 40(3): 255-260.
- Marouf S., Ibrahim H.M., El-Naggar M.S., Swelum A.A., Alqhtani A.H., El-Saadony M.T., El-Tarabily K.A. & Salem H.M. (2022). Inactivated pentavalent vaccine against mycoplasmosis and salmonellosis for chickens. *Poultry Science*, 101: 102-139.
- Marshall B.M. & Levy S.B. (2011). Food animals and antimicrobials: Impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews*, 24: 718-733.
- McGourty K., Thurston T.L., Matthews S.A., Pinaud L., Mota L.J. & Holden D.W. (2012). *Salmonella* inhibits retrograde trafficking of mannose-6-phosphate receptors and lysosome function. *Science*, 338: 963-967.
- Meerburg B.G. & Kijlstra A. (2007). Role of rodents in transmission of *Salmonella* and *Campylobacter*. *Journal of the science of food and Agriculture*, 87(15): 2774-2781.
- Menanteau P., Kempf F., Trotureau J., Virlogeux-Payant I., Gitton E., Dalifard J., Gabriel I., Rychlik I. & Velge P. (2018). Role of systemic infection, cross contaminations and super-shedders in *Salmonella* carrier state in chicken. *Environmental Microbiology*, 20(9): 3246-3260.
- Menconi A., Kallapura G., Latorre J.D., Morgan M.J., Pumford N.R., Hargis B.M. & Tellez G. (2014). Identification and characterization of lactic acid bacteria in a commercial probiotic culture. *Bioscience of Microbiota, Food and Health*, 33(1): 25-30.
- Merino L., Trejo F.M., De Antoni G. & Golowczyc M.A. (2019). *Lactobacillus* strains inhibit biofilm formation of *Salmonella sp.* Isolates from poultry. *Food Research International*, 123: 258-265.
- Miles D.M., Branton S.L. & Lott B.D. (2004). Atmospheric ammonia is detrimental to the performance of modern commercial broilers. *Poultry Science*, 83(10): 1650-1654.
- Min Y.N., Niu Z., Sun T.T., Wang Z.P., Jiao P.X., Zi B.B., Chen P.P., Tian D.L. & Liu F.Z. (2018). Vitamin E and Vitamin C supplementation improves antioxidant status and

- immune function in oxidative-stressed breeder roosters by up-regulating expression of GSH-Px gene. *Poultry Science*, 97: 1238-1244.
- Mohamed A.B., Al-Rubae M.A., Jalil A.G. (2012). Effect of ginger (*Zingiber officinale*) on performance and blood serum parameters of broiler. *International Journal of Poultry Science* 11(2): 143-146.
- Mohammadi G. M. & Kim I.H. (2018). Phytobiotics in poultry and swine nutrition-A review. *Italian Journal of Animal Science*, 17(1): 92-99.
- Mohammed A.A., Jacobs J.A. Murugesan G.R. & Cheng H.W. (2018). Effect of dietary synbiotic supplement on behavioral patterns and growth performance of broiler chickens reared under heat stress. *Poultry Science*, 97: 1101-1108.
- Morelli L., Capurso L. (2012). FAO/WHO guidelines on probiotics: 10 years later. *Journal Clinical Gastroenterology*, 46: 1-7.
- Mughini-Gras L., Enserink R., Friesema I., Heck M., Van Duynhoven Y. & Van Pelt W. (2014). Risk factors for human Salmonellosis originating from pigs, cattle, broiler chickens and egg laying hens: a combined case-control and source attribution analysis. *PloS One*, 9(2): 1-9.
- Nabil N.M., Tawakol M.M. & Hassan H.M. (2018). Assessing the impact of bacteriophages in the treatment of *Salmonella* in broiler chickens. *Infection Ecology & Epidemiology*, 8(1): 1-8. DOI: 10.1080/20008686.2018.1539056.
- 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(3-4): 214-219.
- Naphtali E., Tahir F. & Agbo E.B. (2020). Evaluation of activities of some plant leaf extract on typhoidal and non-typhoidal *Salmonella* isolated from selected hospitals in Bauchi, Nigeria. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 11(2): 20-30.
- O'Bryan C.A., Ricke S.C. & Marcy J.A. (2002). Public health impact of *Salmonella* spp. on raw poultry: Current concepts and future prospects in the United States. *Food Control*, 132(4): 1-7.
- Obukhovska O. (2013). The natural reservoirs of *Salmonella enteritidis* in populations of wild birds. *Online Journal of Public Health Informatics*, 5(1): 1-6.

- Oh J.K., Pajarillo E.A.B., Chae J.P., Kim I.H. & Kang D. (2017). Protective effects of *Bacillus subtilis* against *Salmonella* infection in the microbiome of Hy-Line Brown layers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 30(9): 1332-1339.
- Okpékon T. & Yolou S. (2004). Antiparasitic activities of medicinal plants used in Ivory Coast. *Journal of Ethnopharmacology*, 90 : 91-97.
- OMS (2003). Médecine traditionnelle : Rapport du secrétariat, cent onzième session, Point 5.7 de l'ordre du jour provisoire. <https://iris.who.int/handle/10665/80319>. Consulté le 15/08/23.
- OMS (2003). Background document: The diagnosis, treatment and prevention of typhoid fever. World Health Organization: Geneva, Switzerland. <https://iris.int/handle/10665/370492>. Consulté le 15/08/23.
- OMS (2022). Rapport du système mondial de surveillance de la résistance aux antimicrobiens et de leur usage [who.int/publications/i/item/9789240062702](https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702). Consulté le 15/08/23.
- Ouattara A., Ouattara K., Coulibaly A. & Adima Amissa A.A. (2013). Phytochemical screening and evaluation of the antibacterial activity of bark extracts of *Pericopsis* (*Afromosia*) *laxiflora* (Benth) of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* ESBL. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5(1): 86-90.
- Ouattara K., Coulibaly A., N'guessan J. D., Djaman A. J. & Guede-Guina F. (2005). Activité anti-diarrhéique de *Thonningia sanguinea* (THOS) sur les infections à *Salmonella enterica* serotype enteritidis lysotype 6 chez la poule pondeuse. *Revue Ivoirienne de Sciences et de Technologie*, 6: 151-160.
- Ouédraogo A., Kakai R.G. & Thiombiano A. (2013). Population structure of the widespread species, *Anogeissus leiocarpa* (DC.) Guill. & Perr. across the climatic gradient in West Africa semi-arid area. *South African Journal of Botany*, 88: 286-295.
- Ouédraogo S., Belemnaba L., Traoré A., Bucher B. & Guissou I.P. (2011). Etude de la toxicité et des propriétés pharmacologiques de l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* (DC.) Guill. & Perr. (Combretaceae). *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 15: 1-14.
- Padron M. (1990). *Salmonella typhimurium* penetration through the eggshell of hatching eggs. *Avian Diseases*, 34: 463-465.

- Parejo I., Codina C., Petrakis C. & Kefalas P., (2000). Evaluation of scavenging activity assessed by Co(II)/EDTA-induced luminal chemiluminescence and DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl) free radical assay. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 44(3): 507-512.
- Pasril Y. & Yuliasanti A. (2014). Anti-bacterial power of red batel leaves (*Piper crocatum*) to *Enterococcus faecalis* bacteria as Medi. *Insisiva Dental Journal*, 3(1): 88-95. DOI: <https://doi.org/10.18196/di.v3i1.1733>.
- Parick N. (2024). Filière avicole : La production locale couvre les besoins nationaux. <https://www.frat.info/article/202658/economie/filière-avicole-la-production-locale-couvre-les-besoins-nationaux>. Consulté le 20/07/24.
- Pico-Rodríguez J.T., Martínez-Jarquín H., Gómez-Chávez J.D.J., Juárez-Ramírez M. & Martínez-Chavarría L.C. (2023). Effect of *Salmonella* pathogenicity island 1 and 2 (SPI-1 and SPI-2) deletion on intestinal colonization and systemic dissemination in chickens. *Veterinary Research Communications*, 48(1): 49-60.
- Pineiro M., Asp N., Reid G., Macfarlane S., Morelli L., Brunser O. & Tuohy K. (2008). FAO technical meeting on prebiotics. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 42: 156-159.
- Pourabedin M., Guan L. & Zhao X. (2015). Xylo-oligosaccharides and virginiamycin differentially modulate gut microbial composition in chickens. *Microbiome*, 3: 1-12. DOI: <https://doi.org/10.1186/s40168-015-0079-4>.
- Pourali M., Mirghelenj S.A. & Kermanshahi H. (2010). Effects of garlic powder on productive performance and immune response of broiler chickens challenged with newcastle disease virus. *Global Veterinaria*, 4(6): 616-621.
- Rabie N.S. & Amin G.Z. (2020). Bacterial vaccines in poultry. *Bulletin of the National Research Centre*, 44: 1-7.
- Prabhjot S.J., Wazbir S.B., Avneet K., Ankit B. & Loveleen K. (2014). Antibacterial and phytochemical analysis of ethnomedicinal plants. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 5: 1203-1208.
- Raufu I.A., Ahmed O.A., Aremu A., Odetokun I.A. & Raji M.A. (2019). *Salmonella* transmission in poultry farms: The roles of rodents, lizards and formites. *Savannah Veterinary Journal*, 2(2019): 1-4.

- Razieh S., Jalal S. & Somayyeh H. (2020). Anti-quorum sensing and antibacterial activities of *Satureja sahendica* hydroalcoholic extract against avian isolate of *Salmonella typhimurium*. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, 1(22):71-87. DOI: 10.22067/veterinary.v12i1.85433.
- Ricke S.C., Lee S.I., Kim S.A., Park S.H. & Shi Z. (2020). Prebiotics and the poultry gastrointestinal tract microbiome. *Poultry Science*, 99: 670-677.
- Ryan M.P., O'Dwyer J. & Adley C.C. (2017). Evaluation of the complex nomenclature of the clinically and veterinary significant pathogen *Salmonella*. *BioMed Research International*, 2017: 1-6.
- Słizewska K., Markowiak-Kopec' P.Z., 'Bikowski A. & Szeleszczuk P. (2020). The effect of synbiotic preparations on the intestinal microbiota and her metabolism in broiler chickens. *Scientific Reports*, 10: 1-13.
- Saha P., Selvan V.T., Mondal S.K., Mazumder U.K. & Gupta M. (2008). Antidiabetic and antioxidant activity of methanol extract of *ipomoea reptans* poir aerial parts in streptozotocin induced in diabetic rats. *Pharmacology Online*, 1: 409-421.
- Salem W.M., El-Hamed D.M.S., Sayed W.F. & Elamary R.B. (2017). Alterations in virulence and antibiotic resistant genes of multidrugresistant *Salmonella* serovars isolated from poultry: The bactericidal efficacy of *Allium sativum*. *Microbial Pathogenesis*, 108: 91-100.
- Salih E.Y.A., Kanninen M., Sipi M., Luukkanen O., Hiltunen R., Vuorela H., Julkunen-Tiitto R. & Fyhrquist P. (2017). Tannins, flavonoids and stilbenes in extracts of African savanna woodland trees *Terminalia brownii*, *Terminalia laxiflora* and *Anogeissus leiocarpus* showing promising antibacterial potential. *South African Journal of Botany*, 108: 370-386.
- Sangare M., Sangaré L., Namory K. & Sidibé Y. (2022). Etiology of a diarrhea epidemic among employees of a poultry farm in the city of N'zérékoré, Republic of Guinea. *International Clinical Pathology Journal*, 9(1) :15-18.
- Sánchez B., Delgado S., Blanco-Míguez A., Lourenço A., Gueimonde M. & Margolles A. (2017). Probiotics, gut microbiota and their influence on host health and disease. *Molecular Nutrition and Food Research*, 61(1): 1-15.

- Savithramma N., Lingarao M. & Suhulatha D. (2011). Screening of medicinal plants for secondary metabolites, University Andhra Pradesh, India. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 8(3): 579-584.
- Serge S.A., Norbert K., Guy S.S.N., Jean B.S., Jules-Roger K. & Donatien G. (2016). Anti-infectious and *in vivo* antioxidant activities of *Albizia gummifera* aqueous stem bark extract against *Salmonella typhi* induced typhoid fever in rats. *International Journal of Pharmacy*, 6(2): 20-30.
- Shuaibu M.N., Wuyep P.T., Yanagi T., Hirayama K., Ichinose A., Tanaka T. & Kouno I. (2008a). Trypanocidal activity of extracts and compounds from the stem bark of *Anogeissus leiocarpus* and *Terminalia avicennoides*. *Parasitology Research*, 102: 697-703.
- Shuaibu M.N., Pandey K., Wuyep P.A., Yanagi T., Hirayama K., Ichinose A., Tanaka T. & Kouno I. (2008b). Castalagin from *Anogeissus leiocarpus* mediates the killing of *Leishmania in vitro*. *Parasitology Research*, 103: 1333-1338.
- Simon O., Jadamus A. & Vahjen W. (2001). Probiotic feed additives-effectiveness and expected modes of action. *Journal of Animal and Feed Science*, 10: 51-68.
- Singh B.R. (2009). *Salmonella* vaccines for animals and birds and their future perspective. *The Open Vaccine Journal*, 2: 100-112.
- Soares A.L., Ida E., Miyamoto S., Hrenández-Blazquez F.J., Olivo R., Pinheiro J.W. & Shimokomaki M. (2003). Phospholipase A2 activity in poultry PSE, pale, soft, exudative, meat. *Journal of Food Biochemistry*, 27(4): 309-320.
- Soares A.L., Marchi D.F., Matsushita M., Guarnieri P.D., Droval A.A., Ida E.I. & Shimokomaki M. (2009). Lipid oxidation and fatty acid profile related to broiler breast meat color abnormalities. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 52(6): 1513-1518.
- Souad A. Moad R. (2020). Protection by some plant methanol extracts of cherry tomatoes (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme*) from fungic infection by *Alternaria alternata*. *Biologie Aujourd'hui*, 214: 55-61.

- Sousa E., Werther K., Berchieri A.J. & Júnior. A. (2010). Assessment of Newcastle and infectious bronchitis pathogens, and *Salmonella spp.* in wild birds captured near poultry facilities. *Arquivo Brasileiro De Medicina Veterinária E Zootecnia*, 62(1): 219-223.
- Sparagano O. (2009). Control of poultry mites: Where do we stand? *Experimental and Applied Acarology*, 48: 1-2.
- Sylejmani D., Musliu A., Ramadani N., Sparagano O. & Hamidi A. (2016). Associations between the level of biosecurity and occurrence of *Dermanyssus gallinae* and *Salmonella spp.* in layer farms. *Avian Diseases*, 60: 454-459.
- Tahoun A., Mahajan S., Paxton E., Malterer G., Donaldson D.S., Wang D., Tan A., Gillespie T.L., O'Shea M. & Roe A.J. (2012). *Salmonella* transforms follicle-associated epithelial cells into M cells to promote intestinal invasion. *Cell Host & Microbe*, 12(5): 645-656.
- Tajkarimi M. (2007). *Salmonella spp.* California Department of Food. 1-8. Available online: [https://www.cdffa.ca.gov/ahfss/Animal\\_Health/PHR250/2007/25007Sal.pdf](https://www.cdffa.ca.gov/ahfss/Animal_Health/PHR250/2007/25007Sal.pdf) (accessed on 19 June 2023).
- Tennant S.M. & Levine M.M. (2015). Live attenuated vaccines for invasive *Salmonella* infections. *Vaccine*, 33: 1-15.
- Touré A., Bahi C., Ouattara K., Djaman A.J. & Coulibaly A. (2011). Phytochemical screening and *in vitro* antifungal activities of extracts of leaves of *Morinda morindoides*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(31): 6780-6786.
- Ulluwishewa D., Anderson R.C., McNabb W.C., Moughan P.J., Wells J.M. & Roy N.C. (2011). Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components. *The Journal of Nutrition*, 141(5): 769-776.
- Van I. F., Methner U., Rychlik I., Nagy B., Velge P. Martin G., Foster N., Ducatelle R. & Barrow P.A. (2015). Vaccination and early protection against non-host-specific *Salmonella* serotypes in poultry: Exploitation of innate immunity and microbial activity. *Epidemiology and Infection*, 133(6):959-978. DOI: 10.1017/s0950268805004711
- Van Thu T., Foo H.L., Loh T.C. & Bejo M.H. (2011) Inhibitory activity and organic acid concentrations of metabolite combinations produced by various strains of *Lactobacillus plantarum*. *African Journal of Biotechnology*, 10: 1359-1363.

- Velge P., Cloeckaert A. & Barrow P. (2005). Emergence of *Salmonella* epidemics: The problems related to *Salmonella enterica* serotype *enteritidis* and multiple antibiotic resistance in other major serotypes. *Veterinary Research*, 36: 267-288.
- Vicente J.L., Lopez C., Avila E., Morales E., Hargis B.M. & Tellez G. (2007). Effect of dietary natural capsaicin on experimental *Salmonella enteritidis* infection and yolk pigmentation in laying hens. *International Journal of Poultry Science*, 6: 393-396.
- Victor B.Y.A. & Grace A. (2013). Phytochemical studies, *in-vitro* antibacterial activities and antioxidant properties of the methanolic and ethyl acetate extracts of the leaves of *Anogeissus leiocarpus*. *International Journal of Biochemistry Research and Review*, 3(2): 137-145.
- Villagrán-de la Mora Z., Vázquez-Paulino O., Avalos H., Ascencio F., Nuño K. & Villarruel-López A. (2020). Effect of a synbiotic mix on lymphoid organs of broilers infected with *Salmonella typhimurium* and *clostridium perfringens*. *Animals*, 10: 1-14.
- Volkova V.V., Wills R.W., Hubbard S.A., Magee D.L., Byrd J.A. & Bailey R.H. (2011). Risk factors associated with detection of *Salmonella* in broiler litter at the time of new flock placement. *Zoonoses Public Health*, 58: 158-168.
- Von M.H.J. (1983). Arbres et arbustes du sahel : Leurs caractéristiques et leurs utilisations. Office Allemand de la Cooperation Technique (GTZ), *Margraf Publishers*, Eschborn (Allemagne), 489 p.
- Vonthron-Sénécheau C., Weniger B., Ouattara M. Bi F.T., Kamenan A., Lobstein A., Brun R. & Anton R. (2003). *In vitro* antiplasmodial activity and cytotoxicity of ethnobotanically selected Ivorian plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 87: 221-225.
- Voyles B.A. (1993). The biology of viruses. Mosby-year book. Inc., St. Louis, MO, USA, 386 p.
- Wang Y., Zhao H., Liu J., Shao Y., Li J., Luo L. & Xing M. (2018). Copper and arsenic-induced oxidative stress and immune imbalance are associated with activation of heat shock proteins in chicken intestines. *International Immunopharmacology*, 60: 64-75. Doi: 10.1016/j.intimp.2018.04.038.
- Wood J.E., Senthilmohana S.T. & Peskinb A.V. (2002). Antioxidant activity of procyanidin-containing plant extracts at different pHs. *Food Chemistry*, 77(2): 155-161.

- Wu Q., Dohnal V., Huang L., Kuča K. & Yuan Z. (2017). Metabolic pathways of trichothecenes. *Drug Metabolism Reviews*, 42(2): 250-267.
- Xu Z.; Wang C.; Li C.; Wang M.; Chen W.; Zhou C.; Wei P. (2022) The effect of oregano essential oil on the prevention and treatment of *Salmonella pullorum* and *Salmonella gallinarum* infections in commercial Yellow-chicken breeders. *Frontiers in Veterinary Science*, 9: 1-9.
- Yadav A.S., Kolluri G., Gopi M., Karthik K. & Singh Y. (2016). Exploring alternatives to antibiotics as health promoting agents in poultry-A review. *Journa of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 4: 368-383.
- Yang C., Chowdhury M.K., Hou Y. & Gong J. (2015). Phytogetic compounds as alternatives to in-feed antibiotics: Potentials and challenges in application. *Pathogens*, 4: 137-156.
- Yara S., Lavoie J.C., Beaulieu J.F., Delvin E., Amre D., Marcil V., Seidman E. & Levy E. (2013). Iron-ascorbate-mediated lipid peroxidation causes epigenetic changes in the antioxidant defense in intestinal epithelial cells: Impact on inflammation, *PLoS ONE*, 8(5): 1-11. DOI: 10.1371/journal.pone.0063456.
- Yarru L.P., Settivari R.S., Gowda N.K., Antoniou E., Ledoux D.R. & Rottinghaus G.E. (2009). Effects of turmeric (*Curcuma longa*) on the expression of hepatic genes associated with biotransformation, antioxidant and immune systems in broiler chicks fed aflatoxin. *Poultry Science*, 88(12): 2620-2627.
- Youssef Z.M., Malek S.S., Abo-Elmagd S.H., Farghal R.F. & Mahmoud F.S. (2023). Risk factors affect prevalence of diarrheal entero-pathogens in children, calves and broiler chickens in Assiut, Egypt. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 37(3): 561-571.
- Yu J., Chen Y., Zai L., Xu Y. & Wang S. (2016). Antioxidative effect of ginseng stem-leaf saponins on oxidative stress induced by cyclophosphamide in chickens. *Poultry Science*, 94(5): 927-933.
- Zhang J., Li C., Tang X., Lu Q., Sa R. & Zhang H. (2015). Proteome changes in the small intestinal mucosa of broilers (*Gallus gallus*) induced by high concentrations of atmospheric ammonia. *Proteome Science*, 13: 1-14. DOI: 10.1186/s12953-015-0067-4.
- Zhao H., He Y., Li S., Sun X., Wang Y., Shao Y., Hou Z., Xing M. (2017). Subchronic arsenism-induced oxidative stress and inflammation contribute to apoptosis through

mitochondrial and death receptor dependent pathways in chicken immune organs. *Oncotarget*, 8(25): 40327-40344. DOI:10.18632/oncotarget.16960.

Zirihi G.N. & Kra A.K.M. (2003). Evaluation de l'activité antifongique de *Microglossa pyrifolia* (Asteraceae) sur la croissance *in vitro* de *Candida albicans*. *Revue de Médecine et Pharmacie Afrique*, 17: 11-18.

## RESUME

Ces dernières années, la viande de volaille est devenue la source de protéine la plus consommée à travers le monde entier et pourrait représenter la moitié de la production mondiale de viande dans les dix prochaines années. Malheureusement, la salmonellose et le stress oxydatif causent d'énormes pertes économiques et un problème de santé publique, aggravé par la résistance aux antibiotiques. Les phytobiotiques se présentent alors comme une alternative aux antibiotiques. Notre étude visait à évaluer les effets des extraits de feuilles de *Anogeissus leiocarpus* sur la salmonellose et le stress oxydatif chez des poussins de chair. Pour ce faire nous avons évalué d'abord *in vitro*, l'activité antibactérienne des extraits aqueux et hydroéthanolique 70% de *Anogeissus leiocarpus* sur deux souches multirésistantes de *Salmonella typhimurium* d'origine aviaire. Nous avons alors obtenu un rapport CMB/CMI égal à 1 (aqueux) et 2 hydroéthanolique synonyme d'un effet bactéricide. Le triphytochimique a révélé des teneurs en polyphénols totaux sensiblement égales pour les extraits aqueux et hydroéthanolique ; soit respectivement 558,25 mg EAG/g et 605,41 mg EAG/g. Toutefois, l'extrait hydroéthanolique reste plus riche en flavonoïdes totaux que l'extrait aqueux soit respectivement 539,60 mg EQ/g et 388,95 mg EQ/g. En outre nous avons observé des activités antioxydantes très intéressantes. Par ailleurs l'extrait aqueux de *Anogeissus leiocarpus* utilisé dans le traitement d'une Salmonellose induite a significativement amélioré certains indices cliniques, le comportement et quelques paramètres biomarqueurs du stress oxydatif chez des poussins de chair. En conclusion, *Anogeissus leiocarpus* pourrait être utilisée comme un phytomédicament en aviculture.

**Mots clés :** *Anogeissus leiocarpus*, Extraits, *Salmonella typhimurium*, Multirésistant, Antioxydant.

## ABSTRACT

In recent years, poultry meat has become the most consumed source of protein worldwide and could represent half of global meat production in the next ten years. Unfortunately, due to the failure to control the health risk, Salmonellosis and oxidative stress cause enormous economic losses and a public health problem, aggravated by the phenomenon of antibiotic resistance. Phytobiotics then present themselves as an alternative to antibiotics. Our study then aimed to evaluate the effects of leaf extracts of *Anogeissus leiocarpus* on salmonellosis and oxidative stress in broiler chicks. To do this, we first evaluated *in vitro* the antibacterial activity of aqueous and hydroethanolic extracts *Anogeissus leiocarpus* on two multiresistant strains of *Salmonella typhimurium* of avian origin. We then obtained a MBC/MIC ratio equal to 1 (aqueous) and 2 (hydroethanolic), synonymous with a bactericidal effect. The triphytochemical revealed approximately equal total polyphenol contents for the aqueous and hydroethanolic extracts; or respectively 558.25 mg EAG/g and 605.41 mg EAG/g. However, the hydroethanolic extract remains richer in total flavonoids than the aqueous extract, i.e. 539.60 mg EQ/g and 388.95 mg EQ/g respectively. In addition, we observed very interesting antioxidant activities. Furthermore, the aqueous extract of *A. leiocarpus* used in the treatment of induced Salmonellosis significantly improved certain clinical indices, behavior and some biomarker parameters of oxidative stress in broiler chicks. In conclusion, *Anogeissus leiocarpus* could be used as traditional medicine in poultry farming.

**Keywords:** *Anogeissus leiocarpus*, Extracts, *Salmonella typhimurium*, Multiresistant, Antioxidant.