

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Université Ferhat Abbas Sétif 1

Faculté des Sciences de la

Nature et de la Vie



جامعة فرحات عباس، سطيف 1

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département d'Écologie et Environnement N°...../SNV/2026

Thèse

Présentée par :

CHAABNA Naila

Pour l'obtention du diplôme de

DOCTORAT EN SCIENCES

Filière : BIOLOGIE

Spécialité : BIOLOGIE VÉGÉTALE

THÈME

Etude phytochimique, effet anticoccidien et évaluation biologique de

Punica granatum L. et Olea europaea L.

Soutenu publiquement le 06 / 04 / 2026

DEVANT LE JURY

Présidente CHERMAT Sabah

Directeur HARZALLAH Daoud

Examineurs MISSAOUI Khaled

MESSAI Chafik Redha

BENGHARBI Zineb

BENMERZOUG Abdelmoumen

Pr UFA Sétif 1

Pr UFA Sétif 1

MCA UFA Sétif 1

Pr U Bordj Bou Arréridj

MCA U Mostaganem

MCA ENS Ouargla

Remerciements

*Je remercie tout d'abord **ALLAH**, le tout puissant de m'avoir accordé la foi, la santé et le courage pour l'achèvement de ce travail.*

*Je tiens à exprimer mes vifs remerciements et ma reconnaissance à Monsieur **HARZALLAH Daoud**, Professeur à l'université Ferhat Abbas, Sétif 1, qui m'a honoré en acceptant de diriger ce travail avec une grande rigueur scientifique. Je le remercie également pour sa confiance, ses conseils, sa disponibilité et ses encouragements tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Mes sincères remerciements et ma profonde gratitude s'adressent à Madame **CHERMAT Sabah**, Professeure à l'université Ferhat Abbas, Sétif 1, pour avoir accepté la présidence du jury de cette thèse.*

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements aux membres du jury, Dr. **MISSAOUI Khaled**, de l'université Ferhat Abbas, Sétif 1, Pr. **MESSAI Chafik Redha**, de l'université de Bordj Bou Arreridj, Dr. **BENGHARBI Zineb**, de l'université de Mostaganem et Dr. **BENMERZOUG Abdelmoumen**, de l'école normale*

supérieure de Ouargla, pour avoir accepté d'examiner cette thèse et pour le regard scientifique qu'ils y apportent.

J'adresse mes remerciements au Dr. **BENSOUICI Chawki** pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire de biochimie au Centre de Recherche en Biotechnologie (CRBt) à Constantine, où j'ai pu réaliser une partie importante de mon travail, notamment les tests biologiques, *in vitro*. Je remercie également les docteurs du laboratoire de microbiologie du même centre pour leurs aides précieuses.

Mes remerciements s'adressent également à toute l'équipe du laboratoire d'anatomie pathologique au Centre Hospitalo-Universitaire de Sétif, et tout particulièrement à la Docteure **KHELFI Asma** pour son aide dans la réalisation et l'interprétation des coupes histologiques.

Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Madame **DAHAMNA Salîha**, Professeure à l'université Ferhat Abbas, Sétif 1, qui m'a chaleureusement accueillie au sein de son laboratoire de recherche.

Ma sincère gratitude et mes vifs remerciements à mon amie, Dr. **NAÏLI Oumâima**, de l'université de Khenchela, avec qui j'ai eu la chance de pouvoir échanger pour faire progresser cette thèse.

Je tiens à remercier tous les chercheurs du laboratoire de microbiologie appliquée, université Ferhat Abbas, Sétif 1.

Mes remerciements s'adressent également à toutes mes amies pour leurs douaaas, leurs conseils et leur amitié.

Dédicaces

*Je dédie cette thèse à mes PARENTS,
à mes frères et sœurs, à ma tante,
ainsi qu'à mes neveux Haroun, Abd Elrahman et Taïa, et
à ma nièce Lyne.*

Naila

ملخص

يهدف هذا البحث إلى تثمين قشور *Punica granatum* و أوراق *Olea europaea* من خلال قياس تراكيز المركبات الفينولية وتقييم الأنشطة البيولوجية للمستخلصات الخام (P و O) و أجزائها : إيثر ثنائي إيثيل (DP و DO)، و أسيتات الإيثيل (AP و AO)، و البوتانولية (BP و BO). أظهرت نتائج التحليل الفيتوكيميائي الكمي تركيزاً مرتفعاً في الفينولات المتعددة والفلافونويد والفلافونول و الدباغ ، حيث كانت مستخلصات الرمان أكثر غنا من مستخلصات الزيتون. تم الكشف مخبرياً عن النشاط المضاد للأكسدة من خلال خمسة اختبارات ، حيث أظهرت أجزاء *P. granatum* قدرة مضادة للأكسدة أعلى من المعايير المستخدمة. كان المستخلص (DP) هو الأكثر فعالية في اختباري DPPH والفينانثرولين (3.36 ± 0.11 و 0.10 ± 1.04 ميكروغرام/مل، على التوالي)، بينما كان المستخلص (AP) الأكثر فعالية في اختباري ABTS و CUPRAC واختبار القدرة الاختزالية (0.04 ± 1.26 و 0.20 ± 2.59 و 0.09 ± 3.41 ميكروغرام/مل، على التوالي). أما بالنسبة إلى *O. europaea*، أظهر المستخلص (DO) أقوى نشاط في اختبارات DPPH و ABTS و CUPRAC (0.44 ± 9.31 و 0.39 ± 6.89 و 0.62 ± 8.97 ميكروغرام/مل، على التوالي) وكان المستخلص (AO) أكثر فعالية في اختباري الفينانثرولين و القدرة الاختزالية (1.07 ± 9.29 و 1.88 ± 16.22 ميكروغرام/مل، على التوالي). كشفت نتائج النشاط المضاد للزهايمر أن أجزاء القشور ذات نشاط جيد ضد الكولينستراز، بينما كان المستخلص (DO) هو الوحيد الذي أظهر نشاطاً مضاداً للبوتيريل كولينستراز (7.80 ± 85.92 ميكروغرام/مل). تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا ضد نوعين من البكتيريا السالبة لصبغة جرام ونوعين من البكتيريا الموجبة لصبغة جرام. من بين البكتيريا السالبة لصبغة جرام، تبين أن *P. aeruginosa* حساسة فقط باتجاه المستخلص (BP)، في حين أظهرت جميع المستخلصات نشاطاً كبيراً ضد البكتيريا الموجبة لصبغة جرام. أظهرت نتائج تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى للنباتين أن أفضل تركيز مثبط كان تجاه *B. cereus* بواسطة المستخلصات (AP و BO) (0.39 و 12.50 ملغ/مل، على التوالي)، بينما أفضل تأثير قاتل للبكتيريا كان بواسطة المستخلص (DP) ضد *S. aureus* (1.56 ملغ/مل) وبواسطة المستخلص (DO) ضد *B. cereus* و *S. aureus* (50 ملغ/مل). أيضاً تم تقييم الفعالية المضادة للكوكسيديا للمستخلص الخام لكل نبات (بتركيز 400 و 800 ملغ/كغ من العلف) وكذلك لمسحوقيهما (بتركيز 4 غ/كغ من العلف) على فراخ الدجاج اللحم من سلالة كوب 500 من اليوم 14 حتى اليوم 35 من العمر. أظهرت النتائج فعالية واحدة ضد الكوكسيديا مع انخفاض ملحوظ في عدد البيوض المتكيسة لـ *E. tenella* لكل غرام من الفضلات في المجموعات المعالجة. علاوة على ذلك، ساهم إدراج المستخلص الهيدرو-إيثانولي لقشور *P. granatum* و أوراق *O. europaea* في علف الدواجن بتركيزات 800 و 400 ملغ/كغ، على التوالي، في تحسين الأداء الحيواني للدجاج. النتائج أظهرت أن المستخلصات المدروسة تمتلك خصائص قوية كمضادة للأكسدة و مضادة لإنزيمات الكولينستراز و مضادة للبكتيريا و مضادة للكوكسيديا، بحيث يعود ذلك إلى نوعية وكمية مكوناتها الفينولية المتعددة. تمثل هذه النباتات مصدراً محتملاً لمواد قيمة يمكنها أن تحل محل المركبات الكيميائية المستخدمة في مجالات الصيدلة والتغذية.

الكلمات المفتاحية : *Punica granatum* L.، *Olea europaea* L.، المركبات الفينولية، الأنشطة البيولوجية، الدجاج اللحم، تأثير مضاد للكوكسيديا.

Résumé

L'objectif de cette recherche est de valoriser les pelures de *Punica granatum* L. et les feuilles d'*Olea europaea* L., en mesurant les teneurs des composés phénoliques et en évaluant les activités biologiques des extraits bruts (P et O) et leurs fractions : d'éther diéthylique (DP et DO), d'acétate d'éthyle (AP et AO) et butanoliques (BP et BO). Les résultats de l'analyse phytochimique quantitative ont révélé des concentrations élevées en polyphénols, en flavonoïdes, en flavonols et en tanins, les extraits de *P. granatum* étant plus riches que ceux d'*O. europaea*. La mise en évidence du potentiel antioxydant a été réalisée par cinq essais *in vitro*. Les fractions de *P. granatum* ont montré un pouvoir antioxydant supérieur à celui des standards testés où (DP) était la fraction la plus puissante dans le test du DPPH et de la phénanthroline (3.36 ± 0.11 et 1.04 ± 0.10 $\mu\text{g/mL}$, respectivement), tandis que (AP) était la fraction la plus puissante dans le test de l'ABTS, du CUPRAC et du pouvoir réducteur (1.26 ± 0.04 , 2.59 ± 0.20 et 3.41 ± 0.09 $\mu\text{g/mL}$, respectivement). Quant à *O. europaea*, la plus forte activité a été exercée par (DO) dans le test du DPPH, de l'ABTS et du CUPRAC (9.31 ± 0.44 , 6.89 ± 0.39 , 8.97 ± 0.62 $\mu\text{g/mL}$, respectivement) et par (AO) dans le test de la phénanthroline et du pouvoir réducteur (9.29 ± 1.07 et 16.22 ± 1.88 $\mu\text{g/mL}$, respectivement). Les résultats de l'activité anti-Alzheimer ont révélé que les fractions des pelures ont présenté une bonne activité anticholinestérasique, tandis que, seul l'extrait (DO) a montré une activité anti-butyrylcholinestérase (85.92 ± 7.80 $\mu\text{g/mL}$). L'activité antibactérienne a été évaluée vis-à-vis de deux bactéries Gram négatives et deux bactéries Gram positives. Parmi les bactéries Gram négatives, *P. aeruginosa* s'est montrée sensible uniquement envers (BP), tandis que, tous les extraits ont présenté une activité importante contre les bactéries Gram positives. Les résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice et de la concentration minimale bactéricide des deux plantes ont montré que la meilleure concentration inhibitrice a été observée vis-à-vis de *B. cereus* par les extraits (AP) et (BO) (0.39 et 12.50 mg/mL , respectivement), alors que le meilleur effet bactéricide a été exercé par (DP) contre *S. aureus* (1.56 mg/mL) et par (DO) contre *B. cereus* et *S. aureus* (50 mg/mL). L'évaluation du potentiel anticoccidien de l'extrait brut de chaque plante (à 400 et 800 mg/kg d'aliment) ainsi de leurs poudres (à 4 g/kg d'aliment) a été réalisée sur des poussins de chair de la souche Cobb 500, du 14^e jour jusqu'au 35^e jour d'âge. Les résultats ont montré une activité anticoccidienne prometteuse avec une réduction significative du nombre d'oocystes d'*E. tenella* par gramme de fèces dans les groupes traités. En outre, l'incorporation de l'extrait hydro-éthanolique de pelures de *P. granatum* et de feuilles d'*O. europaea* dans l'alimentation des volailles, aux concentrations 800 et 400 mg/kg , respectivement, a permis d'améliorer les performances zootechniques des poulets. Les résultats ont montré que les extraits étudiés possèdent des propriétés antioxydantes, anticholinestérasiques, antibactériennes et anticoccidiennes puissantes, attribuables à la qualité et à la quantité de leurs composants phytochimiques, en particulier leurs composés polyphénoliques. Ces plantes représentent une source potentielle de substances de grande valeur susceptibles de remplacer les composés chimiques utilisés dans les domaines de la pharmacologie et de l'alimentation.

Mots clés : *Punica granatum* L., *Olea europaea* L., composés phénoliques, activités biologiques, poulet de chair, effet anticoccidien.

Abstract

The objective of this research is to valorize the *Punica granatum* L. peels and *Olea europaea* L. leaves by measuring the phenolic compound concentrations and evaluating the biological activities of the crude extracts (P and O) and their fractions : diethyl ether (DP and DO), ethyl acetate (AP and AO), and butanolic (BP and BO). The results of the quantitative phytochemical analysis revealed a high concentrations of polyphenols, flavonoids, flavonols, and tannins, with extracts from *P. granatum* being richer than those from *O. europaea*. The antioxidant potential was assessed using five *in vitro* tests. The *P. granatum* fractions demonstrated greater antioxidant power than the standards used. The (DP) was the most potent in the DPPH and phenanthroline assays (3.36 ± 0.11 and 1.04 ± 0.10 $\mu\text{g/mL}$, respectively), whereas (AP) showed the highest activity in the ABTS, CUPRAC, and reducing power assays (1.26 ± 0.04 , 2.59 ± 0.20 and 3.41 ± 0.09 $\mu\text{g/mL}$, respectively). For *O. europaea*, the strongest activity was exerted by (DO) in the DPPH, ABTS, and CUPRAC assays (9.31 ± 0.44 , 6.89 ± 0.39 , 8.97 ± 0.62 $\mu\text{g/mL}$, respectively) and by (AO) in the phenanthroline and reducing power assays (9.29 ± 1.07 and 16.22 ± 1.88 $\mu\text{g/mL}$, respectively). The results of the anti-Alzheimer activity revealed that the peel fractions showed good anti-cholinesterase activity, while only the extract (DO) exhibited anti-butyrylcholinesterase activity (85.92 ± 7.80 $\mu\text{g/mL}$). The antibacterial activity was evaluated against two Gram-negative and two Gram-positive bacteria. Among the Gram-negative bacteria, *P. aeruginosa* was shown to be sensitive only to (BP), while all extracts showed significant activity against Gram-positive bacteria. Moreover, the determination of the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of the two plants showed that the best inhibitory concentration was observed against *B. cereus* with extracts (AP) and (BO) (0.39 and 12.50 mg/mL, respectively). The strongest bactericidal effect was exerted by (DP) against *S. aureus* (1.56 mg/mL) and by (DO) against both *B. cereus* and *S. aureus* (50 mg/mL). The anticoccidial potential of the crude extract from each plant (at 400 and 800 mg/kg of feed) and their powders (at 4 g/kg of feed) was conducted on Cobb 500 broiler chicks from day 14 to day 35 of age. The results demonstrated promising anticoccidial activity, with a significant reduction in the number of *E. tenella* oocysts per gram of feces in the treated groups. In addition, the incorporation of the hydro-ethanolic extract of *P. granatum* peels and *O. europaea* leaves into the poultry diet at concentrations of 800 and 400 mg/kg, respectively, helped to improve the broilers' zootechnical performances. The results showed that the studied extracts possess strong antioxidant, anticholinesterase, antibacterial, and anticoccidial properties, attributable to the quality and quantity of their phytochemical components, particularly their polyphenolic compounds. These plants represent a potential source of valuable substances that can replace chemical compounds used in the fields of pharmacology and nutrition.

Keywords: *Punica granatum* L., *Olea europaea* L., phenolic compounds, biological activities, broiler chicken, anticoccidial effect.

Liste des abréviations

ABTS	2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) ;
AChE	acétylcholinestérase ;
ATCC	american type culture collection ;
BChE	butyrylcholinestérase ;
BMH	bouillon Mueller-Hinton ;
C_{A0.5}	concentration indiquant une absorbance de 0.5 ;
CI_{50%}	concentration inhibant 50 % d'une molécule ;
CMB	concentration minimale bactéricide ;
CMI	concentration minimale inhibitrice ;
Cu¹⁺	ion cuivre I ;
Cu²⁺	ion cuivre II ;
CUPRAC	cupric reducing antioxydant capacity ;
CX	céfoxitine ;
CZ	céfazoline ;
DPPH	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl ;
EAG	équivalent d'acide gallique ;
EAT	équivalent d'acide tannique ;
EQ	équivalent de quercétine ;
EtOH	éthanol ;
Fe²⁺	fer ferreux ;
Fe³⁺	fer ferrique ;
FeCl₃	chlorure de fer(III) ;
GP	gain de poids ;
H&E	hématoxyline-éosine
H₂O	eau ;
I %	pourcentage d'inhibition ;
IC	indice de consommation ;
J	jour ;
J.P.I.	jour post infection ;

K₂Cr₂O₇	dichromate de potassium ;
NaCl	chlorure de sodium ;
NH₄Ac	acétate d'ammonium ;
OPG	oocystes par gramme ;
SD	erreur standard ;
SEM	erreur standard de la moyenne ;
v	volume.

Liste des figures

Figure 1. Les oocystes d' <i>Eimeria</i>	5
Figure 2. Cycle de vie d' <i>Eimeria</i> sp. parasitant le tractus intestinal chez le poulet.....	6
Figure 3. La segmentation de l'intestin du poulet	9
Figure 4. La répartition des coccidies au niveau du tube digestif du poulet	10
Figure 5. Lésions macroscopiques de quelques espèces d' <i>Eimeria</i>	11
Figure 6. Quelques exemples des flavonoïdes.....	21
Figure 7. Exemples de tanins hydrolysables (vescalagine et pédonculagine) et de tanins condensés (procyanidine et prodelphinidine)	22
Figure 8. Activités neuroprotectrices des acides phénoliques.....	28
Figure 9. La partie aérienne du grenadier.....	31
Figure 10. La partie aérienne de l'olivier.....	35
Figure 11. Préparation des pelures de <i>Punica granatum</i> L.	39
Figure 12. Préparation des feuilles d' <i>Olea europaea</i> L.....	39
Figure 13. Localisation géographique de zone de récolte dans la wilaya de Constantine, Algérie.....	40
Figure 14. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	42
Figure 15. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour la quantification des flavonoïdes...	43
Figure 16. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour la quantification des flavonols	43
Figure 17. Courbe d'étalonnage de l'acide tannique	44
Figure 18. Réduction du radical DPPH [•]	45
Figure 19. Réduction du radical ABTS ^{•+}	46
Figure 20. Réduction du complexe Cu(II)-néocuproïne	47
Figure 21. Pourcentages d'inhibition du radical DPPH [•] par les extraits de pelures de <i>Punica granatum</i> (A) et de feuilles d' <i>Olea europaea</i> (B).....	63
Figure 22. Activité antiradicalaire des extraits de pelures de <i>Punica granatum</i> (A) et de feuilles d' <i>Olea europaea</i> (B) vis-à-vis du radical DPPH [•]	64
Figure 23. Pourcentages d'inhibition du radical ABTS ^{•+} par les extraits de pelures de <i>Punica granatum</i> (A) et de feuilles d' <i>Olea europaea</i> (B).....	65
Figure 24. Activité antiradicalaire des extraits de pelures de <i>Punica granatum</i> (A) et de feuilles d' <i>Olea europaea</i> (B) vis-à-vis du radical ABTS ^{•+}	66
Figure 25. Variation des absorbances en fonction des concentrations des extraits de pelures de <i>Punica granatum</i> (A) et de feuilles d' <i>Olea europaea</i> (B) dans le test du CUPRAC.....	67
Figure 26. Les C _{A0.5} des extraits de pelures de <i>Punica granatum</i> (A) et de feuilles d' <i>Olea europaea</i> (B) dans le test CUPRAC	68
Figure 27. Variation des absorbances en fonction des concentrations des extraits de pelures de <i>Punica granatum</i> (A) et de feuilles d' <i>Olea europaea</i> (B) dans le test de la phenanthroline	69
Figure 28. Les C _{A0.5} des extraits de pelures de <i>Punica granatum</i> (A) et de feuilles d' <i>Olea europaea</i> (B) dans le test de la phenanthroline	70

Figure 29. Variation des absorbances en fonction des concentrations des extraits de pelures de <i>Punica granatum</i> (A) et de feuilles d' <i>Olea europaea</i> (B) dans le test du pouvoir réducteur.....	71
Figure 30. Les $C_{A0.5}$ du pouvoir réducteur des extraits de pelures de <i>Punica granatum</i> (A) et de feuilles d' <i>Olea europaea</i> (B)	72
Figure 31. Cæca infectés	78
Figure 32. Pourcentages des espèces d' <i>Eimeria</i> présentes dans l'échantillon étudié	79
Figure 33. Signes cliniques de la coccidiose cæcale durant l'expérience	80
Figure 34. Croissance pondérale du 1 ^{er} au 35 ^e jour d'âge des poussins des groupes traités avec <i>Punica granatum</i> (A) et des groupes traités avec <i>Olea europaea</i> (B).....	82
Figure 35. Consommation hebdomadaire des groupes traités avec <i>P. granatum</i> (A) et des groupes traités avec <i>O. europaea</i> (B) pendant la période de l'infestation.....	83
Figure 36. Gain de poids durant la période de l'infestation, (A) groupes traités avec <i>P. granatum</i> et (B) groupes traités avec <i>O. europaea</i>	84
Figure 37. Indice de consommation chez les poussins infectés (A) traités avec <i>P. granatum</i> et (B) traités avec <i>O. europaea</i>	86
Figure 38. Excrétion d'oocystes chez les poussins infectés (A) traités avec <i>P. granatum</i> et (B) traités avec <i>O. europaea</i>	87
Figure 39. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe non infecté non traité (C).	89
Figure 40. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté non traité (I).	89
Figure 41. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec le diclazuril (D).....	90
Figure 42. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70 % de l'écorce de <i>P. granatum</i> /Kg d'aliment (P1).....	90
Figure 43. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70 % de l'écorce de <i>P. granatum</i> /Kg d'aliment (P2).....	91
Figure 44. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 4g de la poudre de l'écorce de <i>P. granatum</i> /Kg d'aliment (P3).....	91
Figure 45. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70 % des feuilles d' <i>O. europaea</i> /Kg d'aliment (O1).....	92
Figure 46. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70 % des feuilles d' <i>O. europaea</i> /Kg d'aliment (O2).	92
Figure 47. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 4 g de la poudre des feuilles d' <i>O. europaea</i> /Kg d'aliment (O3).	93

Liste des tableaux

Tableau 1. Site du parasitisme d' <i>Eimeria</i> sp. au niveau de l'intestin des poulets	7
Tableau 2. Quelques lésions caractéristiques provoquées par <i>Eimeria</i> sp. chez le poulet .	10
Tableau 3. Différentes souches bactériennes testées	49
Tableau 4. Taille des oocystes d' <i>Eimeria</i> sp.	55
Tableau 5. Rendement des extraits de pelures de <i>P. granatum</i> et de feuilles d' <i>O. europaea</i>	60
Tableau 6. Teneur en polyphénols, flavonoïdes, flavonols et tanins totaux des extraits de pelures de <i>Punica granatum</i>	61
Tableau 7. Teneur en polyphénols, flavonoïdes, flavonols et tanins totaux des extraits de feuilles d' <i>Olea europaea</i>	62
Tableau 8. Activité anticholinestérase <i>in vitro</i> des extraits des pelures de <i>Punica granatum</i>	73
Tableau 9. Activité anticholinestérase <i>in vitro</i> des extraits des feuilles d' <i>Olea europaea</i> ..	73
Tableau 10. Activité antibactérienne des extraits de pelures de <i>Punica granatum</i>	75
Tableau 11. Activité antibactérienne des extraits de feuilles d' <i>Olea europaea</i>	76
Tableau 12. Les valeurs de la CMI et de la CMB des extraits de pelures de <i>Punica granatum</i> et de feuilles d' <i>Olea europaea</i>	77
Tableau 13. Pourcentage de mortalité durant la période post infection.....	81
Tableau 14. Scores lésionnels chez les poussins infectés traités avec <i>P. granatum</i>	88
Tableau 15. Scores lésionnels chez les poussins infectés traités avec <i>O. europaea</i>	88

Table des matières

Remerciements	i
Dédicaces.....	iv
ملخص.....	v
Résumé	vi
Abstract	vii
Liste des abréviations.....	viii
Liste des figures	x
Liste des tableaux.....	xii
Introduction	1

SYNTHÉSE BIBLIOGRAPHIQUE

1. La coccidiose aviaire.....	4
1. 1. <i>Eimeria</i> chez le poulet	5
1. 2. Classification	8
1. 3. Les signes cliniques et le diagnostic de la maladie	8
1. 4. Contrôle et traitement de la coccidiose aviaire	12
1. 4. 1. Gestion de l'élevage.....	12
1. 4. 2. Le traitement chimique	13
1. 4. 3. La vaccination	14
1. 4. 4. L'usage des plantes contre la coccidiose	16
1. 4. 5. L'usage des probiotiques contre la coccidiose	17
2. Les polyphénols	18
2. 1. Les différents groupes phénoliques	19
2. 1. 1. Les acides phénoliques	19
2. 1. 2. Les flavonoïdes	20
2. 1. 3. Les tanins	21
2. 1. 4. Les lignanes	23
2. 1. 5. Les lignines	23
2. 1. 6. Les coumarines	24
2. 1. 7. Les stilbènes.....	24
2. 2. Quelques activités biologiques des polyphénols	25
2. 2. 1. Les polyphénols comme agents antioxydatifs	25
2. 2. 2. Les polyphénols comme agents neuroprotecteurs.....	26

2. 2. 3. Les polyphénols comme agents antimicrobiens	28
3. Généralités sur <i>Punica granatum</i> L.	29
3. 1. Description de la plante	29
3. 2. Noms vernaculaires	31
3. 3. Classification	31
3. 4. Phytochimie de l'écorce du fruit	32
3. 5. L'utilité et l'efficacité de l'écorce du fruit	32
4. Généralités sur <i>Olea europaea</i> L.	34
4. 1. Description de la plante	34
4. 2. Noms vernaculaires	36
4. 3. Classification	36
4. 4. Phytochimie des feuilles	36
4. 5. L'utilité et l'efficacité des feuilles	37

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Matériel végétal	39
2. Extraction des composés bioactifs	40
2. 1. Préparation des extraits éthanoliques 70 %	40
2. 2. Préparation des fractions à partir de l'extrait hydro-éthanolique	40
2. 3. Rendement de l'extraction	41
3. Dosage spectrophotométrique des composés phénoliques	41
3. 1. Dosage des polyphénols totaux	41
3. 2. Dosage des flavonoïdes	42
3. 3. Dosage des flavonols	43
3. 4. Dosage des tanins totaux	44
4. Evaluation des activités biologiques de <i>Punica granatum</i> et d' <i>Olea europaea</i>	44
4. 1. Détermination des activités antioxydantes <i>in vitro</i>	44
4. 1. 1. Test de piégeage du radical DPPH [•]	44
4. 1. 2. Test de piégeage du radical ABTS ^{•+}	46
4. 1. 3. Test de capacité de réduction du cuivre (cupric reducing antioxydant capacity (CUPRAC))	47
4. 1. 4. Test de la phénanthroline	47
4. 1. 5. Test du pouvoir réducteur	48
4. 2. Activité anti-Alzheimer <i>in vitro</i>	48
4. 3. Évaluation de l'activité antibactérienne <i>in vitro</i>	49

4. 3. 1. Souches bactériennes.....	49
4. 3. 2. Méthode de diffusion sur gélose	50
4. 3. 3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et de la concentration minimale bactéricide	50
4. 4. Evaluation de l'activité anticoccidienne <i>in vivo</i>	51
4. 4. 1. Répartition des groupes	51
4. 4. 2. Préparation des oocystes infectieux	52
4. 4. 3. Propagation des oocystes d' <i>Eimeria</i>	53
4. 4. 4. Identification des espèces <i>Eimeria</i> par morphométrie	54
4. 4. 5. Comptage des oocystes.....	55
4. 4. 6. Inoculation des poussins	56
4. 4. 7. Paramètres pour évaluer l'efficacité antiparasitaire des deux plantes	56
4. 4. 7. 1. Paramètres cliniques	56
4. 4. 7. 2. Paramètres zootechniques	56
4. 4. 7. 2. 1. Croissance pondérale	56
4. 4. 7. 2. 2. Consommation alimentaire	57
4. 4. 7. 2. 3. Gain pondéral	57
4. 4. 7. 2. 4. Indice de consommation	57
4. 4. 7. 3. Paramètres parasitologiques	57
4. 4. 7. 3. 1. Comptage du nombre des oocystes par gramme de fèces.....	57
4. 4. 7. 3. 2. Scores lésionnels	58
4. 4. 8. Etude histopathologique des cæca	59
5. Etude statistique	59

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats	60
1. 1. Rendement d'extraction et dosage des polyphénols, des flavonoïdes, des flavonols et des tanins totaux	60
1. 2. Les Activités antioxydantes <i>in vitro</i>	62
1. 2. 1. Test de piégeage du radical DPPH*	62
1. 2. 2. Test de piégeage du radical ABTS ^{•+}	64
1. 2. 3. Test de capacité de réduction du cuivre (CUPRAC).....	66
1. 2. 4. Test de la phénanthroline.....	68
1. 2. 5. Test du pouvoir réducteur.....	70
1. 3. Activité anti-Alzheimer <i>in vitro</i>	72

1. 4. Activité antibactérienne <i>in vitro</i>	74
1. 4. 1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé	74
1. 4. 2. Méthode de la micro-dilution.....	76
1. 5. Activité anticoccidienne <i>in vivo</i>	77
1. 5. 1. Identification des espèces d' <i>Eimeria</i>	77
1. 5. 2. Paramètres cliniques.....	79
1. 5. 2. 1. Signes cliniques	79
1. 5. 2. 2. Mortalité	80
1. 5. 3. Paramètres zootechniques.....	81
1. 5. 3. 1. Croissance pondérale	81
1. 5. 3. 2. Consommation d'aliment.....	82
1. 5. 3. 3. Le gain de poids.....	83
1. 5. 3. 4. Indice de consommation.....	85
1. 5. 4. Paramètres parasitologiques	86
1. 5. 4. 1. Excrétion d'oocystes.....	86
1. 5. 4. 2. Scores lésionnels.....	87
1. 5. 5. L'étude histopathologique des cæca	88
2. Discussion.....	93
2. 1. Le taux d'extraction	93
2. 2. Teneurs en composés bioactifs.....	95
2. 3. Les activités antioxydantes <i>in vitro</i>	98
2. 4. L'activité anti-Alzheimer <i>in vitro</i>	101
2. 5. L'activité antibactérienne <i>in vitro</i>	103
2. 6. L'activité anticoccidienne <i>in vivo</i>	105
Conclusion et perspectives	113
Références bibliographiques	116
Annexe 01	143
Annexe 02	145

Introduction

Au fil des années, les traitements synthétiques ont progressivement remplacé les traitements naturels malgré leurs effets indésirables souvent significatifs (Nisar *et al.*, 2017), tels que l'augmentation de la résistance aux antibiotiques et les effets néfastes des additifs alimentaires synthétiques (Yassin *et al.*, 2021). Par ailleurs, il n'existe toujours pas de traitement pharmaceutique pour certaines maladies, à l'instar de la maladie d'Alzheimer (Romero-Márquez *et al.*, 2023). En revanche, les remèdes naturels à base de plantes sont généralement jugés moins toxiques et présentent moins d'effets secondaires (Nisar *et al.*, 2017). De ce fait, de plus en plus de consommateurs rejettent l'utilisation de produits chimiques synthétiques, en raison des risques qu'ils posent pour la santé animale et humaine (Valenzuela-Grijalva *et al.*, 2017), et se tournent vers les produits à base de plantes qui répondent à leurs demandes et les considèrent comme des produits naturels, propres et écologiques (Kasapidou *et al.*, 2015).

Les plantes contiennent une variété de substances phytochimiques qui peuvent contribuer à réduire l'apparition de nombreuses maladies en améliorant les fonctions de différents organes, en fonctionnant comme antioxydants et en fournissant les nutriments nécessaires. Par conséquent, les plantes ont constitué la base de systèmes de médecine traditionnelle qui existent depuis des milliers d'années et qui continuent à fournir à l'humanité de nouveaux traitements (Wannes et Marzouk, 2016).

Ces dernières années, les sous-produits de l'industrie agroalimentaire ont suscité beaucoup d'intérêt (Šavikin *et al.*, 2018). Les résidus issus de la transformation des aliments d'origine végétale représentent un défi majeur pour leur élimination, tant sur le plan écologique qu'économique. Ils offrent néanmoins des sources potentielles de composés à forte valeur, notamment des métabolites secondaires bioactifs (Mylonaki *et al.*, 2008).

Outre de nombreuses plantes, *Punica granatum* (Rômane) et *Olea europaea* (Zaytoun) sont deux plantes largement utilisées dans la médecine traditionnelle arabo-musulmane. Elles sont directement extraites des textes religieux et restent encore d'actualité (Bouzabata et Yavuz, 2019).

L'écorce de grenade et les feuilles d'olivier, bien que considérées comme des déchets agricoles, sont une source riche de composés phytochimiques, notamment d'ellagitannins et d'oleuropéine, connus pour leurs activités biologiques puissantes et intéressantes. Ses

propriétés leur confèrent une grande valeur pour les secteurs de la santé et de l'industrie alimentaire (Russo *et al.*, 2018 ; Addab *et al.*, 2020 ; Suárez Montenegro *et al.*, 2021).

L'aviculture est la plus grande industrie du monde, elle représente une part importante de l'économie des pays en développement et joue un rôle essentiel dans l'éradication de la pauvreté (Ahmad *et al.*, 2023). Dans l'industrie alimentaire, les volailles répondent aux besoins mondiaux en viande et en œufs (Fatoba et Adeleke, 2018 ; Ahmad *et al.*, 2023).

Les additifs alimentaires phytogéniques sont des composés d'origine végétale utilisés dans l'alimentation des volailles pour augmenter les performances de croissance et par conséquent la productivité. De nombreuses études ont montré que les additifs d'origine végétale peuvent améliorer la nutrition des volailles en augmentant l'appétit et la consommation d'aliments, en stimulant la sécrétion d'enzymes digestives endogènes, en les protégeant des infections parasitaires, bactériennes et virales, et en activant la réponse immunitaire (Ashour *et al.*, 2020).

La résistance aux médicaments est un problème partout où les poulets sont élevés en milieu intensif et où des médicaments sont utilisés pour traiter les maladies parasitaires, en particulier les médicaments anticoccidiens utilisés pour combattre la coccidiose causée par des protozoaires apicomplexes du genre *Eimeria* (Chapman et Jeffers, 2014).

La coccidiose aviaire est reconnue comme étant la maladie parasitaire la plus problématique et ayant le plus grand impact économique sur les industries avicoles du monde entier, principalement en raison des formes subcliniques de la maladie qui perturbent la conversion alimentaire et le gain de poids (Abebe et Gugsa, 2018). Des efforts ont été déployés pour créer de nouvelles techniques de lutte contre la coccidiose aviaire. Ces efforts comprennent la recherche de nouveaux médicaments anticoccidiens, tels que les produits naturels, qui sont considérés comme efficaces et sécurisés (Masood *et al.*, 2013).

La présente étude a pour objectif de valoriser les pelures de *Punica granatum* L. et les feuilles d'*Olea europaea* L. algériennes, afin de trouver des solutions prometteuses aux points soulevés plus haut. Pour cela, nous avons tracé les objectifs suivants :

- ✓ Extraction des composés phytochimiques des pelures de *P. granatum* et des feuilles d'*O. europaea*, et détermination des rendements.
- ✓ Dosage spectrophotométrique des polyphénols totaux, des flavonoïdes, des flavonols et des tanins.

- ✓ Evaluation de l'activité antioxydante des extraits par plusieurs tests *in vitro* : test de piégeage du radical DPPH[•], test de piégeage du radical ABTS^{•+}, test de capacité de réduction du cuivre (CUPRAC), test de la phénanthroline et test du pouvoir réducteur.
- ✓ Evaluation de l'activité anti-Alzheimer, *in vitro*, contre l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase.
- ✓ Évaluation de l'activité antibactérienne, *in vitro*, contre deux souches à Gram négatif et deux souches à Gram positif.
- ✓ Evaluation de l'activité anticoccidienne, *in vivo*, contre la coccidiose cæcale provoquée par *Eimeria tenella*.

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIQUE

1. La coccidiose aviaire

Les protozoaires sont des micro-organismes unicellulaires omniprésents et communs. Ils vivent sous forme de commensaux inoffensifs ou de formes libres, mais parmi eux, certains vivent une vie parasitaire provoquant les maladies parasitaires les plus importantes chez les animaux au niveau mondial (Taylor, 2000).

Certaines infections intestinales aviaires causées par les protozoaires ont été rapportées, notamment chez le poulet, le canard, la dinde, le pigeon et l'oie (Nagwa *et al.*, 2013). En effet, les deux groupes de parasites intestinaux les plus importants chez les volailles sont les mastigophores (flagellés) et les coccidies (McDougald, 1998).

Les parasites posent problème partout où la volaille est élevée et peuvent avoir un impact économique négatif sur les paramètres de production. L'ampleur du problème observé est significativement affectée par la méthode d'élevage. Les parasites tels qu'*Ascaridia galli*, *Eimeria* spp., *Capillaria* spp. et *Heterakis gallinarum*, qui ont des cycles de vie courts et une transmission directe, sont souvent préférés dans les élevages en claustration et à haute densité. L'élevage de volailles en basse-cour ou en plein air offre une chance aux parasites qui ont besoin d'un hôte intermédiaire (Ruff, 1999). Par exemple, le genre *Eimeria* de coccidies est le plus souvent connu pour infecter les poulets et d'autres oiseaux, alors que *Toxoplasma* et *Sarcocystis*, parasites à deux hôtes, causent rarement des problèmes chez les volailles commerciales (McDougald, 1998). De plus, lorsque le parasitisme chez les volailles est un problème de troupeau, l'impact économique de ce qui arrive à un seul oiseau est minime (Ruff, 1999).

La coccidiose, causée par le genre *Eimeria*, est une maladie grave chez les poulets domestiques (*Gallus gallus domesticus*); le secteur avicole subit d'importantes pertes en conséquence (Boughton et Volk, 1938). Les oiseaux s'infectent lorsqu'ils consomment des oocystes sporulés; la coccidiose est donc liée à des pratiques d'hygiène inadéquates et à l'utilisation inefficace d'agents anticoccidiens (Udo et Abba, 2018; Kumari *et al.*, 2024).

Les coccidies se multiplient et détruisent l'épithélium ou les couches sous-épithéliales des cæca et de l'intestin. Dans certains cas de maladie avancée, l'invasion provoque de graves hémorragies internes, et les oiseaux dans ce cas saignent littéralement à mort (Boughton et Volk, 1938). Dans d'autres cas, les parois intestinales endommagées entraînent une mauvaise absorption, un faible taux de conversion alimentaire, une déshydratation, une

diarrhée sanglante et une prise de poids réduite, ce qui occasionne d'importantes pertes (Idris *et al.*, 2017; Khater *et al.*, 2020).

1. 1. *Eimeria* chez le poulet

La majorité des apicomplexes sont des parasites intracellulaires obligatoires, transmis aux nouvelles cellules hôtes par des stades extracellulaires invasifs. Ces stades extracellulaires sont équipés d'un ensemble spécialisé d'éléments cytosquelettiques et d'organites sécrétoires, connus sous le nom de complexe apical, d'où le phylum tire son nom (Shirley *et al.*, 2005).

Le phylum Apicomplexa comporte de nombreux protozoaires d'importance médicale et/ou vétérinaire (Shirley *et al.*, 2005). Les genres *Eimeria*, *Leucocytozoon*, *Haemoproteus*, *Toxoplasma*, *Sarcocystis* et *Cryptosporidium*, appartiennent au phylum Apicomplexa, sont les protozoaires les plus importants qui infectent les volailles (Ruff, 1999).

Le genre *Eimeria* comprend au moins 1200 espèces (Clark *et al.*, 2017), dont certaines peuvent parasiter les vertébrés et d'autres les invertébrés (Austen *et al.*, 2024). Ses oocystes infectieux contiennent quatre sporocystes, chacun comporte deux sporozoïtes (figure 01) (Boughton et Volk, 1938).

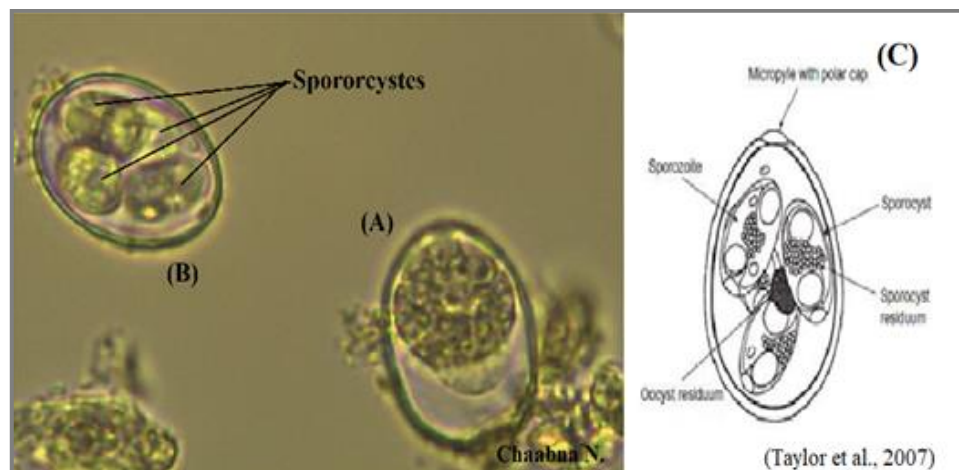


Figure 1. Les oocystes d'*Eimeria*

(A) oocyste non-sporulé (Gx400); (B) oocyste sporulé (Gx400); (C) schéma d'un oocyste sporulé.

Sept espèces d'*Eimeria* bien connues chez les poulets ont été décrites en détail et sont souvent observées dans la volaille domestique, y compris *E. acervulina*, *E. mitis*, *E. maxima*, *E. brunetti*, *E. necatrix*, *E. praecox* et *E. tenella*.

Les deux espèces *E. praecox* et *E. mitis* ne produisent pas de lésions macroscopiques et ne causent pas de mortalité chez les oiseaux infectés, elles sont donc considérées comme légèrement pathogènes, bien que des niveaux de contamination plus élevés puissent potentiellement causer la maladie. Cependant, les cinq autres espèces sont considérées comme très nocives et ont été documentées de façon approfondie en fonction des conditions cliniques qu'elles causent et des lésions macroscopiques qui peuvent être observées dans diverses parties de l'intestin selon leur affinité tissulaire spécifique (Shivaramaiah *et al.*, 2014).

Chez le poulet, les espèces d'*Eimeria* infectent le tractus intestinal et sont transmises entre les individus hôtes par la voie fécale-orale via l'ingestion d'oocystes infectieux pendant l'alimentation (trouvés dans les litières, l'eau et les systèmes d'alimentation) (Dalloul et Lillehoj, 2005). Le cycle de développement d'*Eimeria* (**figure 02**) se compose d'une phase exogène et d'une phase endogène (Shirley *et al.*, 2005), où cette dernière comprend à la fois des stades asexués (mérogonie ou schizogonie) et des stades sexués (gamétogénèse) à l'intérieur des cellules intestinales de l'oiseau (El-Shall *et al.*, 2022).

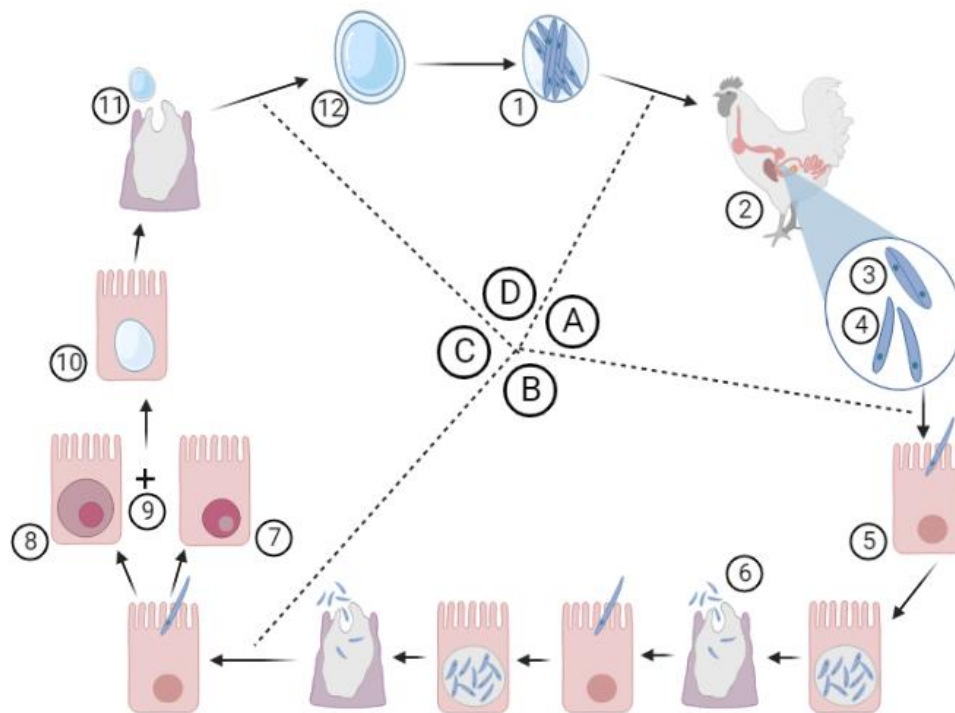


Figure 2. Cycle de vie d'*Eimeria* sp. parasitant le tractus intestinal chez le poulet (Conçue par Chaabna)

(A) Ingestion d'un oocyste infectieux; (B) schizogonie; (C) gamétogonie; (D) phase exogène; (1) oocyste sporulé; (2) hôte; (3) sporocyste; (4) sporozoïte; (5) cellule épithéliale; (6) mérozoïtes; (7) microgamétocyte; (8) macrogamétocyte; (9) fécondation; (10) zygote; (11) zygote mature; (12) oocyste non sporulé.

La phase endogène commence après l'ingestion d'un oocyste sporulé. La paroi des oocystes d'*Eimeria* est mécaniquement déchirée lors du passage à travers le jabot ou le gésier, libérant quatre sporocystes de chaque oocyste sporulé. L'exposition aux enzymes digestives permet aux sporozoïtes de s'échapper des sporocystes lorsqu'ils traversent l'intestin. Les sporozoïtes continuent à parcourir la lumière intestinale jusqu'à ce qu'ils s'attachent aux cellules épithéliales et l'envahissent. Le site exact d'invasion varie pour chaque espèce d'*Eimeria* (**tableau 01**).

Tableau 1. Site du parasitisme d'*Eimeria* sp. au niveau de l'intestin des poulets (Conway et McKenzie, 2007 ; El-Shall *et al.*, 2022)

Espèces	Localisation dans l'intestin
<i>E. acervulina</i>	Duodénum, jéjunum
<i>E. maxima</i>	Duodénum, jéjunum, iléon
<i>E. brunetti</i>	Iléon, rectum
<i>E. tenella</i>	Caeca
<i>E. necatrix</i>	Jéjunum, caeca
<i>E. praecox</i>	Duodénum, jéjunum
<i>E. mitis</i>	Jéjunum, iléon

À l'intérieur de la cellule épithéliale, le sporozoïte s'arrondit en un trophozoïte avant de subir de multiples divisions asexuées, la première cycle de schizogonie, entraînant la formation de plusieurs mérozoïtes de première génération, qui détruisent la cellule hôte pour en sortir. Ces mérozoïtes peuvent ensuite envahir d'autres cellules épithéliales et entrer dans autres cycles de schizogonies, dont le nombre varie selon l'espèce. Après cela, la dernière génération de mérozoïtes se différencie en gamètes au début de la phase sexuelle du cycle de vie, formant des macrogamétocytes, qui se transforment en macrogamètes uninucléés, ou des microgamétocytes, qui produisent un grand nombre de microgamètes mobiles et biflagellés par fission multiple.

Les microgamètes matures quittent la cellule hôte et pénètrent dans les cellules voisines, fertilisant les macrogamètes matures pour former des zygotes (Blake et Tomley, 2014). L'enkystement du zygote conduit à la formation de l'oocyste non-sporulé. Au stade de maturation, l'oocyste est excrété dans les fèces par rupture de la cellule hôte (Khater *et al.*,

2020). Par conséquent, des milliers ou des millions de nouveaux oocystes sont produits pour chaque unité infectante (Mcdougald, 1998).

Les oocystes excrétés, initialement non infectieux, subissent une sporulation (la phase exogène) par une succession de divisions nucléaires méiotique et mitotique (Blake et Tomley, 2014) dans des conditions environnementales favorables. Ce processus nécessite entre 24 et 36 heures pour que les oocystes deviennent infectieux (Khater *et al.*, 2020).

Eimeria tenella est parmi les espèces les plus étudiées et les plus importantes sur le plan économique (Clark *et al.*, 2017). Elle subit deux vagues massives et distinctes de schizogonie, produisant un grand nombre de mérozoïtes de première et de deuxième génération (Lal *et al.*, 2009). Elle provoque l'une des infections les plus répandues et les plus nocives, entraînant une perte de poids corporel et une excrétion sanglante tout en parasitant le cæcum des poulets (Song *et al.*, 2020; Yuan *et al.*, 2024).

1. 2. Classification

Les coccidies affectant le poulet sont classifiées comme suit (Taylor *et al.*, 2007) :

Règne	: Protista
Sous-règne	: Protozoa
Phylum	: Apicomplexa
Ordre	: Eucoccidiorida
Sous-ordre	: Eimeriorina
Famille	: Eimeriidae
Genre	: <i>Eimeria</i>
Espèce	: <i>Eimeria brunetti</i> , <i>Eimeria maxima</i> , <i>Eimeria necatrix</i> , <i>Eimeria praecox</i> , <i>Eimeria tenella</i> , <i>Eimeria mitis</i> et <i>Eimeria acervulina</i> .

1. 3. Les signes cliniques et le diagnostic de la maladie

La coccidiose touche tous les âges chez les volailles, mais l'infection apparaît fréquemment à un âge plus jeune lorsque le système immunitaire est immature. Outre le degré de pathogénicité de chaque espèce de coccidies (Fatoba et Adeleke, 2018), la

quantité d'oocystes sporulés ingérée détermine la gravité de la maladie (Ahmad *et al.*, 2016).

La coccidiose aviaire, causée par des parasites du genre *Eimeria*, provoque l'anorexie, réduit la conversion alimentaire ainsi que le gain de poids chez les poussins infectés. Les oiseaux présentent des signes de dépression, souffrent de diarrhée et manifestent une tendance à se blottir, avec des plumes ébouriffées et des ailes tombantes. La consommation d'eau et de nourriture diminue généralement, et ils peuvent devenir déshydratés et émaciés. Chez les poules pondeuses, une réduction du taux de production d'œufs peut se produire (Abdisa *et al.*, 2019). De plus, les oiseaux infectés sont plus susceptibles à une baisse des performances de reproduction et au développement des infections bactériennes secondaires, notamment par des espèces de *Clostridium* spp. et de *Salmonella* spp. (Zaheer *et al.*, 2022).

La coccidiose cæcale peut également provoquer des excréments sanglants, de l'anémie, et dans certains cas, entraîner la mort du volaille (Abdisa *et al.*, 2019).

La maladie se divise en deux formes, la coccidiose intestinale et la coccidiose cæcale, (**figure 03**) (Balarabe et Obeta, 2015) où chacune des espèces reconnues de coccidies a un site de développement distinct à l'intérieur du tube digestif du poulet (**figure 04**) (Tewari et Maharana, 2011), et des lésions caractéristiques (**tableau 02**) (**figure 05**) (Iqbal *et al.*, 2022).

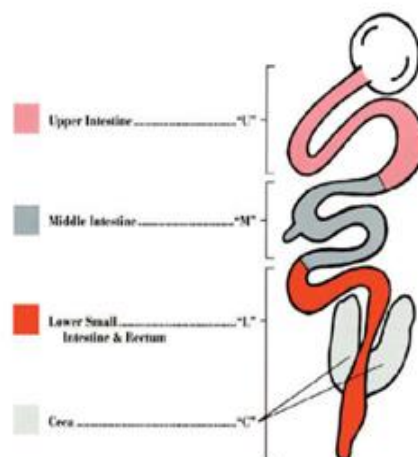


Figure 3. La segmentation de l'intestin du poulet (Conway et McKenzie, 2007)

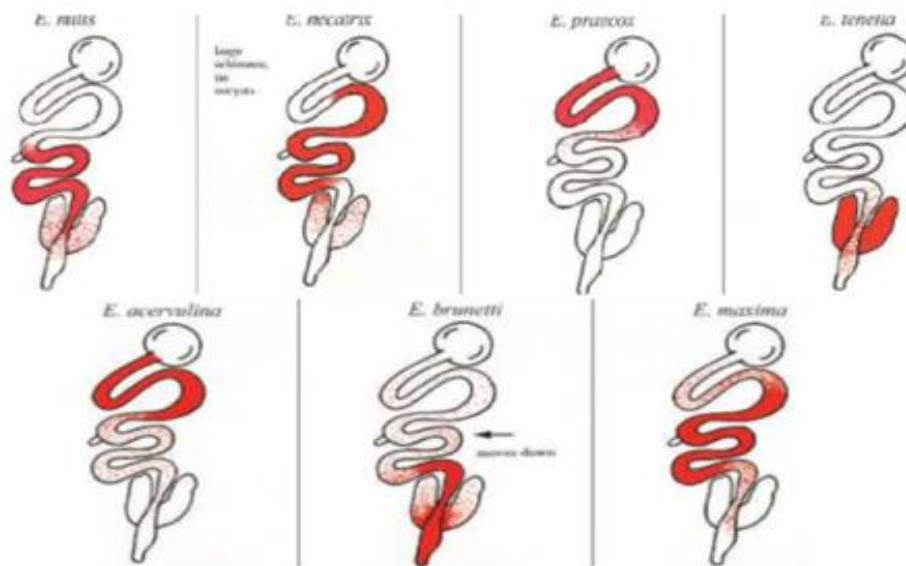


Figure 4. La répartition des coccidies au niveau du tube digestif du poulet (Conway et McKenzie, 2007)

Tableau 2. Quelques lésions caractéristiques provoquées par *Eimeria* sp. chez le poulet (Abebe et Gugsu, 2018)

Espèce	Lésions
<i>E. necatrix</i>	Hémorragie sévère accompagnée d'un écoulement mucoïde, avec des taches blanchâtres et rouges sur la paroi de l'intestin.
<i>E. praecox</i>	Absence de lésion, mais aspect légèrement hémorragique à la surface intestinale du duodénum accompagné de léger écoulement mucoïde.
<i>E. maxima</i>	Intestin distendu avec des taches d'hémorragie et d'écoulement mucoïde.
<i>E. brunetti</i>	Intestin à paroi mince, écoulement mucoïde nécrotique et une distension intestinale.
<i>E. tenella</i>	Hémorragie sévère avec des taches rouges et blanches sur la paroi de l'intestin.
<i>E. acervulina</i>	Des lésions blanchâtres sur la surface intestinale, des stries hémorragiques et une entérite mucoïde.

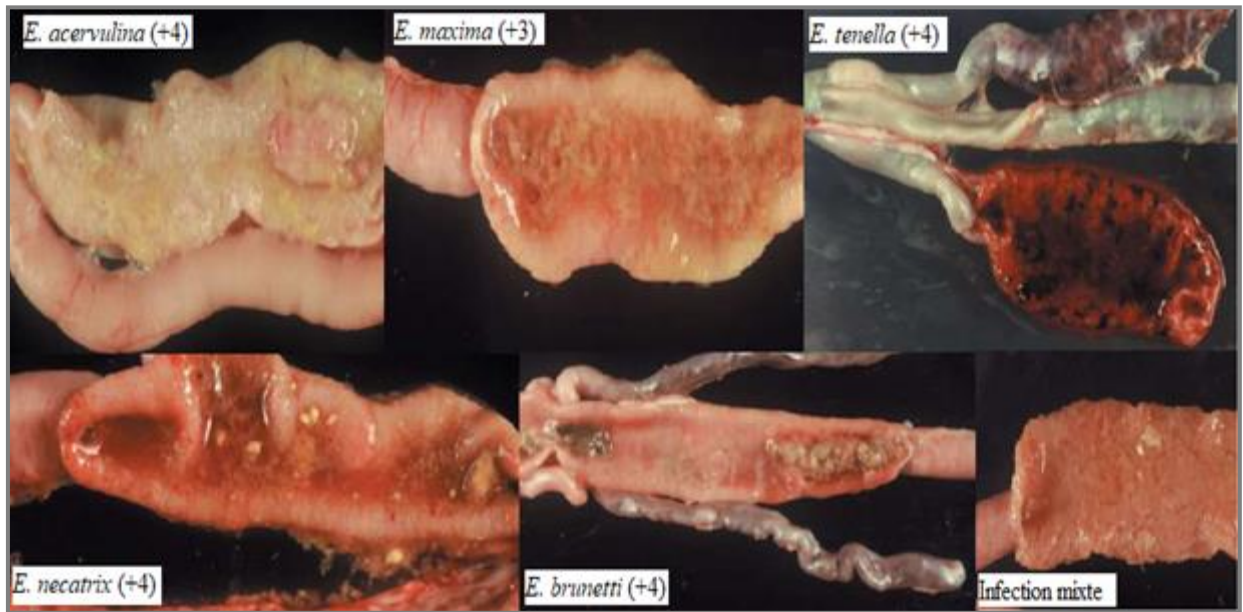


Figure 5. Lésions macroscopiques de quelques espèces d'*Eimeria* (Conway et McKenzie, 2007)

La coccidiose affecte les oiseaux sous des formes à la fois subcliniques et cliniques. La forme subclinique est considérée comme la principale préoccupation, car elle est à l'origine de la majorité des pertes économiques globales, étant donné qu'elle se manifeste principalement par une faible croissance pondérale et une diminution de l'efficacité de la conversion alimentaire (Abebe et Gugsu, 2018).

L'autopsie, complétée par un examen microscopique, des oiseaux pour détecter l'infestation coccidienne est nécessaire pour le diagnostic. Les cellules épithéliales sont gravement endommagées par l'invasion répétée des cellules hôtes, la lyse, l'entérite, la diarrhée sanglante dans certains cas et la nécrose, ce qui conduit à une mauvaise utilisation des aliments et donc à une mortalité élevée, et par conséquent, à une perte de production (Iqbal *et al.*, 2022).

La révélation des oocystes dans les selles des oiseaux infectés nécessite l'utilisation de la technique de flottation avec une solution saturée de sel ou de sucre, en particulier dans le cas d'une infection subclinique. La mesure des oocystes à l'aide d'un micromètre oculaire calibré est nécessaire après l'isolement des oocystes d'*Eimeria*. La forme, la taille et le temps minimum de sporulation des oocystes permettent d'identifier l'espèce provoquant la maladie (Abebe et Gugsu, 2018).

Ces dernières années, le diagnostic moléculaire a permis la détection efficace des espèces de coccidies. La séquence génomique de l'espèce *Eimeria* sp. a été utilisée pour étudier la variabilité génétique au sein de la même espèce et entre les espèces. L'analyse de quantités relativement faibles de matériel génétique parasitaire est possible pour l'identification de l'espèce *Eimeria* en utilisant une variété de tests basés sur la réaction en chaîne par polymérase, permettant l'amplification de fragments spécifiques de leur génome (Iqbal *et al.*, 2022).

1. 4. Contrôle et traitement de la coccidiose aviaire

L'ubiquité et la distribution de la coccidiose sont influencées par l'état de santé des oiseaux, la qualité des aliments, l'entérite bactérienne, l'élevage d'oiseaux de différents âges en commun et la densité d'élevage élevée; de plus, la maladie est corrélée à l'humidité et à la température élevées de l'environnement (Iqbal *et al.*, 2022). En raison de l'énorme capacité de reproduction du parasite *Eimeria*, les poulaillers infectés et les zones qui les entourent présentent fréquemment des niveaux de contamination élevés.

Le parasite est protégé par une paroi oocystale contre la dessiccation et les désinfectants chimiques, assurant sa survie à long terme dans son milieu (Peek et Landman, 2011). L'utilisation des probiotiques, des prébiotiques, des vaccins et des extraits de plantes dans l'alimentation des poulets fait partie des traitements qui se sont révélés prometteurs pour améliorer la santé intestinale tout en réduisant les maladies (Adhikari *et al.*, 2020).

1. 4. 1. Gestion de l'élevage

Il est connu que la transmission orale directe des coccidies est la voie naturelle de l'infestation, les oocystes sporulés peuvent être propagés mécaniquement par les rongeurs, les oiseaux sauvages ou les insectes, ainsi que par des bottes, du matériel, des vêtements ou de la poussière contaminés. Les oocystes sont extrêmement résistants au stress environnemental et aux désinfectants, ils peuvent rester viables dans la litière pendant plusieurs mois. Les températures inférieures à 0 °C et supérieures à 56 °C sont mortelles pour ces agents pathogènes, mais il semble impossible de décontaminer un environnement ou un poulailler précédemment contaminés (Hafez, 2008). Les bonnes pratiques, y compris limiter l'accès des oiseaux aux excréments, gérer la température du poulailler, préserver la qualité de la litière, contrôler les taux d'humidité, assurer la ventilation et le nettoyage

complet entre les troupeaux, jouent un rôle essentiel dans la prévention de la sporulation et de la ré-ingestion des oocystes.

La viabilité de la majorité des systèmes de production dépend de l'utilisation de médicaments anticoccidiens préventifs, car l'élevage seul sans prévention médicale est insuffisant pour le contrôle de cette maladie (Blake et Tomley, 2014).

1. 4. 2. Le traitement chimique

Certes, l'élevage d'un grand nombre d'oiseaux dans les installations de production avicole n'aurait pas été possible sans l'utilisation de médicaments, en particulier ceux qui traitent la coccidiose (Ruff, 1999). La prévention et le contrôle de la coccidiose chez les volailles commerciales, principalement les poulets de chair, sont essentiellement fondés sur l'administration des médicaments anticoccidiens via les aliments, mais dans certains cas, l'anticoccidien peut être administré via l'eau potable (Peek et Landmana, 2011).

Certains médicaments tuent vraiment le parasite, d'autres ne font qu'arrêter sa croissance. En général, les médicaments coccidiostatiques sont moins efficaces que ceux qui sont coccidiocides. Les parasites inhibés peuvent poursuivre leur cycle de vie et libérer des oocystes dans l'environnement si les médicaments coccidiostatiques sont arrêtés, par conséquent, la coccidiose peut réapparaître dans de telles circonstances (McDougald *et al.*, 2020).

Les médicaments anticoccidiens peuvent être divisés en deux catégories :

1. Les ionophores ou antibiotiques polyéthers, produits par la fermentation d'*Actinomadura* spp. ou de *Streptomyces* spp., ne suppriment pas complètement le développement parasitaire, permettant ainsi le développement d'une immunité chez l'hôte après la première exposition. Ces molécules sont efficaces contre les stades sexuels et asexuels de la coccidie, perturbant l'équilibre des gradients ioniques sur les membranes superficielles des sporozoïtes ou des trophozoïtes précoces. Il existe trois groupes d'ionophores :

- a) Ionophores monovalents (narasine, monensin, salinomycine);
- b) Ionophores glycosidiques monovalents (semduramicine, maduramicine);
- c) Ionophore divalent (lasalocide) (Noack *et al.*, 2019).

2. Les composés synthétiques sont créés par synthèse chimique et sont souvent appelés produits chimiques, comme l'amprolium, la nicarbazine, le diclazuril et le toltrazuril. Le

métabolisme des parasites est spécifiquement ciblé par les produits synthétiques (Peek et Landman, 2011). Le mode d'action de ces substances est similaire, et la plupart sont connues pour inhiber le développement des sporozoïtes vers les mérozoïtes. De plus, il suppose que ces produits chimiques n'interfèrent pas avec le développement d'une immunité naturelle contre la coccidiose. Même après le retrait du traitement, les produits chimiques synthétiques sont encore actifs et protègent contre les infections coccidiennes (Shivaramaiah *et al.*, 2014).

L'industrie avicole a introduit divers produits anticoccidiens avec divers mécanismes d'action comme stratégie pour réduire la résistance d'*Eimeria*. Cela peut prendre diverses formes, comme le programme de "navette", dans lequel divers médicaments sont mélangés dans différents régimes. Habituellement, un produit synthétique comme la nicarbazine sera incorporée dans l'aliment de départ, suivie d'un ionophore dans l'aliment de la croissance. Une stratégie différente est le programme de "rotation", dans lequel des médicaments avec différents mécanismes d'action sont utilisés dans les troupeaux successifs. Malgré la possibilité que les programmes de navette et de rotation aient réduit la résistance, la plupart des isolats d'*Eimeria* présentent différents degrés de résistance aux médicaments (Chapman et Jeffers, 2014).

La plupart des médicaments utilisés dans les aliments pour animaux ont une bonne toxicité sélective, ce qui signifie qu'ils sont toxiques pour les parasites mais pas pour les oiseaux. Malheureusement, les effets secondaires et la toxicité des médicaments sur les poulets sont probables là où des erreurs de formulation conduisent à un surdosage. De plus, un médicament peut parfois entraîner des effets indésirables, même au niveau d'utilisation recommandé. Une partie de la toxicité peut également être le résultat de la génétique, de la nutrition, de la gestion, d'autres interactions, ou de la marge de sécurité qui est tout simplement trop étroite (McDougald *et al.*, 2020).

1. 4. 3. La vaccination

La chimioprophylaxie et les additifs alimentaires anticoccidiens ont jusqu'à présent été en mesure de contrôler la coccidiose, mais la situation est devenue plus difficile en raison de l'apparition des souches résistantes aux médicaments couramment utilisés. Une autre stratégie efficace est l'immunisation avec des vaccins (Masood *et al.*, 2013). Une infection coccidienne de faible intensité provoquée par l'exposition au vaccin vise à stimuler une réponse immunitaire protectrice qui est renforcée par la réinfection lorsque les

coccidies circulent dans le poulailler (Clark *et al.*, 2017). Il est important de fournir la vaccination aux poulets à un jeune âge en raison du potentiel pathogène d'*Eimeria*.

Les vaccins vivants atténués, les vaccins virulents, les vaccins recombinants et les vaccins tolérants aux ionophores ont été largement étudiés et commercialisés (Zaheer *et al.*, 2022). Dans le cas des vaccins vivants tolérants aux ionophores, il est permis d'utiliser des ionophores pendant les 3 à 4 premières semaines, lorsque l'immunité n'est pas complètement développée. En conséquence, il y a moins de chance de développer une coccidiose. En effet, une telle utilisation limite l'augmentation de la pression d'infection, qui est provoquée par la croissance d'autres souches coccidiennes tout au long du développement immunitaire (Vermeulen *et al.*, 2001).

L'efficacité protectrice des antigènes d'*Eimeria* et de nouveaux adjuvants vaccinaux contre une provocation coccidienne a été mise en évidence (Zaheer *et al.*, 2022). Les vaccins sous-unitaires, qui sont des vaccins de deuxième génération, sont constitués de nombreuses protéines antigéniques protectrices du parasite *Eimeria*. Ces protéines peuvent être d'origine native ou recombinante, et proviennent de structures telles que les mérozoïtes, les gamétocytes, les corps refractile, les rhoptries et les micronèmes. De plus, les vaccins à ADN, considérés comme des vaccins de troisième génération, ont également démontré leur capacité à atténuer la coccidiose aviaire avec succès (Ahmad *et al.*, 2016).

La stratégie de vaccination sera certainement complétée par une gestion hygiénique et par l'utilisation d'additifs alimentaires particuliers qui améliorent la santé physiologique et immunologique de l'animal (Vermeulen *et al.*, 2001).

L'exigence d'une infection *in vivo* des poulets pour créer des oocystes, car ils ne peuvent pas être produits *in vitro*, impose une restriction à la production de vaccins anticoccidiens vivants de type virulent et atténué. Contrairement aux alternatives comme les médicaments anticoccidiens, le développement de ces vaccins est par conséquent plus coûteux et plus long, en particulier pour les vaccins atténués qui sont moins efficaces que leurs équivalents sauvages. D'autres inconvénients incluent une durée de conservation limitée et la nécessité d'une chaîne du froid sans possibilités de congélation ou de lyophilisation, ainsi que la nécessité d'un contrôle de qualité rigoureux pour chaque lot de vaccins afin d'obtenir une efficacité qui ne peut être vérifiée qu'*in vivo* (Soutter *et al.*, 2020).

1. 4. 4. L'usage des plantes contre la coccidiose

Actuellement, les vaccins vivants et les médicaments constituent les deux principales mesures de contrôle de la coccidiose chez les poulets. Cependant, le coût élevé des vaccins (Lee *et al.*, 2007), la résistance croissante des espèces d'*Eimeria* aux médicaments à cause de leur usage répandu (Chapman et Jeffers, 2014) et la demande de réduction de l'utilisation de médicaments dans la production animale (Soutter *et al.*, 2020) rendent urgent d'adopter d'autres stratégies pour maîtriser la coccidiose chez la volaille (Burt *et al.*, 2013).

L'addition de phytobiotiques aux régimes alimentaires des animaux accélère la croissance, renforce les défenses, favorise l'absorption des nutriments, préserve la santé intestinale et diminue le syndrome diarrhéique.

Les produits végétaux sont facilement disponibles, peu coûteux et ont le moins tendance à développer des résistances. Cependant, il existe des limites importantes, notamment un manque d'études appropriées sur l'efficacité, la toxicité, la dose et le mode d'action des produits phytochimiques (Ahmad *et al.*, 2023).

Les plantes peuvent inhiber le cycle de vie des espèces d'*Eimeria* chez les volailles et supprimer la coccidiose aviaire à travers une intervention directe sur les stades de développement. De plus, elles possèdent des propriétés prébiotiques, alors, elles exercent leurs fonctions essentiellement en augmentant l'efficacité des probiotiques intestinaux et en renforçant la réponse immunitaire de l'hôte. Cela leur permet de supprimer les agents pathogènes intestinaux et, par conséquent, de réduire le taux de mortalité (Muthamilselvan *et al.*, 2016).

De nombreuses études démontrent l'efficacité des plantes en tant que agents anticoccidiens. Dans une étude expérimentale, Bakli (2020) a évalué l'effet anticoccidien des poudres et des extraits méthanoliques de grains de *Trigonella foenum-graecum*, de feuilles de *Pistacia lentiscus* et des bulbes d'*Allium sativum*. Les résultats ont montré une activité anticoccidienne intéressante, réduisant à la fois l'excrétion des oocystes et le taux de mortalité.

Dans une autre étude, l'extrait de feuilles d'*Artemisia herba alba* a montré une efficacité contre la coccidiose cæcale et a amélioré les performances chez le poulet de chair (Chaabna, 2014).

Kaleem et ses collaborateurs (2014) ont administré par voie orale à des poulets de chair des tanins dérivés d'*Emblica officinalis*, ils ont constaté que l'extrait possède des

propriétés immunostimulantes contre les infections mixtes causées par *E. acervulina*, *E. maxima*, *E. necatrix* et *E. tenella*. De plus, ils ont indiqué que les poulets traités avec ces tanins présentaient le score lésionnel, intestinale et cæcale, le plus bas et le gain de poids corporel quotidien le plus élevé. Dans une autre étude, l'extrait hydro-méthanolique de *Beta vulgaris* a été testé contre une infection mixte; ils ont constaté que l'extrait n'a présenté aucun effet néfaste sur les poussins, mais il a une efficacité significative sur les paramètres suivants : l'excrétion oocystale par gramme de matières fécales, le score oocystal, le score lésionnel et le rapport de la conversion alimentaire (Abbas *et al.*, 2017).

Dans l'étude de Qaid *et al.*, (2022), ils ont utilisé les feuilles de *Rumex nervosus* et l'écorce de *Cinnamomum verum* comme suppléments phytogéniques contre *E. tenella* chez des poulets infectés expérimentalement. Ils ont trouvé que *R. nervosus*, à une dose de 5 g/kg d'aliment, et *C. verum*, à une dose de 6 g/kg d'aliment, présentaient un effet anticoccidien modéré en supprimant les oocystes dans la matière fécale des oiseaux et en réduisant les lésions dans les cæca.

Kadhim *et al.* (2018) ont conclu que la supplémentation de graines broyées de *Nigella sativa* à 1 % dans l'alimentation des poulets peut protéger contre l'infection par *E. tenella*.

1. 4. 5. L'usage des probiotiques contre la coccidiose

Il a été démontré que divers suppléments alimentaires et microbiens affectent l'immunité de l'hôte contre les maladies entériques (Lee *et al.*, 2007). Les probiotiques, microorganismes vivants spécifiques, sont utilisés comme une autre stratégie pour combattre la coccidiose, ils améliorent la santé des oiseaux, et par la suite améliorent leur production globale.

Le succès des probiotiques chez les volailles dépend de nombreux facteurs, tels que la spécificité de la souche par rapport à l'hôte, sa stabilité et sa capacité à survivre dans le tractus intestinal, il dépend également à la dose administrée, à l'état nutritionnel et la santé de l'oiseau ainsi que son âge, à la génétique et au niveau de stress physiologique de l'hôte (Khan et Naz, 2013).

les résultats d'une étude précédente a montré que l'usage de probiotiques, de prébiotiques ou la combinaison de ces deux éléments peut accroître la résistance contre la coccidiose cæcale et intestinale chez le poulet de chair (Taherpour *et al.*, 2012).

L'addition des probiotiques dans les aliments peut protéger les oiseaux contre l'infection provoquée par *E. tenella*, ils augmentent les performances des enzymes antioxydantes, du transporteur 1 de peptide et des protéines de jonction serrée, en outre, ils améliorent les paramètres sérologiques (Mohsin *et al.*, 2022).

Ritzi et ses collaborateurs (2014) ont découvert qu'un probiotique multi-souches peut être efficace contre les infections mixtes à *E. tenella*, *E. maxima* et *E. acervulina*, ce qui peut améliorer efficacement les performances des poulets et aider à atténuer les effets négatifs associés à la coccidiose.

Dans l'étude de Erdoğan *et al.* (2019), ils ont testé l'efficacité d'un probiotique composé de *Pediococcus acidilactici* et *Bacillus subtilis* contre la coccidiose cæcale. Ils ont trouvé que ce mixture de probiotique a amélioré la consommation alimentaire, le gain de poids et la conversion alimentaire. De plus, il était aussi efficace sur la longueur des villosités et la profondeur des cryptes, en comparant avec un anticoccidien chimique, la salynomicine.

2. Les polyphénols

Les polyphénols, également appelés les composés phénoliques, constituent l'un des groupes de substances les plus répandus et les plus nombreux du règne végétal (Li *et al.*, 2006; Christou *et al.*, 2024). Ce sont des métabolites secondaires produits par les plantes pour se protéger de divers défis environnementaux, tels que les rayons ultraviolets, et l'attaque par des agents pathogènes, des parasites et des herbivores (Masci *et al.*, 2016). De plus, ils peuvent également être des promoteurs de la croissance des plantes (Lampakis *et al.*, 2021). Ils contribuent aussi à la couleur et aux caractéristiques sensorielles des légumes et des fruits (Vuolo *et al.*, 2019). La répartition de ces composés dans les tissus et les cellules végétales varie considérablement selon le type de composé chimique (Barba *et al.*, 2014).

Dans les plantes, les polyphénols sont dérivés des voies du pentose phosphate, du shikimate et des phénylpropanoïdes (Vuolo *et al.*, 2019). Chimiquement, ce sont des molécules qui possèdent un cycle aromatique benzénique avec un ou plusieurs groupements hydroxyles, et pouvant inclure des radicaux fonctionnels tels que les glycosides, les esters, les esters méthyliques, *etc.* Ils se différencient en fonction du nombre de cycles phénoliques qu'ils comportent et des éléments structuraux qui leur sont liés (Barba *et al.*, 2014).

De nombreux facteurs influencent les concentrations et les ratios des différents polyphénols dans les plantes, notamment les facteurs environnementaux et édaphiques tels que le type de sol, l'exposition au soleil, les précipitations, *etc.*, ainsi que le degré de maturité au moment de la récolte, la transformation et le stockage (Pandey et Rizvi, 2009).

Actuellement, il existe environ 8000 structures phénoliques dans la nature (Machmudah *et al.*, 2017; Gulcin, 2020), et elles sont classées en fonction de leur origine biosynthétique et de leur complexité structurelle, mais aucun système idéal n'est disponible (Machmudah *et al.*, 2017). Les composés phénoliques les plus répandus dans les plantes comprennent les acides phénoliques, les flavonoïdes, les tanins, les coumarines, les stilbènes, les lignanes et les lignines (Chandrasekara, 2019).

2. 1. Les différents groupes phénoliques

2. 1. 1. Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont des composés phénoliques ayant un groupe acide carboxylique, et ils constituent l'une des principales classes de ces composés (Kumar et Goel, 2019). Chez les plantes, la biosynthèse des acides phénoliques s'effectue principalement via la voie shikimate/phénylpropanoïde à partir de deux acides aminés aromatiques : la L-phénylalanine et/ou la L-tyrosine (Al Jitan *et al.*, 2018).

Les acides phénoliques se subdivisent en deux classes : les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques, qui ont les structures C6-C1 et C6-C3, respectivement. Les acides hydroxybenzoïques comprennent l'acide gallique, l'acide p-hydroxybenzoïque, l'acide vanillique, l'acide syringique et l'acide protocatéchuïque. De l'autre côté, les acides hydroxycinnamiques couramment présents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide sinapique et l'acide cinnamique (Chandrasekara, 2019).

Les dérivés de l'acide cinnamique et de l'acide benzoïque se dispersent dans toute la plante (Robbins, 2003). Ils se différencient par le degré d'hydroxylation et de méthylation du cycle aromatique (Vincente *et al.*, 2014).

Seule une petite partie des acides phénoliques existe sous forme d'acides libres. En revanche, la majorité est liée par des liaisons ester, éther ou acétal soit à des composants structurels de la plante tels que la cellulose, les protéines et la lignine; soit à des polyphénols plus complexes tels que les flavonoïdes; soit à des molécules organiques plus petites telles que le glucose, l'acide quinique, l'acide maléique et l'acide tartrique ou à

d'autres produits naturels comme les terpènes. Ces liaisons donnent lieu à une vaste gamme de produits dérivés (Robbins, 2003).

2. 1. 2. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes, une classe ubiquitaire de polyphénols, ont le squelette diphenylpropane (C6-C3-C6) (Rice-Evans *et al.*, 1996). Ils sont essentiellement constitués de deux cycles aromatiques, (A) et (B), reliés par une chaîne à trois carbones (Vuolo *et al.*, 2019), souvent sous la forme d'un cycle hétérocyclique (C) qui contient de l'oxygène (Dias *et al.*, 2021). Les classes de flavonoïdes varient entre elles par la saturation du cycle (C), par le placement du cycle aromatique (B) aux positions C-2 ou C-3 du cycle (C), et par le nombre et les positions d'hydroxylation.

Ce groupe de polyphénols peut être modifié par hydroxylation, méthylation ou O-glycosylation des groupes hydroxyle, ainsi que par C-glycosylation directement sur l'atome de carbone de la structure. De plus, des groupes alkyle peuvent également être liés de manière covalente aux fragments flavonoïdes (Stobiecki et Kachlicki, 2006).

Plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés dans diverses espèces végétales, et leur nombre ne cesse de croître. Ils ont été isolés de presque toutes les parties de la plante, telles que les racines, les tiges, les feuilles, les fruits ou les graines (Gulcin, 2020).

Les sous-groupes des flavonoïdes comprennent : les anthocyanes (par exemple, la cyanidine, la delphinidine et la pélagonidine), les flavanones (par exemple, la naringénine), les dihydroflavonols (par exemple, l'astilbine et la taxifoline), les isoflavones (par exemple, l'adaidzéine et la génistéine), les flavones (par exemple, l'apigénine et la lutéoline), et les flavonols (par exemple, la quercétine et la rutine) (**figure 06**) (Dias *et al.*, 2021).

Les flavonoïdes sont considérés comme un composant indispensable dans une variété d'applications nutraceutiques, pharmaceutiques, médicinales et cosmétiques. Ceci est attribué à leurs propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, anti-cancérigènes et anti-mutagènes, couplées à leur capacité à moduler la fonction enzymatique cellulaire clé (Panche *et al.*, 2016).

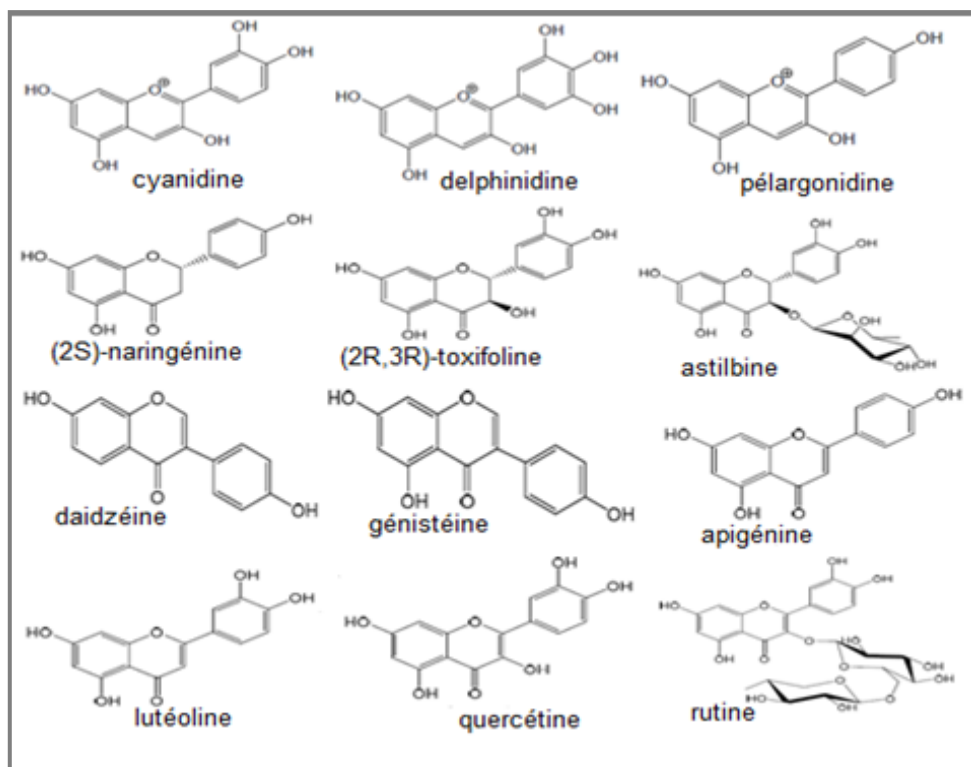


Figure 6. Quelques exemples des flavonoïdes (Dias *et al.*, 2021)

2. 1. 3. Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de poids moléculaire de 500 à 3000 Dalton, solubles dans l'eau, mais ils peuvent former des complexes insolubles avec de la gélatine, des alcaloïdes et des protéines. Ils contiennent un grand nombre de groupes hydroxyles ou d'autres groupes fonctionnels (Vuolo *et al.*, 2019).

Plus de 3000 composés de tanins ont été identifiés (Lee *et al.*, 2010), et ils se divisent en deux types : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (Lee *et al.*, 2010; Qiu *et al.*, 2024); chaque groupe de tannins a des propriétés particulières, que ce soit en terme structurel, moléculaire ou en terme d'efficacité biologique (Qiu *et al.*, 2024).

Les tanins hydrolysables (ellagitannins et gallotannins) (**figure 07**) sont des molécules qui contiennent un glucide, généralement du D-glucose, comme noyau central. Les groupes hydrolysables de ces glucides sont estérifiés avec des groupes phénoliques, tels que l'acide gallique ou l'acide ellagique. Dans les plantes, les tanins hydrolysables se trouvent généralement à des concentrations plus faibles que les tanins condensés. Ils sont subdivisés en cafétanins (acides caféique et quinique) et en taragallotanins (acides gallique et quinique) (Hassanpour *et al.*, 2011).

Les tanins condensés, également appelés flavolans ou proanthocyanidins (**figure 07**), sont structurellement plus complexes que les tanins hydrolysables. Il s'agit principalement de produits polymérisés de flavan-3-ols et de flavan-3,4-diols, ou d'un mélange des deux (Chung *et al.*, 1998).

Les composés phénoliques, en particulier les tanins condensés, sont associés à l'astringence de nombreux fruits comestibles avant leur maturation et sont liés à la qualité sensorielle des aliments frais et transformés d'origine végétale (Barba *et al.*, 2014). Les tanins condensés s'accumulent dans la vacuole, souvent dans les couches épidermiques ou sous-épidermiques des feuilles et des fruits. En revanche, les tanins hydrolysables sont connus pour être concentrés dans la paroi cellulaire. Les tanins peuvent également être présents dans différentes parties végétales, notamment les racines, le bois, l'écorce, les graines et les fruits.

Certaines plantes fabriquent des tanins uniquement dans le tégument, où ils sont incorporés dans un polymère complexe comprenant d'autres flavonoïdes censés protéger la graine contre la dessiccation et d'autres stress abiotiques (Barbehenn et Constabel, 2011).

Les tanins ont des effets sur la santé humaine. Il est déconseillé d'ingérer une grande quantité de tanins, car ils peuvent être impliqués dans des effets anti-nutritionnels, la formation de cancers et d'autres effets indésirables. Cependant, l'apport d'une petite quantité du bon type de tanins peut être bénéfique pour la santé humaine en affectant les enzymes, en modulant le système immunitaire ou en influençant d'autres fonctions (Chung *et al.*, 1998).

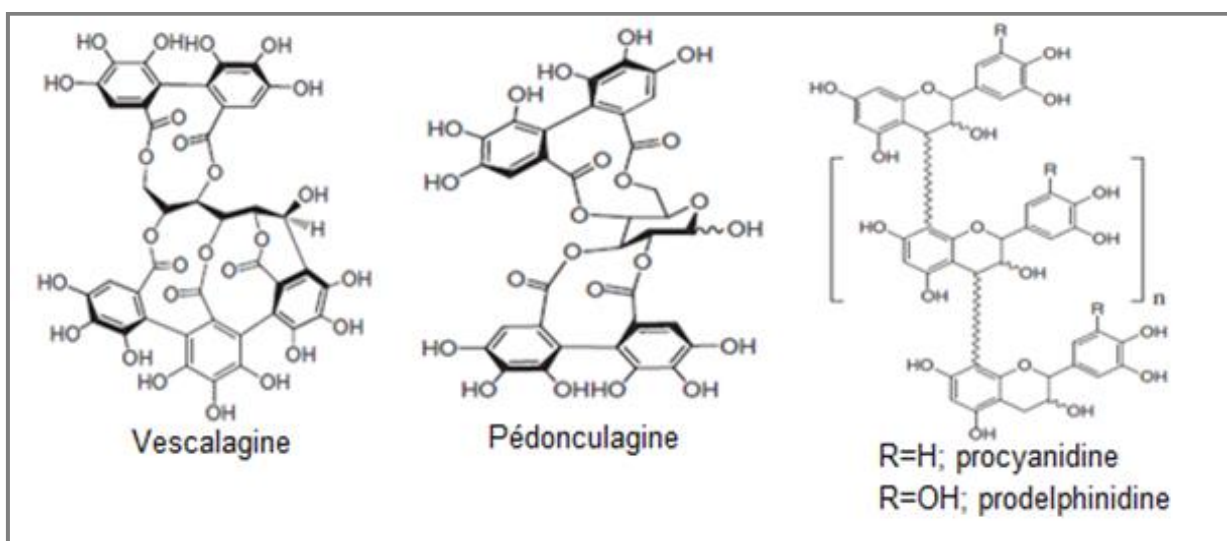


Figure 7. Exemples de tanins hydrolysables (vescalagine et pédonculagine) et de tanins condensés (procyanidine et prodelphinidine) (Barbehenn et Constabel, 2011)

2. 1. 4. Les lignanes

Les lignanes constituent un groupe important parmi les polyphénols. Ils sont caractérisés par l'association de deux unités phénylpropanoïdes ((C6-C3)₂) par une liaison entre les carbones 8-8' dans les chaînes latérales du propane (Willför *et al.*, 2006). Les lignanes qui présentent des liaisons autres que la liaison de type 8-8' sont appelés néolignanes (Macrae et Towers, 1984).

Ce groupe de polyphénols se retrouvent dans plus de 70 familles du règne végétal, et plus de 200 lignanes classiques et 100 néolignanes ont été caractérisés (Cui *et al.*, 2020). La plupart de ces molécules sont présentes dans la nature sous forme libre et peuvent participer à la croissance et au développement des plantes. En plus de leur rôle dans la nature, les lignanes possèdent également des activités antitumorales, anti-inflammatoires, immunosuppressives, antioxydantes et antivirales (Saleem *et al.*, 2005).

2. 1. 5. Les lignines

La lignine est un polymère de sous-unités aromatiques généralement dérivées de la phénylalanine (Whetten et Sederoff, 1995). Ces polymères se déposent dans les parois secondaires des cellules, les rendant rigides et étanches (Vanholme *et al.*, 2010). Ces molécules forment généralement des liaisons éther ou ester avec l'hémicellulose, qui est également associée à la cellulose. Par conséquent, ces polymères naturels constituent un polymère lignocellulosique complexe (Chio *et al.*, 2019). La lignine contient plusieurs groupes fonctionnels au niveau de la molécule, notamment des groupes hydroxyle aliphatique, hydroxyle phénolique et méthoxyle. Ces groupes fonctionnels affectent la réactivité et les propriétés chimiques de la lignine, en particulier, les groupes hydroxyles et la structure aromatique sont les groupes fonctionnels les plus critiques pour déterminer les caractéristiques de cet polymère (Chio *et al.*, 2019).

La lignine joue un rôle important dans la croissance et le développement des plantes. Elle améliore la rigidité de la paroi cellulaire, renforce ses propriétés hydrophobes et favorise le transport des minéraux à travers les faisceaux vasculaires des plantes. De plus, la lignine est une barrière importante qui protège contre les pathogènes et les parasites (Liu *et al.*, 2018).

2. 1. 6. Les coumarines

Les coumarines (1,2-benzopyrones), composés principalement d'un cycle benzène et d'un cycle pyrone, constituent un groupe important de composés phénoliques de faible poids moléculaire (Kostova *et al.*, 2011; Zou *et al.*, 2024). Elles sont des composés naturels largement disponibles dans les plantes sous forme d'hétéroside ou de forme libre. Un total de 800 composés dérivés de la coumarine ont été obtenus à partir d'environ 600 genres de 100 familles (Akkol *et al.*, 2020).

Elles ont des structures variables en raison des différents types de substitutions dans leur structure de base (Kostova *et al.*, 2011) et sont classées en quatre groupes : les coumarines simples, les furanocoumarines, les pyranocoumarines et les coumarines substituées par des pyrones (Akkol *et al.*, 2020).

Les coumarines possèdent un large spectre d'activité biologique. Beaucoup de ces composés se sont avérés actifs en tant qu'agents antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoires, anticoagulants et antitumoraux. Elles sont largement utilisées comme additifs dans les aliments, les parfums, les cosmétiques et les produits pharmaceutiques (Al-Majedy *et al.*, 2017).

2. 1. 7. Les stilbènes

Les stilbènes contiennent deux cycles benzéniques reliés par une molécule d'éthanol ou d'éthylène (C6-C2-C6) (Moreno et Peinado, 2012). Ils sont des constituants importants de plusieurs arbres forestiers (García-Pérez *et al.*, 2017).

Les stilbènes sont des composés de défense produits en réponse à des attaques d'agents pathogènes et à d'autres stress. Structurellement, ils sont divisés en type Z et type E, en fonction de la configuration de leur double liaison centrale (De Filippis *et al.*, 2017), sachant que le type E est la structure la plus courante (Pecyna *et al.*, 2020).

Au fil des années, les composés contenant du stilbène ont toujours attiré l'attention des chimistes et des pharmacologues, principalement en raison de leurs propriétés biologiques importantes, telles que les activités antioxydantes, hypolipidémiques, antivirales, anti-inflammatoires et anticancéreuses (De Filippis *et al.*, 2017).

2. 2. Quelques activités biologiques des polyphénols

2. 2. 1. Les polyphénols comme agents antioxydatifs

Le métabolisme cellulaire normal génère des espèces réactives de l'oxygène, qui sont cruciales dans la stimulation des voies de signalisation dans les cellules en réponse aux changements des conditions intra et extracellulaires (Vladimir-Knežević *et al.*, 2012).

Le stress oxydatif est une perturbation de la signalisation redox résultant d'une production excessive d'espèces réactives. Cela entraîne également un déséquilibre entre les espèces oxydantes et réductrices. Par conséquent, les biomolécules clés, les acides nucléiques, les protéines, les glucides et les lipides, sont altérées, et leurs fonctions sont modulées sous l'action d'espèces réactives oxygénées/azotées (Pisoschi et Pop, 2015).

Un antioxydant est une molécule qui ralentit ou empêche l'oxydation d'une autre molécule, et peut donc être considéré comme un réducteur. Ils peuvent être classés en deux groupes : les antioxydants primaires, ceux qui inhibent activement les réactions d'oxydation (Craft *et al.*, 2012), et les antioxydants secondaires, ceux qui inhibent l'oxydation indirectement en induisant des enzymes protectrices endogènes et en exerçant des effets régulateurs positifs sur les voies de signalisation (Kumar et Goel, 2019).

Il est généralement connu que les régimes alimentaires riches en polyphénols peuvent augmenter la capacité antioxydante du plasma (Pandey et Rizvi, 2009). Tsao *et al.* (2010) ont démontré que les polyphénols sont des antioxydants puissants capables de neutraliser les radicaux libres en donnant un atome d'hydrogène ou un électron.

Plusieurs voies potentielles ont été proposées comme mécanismes par lesquels les polyphénols pourraient agir en tant qu'antioxydants. Les mécanismes les plus importants de leur activité antioxydante sont le piégeage des radicaux libres, où les polyphénols peuvent stopper une réaction radicalaire en chaîne, ainsi que la suppression de la formation de radicaux libres en contrôlant l'activité enzymatique ou en chélatant les ions métalliques impliqués dans la production de radicaux libres. Une autre voie antioxydante possible pour ces composés est leur interaction avec d'autres antioxydants physiologiques (Vladimir-Knežević *et al.*, 2012).

L'activité antioxydante des composés phénoliques est directement corrélée à leur structure, et elle augmente à mesure que le degré d'hydroxylation des cycles aromatiques augmente. Par exemple, l'acide caféique présente une activité antioxydante plus élevée que l'acide p-coumarique, et un nombre élevé d'hydroxyles dans le cycle B augmente

également l'activité antioxydante des anthocyanes. De plus, la glycosylation peut affecter différemment la capacité des composés phénoliques (Vincente *et al.*, 2014). En prenant en considération la toxicité des chélateurs synthétiques, les flavonoïdes, avec leurs multiples groupes hydroxyles et le groupe carbonyle en position 4 sur le cycle C, peuvent offrir plusieurs sites disponibles pour la complexation des métaux (Leopoldini *et al.*, 2011).

Liu *et al.* (2022) ont élucidé que l'extrait phénolique de l'huile de graines de thé a une forte capacité antioxydante en piégeant les radicaux libres DPPH, ABTS, $\cdot\text{OH}$, $\cdot\text{O}_2^-$ et $\text{HO}_2\cdot$, en augmentant les activités antioxydantes des enzymes glutathion peroxydase et superoxyde dismutase, et en réduisant l'accumulation de produits d'oxydation.

Huang *et al.* (2022) ont montré que les extraits phénoliques de pomace de *Rosa roxburghii* Tratt réduisent le niveau d'espèces réactives de l'oxygène dans le modèle *Caenorhabditis elegans* sous stress oxydatif induit par le paraquat. De plus, ces extraits étaient capables d'améliorer le système de défense antioxydant en augmentant les activités de la superoxyde dismutase et de la catalase.

2. 2. 2. Les polyphénols comme agents neuroprotecteurs

Les maladies neurodégénératives sont généralement caractérisées comme des conditions pathologiques dans lesquelles des groupes particuliers de neurones sont endommagés ou détruits, ce qui altère les fonctions cognitives et/ou les fonctions motrices. Beaucoup de maladies neurodégénératives sont couramment associées au vieillissement, mais la neurodégénérescence se développe sous une forme subclinique au fil des années, bien avant que les premiers signes cliniques ne soient perceptibles (Silva et Pogačnik, 2020).

La maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer sont les troubles les plus courants du système nerveux. Il a été observé que divers types de mécanismes biologiques sont associés aux troubles neurodégénératifs tels que le stress oxydatif, les agrégats de protéines dans les neurones, la dégradation des neurotransmetteurs dans la fente synaptique due à l'activité plus élevée des enzymes, la synthèse insuffisante ou la déplétion des neurotransmetteurs, l'excitotoxicité des neurones, le dysfonctionnement mitochondrial ainsi que les désordres ou les dommages de la barrière hémato-encéphalique, mais généralement, ces troubles neurodégénératifs sont caractérisés par une accumulation d'agrégations anormales de protéines qui entraîne une inflammation ainsi qu'un stress oxydatif dans le système nerveux central (Rasool *et al.*, 2014).

Lorsqu'il y a des effets indésirables des composés pharmacologiques, le développement des traitements alternatifs avec plus grande efficacité, biodisponibilité et moins d'effets secondaires est nécessaire, dans ce contexte, les métabolites secondaires des plantes sont une source prometteuse de nouveaux produits qui ont un potentiel thérapeutique pour les maladies neurodégénératives (Sharifi-Rad *et al.*, 2020). Les polyphénols sont capables d'exercer des effets bénéfiques différents sur le cerveau vieillissant, notamment des améliorations de la cognition, de l'apprentissage et de la mémoire, par conséquent, la réduction du risque de démence et la prévention de l'apparition de maladies neurodégénératives.

Parmi les divers mécanismes proposés pour les effets neuroprotecteurs des polyphénols, leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires restent les plus importantes (Annunziata *et al.*, 2021).

Caruso *et al.* (2022) ont suggéré que les acides phénoliques peuvent exercer des effets neuroprotecteurs (**figure 08**) ciblant plusieurs voies cellulaires impliquées dans la physiopathologie des troubles cognitifs.

L'un des exemples, la génistéine, une isoflavone isolée des graines de *Glycine max*, a inhibé les voies de signalisation NF- κ B, JNK et ERK afin d'exercer une neuroprotection contre les lésions cellulaires provoquées par H₂O₂ dans les neurones corticaux primaires. De plus, cette isoflavone a amélioré les lésions oxydatives ischémiques et les déficits comportementaux en modulant la voie de signalisation eNOS/Nrf2/HO-1 chez le rat. La génistéine a protégé les cellules gliales C6 contre l'inflammation provoquée par amyloïde β (25-35) via la modulation de la voie de signalisation NF- κ B. Elle a également réduit l'apoptose et augmenté la réponse antioxydante dans les neurones hippocampiques cultivés *in vitro* induits par amyloïde β (25-35) (Dey *et al.*, 2017).

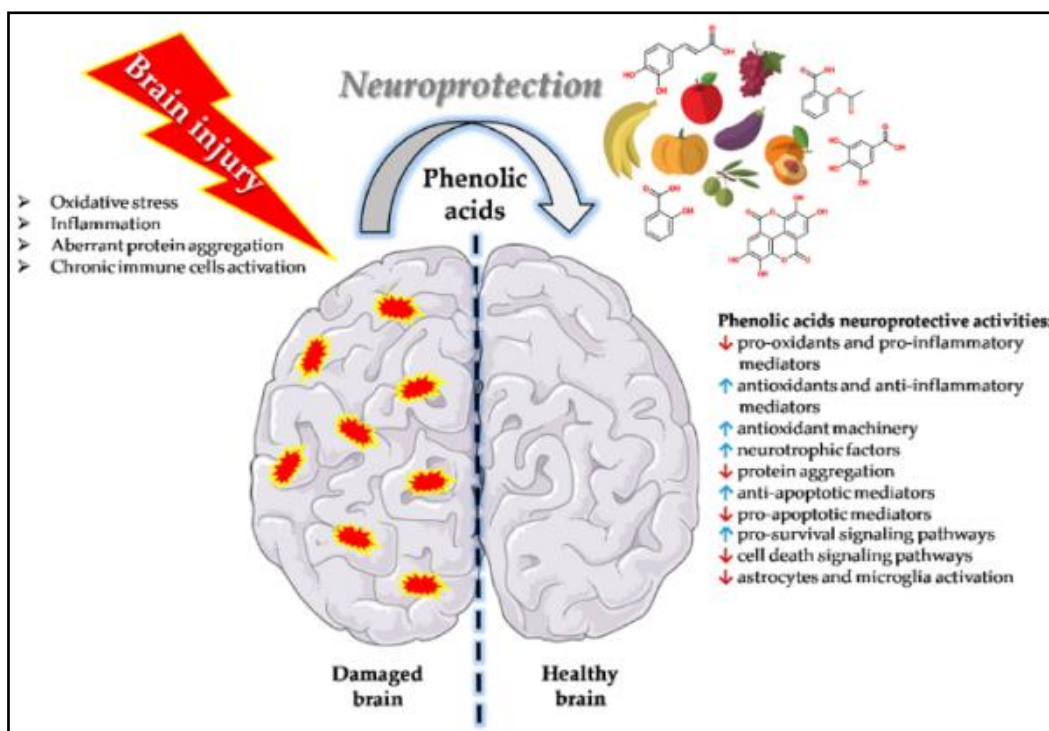


Figure 8. Activités neuroprotectrices des acides phénoliques (Caruso *et al.*, 2022)

2. 2. 3. Les polyphénols comme agents antimicrobiens

Le développement et la propagation de la résistance des microorganismes aux antibiotiques représentent un défi crucial. En effet, l'utilisation régulière d'antibiotiques peut favoriser l'émergence de cette résistance (Bouarab Chibane *et al.*, 2019). Les plantes sont devenues une nouvelle source de composés bioactifs (Behidj-Benyounes *et al.*, 2014). Les composés phénoliques des plantes terrestres et marines, en tant que molécules naturelles et agents antimicrobiens efficaces, ont suscité un intérêt considérable (Ford *et al.*, 2020).

La composition chimique, la structure et les propriétés lipophiliques des composés phytochimiques jouent un rôle dans leur activité (Bouarab Chibane *et al.*, 2019). Ces composés sont considérés comme ayant de nombreux sites d'action au niveau cellulaire. Au moins trois mécanismes ont été identifiés sur lesquels plusieurs auteurs s'accordent :

1. Les modifications de diverses fonctions intracellulaires induites par la liaison hydrogène des composés phénoliques aux enzymes.
2. La modification de la perméabilité des membranes cellulaires, la rupture de la membrane et la formation de granules cytoplasmiques.

3. Les modifications de la morphologie des organismes fongiques, notamment par la modification de la rigidité de la paroi cellulaire et par la perturbation de son intégrité, induites par diverses interactions avec les membranes cellulaires (Bouarab Chibane *et al.*, 2019).

Selon Manso *et al.* (2022) certains polyphénols présentent un effet synergique lorsqu'ils sont combinés avec des antibiotiques et des antifongiques.

De nombreuses recherches ont démontré l'activité antimicrobienne des polyphénols, que ce soit en utilisant des molécules isolées ou des extraits de plantes riches en polyphénols. Les concentrations élevées de polyphénols dans les extraits de plantes ne sont pas toujours associées à une meilleure activité antimicrobienne, mais cela est principalement dû à la composition qualitative de l'extrait et à la concentration relative de chaque constituant (Manso *et al.*, 2022).

De nombreuses préparations phytochimiques à haute teneur en flavonoïdes ont été rapportées comme ayant une activité antibactérienne (Cushnie et Lamb, 2005).

Un groupe de tannins, les ellagitanins, possède des activités antivirales, en particulier contre l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine, et manifeste des effets inhibiteurs sur la réplication du virus herpès simplex type 1 et/ou du virus herpès simplex type 2, ainsi que sur le virus d'Epstein-Barr.

Parmi les propriétés biologiques proposées des lignanes, il est suggéré qu'ils sont des agents potentiellement actifs pour lutter contre la tuberculose (Daglia, 2012).

3. Généralités sur *Punica granatum* L.

3. 1. Description de la plante

La famille Punicaceae, nommée Lythraceae selon le groupe phylogénétique des angiospermes depuis 2003 (APG II, 2003), comprend un seul genre, *Punica*, et deux espèces : *P. protopunica* Balf (non consommable) et *P. granatum* L. (consommable) (Mehru *et al.*, 2008; Guerrero-Solano *et al.*, 2020). Le fruit du *P. granatum*, la grenade, est mentionné dans le Saint Coran.

Punica granatum L., (**figure 09**), avec plus de 500 variétés (Bandeira Reidel *et al.*, 2018), est une plante originaire de l'Orient et cultivée en Iran, en Inde, ainsi que dans de nombreuses régions proches et loin de l'Orient (Schubert *et al.*, 1999).

Le grenadier est un arbuste à tiges multiples, atteignant généralement entre 1.8 et 4.6 mètres de hauteur, avec des feuilles caduques brillantes mesurant environ 7.6 cm de long.

P. granatum produit des fleurs rouge-orange en forme de trompette, avec des pétales ébouriffés mesurant environ 5 cm de long (Qnais *et al.*, 2007).

Le fruit, la grenade, est une baie contenant de nombreuses graines, chacune entourée d'une poche de jus translucide appelée arille. La grenade (**figure 09**) mesure de 5 à 7.6 cm de diamètre et elle est de couleur rougeâtre ou vert jaunâtre brillant à maturité (Qnais *et al.*, 2007). L'écorce du fruit se compose de deux parties : le mésocarpe, qui est le tissu spongieux du fruit où les arilles sont fixés, et le péricarpe. Les membranes blanchâtres (**figure 09**) assurent la compartimentation des groupes d'arilles, bien que ces derniers ne s'y attachent pas (Rana *et al.*, 2010). L'écorce de la grenade représente environ 40 à 50 % du poids total du fruit et elle est produite en grande quantité comme sous-produit dans l'industrie alimentaire (Kharchoufi *et al.*, 2018).

Le grenadier peut s'adapter à différentes conditions climatiques et à plusieurs types de sols, mais il est sensible aux sols à drainage insuffisant, ce qui peut rendre sa croissance difficile et affecter la qualité de la production. Les meilleures conditions pour cultiver cet arbre fruitier sont des sols argileux sablonneux profonds dans des régions où les étés sont chauds et longs. De plus, certaines variétés prospèrent à basse altitude tandis que d'autres poussent à une altitude d'environ 1600 mètres au-dessus du niveau de la mer. Sa sensibilité au froid est l'un des facteurs les plus importants à prendre en compte, car les fruits sont endommagés à des températures inférieures à 12 °C, avec une sensibilité plus prononcée pour les variétés à goût doux par rapport à celles à goût acide (Shaygannia *et al.*, 2016).

La culture de cet arbre est répandue dans le bassin méditerranéen, en particulier en Algérie (Labsi *et al.*, 2016). Ce pays a occupé une place importante parmi les producteurs de grenade en 2013-2014, avec une production de 81 390 tonnes sur une superficie cultivée estimée à 9 439 hectares, et un rendement moyen de 8620 kg/ha (Lahouel et Belhadj, 2022).



Figure 9. La partie aérienne du grenadier. (A) L'arbre; (B) la fleur; (C) le fruit; (D) l'intérieur de la grenade (Photos prises par Chaabna)

3. 2. Noms vernaculaires

Punica granatum a des noms différents selon les régions :

Français	Grenadier.
Anglais	Pomegranate.
Arabe	Rômane, Roumana.
Berbère	Taroumant, Tarmint.

3. 3. Classification

Selon la classification phylogénétique des angiospermes IV (APG IV, 2016), le grenadier est classifié comme suit :

Règne	Plantae
Clade	Angiospermes
Clade	Eudicotylédones
Clade	Rosidae
Ordre	Myrtales
Famille	Lythraceae
Genre	<i>Punica</i>
Espèce	<i>Punica granatum</i> L.

3. 4. Phytochimie de l'écorce du fruit

Toutes les parties du *P. granatum*, les racines, les tiges, les feuilles, les fleurs, l'écorce du fruit, les graines et les arilles sont utiles. En fait, les acides organiques, les sels minéraux, tels que le potassium, les vitamines telles que C, A et K, et les composés phénoliques sont les constituants les plus importants de la grenade (Chafki *et al.*, 2021).

L'écorce du fruit de cette espèce est une source riche en composés bioactifs et contient une large gamme de métabolites secondaires (Chen *et al.*, 2020), ces constituants bioactifs peuvent être modifiés en fonction de la variété, du stade de maturation, des pratiques agricoles, du climat et des conditions de stockage (Desseva et Mihaylova, 2020; Kupnik *et al.*, 2021).

Les ellagitannins sont les principaux composés phytochimiques dans l'écorce de la grenade où la concentration varie de 39.7 à 84.2%. Cependant, plus de 70% de la quantité totale d'ellagitannins dans cette partie de la plante est composée des deux anomères de punicalagin, A et B, et des deux isomères d'acide ellagique glucoside (Russo *et al.*, 2018).

En 2016, Ambigaipalan et ses collaborateurs ont mis en évidence pour la première fois la présence de 12 nouveaux flavonoïdes (catéchine, épicatechine, gallocatéchine, dihydroxygallocatéchine, phlorizine, épicatechine gallate, quercétine 3-O-rhamnoside, quercétine-hexoside, kaempférol 3-O-glucoside, cis-dihydrokaempférol-hexoside, trans-dihydrokaempférol-hexoside et syringétine-hexoside) dans l'écorce de la grenade en utilisant l'HPLC-DAD-ESI-MSn.

Certaines anthocyanidines ont également été détectés dans l'étude de Hayouni *et al.* (2011), tels que la delphinidine-3,5-diglucoside, la quercétine-3,4'-O-diglucoside, la pélargonidine-3-glucoside et la quercitine-4'-O-glucoside.

Plus de l'acide gallique, l'acide ellagique et ses dérivés, les anthocyanes, telles la cyanidine 3,5-diglucoside, la pélargonidine 3,5-diglucoside, la delphinidine 3-glucoside, la cyanidine 3-glucoside et la pélargonidine 3-glucoside, sont aussi identifiées dans l'extrait d'écorce de la grenade (Romeo *et al.*, 2015).

3. 5. L'utilité et l'efficacité de l'écorce du fruit

Les écorces du fruit du *Punica granatum* sont exploitées en médecine traditionnelle en raison de leur forte astringence, ce qui en fait un remède populaire à l'échelle mondiale (Suhad *et al.*, 2013). Elles sont utilisées pour le traitement de divers problèmes de santé tels que la diarrhée, les maux d'estomac, la cicatrisation des plaies (Al-Zoreky, 2009), les maux

de gorge, les vers gastro-intestinaux (Karimi *et al.*, 2020), la dysenterie, les hémorroïdes, la bronchite et les affections de la bile (Jayaprakasha *et al.*, 2006).

Dans ces dernières années, les chercheurs s'intéressent de plus près aux potentiels thérapeutiques de la grenade, en procédant des modèles *in vitro*, *in vivo* et *ex vivo*.

Des résultats positifs ont été obtenus par Peršurić *et al.* (2020) qui ont étudié, *in vitro*, l'effet anti-prolifératif des extraits éthanoliques des écorces de grenades collectées à Herzégovine occidentale. L'étude s'était portée sur les fibroblastes humains normaux, le carcinome cervical, l'adénocarcinome colorectal métastatique, l'adénocarcinome métastatique du sein, le carcinome pancréatique et l'adénocarcinome pancréatique dérivé d'un foie métastatique. Les résultats ont dévoilé que les extraits testés possèdent des activités anticancéreuses puissantes, montrant des valeurs de CI_{50} variant de 0.132 à 0.396 mg/mL.

De plus, une activité antidiabétique de l'extrait méthanolique de l'écorce a été prouvée par Kam et ses collaborateurs (2012) où ils ont étudié l'effet inhibiteur sur α -glucosidase.

En *ex vivo*, l'application topique de l'extrait de l'écorce a démontré des effets anti-inflammatoires significatifs sur la peau, ce qui confirme que l'extrait pénètre dans la peau et module la régulation de la cyclooxygénase-2 dans l'épiderme. Les grenades ont un potentiel en tant que nouvelle approche pour améliorer l'inflammation et diminuer la douleur associées à plusieurs affections cutanées, y compris les boutons de fièvre et la kératite herpétique stromale (Houston *et al.*, 2017).

L'étude *in vivo* de Zhao *et al.* (2018) confirme l'usage traditionnel des écorces de grenade en tant que un agent anti-diarrhéique. Les résultats ont montré que la fraction acétate d'éthyle de l'extrait aqueux était très efficace, dont la punicalagine, la corilagine et l'acide ellagique étaient les composants responsables de cet effet anti-diarrhéique.

Dans autres études, l'extrait aqueux obtenu de l'écorce a manifesté des propriétés antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, antiacétylcholinestérase (Elshafie *et al.*, 2021) et immunomodulatrice, de plus, il a montré un effet anti-parasitaire, *in vivo*, contre le développement de *Echinococcus granulosus* (Labsi *et al.*, 2016). Autres activités de l'écorce du fruit du *P. granatum* ont été validés tels l'effet anti-hypercholestérolémie (Neyrinck *et al.*, 2012) et l'effet hépatoprotecteur (Doostan *et al.*, 2019).

4. Généralités sur *Olea europaea* L.

4. 1. Description de la plante

La famille des Oleaceae comprend 30 genres et 600 espèces. L'espèce *Olea europaea* L. (l'olivier) (**figure 10**), la principale espèce cultivée de cette famille, appartient au genre *Olea*, avec 29 autres espèces (Chiappetta et Muzzalupo, 2012). L'olivier est l'une des plantes mentionnées dans le Saint Coran.

Selon les données archéologiques et génétiques, *Olea europaea* L. a probablement été domestiqué à partir de son ancêtre sauvage, il y a environ six millénaires au Moyen-Orient, plus précisément dans la zone frontalière entre la Syrie et la Turquie (Diez *et al.*, 2015).

Cet arbre peut atteindre, voire excéder, une hauteur de 8 mètres (Stanković *et al.*, 2017), ses fleurs se regroupent en inflorescence, son fruit est une drupe à une seule graine avec un endocarpe dur et un mésocarpe souvent épais et charnu qui devient de couleur violacée foncée ou noire à maturité. Ses feuilles sont persistantes, coriaces, recouvertes densément d'écailles peltées sur la face inférieure, de forme ovale-oblongue ou elliptique à étroitement elliptique, de 3 à 9 cm de long et de 0.3 à 3 cm de large (Green, 2002).

Six sous-espèces d'*O. europaea* sont actuellement reconnues sur la base de traits morphologiques et de la répartition géographique (Fanelli *et al.*, 2022). L'olivier sauvage ou oléastre (*O. europaea* ssp. *europaea* var. *sylvestris*) et l'olivier cultivé (*O. europaea* ssp. *europaea* var. *europaea*) sont deux formes de la sous-espèce *europaea*. Cinq autres sous-espèces constituent le complexe *O. europaea* : (a) *laperrinei*, présente dans les massifs sahariens; (b) *cuspidata*, présente de l'Afrique du sud au sud de l'Égypte et de l'Arabie au nord de l'Inde et au sud-ouest de la Chine; (c) *guanchica* présente dans les îles Canaries; (d) *maroccana* présente dans le sud-ouest du Maroc; (e) *cerasiformis* présente à Madère (Bracci *et al.*, 2011).



Figure 10. La partie aérienne de l'olivier. (A) L'arbre; (B) les feuilles et les fruits (Photos prises par Chaabna)

L'olivier est originaire des régions tropicales et tempérées chaudes. Il est principalement réparti sur le littoral de la Méditerranée orientale. Son aire de distribution s'étend du sud-est de l'Europe et de l'Afrique du Nord jusqu'à l'Asie occidentale et la péninsule Arabique, atteignant les régions indiennes ainsi que le nord de l'Iran, à l'extrémité sud de la mer Caspienne (Özcan et Matthaus, 2017). Par ailleurs, cette espèce a développé des mécanismes adaptatifs spécifiques face aux contraintes abiotiques, telles que les fortes températures et l'intensité du rayonnement solaire. En conséquence, il est largement admis que les espèces d'oliviers sont résistantes à la sécheresse (Stanković *et al.*, 2017). Cette caractéristique dépend de la variété et est considérée comme une variation génétique entre les variétés (Petridis *et al.*, 2012). De plus, elles montrent une persistance remarquable dans les sols peu profonds et les sols de mauvaise qualité. Ces caractéristiques ont augmenté l'intérêt pour la culture des oliviers dans les zones arides (Stanković *et al.*, 2017).

L'olivier est le deuxième arbre le plus cultivé au monde pour l'huile extraite de son fruit. Sa culture couvre plus de huit millions d'hectares, concentrée principalement dans le bassin méditerranéen (Bracci *et al.*, 2011), qui produit 98 % du total mondial (environ 11 millions de tonnes) (El et Karakaya, 2009).

En Algérie, l'espèce *Olea europaea* occupe jusqu'à 2.3 % de la surface totale cultivée. L'oléiculture algérienne est divisée en 3 zones distincts : Ouest, Centre (Kabylie) et Est; sachant que de vastes zones non cultivées sont occupées par l'oléastre, notamment à Bejaia (Bouarroudj *et al.*, 2016).

4. 2. Noms vernaculaires

Olea europaea a des noms qui varient d'une région à une autre :

Français		Olivier.
Anglais		Olive.
Arabe	pour la variété cultivée	Zaytoun, Zitoun, Zzit.
	pour la variété sauvage	Zebbour, Sebboudj.
Berbère	pour la variété cultivée	Azemmour, Tassetta, Tahatimt.
	pour la variété sauvage	Tazbboujt.

4. 3. Classification

Selon Chiappetta et Muzzalupo (2012), l'olivier est classifié comme suit :

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Rosopsida
Ordre	Lamiales
Famille	Oleaceae
sous-famille	Oleideae
Genre	<i>Olea</i>
Espèce	<i>Olea europaea</i> L.

4. 4. Phytochimie des feuilles

Les feuilles d'olivier sont des sous-produits de la récolte des fruits et résultent aussi de l'élagage et du secouage des oliviers. Elles représentent environ 10 % de la biomasse totale collectée lors de la production d'huile d'olive (Nicolì *et al.*, 2019). Les feuilles d'*O. europaea* sont une bonne source de plusieurs composés biologiquement actifs

(Botsoglou *et al.*, 2012). L'analyse de l'extrait des feuilles a permis de caractériser 7 classes principales de composés phénoliques : les acides hydroxybenzoïques, les acides phénoliques, les sécoiridoïdes, les oléosides, les phénols simples, les flavonoïdes et les acides élénoïques avec autres molécules identifiées (Oliveira *et al.*, 2021). Il convient de souligner que l'oleuropéine est le principal phénol des fruits et des feuilles de l'olivier (Briante *et al.*, 2002).

Edziri *et al.* (2019) ont identifié la présence de neuf constituants phénoliques dans les feuilles de quatre variétés d'olivier tunisien : le hydroxytyrosol, le tyrosol, l'acide 4-hydroxybenzoïque, la rutine, le lutéoline-7-O-glucoside, l'apigénine-7-O-glucoside, l'oleuropéine, l'apigénine et le catéchine hydrate. Sachant que, dans les quatre variétés, l'oleuropéine se présente en grande quantité tandis que l'apigénine se présente en faible quantité.

Dans une étude phytochimique précédente sur une variété algérienne, ils ont identifié l'hydroxytyrosol, l'oleuropéine, l'oleuropéine aglycone, le verbascoside et 8 autres composés (Rouibah *et al.*, 2019).

Oliveira et ses collaborateurs (2021) ont rapporté la présence de deux iridoïdes (pondraneoside et lauroside B) dans l'extrait des feuilles d'*O. europaea*, sachant que, ces molécules n'ont pas été détectées auparavant dans des extraits obtenus à partir de l'olivier.

4. 5. L'utilité et l'efficacité des feuilles

En médecine traditionnelle, *O. europaea* est largement utilisé dans le monde entier pour ses bienfaits. L'écorce, les fruits, les feuilles, le bois, les graines et l'huile de l'olivier sont utilisés sous différentes formes, seuls ou en combinaison avec d'autres plantes. Les feuilles sont utilisées pour traiter la diarrhée, les maladies de l'estomac et des intestins, les infections des voies respiratoires et urinaires, ainsi que pour réduire la fièvre et comme remède contre de nombreux types d'inflammations (Hashmi *et al.*, 2015). En Algérie, les feuilles sont utilisées comme hypoglycémiantes et hypotensives (Bouzabata, 2013).

L'efficacité des feuilles dans le traitement de différentes maladies a été validée par plusieurs chercheurs dans plusieurs études.

Ghomari *et al.* (2019) ont trouvé que l'extrait des feuilles séchées préparé avec de l'éthanol suivi de l'eau a montré une meilleure activité antibactérienne contre *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* et *Listeria monocytogenes*.

Dans des modèles murins de colite, l'extrait des feuilles d'*O. europaea* a démontré une efficacité anti-inflammatoire au niveau intestinal. Cette action pourrait être liée à sa capacité à rétablir la barrière épithéliale intestinale et à ses activités immunomodulatrices. De plus, les chercheurs ont constaté que cet extrait peut contrôler l'activité des cellules impliquées dans la réponse inflammatoire (Vezza *et al.*, 2017).

Les érythrocytes humains peuvent être protégés contre les dommages oxydatifs par l'extrait des feuilles, ce qui limite également l'activité des espèces réactives impliquées dans les activités biochimiques cellulaires (Lins *et al.*, 2018).

Oleuropein, le polyphénol principal de l'extrait des feuilles, a montré un potentiel prometteur comme adjuvant dans les thérapies anticancéreuses conventionnelles. En outre, il peut réduire les effets indésirables de ces thérapies sur les cellules non ciblées et inverser la résistance des cellules cancéreuses aux médicaments chimiothérapeutiques (Ruzzolini *et al.*, 2018).

MATÉRIELS ET MÉTHODES

1. Matériel végétal

Le matériel végétal est constitué des écorces du fruit de *Punica granatum* L. (le grenadier) (**figure 11**) et des feuilles d'*Olea europaea* L. (l'olivier) (**figure 12**). Les arbres choisis sont spontanés. Les fruits de la grenade ont été collectés en Octobre 2017 et les feuilles de l'olivier en Mai 2017 dans la commune de Ain Smara de la wilaya de Constantine (Algérie, 36°16'03"Nord 6°30'12"Est) (**figure 13**). L'identification a été faite par Pr. NOUIOUA Wafa, département de biologie et écologie végétale, faculté des sciences de la nature et de la vie, université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie. Des spécimens de référence ont été déposés au niveau du laboratoire sous les numéros PNG/02/2023 et OA/03/2023 pour *P. granatum* L. et *Olea europaea* L., respectivement. Les échantillons recueillis ont été bien nettoyés et séchés à l'abri de la lumière et de l'humidité pendant quinze jours, puis broyés pour obtenir une poudre fine à l'aide d'un mortier et d'un pilon pour les pelures et à l'aide d'un moulin à café pour les feuilles.

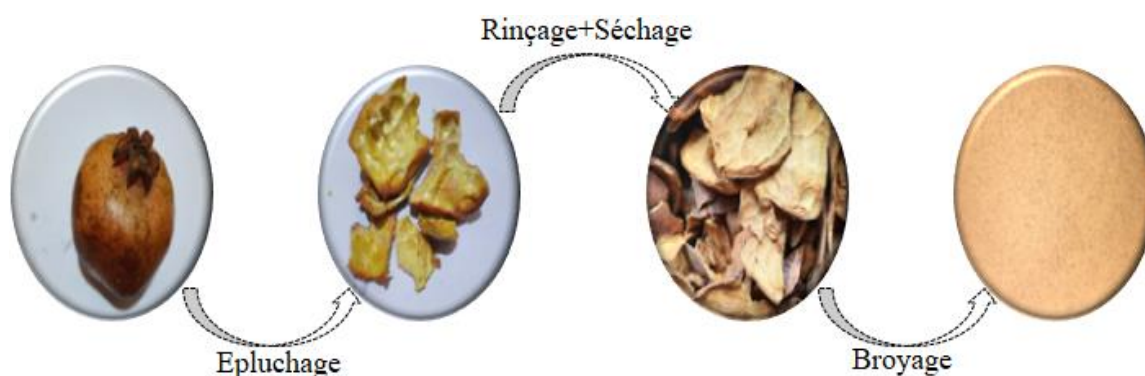


Figure 11. Préparation des pelures de *Punica granatum* L. (Photos prises par Chaabna)

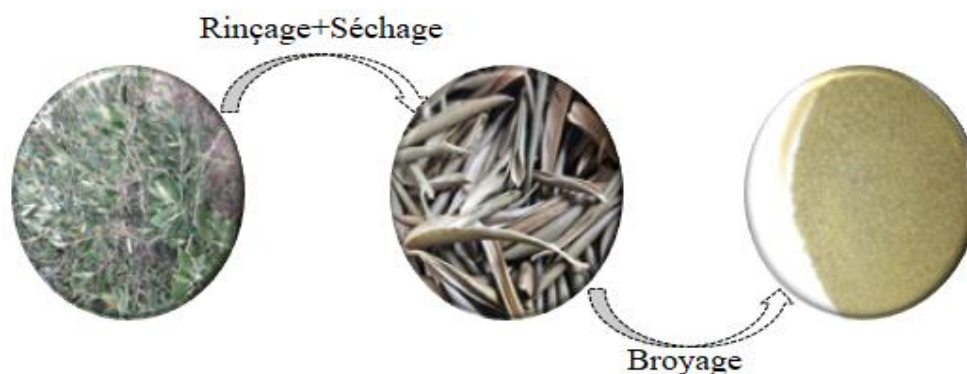


Figure 12. Préparation des feuilles d'*Olea europaea* L. (Photos prises par Chaabna)

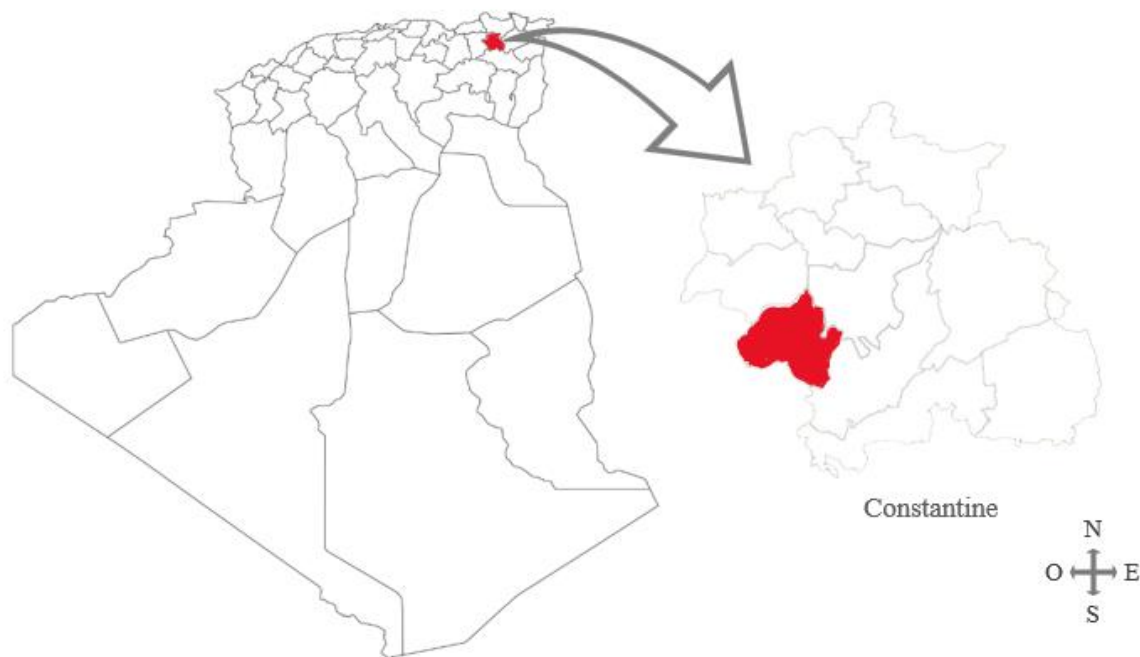


Figure 13. Localisation géographique de zone de récolte dans la wilaya de Constantine, Algérie (Conçue par Chaabna)

2. Extraction des composés bioactifs

2. 1. Préparation des extraits éthanoliques 70 %

L'extraction a été effectuée selon la méthode de Njomnang Soh *et al.*, (2009). Brièvement, 60 g de la poudre végétale a été ajouté à 600 mL d'une solution hydro-éthanolique à 70 % (70:30, v:v) et laissé macérer à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 24h. Cette opération a été répétée deux fois sur les résidus avec renouvellement du solvant. Après cela, les mélanges ont été filtrés à travers un papier filtre, puis les trois filtrats ont été combinés et évaporés à l'aide d'un évaporateur rotatif à 45 °C à fin d'éliminer le solvant organique. Par la suite, le séchage complet de l'extrait a été réalisé dans une étuve pour obtenir l'extrait hydro-éthanolique final, (P) des pelures et (O) des feuilles. Les extraits obtenus ont été stockés à 4 °C jusqu'à l'utilisation.

2. 2. Préparation des fractions à partir de l'extrait hydro-éthanolique

Chaque extrait éthanolique 70 % (P et O) a été fractionné par une extraction liquide / liquide en utilisant des solvants de polarité croissante dans une ampoule à décanter. D'abord, l'extrait brut (sous forme d'une solution aqueuse) a été mélangé avec de

l'éther de pétrole (v : v) pour solubiliser et éliminer les lipides, les pigments chlorophylliens et les caroténoïdes. Après l'élimination de la phase organique de l'éther de pétrole, la phase aqueuse a été mélangée avec de l'éther diéthylique, puis avec l'acétate d'éthyle et enfin avec le n-butanol. Chaque étape a été répétée plusieurs fois. Les fractions organiques obtenues, d'éther diéthylique (DP et DO), d'acétate d'éthyle (AP et AO) et de n-butanol (BP et BO), ont été évaporées sous vide à 45 °C, séchées et puis conservées à 4 °C jusqu'à l'utilisation (Merghem, 2009).

2. 3. Rendement de l'extraction

Le rendement des extraits obtenus (bruts et fractions) des pelures de *P. granatum* et des feuilles d'*O. europaea* a été estimé en utilisant la formule (1) suivante:

$$R (\%) = \frac{PE}{PMS} \times 100 \quad (1)$$

R : Rendement de l'extraction (%).

PE : Poids de l'extrait sec (g).

PMS : Poids de la matière végétale sèche (g).

3. Dosage spectrophotométrique des composés phénoliques

3. 1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols présents dans les extraits végétaux réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu pour former un chromophore bleu constitué d'un complexe phosphotungstique-phosphomolybdène qui peut être quantifié par spectrophotométrie à lumière visible, où l'absorption maximale de ces chromophores dépend de la solution alcaline et de la concentration des composés phénoliques (Blainski *et al.*, 2013).

La méthode colorimétrique de Folin-Ciocalteu réalisée par Singleton et Rossi (1965) a été utilisée pour la détermination du contenu total des polyphénols dans les extraits avec de légères modifications selon Müller *et al.* (2010). Un volume de 20 µL de chaque extrait a été mélangé avec 100 µL du réactif de Folin-Ciocalteu dilué à 1 : 10 et 75 µL de carbonate de sodium (7.5 %). Après 2 heures d'incubation à l'obscurité et à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 765 nm par un lecteur de microplaque 96 puits. L'acide gallique (25-150 µg/mL) a été utilisé comme standard pour l'étalonnage

de la courbe (**figure 14**). Les résultats ont été exprimés en μg équivalent d'acide gallique par mg d'extrait (μg EAG/mg d'extrait).

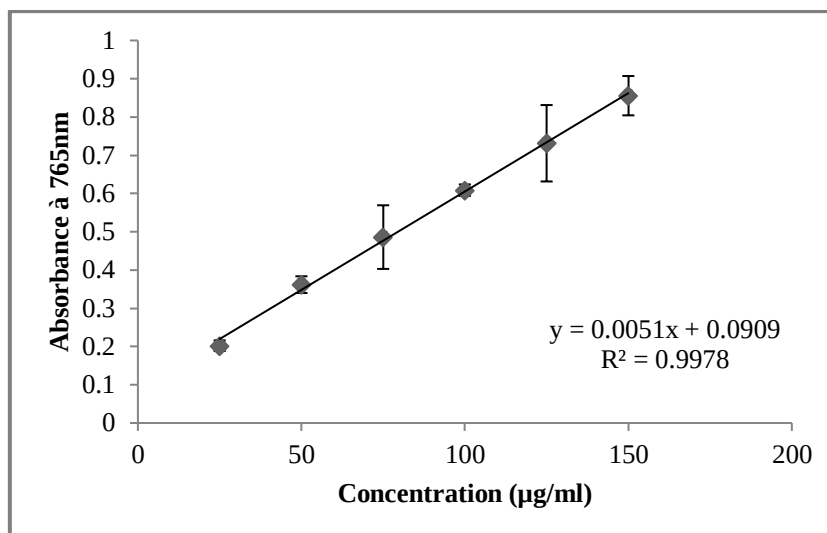


Figure 14. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3).

3. 2. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes totaux dans les extraits est basée sur la chélation de l'ion d'aluminium en présence des groupements hydroxyles libres des flavonoïdes (Mammen et Daniel, 2012). La coloration jaune produite est détectable par le spectrophotomètre à lumière visible.

La teneur totale en flavonoïdes dans les extraits a été déterminée en utilisant la méthode de Topçu *et al.* (2007), avec quelques modifications. Un volume de 50 μL de chaque extrait a été mélangé avec 130 μL de méthanol, 10 μL de nitrate d'aluminium (10 %) et 10 μL d'acétate de potassium (1M). Après 40 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 415 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque 96 puits. La quercétine (25-175 $\mu\text{g/mL}$) a été utilisée comme standard pour l'étalonnage de la courbe (**figure 15**). Les résultats ont été exprimés en μg équivalent de quercétine par mg d'extrait (μg EQ/mg d'extrait).

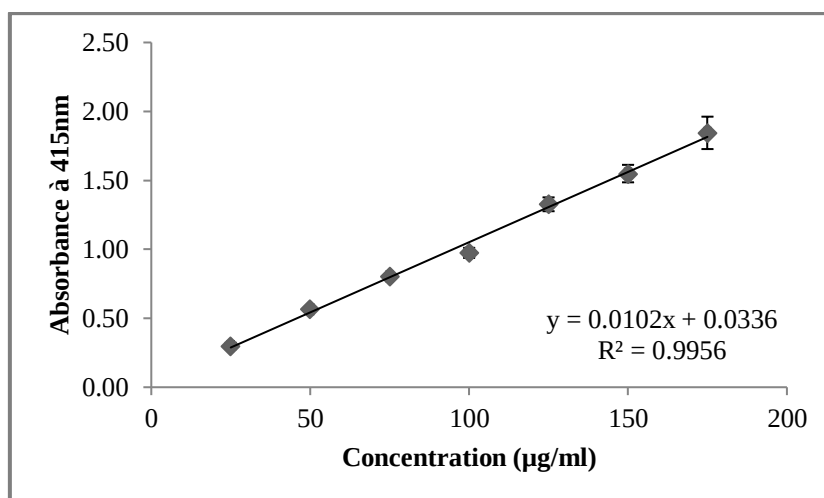


Figure 15. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour la quantification des flavonoïdes

Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3).

3. 3. Dosage des flavonols

La teneur en flavonols dans les extraits a été déterminée selon la méthode de Miliauskasa *et al.* (2004). Un volume de 400 µL de chaque extrait a été mélangé avec 400 µL de trichlorure d'aluminium (2 %) et 1.2 mL d'acétate de sodium (5 %). Après 150 min d'incubation à 20 °C, l'absorbance a été mesurée à 440 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La quercétine (3.12 - 100 µg/mL) a été utilisée comme standard pour l'étalonnage de la courbe (**figure 16**). Les résultats ont été exprimés en µg équivalent de quercétine par mg d'extrait (µg EQ/mg d'extrait).

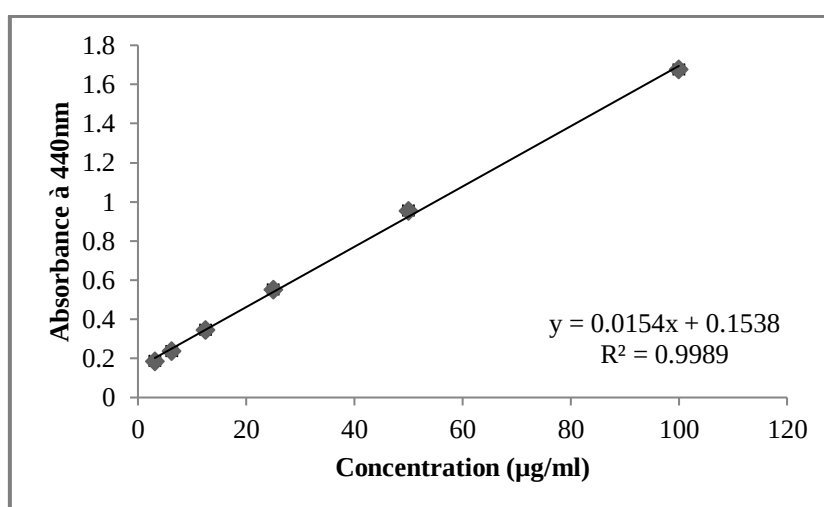


Figure 16. Courbe d'étalonnage de la quercétine pour la quantification des flavonols

Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3).

3. 4. Dosage des tanins totaux

La teneur en tanins totaux dans les extraits a été déterminée selon la méthode de Medpilwar *et al.* (2015). Un volume de 100 μL de chaque extrait a été mélangé avec 20 μL de réactif de Folin-Ciocalteu (0.5 N). Après 15 min d'incubation à température ambiante, un volume de 500 μL de carbonate de sodium saturé (20 %) a été ajouté. Après 30 min d'incubation à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'acide tannique (1.95 - 62.5 $\mu\text{g/mL}$) a été utilisé comme standard pour l'étalonnage de la courbe (**figure 17**). Les résultats ont été exprimés en μg équivalent d'acide tannique par mg d'extrait ($\mu\text{g EAT/mg d'extrait}$).

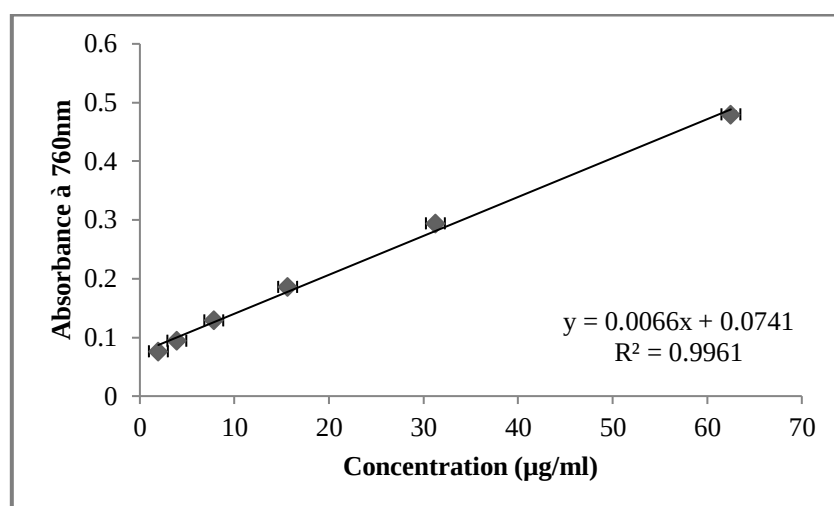


Figure 17. Courbe d'étalonnage de l'acide tannique

Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3).

4. Evaluation des activités biologiques de *Punica granatum* et d' *Olea europaea*

4. 1. Détermination des activités antioxydantes *in vitro*

4. 1. 1. Test de piégeage du radical DPPH[•]

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH[•]) est un radical libre stable. Lorsqu'il accepte l'hydrogène d'un donneur correspondant, comme les polyphénols, la solution perd sa couleur violette profonde caractéristique (**figure 18**) (Tirzitis et Bartosz, 2010).

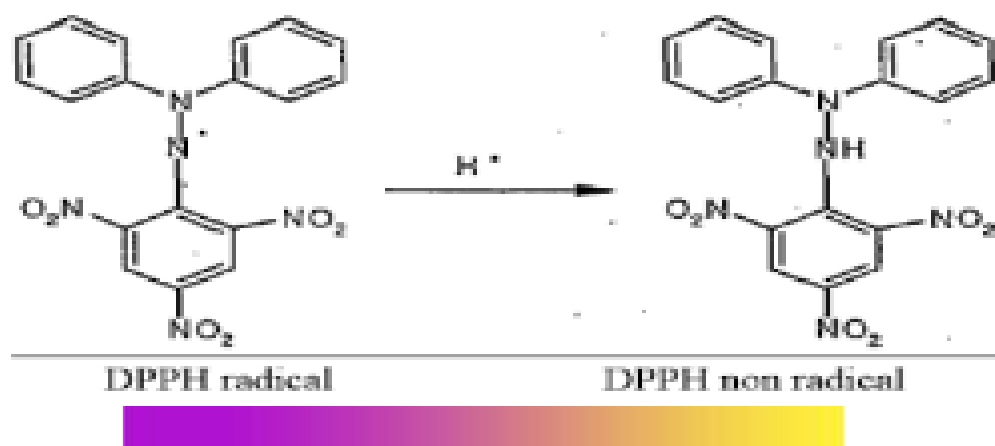


Figure 18. Réduction du radical DPPH[•] (Khan *et al.*, 2017)

La méthode décrite par Blois (1958) a été suivie pour mesurer l'effet antiradicalaire des extraits vis-à-vis du radical libre 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl. Brièvement, un volume de 40 μL d'échantillon (extrait ou standard) a été mélangé avec 160 μL de la solution de DPPH (0.1 mM) préparé dans l'éthanol. Le trolox et l'acide ascorbique ont été utilisés comme antioxydants standards. Après 30 min d'incubation dans l'obscurité, l'absorbance des échantillons a été lue à 517 nm à l'aide d'un lecteur de microplaque 96 puits contre un contrôle préparé dans les mêmes conditions avec de l'éthanol. La plus faible absorbance indique la plus grande activité de piégeage des radicaux libres. Le pourcentage de l'activité antioxydante ou le pourcentage d'inhibition du radical (I %) a été calculé en utilisant l'équation (2) suivante :

$$\text{L'activité antiradicalaire (I \%)} = \frac{A_{\text{contrôle}} - A_{\text{échantillon}}}{A_{\text{contrôle}}} \times 100 \quad (2)$$

$A_{\text{contrôle}}$: l'absorbance de la solution contrôle.

$A_{\text{échantillon}}$: l'absorbance de l'échantillon.

Les concentrations inhibitrices à 50 % ($\text{CI}_{50\%}$), exprimées en $\mu\text{g/mL}$, sont les concentrations d'échantillons nécessaires pour piéger 50 % des radicaux libres dans la solution. Elles ont été calculées par régression linéaire à partir des graphes des taux d'inhibition.

4. 1. 2. Test de piégeage du radical ABTS^{•+}

Le test de piégeage du radical 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) (ABTS^{•+}) (**figure 19**) est un test de décoloration permettant de mesurer l'effet antioxydant des composés lipophiles et hydrophiles (Re *et al.*, 1999).

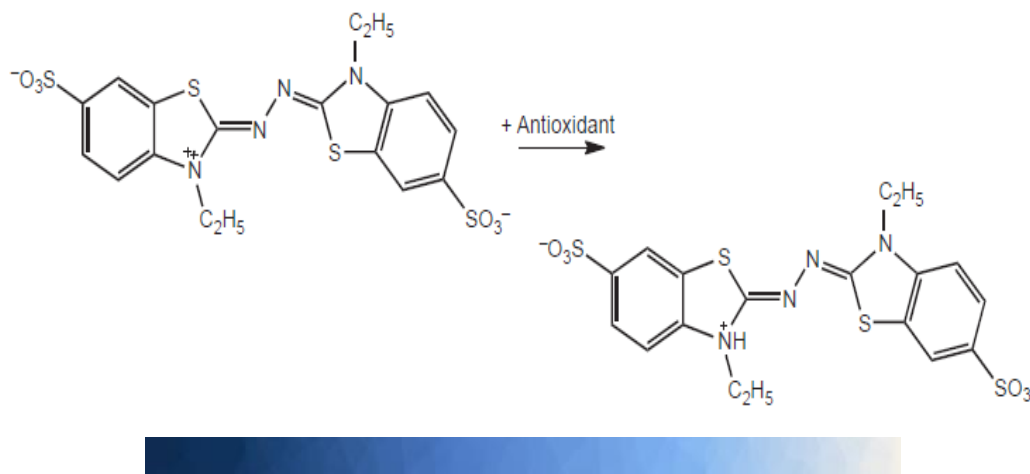


Figure 19. Réduction du radical ABTS^{•+} (Hernández *et al.*, 2019)

La méthode décrite par Re et ses collaborateurs (1999) a été suivie pour évaluer l'effet de piégeage du radical ABTS^{•+} avec quelques modifications.

La solution du radical ABTS^{•+} a été obtenue à partir d'une réaction entre une solution d'ABTS (7 mM) et une solution de persulfate de potassium (2.45 mM). La solution a été incubée pendant 12 à 16 h à l'obscurité et à température ambiante. Avant l'utilisation, la solution mère cationique de l'ABTS^{•+} (de couleur bleue à verte) a été diluée avec de l'éthanol jusqu'à obtention d'une absorbance finale de 0.7 à 734 nm. Ensuite, un volume de 160 µL de solution diluée d'ABTS^{•+}, fraîchement préparée, a été ajouté à 40 µL d'échantillon (extrait ou standard) à différentes concentrations. Les mélanges ont été incubés pendant 10 min à l'obscurité et à température ambiante, puis les absorbances ont été mesurées à 734 nm par un lecteur de microplaque 96 puits. Le contrôle a été préparé en utilisant le solvant des échantillons plus le radical ABTS^{•+}. Le trolox et l'acide ascorbique ont été utilisés comme antioxydants standards. Le pourcentage de l'activité antioxydante (I %) a été calculé en utilisant l'équation (1) et la CI_{50%} de chaque échantillon a été déterminée.

4. 1. 3. Test de capacité de réduction du cuivre (cupric reducing antioxydant capacity (CUPRAC))

Le test CUPRAC est basé sur la réduction du Cu^{2+} en Cu^{1+} par les antioxydants présents dans les extraits étudiés en utilisant le réactif Cu(II)-néocuproïne comme un oxydant coloré (**figure 20**) (Zengin *et al.*, 2014).

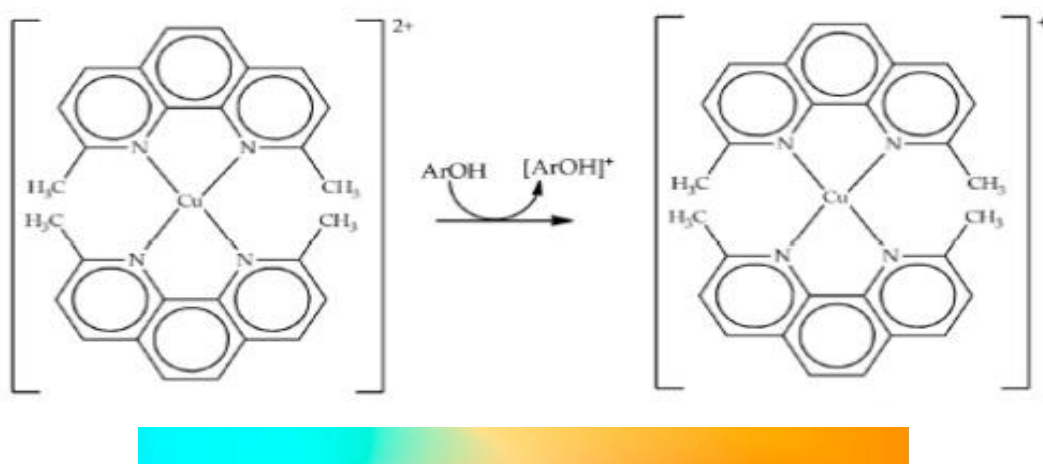


Figure 20. Réduction du complexe Cu(II)-néocuproïne (Sadeer *et al.*, 2020)

L'activité antioxydante des extraits a été évaluée par la capacité de réduction de l'ion du cuivre en utilisant la méthode décrite par Apak et ses collaborateurs (2004), modifiée par Tel et ses collaborateurs (2012). Brièvement, un volume de 50 μL de solution de Cu^{2+} (10 mM), 50 μL de néocuproïne (7.5 mM) et 60 μL de tampon NH_4Ac (1 M, pH = 7.0) ont été mélangés. Ensuite, un volume de 40 μL d'échantillon (extrait ou standard) à différentes concentrations a été ajouté au mélange pour obtenir un volume final de 200 μL . Après 60 min d'incubation, l'absorbance a été mesurée à 450 nm par un lecteur de microplaque 96 puits. Les résultats ont été donnés en $\text{CA}_{0.5}$, exprimés en $\mu\text{g/mL}$, correspondant à la concentration indiquant une absorbance de 0.5. Elles ont été calculées par régression linéaire à partir des graphes des absorbances. Le trolox et l'acide ascorbique ont été utilisés comme antioxydants standards.

4. 1. 4. Test de la phénanthroline

Le principe de ce test repose sur la réduction du Fe^{3+} en Fe^{2+} grâce aux antioxydants présents dans les extraits. Le réactif 1,10-phénanthroline forme un complexe avec Fe^{2+} donnant une couleur rouge orange (Yefrida *et al.*, 2018).

Le protocole décrit par Szydlowska-Czerniak et ses collaborateurs (2008) a été utilisé pour évaluer la capacité de réduction du fer par les extraits, avec quelques modifications. Brièvement, un volume de 10 µL d'échantillon (extrait ou standard) à différentes concentrations, 50 µL de solution de FeCl₃ (0.2 %) et 30 µL de solution de 1,10-phénanthroline (0.5 %) ont été mélangés. Le volume du mélange réactionnel a été porté à 200 µL en ajoutant de l'éthanol. Après 20 min d'incubation à 30 °C, l'absorbance a été mesurée à 510 nm par un lecteur de microplaque 96 puits. Les valeurs de la C_{A0.5} (µg/ml) ont été déterminées. Le trolox et l'acide ascorbique ont été utilisés comme antioxydants standards.

4. 1. 5. Test du pouvoir réducteur

Le test du pouvoir réducteur des extraits peut servir d'indicateur significatif de leur activité antioxydante potentielle. En effet, la présence de réducteurs (antioxydants) dans les échantillons provoque la réduction du complexe potassium ferricyanide (Fe³⁺) en forme potassium ferrocyanide (Fe²⁺) (Zarai *et al.*, 2013).

Le pouvoir réducteur des extraits a été mesuré selon la méthode décrite par Oyaizu (1986), avec quelques modifications. Brièvement, 10 µL d'échantillon (extrait ou standard) ont été mélangés avec 40 µL de tampon phosphate (0.2 M, pH = 6.6) et 50 µL de ferricyanure de potassium (1 %). Après avoir laissé le mélange incuber pendant 20 min à 50 °C, 50 µL d'acide trichloracétique (10 %), 40 µL d'eau distillée et 10 µL de chlorure ferrique (0.1 %) ont été ajoutés au mélange. L'absorbance des solutions obtenues a été mesurée à 700 nm. Les valeurs de la C_{A0.5} (µg/ml) ont été déterminées. Le trolox et l'acide ascorbique ont été utilisés comme antioxydants standards.

4. 2. Activité anti-Alzheimer *in vitro*

L'activité inhibitrice des cholinestérases est basée sur la lecture spectrophotométrique, à une longueur d'onde de 412 nm, de l'anion jaune 5-thio-2-nitrobenzoate qui résulte de la réaction du 5,5'-dithiobis (acide 2-nitrobenzoïque) avec la thiocholine libérée par l'hydrolyse enzymatique des substrats : le chlorure de butyrylthiocholine ou l'iodure d'acétylthiocholine (Ellman *et al.*, 1961).

L'activité anticholinestérases des extraits, en tant qu'inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE) de l'anguille électrique et de la butyrylcholinestérase (BChE) du sérum de cheval, a été réalisée selon la méthode d'Ellman et ses collaborateurs (1961).

En bref, 150 µL de tampon phosphate de sodium (0.1 M, pH 8.0), 10 µL de l'échantillon (extrait ou standard) à différentes concentrations et 20 µL de solution d'AChE (5.32×10^{-3} U) ou de BChE (6.85×10^{-3} U) ont été mélangés et incubés pendant 15 min à 37 °C. Ensuite, 10 µL de 5,5'-dithiobis (acide 2-nitrobenzoïque) (0.5 mM) et 10 µL d'iodure d'acétylthiocholine (0.71 mM) ou de chlorure de butyrylthiocholine (0.2 mM) ont été ajoutés. La galantamine a été utilisée comme composé standard. L'absorbance a été enregistrée à 412 nm à 0 min et après 15 min d'incubation à 37 °C. Le pourcentage d'inhibition (I %) de l'AChE ou du BChE a été déterminé à l'aide de l'équation (3) suivante :

$$I \% = \left(1 - \frac{S}{E}\right) \times 100 \quad (3)$$

E : l'activité de l'enzyme sans échantillon.

S : l'activité de l'enzyme avec l'échantillon.

Les valeurs de la $CI_{50\%}$ (concentration inhibant 50% de l'enzyme) (µg/ml) ont été déterminées.

4. 3. Évaluation de l'activité antibactérienne *in vitro*

L'activité antibactérienne des extraits de *P. granatum* et d'*Olea europaea* a été évaluée en utilisant la méthode de diffusion sur gélose et la méthode de microdilution. Cette dernière a pour but de déterminer les concentrations minimales inhibitrices et les concentrations minimales bactéricides.

4. 3. 1. Souches bactériennes

Les souches utilisées dans cette étude sont mentionnées dans le **tableau 03**.

Tableau 3. Différentes souches bactériennes testées

Souches bactériennes		
Gram	Souches	Références
Gram positif	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC 10876
	<i>Staphelococcus aureus</i>	ATCC 25923
Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	ATCC 25922
	<i>Pseudomenas aeruginosa</i>	ATCC 27853

ATCC : American Type Culture Collection

4. 3. 2. Méthode de diffusion sur gélose

La méthode de diffusion sur milieu solide a été utilisée pour la détermination des activités antibactériennes des extraits (Rios *et al.*, 1988). La méthode de diffusion de l'agent antibactérien sur milieu gélosé, préalablement inoculé avec une bactérie à tester, c'est une technique qualitative permet de montrer la résistance ou la sensibilité de la souche bactérienne par rapport à l'agent antibactérien (Dickert *et al.*, 1981).

Chaque souche bactérienne a été cultivée dans le bouillon Mueller-Hinton (BMH) pendant 24 h à 37 °C, et puis chaque suspension bactérienne a été ajustée avec le BMH afin d'avoir des suspensions bactériennes ayant une absorbance de 0.08 à 625 nm. Dans des boîtes de Pétri et à l'aide d'un écouvillon stérile, l'ensemencement a été réalisé uniformément sur la gélose Mueller-Hinton.

Les extraits des pelures et des feuilles ont été dilués à raison de 100 mg/mL dans l'éthanol 96 % ou dans l'eau distillée stérile. Des disques de papier filtre stériles de 5 mm de diamètre ont été imprégnés d'extraits et laissés sécher complètement pendant 20 minutes, ensuite, ont été déposés sur la surface de la gélose ensemencée. Les boîtes ont été laissées à température ambiante pendant 30 minutes pour permettre la diffusion des extraits dans le milieu, puis incubées pendant 24 h à 37 °C. Des disques contenant de la céfoxitine (CX 30 µg/disque) et la céfazoline (CZ 30 µg/disque) ont été utilisés comme témoins positifs. Des disques imprégnés de l'éthanol à 96 % et de l'eau distillée stérile ont été utilisés comme témoins négatifs.

L'activité antibactérienne a été évaluée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition en millimètres.

4. 3. 3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice et de la concentration minimale bactéricide

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits ont été définies en utilisant la technique de microdilution décrite par Eloff (1998) avec quelques modifications. La détermination de la CMI a été faite pour les extraits qui présentaient une zone d'inhibition.

Les extraits ont été préparés dans l'éthanol 96 % ou dans l'eau distillée stérile pour avoir une concentration de 100 mg/mL. Un volume de 50 µL de chaque extrait a été dilué en série de 2 fois avec du BMH dans des microplaques de 96 puits. Par la suite, un volume de 50 µL de chaque inoculum bactérien a été ajouté à chaque puits.

Afin de contrôler l'adéquation du BMH pour la croissance des bactéries, nous avons ajouté un puits inoculé ; les extraits ont également été vérifiés qu'ils ne sont pas contaminés ; aussi un puits non inoculé et exempt d'extraits a également été ajouté pour garantir la stérilité du milieu de culture (Do Nascimento *et al.*, 2020).

Les microplaques ont ensuite été recouvertes et incubées à 37 °C pendant 24 h. La croissance bactérienne a été indiquée par la présence d'un culot au fond du puits. La CMI a été définie comme la plus faible concentration (mg/mL) de l'extrait empêchant une croissance visible (Mostafa *et al.*, 2018).

Les concentrations minimales bactéricides (CMB) ont été déterminées selon la méthode de Mostafa *et al.* (2018), avec quelques modifications. Des prélèvements ont été effectués à partir des puits qui ne présentaient aucune croissance visible et déposés sur la gélose Mueller Hinton. Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 h. La CMB a été considérée comme la concentration la plus faible qui ne présentait aucune croissance bactérienne sur les boîtes de gélose inoculées.

4. 4. Evaluation de l'activité anticoccidienne *in vivo*

Afin d'évaluer l'activité antiprotozoaires des pelures de *Punica granatum* et des feuilles d'*Olea europaea*, l'extrait hydro-éthanolique et la poudre de chaque plante ont été testés pour lutter contre la coccidiose cæcale aviaire, provoquée expérimentalement par l'espèce *Eimeria tenella*, chez le poulet de chair *Gallus gallus domesticus* (la souche Cobb 500).

4. 4. 1. Répartition des groupes

Les poussins, non sexés, ont été divisés depuis leur premier jour d'âge en 9 groupes contenant chacun 9 poussins. Les groupes concernés par les traitements à base de plantes ont reçu les extraits et les poudres via l'alimentation dès leur réception, au 1^{er} jour d'âge, jusqu'à la fin de l'expérimentation, au 35^e jour d'âge. Tous les poussins avaient un accès *ad libitum* à l'eau et à une nourriture exempte d'anticocciens (de démarrage, du 1^{er} au 12^e jour d'âge, et de croissance, pour les jours qui restent). Ils n'ont reçu aucun vaccin ni traitement médicamenteux.

La répartition a été faite comme la manière suivante :

- ✓ **Groupe (C)** : témoin négatif, non infecté non traité.
- ✓ **Groupe (I)** : témoin positif, infecté non traité.

- ✓ **Groupe (D)** : infecté, traité avec le diclazuril (ALGICOX® liquide où chaque 1 mL de produit contient 10 mg de diclazuril). Une concentration de 250 µL/L d'eau de boisson a été administrée après 48 h de l'infection expérimentale pour 5 jours consécutifs (Wang *et al.*, 2018).
- ✓ **Groupe (P1)** : infecté, traité avec l'extrait éthanolique 70 % de pelures de *P. granatum* (400 mg d'extrait / kg d'aliment).
- ✓ **Groupe (P2)** : infecté, traité avec l'extrait éthanolique 70 % de pelures de *P. granatum* (800 mg d'extrait / kg d'aliment).
- ✓ **Groupe (P3)** : infecté, traité avec la poudre de pelures de *P. granatum* (4 g de poudre / kg d'aliment).
- ✓ **Groupe (O1)** : infecté, traité avec l'extrait éthanolique 70 % de feuilles d'*O. europaea* (400 mg d'extrait / kg d'aliment).
- ✓ **Groupe (O2)** : infecté, traité avec l'extrait éthanolique 70 % de feuilles d'*O. europaea* (800 mg d'extrait / kg d'aliment).
- ✓ **Groupe (O3)** : infecté, traité avec la poudre de feuilles d'*O. europaea* (4 g de poudre / kg d'aliment).

4. 4. 2. Préparation des oocystes infectieux

À partir des poulets de chair touchés par la coccidiose cæcale, des échantillons cæcaux infectés avec des lésions de +4 ont été collectés de chez des vétérinaires de l'Eulma (Sétif).

La récupération et l'isolement des oocystes de coccidies ont été comme suit :

- ✓ Après l'incision des cæca infectés et pour assurer la prise d'une grande quantité des oocystes présents, un raclage profond de la muqueuse a été effectué, et puis, dans un mortier, une bonne homogénéisation a été faite avec un volume de solution de dichromate de potassium ($K_2Cr_2O_7$) préparé à une concentration de 2.5 %.
- ✓ Après la mise du mélange (échantillon + $K_2Cr_2O_7$) en repos pendant une nuit, une filtration à travers une passoire à thé a été faite, puis le filtrat a été laissé sédimenter pour 4 à 5 h dans les tubes coniques de 50 mL. Ensuite, le surnageant a été décanté pour poursuivre le travail sur le culot.

- ✓ L'isolement des oocystes a été réalisé sur la base de la technique d'enrichissement où nous avons remis le culot dans une solution de chlorure de sodium (NaCl) saturée à une concentration de 40 % pour permettre la flottation des oocystes, ayant une faible densité, à la surface du liquide d'enrichissement. Cette technique est très utilisée en médecine vétérinaire pour l'examen coprologique. Le culot a été bien mélangé avec la solution de NaCl 40 %, puis le volume a été complété jusqu'à 50 mL et laissé reposer de 3 à 5 minutes, ensuite la couche superficielle, riche en oocystes, a été récupérée à l'aide d'une micropipette.
- ✓ Afin d'éliminer le chlorure de sodium, la suspension recueillie a été bien mélangée avec de l'eau distillée, puis gardée pendant une nuit pour permettre la sédimentation des oocystes au fond des tubes coniques.
- ✓ Après le repos, le surnagent a été décanté et le culot contenant les oocystes a été re-suspendu dans le dichromate de potassium (Mahmood *et al.*, 2001).
- ✓ Les oocystes doivent être sporulés pour qu'ils soient contaminants, pour cela, le mélange (oocystes + $K_2Cr_2O_7$) a été mis dans des pots en plastique à température ambiante pour sept jours (Carvalho *et al.*, 2011) et remué régulièrement pour but de bien l'oxygéner.
- ✓ Après la sporulation, la suspension oocystale a été stockée à 4 °C de température dans le $K_2Cr_2O_7$ (2.5 %) pour maintenir la viabilité des oocystes de deux à six mois selon l'espèce de coccidies (Conway et McKenzie, 2007).
- ✓ Cette suspension d'oocystes a été utilisée pour effectuer la propagation du parasite.

4. 4. 3. Propagation des oocystes d'*Eimeria*

Pour but d'obtenir une suspension oocystale de l'espèce *Eimeria tenella* plus pure pour l'identification morphométrique, ainsi une charge oocystale suffisante pour tester l'activité anticoccidienne des deux plantes, nous avons procédé à une propagation. Les oocystes isolés, comme décrit auparavant des poulets de chair infectés naturellement, ont été utilisés.

Après deux lavages de la suspension oocystale avec de l'eau distillée, pour éliminer le dichromate de potassium, les oocystes sporulés obtenus ont été prêts pour la propagation.

Au 14^e jour d'âge et à l'aide d'une micropipette, une charge de 25000 oocystes sporulés/mL a été administrée par voie orale à chaque poussin de poulet de chair (9 poussins) (Abu-Akkada et Awad, 2012).

Au 8^e jour post infestation (J.P.I.), les poussins ont été sacrifiés et autopsiés, les cæca ont été prélevés, et leur contenu a été collecté, préparé pour la sporulation, puis conservé comme décrit précédemment, en vue d'une utilisation ultérieure. Les oocystes récupérés de cette étape ont ensuite été propagés encore une nouvelle fois en suivant les mêmes étapes.

4. 4. 4. Identification des espèces *Eimeria* par morphométrie

Après la dernière propagation des oocystes, l'identification des espèces présentes dans l'échantillon parasite a été réalisée afin de confirmer que l'espèce dominante est *E. tenella*.

La diarrhée hémorragique est un signe caractéristique de la coccidiose cæcale. *E. tenella* se localise au niveau des cæca, cette partie a été bien examinée de l'extérieur et de l'intérieur pour permettre de confirmer les lésions caractéristiques induits par cette espèce en se basant sur les critères décrits par Johnson et Reid (1970) (cf. 4. 4. 7. 3. 2. Scores lésionnels).

Pour l'identification morphométrique des espèces présentes dans l'échantillon, la taille des oocystes sporulés a été prise. À l'aide d'un micromètre oculaire, et à une magnification de $\times 400$, la longueur et la largeur de chaque oocyste ont été prises et le rapport longueur / largeur a été calculé, puis les résultats ont été comparés avec les tailles données par Reid *et al.* (1978) (**tableau 04**). La taille de 197 oocystes sporulés sélectionnés au hasard a été prise dans cette étude.

Tableau 4. Taille des oocystes d'*Eimeria* sp. (Reid *et al.*, 1978)

Espèces	Extrêmes (µm)		Moyennes (µm)		Longueur/Largeur
	Longueur	Largeur	Longueur	Largeur	
<i>Eimeria mitis</i>	14.3	13	16.2	16	1.01
	19.6	17			
<i>Eimeria maxima</i>	21.5	16.5	30.5	20.7	1.47
	42.5	29.8			
<i>Eimeria tenella</i>	19.5	16.5	22	19	1.16
	26	22.8			
<i>Eimeria acervulina</i>	17.7	13.7	18.3	14.6	1.25
	20.2	16.3			
<i>Eimeria praecox</i>	19.8	15.7	21.3	17.1	1.24
	24.7	19.8			
<i>Eimeria necatrix</i>	13.2	11.3	20.4	17.2	1.19
	22.7	18.3			
<i>Eimeria hagani</i>	15.8	14.3	19.1	17.6	1.08
	20.9	19.5			
<i>Eimeria brunetti</i>	20.7	18.1	24.6	18.8	1.31
	30.3	24.2			
<i>Eimeria mivati</i>	11.1	10.5	15.6	13.4	1.16
	19.9	16.2			

4. 4. 5. Comptage des oocystes

Pour obtenir une concentration précise d'oocystes infectieux par millilitre d'eau distillée, nous avons dénombré les oocystes sporulés à l'aide d'une cellule de Malassez.

L'inoculum obtenu de la dernière propagation a été bien lavé à l'eau distillée pour éliminer la solution de conservation ($K_2Cr_2O_7$). Ensuite, 0.5 mL de cet inoculum a été complété jusqu'à 5 mL avec le liquide d'enrichissement (NaCl 40 %) et bien mélangé. Les deux chambres de l'hématimètre de Malassez (1 µL / chambre) ont été remplies à l'aide d'une micropipette. L'échantillon a été laissé reposer pendant 3 min afin de permettre aux

oocytes de remonter à la surface, facilitant ainsi le comptage. Trois comptages ont été effectués.

4. 4. 6. Inoculation des poussins

Au 13^e jour d'âge (un jour avant l'inoculation) des échantillons fécaux ont été prélevés et analysés pour confirmer l'absence de coccidies.

L'administration orale de l'inoculum infectieux a été faite au 14^e jour d'âge à l'aide d'une micropipette. Les groupes de l'essai ont été privés de nourriture la veille de l'infestation, et chaque poussin des groupes concernés a été inoculé avec 1 mL de l'inoculum contenant 75000 d'oocystes sporulés. Le bec a été maintenu fermé quelques secondes pour empêcher le rejet de l'échantillon administré. Les poussins du groupe témoin négatif, non infectés non traités, ont reçu 1 mL d'eau distillée.

4. 4. 7. Paramètres pour évaluer l'efficacité antiparasitaire des deux plantes

L'efficacité des extraits hydro-éthanoliques et des poudres de pelures de *P. granatum* et de feuilles d'*O. europaea* contre la coccidiose aviaire provoquée par *E. tenella* a été évaluée par plusieurs paramètres.

Les jours de sacrifice étaient le 7^e, le 14^e, et le 21^e jours post infection. Après une mise à jeun la veille, les poussins ont été pesés, puis, sacrifiés et leurs cæca ont été examinés et prélevés pour une étude histopathologique ultérieure.

4. 4. 7. 1. Paramètres cliniques

Après l'administration de l'inoculum infectieux (le 14^e jour d'âge), les poussins ont été observés individuellement et les mortalités ont été suivies quotidiennement durant les 21 jours suivant l'inoculation.

4. 4. 7. 2. Paramètres zootechniques

4. 4. 7. 2. 1. Croissance pondérale

Pour suivre l'évolution du poids vif moyen des poussins, des pesées individuelles ont été prises chaque 7 jours, au 1^{er}, 7^e, 14^e, 21^e, 28^e et 35^e jour d'âge.

4. 4. 7. 2. 2. Consommation alimentaire

Les poussins ont reçu un aliment sans anticoccidien chimique, distribué *ad libitum*, toute la période de l'essai. La quantité d'aliment consommée après l'infection par chaque groupe a été calculée chaque semaine en faisant la différence entre la quantité distribuée et le reste.

4. 4. 7. 2. 3. Gain pondéral

Le gain de poids (GP) des poussins durant l'infestation a été calculé chaque semaine selon la formule (4) suivante :

$$GP \text{ (g)} = \text{le poids final} - \text{le poids initial} \quad (4)$$

4. 4. 7. 2. 4. Indice de consommation

L'indice de consommation (IC) est le rapport qui mesure la conversion de la quantité d'aliment consommée en poids vif corporel. L'IC de chaque semaine après l'infection a été calculé comme dans la formule (5) suivante :

$$IC = \frac{\text{Quantité d'aliment consommée durant une semaine (g)}}{\text{Gain de poids durant la même semaine (g)}} \quad (5)$$

4. 4. 7. 3. Paramètres parasitologiques

4. 4. 7. 3. 1. Comptage du nombre des oocystes par gramme de fèces

La quantification des oocystes d'*Eimeria tenella* par gramme de fèces (OPG) a été réalisée en passant par les étapes suivantes :

- ✓ Pour chaque groupe, 30 g de fientes ont été collectés du 5^e jour post infection jusqu'au 9^e jour post infection, puis bien homogénéisés. 5 g ont été prélevés pour l'examen quantitatif, ces 5 g de fientes ont été mélangés avec de l'eau pour obtenir un volume final de 50 mL.
- ✓ Après un repos de 24 h à 4 °C, le mélange a été agité vigoureusement, ensuite filtré à travers une passoire pour éliminer les gros débris, puis ajusté jusqu'à un volume de 50 mL.

- ✓ Après un repos de 4 h à 4 °C, le surnagent a été décanté et le sédiment a été re-suspendu dans le NaCl saturé (40 %) pour obtenir un volume final de 50 mL.
- ✓ À l'aide d'une micropipette, la chambre de comptage de la cellule de Malassez a été remplie. Trois lectures ont été réalisées pour chaque échantillon, sous une magnification de ×400.

Le nombre des OPG de fèces a été calculé selon l'équation (6) suivante :

$$\text{OPG} = \frac{n \times 50000}{5} \quad (6)$$

50000 : le volume final de la solution en µL;

5 : le poids pris des fientes (g);

n : le nombre des oocystes par µL.

4. 4. 7. 3. 2. Scores lésionnels

Les jours du sacrifice, 7^e, 14^e et 21^e après l'inoculation, deux ou trois poussins de chaque groupe ont été choisis au hasard et sacrifiés pour la notation des lésions de 0 à +4 afin d'évaluer l'efficacité des deux plantes testées contre la coccidiose cæcale.

Les scores lésionnels causés par *E. tenella* au niveau des cæca sont évalués selon l'échelle décrite par Johnson et Reid (1970) comme suivant :

- ✓ 0 : une paroi cæcale sans lésions et une matières fécale normale;
- ✓ +1 : des pétéchies discrètes sur la paroi cæcale, un contenu fécal normal et aucun épaissement des parois;
- ✓ +2 : des pétéchies plus abondantes sur la paroi cæcale, un contenu fécal normal mélangé avec peu de sang et une paroi cæcale légèrement épaissie;
- ✓ +3 : la présence du sang coagulé dans les cæca avec un peu de matières fécal, la présence des débris tissulaires et une paroi cæcale distendue;
- ✓ +4 : l'absence totale de la matière fécale, les cæca sont totalement occupés par du sang liquide et coagulé mélangé avec les débris tissulaires et une paroi cæcale fortement distendue.

4. 4. 8. Etude histopathologique des cæca

Les coupes histologiques ont été préparées au niveau du laboratoire d'anatomopathologie de CHU de Sétif.

Les cæca ont été fixés dans du formol à 10 %, déshydratés par passage dans des bains d'éthanol à concentrations croissantes, puis du xylène pour préparer l'inclusion dans la paraffine. Ensuite, les blocs de paraffine formés ont été découpés à l'aide d'un microtome pour obtenir des coupes fines de 5 µm d'épaisseur, puis ces coupes ont été déposées sur des lames, déparaffinées, réhydratées et colorées à l'hématoxyline-éosine (H&E).

5. Etude statistique

Les résultats des tests effectués *in vitro* sont exprimés en moyenne $\pm$ erreur standard (SD) et *in vivo* en moyenne $\pm$ erreur standard de la moyenne (SEM). Le logiciel Graph Pad Prisme 5 a été utilisé pour toutes les analyses statistiques. La signification des données recueillies a été analysée par le teste d'analyse de la variance (ANOVA) suivie du test de Tukey à un seuil de 5 %. Dans certaines analyses, le test de Student a également été utilisé au même seuil.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Résultats

1. 1. Rendement d'extraction et dosage des polyphénols, des flavonoïdes, des flavonols et des tanins totaux

Le rendement des extraits éthanoliques 70 % préparés à partir des pelures de *Punica granatum* et des feuilles d'*Olea europaea* est respectivement de 54.13 et 42.45 % (**tableau 05**).

Concernant les pelures de grenade, les taux d'extraction des différentes fractions, d'éther diéthylique (DP), d'acétate d'éthyle (AP) et de n-butanol (BP), sont respectivement les suivants : 0.71, 8.2 et 11.83 % (**tableau 05**).

À l'égard des feuilles d'olivier, les taux d'extraction étaient de 1.22, 7.27 et 5 % pour les fractions d'éther diéthylique (DO), d'acétate d'éthyle (AO) et de n-butanol (BO), respectivement (**tableau 05**).

Tableau 5. Rendement des extraits de pelures de *P. granatum* et de feuilles d'*O. europaea*

	Rendements (%)	
	<i>P. granatum</i>	<i>O. europaea</i>
Extrait éthanolique 70%	54.13	42.45
Extrait d'éther diéthylique	0.71	1.22
Extrait d'acétate d'éthyle	8.2	7.27
Extrait butanolique	11.83	5

À propos du dosage des composés phytochimiques, les résultats indiqués dans les **tableaux 06 et 07** montrent qu'il existe une grande variabilité dans les concentrations des polyphénols, des flavonoïdes, des flavonols et des tanins totaux présentes dans les deux extraits bruts et leurs fractions. Au regard de ces résultats, nous constatons que les extraits de pelures de *P. granatum* sont plus riches en composés bioactifs par rapport aux extraits des feuilles d'*O. europaea*.

Pour les pelures de grenade (**tableau 06**), les concentrations en polyphénols totaux sont estimées à 543.43 ± 4.33 , 643.3 ± 9.96 , 753.89 ± 22.07 et 677.55 ± 27.39 µg EAG/mg d'extrait pour les extraits (P), (DP), (AP) et (BP), respectivement ; sachant que, l'extrait (AP) a montré une concentration significativement élevée ($P < 0.05$) en comparaison avec les autres extraits de la même plante.

La teneur en flavonoïdes est estimée à 69.33 ± 9.57 , 78.97 ± 9.97 , 70.64 ± 2.99 et 93.48 ± 3.7 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour les extraits (P), (DP), (AP) et (BP), respectivement, où l'extrait butanolique est significativement plus riche en flavonoïdes.

La teneur en flavonols est estimée à 15.22 ± 0.56 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour (P), 31.32 ± 1.79 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour (DP), 8.72 ± 0.22 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour (AP) et 21.84 ± 0.00 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour (BP). L'analyse statistique a révélé que l'extrait d'éther diéthylique présente un taux significativement élevé ($P < 0.05$).

Les teneurs en tanins totaux varient de 88.62 ± 4.48 à 107.66 ± 3.03 $\mu\text{g EAT/mg}$ d'extrait avec aucune variation significative au seuil de 5%.

Tableau 6. Teneur en polyphénols, flavonoïdes, flavonols et tanins totaux des extraits de pelures de *Punica granatum*

Extraits	Polyphénols totaux ($\mu\text{g EAG/mg}$)	Flavonoïdes totaux ($\mu\text{g EQ/mg}$)	Flavonols ($\mu\text{g EQ/mg}$)	Tanins totaux ($\mu\text{g EAT/mg}$)
P	543.43 ± 4.33^c	69.33 ± 9.57^b	15.22 ± 0.56^c	88.62 ± 4.48^a
DP	643.3 ± 9.96^b	78.97 ± 9.97^b	31.32 ± 1.79^a	96.6 ± 13.65^a
AP	753.89 ± 22.07^a	70.64 ± 2.99^b	8.72 ± 0.22^d	107.66 ± 3.03^a
BP	677.55 ± 27.39^b	93.48 ± 3.7^a	21.84 ± 0^b	106.95 ± 0.4^a

P: extrait éthanolique 70%, **DP:** extrait d'éther diéthylique, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle, **BP:** extrait butanolique. $\mu\text{g EAG/mg}$: microgramme équivalent acide gallique/milligramme d'extrait, $\mu\text{g EQ/mg}$: microgramme équivalent quercétine/milligramme d'extrait, $\mu\text{g EAT/mg}$: microgramme équivalent acide tannique/milligramme d'extrait. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD ($n=3$). Les valeurs désignées avec les mêmes lettres dans la même colonne indiquent que la différence n'est pas significative ($P > 0.05$).

Pour les feuilles d'*O. europaea* (**tableau 07**), l'étude quantitative des polyphénols totaux a permis d'estimer des concentrations de 118.47 ± 17.66 , 423.04 ± 32.15 , 745.13 ± 21.73 et 180.95 ± 0.98 $\mu\text{g EAG/mg}$ d'extrait pour les extraits (O), (DO), (AO) et (BO), respectivement. L'analyse statistique a révélé que l'extrait d'acétate d'éthyle présente un taux significativement élevé ($P < 0.05$) par rapport aux autres extraits de la même plante. En ce qui concerne les teneurs en flavonoïdes et en flavonols, elles sont de 24.95 ± 2.82 et 10.97 ± 1.49 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour (O), 49.69 ± 4.07 et 21.71 ± 1.49 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour (DO), 43.28 ± 3.33 et 19.93 ± 1.87 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour (AO), et 54.66 ± 2.96 et 27.73 ± 1.82 $\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait pour (BO). Les teneurs les plus élevées en flavonoïdes et en flavonols ont été trouvées dans l'extrait butanolique.

La concentration en tanins a été estimée à 65.59 ± 11.96 , 82.61 ± 2.21 , 78.57 ± 8.89 et 80.79 ± 4.29 $\mu\text{g EAT/mg}$ d'extrait pour (O), (DO), (AO) et (BO), respectivement.

En notant que l'extrait (DO) a montré la concentration la plus élevée, aucune différence significative n'a été détectée entre les extraits d'*O. europaea*.

Tableau 7. Teneur en polyphénols, flavonoïdes, flavonols et tanins totaux des extraits de feuilles d'*Olea europaea*

Extraits	Polyphénols totaux (µg EAG/mg)	Flavonoïdes totaux (µg EQ/mg)	Flavonols (µg EQ/mg)	Tanins totaux (µg EAT/mg)
O	118.47±17.66 ^d	24.95±2.82 ^c	10.97±1.49 ^c	65.59±11.96 ^a
DO	423.04±32.15 ^b	49.69±4.07 ^a	21.71±1.49 ^b	82.61±2.21 ^a
AO	745.13±21.73 ^a	43.28±3.33 ^b	19.93±1.87 ^b	78.57±8.89 ^a
BO	180.95±0.98 ^c	54.66±2.96 ^a	27.73±1.82 ^a	80.79±4.29 ^a

O: extrait éthanolique 70%, DO: extrait d'éther diéthylique, AO: extrait d'acétate d'éthyle, BO: extrait butanolique. µg EAG/mg: microgramme équivalent acide gallique/milligramme d'extrait, µg EQ/mg: microgramme équivalent quercétine/milligramme d'extrait, µg EAT/mg: microgramme équivalent acide tannique/milligramme d'extrait. Chaque valeur est exprimée en moyenne ± SD (n=3). Les valeurs désignées avec les mêmes lettres dans la même colonne indiquent que la différence n'est pas significative ($P>0.05$).

1. 2. Les Activités antioxydantes *in vitro*

Pour évaluer l'activité antioxydante des extraits des pelures de *P. granatum* et des feuilles d'*O. europaea*, cinq méthodes ont été testées dans la présente étude. Les valeurs dans ces tests sont déterminées graphiquement à partir de la courbe réalisée en fonction des concentrations des extraits et leurs pourcentages d'inhibition respectifs pour $CI_{50\%}$ (la concentration inhibant 50% de radicaux libres) et en fonction des concentrations des extraits et leurs absorbances respectives pour $C_{A0.5}$ (la concentration indiquant une absorbance de 0.5). Nous avons remarqué que le taux d'inhibition ou de réduction augmente avec l'augmentation des concentrations des extraits.

1. 2. 1. Test de piégeage du radical DPPH[•]

Les pourcentages d'inhibition du DPPH[•] en fonction des différentes concentrations des extraits de pelures de *P. granatum* sont présentés dans la **figure 21 (A)** et ceux des extraits de feuilles d'*O. europaea* sont illustrés dans la **figure 21 (B)**.

À la concentration 12.5 µg/mL, le pourcentage d'inhibition varie de 72.07 ± 4.22 à 86.64 ± 0.65 % pour les extraits de *P. granatum* et de 19.48 ± 1.83 à 62.32 ± 1.01 % pour les extraits d'*O. europaea*. Nous avons remarqué que les extraits d'*O. europaea* ont montré une activité antiradicalaire plus faible par rapport aux extraits de *P. granatum*.

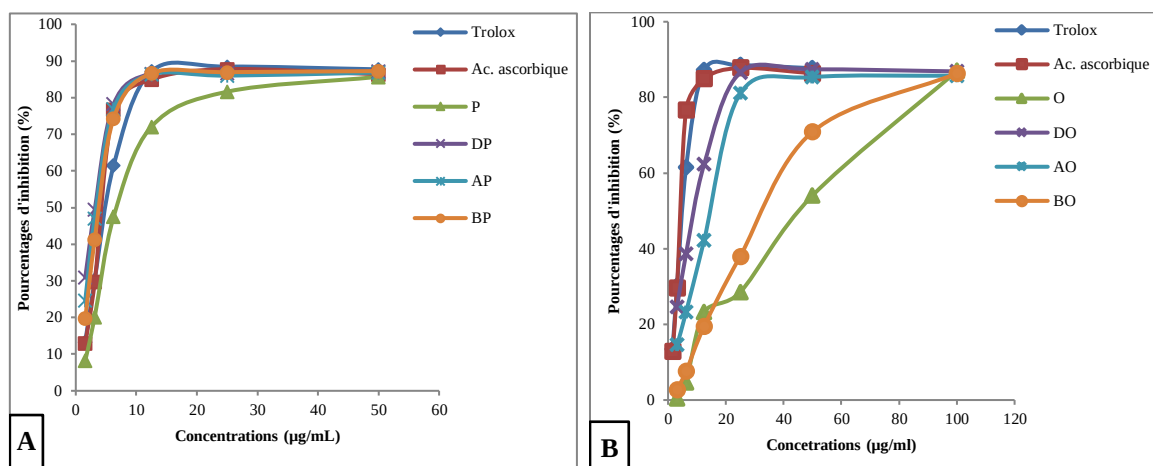


Figure 21. Pourcentages d'inhibition du radical DPPH* par les extraits de pelures de *Punica granatum* (A) et de feuilles d'*Olea europaea* (B)

P: extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum*, **DP:** extrait d'éther diéthylique des pelures de *P. granatum*, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle des pelures de *P. granatum*, **BP:** extrait butanolique des pelures de *P. granatum*, **O:** extrait éthanolique 70% des feuilles d'*O. europaea*, **DO:** extrait d'éther diéthylique des feuilles d'*O. europaea*, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. europaea*, **BO:** extrait butanolique des feuilles d'*O. europaea*. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3).

Les fractions de *P. granatum* évaluées, (DP) ($CI_{50\%}$: 3.36 ± 0.11 µg/mL), (AP) ($CI_{50\%}$: 3.69 ± 0.11 µg/mL) et (BP) ($CI_{50\%}$: 4.07 ± 0.08 µg/mL) (**figure 22 (A)**), ont montré une activité antiradicalaire puissante vis-à-vis du radical. Cette efficacité était significative à $P < 0.05$ par rapport à celle exprimée par l'extrait éthanolique 70 % ($CI_{50\%}$: 7.96 ± 0.68 µg/mL) et l'antioxydant standard trolox ($CI_{50\%}$: 5.12 ± 0.21 µg/mL). Nous avons noté aussi que les fractions (AP) et (BP) n'ont pas présenté de signification en comparant avec l'acide ascorbique ($CI_{50\%}$: 4.39 ± 0.01 µg/mL).

Les extraits d'*O. europaea* évalués ont présenté une activité antiradicalaire significativement inférieure par rapport à celle du trolox et de l'acide ascorbique (**figure 22 (B)**), sachant qu'ils ont enregistré des variations significatives ($P < 0.05$) entre eux même. Les extraits sont dans l'ordre de puissance suivant: DO ($CI_{50\%}$: 9.31 ± 0.44 µg/mL) > AO ($CI_{50\%}$: 14.96 ± 0.39 µg/mL) > BO ($CI_{50\%}$: 34.45 ± 0.48 µg/mL) > O ($CI_{50\%}$: 49.78 ± 0.38 µg/mL).

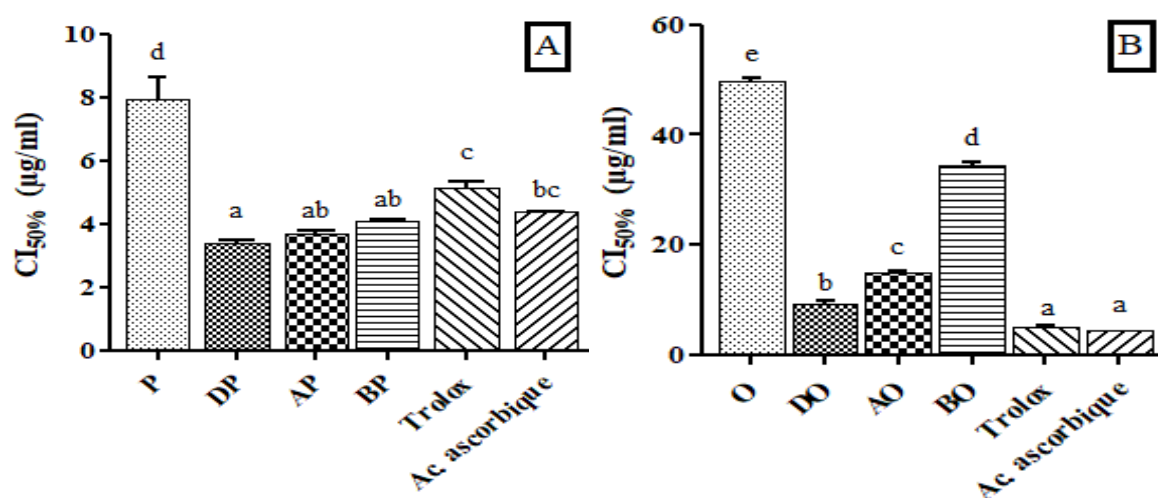


Figure 22. Activité antiradicalaire des extraits de pelures de *Punica granatum* (A) et de feuilles d'*Olea europaea* (B) vis-à-vis du radical DPPH[•]

P: extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum*, **DP:** extrait d'éther diéthylique des pelures de *P. granatum*, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle des pelures de *P. granatum*, **BP:** extrait butanolique des pelures de *P. granatum*, **O:** extrait éthanolique 70% des feuilles d'*O. europaea*, **DO:** extrait d'éther diéthylique des feuilles d'*O. europaea*, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. europaea*, **BO:** extrait butanolique des feuilles d'*O. europaea*. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3). CI₅₀%: concentration inhibant 50% des radicaux. Les colonnes ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes ($P < 0.05$).

1. 2. 2. Test de piégeage du radical ABTS^{•+}

Dans la présente étude, le pourcentage de piégeage du radical ABTS^{•+} à la concentration 25 µg/mL (**figure 23**) varie de 89.91 ± 0.51 à 94.01 ± 0.14 % pour les extraits de pelures de la grenade et de 58.76 ± 0.00 à 93.00 ± 0.26 % pour les extraits de feuilles de l'olivier.

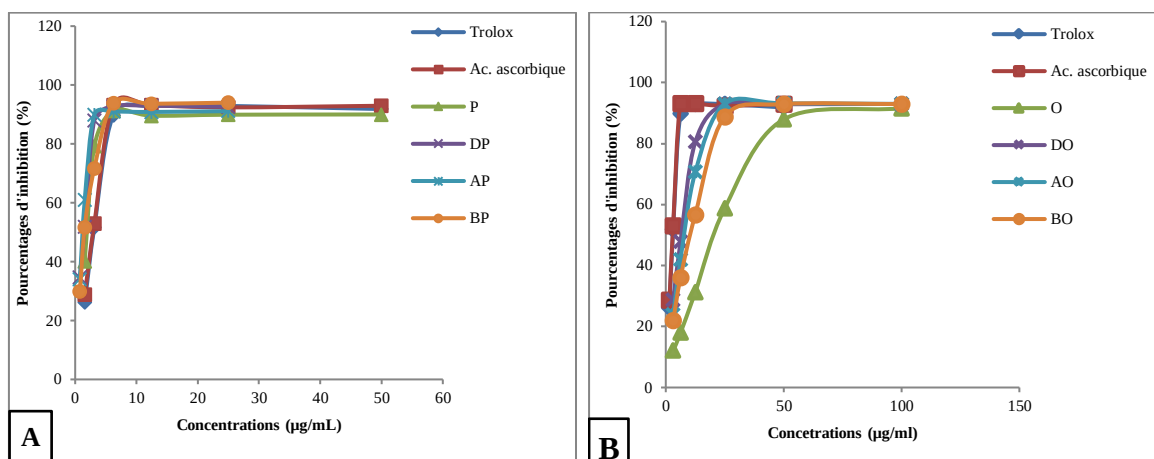


Figure 23. Pourcentages d'inhibition du radical ABTS^{•+} par les extraits de pelures de *Punica granatum* (A) et de feuilles d'*Olea europaea* (B)

P: extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum*, **DP:** extrait d'éther diéthylique des pelures de *P. granatum*, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle des pelures de *P. granatum*, **BP:** extrait butanolique des pelures de *P. granatum*, **O:** extrait éthanolique 70% des feuilles d'*O. europaea*, **DO:** extrait d'éther diéthylique des feuilles d'*O. europaea*, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. europaea*, **BO:** extrait butanolique des feuilles d'*O. europaea*. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3).

Les résultats révèlent que les extraits de *P. granatum* ont présenté une excellente activité de piégeage du radical ABTS^{•+} avec des CI_{50%} de 1.26 ± 0.04 µg/mL pour (AP), 1.46 ± 0.10 µg/mL pour (DP), 1.51 ± 0.08 µg/mL pour (BP) et 1.60 ± 0.19 µg/mL pour (P) (**figure 24 (A)**), cette activité est significativement supérieure ($P < 0.05$) par rapport à celle des standards qui ont montré des valeurs de 3.04 ± 0.05 µg/mL pour l'acide ascorbique et de 3.21 ± 0.06 µg/mL pour le trolox.

En ce qui concerne l'activité des extraits d'*O. europaea* (**figure 24 (B)**), des différences significatives ont été observées à $P < 0.05$. Les extraits (DO), (AO), (BO) et (O) ont présenté des CI_{50%} de 6.89 ± 0.39 , 8.22 ± 0.22 , 10.80 ± 0.43 et 20.91 ± 0.32 µg/mL, respectivement. Bien que ces extraits montrent une activité efficace de piégeage du radical ABTS^{•+}, celle-ci reste significativement inférieure par rapport aux standards.

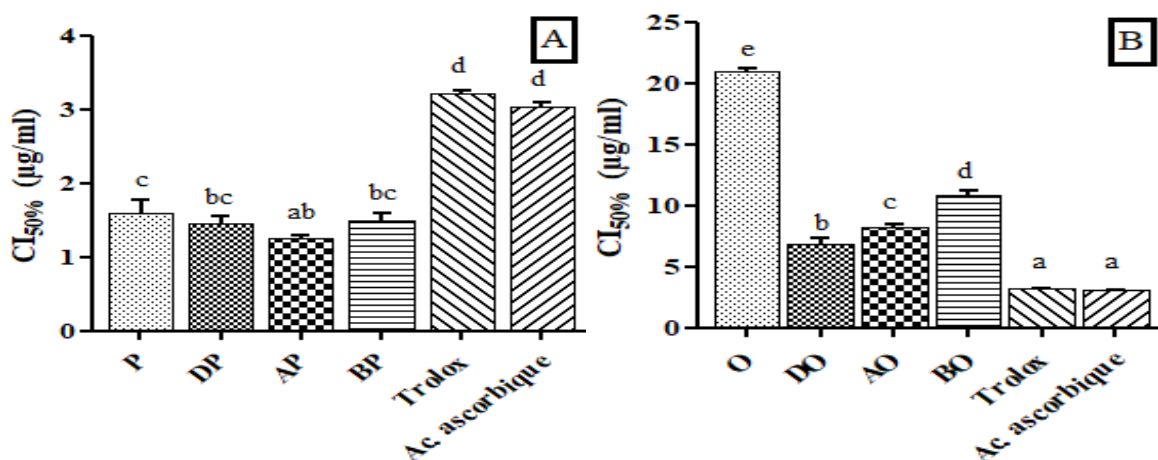


Figure 24. Activité antiradicalaire des extraits de pelures de *Punica granatum* (A) et de feuilles d'*Olea europaea* (B) vis-à-vis du radical ABTS^{•+}

P: extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum*, **DP:** extrait d'éther diéthylique des pelures de *P. granatum*, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle des pelures de *P. granatum*, **BP:** extrait butanolique des pelures de *P. granatum*, **O:** extrait éthanolique 70% des feuilles d'*O. europaea*, **DO:** extrait d'éther diéthylique des feuilles d'*O. europaea*, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. europaea*, **BO:** extrait butanolique des feuilles d'*O. europaea*. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3). CI₅₀%: concentration inhibant 50% des radicaux. Les colonnes ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes ($P < 0.05$).

1. 2. 3. Test de capacité de réduction du cuivre (CUPRAC)

Dans ce travail, le taux de réduction du cuivre augmente avec la concentration des extraits (**figure 25**). À la concentration 25 µg/mL, les extraits de *P. granatum* ont présenté des absorbances comprises entre 1.25 ± 0.02 et 2.28 ± 0.06 , et à la concentration 100 µg/mL, les extraits d'*O. europaea* ont présenté des absorbances comprises entre 1.25 ± 0.25 et 3.16 ± 0.09 .

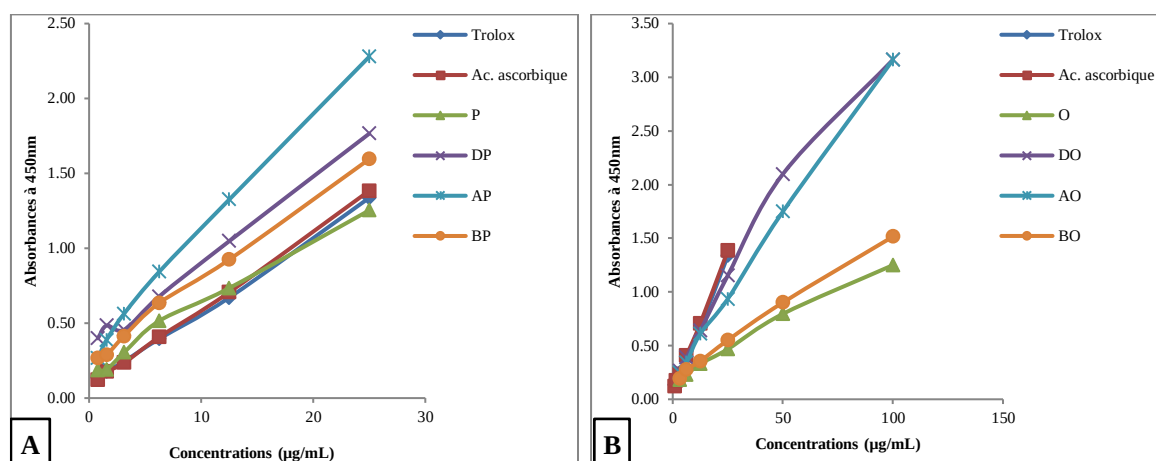


Figure 25. Variation des absorbances en fonction des concentrations des extraits de pelures de *Punica granatum* (A) et de feuilles d'*Olea europaea* (B) dans le test du CUPRAC

P: extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum*, **DP:** extrait d'éther diéthylique des pelures de *P. granatum*, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle des pelures de *P. granatum*, **BP:** extrait butanolique des pelures de *P. granatum*, **O:** extrait éthanolique 70% des feuilles d'*O. europaea*, **DO:** extrait d'éther diéthylique des feuilles d'*O. europaea*, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. europaea*, **BO:** extrait butanolique des feuilles d'*O. europaea*. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3).

La **figure 26 (A)** présente les $C_{A0.5}$ des extraits des pelures. L'extrait (AP) ($C_{A0.5}$: 2.59 ± 0.20 µg/mL) a montré une capacité de réduction significativement forte suivi par les extraits (DP) ($C_{A0.5}$: 3.62 ± 0.36 µg/mL), (BP) ($C_{A0.5}$: 4.33 ± 0.22 µg/mL) et (P) ($C_{A0.5}$: 6.02 ± 0.20 µg/mL). En outre, l'activité des extraits de *P. granatum* est significativement supérieure en comparaison avec celle du trolox ($C_{A0.5}$: 8.69 ± 0.14 µg/mL) et de l'acide ascorbique ($C_{A0.5}$: 8.31 ± 0.15 µg/mL) ($P < 0.05$).

Pour les extraits d'*O. europaea* (**figure 26 (B)**), (DO) ($C_{A0.5}$: 8.97 ± 0.62 µg/mL) et (AO) ($C_{A0.5}$: 9.97 ± 0.95 µg/mL) ont marqué une bonne activité de réduction du cuivre, sans différence significative par rapport aux standards ; par contre, les extraits (BO) ($C_{A0.5}$: 22.18 ± 1.43 µg/mL) et (O) ($C_{A0.5}$: 26.91 ± 2.19 µg/mL) ont significativement démontré l'activité la plus faible.

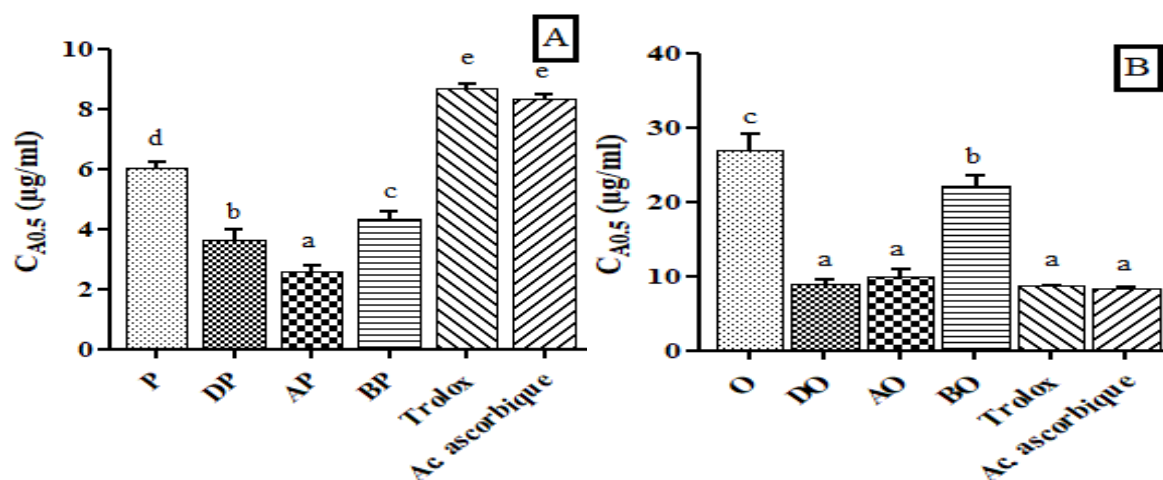


Figure 26. Les $C_{A0.5}$ des extraits de pelures de *Punica granatum* (A) et de feuilles d'*Olea europaea* (B) dans le test CUPRAC

P: extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum*, **DP:** extrait d'éther diéthylique des pelures de *P. granatum*, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle des pelures de *P. granatum*, **BP:** extrait butanolique des pelures de *P. granatum*, **O:** extrait éthanolique 70% des feuilles d'*O. europaea*, **DO:** extrait d'éther diéthylique des feuilles d'*O. europaea*, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. europaea*, **BO:** extrait butanolique des feuilles d'*O. europaea*. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3). $C_{A0.5}$: concentration indiquant une absorbance de 0.5. Les colonnes ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes ($P < 0.05$).

1. 2. 4. Test de la phénanthroline

Pour le test de la phénanthroline, le taux de réduction du fer (**figure 27**) varie de 0.81 ± 0.02 à 1.16 ± 0.06 , à la concentration 6.25 µg/mL, pour les extraits de *P. granatum* et de 0.89 ± 0.08 à 2.50 ± 0.10 , à la concentration 100 µg/mL, pour les extraits d'*O. europaea*.

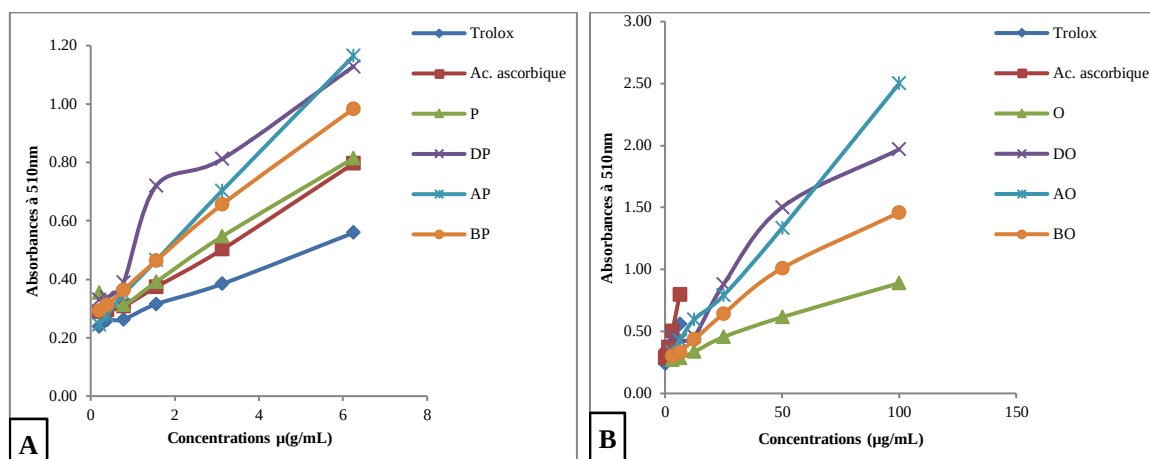


Figure 27. Variation des absorbances en fonction des concentrations des extraits de pelures de *Punica granatum* (A) et de feuilles d'*Olea europaea* (B) dans le test de la phenanthroline

P: extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum*, **DP:** extrait d'éther diéthylique des pelures de *P. granatum*, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle des pelures de *P. granatum*, **BP:** extrait butanolique des pelures de *P. granatum*, **O:** extrait éthanolique 70% des feuilles d'*O. europaea*, **DO:** extrait d'éther diéthylique des feuilles d'*O. europaea*, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. europaea*, **BO:** extrait butanolique des feuilles d'*O. europaea*. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3).

Les extraits de *P. granatum* (**figure 28 (A)**) ont présenté une forte activité en réduisant le fer. L'extrait (DP) est significativement plus puissant ($P < 0.05$) par rapport aux autres extraits de la même plante, au trolox ($C_{A0.5}$: 5.21 ± 0.27 $\mu\text{g/mL}$) et à l'acide ascorbique ($C_{A0.5}$: 3.08 ± 0.02 $\mu\text{g/mL}$) montrant une $C_{A0.5}$ de 1.04 ± 0.10 $\mu\text{g/mL}$. L'ordre de l'activité des extraits est le suivant : DP $>$ AP ($C_{A0.5}$: 1.78 ± 0.08 $\mu\text{g/mL}$) $>$ BP ($C_{A0.5}$: 1.88 ± 0.20 $\mu\text{g/mL}$) $>$ P ($C_{A0.5}$: 2.71 ± 0.06 $\mu\text{g/mL}$). Nous notons que l'efficacité de l'extrait (P) ne présente pas de différence significative en comparaison avec celle de l'acide ascorbique.

Quant aux extraits d'*O. europaea* (**figure 28 (B)**), les valeurs de $C_{A0.5}$ sont 9.29 ± 1.07 $\mu\text{g/mL}$ pour (AO), 12.76 ± 1.17 $\mu\text{g/mL}$ pour (DO), 16.34 ± 1.08 $\mu\text{g/mL}$ pour (BO) et 34.18 ± 4.13 $\mu\text{g/mL}$ pour (O). Les résultats des extraits ont montré une activité significativement inférieure par rapport aux standards, à l'exception de l'extrait (AO) qui n'a pas présenté de différence significative en comparaison avec le trolox.

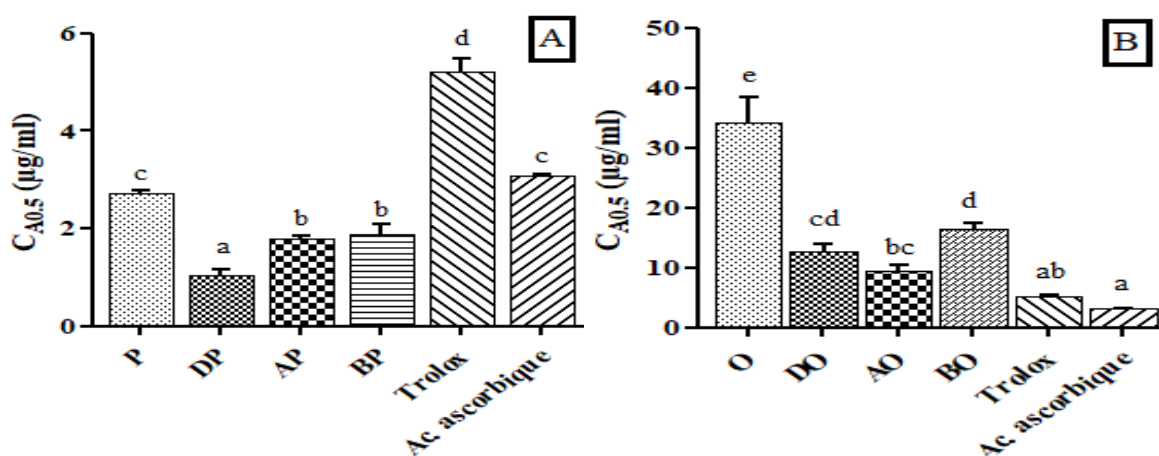


Figure 28. Les $C_{A0.5}$ des extraits de pelures de *Punica granatum* (A) et de feuilles d'*Olea europaea* (B) dans le test de la phenanthroline

P: extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum*, **DP:** extrait d'éther diéthylique des pelures de *P. granatum*, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle des pelures de *P. granatum*, **BP:** extrait butanolique des pelures de *P. granatum*, **O:** extrait éthanolique 70% des feuilles d'*O. europaea*, **DO:** extrait d'éther diéthylique des feuilles d'*O. europaea*, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. europaea*, **BO:** extrait butanolique des feuilles d'*O. europaea*. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3). $C_{A0.5}$: concentration indiquant une absorbance de 0.5. Les colonnes ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes ($P < 0.05$).

1. 2. 5. Test du pouvoir réducteur

Les absorbances mesurées lors de la réduction du complexe ferricyanure de potassium (Fe^{3+}) en complexe ferrocyanure de potassium (Fe^{2+}) sont illustrées dans la **figure 29**. À la concentration 25 µg/mL, les absorbances des extraits de *P. granatum* varient de 0.79 ± 0.18 à 1.48 ± 0.10 , tandis que, à la concentration 100 µg/mL, celles des extraits d'*O. europaea* varient de 0.63 ± 0.11 à 1.23 ± 0.27 .

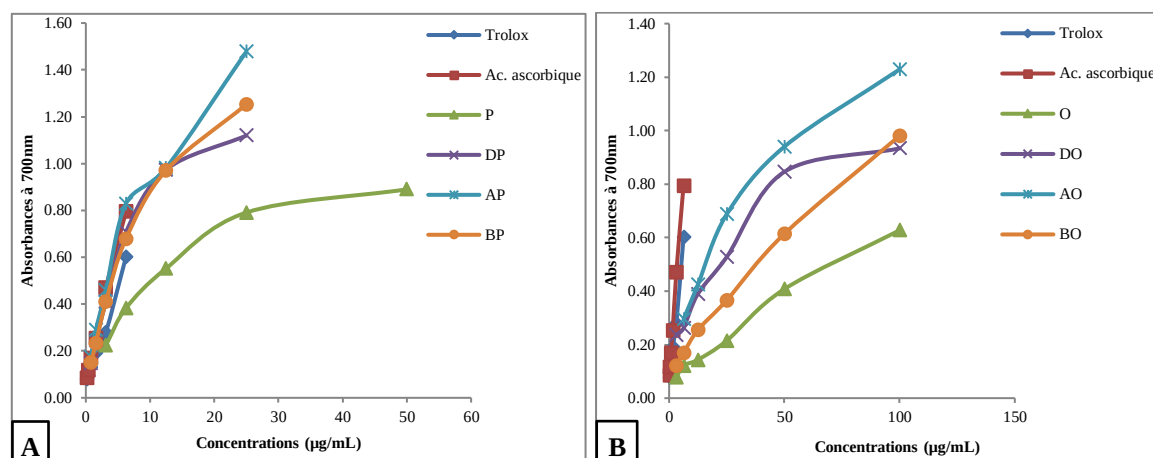


Figure 29. Variation des absorbances en fonction des concentrations des extraits de pelures de *Punica granatum* (A) et de feuilles d'*Olea europaea* (B) dans le test du pouvoir réducteur

P: extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum*, **DP:** extrait d'éther diéthylique des pelures de *P. granatum*, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle des pelures de *P. granatum*, **BP:** extrait butanolique des pelures de *P. granatum*, **O:** extrait éthanolique 70% des feuilles d'*O. europaea*, **DO:** extrait d'éther diéthylique des feuilles d'*O. europaea*, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. europaea*, **BO:** extrait butanolique des feuilles d'*O. europaea*. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3).

L'extrait (P) ($C_{A0.5}$: 11.87 ± 3.66 µg/mL) de *P. granatum* a montré un pouvoir réducteur significativement faible en comparaison avec (AP) ($C_{A0.5}$: 3.41 ± 0.09 µg/mL), (DP) ($C_{A0.5}$: 4.14 ± 0.32 µg/mL), (BP) ($C_{A0.5}$: 4.29 ± 0.29 µg/mL), le trolox ($C_{A0.5}$: 5.25 ± 0.20 µg/mL) et l'acide ascorbique ($C_{A0.5}$: 3.62 ± 0.29 µg/mL) (**figure 30 (A)**).

Concernant les extraits d'*O. europaea*, (AO) ($C_{A0.5}$: 16.22 ± 1.88 µg/mL) et (DO) ($C_{A0.5}$: 20.63 ± 2.59 µg/mL) ont présenté un pouvoir réducteur puissant, sans différence significative par rapport au trolox et à l'acide ascorbique. En revanche, les extraits (BO) ($C_{A0.5}$: 39.27 ± 5.02 µg/mL) et (O) ($C_{A0.5}$: 76.08 ± 16.89 µg/mL) ont montré le pouvoir réducteur le plus faible (**figure 30 (B)**).

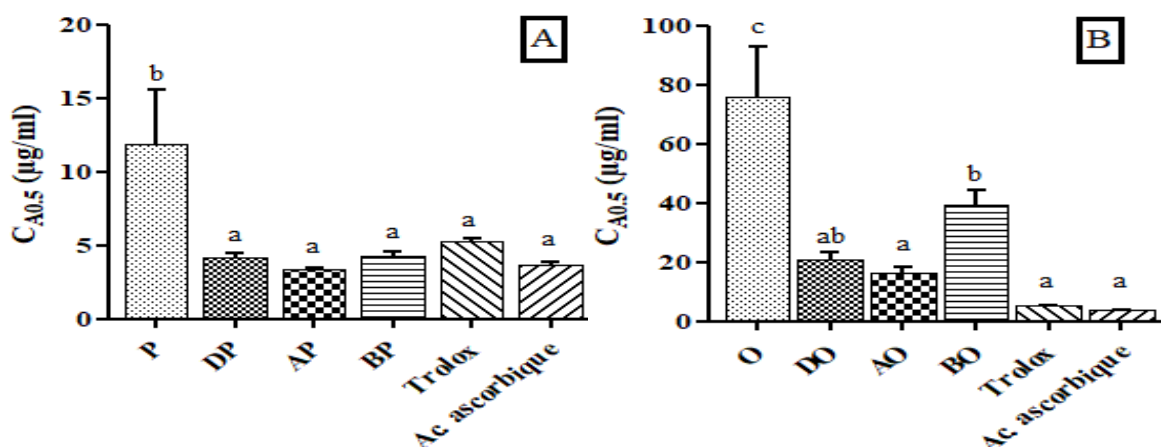


Figure 30. Les $C_{A0.5}$ du pouvoir réducteur des extraits de pelures de *Punica granatum* (A) et de feuilles d'*Olea europaea* (B)

P: extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum*, **DP:** extrait d'éther diéthylique des pelures de *P. granatum*, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle des pelures de *P. granatum*, **BP:** extrait butanolique des pelures de *P. granatum*, **O:** extrait éthanolique 70% des feuilles d'*O. europaea*, **DO:** extrait d'éther diéthylique des feuilles d'*O. europaea*, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. europaea*, **BO:** extrait butanolique des feuilles d'*O. europaea*. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SD (n=3). $C_{A0.5}$: concentration indiquant une absorbance de 0.5. Les colonnes ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes ($P < 0.05$).

1. 3. Activité anti-Alzheimer *in vitro*

Les résultats de l'activité anti-Alzheimer *in vitro* des extraits de pelures de la grenade et de feuilles de l'olivier sont indiqués dans les **tableaux 08 et 09**.

Les fractions de l'extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum* ont montré une activité anti-acétylcholinestérase puissante. L'extrait d'acétate d'éthyle est significativement le plus puissant suivi par (DP) puis (BP) avec des valeurs de 76.51 ± 3.32 , 114.86 ± 13.66 et 150.17 ± 5.00 µg/mL, respectivement (**tableau 08**).

Les mêmes extraits ont également montré une activité anti-butyrylcholinestérase efficace avec des valeurs de 119.15 ± 5.87 , 143.30 ± 24.18 et 147.00 ± 10.41 µg/mL pour (BP), (AP) et (DP), respectivement. Nous avons remarqué que les fractions (DP) et (AP) sont plus actives comme des agents anti-AChE que des agents anti-BChE, et l'inverse pour (BP). Malgré leur bonne activité, ces fractions restent significativement moins efficaces que la galantamine.

Pour l'extrait (P), il a inhibé seulement 44.21 ± 2.71 % d'AChE et 14.02 ± 5.28 % de BChE à la concentration 200 µg/mL.

Tableau 8. Activité anticholinestérase *in vitro* des extraits des pelures de *Punica granatum*

Extraits	Test anti-AChE		Test anti-BChE	
	% d'inhibition à 200 µg/mL	CI ₅₀ % (µg/mL)	% d'inhibition à 200 µg/mL	CI ₅₀ % (µg/mL)
P	44.21±2.71	>200	14.02±5.28	>200
DP	68.92±4.15	114.86±13.66 ^c	56.37±5.13	147.00±10.41 ^b
AP	62.97±3.64	76.51±3.32 ^b	62.15±5.17	143.30±24.18 ^b
BP	62.16±2.98	150.17±5.00 ^d	67.81±2.65	119.15±5.87 ^b
Galantamine ¹	94.77 ± 0.34	6.27±1.15 ^a	78.95± 0.58	34.75±1.99 ^a

P: extrait éthanolique 70%, **DP:** extrait d'éther diéthylique, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle, **BP:** extrait butanolique. **AChE:** acétylcholinestérase, **BChE:** butyrylcholinestérase. ¹: composé standard. CI₅₀%; concentration inhibant 50% de l'enzyme. Chaque valeur est exprimée en moyenne ± SD (n=3). Les CI₅₀% dans la même colonne ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes (P<0.05).

Au sujet d'*O. europaea* (**tableau 09**), tous les extraits ont montré une activité anticholinestérasique faible (CI₅₀% > 200 µg/mL) à l'exception de l'extrait (DO), qui a démontré une excellente activité vis-à-vis de la butyrylcholinestérase présentant une valeur de 85.92 ± 7.80 µg/mL, sachant que son activité reste significativement faible par rapport à la galantamine.

Tableau 9. Activité anticholinestérase *in vitro* des extraits des feuilles d'*Olea europaea*

Extraits	Test anti-AChE		Test anti-BChE	
	% d'inhibition à 200 µg/mL	CI ₅₀ % (µg/mL)	% d'inhibition à 200 µg/mL	CI ₅₀ % (µg/mL)
O	-	>200	37.95±17.86	>200
DO	44.93±2.60	>200	74.39±7.02	85.92±7.80 ^b
AO	13.78±17.11	>200	39.33±9.17	>200
BO	-	>200	-	>200
Galantamine ¹	94.77 ± 0.34	6.27±1.15	78.95± 0.58	34.75±1.99 ^a

O: extrait éthanolique 70%, **DO:** extrait d'éther diéthylique, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle, **BO:** extrait butanolique. **AChE:** acétylcholinestérase, **BChE:** butyrylcholinestérase. ¹: composé standard. - : inactif. CI₅₀%; concentration inhibant 50% de l'enzyme. Chaque valeur est exprimée en moyenne ± SD (n=3). Les CI₅₀% dans la même colonne ayant des lettres différentes sont statistiquement différentes (P<0.05).

1. 4. Activité antibactérienne *in vitro*

1. 4. 1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé

Les extraits des pelures de *Punica granatum* et des feuilles d'*Olea europaea* ont été testés contre des bactéries à Gram positif et autres à Gram négatif: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) (**annexe 01**).

L'activité antibactérienne des extraits a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition en millimètre autour des disques. Les résultats de la présente étude sont indiqués dans les **tableaux 10 et 11**.

Le diamètre de la zone d'inhibition varie d'un extrait à l'autre et d'une bactérie à l'autre. Toutes les souches testées se sont révélées sensibles aux contrôles positifs (céfoxitine 30 µg/disque et céfazoline 30 µg/disque), tandis que les contrôles négatifs (EtOH 96% et H₂O) n'ont montré aucun effet sur l'ensemble des bactéries testées.

Il est important de signaler que les extraits des deux plantes sont plus puissants vis-à-vis les bactéries Gram positives par rapport aux bactéries Gram négatives.

Pour les extraits de *Punica granatum* (**tableau 10**), *P. aeruginosa* a démontré une résistance face aux différents extraits à l'exception de l'extrait butanolique, qui a montré une zone de sensibilité de 21.5 ± 0.70 mm, présentant une différence significative au seuil de 5% en comparaison avec CX30 et CZ30.

E. coli a montré une résistance face aux extraits (AP) et (BP), par contre, cette bactérie est sensible vis-à-vis les extraits (P) et (DP), bien que cette sensibilité reste faible par rapport à celle observée face aux antibiotiques testés.

Les souches à Gram positif étaient sensibles contre tous les extraits de pelures, sachant que *B. cereus* était plus résistante que *S. aureus*, avec des diamètres de zones d'inhibition compris entre 13.00 et 17.50 ± 0.70 mm pour le premier germe et entre 20.5 ± 0.70 et 25 mm pour le deuxième germe. Par rapport aux extraits et aux antibiotiques, (AP) s'est révélé être significativement le plus puissant contre *S. aureus*, exerçant une zone d'inhibition de 25.00 mm. De plus, bien que l'extrait (P) soit significativement le plus fort contre *B. cereus* par rapport aux autres extraits, avec une zone d'inhibition de 17.50 ± 0.70 mm, son activité demeure inférieure à celle des contrôles positifs (**tableau 10**).

Tableau 10. Activité antibactérienne des extraits de pelures de *Punica granatum*

Echantillons	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	Germes			
	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>B. cereus</i> (ATCC 10876)	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)
P	16.50±0.70 ^b	-	17.50±0.70 ^c	21.50±0.70 ^c
DP	13.00±0.00 ^c	-	14.50±0.70 ^d	20.50±0.70 ^{de}
AP	-	-	13.50±0.70 ^e	25.00±0.00 ^a
BP	-	21.50±0.70 ^a	13.00±0.00 ^e	23.00±1.41 ^b
CX30 ¹	19.00±0.00 ^a	21.00±0.00 ^b	20.00±0.00 ^b	21.00±0.00 ^{cd}
CZ30 ¹	19.00±0.00 ^a	21.00±0.00 ^b	38.00±0.00 ^a	20.00±0.00 ^e
H ₂ O ²	-	-	-	-
EtOH 96% ²	-	-	-	-

P: extrait éthanolique 70%, **DP:** extrait d'éther diéthylique, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle, **BP:** extrait butanolique.¹: Antibiotiques testés, CX30: Cefoxitin (30 µg/disque); CZ30: Cefazolin (30 µg/disque). ²: Contrôles négatifs. -: Pas de zone d'inhibition. Dans la même colonne, les valeurs désignées avec les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($P>0.05$).

Pour les extraits d'*Olea europaea* (**tableau 11**), (O), (DO), (AO) et (BO) n'ont révélé aucune activité contre la bactérie Gram négative *P. aeruginosa*. Cependant, seulement l'extrait (BO) a exercé une zone d'inhibition de 9.00 ± 1.41 mm contre *E. coli*, bien que cette activité soit significativement faible par rapport à CX30 et à CZ30 ($P<0.05$).

La bactérie *S. aureus* a démontré une résistance aux extraits (O) et (AO), tout en étant sensible aux extraits (DO) (19.00 mm) et (BO) (11.50 ± 0.70 mm), sachant que cette sensibilité reste significativement faible par rapport aux antibiotiques testés ($P<0.05$).

À propos de l'activité contre *B. cereus*, l'extrait (DO) a montré l'effet le plus remarquable avec une zone d'inhibition de 14.50 ± 2.12 mm ; en comparaison avec CX30 et CZ30, cet effet reste significativement faible à $P<0.05$.

Tableau 11. Activité antibactérienne des extraits de feuilles d'*Olea europaea*

Echantillons	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	Germes			
	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>B. cereus</i> (ATCC 10876)	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)
O	-	-	9.00±0.00 ^d	-
DO	-	-	14.50±2.12 ^c	19.00±0.00 ^c
AO	-	-	9.00±0.00 ^d	-
BO	9.00±1.41 ^b	-	9.50±2.12 ^d	11.50±0.70 ^d
CX30 ¹	19.00±0.00 ^a	21.00±0.00	20.00±0.00 ^b	21.00±0.00 ^a
CZ30 ¹	19.00±0.00 ^a	21.00±0.00	38.00±0.00 ^a	20.00±0.00 ^b
H ₂ O ²	-	-	-	-
EtOH 96% ²	-	-	-	-

O: extrait éthanolique 70%, DO: extrait d'éther diéthylique, AO: extrait d'acétate d'éthyle, BO: extrait butanolique. ¹: Antibiotiques testés, CX30: Cefoxitin (30 µg/disque); CZ30: Cefazolin (30 µg/disque). ²: Contrôles négatifs. - : Pas de zone d'inhibition. Dans la même colonne, les valeurs désignées avec les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($P>0.05$).

1. 4. 2. Méthode de la micro-dilution

D'après les résultats obtenus, l'activité antibactérienne des extraits contre les souches testées a montré différentes valeurs de CMI et de CMB (**tableau 12**).

Pour *E. coli*, les extraits de *P. granatum* n'ont pas démontré d'effet bactéricide aux concentrations testées, par contre, (DP) a montré la meilleure concentration inhibitrice (12.50 mg/mL) contre cette souche. D'autre part, l'extrait (BO) des feuilles d'*O. europaea* n'a présenté aucun effet inhibiteur à la concentration 100 mg/mL.

La CMI et la CMB présentées par l'extrait (BP) contre *P. aeruginosa* étaient respectivement de 3.12 et 100 mg/mL.

Pour *B. cereus*, parmi les extraits de *P. granatum*, l'extrait (AP) a présenté la meilleure concentration minimale inhibitrice (0.39 mg/mL) et la meilleure concentration minimale bactéricide (25 mg/mL). En revanche, parmi les extraits d'*O. europaea*, l'extrait (BO) a montré le meilleur effet bactériostatique (12.50 mg/mL) et l'extrait (DO) a montré le meilleur effet bactéricide (50 mg/mL).

Concernant *S. aureus*, l'extrait (DP) du *P. granatum* a présenté la meilleure activité inhibitrice et bactéricide à une concentration de 1.56 mg/mL, de l'autre côté, l'extrait (DO) d'*O. europaea* a présenté le meilleur effet bactériostatique et bactéricide à une concentration de 50 mg/mL.

Tableau 12. Les valeurs de la CMI et de la CMB des extraits de pelures de *Punica granatum* et de feuilles d'*Olea europaea*

Extraits	CMI et CMB (mg/mL)	<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>B. cereus</i> (ATCC 10876)	<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)
P	CMI	50	nt	6.25	25
	CMB	>100	nt	50	>100
DP	CMI	12.50	nt	3.12	1.56
	CMB	>100	nt	>100	1.56
AP	CMI	nt	nt	0.39	12.50
	CMB	nt	nt	25	50
BP	CMI	nt	3.12	1.56	12.50
	CMB	nt	100	50	100
O	CMI	nt	nt	>100	nt
	CMB	nt	nt	nt	nt
DO	CMI	nt	nt	25	50
	CMB	nt	nt	50	50
AO	CMI	nt	nt	100	nt
	CMB	nt	nt	>100	nt
BO	CMI	>100	nt	12.50	>100
	CMB	nt	nt	>100	nt

nt: non testé, CMB: concentration minimale bactéricide, CMI: concentration minimale inhibitrice.

1. 5. Activité anticoccidienne *in vivo*

1. 5. 1. Identification des espèces d'*Eimeria*

Durant la propagation, les matières fécales des poulets étaient caractérisées par une diarrhée sanguinolente. Lors de l'autopsie, l'observation macroscopique des cæca récupérés (**figure 31**) des différentes propagations révèle des lésions sévères indiquant des scores lésionnels de +3 et +4 avec des parois cæcales distendues et un contenu remplacé par du sang liquide, du sang coagulé ou du matériel nécrotique caséeux, ces lésions sont impérativement causées par *E. tenella*.



Figure 31. Cæca infectés (Photos prises par Chaabna)

Pour confirmer l'espèce principale d'*Eimeria*, responsable de la coccidiose aviaire, présente dans l'échantillon expérimental de cette étude, nous avons procédé à une identification morpho-métrique. La longueur et la largeur de 197 oocystes sporulés sélectionnés au hasard ont été mesurées, et les rapports longueur/largeur ont été calculés (**annexe 02**). Les tailles et les rapports des oocystes ont été comparés avec les mesures établies auparavant (cf. *Tableau 04. Taille des oocystes d'Eimeria sp.*).

D'après les calculs, nous avons pu identifier la présence de cinq espèces à des pourcentages variés dont *Eimeria tenella*, l'espèce dominante, a marqué le pourcentage le plus élevé avec 83.24 % (**figure 32**).

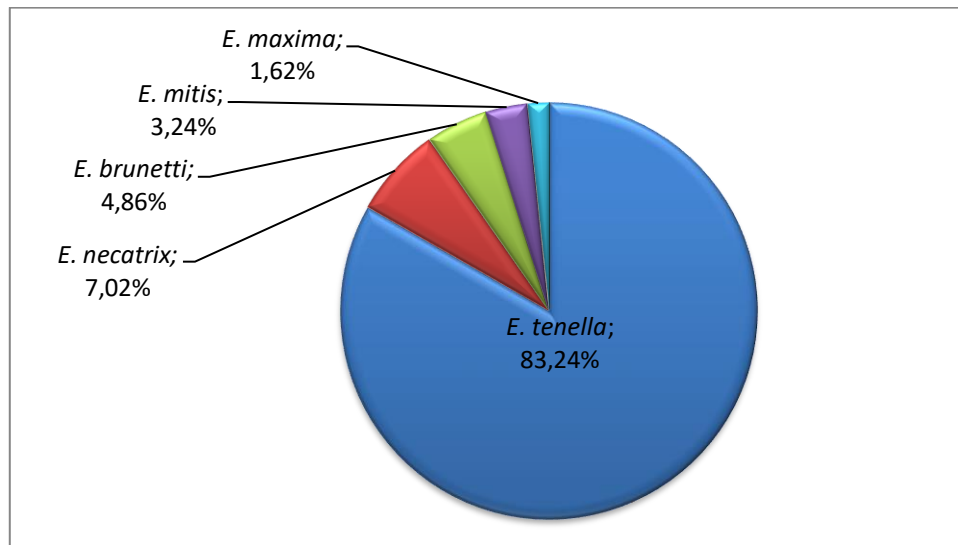


Figure 32. Pourcentages des espèces d'*Eimeria* présentes dans l'échantillon étudié

1. 5. 2. Paramètres cliniques

1. 5. 2. 1. Signes cliniques

Les signes cliniques de la coccidiose aviaire cæcale sont exprimés dans les groupes (I), (P1), (P2), (P3), (O1), (O2) et (O3) à partir du 5^e jour post infection, correspondant au 19^e jour d'âge. Les signes observés sont : des plumes ébouriffées, abattement, fatigue, une apparence léthargique et somnolente, des crêtes pâles, plus le signe caractéristique de la coccidiose cæcale : la diarrhée sanguinolente (**figure 33**).

La gravité des symptômes était variable d'un groupe à l'autre, le groupe infecté non traité (I) et le groupe (P3) étaient les plus touchés. En revanche, les signes cliniques étaient moins apparents chez les poussins du groupe (P2), traités avec 800 mg de l'extrait de *P. granatum*/kg d'aliment, par rapport aux autres groupes expérimentaux (I, P1, P3, O1, O2 et O3). Leurs matières fécales n'étaient ni trop diarrhéiques ni trop sanguinolentes. De plus, nous avons remarqué que les poussins recevant du diclazuril n'ont montré aucun des signes cliniques cités au dessus.



Figure 33. Signes cliniques de la coccidiose cœcale durant l'expérience (Photos prises par Chaabna)

1. 5. 2. 2. Mortalité

Les pourcentages de mortalité enregistrés du 14^e jour d'âge, correspondant au jour de l'infection, jusqu'au 35^e jour d'âge, correspondant au 21^e jour post infection, sont indiqués dans le **tableau 13**.

A l'issue de ces résultats, nous avons constaté qu'aucune mortalité n'a été détectée dans les groupes (C), (D), (P1), (P2), (O1) et (O2). En revanche, le taux de mortalité le plus élevé, 25%, a été observé dans le groupe (P3), traité avec la poudre des pelures de *P. granatum*, suivi par les groupes infecté non traité et infecté traité avec la poudre des feuilles d'*O. europaea*, qui ont présenté chacun un taux de 11.11 %.

Tableau 13. Pourcentage de mortalité durant la période post infection

	Groupes								
	C	I	D	P1	P2	P3	O1	O2	O3
Nombre de sujets morts	0	1	0	0	0	2	0	0	1
Taux de mortalité (%)	0	11.11	0	0	0	25	0	0	11.11

(C): non infecté non traité ; (I): infecté non traité ; (D): infecté traité avec diclazuril ; (P1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum*/kg d'aliment ; (P2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum*/kg d'aliment ; (P3): infecté traité avec 4 g de poudre de *P. granatum*/kg d'aliment ; (O1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea*/kg d'aliment ; (O2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea*/kg d'aliment ; (O3): infecté traité avec 4 g de poudre d'*O. europaea*/kg d'aliment.

1. 5. 3. Paramètres zootechniques

1. 5. 3. 1. Croissance pondérale

La **figure 34** présente les pesées effectuées aux 1^{er}, 7^e, 14^e, 21^e, 28^e et 35^e jours d'âge des poussins.

Au 21^e jour d'âge (7^e J.P.I.), seulement le poids moyen du groupe traité avec la poudre de *P. granatum* (553.62 ± 44.77 g) était significativement inférieur par rapport à celui du groupe (C).

Au 35^e jour d'âge (21^e J.P.I.), parmi les groupes infectés traités avec *P. granatum* (**figure 34 (A)**), le groupe (P2) a présenté la meilleure moyenne pondérale, parvenant 1752.66 ± 113.94 g. De l'autre côté, le groupe (O1) a présenté la meilleure moyenne pondérale par rapport à celle des groupes infectés traités avec *O. europaea* (**figure 34 (B)**), avec une valeur de 1721.33 ± 52.44 g.

Il convient de noter que le poids moyen le plus faible, au 21^e jour post infection, a été enregistré chez les poussins du groupe infecté non traité montrant une valeur de 1254.5 ± 170.50 g, et que le groupe non infecté non traité a enregistré un poids moyen de 1735.33 ± 94.04 g, inférieur par rapport à celui du groupe (P2). Aucune différence significative n'a été détectée entre les groupes expérimentés.

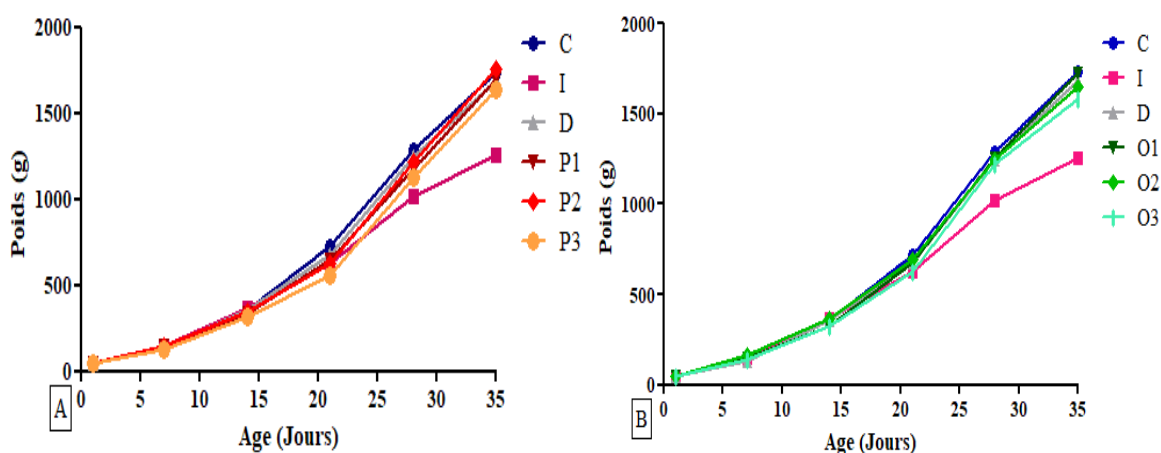


Figure 34. Croissance pondérale du 1^{er} au 35^e jour d'âge des poussins des groupes traités avec *Punica granatum* (A) et des groupes traités avec *Olea europaea* (B)

(C): non infecté non traité ; (I): infecté non traité ; (D): infecté traité avec diclazuril ; (P1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum*/kg d'aliment ; (P2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum*/kg d'aliment ; (P3): infecté traité avec 4 g de poudre de *P. granatum*/kg d'aliment ; (O1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea*/kg d'aliment ; (O2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea*/kg d'aliment ; (O3): infecté traité avec 4 g de poudre d'*O. europaea*/kg d'aliment. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SEM.

1. 5. 3. 2. Consommation d'aliment

La quantité d'aliment consommé chaque semaine au cours de la période de l'infection (du J 0 au J 21 post infestation) a été enregistrée.

La consommation alimentaire différencie d'un groupe à l'autre. À partir de la **figure 35 (A)**, nous remarquons que les poussins du groupe traité avec l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum* à la concentration 800 mg/kg d'aliment (P2) ont consommé la plus grande quantité d'aliment tout au long de la période de l'infestation (5646 , 5545 et 2759 g pendant la 1^{ère}, 2^e et 3^e semaine post infection, respectivement).

Concernant les groupes traités avec *O. europaea* (**figure 35 (B)**), les poussins recevant l'extrait éthanolique 70% à la concentration 800 mg/kg d'aliment (O2) ont enregistré la consommation alimentaire la plus élevée pendant les deux premières semaines suivant l'infestation. Cependant, au cours de la troisième semaine, la consommation alimentaire la plus élevée a été marquée chez les poussins du groupe (O1) montrant une valeur de 2728 g.

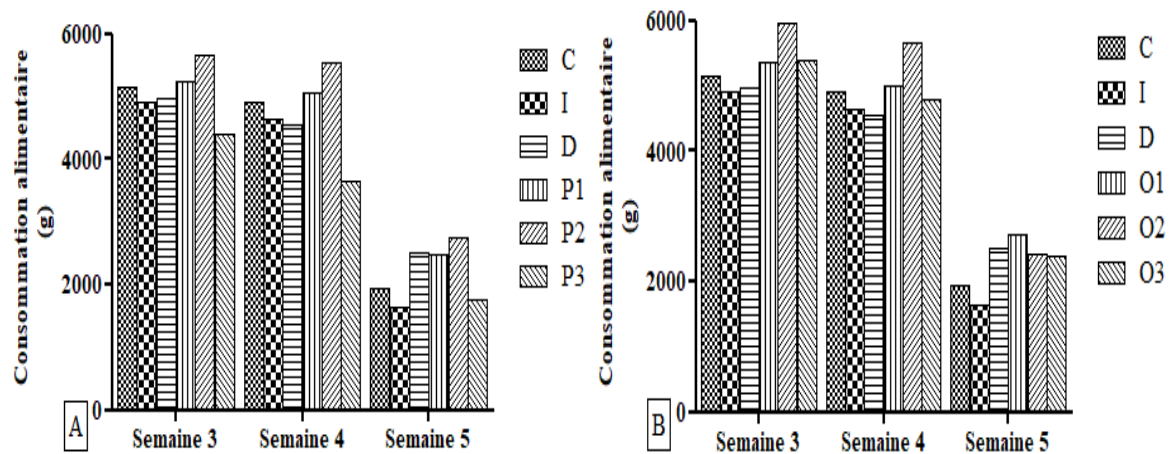


Figure 35. Consommation hebdomadaire des groupes traités avec *P. granatum* (A) et des groupes traités avec *O. europaea* (B) pendant la période de l'infestation

(C): non infecté non traité ; (I): infecté non traité ; (D): infecté traité avec diclazuril ; (P1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum*/kg d'aliment ; (P2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum*/kg d'aliment ; (P3): infecté traité avec 4 g de poudre de *P. granatum*/kg d'aliment ; (O1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea*/kg d'aliment ; (O2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea*/kg d'aliment ; (O3): infecté traité avec 4 g de poudre d'*O. europaea*/kg d'aliment.

1. 5. 3. 3. Le gain de poids

Les résultats du gain de poids de tous les groupes au cours de la période post infestation sont illustrés dans la **figure 36**.

Comme il est montré dans la **figure 36 (A)**, durant la 1^{ère} semaine après l'infection, le meilleur gain de poids moyen a été enregistré dans le groupe (C) (362.22 ± 21.37 g) suivi par le groupe (D) (324.50 ± 42.36 g) et le groupe (P1) (305.77 ± 17.98 g). En revanche, le plus faible poids gagné a été enregistré chez les poussins du groupe (P3) indiquant un gain de poids de 239.12 ± 39.87 g.

Pour la 2^e semaine après l'infection, les poussins du groupe (P2) ont marqué le meilleur gain de poids (560.16 ± 57.17 g), tandis que les poussins du groupe (I) ont montré le gain moyen le plus faible avec une valeur de 394.80 ± 33.17 g.

Durant la 3^e semaine après l'inoculation, les groupes infectés traités avec *P. granatum* ont montré le meilleur gain de poids moyen par rapport aux autres groupes, présentant des valeurs de 499.33 ± 72.08 , 490.33 ± 37.41 et 478.50 ± 38.50 g pour (P1), (P2) et (P3), respectivement.

En ce qui concerne les groupes traités avec *O. europaea* (**figure 36 (B)**), durant la 1^{ère} semaine après l'infection, le meilleur gain de poids moyen a été observé dans le groupe (C) suivi par les groupes (O2) (327.55 ± 39.43 g) et (D), mais, le gain de poids le plus faible a été marqué chez les poussins du groupe infecté non traité présentant une valeur de 262.77 ± 19.94 g.

Au cours de la 2^e semaine suivant l'infection, les poussins du groupe (C) (531.00 ± 29.39 g) ont continué à enregistrer le meilleur gain, suivis des groupes (O1) et (O3), avec des valeurs de 516.20 ± 6.29 et 512.40 ± 18.55 g, respectivement.

Pendant la 3^e semaine suivant l'infection, une comparaison entre les trois groupes traités par la plante a révélé que le groupe (O1) a enregistré le meilleur gain de poids moyen présentant une valeur de 458.33 ± 15.00 g, suivi par le groupe (O2) (395.00 ± 168.79 g).

Le groupe (I) a présenté le gain de poids le plus faible tout au long de la période post infestation par rapport aux groupes infectés traités avec les feuilles.

Il est important de signaler qu'il n'y avait pas de variation significative au seuil 0.05 entre tous les groupes expérimentés, soit dans le traitement avec *O. europaea* ou avec *P. granatum*, pendant toutes les semaines suivant l'infestation.

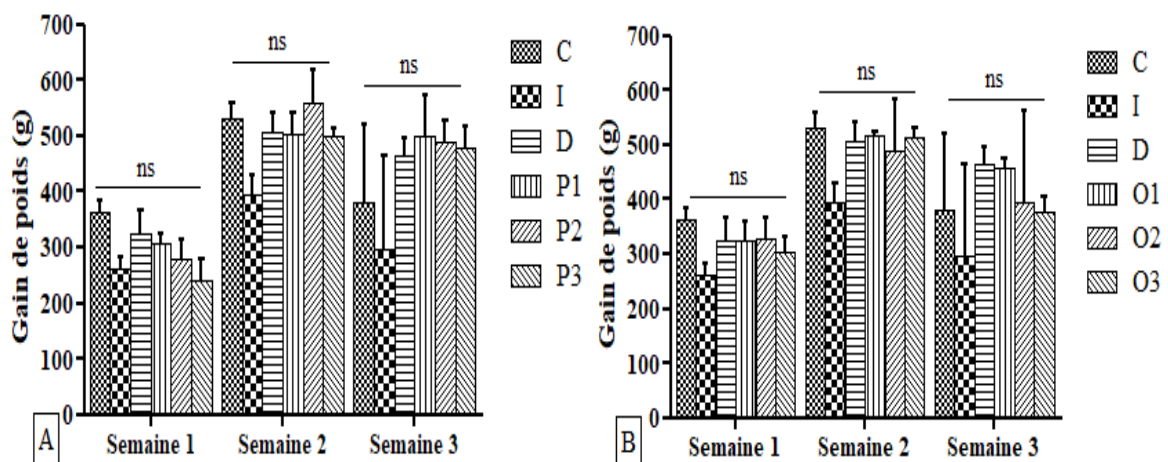


Figure 36. Gain de poids durant la période de l'infestation, (A) groupes traités avec *P. granatum* et (B) groupes traités avec *O. europaea*

(C): non infecté non traité ; (I): infecté non traité ; (D): infecté traité avec diclazuril ; (P1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum*/kg d'aliment ; (P2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum*/kg d'aliment ; (P3): infecté traité avec 4 g de poudre de *P. granatum*/kg d'aliment ; (O1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea*/kg d'aliment ; (O2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea*/kg d'aliment ; (O3): infecté traité avec 4 g de poudre d'*O. europaea*/kg d'aliment. Chaque valeur est exprimée en moyenne $\pm$ SEM. ns: non significatif.

1. 5. 3. 4. Indice de consommation

Les indices de consommation enregistrés pendant la période de l'infection sont présentés dans la **figure 37**. Le groupe ayant la valeur la plus élevée indique une mauvaise conversion de l'aliment en poids corporel.

À l'égard des groupes traités avec *P. granatum* (**figure 37 (A)**), le meilleur IC enregistré au cours de la première semaine post infection était celui du groupe (C) suivi par les groupes (P1) et (D) avec des valeurs de 1.57, 1.90 et 1.91, respectivement. Il est à noter que le groupe (P3) a enregistré l'indice le plus faible, 2.30, en comparaison aux autres groupes.

Pendant la deuxième semaine post infection, le groupe (C) a continué à enregistrer le meilleur indice suivi par les groupes (P2) et (P1) avec des valeurs de 1.54, 1.64 et 1.68, respectivement.

Pour la troisième semaine post infection, le groupe (P1) a présenté la meilleure conversion alimentaire avec une valeur de 1.65.

Le groupe (I) a présenté les indices de consommation les plus faibles au cours des deux dernières semaines post infection, en comparaison avec les groupes (C), (D), (P1), (P2) et (P3), avec des valeurs de 2.35 et 2.76.

Quant aux groupes traités avec *O. europaea* (**figure 37 (B)**), (O3), (O2) et (O1) ont enregistré des IC de 1.96, 2.01 et 2.07, respectivement, pour la première semaine, et de 1.87, 1.92 et 1.93, respectivement, pour la deuxième semaine, cependant, les valeurs enregistrées durant la troisième semaine étaient de 1.98, 2.03 et 2.12 pour (O1), (O2) et (O3), respectivement.

En comparant avec les groupes traités avec *O. europaea*, le groupe (C) a numériquement enregistré la meilleure conversion alimentaire, par contre, le groupe (I) a enregistré la conversion la plus faible tout au long de la période suivant l'infestation.

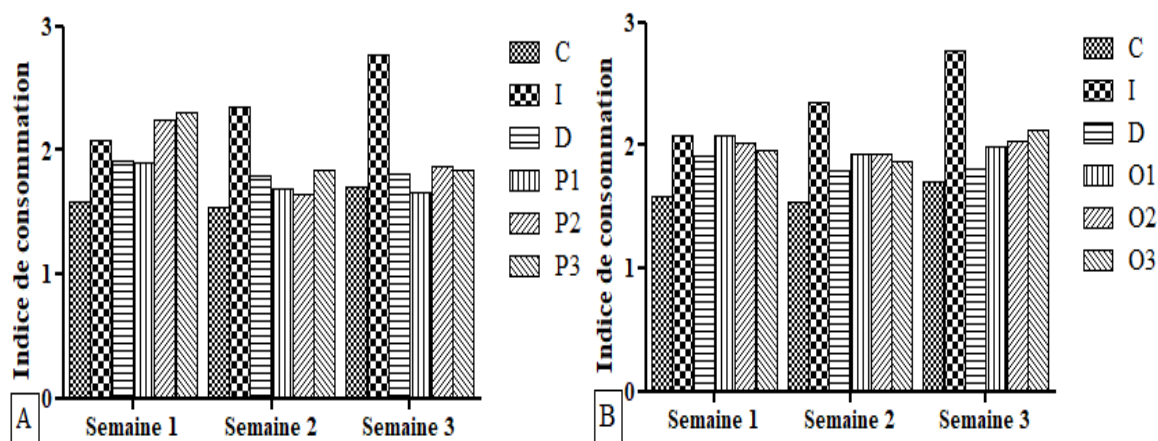


Figure 37. Indice de consommation chez les poussins infectés (A) traités avec *P. granatum* et (B) traités avec *O. europaea*

(C): non infecté non traité ; (I): infecté non traité ; (D): infecté traité avec diclazuril ; (P1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum* / kg d'aliment ; (P2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum* / kg d'aliment ; (P3): infecté traité avec 4 g de poudre de *P. granatum* / kg d'aliment ; (O1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea* / kg d'aliment ; (O2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea* / kg d'aliment ; (O3): infecté traité avec 4 g de poudre d'*O. europaea* / kg d'aliment.

1. 5. 4. Paramètres parasitologiques

1. 5. 4. 1. Excrétion d'oocystes

Le nombre des oocystes d'*Eimeria tenella* par gramme de fèces a été calculé du 5^e jusqu'au 9^e jour post infestation et illustré dans la **figure 38**.

Le nombre des oocystes excrétés dans l'ensemble des groupes infectés a connu une augmentation progressive à partir du 5^e jusqu'au 7^e jour après l'inoculation, ensuite, une diminution a été observée à partir du 8^e jour post infection.

Le groupe infecté traité avec le diclazuril n'a montré aucune variation significative ($P > 0.05$) en comparaison avec le groupe non infecté non traité, et il a cessé de produire des oocystes à partir du 6^e jour post infection.

Au 5^e jour post infection (**figure 38 (A) et (B)**), parmi les groupes infectés traités avec les plantes, le groupe traité avec la poudre des pelures de *P. granatum* (P3) (85.5×10^3 OPG de fèces) et le groupe traité avec la poudre des feuilles d'*O. europaea* (O3) (69×10^3 OPG de fèces) n'ont pas montré de différence significative en comparaison avec le groupe non infecté non traité au seuil de 5%.

Au 7^e jour post infection, summum de l'excrétion, tous les groupes infectés traités ont montré une excrétion oocystale significativement faible ($P < 0.05$) en comparaison avec

le groupe infecté non traité qui a produit un nombre élevé d'oocystes, (2333.33×10^3 OPG de fèces) (**figure 38 (A) et (B)**).

Au 8^e et 9^e jour post infection, l'excrétion a diminué dans tous les groupes, sachant que, le groupe (I) a continué à excréter un nombre d'oocystes significativement élevé par rapport aux autres groupes.

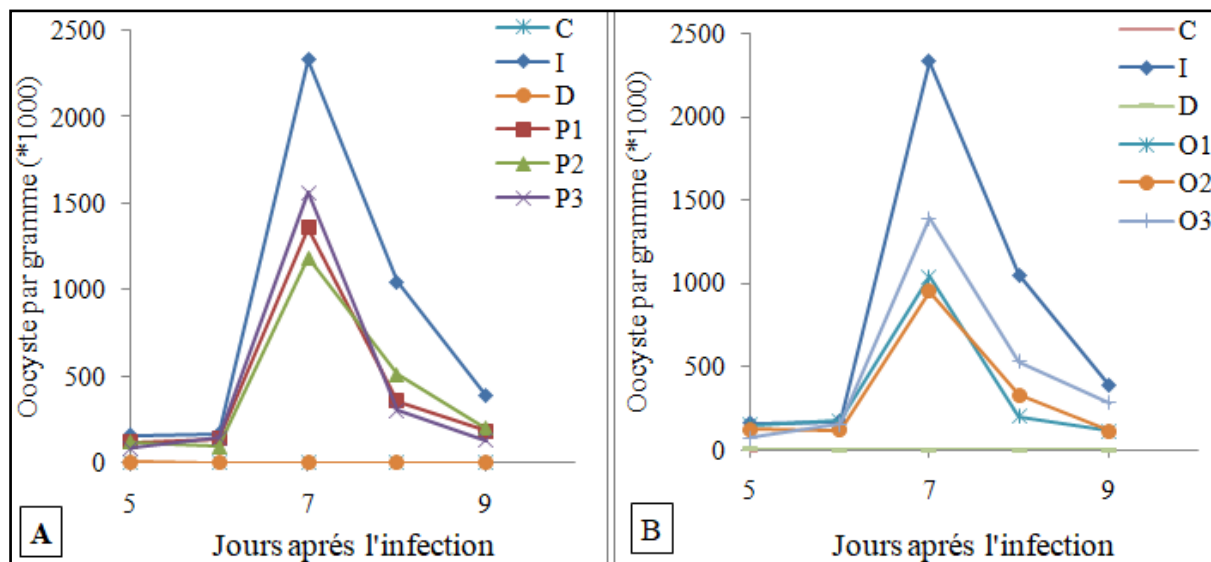


Figure 38. Excrétion d'oocystes chez les poussins infectés (A) traités avec *P. granatum* et (B) traités avec *O. europaea*

(C): non infecté non traité ; (I): infecté non traité ; (D): infecté traité avec diclazuril ; (P1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum*/kg d'aliment ; (P2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% de *P. granatum*/kg d'aliment ; (P3): infecté traité avec 4 g de poudre de *P. granatum*/kg d'aliment ; (O1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea*/kg d'aliment ; (O2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% d'*O. europaea*/kg d'aliment ; (O3): infecté traité avec 4 g de poudre d'*O. europaea*/kg d'aliment.

1. 5. 4. 2. Scores lésionnels

Les scores lésionnels obtenus sont présentés dans les **tableaux 14 et 15**. Les lésions cæcales ont été classées selon leur gravité en utilisant une échelle de 0 à 4. Dans l'ensemble des groupes infectés, après l'autopsie, nous avons constaté une variation et une amélioration dans les scores lésionnels au cours de l'expérience.

Parmi les groupes infectés traités avec *P. granatum*, le **tableau 14** montre que le score lésionnel du groupe (P2) (1.75 ± 0.25) est significativement meilleur que celui du groupe (I) au 7^e jour post infection. Au 14^e jour post infection, les groupes infectés traités

n'ont pas montré de différence significative par rapport au contrôle non infecté non traité, et au 21^e jour post infection, les groupes (P2) et (P3) ont montré un score lésionnel de 0.

Tableau 14. Scores lésionnels chez les poussins infectés traités avec *P. granatum*

	C	I	D	P1	P2	P3
Jour 7 P.I.	0.00±0.00 ^a	3.75±0.25 ^d	0.66±0.33 ^{ab}	2.33±0.33 ^{cd}	1.75±0.25 ^{bc}	3.00±0.57 ^{cd}
Jour 14 P.I.	0.00±0.00 ^a	2.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	0.50±0.28 ^a	0.80±0.37 ^{ab}	0.50±0.50 ^{ab}
Jour 21 P.I.	0.00±0.00 ^a	1.00±0.00 ^b	0.00±0.00 ^a	0.33±0.33 ^{ab}	0.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a

(C): non infecté non traité ; (I): infecté non traité ; (D): infecté traité avec diclazuril ; (P1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% / kg d'aliment ; (P2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% / kg d'aliment ; (P3): infecté traité avec 4 g de poudre / kg d'aliment. P.I. : post-infection. Chaque valeur est exprimée en moyenne ± SEM. Les valeurs désignées avec les mêmes lettres dans la même ligne indiquent que la différence n'est pas significative ($P>0.05$).

Parmi les groupes infectés traités avec *O. europaea*, le **tableau 15** indique que le groupe (O2) a montré le meilleur score lésionnel (2.25 ± 0.62) au 7^e jour post infection. Au 14^e jour suivant l'infection, le groupe (O3) a présenté un score de 0.5 ± 0.50 , et au 21^e jour post infection, les groupe (O1) et (O3) ont montré un score de 0.33, tandis que le groupe (O2) a montré un score de 0.66 ± 0.66 .

Tableau 15. Scores lésionnels chez les poussins infectés traités avec *O. europaea*

	C	I	D	O1	O2	O3
Jour 7 P.I.	0.00±0.00 ^a	3.75±0.25 ^c	0.66±0.33 ^{ab}	3.00±0.57 ^{bc}	2.25±0.62 ^{bc}	3.33±0.66 ^c
Jour 14 P.I.	0.00±0.00 ^a	2.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	1.00±1.00 ^a	1.33±0.66 ^a	0.50±0.50 ^a
Jour 21 P.I.	0.00±0.00 ^a	1.00±0.00 ^a	0.00±0.00 ^a	0.33±0.33 ^a	0.66±0.66 ^a	0.33±0.28 ^a

(C): non infecté non traité ; (I): infecté non traité ; (D): infecté traité avec diclazuril ; (O1): infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70% /kg d'aliment ; (O2): infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70% /kg d'aliment ; (O3): infecté traité avec 4 g de poudre /kg d'aliment. P.I. : post infection. Chaque valeur est exprimée en moyenne ± SEM. Les valeurs désignées avec les mêmes lettres dans la même ligne indiquent que la différence n'est pas significative ($P>0.05$).

1. 5. 5. L'étude histopathologique des cæca

L'effet anticoccidien des pelures de *Punica granatum* et des feuilles d'*Olea europaea* sur l'histologie des cæca est présenté dans les **figures 39-47**.

L'observation microscopique des coupes histologiques des cæca a révélé une bonne amélioration des lésions causées par les différents stades invasifs d'*Eimeria tenella* chez les groupes traités.

Au 21^e J.P.I., les groupes traités avec les poudres des plantes ont montré une bonne restauration de l'architecture structurale des parois. De plus, il est important de signaler que les formes parasitaires ont été disparues au niveau des parois cœcales dès le 14^e J.P.I. chez les poussins des groupes (P3) et (O3).

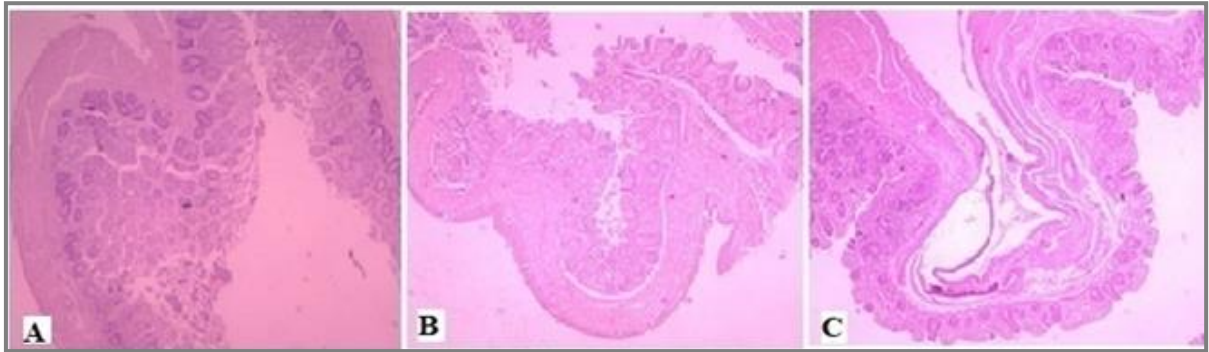


Figure 39. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe non infecté non traité (C) montrant une structure histologique normale de la muqueuse, de la sous-muqueuse et des cryptes. (A) au 7^e J. P. I. (H&E, x40), (B) au 14^e J. P. I. (H&E, x40) et (C) au 21^e J. P. I. (H&E, x40) (Photos prises par Chaabna).

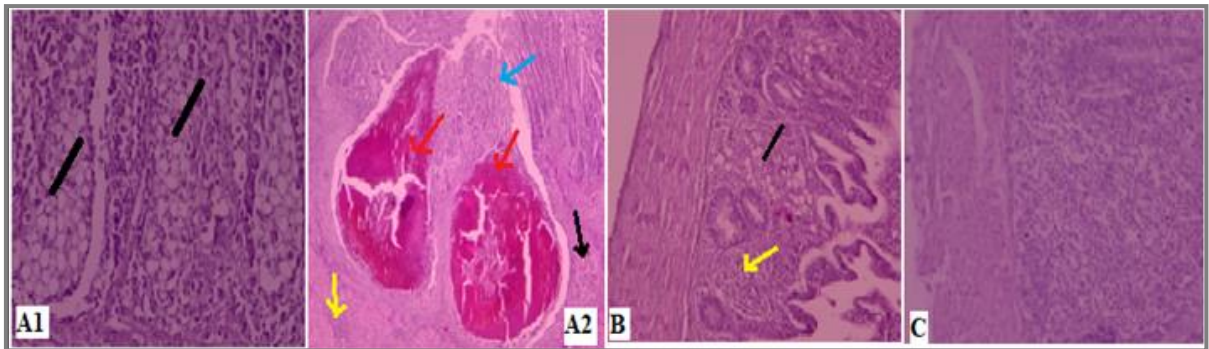


Figure 40. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté non traité (I) montrant (A1 et A2) une invasion massive par les différents stades de développement d'*E. tenella* (la ligne noire), une congestion intensive au niveau de la muqueuse (les flèches rouges), une érosion de la muqueuse cœcale (la flèche bleue), une infiltration inflammatoire (la flèche jaune) et une nécrose (la flèche noire) au 7^e J. P. I. (H&E, x100) ; (B) un infiltrat inflammatoire dense au niveau du chorion (la flèche jaune) et une persistance des formes parasitaires (la ligne noire) au 14^e J. P. I. (H&E, x100) et (C) un infiltrat inflammatoire important et persistance du parasite au 21^e J. P. I. (H&E, x200) (Photos prises par Chaabna).

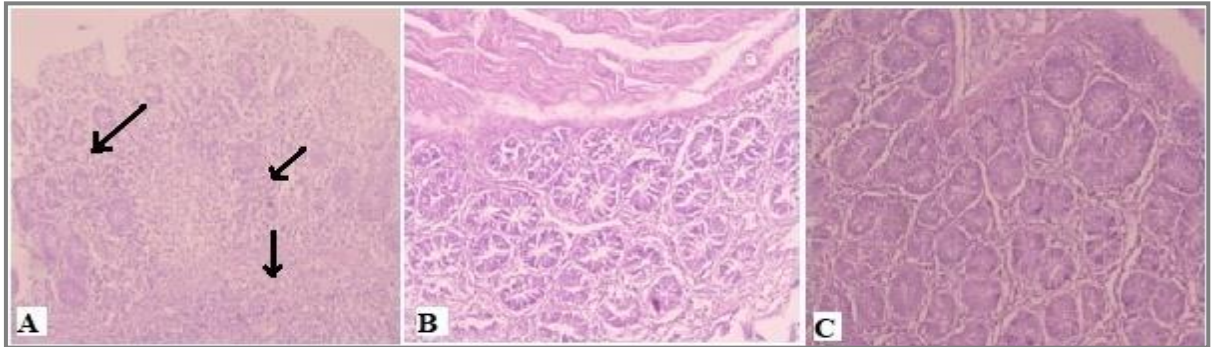


Figure 41. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec le diclazuril (D) montrant (A) une inflammation importante marquée au niveau du chorion et de la sous-muqueuse (les flèches noires), une régénération des cryptes et l'absence du parasite au 7^e J. P. I. (H&E, x100) ; (B) et (C) des structures histologiques des cæca bien restaurées au 14^e et 21^e J. P. I. (H&E, x100), respectivement (Photos prises par Chaabna).

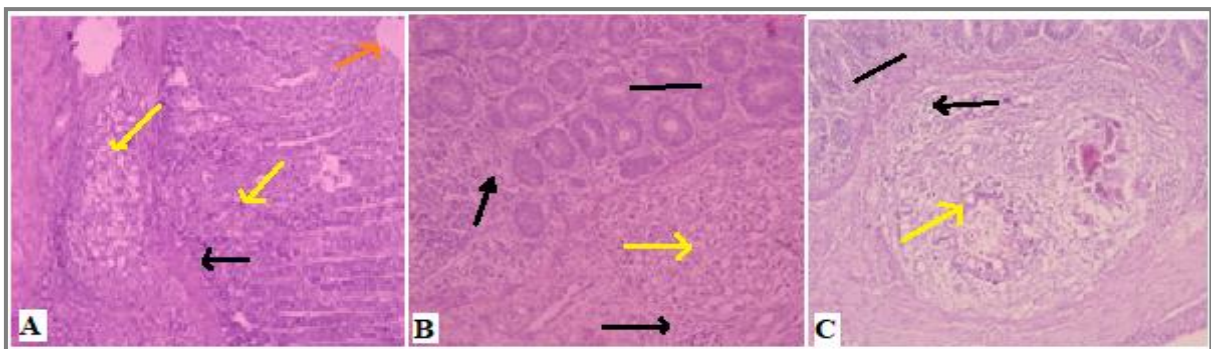


Figure 42. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70 % de l'écorce de *P. granatum*/Kg d'aliment (P1) montrant (A) une inflammation importante (la flèche noire), la muqueuse et la sous muqueuse sont envahies par les différents stades de développement d'*E. tenella* (les flèches jaunes) et une dégénération de la villosité (la flèche rouge) au 7^e J. P. I. (H&E, x100) ; (B) et (C) une persistance du parasite au niveau de la sous muqueuse (la flèche jaune), un infiltrat inflammatoire (la flèche noire) et une régénération des glandes dans la muqueuse (la ligne noire) au 14^e et 21^e J. P. I. (H&E, x200), respectivement (Photos prises par Chaabna).

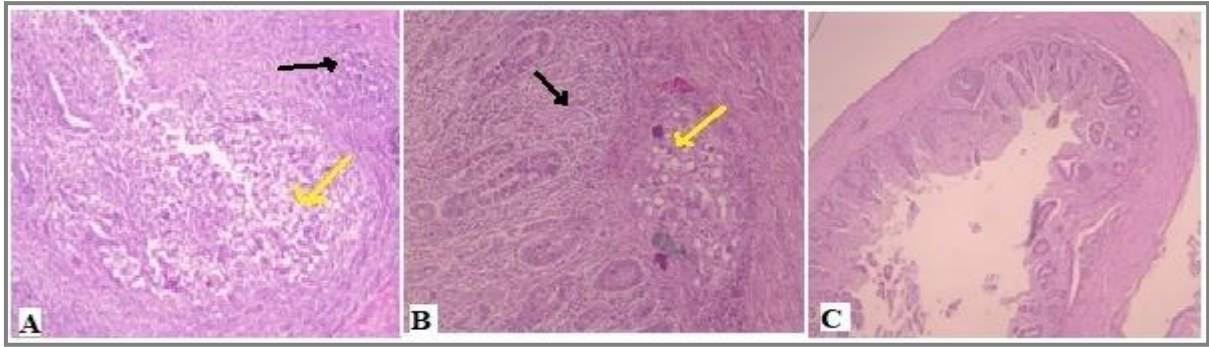


Figure 43. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70 % de l'écorce de *P. granatum*/Kg d'aliment (P2) montrant **(A)** une ulcération de la muqueuse cæcale et une exsudation fibrino-leucocytaire (la flèche noire) associée à une occupation massive par le parasite (la flèche jaune) au 7^e J. P. I. (H&E, x100) ; **(B)** une inflammation importante au niveau de la muqueuse (la flèche noire) associée à une apparition modérée du parasite au niveau de la sous-muqueuse (la flèche jaune) au 14^e J. P. I. (H&E, x100) et **(C)** le chorion est un siège d'un infiltrat inflammatoire polymorphe, et la disparition des formes parasitaires dans la paroi cæcale au 21^e J. P. I. (H&E, x40) (Photos prises par Chaabna).

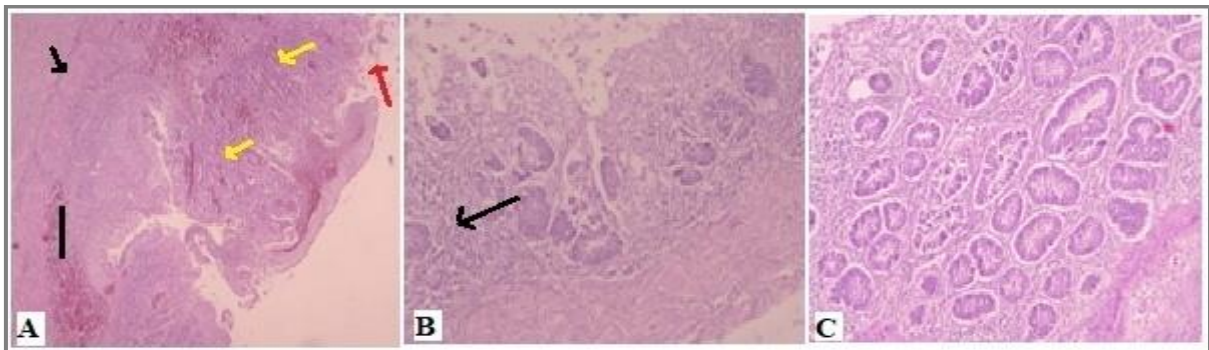


Figure 44. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 4g de la poudre de l'écorce de *P. granatum*/Kg d'aliment (P3) montrant **(A)** une paroi cæcale congestive (la ligne noire), un infiltrat inflammatoire (la flèche noire), une invasion parasitaire modérée (la flèche jaune) et une érosion de la muqueuse (la flèche rouge) au 7^e J. P. I. (H&E, x100) ; **(B)** une inflammation modérée marquée au niveau du chorion (la flèche noire) et l'absence du parasite au 14^e J. P. I. (H&E, x40) et **(C)** des structures histologiques cæcales bien restaurées au 21^e J. P. I. (H&E, x100) (Photos prises par Chaabna).

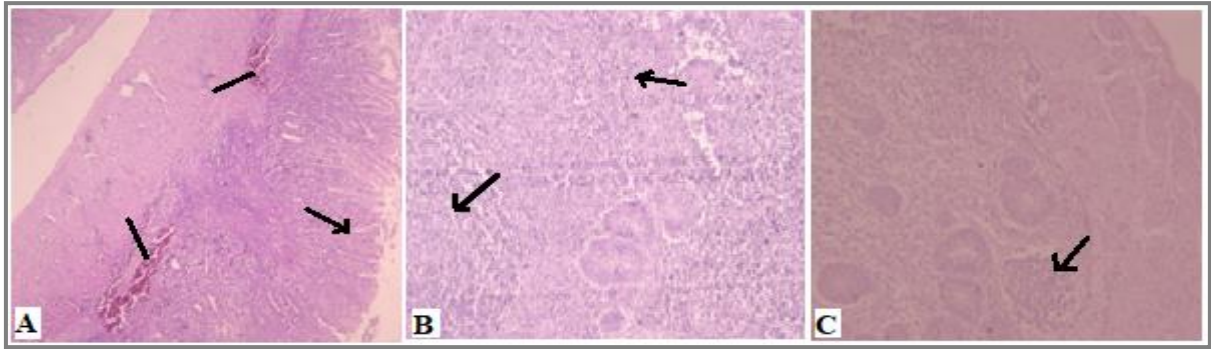


Figure 45. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 400 mg de l'extrait éthanolique 70 % des feuilles d'*O. europaea*/Kg d'aliment (O1) montrant (A) une congestion de la sous-muqueuse (les lignes noires) et une ulcération accompagnée d'une désintégration de la muqueuse (la flèche noire) au 7^e J. P. I. (H&E, x100) ; (B) un infiltrat d'un grand nombre de cellules inflammatoires au niveau de la muqueuse (la flèche noire) et une apparition discrète des formes parasitaires au 14^e J. P. I. (H&E, x200) et (C) une inflammation modérée au niveau de la muqueuse (la flèche noire) et absence des différents stades de développement d'*E. tenella* au 21^e J. P. I. (H&E, x200) (Photos prises par Chaabna).

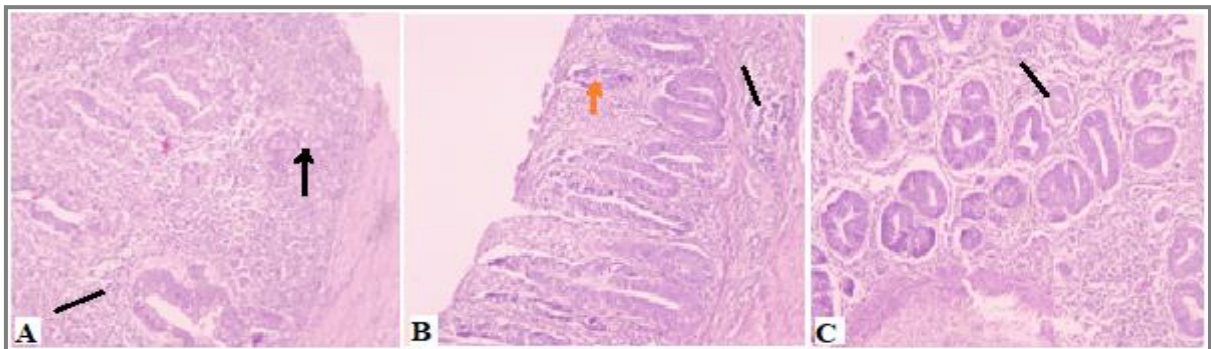


Figure 46. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 800 mg de l'extrait éthanolique 70 % des feuilles d'*O. europaea*/Kg d'aliment (O2) montrant (A) une dégénération des glandes associée à l'envahissement par *E. tenella* (la flèche noire), présence d'un fibrino-leucocytaire (la ligne noire) au 7^e J. P. I. (H&E, x200) ; (B) une régénération de la muqueuse (la flèche rouge), un infiltrat inflammatoire lympho-plasmocytaire (la ligne noire), une apparition discrète du parasite au 14^e J. P. I. (H&E, x100) et (C) une inflammation modérée au niveau du chorion (la ligne noire), une disparition des formes parasitaires dans la paroi cæcale et une régénération des tissus au 21^e J. P. I. (H&E, x200) (Photos prises par Chaabna).

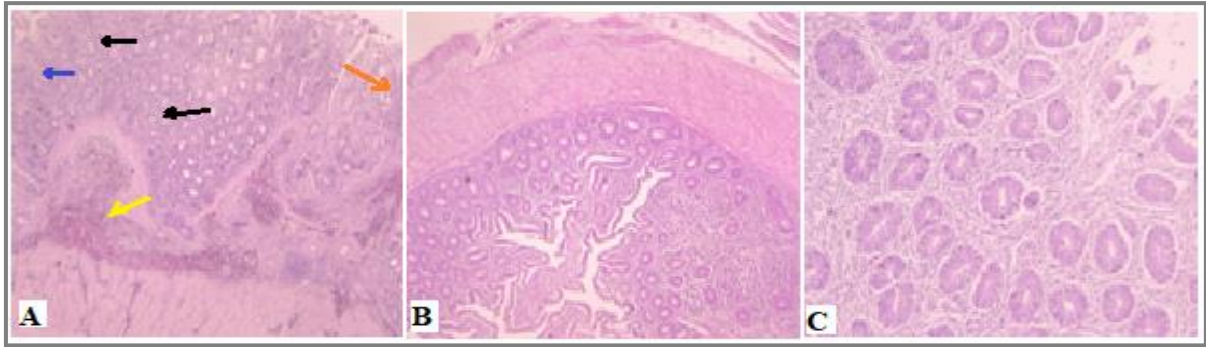


Figure 47. Photographies des coupes histologiques des cæca des poussins du groupe infecté traité avec 4 g de la poudre des feuilles d'*O. europaea*/Kg d'aliment (O3) montrant **(A)** une muqueuse comblée de différents stades de développement d'*E. tenella* (la flèche noire), une sous-muqueuse congestive (la flèche jaune), une érosion de la muqueuse (la flèche rouge), un abcès de crypte composé de cellules inflammatoires (la flèche bleue) au 7^e J. P. I. (H&E, x200) ; **(B)** et **(C)** une structure histologique normale et saine au 14^e (H&E, x100) et 21^e J. P. I. (H&E, x200), respectivement (Photos prises par Chaabna).

2. Discussion

2. 1. Le taux d'extraction

L'extraction et l'isolement des substances bioactives, tels les composés phénoliques, à partir de leurs sources naturelles s'effectuent selon des procédures reconnues : l'extraction complète par des solvants en procédant différentes méthodes puis le traitement chimique supplémentaire des extraits pour séparer les composants cibles à l'état pur (Bubalo *et al.*, 2018). Les rendements des extraits de plantes, la composition phénolique et les activités biologiques dépendent fortement de la nature du solvant d'extraction, car les différents composés ont des propriétés chimiques et des polarités variables, et peuvent être solubles ou non dans un solvant donné (Sultana *et al.*, 2009 ; Anokwuru *et al.*, 2011) ; à titre d'exemple, Oreopoulou *et al.* (2019) ont rapporté qu'un solvant hydro-alcoolique a la capacité d'extraire certaines molécules d'un matériel végétal meilleure qu'un solvant purement alcoolique.

D'autre part, le diamètre des particules du matériel végétal a un impact durant l'extraction, la surface de contact avec le solvant augmente lorsque le diamètre des particules diminue, par conséquent, le rendement de l'extraction augmente (Oreopoulou *et al.*, 2019 ; Papageorgiou *et al.*, 2022).

Autres facteurs peuvent influencer le rendement et la qualité des composés bioactifs, tels que les conditions environnementales, principalement les facteurs édaphiques et climatiques liés à la position géographique. Ils peuvent également être affectés par les variations physiologiques, la saison et le moment de la récolte. Le facteur génétique joue également un rôle primordial dans la détermination de la composition et du rendement, lesquels varient en fonction du cycle végétatif, de l'âge et de l'organe de la plante utilisé pour l'extraction (Mehalaine et Chenchouni, 2021).

Dans la présente étude, les extraits bruts des deux plantes ont montré des rendements élevés. Après une extraction liquide/liquide, en utilisant une série de solvants à polarité croissante, la fraction de n-butanol, qui est la fraction la plus polaire, a donné le rendement le plus élevé pour *Punica granatum* et la fraction d'acétate d'éthyle, à polarité moyenne, a donné le rendement le plus élevé pour *Olea europaea*. L'extrait d'éther diéthylique, la fraction la plus apolaire, des deux plantes a fourni un faible rendement. La non-polarité de l'éther diéthylique conduit à sa sélectivité, par conséquent, nous constatons que les deux extraits bruts sont pauvres en composés fortement apolaires.

Concernant *P. granatum*, Šavikin *et al.*, (2018) ont obtenu un extrait brut de pelures de grenade avec un rendement de 25.25 % après une macération de 24h sous agitation dans l'éthanol 70 %. Ensuite, un fractionnement a permis d'obtenir des rendements de 0.4, 2.15, 4.35 et 18.15 % pour les fractions d'éther de pétrole, d'acétate d'éthyle, de n-butanol et de la phase aqueuse, respectivement. Ces rendements sont plus faibles par rapport à nos résultats, et cela peut être justifié par la différenciation des méthodes d'extraction procédées dans les deux travaux, ainsi que par la zone de récolte.

Dans autres travaux antérieurs, les taux d'extraction obtenus des extraits méthanoliques de pelures de grenades récoltées dans trois villes marocaines, Beni Mellal, Settat et Berkane, étaient de 36, 43 et 53 %, respectivement (Sabraoui *et al.*, 2020). Pour les extraits méthanolique 50 %, éthanolique 96 %, méthanolique, aqueux et acétonique de pelures de grenades récoltées dans la wilaya de Bouira en Algérie, les taux étaient de 37.33, 26.20, 27.21, 14.87 et 6.63 %, respectivement (Kennas et Amellal-Chibane, 2019).

Quant à *O. europaea*, l'extraction au méthanol de feuilles séchées provenant de six sites différents en Anatolya, Turquie, a donné des rendements variant de 102.27 à 443.16 mg/g MS en utilisant la méthode d'extraction assistée par homogénéisateur, et de 88.75 à 350.82 mg/g MS en utilisant la méthode d'extraction assistée par ultrasons (Bilgin et Şahin, 2013).

Dans une étude portée sur les feuilles de quatre variétés algériennes (Sigoise, Rougette, Sofiana et Verdal) et quatre variétés tunisiennes (Chemlali, Octoubri, Gerboui et Sayali), ils ont trouvé que le taux de l'extraction varie de 12.02 à 26.61 % pour les extraits éthanoliques, de 5.56 à 8.24 % pour les extraits d'acétate d'éthyle et de 1.13 à 3.22 % pour les extraits d'hexane (Khelouf *et al.* 2023).

D'après les résultats de Borges *et al.* (2020), ils ont rapporté que les taux d'efficacité de la méthode d'extraction solide/liquide des feuilles étaient de 0.9, 4.1, 5.7, 7.2, 6.2 et 6.8 % en utilisant respectivement l'hexane, l'éthanol, l'eau, le méthanol, le dichlorométhane et l'acétone comme solvants.

Dans la recherche effectuée par Lee *et al.* (2009), l'extrait éthanolique 80 % des feuilles a donné un rendement de 42.64 %. Après fractionnement, les phases d'hexane, de chloroforme, d'acétate d'éthyle, de butanol et de la phase aqueuse ont donné les rendements suivants : 0.98, 3.4, 4.18, 10.8 et 12.32 %, respectivement. Nous remarquons que le rendement de leur extrait butanolique est deux fois supérieur par rapport au nôtre.

Cette importante diversité dans les rendements d'extraction des deux plantes peut être due à au moins un des facteurs décrits précédemment.

2. 2. Teneurs en composés bioactifs

Les substances bioactives qu'on trouve habituellement dans les plantes sont des métabolites secondaires synthétisés par diverses voies biologiques au cours des processus du métabolisme secondaire. Elles jouent un rôle crucial dans la défense des plantes contre le stress abiotique ou biotique (Bubalo *et al.*, 2018). Ces molécules s'accumulent souvent dans des parties particulières de la plante, et il existe également des différences qualitatives et quantitatives dans certains métabolites au sein d'une même espèce (Jones et Kinghorn, 2012).

À partir des plantes, plusieurs solvants ont été utilisés pour l'extraction des composés bioactifs spécifiques, ce qui peut influencer la perméabilité des cellules végétales par des altérations biophysiques ou chimiques. Par ailleurs, une extraction successive avec des solvants de polarité croissante peut produire des fractions contenant différents groupes de polyphénols (Oreopoulou *et al.* 2019).

Il est bien connu que les composés phénoliques contribuent aux activités biologiques des extraits. La qualité et la quantité de ces composés extraits dépendent significativement de certains facteurs, notamment la température, le pH, et la durée

d'extraction, la polarité du solvant (Gulcin *et al.*, 2019), les variations génétiques, les changements climatiques, la maturité et les conditions de stockage, *etc.* (Çam, *et al.*, 2009 ; Pathak *et al.*, 2017 ; Desseva et Mihaylova, 2020 ; Ko *et al.*, 2021).

Selon la littérature, la grenade est l'un des fruits les plus riches en composés phénoliques, plus précisément la punicalagine, les anthocyanes et les acides ellagique et gallique de la punicaline (Sabraoui *et al.*, 2020).

Les concentrations en phénols totaux de nos fractions étudiées sont élevées par rapport aux concentrations mentionnées dans les travaux d'Arun *et al.* (2017) et de Belkacem *et al.* (2014). Dans le travail d'Arun et ses collaborateurs (2017), ils ont estimé la teneur phénolique de l'extrait méthanolique (841.56 ± 5.2 mg EAG/g d'extrait) et ses fractions, d'hexane (107.26 ± 5.9 mg EAG/g d'extrait), d'acétate d'éthyle (532.36 ± 2.63 mg EAG/g d'extrait) et de la phase résiduelle (190.56 ± 5.2 mg EAG/g d'extrait), alors que dans le travail de Belkacem et ses collaborateurs (2014), ils ont indiqué que la teneur en polyphénols était de 158.18 ± 0.66 , 597.08 ± 3.9 et 413.6 ± 1.48 mg EAG/g d'extrait dans l'extrait méthanolique 70 %, la fraction d'acétate d'éthyle et la fraction butanolique, respectivement.

Concernant les concentrations en flavonoïdes, les résultats de Belkacem *et al.* (2014) ont démontré que la concentration dans la fraction butanolique était de 91.1 ± 0.88 mg EC/g d'extrait, tandis que la fraction d'acétate d'éthyle était la plus riche présentant une concentration de 135.5 ± 2.0 mg EC/g d'extrait. Il faut noter que leur extrait méthanolique 70 % était le moins riche montrant une concentration de 12.8 ± 2.2 mg EC/g d'extrait.

L'étude d'Elfalleh *et al.* (2012) sur l'extrait méthanolique de l'écorce du fruit collecté en Tunisie a révélé un contenu en polyphénols de 85.60 ± 4.87 mg EAG/g MS, en flavonoïdes de 51.52 ± 8.14 mg ER/g MS, en anthocyanines de 102.20 ± 16.42 mg ECG/g MS, et en tanins de 139.63 ± 4.25 mg EAT/g MS.

D'après les résultats obtenus par Sabraoui *et al.* (2020), les concentrations du contenu phénolique total trouvées dans l'écorce de trois variétés marocaines Beni Mellal, Settat et Berkane étaient de 224.39 ± 3 , 223.21 ± 15 et 204.58 ± 1.96 mg EAG/g MS, respectivement, pendant que les concentrations du contenu en flavonoïdes étaient de 62.63 ± 3.23 , 52.12 ± 1.36 et 46.17 ± 2.18 mg ER/g MS, respectivement. Dans une autre étude sur trois variétés iranienne, ils ont trouvé que la teneur en polyphénols dans l'écorce varie de 276 ± 12.69 à 413 ± 16.84 mg EAG/g, la teneur en flavonoïdes varie de 36 ± 3.56 à 54 ± 8.96 mg ER/g et la teneur en flavonols varie de 25 ± 5.43 à 45 ± 9.84 mg ER/g (Derakhshan *et al.*, 2018).

En ce qui concerne *Olea europaea*, l'étude phytochimique qualitative de trois extraits, aqueux, acétonique et méthanolique, des feuilles récoltées dans l'Est algérien a permis de détecter la présence des tanins, des flavonoïdes et des stérols en quantités importantes. Les chercheurs ont aussi indiqué la présence des triterpénoides, des saponosides, des coumarines, des quinones libres et des composés réducteurs. Dans la même étude, une diversification des flavonoïdes a été mise en évidence dans les feuilles où ils ont trouvé des chalcones, des flavonols, des flavones, des dihydroflavonols, des flavanones, des isoflavones, des dihydroflavonols (Himour *et al.*, 2016).

L'étude de Papageorgiou *et al.* (2022) a révélé que le solvant hydro-alcoolique qui contient de l'éthanol à des pourcentages de 60 à 80 % (v/v) peut extraire un maximum du composant majeur d'*Olea europaea*, l'oleuropéine.

Les résultats de Ghanem *et al.* (2019) ont indiqué que la fraction butanolique et la fraction d'acétate d'éthyle sont moins riches en polyphénols par rapport à l'extrait méthanolique 80 % des feuilles d'*O. europaea* montrant un contenu de 253.23 ± 0.75 mg EAC/g MS. À l'inverse, nos résultats ont démontré que l'extrait brut est moins riche de ces composés que ses fractions, d'acétate d'éthyle et butanolique.

Dans une autre étude antérieure, ils ont validé que la concentration des tanins condensés dans les feuilles de l'olivier varie significativement selon les conditions climatiques. La teneur la plus élevée, 0.84 ± 0.00 mg EC/g MS, a été enregistrée dans les feuilles soumises à la sécheresse et à la température élevée. En revanche, la teneur la plus faible, 0.24 ± 0.00 mg EC/g MS, a été enregistrée dans les feuilles soumises à des conditions favorables (Ben Mansour-Gueddes *et al.*, 2020).

Selon Lee *et al.* (2009), les concentrations en polyphénols totaux et en flavonoïdes contenues dans l'extrait éthanolique 80% des feuilles étaient de 148 mg EAT/g et de 58 mg EN/g, respectivement. Après fractionnement, les teneurs en polyphénols totaux des extraits hexanique, chloroformique, d'acétate d'éthyle, butanolique et de la phase aqueuse étaient respectivement de 34, 43, 153, 175 et 48 mg EAT/g, tandis que, les teneurs en flavonoïdes étaient respectivement de 15, 26, 71, 75 et 19 mg EN/g.

Dans le travail de Bilgin et Şahin, (2013), ils ont trouvé que le contenu phénolique dans les extraits méthanoliques des feuilles d'*O. europaea*, collectées de différentes régions d'Antalya, Turquie, est compris entre 10.11 et 61.66 mg EAG/g MS pour la méthode d'extraction assistée par homogénéisateur et entre 7.35 et 38.66 mg EAG/g MS pour la méthode d'extraction assistée par ultrasons. De plus, ils ont conclu que la teneur en composés phénoliques diminue à la mesure que l'altitude diminue.

2. 3. Les activités antioxydantes *in vitro*

Il a été révélé que le matériel génétique peut être altéré par le stress oxydatif, qui provoque également une peroxydation des lipides membranaire, une diminution de la fluidité de la membrane, des troubles métaboliques et la mort de la cellule. Le cancer, le vieillissement accéléré, l'inflammation, les maladies cardiaques et les maladies neurodégénératives sont des pathologies liées à un déséquilibre entre les espèces réactives et les antioxydants (Anokwuru *et al.*, 2011).

En raison de leur capacité à piéger les radicaux libres, les substances exogènes dérivées des plantes sont considérées comme d'excellents antioxydants pour la prévention des maladies associées à une production accrue de radicaux libres (Hernández-Rodríguez *et al.*, 2019).

En prenant en considération que le type du solvant et la technique d'extraction sont des facteurs très importants pour l'extraction des antioxydants d'une matière végétale, une seule étape d'extraction peut s'avérer insuffisante (Arun *et al.*, 2017). Le fractionnement est une méthode d'extraction supplémentaire sélective de composés végétaux utilisant la séparation solvant/solvant (Jones et Kinghorn, 2005), cette méthode peut enrichir davantage les substances contenues dans les extraits, ce qui peut augmenter l'activité biologique d'une manière significative (Arun *et al.*, 2017). Conformément à ce que nous venons de citer, nos résultats des cinq essais antioxydants montrent que les fractions des deux plantes ont réagi plus efficacement par rapport à leurs extraits bruts. En s'appuyant sur les travaux antérieurs de Yancheva *et al.* (2016) et Khan *et al.* (2020), nous suggérons qu'il y a une corrélation positive entre la concentration en polyphénols et la capacité antioxydante pour les deux plantes.

Il est important de noter que l'activité antioxydante des composés phénoliques est principalement due à leurs caractéristiques d'oxydoréduction, qui leur permettent d'agir comme des donneurs d'hydrogène, des agents réducteurs, des stabilisateurs d'oxygène singulet ou des chélateurs métalliques (Elfalleh *et al.*, 2012).

Dans la présente étude, la capacité antioxydante a été évaluée en termes de pouvoir de piégeage des radicaux libres et de pouvoir réducteur. Selon Fellah *et al.* (2018), la capacité antioxydante *in vitro* ne doit pas être mesurée à l'aide d'un seul modèle de test en raison de la grande variété chimique des molécules antioxydantes et de la complexité des échantillons.

Nous avons remarqué que les extraits des deux plantes ont présenté une meilleure capacité inhibitrice contre le radical ABTS^{•+} par rapport au radical DPPH[•]. À cause d'une cinétique de réaction plus rapide, le test d'ABTS montre une forte sensibilité aux antioxydants (Lee *et al.*, 2015).

À propos de l'écorce de la grenade, Kennas et Amellal-Chibane (2019) ont remarqué que l'extrait éthanolique a montré la meilleure activité antioxydante en piégeant le DPPH[•], suivi des extraits méthanolique 50 %, méthanolique, acétonique et aqueux avec des valeurs de 76.75 ± 2.59 , 85.37 ± 7.05 , 147.83 ± 5.03 , 160.01 ± 7.28 et 183.71 ± 8.71 µg/mL, respectivement. Concernant le piégeage du radical ABTS^{•+}, l'extrait éthanolique a toujours montré une meilleure capacité avec une inhibition de 78.92 ± 1.13 %. Quant à l'étude de Yassin *et al.* (2021), la concentration 1 mg/mL des extraits acétonique, méthanolique, hexanique et aqueux ont montré une inhibition de 86.9, 79.4, 68.2 et 53.7 %, respectivement, contre le radical DPPH[•]. Ces derniers résultats se sont avérés moins efficaces que notre extrait brut, lequel a montré un pourcentage d'inhibition de 72.07 ± 4.22 % à la concentration de 12.5 µg/mL contre le DPPH[•] et de 89.91 ± 0.51 % à la concentration de 25 µg/mL contre l'ABTS^{•+}.

D'après les résultats de Rosas-Burgos *et al.* (2017), l'extrait méthanolique et ses fractions aqueuse, butanolique, d'acétate d'éthyle et hexanique ont donné une activité qui varie de 1090 ± 6 à 2239 ± 4 mmol TR/kg contre le radical DPPH[•] et de 830 ± 2 à 2040 ± 7 mmol T/kg contre le radical ABTS^{•+}.

Selon Sabraoui *et al.* (2020), les résultats de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de trois variétés marocaines vis-à-vis des deux radicaux, DPPH[•] et ABTS^{•+}, étaient respectivement les suivants : 43.13 ± 0.06 et 62.15 ± 0.01 µg/mL pour la variété Settati, 65.55 ± 0.01 et 85.32 ± 0.08 µg/mL pour la variété Beni Mellal, et 42.71 ± 0.04 et 65.47 ± 0.14 µg/mL pour la variété Berkane.

Dans une étude sur les pelures de grenade de l'Inde, l'extrait acétonique 80 % a montré une activité puissante avec des valeurs de 0.175 et 0.115 µg/mL contre le DPPH[•] et l'ABTS^{•+}, respectivement, tandis que la concentration qui a produit une absorbance de 0.5 en réduisant le Fe³⁺ a été de 0.37 µg/mL (Sihag *et al.*, 2022).

Les résultats du pouvoir réducteur de nos extraits sont en désaccord avec ceux de Zahin *et al.* (2010), qui ont trouvé que la fraction d'acétate d'éthyle a présenté le pouvoir réducteur le plus faible dans le test du CUPRAC et le test de réduction du Fe³⁺ en Fe²⁺ par rapport aux fractions méthanolique, éthanolique et acétonique. Dans l'étude de Rafi *et al.* (2021), ils ont indiqué que les extraits éthanolique 70 %, aqueux et éthanolique ont une

forte activité réductrice du Cu^{2+} montrant des valeurs de 2981.59 ± 25.99 , 1065.12 ± 4.75 et 839.79 ± 8.33 $\mu\text{mol ET/g MS}$, respectivement.

Concernant les feuilles de l'olivier, Khan *et al.* (2020) ont rapporté que, aux concentrations 1 et 2 mg/mL, les extraits des feuilles collectées de Pakistan ont exercé une activité inhibitrice contre le DPPH $^{\bullet}$ présentant des pourcentages d'inhibition de 41.4 ± 1.01 et 78.3 ± 2.56 % pour l'extrait éthanolique, de 33.3 ± 1.40 et 63.4 ± 2.48 % pour l'extrait d'acétate d'éthyle et de 28.6 ± 1.13 et 48.3 ± 2.06 % pour l'extrait aqueux. En outre, La capacité de réduire le Fe^{3+} en Fe^{2+} par les mêmes extraits et aux mêmes concentrations a montré les absorbances suivantes : 0.624 et 1.224 pour l'extrait éthanolique, 0.342 et 0.592 pour l'extrait d'acétate d'éthyle, et 0.042 et 0.106 pour l'extrait aqueux.

Dans l'étude de Borges et ses collaborateurs (2020), ils ont testé l'effet antiradicalaire de différents extraits des feuilles à la concentration de 5 mg/mL, l'activité des extraits aqueux, méthanolique, éthanolique, acétonique, de dichloromethane et hexanique était la suivante : 687 ± 6.9 , 167 ± 2.8 , 403 ± 5.7 , 735 ± 7.9 , 561 ± 11 et 323 ± 2.9 ET/g MF, respectivement, contre le DPPH $^{\bullet}$, et 415 ± 5.9 , 46.1 ± 6.9 , 210 ± 6.8 , 608 ± 4.4 , 518 ± 5.1 et 383 ± 2.9 ET/g MF, respectivement, contre l'ABTS $^{\bullet+}$.

Dans un autre travail, les propriétés antioxydantes des feuilles ont été mesurées en procédant à trois tests, l'activité de piégeage des radicaux DPPH $^{\bullet}$ et ABTS $^{\bullet+}$, et la capacité de réduction ferrique. L'effet inhibiteur des extraits méthanolique, aqueux et d'acétate d'éthyle était comme suivant : 0.580 ± 0.005 , 0.912 ± 0.009 et 1.310 ± 0.016 mg/mL, respectivement, dans l'essai de la réduction du fer ; 0.723 ± 0.002 , 1.082 ± 0.004 et 1.420 ± 0.007 mg/mL, respectivement, dans l'essai du piégeage du DPPH $^{\bullet}$ et 0.820 ± 0.006 et 0.557 ± 0.005 mg/mL, respectivement, dans l'essai du piégeage de l'ABTS $^{\bullet+}$, sachant que l'extrait d'acétate d'éthyle n'a montré aucune activité contre ce dernier (Lfitat *et al.* 2021).

Selon Önder *et al.* (2023), les résultats de la capacité de réduire le Cu^{2+} vers le Cu^{1+} par les extraits des feuilles ont été présentés dans l'ordre suivant : méthanol 80 % (0.63 mmol TR/g) > méthanol (0.50 mmol TR/g) > éthanol (0.43 mmol TR/g) > aqueux (0.25 mmol TR/g), tandis que les résultats de la capacité de réduire le Fe^{3+} vers le Fe^{2+} ont été présentés dans l'ordre suivant : méthanol (0.074 mmol TR/g) > méthanol 80 % (0.065 mmol TR/g) > éthanol (0.059 mmol TR/g) > aqueux (0.037 mmol TR/g).

2. 4. L'activité anti-Alzheimer *in vitro*

La neuroprotection regroupe les stratégies et les mécanismes visant à protéger le système nerveux central contre les lésions neuronales induites par diverses pathologies (Phani Kumar *et al.*, 2015). La physiopathologie de la maladie d'Alzheimer dépend largement de la perte du neurotransmetteur acétylcholine dans le cerveau, c'est pourquoi l'inhibition de l'activité enzymatique de l'acétylcholinestérase et de la butyrylcholinestérase, qui décomposent le neurotransmetteur correspondant, peut augmenter la concentration de l'acétylcholine. Cette approche représente aujourd'hui la majorité des traitements efficaces des troubles cognitifs. L'utilisation des inhibiteurs de la cholinestérase ayant la double capacité d'inhiber à la fois l'AChE et la BChE pourrait améliorer les résultats cliniques, en particulier pour les patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Elufioye *et al.*, 2019).

En tant que traitement complémentaire et alternatif aux agents synthétiques neuroprotecteurs, les composés phytochimiques bioactifs, y compris les composés phénoliques, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes et les saponines, ont été utilisés pour leurs propriétés préventives et curatives (Phani Kumar *et al.*, 2015).

À la lumière des résultats obtenus, nos extraits sont riches en antioxydants. Selon De Morais *et al.* (2021), les plantes riches en composés phénoliques ont une capacité antioxydante élevée et, par conséquent, une activité anticholinestérasique prometteuse. De plus, nous avons observé que les fractions des deux plantes présentent une meilleure activité comme anticholinestérasiques par rapport à leurs extraits bruts, nous suggérons que les molécules bioactives apolaires sont les responsables de cette activité dans cette étude. À notre connaissance, la présente étude rapporte pour la première fois l'activité anticholinestérasique de l'extrait d'éther diéthylique des pelures de grenade ainsi que celle des trois fractions issues des feuilles d'olivier d'origine algérienne.

Dans une étude récente menée par Ali et ses collaborateurs (2022), l'activité anticholinestérasique de 25 substances dérivées de *Punica granatum* a été testée. La conclusion de cette étude est que le grenadier représente une source prometteuse pour le traitement de la maladie d'Alzheimer.

Les résultats des pelures de *P. granatum* obtenus dans notre étude sont en contradiction avec ceux de Šavikin *et al.* (2018) qui ont déclaré que les solvants polaires présentent une activité inhibitrice élevée vis-à-vis de l'acétylcholinestérase par rapport aux solvants non-polaires. Ils ont trouvé qu'à la concentration 500 µg/mL, l'extrait éthanolique 70 % des pelures de la grenade et sa fraction aqueuse ont donné l'effet le plus puissant avec

des pourcentages d'inhibition de 39.57 ± 1.88 et 28.12 ± 2.09 %, respectivement, tandis que ses fractions apolaires, d'éther de pétrole, d'acétate d'éthyle et butanolique, ont présenté les pourcentages suivants : 26.78 ± 2.21 , 12.63 ± 2.51 et 23.26 ± 4.70 %, respectivement. Il faut noter que leurs pourcentages d'inhibition à cette concentration sont très faibles par rapport aux résultats que nous avons obtenus à $200 \mu\text{g/mL}$. Comme nous l'avons déjà mentionné, de nombreux facteurs peuvent affecter la composition phytochimique des extraits et, par conséquent, altérer leurs bioactivités.

Elshafie et ses collaborateurs (2021) ont étudié l'effet neuroprotecteur de l'extrait aqueux de pelure de la grenade, ils ont constaté que la concentration inhibant 50 % d'acétylcholinestérase est égale à $133.0 \mu\text{g/mL}$, et que la concentration $250 \mu\text{g/mL}$ a inhibé 99 % de l'enzyme.

Dans une autre étude, les extraits éthanoliques des fleurs de sept variétés tunisiennes ont présenté une activité puissante contre l'acétylcholinestérase avec des $\text{CI}_{50\%}$ variant de 2.70 ± 0.10 à $8.06 \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$ et contre la butyrylcholinestérase avec des $\text{CI}_{50\%}$ variant de 4.00 ± 0.11 à $8.60 \pm 0.98 \mu\text{g/mL}$ (Bekir *et al.*, 2016). Selon Bekir *et al.* (2013), qui ont réalisé leur recherche sur les feuilles du grenadier, les extraits d'hexane et de dichlorométhane n'ont montré aucune activité anticholinestérasique. En revanche, les extraits éthanolique et d'acétate d'éthyle ont démontré une activité contre l'acétylcholinestérase avec des $\text{CI}_{50\%}$ de 46.00 ± 3.26 et $14.83 \pm 0.73 \mu\text{g/mL}$, respectivement ; cependant, seul l'extrait éthanolique était actif vis-à-vis de la butyrylcholinestérase avec une $\text{CI}_{50\%}$ de $2.65 \pm 0.21 \mu\text{g/mL}$.

À l'égard des feuilles d'*Olea europaea*, Omar et ses collaborateurs (2018) ont étudié l'effet des biophénols de l'olivier, y compris les non-flavonoïdes (hydroxytyrosol, oleuropéine, acide caféique et verbascoside), les flavonoïdes (rutine, quercétine et lutéoline) et les extraits commerciaux d'olivier (extrait de fruits d'olivier, extrait de feuilles d'olivier, hydroxytyrosol extrême et olivenol plus), sur les enzymes impliquées dans la pathogenèse de la maladie d'Alzheimer : la β -sécrétase, l'AChE, la BChE, la tyrosinase et l'histone-désacétylase. Ils ont constaté que l'inhibition la plus forte contre la β -sécrétase provenait de la rutine ($0.0038 \mu\text{M}$), suivie du verbascoside ($0.0063 \mu\text{M}$) et de l'extrait de fruit d'olivier ($0.018 \mu\text{g}$). De plus, la quercétine a présenté l'effet inhibiteur le plus puissant contre la tyrosinase ($10.73 \mu\text{M}$), la BChE ($19.08 \mu\text{M}$), l'AChE ($55.44 \mu\text{M}$) et l'histone-désacétylase ($105.1 \mu\text{M}$). Il convient de noter que l'extrait commercial des feuilles avait un effet modéré contre l'AChE, la BChE, la β -sécrétase et l'histone-désacétylase avec des valeurs de 101.7, 84.77, 2.73 et 1085 μg , respectivement.

Dans l'étude de Senol *et al.* (2016), ils ont constaté que les extraits éthanoliques des feuilles et des écorces d'*O. europaea*, collectées de deux différentes régions géographiques, en Turquie et à Chypre, ont montré une très faible activité contre l'AChE et la BChE à la concentration 500 µg/mL avec des valeurs d'inhibition allant de 5.7 ± 1.5 à 15.0 ± 2.3 %. Dans une autre étude, la concentration 1 mg/mL de l'extrait méthanolique des feuilles a exercé une activité inhibitrice de 85.4 ± 3.39 % contre l'acétylcholinestérase (Amoo *et al.* 2012).

Figueiredo-González *et al.* (2018) ont trouvé que les extraits phénoliques des huiles d'olive vierges des deux variétés Cornicabra et Picual ont présenté une efficacité contre la BChE, avec des valeurs de 249 ± 6 et 357 ± 38 µg/mL, respectivement. Ils ont mentionné que l'effet de l'extrait de Cornicabra peut être lié à sa teneur élevée en sécoiridoïdes, en lignanes et en acides phénoliques.

Après une étude faite par Suárez Montenegro *et al.* (2021) sur des extraits de feuilles d'olivier, ils ont conclu qu'il existe une corrélation importante entre les triterpènes (tels les dérivés de l'acide ursolique, érythrodiol et uvaol, et autres) et l'activité neuroprotectrice. Les résultats de Gallego *et al.* (2021) suggèrent également que les triterpènes d'*Olea europaea* sont des neuroprotecteurs puissants.

2. 5. L'activité antibactérienne *in vitro*

Les infections bactériennes résultent principalement de la capacité des bactéries à envahir et se répandre dans leur hôte, tout en produisant divers agents de virulence qui causent ainsi des dommages aux cellules et aux tissus (Jam *et al.*, 2022).

Il est devenu impératif d'explorer des traitements alternatifs face à l'augmentation de la résistance aux antibiotiques. Plusieurs études ont montré que certaines plantes médicinales ont le potentiel de produire des molécules antibactériennes, y compris celles qui sont efficaces contre les souches résistantes (Alhanbali *et al.*, 2024). Parmi ces molécules, nous citons les composés phénoliques, selon Kharchoufi *et al.*, (2018), les polyphénols peuvent former des complexes avec les protéines bactériennes. Ils peuvent ainsi interagir avec les enzymes cellulaires présentes dans le cytoplasme et la paroi cellulaire. De plus, en raison de leurs propriétés lipophiles, les polyphénols peuvent perturber le fonctionnement des membranes biologiques en découplant la phosphorylation oxydative, et en provoquant une perte du contenu cytoplasmique.

Il convient de noter que les nuances dans les composés phytochimiques ont un impact sur leurs valeurs antimicrobiennes.

Les résultats de notre étude sont en accord avec ceux de Rosas-Burgos *et al.* (2017), Kupnik *et al.* (2021) et Alhanbali *et al.* (2024) qui ont constaté que les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes aux extraits des plantes par rapport aux bactéries à Gram positif. La composition de la paroi bactérienne peut jouer un rôle important dans la réaction des deux types de bactéries aux agents antibactériens, pour cette raison, la résistance des bactéries Gram négatives peut être expliquée par la présence de la membrane externe de lipopolysaccharides (Mahboubi *et al.*, 2015).

Dans des études précédentes sur *P. granatum*, les chercheurs ont constaté que la pelure de la grenade a des activités biologiques plus puissantes que les autres parties du fruit (Nozohour *et al.*, 2018 ; Debib *et al.*, 2022). Debib et ses collaborateurs (2022) ont rapporté que les extraits éthanolique et acétonique des pelures de la grenade algérienne ont présenté une activité antibactérienne plus efficace contre une gamme de souches de *S. aureus* par rapport à l'extrait d'éther de pétrole, créant des zones d'inhibition variant de 9.5 ± 0.33 à 29 ± 1.12 mm et des concentrations minimales inhibitrices variant de 8 à 512 µg/mL. Les mêmes conclusions ont été obtenues en testant les mêmes extraits contre l'une des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu, *E. coli*.

Selon Kharchoufi *et al.* (2018), la pelure est caractérisée par la présence de composés phénoliques de haut poids moléculaire, de proanthocyanidines, d'ellagitannins, de flavonoïdes, de polysaccharides complexes et de microéléments qui, dans l'ensemble, affectent les propriétés antimicrobiennes. Dans une étude sur l'activité antimicrobienne de huit variétés d'écorces de grenade, ils ont conclu que l'activité de l'extrait le plus efficace est due à sa richesse en acide ellagique (Rosas-Burgos *et al.*, 2017).

Dans une étude comparative entre les extraits aqueux, éthanolique 50%, éthanolique, acétonique et heptanique, l'extrait éthanolique a montré une activité antibactérienne significative avec une zone d'inhibition de 20 mm. Après fractionnement, purification, identification et analyse, ils ont constaté que les deux formes anomériques de la punicalagine, α et β , sont responsables de l'effet antimicrobien de la pelure de la grenade présentant des valeurs de CMI comprises entre 0.3 et 1.2 µg/mL contre *Candida albicans*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus*, ainsi que d'autres bactéries (Gosset-Erard *et al.*, 2021).

En ce qui concerne *O. europaea*, l'extrait éthanolique 80 % des feuilles et ses fractions, butanolique et d'acétate d'éthyle, ont inhibé la croissance de *S. aureus*, *B. cereus*,

S. enteritidis et *E. coli* avec des zones d'inhibition variant de 12 à 23 mm à la concentration de 800 µg/disc ; cependant, les fractions chloroformique et hexanique n'ont présenté aucune activité (Lee *et al.*, 2004).

Dans l'étude de Ghanem *et al.* (2019), ils ont testé l'effet antibactérien de l'extrait méthanolique 80 % des feuilles de l'Égypte et ses fractions, ils ont observé que les extraits de dichlorométhane et d'acétate d'éthyle étaient les fractions les plus actives contre les bactéries *S. aureus*, *B. subtilis* et *Salmonella* spp.

Dans une autre étude, ils ont démontré que les extraits éthanolique, aqueux et d'acétate d'éthyle ont une efficacité antibactérienne variable contre neuf bactéries Gram négatives et autres Gram positives, parmi lesquelles nous trouvons *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*, avec des zones d'inhibitions qui varient de 13 ± 0.08 à 19 ± 0.81 mm, où l'extrait d'acétate d'éthyle s'est montré le plus efficace contre la majorité des bactéries étudiées. Ils ont suggéré que le potentiel antimicrobien d'*O. europaea* est principalement attribué à la présence de composés secoiridoïdes et de leurs dérivés, notamment l'oleuropéine (Khan *et al.* 2020).

Lee et Lee (2010) ont testé, individuellement et en combinaison, l'effet antibactérien des principaux constituants des feuilles d'*O. europaea*, l'oleuropéine, la vanilline, la rutine et l'acide caféique, contre *B. cereus* et *S. enteritidis*. Ils ont constaté que l'effet synergétique de ces composés présente une activité antibactérienne significativement élevée.

2. 6. L'activité anticoccidienne *in vivo*

Les poulets sont exposés à de nombreuses maladies intestinales entraînant des pertes économiques, particulièrement les maladies infectieuses telle que la coccidiose causée par sept espèces d'*Eimeria*, incluant la coccidie la plus pathogène *E. tenella* (Lal *et al.*, 2009).

Plus le problème des résidus de substances chimiques dans les produits avicoles, les souches d'*Eimeria* sp. ont progressivement développé une résistance significative aux médicaments, ce qui pourrait limiter l'efficacité des traitements (Sun *et al.*, 2023). Par conséquent, les produits naturels sont apparus avec succès comme une approche pour prévenir et combattre la coccidiose chez les volailles (Muthamilselvan *et al.*, 2016 ; Sun *et al.*, 2023).

Les additifs alimentaires tels les composés phytochimiques constituent une vaste catégorie de molécules avec des structures chimiques et des bioactivités très diverses. Les substances actives des plantes varient considérablement en fonction de caractéristiques intrinsèques, telles que l'origine géographique, la saison de récolte et la partie utilisée de la plante, ainsi que de facteurs extrinsèques comme la technique de préparation de l'additif (Valenzuela-Grijalva *et al.*, 2017).

En étudiant les paramètres cliniques, zootechniques et parasitologiques, ainsi que en réalisant l'étude histopathologique des cæca, nous avons pu évaluer l'efficacité anticoccidienne des pelures du fruit de *P. granatum* et des feuilles d'*O. europaea*. À notre connaissance, il s'agit de la première étude ayant mis en évidence l'activité anticoccidienne, *in vivo*, de l'extrait hydro-éthanolique et de la poudre des feuilles d'*O. europaea*, ainsi que de l'écorce du fruit de *P. granatum*, toutes deux d'origine algérienne.

L'administration des traitements était via l'aliment, selon Sun et ses collaborateurs (2023), l'utilisation des médicaments anticoccidiens dans l'alimentation des volailles est l'une des principales méthodes de lutte contre l'infection parasitaire provoquée par *Eimeria*. Concernant l'administration du diclazuril via l'eau de boisson, El-Banna *et al.* (2005) ont démontré que l'efficacité de ce type de traitement était équivalent à celui administré via l'aliment en utilisant le même produit chimique contre une infection expérimentale causée par *Eimeria* sp. chez le poulet.

Les signes cliniques provoqués par *E. tenella* dans la présente étude sont similaires à ceux observés par EL-Dakhly *et al.*, (2006), AL-Saegh (2018) et Qaid *et al.*, (2021) qui ont expérimenté, *in vivo*, l'effet anticoccidien des plantes contre le même parasite. Lorsqu'un oocyste sporulé d'*E. tenella* est ingéré par un poulet, les sporozoïtes sont libérés après la digestion mécanique, puis la digestion enzymatique, et migrent vers leur site de développement préféré, le cæcum, où ils envahissent les entérocytes des cryptes et endommagent les parois cæcales (Lal *et al.*, 2009), provoquant les signes cliniques particuliers de cette espèce (Han *et al.*, 2022).

Dans notre étude, l'intensité de la maladie varie en fonction du traitement suivi chez les poussins infectés, sauf pour les poussins du groupe traité avec le diclazuril (D) qui n'ont montré aucun de signes d'infection. Le diclazuril a réduit significativement l'excrétion oocystale, le score lésionnel et le taux de mortalité par rapport au groupe témoin infecté non traité. Une efficacité similaire a été prouvée contre *Eimeria aratinga* chez le perroquet (Salem *et al.*, 2022) et contre *Eimeria* sp. chez le poulet (El-Banna *et al.*, 2005). Selon Taylor *et al.* (2007), le diclazuril est un produit synthétique avec un large spectre d'activité

contre diverses coccidies chez les animaux et les oiseaux. Les stades de développement affectés par ce produit varient en fonction de l'espèce pathogène. En ce qui concerne *Eimeria tenella*, le diclazuril peut démontrer une efficacité contre tous les stades de développement, ce qui renforce l'efficacité trouvées dans la présente étude.

E. tenella, l'espèce coccidienne la plus courante et la plus pathogène chez le poulet, peut provoquer une morbidité de 100 % et une mortalité élevée dues à la destruction importante de l'épithélium cæcal (Abdisa *et al.*, 2019) et à la perturbation grave de l'homéostasie intestinale (Mohsin *et al.*, 2022). Dans notre étude, le groupe infecté non traité a touché un pourcentage de mortalité de 11.11 % ce qui a apparu faible par rapport aux études de Anosa et Okoro (2011) et Abbas *et al.* (2019), cette différenciation peut être attribuée à la dose infectieuse, à l'espèce parasitaire et sa pathogénicité ou à l'état immunitaire et l'âge de l'hôte (Attree *et al.*, 2021). En outre, les poussins infectés non traités ont démontré une consommation alimentaire réduite, une conversion alimentaire mauvaise et un gain de poids faible par rapport aux poussins non infectés ; cette réduction est un résultat de la perturbation de l'intégrité cæcale par *Eimeria*, qui a altéré l'absorption des nutriments et l'efficacité de l'utilisation de l'aliment (Aitfella Lahlou *et al.*, 2021). Ces résultats sont conformes à ceux rapportés précédemment par Herrero-Encinas *et al.* (2021) qui ont noté une réduction de la prise alimentaire, du poids corporel et du gain de poids corporel, ainsi qu'une augmentation de l'excrétion d'oocystes chez les poulets exposés à *Eimeria* sp.

D'après l'étude que nous avons faite, *Punica granatum* et *Olea europaea* ont atténué les effets néfastes de la coccidiose provoquée expérimentalement par *Eimeria tenella* chez le poulet de chair (Cobb 500) ; et elles ont amélioré ainsi les performances de croissance.

Le dénombrement des oocystes d'*Eimeria* dans la matière fécale est une méthode simple pour déterminer le degré de l'infestation. L'excrétion des oocystes dans les groupes traités est significativement réduite par rapport au groupe infecté non traité. Cette réduction peut être attribuée à la présence des molécules bioactives à un effet antiparasitaire, plutôt anticoccidien, et un effet amélioratif sur le tissu intestinal, sachant que, l'activité antiparasitaire de *P. granatum* et d'*O. europaea* a été prouvé auparavant par Al-Mathal et Alsalem, (2012), Al-Mathal et Alsalem, (2013), Labsi *et al.*, (2016) , Al-Megrin, (2017), Kheirandish *et al.*, (2017), Debbou-Iouknane *et al.*, (2021) et Kamran *et al.*, (2023).

Concernant *P. granatum*, Al-Shaibani *et al.*, (2020) ont mentionné que les phénols de la grenade peuvent interagir avec les membranes cytoplasmiques et affecter leur

perméabilité aux cations, ce qui entraîne la perturbation des activités cruciales dans les cellules parasitaires et leur mort.

Dans une étude comparative menée par Salih *et al.* (2019), ils ont constaté que la grenade est plus efficace en réduisant la quantité d'oocystes d'*Eimeria necatrix* excrétés par rapport aux autres plantes étudiées. Dkhil (2013) a rapporté qu'après 5 jours de traitement avec l'extrait méthanolique 70 % de l'écorce de la grenade, la production d'oocystes d'*Eimeria papillata* par gramme de fèces a diminué de 50 % chez les souris traitées comparativement au contrôle non traité.

En ce qui concerne *O. europaea*, Kyriazisa *et al.* (2013) ont découvert que le polyphénol le plus fréquent dans les feuilles de l'olivier, l'oleuropéine, a la capacité d'exercer une activité leishmanicide directe en attaquant les formes promastigotes et amastigotes du parasite ou d'exercer une activité indirecte en activant la cellule hôte.

Dans l'étude de De Pablos *et al.* (2010), ils ont trouvé qu'*E. tenella* est très sensible au traitement à l'acide maslinique, un composé triterpénoïde présent en quantités considérables dans les feuilles et les fruits d'*O. europaea*, où la libération d'oocystes étant 80.1 % plus faible que chez les poussins non traités. De même, Añoover-Ayuso *et al.* (2024) ont constaté que le traitement avec des doses de 30, 60, 90 et 120 ppm d'extrait d'acide triterpénique, contenant de l'acide maslinique et de l'acide oléanolique, sont capables de réduire la charge d'oocystes excrétés.

La diminution des lésions au niveau de la paroi intestinale est liée à la diminution de l'excrétion oocystale (Balta *et al.*, 2021). L'examen macroscopique (le score lésionnel) et microscopique (l'étude histopathologique) des cæca révèlent qu'il y a une amélioration et une régénération de la paroi cæcale. Nous suggérons que la réduction des lésions et la bonne restauration de la muqueuse cæcale sont dues aux composants bioactifs présents dans les deux plantes étudiées, à leurs activités anticoccidiennes ainsi qu'à leurs activités antioxydantes puissantes et à leurs activités anti-inflammatoires.

Selon Valenzuela-Grijalva *et al.* (2017), les composés phytochimiques peuvent présenter des activités anti-inflammatoires et antioxydantes dans la lumière intestinale, conduisant à une amélioration de la morphologie et de la fonction intestinales. Par exemple, les tanins ont la capacité d'améliorer et de régénérer l'épithélium intestinal, optimisant ainsi la capacité digestive par une meilleure absorption et assimilation des nutriments (Al-Shaibani *et al.*, 2020).

Selon Dkhil (2013), les pelures de la grenade ont démontré une efficacité anticoccidienne, une amélioration de la structure histologique ainsi que du statut antioxydant et une

meilleure protection des tissus contre les dommages résultant de l'infection parasitaire. Amer *et al.* (2015) ont également révélé que l'extrait de pelures pourrait avoir un impact sur les niveaux élevés des espèces réactives de l'oxygène induits par l'infection à *Eimeria papillata*. Il a réduit le stress oxydatif ainsi que la cytotoxicité, et par conséquent, les lésions provoquées par le parasitisme.

Parsaei *et al.* (2014) ont dévoilé que les feuilles d'olivier contiennent des flavonoïdes capables d'améliorer le statut immunitaire des poulets. Dans l'étude de Balta *et al.* (2021), ils ont expérimenté l'effet anticoccidien d'un mélange de composés organiques dont l'extrait d'olive est l'un d'eux. Ils ont suggéré que le mélange n'a pas seulement affecté l'hôte, mais il a aussi directement inhibé *E. tenella*, limitant sa capacité à infecter les cellules aviaires.

Le cæcum de l'oiseau est un organe digestif important, comme nous avons mentionné précédemment, les poulets infectés par *Eimeria* souffrent de la malabsorption, et cela se traduit par des paramètres zootechniques réduits. Même si il n'y a pas de différences significatives, les résultats ont montré qu'il y a une amélioration dans le gain de poids, la consommation alimentaire et l'indice de consommation chez les poussins traités avec les deux plantes par rapport au groupe infecté non traité, et cela est attribué à la réduction de l'effet néfaste d'*E. tenella*, au bon rétablissement des lésions au niveau des cæca et autres activités biologiques des deux plantes.

En se basant sur les différentes activités biologiques des substances d'origine végétale, quatre mécanismes clés ont été proposés pour soutenir les changements physiologiques observés chez les animaux étudiés et expliquer les impacts sur les performances de croissance : modulation de la fermentation ruminale ; amélioration de l'état alimentaire et de la prise alimentaire ; amélioration de la digestion et de l'absorption des nutriments et source d'activité anabolique à la fois directe et indirecte sur les tissus ciblés. L'efficacité des additifs alimentaires phytochimiques dépend de leur structure, de leur dosage et de leur pharmacocinétique, ainsi que de facteurs liés à l'animal et à la période d'administration (Valenzuela-Grijalva *et al.*, 2017).

Lorsque les plantes à effet antidiarrhéique peuvent améliorer les performances de croissance chez les animaux (Cho *et al.*, 2012), nous suggérons que l'atténuation des symptômes induits lors de l'infection chez les poussins traités avec *P. granatum* pourrait être attribuée à ses propriétés antidiarrhéiques réduisant l'accumulation du liquide intestinal et de la motilité intestinale.

Parmi les substances bioactives, les tanins sont connus pour rendre la muqueuse intestinale plus résistante et réduire ses sécrétions. En outre, les flavonoïdes sont également reconnus pour leur capacité à inhiber la sécrétion intestinale (Qnais *et al.*, 2007).

Pour les groupes traités avec l'extrait éthanolique 70 % des pelures de *P. granatum*, les signes cliniques étaient moins exprimés chez les poussins traités avec 800 mg/kg d'aliment, et à la fin de l'expérience, ses poussins ont enregistré la meilleure moyenne pondérale et la bonne régénération de la muqueuse cœcale. Nous avons constaté qu'il y a une relation dose-dépendante à l'effet anticoccidien qui pourrait être due à la concentration croissante des principes actifs dans la dose 800 mg d'extrait. Ces résultats sont en accord avec ceux de Ahad *et al.* (2018) qui ont testé l'activité anticoccidienne de différentes doses (de 100 à 400 mg/kg de poids corporel) de l'extrait méthanolique de l'écorce de la grenade.

Plusieurs études ont montré l'effet positif de l'écorce de la grenade comme supplément alimentaire sur les paramètres zootechniques. Hamady *et al.* (2015) ont démontré que l'ajout de 10 g de l'extrait éthanolique 80 % de l'écorce de la grenade dans 100 kg d'aliment en tant que stimulateur de croissance naturel chez le poulet a pu améliorer de manière significative la prise alimentaire, le poids corporel et le gain de poids. Mohammed *et al.* (2021) ont expérimenté l'effet de l'extrait d'écorces de la grenade sur les performances de croissance en cas d'une infection coccidienne chez le lapin, ils ont constaté que l'extrait a significativement amélioré l'indice de conversion alimentaire relatif par rapport au groupe infecté non traité.

Quant au traitement avec 4 g de la poudre de *P. granatum*/kg d'aliment, les résultats obtenus révèlent une meilleure régénération du tissu cœcal, une bonne réduction du score lésionnel et du nombre oocytal, et une amélioration dans l'indice de consommation. Par contre, le même traitement a diminué la quantité d'aliment ingéré et le poids gagné par rapport aux autres groupes traités avec l'extrait. De même, Khorrami et ses collaborateurs (2022) ont trouvé que le traitement avec l'extrait de pelures de grenade à une concentration de 400 ppm dans l'eau de boisson contre la coccidiose aviaire causée expérimentalement par des espèces mixtes d'*Eimeria* peut réduire non seulement la production d'oocystes mais aussi la consommation d'aliments et le gain de poids corporel. Nous proposons que la réduction de la consommation alimentaire accompagnée par l'amélioration de l'indice de consommation soit à cause de la concentration élevée en polyphénols que 4 g de la poudre contiennent. Il est bien connu que les pelures de la grenade possèdent un effet astringent qui est attribué aux tanins présents (Schubert *et al.*, 1999 ; Akhtar *et al.*, 2015 ; Kharchoufi *et al.*, 2018). Selon Idris *et al.* (2017), certaines molécules, telles que les phénols, les tanins

et les saponines, ont été signalées comme des réducteurs de la consommation alimentaire chez les animaux d'élevage, ce qui entraîne un retard dans la croissance. De plus, l'importance biologique des tanins dans l'alimentation des poulets est liée à leurs effets négatifs sur la consommation parce qu'ils sont des polyphénols amers pouvant réduire l'appétence en réagissant avec les muco-protéines salivaires ou les récepteurs gustatifs. D'un autre côté, les polyphénols de pelures de *P. granatum* peuvent améliorer l'utilisation de l'énergie alimentaire en manipulant la microflore intestinale afin d'obtenir une meilleure conversion alimentaire (Ahmed et Yang, 2017).

Le taux de mortalité de 25% dans le groupe (P3) peut être justifié par l'association de la perte de l'appétence à cause des tanins avec les dégâts provoqués par le parasite au niveau des cæca.

Concernant l'alimentation supplémentée avec l'extrait éthanolique 70 % des feuilles d'*O. europaea*, nous avons trouvé que les poussins nourris de l'aliment supplémenté avec 400 mg d'extrait ont enregistré la meilleure moyenne pondérale à la fin de l'expérience, le meilleur gain de poids et la meilleure conversion alimentaire par rapport au groupe traité avec 800 mg d'extrait. En suivant ces traitements, nous avons remarqué que la consommation alimentaire est augmentée avec la concentration de l'extrait supplémenté, et cela pourrait être attribué à une amélioration de la saveur et de l'appétence alimentaire (Erener *et al.*, 2020). D'un autre côté, nous avons remarqué une diminution du gain de poids malgré la régénération du tissu cæcal chez les groupes (O2) et (O3), cet effet pourrait être attribué à une diminution de l'absorption des nutriments. Selon Pečjak *et al.* (2020), quelques polyphénols limitent la libération d'enzymes digestives telles que la lipase, l' α -amylase et la protéase, réduisant potentiellement la digestibilité nutritionnelle. Komaki et ses collaborateurs (2003) ont trouvé que l'extrait éthanolique de feuilles d'olivier peut inhiber l'activité des α -amylases du pancréas humain et de la salive, avec des valeurs de CI_{50} de 0.02 et 4 mg/mL, respectivement. L'acide oléanolique et les lutéolines glucosidées ont été identifiés comme les principaux composés responsables de cet effet.

De plus, les composés polyphénoliques peuvent se lier aux minéraux pour créer des complexes indigestes, réduisant l'absorption des minéraux et donc leur utilisation (Pečjak *et al.*, 2020). En général, l'effet des polyphénols sur l'absorption et l'assimilation de différents nutriments dépend de nombreux paramètres, y compris le type de composés, leur dose et l'interaction avec d'autres composés (Surai, 2014).

Le taux de mortalité de 11.11 % dans le groupe (O3) peut être justifié par l'association de la malabsorption causée par la plante avec les dégâts provoqués par le parasite au niveau de l'épithélium cæcal.

D'après la littérature, l'administration d'extrait de feuilles d'olivier pendant cinq semaines à des souris nourries avec un régime riche en graisses a induit une diminution significative de la prise de poids (Vezza *et al.*, 2019). Varmaghany et ses collaborateurs (2013) ont trouvé que l'indice de consommation s'est augmenté chez les poulets de chair exposés au froid et nourris avec un aliment supplémenté de 15 g de poudre de feuilles d'olivier/kg. En revanche, les meilleures performances de croissance ont été enregistrées chez les poulets nourris avec un aliment supplémenté de 10 g/kg.

Dans l'étude de Herrero-Encinas *et al.* (2021), ils ont supplémenté deux concentrations différentes (500 et 1500 ppm) d'un extrait de grignons d'olive (contenant ≥ 6 % de triterpènes et ≥ 1 % de polyphénols) dans l'alimentation de poulets de chair soumis à un vaccin vivant d'*Eimeria* sp. Ils ont remarqué que les concentrations testées n'ont aucune signification sur les performances de croissance.

Ainsi, Erener *et al.* (2020) ont ajouté différentes concentrations d'extrait de feuilles d'olivier, contenant 112.9 g d'oleuropéine/kg d'extrait, à l'alimentation des poulets. Ils ont constaté que la concentration la plus élevée a présenté le meilleur effet sur les performances des oiseaux en augmentant l'ingestion alimentaire et en minimisant l'indice de conversion d'aliments.

CONCLUSION

ET

PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Les plantes, reconnues pour être des matières premières peu coûteuses, largement disponibles et riches en composés bioactifs efficaces, sont considérées comme une bonne alternative aux médicaments chimiques. Elles jouent un rôle important dans le traitement et la prévention de nombreuses maladies, aussi bien chez l'Homme que chez l'animal. La présente étude vise à quantifier le contenu en composés phénoliques et à évaluer plusieurs activités biologiques : l'activité antioxydante, l'activité anti-Alzheimer, l'activité antibactérienne, ainsi que l'activité anticoccidienne des pelures de *Punica granatum* et des feuilles d'*Olea europaea*.

La méthode d'extraction adoptée nous a permis d'obtenir un extrait brut hydro-alcoolique pour chaque plante, ainsi que leurs fractions, avec des rendements variant selon la polarité des solvants utilisés. À l'exception de l'extrait d'éther diéthylique, les pelures de *P. granatum* donne un rendement plus élevé que les feuilles d'*O. europaea* avec cette technique d'extraction.

La quantification spectrophotométrique des composés phénoliques a révélé la richesse des pelures de la grenade et des feuilles de l'olivier en métabolites secondaires, plus particulièrement, les polyphénols totaux, les flavonoïdes, les flavonols et les tanins. Ces résultats permettent de conclure que ces deux sources végétales constituent d'importantes réserves de composés bioactifs.

Le stress oxydatif contribue à l'apparition et à la progression de diverses maladies. Les antioxydants naturels, une classe de composés capables de combattre le stress oxydatif et d'en atténuer les effets, ont suscité un grand intérêt en raison de leur efficacité dans la prévention et/ou le traitement de nombreuses maladies.

L'évaluation du potentiel antioxydant des extraits a été effectuée par cinq méthodes, *in vitro*, différentes et complémentaires : le test de piégeage du radical DPPH[•], le test de piégeage du radical ABTS^{•+}, le test de capacité de réduction du cuivre, le test de la phénanthroline et le test du pouvoir réducteur. Les extraits d'acétate d'éthyle et d'éther diéthylique des plantes étudiées se sont révélés être les meilleurs piégeurs de radicaux libres et les agents réducteurs les plus efficaces.

L'activité anti-neurodégénérative a été également effectuée, *in vitro*, contre deux enzymes clés de la maladie d'Alzheimer, l'acétylcholinestérase et la butyrylcholinestérase. Toutes les fractions de la grenade ont montré une activité anticholinestérasique

intéressante. D'autre part, seule la fraction éther diéthylique de l'olivier a manifesté une activité anticholinestérasique.

Les microorganismes sont ubiquitaires et peuvent causer d'énormes problèmes de santé chez l'être humain et l'animal. L'activité antibactérienne des extraits a été évaluée contre les souches bactériennes suivantes : *B. cereus*, *S. aureus*, *E. coli* et *P. aeruginosa*. Tous les extraits de *P. granatum* ont montré un effet inhibiteur contre les souches Gram positives. Concernant l'effet bactéricide, l'extrait (DP) a enregistré la meilleure efficacité contre *S. aureus*, tandis que l'extrait (BP) a montré le meilleur effet contre *P. aeruginosa*. En revanche, seul l'extrait (DO) d'*O. europaea* a montré un effet bactéricide contre les souches *B. cereus* et *S. aureus*.

Concernant l'activité anticoccidienne, nous pouvons conclure que les extraits éthanoliques 70 % de pelures de grenade à la concentration 800 mg/kg d'aliment et de feuilles d'olivier à la concentration 400 mg/kg d'aliment sont des alternatives thérapeutiques prometteurs pour le contrôle de la coccidiose dans l'aviculture, car ils ont été démontré qu'ils minimisent les effets délétères de la coccidiose cœcale chez le poulet de chair Cobb 500 en raison de leur teneur en molécules phytochimiques ayant des propriétés anticoccidiennes, ainsi que leurs propriétés comme des stimulateurs de croissance surtout l'extrait des pelures.

En comparant les deux plantes, notre étude a révélé que les pelures de *Punica granatum* sont plus efficaces et pourraient représenter une bonne alternative prometteuse en tant qu'agents antioxydants, anticholinestérases, antibactériens et anticoccidiens. Cela pourrait être attribué à la nature et/ou la concentration des substances bioactives impliquées dans les activités observées.

Les résultats obtenus sont prometteurs, mais des recherches supplémentaires sont indispensables. À cet effet, nous avons envisagé les perspectives suivantes :

- ✓ Découvrir la composition phytochimique des différents extraits;
- ✓ Mener des recherches plus approfondies, *in vivo*, pour confirmer les effets thérapeutiques de tous les extraits étudiés;
- ✓ Isoler et purifier les molécules présentes dans les extraits, puis tester leurs activités biologiques *in vitro* et *in vivo*;
- ✓ Évaluer les effets des extraits contre d'autres infections spécifiques ou mixtes causées par *Eimeria* spp., que ce soit chez le poulet de chair ou d'autres espèces animales;

- ✓ Analyser la qualité de la viande des poulets de chair nourris avec les pelures de *Punica granatum* ou avec les feuilles d'*Olea europaea*, utilisées comme traitement contre la coccidiose.

RÉFÉRENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Abbas, A., Abbas, R. Z., Khan, M. K., Raza, M. A., Mahmood, M. S., Saleemi, M. K., Hussain, T., Khan, J. A. et Sindhu, Z. ud D. (2019). Anticoccidial effects of *Trachyspermum ammi* (Ajwain) in broiler chickens. *Pakistan Veterinary Journal*, 39(02), 301-304. <https://doi.org/10.29261/pakvetj/2019.056>
- Abbas, A., Iqbal, Z., Abbas, R. Z., Khan, M. K., Khan, J. A., Sindhu, Z. ud D., Mahmood, M. S. et Saleemi, M. K. (2017). *In vivo* anticoccidial effects of *Beta vulgaris* (sugar beet) in broiler chickens. *Microbial Pathogenesis*, 111, 139-144. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.07.052>
- Abdisa, T., Hasen, R., Tagesu, T., Regea, G. et Tadese, G. (2019). Poultry coccidiosis and its prevention, control. *Journal of Veterinary and Animal Research*, 2(1), 101.
- Abebe, E. et Gugsu, G. (2018). A Review on poultry coccidiosis. *Abyssinia Journal of Science and Technology*, 3(1), 1-12.
- Abu-Akkada, S. S. et Awad, A. M. (2012). Isolation, propagation, identification and comparative pathogenicity of five Egyptian field strains of *Eimeria tenella* from broiler chickens in five different provinces in Egypt. *Research in Veterinary Science*, 92(1), 92-95. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.10.023>
- Addab, N., Fetni, S., Hamlaoui, F., Zerguine, A. et Mahloul, K. (2020). Evaluation comparative de l'activité anti-oxydante des extraits éthanoliques des feuilles d'*Olea europaea* L. de l'Est Algérien. *Journal de la faculté de médecine d'Oran*, 4(2), 579-586. <https://doi.org/10.51782/jfmo.v4i2.106>
- Adhikari, P., Kiess, A., Adhikari, R. et Jha, R. (2020). An approach to alternative strategies to control avian coccidiosis and necrotic enteritis. *Journal of Applied Poultry Research*, 29(2), 515-534. <https://doi.org/10.1016/j.japr.2019.11.005>
- Ahad, S., Tanveer, S., Malik, T. A. et Nawchoo, I. A. (2018). Anticoccidial activity of fruit peel of *Punica granatum* L. *Microbial Pathogenesis*, 116, 78-83. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.015>
- Ahmad, S., Humak, F., Ahmad, M., Altaf, H., Qamar, W., Hussain, A., Ashraf, U., Abbas, R. Z., Siddique, A., Ashraf, T. et Mughal, M. A. S. (2023). Phytochemicals as alternative anthelmintics against poultry parasites: a review. *Agrobiological Records*, 12, 34-45. <https://doi.org/10.47278/journal.abr/2023.015>
- Ahmad, T. A., El-Sayed, B. A. et El-Sayed, L. H. (2016). Development of immunization trials against *Eimeria* spp. *Trials in Vaccinology*, 5, 38-47. <https://doi.org/10.1016/j.trivac.2016.02.001>
- Ahmed, S. T. et Yang, C. J. (2017). Effects of dietary *Punica granatum* L. by-products on performance, immunity, intestinal and fecal microbiology, and odorous gas emissions from excreta in broilers. *The Journal of Poultry Science*, 54(2), 157-166. <https://doi.org/10.2141/jpsa.0160116>

- Aitfella Lahlou, R., Bounechada, M., Mohammedi, A., Silva, L. R. et Alves, G. (2021). Dietary use of *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris* as anticoccidial alternatives in poultry. *Animal Feed Science and Technology*, 273, 114826. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2021.114826>
- Akhtar, S., Ismail, T., Fraternali, D. et Sestili, P. (2015). Pomegranate peel and peel extracts: chemistry and food features. *Food Chemistry*, 174, 417-425. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.035>
- Akkol, E. K., Genç, Y., Karpuz, B., Sobarzo-Sánchez, E. et Capasso, R. (2020). Coumarins and coumarin-related compounds in pharmacotherapy of cancer. *Cancers*, 12(7), 1959. <https://doi.org/10.3390/cancers12071959>
- Al Jitan, S., Alkhoori, S. A. et Yousef, L. F. (2018). Phenolic acids from plants: extraction and application to human health. Dans *Studies in Natural Products Chemistry* (vol. 58, p. 389-417). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64056-7.00013-1>
- Al- Majedy, Y., Al-Amiery, A., Kadhum, A. A. et BakarMohamad, A. (2017). Antioxidant activity of coumarins. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 8(1), 24-30. <https://doi.org/10.5530/srp.2017.1.6>
- Al- Mathal, E. M. et Alsalem, A. A. (2013). Pomegranate (*Punica granatum*) peel is effective in a murine model of experimental *Cryptosporidium parvum* ultrastructural studies of the ileum. *Experimental Parasitology*, 134(4), 482-494. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2013.05.004>
- Al- Mathal, E. M. et Alsalem, A. M. (2012). Pomegranate (*Punica granatum*) peel is effective in a murine model of experimental *Cryptosporidium parvum*. *Experimental Parasitology*, 131(3), 350-357. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2012.04.021>
- Al- Megrin, W. A. (2017). *In vivo* study of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract efficacy against *Giardia lamblia* in infected experimental mice. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(1), 59-63. <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2016.08.018>
- AL- Saegh, H. A. H. (2018). Hemato-biochemical and histopathological changes caused by coccidiosis in broilers. *Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences*, 9(1), 11-20. <https://doi.org/10.36326/kjvs/2018/v9i14092>
- Al- Shaibani, I. R. M., Al- Khadher, A. M. A. et AlHibah, A. Z. H. (2020). Anticoccidial activity of *Allium sativum* and *Punica granatum* against experimentally induced *Eimeria tenella* infection in broiler chickens. *Asian Journal of Research in Animal and Veterinary Sciences*, 3(2), 150-159. <https://doi.org/10.9734/ajravs/2020/v3i2109>
- Al- Zoreky, N. S. (2009). Antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit peels. *International Journal of Food Microbiology*, 134(3), 244-248. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.002>
- Alhanbali, I. A., Nazal, M. K. et Khalil, A. B. (2024). *In-vitro* antibacterial screening of *Punica granatum* and *Rhamnus* sp. extracts from Saudi Arabia. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 49(7), 9149-9163. <https://doi.org/10.1007/s13369-024-08936-4>

- Ali, Md. Y., Zaib, S., Jannat, S. et Khan, I. (2022). Discovery of potent and selective dual cholinesterases and β -secretase inhibitors in pomegranate as a treatment for Alzheimer's disease. *Bioorganic Chemistry*, 129, 106137. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2022.106137>
- Ambigaipalan, P., de Camargo, A. C. et Shahidi, F. (2016). Phenolic compounds of pomegranate byproducts (outer skin, mesocarp, divider membrane) and their antioxidant activities. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64, 6584–6604. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b02950>
- Amer, O. S. O., Dkhil, M. A., Hikal, W. M. et Al-Quraishy, S. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activities of pomegranate (*Punica granatum*) on *Eimeria papillata* - induced infection in mice. *BioMed Research International*, 2015, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2015/219670>
- Amoo, S. O., Aremu, A. O., Moyo, M. et Van Staden, J. (2012). Antioxidant and acetylcholinesterase-inhibitory properties of long-term stored medicinal plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-87>
- Annunziata, G., Sureda, A., Orhan, I. E., Battino, M., Arnone, A., Jiménez-García, M., Capó, X., Cabot, J., Sanadgol, N., Giampieri, F., Tenore, G. C., Kashani, H. R. K., Silva, A. S., Habtemariam, S., Nabavi, S. F. et Nabavi, S. M. (2021). The neuroprotective effects of polyphenols, their role in innate immunity and the interplay with the microbiota. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 128, 437-453. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2021.07.004>
- Anokwuru, C. P., Anyasor, G. N., Ajibaye, O., Fakoya, O. et Okebugwu, P. (2011). Effect of extraction solvents on phenolic, flavonoid and antioxidant activities of three Nigerian medicinal plants. *Nature and Science*, 9(7), 53-61.
- Anosa, G. N. et Okoro, O. J. (2011). Anticoccidial activity of the methanolic extract of *Musa paradisiaca* root in chickens. *Tropical Animal Health and Production*, 43(1), 245-248. <https://doi.org/10.1007/s11250-010-9684-1>
- Añover-Ayuso, I., Muñoz-Luna, A., Ramis, G., Gil-Rueda, F. et Berrocso, J. D. (2024). Effects of the inclusion of two extracts derived from the olive industry on growth performance, antiparasitic protection, and antioxidant activity in broiler chicken diets from 0 to 45 d. *Livestock Science*, 287, 105534. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2024.105534>
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M. et Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>
- APG II. (2003). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141(4), 399-436. <https://doi.org/10.1046/j.1095-8339.2003.t01-1-00158.x>

- APG IV. (2016). An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181(1), 1–20. <https://doi.org/10.1111/boj.12385>
- Arun, K. B., Jayamurthy, P., Anusha, C. V., Mahesh, S. K. et Nisha, P. (2017). Studies on activity guided fractionation of pomegranate peel extracts and its effect on antidiabetic and cardiovascular protection properties. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(1), e13108. <https://doi.org/10.1111/jfpp.13108>
- Ashour, E. A., El-Hack, M. E. A., Shafi, M. E., Alghamdi, W. Y., Taha, A. E., Swelum, A. A., Tufarelli, V., Mulla, Z. S., El-Ghareeb, W. R. et El-Saadony, M. T. (2020). Impacts of green coffee powder supplementation on growth performance, carcass characteristics, blood indices, meat quality and gut microbial load in broilers. *Agriculture*, 10(10), 457. <https://doi.org/10.3390/agriculture10100457>
- Attree, E., Sanchez-Arsuaga, G., Jones, M., Xia, D., Marugan-Hernandez, V., Blake, D. et Tomley, F. (2021). Controlling the causative agents of coccidiosis in domestic chickens; an eye on the past and considerations for the future. *CABI Agriculture and Bioscience*, 2(1), 37. <https://doi.org/10.1186/s43170-021-00056-5>
- Austen, J. M., Brice, B., Liu, D., Gao, H., Berto, B. P., Zahedi, A., Elloit, A. et Yang, R. (2024). Morphological and molecular characterization of *Eimeria haematopusi* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) in an Australian pied oystercatcher (*Haematopus longirostris*) (Aves: Charadriiformes). *Systematic Parasitology*, 101(40), 1-9. <https://doi.org/10.1007/s11230-024-10152-5>
- Bakli, S. (2020). *Activité antimicrobienne, antioxydante et anticoccidienne des extraits phénoliques de quelques plantes médicinales locales* [doctorat en sciences]. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- Balarabe, R. M. et Obeta, S. (2015). An overview of the prevalence of avian coccidiosis in poultry production and its economic importance in Nigeria. *Veterinary Research International*, 3(3), 35-45.
- Balta, I., Marcu, A., Linton, M., Kelly, C., Stef, L., Pet, I., Ward, P., Pircalabioru, G. G., Chifiriuc, C., Gundogdu, O., Callaway, T. et Corcionivoschi, N. (2021). The *in vitro* and *in vivo* anti-virulent effect of organic acid mixtures against *Eimeria tenella* and *Eimeria bovis*. *Scientific Reports*, 11(1), 16202. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95459-9>
- Bandeira Reidel, R. V., Cioni, P. L. et Pistelli, L. (2018). Volatiles from different plant parts of *Punica granatum* grown in Tuscany (Italy). *Scientia Horticulturae*, 231, 49-55. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.12.019>
- Barba, F. J., Esteve, M. J. et Frígola, A. (2014). Bioactive components from leaf vegetable products. Dans *Studies in Natural Products Chemistry* (vol. 41, p. 321-346). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63294-4.00011-5>
- Barbehenn, R. V. et Constabel, C. P. (2011). Tannins in plant–herbivore interactions. *Phytochemistry*, 72(13), 1551-1565. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.01.040>

- Behidj-Benyounes, N., Bennaamane, S., Bissaad, F. Z., Chebouti, N., Mohandkaci, H., Abdalaziz, N. et Iddou, S. (2014). Antimicrobial potentials of flavonoids isolated from *Tagetes erecta*. *International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 8(11), 1239-1242.
- Bekir, J., Cazaux, S., Mars, M. et Bouajila, J. (2016). *In vitro* anti-cholinesterase and anti-hyperglycemic activities of flowers extracts from seven pomegranate varieties. *Industrial Crops and Products*, 81, 176-179. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.11.066>
- Bekir, J., Mars, M., Souchard, J. P. et Bouajila, J. (2013). Assessment of antioxidant, anti-inflammatory, anti-cholinesterase and cytotoxic activities of pomegranate (*Punica granatum*) leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 470-475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.01.036>
- Belkacem, N., Djaziri, R., Lahfa, F., El-Haci, I. A. et Boucherit, Z. (2014). Phytochemical screening and *in vitro* antioxidant activity of various *Punica granatum* L. peel extracts from Algeria: a comparative study. *Phytothérapie*, 12(6), 372-379. <https://doi.org/10.1007/s10298-014-0850-x>
- Ben Mansour-Gueddes, S., Saidana-Naija, D., Bchir, A. et Braham, M. (2020). Climate change effects on phytochemical compounds and antioxidant activity of *Olea europaea*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 48(1), 436-455. <https://doi.org/10.15835/nbha48111615>
- Bilgin, M. et Şahin, S. (2013). Effects of geographical origin and extraction methods on total phenolic yield of olive tree (*Olea europaea*) leaves. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 44(1), 8-12. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2012.08.008>
- Blainski, A., Lopes, G. et De Mello, J. (2013). Application and analysis of the Folin Ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852-6865. <https://doi.org/10.3390/molecules18066852>
- Blake, D. P. et Tomley, F. M. (2014). Securing poultry production from the ever-present *Eimeria* challenge. *Trends in Parasitology*, 30(1), 12-19. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2013.10.003>
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200. <https://doi.org/10.1038/1811199a0>
- Borges, A., José, H., Homem, V. et Simões, M. (2020). Comparison of techniques and solvents on the antimicrobial and antioxidant potential of extracts from *Acacia dealbata* and *Olea europaea*. *Antibiotics*, 9(2), 48. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020048>
- Botsoglou, E., Govaris, A., Fletouris, D. et Botsoglou, N. (2012). Lipid oxidation of stored eggs enriched with very long chain n-3 fatty acids, as affected by dietary olive leaves (*Olea europea* L.) or α -tocopheryl acetate supplementation. *Food Chemistry*, 134(2), 1059-1068. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.014>
- Bouarab Chibane, L., Degraeve, P., Ferhout, H., Bouajila, J. et Oulahal, N. (2019). Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 99(4), 1457-1474. <https://doi.org/10.1002/jsfa.9357>

- Bouarroudj, K., Tamendjari, A. et Larbat, R. (2016). Quality, composition and antioxidant activity of Algerian wild olive (*Olea europaea* L. subsp. *Oleaster*) oil. *Industrial Crops and Products*, 83, 484-491. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.12.081>
- Boughton, D. C. et Volk, J. J. (1938). Avian hosts of eimerian coccidia. *Bird-Banding*, 9(3), 139-153. <https://doi.org/10.2307/4509525>
- Bouzabata, A. (2013). Traditional treatment of high blood pressure and diabetes in Souk Ahras District. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 5(1), 12-20. <https://doi.org/10.5897/JPP11.065>
- Bouzabata, A. et Yavuz, M. (2019). Médecine traditionnelle et ethnopharmacologie en Algérie : de l'histoire à la modernité. *Ethnopharmacologia*, 62, 86-93.
- Bracci, T., Busconi, M., Fogher, C. et Sebastiani, L. (2011). Molecular studies in olive (*Olea europaea* L.): overview on DNA markers applications and recent advances in genome analysis. *Plant Cell Reports*, 30(4), 449-462. <https://doi.org/10.1007/s00299-010-0991-9>
- Briante, R., Patumi, M., Terenziani, S., Bismuto, E., Febbraio, F. et Nucci, R. (2002). *Olea europaea* L. leaf extract and derivatives: antioxidant properties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(17), 4934-4940. <https://doi.org/10.1021/jf025540p>
- Bubalo, M. C., Vidović, S., Redovniković, I. R. et Jokić, S. (2018). New perspective in extraction of plant biologically active compounds by green solvents. *Food and Bioproducts Processing*, 109, 52-73. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.03.001>
- Burt, S. A., Tersteeg-Zijderfeld, M. H. G., Jongerius-Gortemaker, B. G. M., Vervelde, L. et Vernooij, J. C. M. (2013). *In vitro* inhibition of *Eimeria tenella* invasion of epithelial cells by phytochemicals. *Veterinary Parasitology*, 191(3-4), 374-378. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.09.001>
- Çam, M., Hışıl, Y. et Durmaz, G. (2009). Classification of eight pomegranate juices based on antioxidant capacity measured by four methods. *Food Chemistry*, 112(3), 721-726. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.009>
- Caruso, G., Godos, J., Privitera, A., Lanza, G., Castellano, S., Chillemi, A., Bruni, O., Ferri, R., Caraci, F. et Grosso, G. (2022). Phenolic acids and prevention of cognitive decline: polyphenols with a neuroprotective role in cognitive disorders and Alzheimer's disease. *Nutrients*, 14(4), 819. <https://doi.org/10.3390/nu14040819>
- Carvalho, F. S., Wenceslau, A. A., Teixeira, M., Matos Carneiro, J. A., Melo, A. D. B. et Albuquerque, G. R. (2011). Diagnosis of *Eimeria* species using traditional and molecular methods in field studies. *Veterinary Parasitology*, 176(2-3), 95-100. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.015>
- Chaabna, N. (2014). *Activité anticoccidienne des extraits d'Artemisia herba alba* [Mémoire de magister]. Ferhat Abbas Sétif 1.

- Chafki, L., Elfazazi, K., Azzouzi, H., Achchoub, M., Fakhour, S., Benbati, M., Haddioui, A. et Elhansali, M. (2021). Compounds of pomegranate peels (*Punica granatum* L. Sefri variety) cultivated in Beni Mellal, Morocco. *Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology*, 22(71 & 72), 315-322.
- Chandrasekara, A. C. (2019). Phenolic acids. Dans *Encyclopedia of Food Chemistry* (p. 535-545). Oxford: Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.22395-0>
- Chapman, H. D. et Jeffers, T. K. (2014). Vaccination of chickens against coccidiosis ameliorates drug resistance in commercial poultry production. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 4(3), 214-217. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2014.10.002>
- Chen, J., Liao, C., Ouyang, X., Kahramanoğlu, I., Gan, Y. et Li, M. (2020). Antimicrobial activity of pomegranate peel and its applications on food preservation. *Journal of Food Quality*, 2020, 1-8. <https://doi.org/10.1155/2020/8850339>
- Chiappetta, A. et Muzzalupo, I. (2012). Botanical description. Dans Muzzalupo I. (dir.), *Olive Germplasm - The Olive Cultivation, Table Olive and Olive Oil Industry in Italy* (p. 23-38). InTech. <https://doi.org/10.5772/51836>
- Chio, C., Sain, M. et Qin, W. (2019). Lignin utilization: a review of lignin depolymerization from various aspects. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 107, 232-249. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.03.008>
- Cho, J. H., Zhang, S. et Kim, I. H. (2012). Effects of anti-diarrhoeal herbs on growth performance, nutrient digestibility, and meat quality in pigs. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 25(11), 1595-1604. <https://doi.org/10.5713/ajas.2012.12339>
- Christou, A., Stavrou, C., Michael, C., Botsaris, G. et Goulas, V. (2024). Antibacterial and carbohydrate digestive enzyme inhibitory effects of native plants used for medicinal and culinary purposes in Cyprus. *Natural Product Communications*, 19(1), 1-13. <https://doi.org/10.1177/1934578X231222105>
- Chung, K. T., Wong, T. Y., Wei, C. I., Huang, Y. W. et Lin, Y. (1998). Tannins and human health: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 38(6), 421-464. <https://doi.org/10.1080/10408699891274273>
- Clark, E. L., Tomley, F. M. et Blake, D. P. (2017). Are *Eimeria* genetically diverse, and does it matter? *Trends in Parasitology*, 33(3), 231-241. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.08.007>
- Conway, D. P. et McKenzie, M. E. (2007). *Poultry coccidiosis: diagnostic and testing procedures* (3^e éd.). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9780470344620>
- Craft, B. D., Kerrihard, A. L., Amarowicz, R. et Pegg, R. B. (2012). Phenol-based antioxidants and the *in vitro* methods used for their assessment. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 148-173. <https://doi.org/10.1111/j.1541-4337.2011.00173.x>

- Cui, Q., Du, R., Liu, M. et Rong, L. (2020). Lignans and their derivatives from plants as antivirals. *Molecules*, 25(1), 183. <https://doi.org/10.3390/molecules25010183>
- Cushnie, T. P. T. et Lamb, A. J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26(5), 343-356. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.09.002>
- Daglia, M. (2012). Polyphenols as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*, 23(2), 174-181. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>
- Dalloul, R. A. et Lillehoj, H. S. (2005). Recent advances in immunomodulation and vaccination strategies against coccidiosis. *Avian Diseases*, 49(1), 1-8. <https://doi.org/10.1637/7306-11150R>
- De Filippis, B., Ammazzalorso, A., Fantacuzzi, M., Giampietro, L., Maccallini, C. et Amoroso, R. (2017). Anticancer activity of stilbene-based derivatives. *ChemMedChem*, 12(8), 558-570. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201700045>
- De Morais, S. M., Lopes, F. F. D. S., Fontenele, G. A., Da Silva, M. V. F., Fernandes, V. B. et Alves, D. R. (2021). Total phenolic content and antioxidant and anticholinesterase activities of medicinal plants from the State's Cocó Park (Fortaleza-CE, Brazil). *Research, Society and Development*, 10(5), e7510514493. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i5.14493>
- De Pablos, L. M., dos Santos, M. F. B., Montero, E., Garcia-Granados, A., Parra, A. et Osuna, A. (2010). Anticoccidial activity of maslinic acid against infection with *Eimeria tenella* in chickens. *Parasitology Research*, 107(3), 601-604. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-1901-3>
- Debbou-Iouknane, N., Nerín, Amrane-Abider, M. et Ayad, A. (2021). *In vitro* anticoccidial effects of olive leaf (*Olea europaea* L. var. Chemlal) extract against broiler chickens *Eimeria* oocysts. *Veterinarija ir Zootechnika*, 79(1), 1-8.
- Debib, A., Menadi, S., Sahnouni, F., Boukhatem, M. N., Ouahchia, C. et Kaced, A. (2022). Bacterial inhibitory effect of Algerian pomegranate (*Punica granatum* L.) extracts (peel, juice, and seed) against multidrug resistant bacteria. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 11(4), e4622. <https://doi.org/10.55251/jmbfs.4622>
- Derakhshan, Z., Ferrante, M., Tadi, M., Ansari, F., Heydari, A., Hosseini, M. S., Conti, G. O. et Sadraabad, E. K. (2018). Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. *Food and Chemical Toxicology*, 114, 108-111. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.023>
- Desseva, I. et Mihaylova, D. (2020). Influence of *in vitro* gastrointestinal digestion on phytochemicals in pomegranate juice. *Food Science and Technology*, 40(suppl 1), 211-216. <https://doi.org/10.1590/fst.07219>
- Dey, A., Bhattacharya, R., Mukherjee, A. et Pandey, D. K. (2017). Natural products against Alzheimer's disease: pharmaco-therapeutics and biotechnological interventions. *Biotechnology Advances*, 35(2), 178-216. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.12.005>

- Dias, M. C., Pinto, D. C. G. A. et Silva, A. M. S. (2021). Plant flavonoids: chemical characteristics and biological activity. *Molecules*, 26(17), 5377. <https://doi.org/10.3390/molecules26175377>
- Dickert, H., Machka, K. et Braveny, I. (1981). The uses and limitations of disc diffusion in the antibiotic sensitivity testing of bacteria. *Infection*, 9(1), 18-24. <https://doi.org/10.1007/BF01640803>
- Diez, C. M., Trujillo, I., Martinez-Urdiroz, N., Barranco, D., Rallo, L., Marfil, P. et Gaut, B. S. (2015). Olive domestication and diversification in the Mediterranean Basin. *New Phytologist*, 206(1): 436–447. doi: 10.1111/nph.13181
- Dkhil, M. A. (2013). Anti-coccidial, anthelmintic and antioxidant activities of pomegranate (*Punica granatum*) peel extract. *Parasitology Research*, 112(7), 2639-2646. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3430-3>
- Do Nascimento, M. N. G., Machado Martins, M., Scalon Cunha, L. C., de Souza Santos, P., Goulart, L. R., de Souza Silva, T., Gomes Martins, C. H., de Moraes, S. A. L. et Pivatto, M. (2020). Antimicrobial and cytotoxic activities of *Senna* and *Cassia* species (Fabaceae) extracts. *Industrial Crops and Products*, 148, 112081. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.112081>
- Doostan, F., Mesgari Abbasi, M., Khordadmehr, M., Fallah, F. et Behrouzy, A. (2019). Effects of pomegranate seed and peel methanolic extracts on methotrexate-induced hepatotoxicity in rats. *Pharmaceutical Sciences*, 25(2), 111-117. <https://doi.org/10.15171/PS.2019.17>
- Edziri, H., Jaziri, R., Chehab, H., Verschaeve, L., Flamini, G., Boujnah, D., Hammami, M., Aouni, M. et Mastouri, M. (2019). A comparative study on chemical composition, antibiofilm and biological activities of leaves extracts of four Tunisian olive cultivars. *Heliyon*, 5(5), e01604. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01604>
- El- Banna, H. A., El-Bahy, M. M., El-Zorba, H. Y. et El-Hady, M. (2005). Anticoccidial efficacy of drinking water soluble diclazuril on experimental and field coccidiosis in broiler chickens. *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 52(6), 287-291. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.2005.00727.x>
- El- Dakhly, Kh. M., El-Sawah, A., Shalaby, A. A. et El-Nesr, Kh. A. (2006). The efficacy of *Lactobacillus acidophilus* and/or diclazuril for inhibition and control of *Eimeria tenella* infection in balady chicks. *Kafrelsheikh Veterinary Medical Journal*, 4(1), 1-19. <https://doi.org/10.21608/kvmj.2006.109296>
- El, S. N. et Karakaya, S. (2009). Olive tree (*Olea europaea*) leaves: potential beneficial effects on human health. *Nutrition Reviews*, 67(11), 632-638. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2009.00248.x>
- El- Shall, N. A., Abd El-Hack, M. E., Albaqami, N. M., Khafaga, A. F., Taha, A. E., Swelum, A. A., El-Saadony, M. T., Salem, H. M., El-Tahan, A. M., AbuQamar, S. F., El-Tarabily, K. A. et Elbestawy, A. R. (2022). Phytochemical control of poultry coccidiosis: a review. *Poultry Science*, 101(1), 101542. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101542>

- Elfalleh, W., Hannachi, H., Tlili, N., Yahia, Y., Nasri, N. et Ferchichi, A. (2012). Total phenolic contents and antioxidant activities of pomegranate peel, seed, leaf and flower. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(32), 4724-4730. <https://doi.org/10.5897/JMPR11.995>
- Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V. et Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88-95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- Eloff, J. (1998). A sensitive and quick microplate method to determine the minimal inhibitory concentration of plant extracts for bacteria. *Planta Medica*, 64(08), 711-713. <https://doi.org/10.1055/s-2006-957563>
- Elshafie, H. S., Caputo, L., De Martino, L., Sakr, S. H., De Feo, V. et Camele, I. (2021). Study of bio-pharmaceutical and antimicrobial properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) leathery exocarp extract. *Plants*, 10(1), 153. <https://doi.org/10.3390/plants10010153>
- Elufioye, T. O., Unachukwu, C. C. et Oyedeji, A. O. (2019). Anticholinesterase and antioxidant activities of *Spilanthes filicaulis* whole plant extracts for the management of Alzheimer's disease. *Current Enzyme Inhibition*, 15(2), 103-113. <https://doi.org/10.2174/1573408015666190730113405>
- Erdoğan, S. Z., Gülmez, N., Findık, A., Şah, H. et Gülmez, M. (2019). Efficacy of probiotics on health status and growth performance of *Eimeria tenella* infected broiler chickens. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 25(3), 311-320. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.20889>
- Erener, G., Ocak, N., Ozturk, E., Cankaya, S., Ozkanca, R. et Altop, A. (2020). Evaluation of olive leaf extract as a growth promoter on the performance, blood biochemical parameters, and caecal microflora of broiler chickens. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 49, e20180300. <https://doi.org/10.37496/rbz4920180300>
- Fanelli, V., Mascio, I., Falek, W., Miazzi, M. M. et Montemurro, C. (2022). Current status of biodiversity assessment and conservation of wild olive (*Olea europaea* L. subsp. *europaea* var. *sylvestris*). *Plants*, 11(4), 480. <https://doi.org/10.3390/plants11040480>
- Fatoba, A. J. et Adeleke, M. A. (2018). Diagnosis and control of chicken coccidiosis: a recent update. *Journal of Parasitic Diseases*, 42(4), 483-493. <https://doi.org/10.1007/s12639-018-1048-1>
- Fellah, B., Bannour, M., Rocchetti, G., Lucini, L. et Ferchichi, A. (2018). Phenolic profiling and antioxidant capacity in flowers, leaves and peels of Tunisian cultivars of *Punica granatum* L. *Journal of Food Science and Technology*, 55(9), 3606-3615. <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3286-8>
- Figueiredo-González, M., Reboredo-Rodríguez, P., González-Barreiro, C., Simal-Gándara, J., Valentão, P., Carrasco-Pancorbo, A., Andrade, P. B. et Cancho-Grande, B. (2018). Evaluation of the neuroprotective and antidiabetic potential of phenol-rich extracts from virgin olive oils by *in vitro* assays. *Food Research International*, 106, 558-567. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.01.026>

- Ford, L., Stratakis, A. Ch., Theodoridou, K., Dick, J. T. A., Sheldrake, G. N., Linton, M., Corcionivoschi, N. et Walsh, P. J. (2020). Polyphenols from brown seaweeds as a potential antimicrobial agent in animal feeds. *ACS Omega*, 5(16), 9093-9103. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03687>
- Gallego, R., Suárez-Montenegro, Z. J., Ibáñez, E., Herrero, M., Valdés, A. et Cifuentes, A. (2021). *In vitro* neuroprotective potential and lipidomics study of olive leaves extracts enriched in triterpenoids. *Frontiers in Nutrition*, 8, 769218. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.769218>
- Garcia-Pérez, M. E., Kasangana, P. B. et Stevanovic, T. (2017). Bioactive polyphenols for diabetes and inflammation in psoriasis disease. Dans *Studies in natural products chemistry* (vol. 52, p. 231-268). <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-444-63931-8.00006-0>
- Ghanem, M. T. M., Tawfik, W. A., Mahdy, E. S. M., Abdelgawad, M. E., Abdel-Azim, N. S. et El-Missiry, M. M. (2019). Chemical and biological evaluation of olive leaves as a waste by-product of olive oil industry. *Egyptian Pharmaceutical Journal*, 18, 172-177. https://doi.org/10.4103/epj.epj_6_19
- Ghomari, O., Sounni, F., Massaoudi, Y., Ghanam, J., Drissi Kaitouni, L. B., Merzouki, M. et Benlemlih, M. (2019). Phenolic profile (HPLC-UV) of olive leaves according to extraction procedure and assessment of antibacterial activity. *Biotechnology Reports*, 23, e00347. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00347>
- Gosset-Erard, C., Zhao, M., Lordel-Madeleine, S. et Ennahar, S. (2021). Identification of punicalagin as the bioactive compound behind the antimicrobial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels. *Food Chemistry*, 352, 129396. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129396>
- Green, P. S. (2002). A revision of *Olea* L. (Oleaceae). *Kew Bulletin*, 57(1), 91-140. <https://doi.org/10.2307/4110824>
- Guerrero-Solano, J. A., Jaramillo-Morales, O. A., Jiménez-Cabrera, T., Urrutia-Hernández, T. A., Chehue-Romero, A., Olvera-Hernández, E. G. et Bautista, M. (2020). *Punica protopunica* Balf., the forgotten sister of the common pomegranate (*Punica granatum* L.): features and medicinal properties—A Review. *Plants*, 9(9), 1214. <https://doi.org/10.3390/plants9091214>
- Gulcin, I. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview. *Archives of Toxicology*, 94(3), 651-715. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02689-3>
- Gulcin, I., Kaya, R., Goren, A. C., Akincioglu, H., Topal, M., Bingol, Z., Cetin Çakmak, K., Ozturk Sarikaya, S. B., Durmaz, L. et Alwasel, S. (2019). Anticholinergic, antidiabetic and antioxidant activities of cinnamon (*Cinnamomum verum*) bark extracts: polyphenol contents analysis by LC-MS/MS. *International Journal of Food Properties*, 22(1), 1511-1526. <https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1656232>
- Hafez, H. M. (2008). Poultry coccidiosis: prevention and control approaches. *Archiv Für Geflügelkunde*, 72(1), 2-7.
- Hamady, G. A. A., Abdel-Moneim, M. A., El-Chaghaby, G. A., Abd-El-Ghany, Z. M. et Hassanin, M. S. (2015). Effect of pomegranate peel extract as natural growth promoter

- on the productive performance and intestinal microbiota of broiler chickens. *African Journal of Agricultural Science and Technology*, 3(12), 514-519.
- Han, M., Hu, W., Chen, T., Guo, H., Zhu, J. et Chen, F. (2022). Anticoccidial activity of natural plants extracts mixture against *Eimeria tenella*: an *in vitro* and *in vivo* study. *Frontiers in Veterinary Science*, 9, 1066543. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1066543>
 - Hashmi, M. A., Khan, A., Hanif, M., Farooq, U. et Perveen, S. (2015). Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Olea europaea* (Olive). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1-29. <https://doi.org/10.1155/2015/541591>
 - Hassanpour, S., Maheri-Sis, N., Eshratkhah, B. et Mehmandar, F. B. (2011). Plants and secondary metabolites (Tannins): a review. *International Journal of Forest, Soil and Erosion*, 1(1), 47-53.
 - Hayouni, E. A., Miled, K., Boubaker, S., Bellasfar, Z., Abedrabba, M., Iwaski, H., Oku, H., Matsui, T., Limam, F. et Hamdi, M. (2011). Hydroalcoholic extract based-ointment from *Punica granatum* L. peels with enhanced *in vivo* healing potential on dermal wounds. *Phytomedicine*, 18(11), 976-984. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.02.011>
 - Hernández-Rodríguez, P., Baquero, L. P. et Larrota, H. R. (2019). Flavonoids : potential therapeutic agents by their antioxidant capacity. Dans *Bioactive Compounds* (p. 265-288). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00014-1>
 - Herrero-Encinas, J., Menoyo, D., Blanch, M., Pastor, J. J. et Rochell, S. J. (2021). Response of broiler chickens fed diets supplemented with a bioactive olive pomace extract from *Olea europaea* to an experimental coccidial vaccine challenge. *Poultry Science*, 100(2), 575-584. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.11.027>
 - Himour, S., Yahia, A., Belattar, H. et Bellebcir, L. (2016). Etude phytochimique de feuilles d'*Olea europaea* L. var Chemlel d'Algérie. *Journal of Bioresources Valorization*, 1(1), 34-38.
 - Houston, D. M. J., Bugert, J., Denyer, S. P. et Heard, C. M. (2017). Anti-inflammatory activity of *Punica granatum* L. (Pomegranate) rind extracts applied topically to *ex vivo* skin. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 112, 30-37. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.11.014>
 - Huang, D., Li, C., Chen, Q., Xie, X., Fu, X., Chen, C., Huang, Q., Huang, Z. et Dong, H. (2022). Identification of polyphenols from *Rosa roxburghii* Tratt pomace and evaluation of *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity. *Food Chemistry*, 377, 131922. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131922>
 - Idris, M., Abbas, R. Z., Masood, S., Rehman, T., Farooq, U., Babar, W., Hussain, R., Raza, A. et Riaz, U. (2017). The potential of antioxidant rich essential oils against avian coccidiosis. *World's Poultry Science Journal*, 73(1), 89-104. <https://doi.org/10.1017/S0043933916000787>

- Iqbal, S., Tanveer, S. et Maqbool, N. (2022). Avian coccidiosis - A critical review. *Munis Entomology & Zoology*, 17(2), 1155-1175.
- Jam, N., Hajimohammadi, R., Gharbani, P. et Mehrizad, A. (2022). Antibacterial activity of *Punica granatum* L. and *Areca* nut (P.A) combined extracts against some food born pathogenic bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(3), 1730-1736. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.10.057>
- Jayaprakasha, G. K., Negi, P. S. et Jena, B. S. (2006). Antimicrobial activities of pomegranate. Dans Heber D., Schulman R. N. et Seeram N. P. (dir.), *Pomegranates: ancient roots to modern medicine* (1^{re} éd., p. 167-184). CRC Press.
- Johnson, J. et Reid, W. M. (1970). Anticoccidial drugs: lesion scoring techniques in battery and floor-pen experiments with chickens. *Experimental Parasitology*, 28(1), 30-36. [https://doi.org/10.1016/0014-4894\(70\)90063-9](https://doi.org/10.1016/0014-4894(70)90063-9)
- Jones, W. P. et Kinghorn, A. D. (2005). Extraction of plant secondary metabolites. Dans Sarker S. D., Latif Z. et Gray A. I. (dir.), *Natural Products Isolation* (2^e éd., vol. 20, p. 323-351). Humana Press Inc.
- Jones, W. P. et Kinghorn, A. D. (2012). Extraction of plant secondary metabolites. Dans Sarker S. D. et Nahar L. (dir.), *Natural Products Isolation* (vol. 864, p. 341-366). Springer Science+Business Media. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-624-1_13
- Kadhim, L. I., Al-Zubaidi, M. T. et Saegh, H. A. A. (2018). Influence of dietary supplementation of *Nigella sativa* on experimental coccidiosis in broiler chickens. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 6(1), 652-656.
- Kaleem, Q. M., Akhtar, M., Awais, M. M., Saleem, M., Zafar, M., Iqbal, Z., Muhammad, F. et Anwar, M. I. (2014). Studies on *Emblica officinalis* derived tannins for their immunostimulatory and protective activities against coccidiosis in industrial broiler chickens. *The Scientific World Journal*, 2014, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2014/378473>
- Kam, A., Li, K. M., Razmovski-Naumovski, V., Nammi, S., Shi, J., Chan, K. et Li, G. Q. (2012). A comparative study on the inhibitory effects of different parts and chemical constituents of pomegranate on α -amylase and α -glucosidase. *Phytotherapy Research*, 27(11), 1614-1620. <https://doi.org/10.1002/ptr.4913>
- Kamran, M. A., Yildirimhan, H. S. et Şenlik, B. (2023). Exploring the anthelmintic activity of *Olea europaea* L (Olive) leaves extract and oleuropein in mice naturally infected with *Aspiculuris tetraptera*. *Helminthologia*, 60(3), 240-245. <https://doi.org/10.2478/helm-2023-0025>
- Karimi, A., Moradi, M. T., Rabiei, M. et Alidadi, S. (2020). *In vitro* anti-adenoviral activities of ethanol extract, fractions, and main phenolic compounds of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 28, 1-6. <https://doi.org/10.1177/2040206620916571>
- Kasapidou, E., Sossidou, E. et Mitlianga, P. (2015). Fruit and vegetable co-products as functional feed ingredients in farm animal nutrition for improved product quality. *Agriculture*, 5(4), 1020-1034. <https://doi.org/10.3390/agriculture5041020>

- Kennas, A. et Amellal-Chibane, H. (2019). Comparison of five solvents in the extraction of phenolic anti-oxidants from pomegranate (*Punica granatum* L.) peel. *The North African Journal of Food and Nutrition Research*, 3(5), 140-147. <https://doi.org/10.51745/najfnr.3.5.140-147>
- Khan, H., Ahmad, W., Hussain, I., Imran, M., Afridi, M. S. et Ullah, S. (2020). Phytochemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of leaves of *Olea europaea* wild variety. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(2), 640-648. <https://doi.org/10.1007/s11694-019-00310-5>
- Khan, R. U. et Naz, S. (2013). The applications of probiotics in poultry production. *World's Poultry Science Journal*, 69(3), 621-632. <https://doi.org/10.1017/S0043933913000627>
- Khan, S., Patel, A. et Bhise, K. S. (2017). Antioxidant activity of pomegranate peel powder. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 7(2), 81-84. <https://doi.org/10.22270/jddt.v7i2.1380>
- Kharchoufi, S., Licciardello, F., Siracusa, L., Muratore, G., Hamdi, M. et Restuccia, C. (2018). Antimicrobial and antioxidant features of 'Gabsi' pomegranate peel extracts. *Industrial Crops and Products*, 111, 345-352. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.10.037>
- Khater, H. F., Ziam, H., Abbas, A., Abbas, R. Z., Raza, M. A., Hussain, K., Younis, E. Z., Radwan, I. T. et Selim, A. (2020). Avian coccidiosis: recent advances in alternative control strategies and vaccine development. *Agrobiological Records*, 1, 11-25. <https://doi.org/10.47278/journal.abr/2020.003>
- Kheirandish, F., Mahmoudvand, H., Khamesipour, A., Ebrahimzadeh, F., Behrahi, F., Rezaei, S. et Delfan, B. (2017). The therapeutic effects of olive leaf extract on *Leishmania major* infection in BALB/c mice. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21(4), 837-842. <https://doi.org/10.12991/mpj.2017.6>
- Khelouf, I., Karoui, I. J., Lakoud, A., Hammami, M. et Abderrabba, M. (2023). Comparative chemical composition and antioxidant activity of olive leaves *Olea europaea* L. of Tunisian and Algerian varieties. *Heliyon*, 9(12), e22217. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22217>
- Khorrami, P., Gholami-Ahangaran, M. et Moghtadaei-Khorasgani, E. (2022). The efficacy of pomegranate peel extract on *Eimeria* shedding and growth indices in experimental coccidiosis in broiler chickens. *Veterinary Medicine and Science*, 8(2), 635-641. <https://doi.org/10.1002/vms3.714>
- Ko, K., Dadmohammadi, Y. et Abbaspourrad, A. (2021). Nutritional and bioactive components of pomegranate waste used in food and cosmetic applications: a review. *Foods*, 10(3), 657. <https://doi.org/10.3390/foods10030657>
- Komaki, E., Yamaguchi, S., Maru, I., Kinoshita, M., Kakehi, K., Ohta, Y. et Tsukada, Y. (2003). Identification of anti- α -amylase components from olive leaf extracts. *Food Science and Technology Research*, 9(1), 35-39.

- Kostova, I., Bhatia, S., Grigorov, P., Balkansky, S., S. Parmar, V., K. Prasad, A. et Saso, L. (2011). Coumarins as antioxidants. *Current Medicinal Chemistry*, 18(25), 3929-3951. <https://doi.org/10.2174/092986711803414395>
- Kumar, N. et Goel, N. (2019). Phenolic acids: natural versatile molecules with promising therapeutic applications. *Biotechnology Reports*, 24, e00370. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00370>
- Kumari, P., Bhattacharyya, S., Chattopadhyay, S., Raj, A. et Banik, A. (2024). Parasites in poultry faeces: should we be concerned? *European Journal of Biomedical and Pharmaceutical sciences*, 11(4), 181-186.
- Kupnik, K., Primožič, M., Vasić, K., Knez, Ž. et Leitgeb, M. (2021). A comprehensive study of the antibacterial activity of bioactive juice and extracts from pomegranate (*Punica granatum* L.) peels and seeds. *Plants*, 10(8), 1554. <https://doi.org/10.3390/plants10081554>
- Kyriazis, J. D., Aligiannis, N., Polychronopoulos, P., Skaltsounis, A. L. et Dotsika, E. (2013). Leishmanicidal activity assessment of olive tree extracts. *Phytomedicine*, 20(3-4), 275-281. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.11.013>
- Labsi, M., Khelifi, L., Mezioug, D., Soufli, I. et Touil-Boukoffa, C. (2016). Antihydatic and immunomodulatory effects of *Punica granatum* peel aqueous extract in a murine model of echinococcosis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 9(3), 211-220. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.01.038>
- Lahouel, M. et Belhadj, S. (2022). Morphological variability of the fruits of seven pomegranate (*Punica granatum* L.) cultivars grown in Messaad region in central Algeria. *Biotechnology, Agronomy and Society and Environment*, 26(1), 16-29. <https://doi.org/10.25518/1780-4507.19447>
- Lal, K., Bromley, E., Oakes, R., Prieto, J. H., Sanderson, S. J., Kurian, D., Hunt, L., Iii, J. R. Y., Wastling, J. M., Sinden, R. E. et Tomley, F. M. (2009). Proteomic comparison of four *Eimeria tenella* life-cycle stages: unsporulated oocyst, sporulated oocyst, sporozoite and second-generation merozoite. *Proteomics*, 9(19), 4566-4576. <https://doi.org/10.1002/pmic.200900305>
- Lampakis, D., Skenderidis, P. et Leontopoulos, S. (2021). Technologies and extraction methods of polyphenolic compounds derived from pomegranate (*Punica granatum*) peels. A mini review. *Processes*, 9(2), 236. <https://doi.org/10.3390/pr9020236>
- Lee, C. J., Chen, L. G., Liang, W. L. et Wang, C. C. (2010). Anti-inflammatory effects of *Punica granatum* Linne *in vitro* and *in vivo*. *Food Chemistry*, 118(2), 315-322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.04.123>
- Lee, K. J., Oh, Y. C., Cho, W. K. et Ma, J. Y. (2015). Antioxidant and anti-inflammatory activity determination of one hundred kinds of pure chemical compounds using offline and online screening HPLC assay. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2015/165457>

- Lee, O. H. et Lee, B. Y. (2010). Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in *Olea europaea* leaf extract. *Bioresource Technology*, 101(10), 3751-3754. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.12.052>
- Lee, O. H., Lee, B. Y., Lee, J., Lee, H. B., Son, J. Y., Park, C. S., Shetty, K. et Kim, Y. C. (2009). Assessment of phenolics-enriched extract and fractions of olive leaves and their antioxidant activities. *Bioresource Technology*, 100(23), 6107-6113. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.06.059>
- Lee, O. H., Lee, H. B. et Son, J. Y. (2004). Antimicrobial activities and nitrite-scavenging ability of olive leaf fractions. *Korean Journal of Society of Food and Cookery Science*, 20(2), 204-210.
- Lee, S. H., Lillehoj, H. S., Dalloul, R. A., Park, D. W., Hong, Y. H. et Lin, J. J. (2007). Influence of pediococcus-based probiotic on coccidiosis in broiler chickens. *Poultry Science*, 86(1), 63-66. <https://doi.org/10.1093/ps/86.1.63>
- Leopoldini, M., Russo, N. et Toscano, M. (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*, 125(2), 288-306. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.012>
- Lfitat, A., Zejli, H., Bousraf, F. Z., Bousselham, A., El Atki, Y., Gouch, A., Lyoussi, B. et Abdellaoui, A. (2021). Comparative assessment of total phenolics content and *in vitro* antioxidant capacity variations of macerated leaf extracts of *Olea europaea* L. and *Argania spinosa* (L.) skeels. *Materials Today: Proceedings*, 45, 7271-7277. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.990>
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J. et Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96(2), 254-260. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.02.033>
- Lins, P. G., Pugine, S. M. P., Scatolini, A. M. et de Melo, M. P. (2018). *In vitro* antioxidant activity of olive leaf extract (*Olea europaea* L.) and its protective effect on oxidative damage in human erythrocytes. *Heliyon*, 4(9), e00805. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018.e00805>
- Liu, G., Zhu, W., Zhang, J., Song, D., Zhuang, L., Ma, Q., Yang, X., Liu, X., Zhang, J., Zhang, H., Wang, J., Liang, L. et Xu, X. (2022). Antioxidant capacity of phenolic compounds separated from tea seed oil *in vitro* and *in vivo*. *Food Chemistry*, 371, 131122. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131122>
- Liu, Q., Luo, L. et Zheng, L. (2018). Lignins: biosynthesis and biological functions in plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), 335. <https://doi.org/10.3390/ijms19020335>
- Machmudah, S., Wahyudiono, Kanda, H. et Goto, M. (2017). Hydrolysis of biopolymers in near-critical and subcritical water. Dans *Water Extraction of Bioactive Compounds* (p. 69-107). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809380-1.00003-6>
- MacRae, W. D. et Towers, G. H. N. (1984). Biological activities of lignans. *Phytochemistry*, 23(6), 1207-1220. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)80428-8](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)80428-8)

- Mahboubi, A., Asgarpanah, J., Sadaghiyani, P. N. et Faizi, M. (2015). Total phenolic and flavonoid content and antibacterial activity of *Punica granatum* L. var. pleniflora flowers (Golnar) against bacterial strains causing foodborne diseases. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 15(1), 366. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0887-x>
- Mahmood, A., Khan, M. A., Khan, M. N., Qudoos, A. et Alam, M. (2001). Application of lesion scoring technique for the assessment of pathology and treatment of coccidiosis in broiler chicks. *International Journal of Agriculture & Biology*, 3(4), 464-468.
- Mammen, D. et Daniel, M. (2012). A critical evaluation on the reliability of two aluminum chloride chelation methods for quantification of flavonoids. *Food Chemistry*, 135(3), 1365-1368. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.109>
- Manso, T., Lores, M. et de Miguel, T. (2022). Antimicrobial activity of polyphenols and natural polyphenolic extracts on clinical isolates. *Antibiotics*, 11(1), 46. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11010046>
- Masci, A., Coccia, A., Lendaro, E., Mosca, L., Paolicelli, P. et Cesa, S. (2016). Evaluation of different extraction methods from pomegranate whole fruit or peels and the antioxidant and antiproliferative activity of the polyphenolic fraction. *Food Chemistry*, 202, 59-69. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.01.106>
- Masood, S., Abbas, R. Z., Iqbal, Z., Mansoor, M. K., Sindhu, Z.-D., Anjum, M. et Khan, J. A. (2013). Role of natural antioxidants for the control of coccidiosis in poultry. *Pakistan Veterinary Journal*, 33(4), 401-407.
- McDougald, L. R. (1998). Intestinal protozoa important to poultry. *Poultry Science*, 77(8), 1156-1158. <https://doi.org/10.1093/ps/77.8.1156>
- McDougald, L. R., Cervantes, H. M., Jenkins, M. C., Hess, M. et Beckstead, R. (2020). Protozoal infections. Dans Swayne D. E., Boulianne M., Logue C. M., McDougald L. R., Nair V., Suarez D. L., Wit S., Grimes T., Johnson D., Kromm M., Prajitno T. Y., Rubinoff I. et Zavala G. (dir.), *Diseases of Poultry* (14^e éd., p. 1192-1254). Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/9781119371199.ch28>
- Medpilwar, M., Maru, D., Upadhyay, M., Lavania, N., Vernekar, M. et Harmalkar, M. N. (2015). In-vitro antioxidant and anti-lipid peroxidation activity of ethanolic extracts of *Bougainvillea shubhra*, *Bougainvillea peruviana* and *Bougainvillea bhuttiana* golden glow: a comparative study. *Journal of Natural Remedies*, 15(1), 43-48. <https://doi.org/10.18311/jnr/2015/475>
- Mehalaine, S. et Chenchouni, H. (2021). Quantifying how climatic factors influence essential oil yield in wild-growing plants. *Arabian Journal of Geosciences*, 14(13), 1257. <https://doi.org/10.1007/s12517-021-07582-6>
- Mehru, N., Rathinam, X., Subramaniam, S., Aiyalu, R., Sreenivasan, S. et Lachimanan, Y. L. (2008). Antimicrobial activity and toxicity of *Punica granatum* L., peel. *Journal of Applied Biological Sciences*, 2(3), 57-59.
- Merghem, R. (2009). *Elément de biochimie végétale* (1^{re} éd.). Bahaeddine.

- Miliauskas, G., Venskutonis, P. R. et van Beek, T. A. (2004). Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. *Food Chemistry*, 85(2), 231-237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.05.007>
- Mohammed, L. S., Sallam, E. A., El basuni, S. S., Eldiarby, A. S., Soliman, M. M., Aboelenin, S. M. et Shehata, S. F. (2021). Ameliorative effect of neem leaf and pomegranate peel extracts in coccidial infections in new zealand and v-line rabbits: performance, intestinal health, oocyst shedding, carcass traits, and effect on economic measures. *Animals*, 11(8), 2441. <https://doi.org/10.3390/ani11082441>
- Mohsin, M., Zhang, Z. et Yin, G. (2022). Effect of probiotics on the performance and intestinal health of broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. *Vaccines*, 10(1), 97. <https://doi.org/10.3390/vaccines10010097>
- Moreno, J. et Peinado, R. (2012). Polyphenols. Dans *Enological Chemistry* (1^{re} éd., p. 53-76). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-388438-1.00005-4>
- Mostafa, A. A., Al-Askar, A. A., Almaary, K. S., Dawoud, T. M., Sholkamy, E. N. et Bakri, M. M. (2018). Antimicrobial activity of some plant extracts against bacterial strains causing food poisoning diseases. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(2), 361-366. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.004>
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M. et Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43(6), 992-999. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2010.02.004>
- Muthamilselvan, T., Kuo, T. F., Wu, Y. C. et Yang, W. C. (2016). Herbal remedies for coccidiosis control: a review of plants, compounds, and anticoccidial actions. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016(1), 2657981. <https://doi.org/10.1155/2016/2657981>
- Mylonaki, S., Kiassos, E., Makris, D. P. et Kefalas, P. (2008). Optimisation of the extraction of olive (*Olea europaea*) leaf phenolics using water/ethanol-based solvent systems and response surface methodology. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 392(5), 977-985. <https://doi.org/10.1007/s00216-008-2353-9>
- Nagwa, E. A., El-Akabawy, L. M., El-Madawy, R. S. et Toulou, E. I. (2013). Studies on intestinal protozoa of poultry in Gharbia governorate. *Benha Veterinary Medical Journal*, 25(2), 78-83.
- Neyrinck, A. M., Van Hée, V. F., Bindels, L. B., De Backer, F., Cani, P. D. et Delzenne, N. M. (2012). Polyphenol-rich extract of pomegranate peel alleviates tissue inflammation and hypercholesterolaemia in high-fat diet-induced obese mice: potential implication of the gut microbiota. *British Journal of Nutrition*, 109(5), 802-809. <https://doi.org/10.1017/S0007114512002206>
- Nicoli, F., Negro, C., Vergine, M., Aprile, A., Nutricati, E., Sabella, E., Miceli, A., Luvisi, A. et De Bellis, L. (2019). Evaluation of phytochemical and antioxidant properties of 15 Italian *Olea europaea* L. cultivar leaves. *Molecules*, 24(10), 1998. <https://doi.org/10.3390/molecules24101998>

-
- Nisar, B., Sultan, A. et Rubab, S. L. (2017). Comparison of medicinally important natural products versus synthetic drugs-a short commentary. *Natural Products Chemistry & Research*, 06(02), 308. <https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000308>
 - Njomnang Soh, P., Banzouzi, J. T., Mangombo, H., Lusakibanza, M., Bulubulu, F. O., Tona, L., Diamuini, A. N., Luyindula, S. N. et Benoit-Vical, F. (2009). Antiplasmodial activity of various parts of *Phyllanthus niruri* according to its geographical distribution. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 3(12), 598-601.
 - Noack, S., Chapman, H. D. et Selzer, P. M. (2019). Anticoccidial drugs of the livestock industry. *Parasitology Research*, 118(7), 2009-2026. <https://doi.org/10.1007/s00436-019-06343-5>
 - Nozohour, Y., Golmohammadi, R., Mirnejad, R. et Fartashvand, M. (2018). Antibacterial activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) seed and peel alcoholic extracts on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* isolated from health centers. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 5(1), 32-36. <https://doi.org/10.29252/JABR.01.01.06>
 - Oliveira, A. L. S., Gondim, S., Gómez-García, R., Ribeiro, T. et Pintado, M. (2021). Olive leaf phenolic extract from two Portuguese cultivars bioactivities for potential food and cosmetic application. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9(5), 106175. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.106175>
 - Omar, S. H., Scott, C. J., Hamlin, A. S. et Obied, H. K. (2018). Biophenols: enzymes (β -secretase, cholinesterases, histone deacetylase and tyrosinase) inhibitors from olive (*Olea europaea* L.). *Fitoterapia*, 128, 118-129. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2018.05.011>
 - Önder, D., Erdoğan, Ü. et Önder, S. (2023). Comparison of biochemical and antioxidant activities of ultrasonic-assisted extraction with different solvents in olive leaf. *Biotech Studies*, 32(1), 31-40. <https://doi.org/10.38042/biotechstudies.1274148>
 - Oreopoulou, A., Tsimogiannis, D. et Oreopoulou, V. (2019). Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters. Dans *Polyphenols in Plants* (2^e éd., p. 243-259). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813768-0.00025-6>
 - Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *The Japanese Journal of Nutrition and Dietetics*, 44(6), 307-315. <https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.44.307>
 - Özcan, M. M. et Matthäus, B. (2017). A review: benefit and bioactive properties of olive (*Olea europaea* L.) leaves. *European Food Research and Technology*, 243, 89-99. <https://doi.org/10.1007/s00217-016-2726-9>
 - Panche, A. N., Diwan, A. D. et Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5(c47), 1-15. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
 - Pandey, K. B. et Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270-278. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>

- Papageorgiou, C. S., Lyri, P., Xintaropoulou, I., Diamantopoulos, I., Zagklis, D. P. et Paraskeva, C. A. (2022). High-yield production of a rich-in-hydroxytyrosol extract from olive (*Olea europaea*) leaves. *Antioxidants*, 11(6), 1042. <https://doi.org/10.3390/antiox11061042>
- Parsaei, S., Amini, Z. et Houshmand, M. (2014). Effects of olive leaf on blood metabolites and humoral immunity response of broiler chickens. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*, 2(3), 741-751.
- Pathak, P. D., Mandavgane, S. A. et Kulkarni, B. D. (2017). Valorization of pomegranate peels: a biorefinery approach. *Waste and Biomass Valorization*, 8(4), 1127-1137. <https://doi.org/10.1007/s12649-016-9668-0>
- Pečjak, M., Levart, A., Salobir, J. et Rezar, V. (2020). Effect of the supplementation of olive leaves and olive cake on growth performance and bone mineralisation of broiler chickens. *Acta Fytotechnica et Zootechnica*, 23, 105-111. <https://doi.org/10.15414/afz.2020.23.mi-fpap.105-111>
- Pecyna, P., Wargula, J., Murias, M. et Kucinska, M. (2020). More than resveratrol: new insights into stilbene-based compounds. *Biomolecules*, 10(8), 1111. <https://doi.org/10.3390/biom10081111>
- Peek, H. W. et Landman, W. J. M. (2011). Coccidiosis in poultry: anticoccidial products, vaccines and other prevention strategies. *Veterinary Quarterly*, 31(3), 143-161. <https://doi.org/10.1080/01652176.2011.605247>
- Peršurić, Ž., Martinović, L. S., Malenica, M., Gobin, I., Pavelić, S., Dragović-Uzelac, V. et Kraljević Pavelić, S. (2020). Assessment of the biological activity and phenolic composition of ethanol extracts of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels. *Molecules*, 25, 5916. <https://doi.org/10.3390/molecules25245916>
- Petridis, A., Therios, I., Samouris, G., Koundouras, S. et Giannakoula, A. (2012). Effect of water deficit on leaf phenolic composition, gas exchange, oxidative damage and antioxidant activity of four Greek olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*, 60, 1-11. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2012.07.014>
- Phani Kumar, G., Anilakumar, K. R. et Naveen, S. (2015). Phytochemicals having neuroprotective properties from dietary sources and medicinal herbs. *Pharmacognosy Journal*, 7(1), 1-17. <https://doi.org/10.5530/pj.2015.7.1>
- Pisoschi, A. M. et Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55-74. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
- Qaid, M. M., Al-Mufarrej, S. I., Azzam, M. M. et Al-Garadi, M. A. (2021). Anticoccidial effectivity of a traditional medicinal plant, *Cinnamomum verum*, in broiler chickens infected with *Eimeria tenella*. *Poultry Science*, 100(3), 100902. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2020.11.071>
- Qaid, M. M., Mansour, L., Al-Garadi, M. A., Alqhtani, A. H., Al-abdullatif, A. A., Qasem, M. A. et Murshed, M. A. (2022). Evaluation of the anticoccidial effect of traditional medicinal plants, *Cinnamomum verum* bark and *Rumex nervosus* leaves in

- experimentally infected broiler chickens with *Eimeria tenella*. *Italian Journal of Animal Science*, 21(1), 408-421. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2022.2033139>
- Qiu, J., Chen, B., Huang, W., Zhao, H., Hu, J., Loh, J. Y. et Peng, K. (2024). Dietary condensed tannin exhibits stronger growth-inhibiting effect on Chinese sea bass than hydrolysable tannin. *Animal Feed Science and Technology*, 308, 115880. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2024.115880>
 - Qnais, E. Y., Elokda, A. S., Abu Ghalyun, Y. Y. et Abdulla, F. A. (2007). Antidiarrheal activity of the aqueous extract of *Punica granatum* (pomegranate) peels. *Pharmaceutical Biology*, 45(9), 715-720. <https://doi.org/10.1080/13880200701575304>
 - Rafi, M., Wulansari, L., Septaningsih, D. A., Purnomo, T. F., Auliatifani, R., Ilmiawati, A., Yulianti, W., Nengsih, N. K., Suparto, I. H. et Kusuma, W. A. (2021). Antioxidant capacity and phytochemical profile of *Punica granatum* L. peel extracts using different solvent extraction. *Journal of Tropical Life Science*, 11(3), 375-382. <https://doi.org/10.11594/jtls.11.03.13>
 - Rana, T. S., Narzary, D. et Ranade, S. A. (2010). Systematics and taxonomic disposition of the genus *Punica* L. *Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology*, 4(2), 19-25.
 - Rasool, M., Malik, A., Qureshi, M. S., Manan, A., Pushparaj, P. N., Asif, M., Qazi, M. H., Qazi, A. M., Kamal, M. A., Gan, S. H. et Sheikh, I. A. (2014). Recent updates in the treatment of neurodegenerative disorders using natural compounds. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2014/979730>
 - Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. et Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
 - Reid, M.W., Calnek, B.W. et Mc Dougald, L.R. (1978). *Protozoa- coccidiosis: diseases of poultry*. Ames Iowa (USA). Iowa State University Press.
 - Rice-Evans, C. A., Miller, N. J. et Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933-956. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)02227-9](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)02227-9)
 - Rios, J. L., Recio, M. C. et Villar, A. (1988). Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of Ethnopharmacology*, 23(2-3), 127-149. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(88\)90001-3](https://doi.org/10.1016/0378-8741(88)90001-3)
 - Ritzi, M. M., Abdelrahman, W., Mohnl, M. et Dalloul, R. A. (2014). Effects of probiotics and application methods on performance and response of broiler chickens to an *Eimeria* challenge. *Poultry Science*, 93(11), 2772-2778. <https://doi.org/10.3382/ps.2014-04207>
 - Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2866-2887. <https://doi.org/10.1021/jf026182t>

- Romeo, F., Ballistreri, G., Fabroni, S., Pangallo, S., Nicosia, M., Schena, L. et Rapisarda, P. (2015). Chemical characterization of different sumac and pomegranate extracts effective against *Botrytis cinerea* rots. *Molecules*, 20(7), 11941-11958. <https://doi.org/10.3390/molecules200711941>
- Romero-Márquez, J. M., Forbes-Hernández, T. Y., Navarro-Hortal, M. D., Quirantes-Piné, R., Grosso, G., Giampieri, F., Lipari, V., Sánchez-González, C., Battino, M. et Quiles, J. L. (2023). Molecular mechanisms of the protective effects of olive leaf polyphenols against Alzheimer's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 24, 4353. <https://doi.org/10.3390/ijms24054353>
- Rosas-Burgos, E. C., Burgos-Hernández, A., Noguera-Artiaga, L., Kačániová, M., Hernández-García, F., Cárdenas-López, J. L. et Carbonell-Barrachina, Á. A. (2017). Antimicrobial activity of pomegranate peel extracts as affected by cultivar. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(3), 802-810. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7799>
- Rouibah, Z., Ben Mensour, A., Rekik, O., Boumendjel, M., Taibi, F., Bouaziz, M., El Feki, A., Messarah, M. et Boumendjel, A. (2019). Chemical composition, antioxidant activities, in an allergic asthma model, of *Olea europaea* L. leaf extracts from Collo (Skikda, Algeria). *Drug and Chemical Toxicology*, 45(1), 197-208. <https://doi.org/10.1080/01480545.2019.1679827>
- Ruff, M. D. (1999). Important parasites in poultry production systems. *Veterinary Parasitology*, 84(3-4), 337-347. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(99\)00076-X](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(99)00076-X)
- Russo, M., Fanali, C., Tripodo, G., Dugo, P., Muleo, R., Dugo, L., De Gara, L. et Mondello, L. (2018). Analysis of phenolic compounds in different parts of pomegranate (*Punica granatum*) fruit by HPLC-PDA-ESI/MS and evaluation of their antioxidant activity: application to different Italian varieties. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410(15), 3507-3520. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0854-8>
- Ruzzolini, J., Peppicelli, S., Andreucci, E., Bianchini, F., Scardigli, A., Romani, A., la Marca, G., Nediani, C. et Calorini, L. (2018). Oleuropein, the main polyphenol of *Olea europaea* leaf extract, has an anti-cancer effect on human BRAF melanoma cells and potentiates the cytotoxicity of current chemotherapies. *Nutrients*, 10(12), 1950. <https://doi.org/10.3390/nu10121950>
- Sabraoui, T., Khider, T., Nasser, B., Eddoha, R., Moujahid, A., Benbachir, M. et Essamadi, A. (2020). Determination of punicalagins content, metal chelating, and antioxidant properties of edible pomegranate (*Punica granatum* L.) peels and seeds grown in Morocco. *International Journal of Food Science*, 2020(1), 8885889. <https://doi.org/10.1155/2020/8885889>
- Sadeer, N. B., Montesano, D., Albrizio, S., Zengin, G. et Mahomoodally, M. F. (2020). The versatility of antioxidant assays in food science and safety—chemistry, applications, strengths, and limitations. *Antioxidants*, 9(8), 709. <https://doi.org/10.3390/antiox9080709>
- Saleem, M., Kim, H. J., Ali, M. S. et Lee, Y. S. (2005). An update on bioactive plant lignans. *Natural Product Reports*, 22(6), 696-716. <https://doi.org/10.1039/b514045p>

- Salem, H. M., Salem, M. A., Soliman, M. M., Althobaiti, S. A., Khafaga, A. K., El-Tahan, A. M., El-Saadony, M. T. et Attia, M. M. (2022). Parasitological and histopathological examination of Cocktail lovebirds infected with *Eimeria aratinga* (Apicomplexa: Eimeriidae). *Poultry Science*, 101(5), 101781. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2022.101781>
- Salih, T. A., Shahatha, S. S. et Alwan, A. (2019). The effect study of adding extracts of some medicinal plants in the bloody, serological and histological changes of *Eimeria necatrix* and compared with amprolium in broiler chickens ross 308. *Plant Archives*, 19(2), 1529-1537.
- Šavikin, K., Živković, J., Alimpić, A., Zdunić, G., Janković, T., Duletić-Laušević, S. et Menković, N. (2018). Activity guided fractionation of pomegranate extract and its antioxidant, antidiabetic and antineurodegenerative properties. *Industrial Crops and Products*, 113, 142-149. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.01.031>
- Schubert, S. Y., Lansky, E. P. et Neeman, I. (1999). Antioxidant and eicosanoid enzyme inhibition properties of pomegranate seed oil and fermented juice flavonoids. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(1), 11-17. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(98\)00222-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(98)00222-0)
- Senol, F. S., Ankli, A., Reich, E. et Orhan, I. E. (2016). HPTLC finger-printing and cholinesterase inhibitory and metal-chelating capacity of various *Citrus* cultivars and *Olea europaea*. *Food Technology and Biotechnology*, 54(3), 275-281. <https://doi.org/10.17113/ftb.54.03.16.4225>
- Sharifi-Rad, M., Lankatillake, C., Dias, D. A., Docea, A. O., Mahomoodally, M. F., Lobine, D., Chazot, P. L., Kurt, B., Boyunegmez Tumer, T., Catarina Moreira, A., Sharopov, F., Martorell, M., Martins, N., Cho, W. C., Calina, D. et Sharifi-Rad, J. (2020). Impact of natural compounds on neurodegenerative disorders: from preclinical to pharmacotherapeutics. *Journal of Clinical Medicine*, 9(4), 1061. <https://doi.org/10.3390/jcm9041061>
- Shaygannia, E., Bahmani, M., Zamanzad, B. et Rafieian-Kopaei, M. (2016). A review study on *Punica granatum* L. *Journal of Evidence-Based Complementary & Alternative Medicine*, 21(3), 221-227. <https://doi.org/10.1177/2156587215598039>
- Shirley, M. W., Smith, A. L. et Tomley, F. M. (2005). The biology of avian *Eimeria* with an emphasis on their control by vaccination. Dans *Advances in Parasitology* (vol. 60, p. 285-330). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0065-308X\(05\)60005-X](https://doi.org/10.1016/S0065-308X(05)60005-X)
- Shivaramaiah, C., Barta, J., Hernandez-Velasco, X., Téllez, G. et Hargis, B. (2014). Coccidiosis: recent advancements in the immunobiology of *Eimeria* species, preventive measures, and the importance of vaccination as a control tool against these Apicomplexan parasites. *Veterinary Medicine: Research and Reports*, 5, 23-34. <https://doi.org/10.2147/VMRR.S57839>
- Sihag, S., Pal, A., Ravikant et Saharan, V. (2022). Antioxidant properties and free radicals scavenging activities of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels: An *in-vitro* study. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 42, 102368. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102368>

-
- Silva, R. F. M. et Pogačnik, L. (2020). Polyphenols from food and natural products: neuroprotection and safety. *Antioxidants*, 9(1), 61. <https://doi.org/10.3390/antiox9010061>
 - Singleton, V. L. et Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
 - Song, X., Li, Y., Chen, S., Jia, R., Huang, Y., Zou, Y., Li, L., Zhao, X. et Yin, Z. (2020). Anticoccidial effect of herbal powder “Shi Ying Zi” in chickens infected with *Eimeria tenella*. *Animals*, 10(9), 1484. <https://doi.org/10.3390/ani10091484>
 - Soutter, F., Werling, D., Tomley, F. M. et Blake, D. P. (2020). Poultry coccidiosis: design and interpretation of vaccine studies. *Frontiers in Veterinary Science*, 7, 1-12. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00101>
 - Stanković, M., Ćurčić, S., Zlatić, N. et Bojović, B. (2017). Ecological variability of the phenolic compounds of *Olea europaea* L. leaves from natural habitats and cultivated conditions. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 31(3), 499-504. <https://doi.org/10.1080/13102818.2016.1275804>
 - Stobiecki, M. et Kachlicki, P. (2006). Isolation and identification of flavonoids. Dans *The Science of Flavonoids* (1^{re} éd., p. 47-69). https://doi.org/10.1007/978-0-387-28822-2_2
 - Suárez Montenegro, Z. J., Álvarez-Rivera, G., Sánchez-Martínez, J. D., Gallego, R., Valdés, A., Bueno, M., Cifuentes, A. et Ibáñez, E. (2021). Neuroprotective effect of terpenoids recovered from olive oil by-products. *Foods*, 10, 1507. <https://doi.org/10.3390/foods10071507>
 - Suhad, A. A., Nagham, H. A. et Abbas, A. A.-J. (2013). Antimicrobial effect of pomegranate peel extract on some pathogenic microorganisms. *Engineering and Technology Journal*, 31(3), 316-324. <https://doi.org/10.30684/etj.31.3B.4>
 - Sultana, B., Anwar, F. et Ashraf, M. (2009). Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts. *Molecules*, 14(6), 2167-2180. <https://doi.org/10.3390/molecules14062167>
 - Sun, H., Su, X., Fu, Y., Hao, L., Zhou, W., Zhou, Z., Huang, J., Wang, Y. et Shi, T. (2023). Pathogenicity and drug resistance of the *Eimeria tenella* isolate from Yiwu, Zhejiang province, eastern China. *Poultry Science*, 102(8), 102845. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2023.102845>
 - Surai, P. F. (2014). Polyphenol compounds in the chicken/animal diet: from the past to the future. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 98(1), 19-31. <https://doi.org/10.1111/jpn.12070>
 - Szydłowska-Czerniak, A., Dianoczki, C., Recseg, K., Karlovits, G. et Szlyk, E. (2008). Determination of antioxidant capacities of vegetable oils by ferric-ion spectrophotometric methods. *Talanta*, 76(4), 899-905. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.04.055>

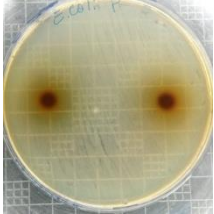
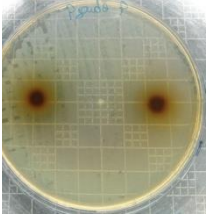
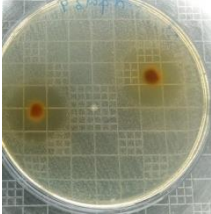
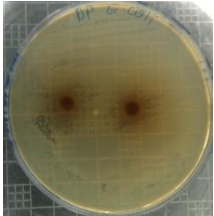
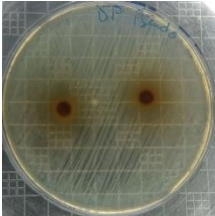
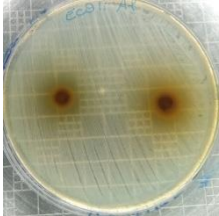
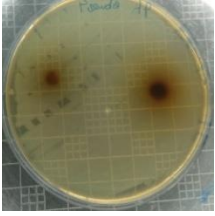
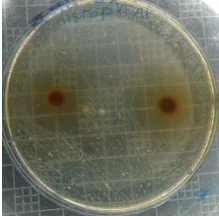
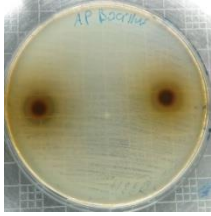
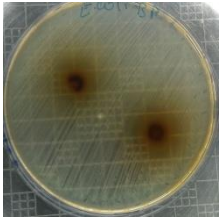
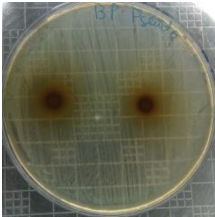
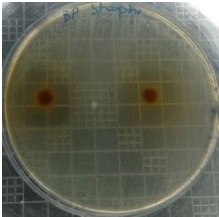
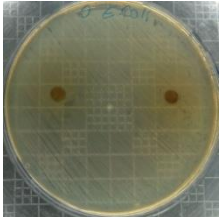
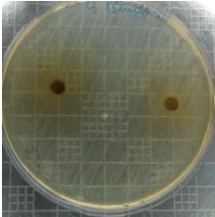
- Taherpour, K., Moravej, H., Reza Taheri, H. et Shivazad, M. (2012). Effect of dietary inclusion of probiotic, prebiotic and butyric acid glycerides on resistance against coccidiosis in broiler chickens. *The Journal of Poultry Science*, 49(1), 57-61. <https://doi.org/10.2141/jpsa.011031>
- Taylor, M. (2000). Protozoal disease in cattle and sheep. *In Practice*, 22(10), 604-617. <https://doi.org/10.1136/inpract.22.10.604>
- Taylor, M. A., Coop, R. L. et Wall, R. L. (2007). *Veterinary parasitology* (3^e éd.). Blackwell Publishing.
- Tel, G., Apaydın, M., Duru, M. E. et Öztürk, M. (2012). Antioxidant and cholinesterase inhibition activities of three *Tricholoma* species with total phenolic and flavonoid contents: the edible mushrooms from Anatolia. *Food Analytical Methods*, 5(3), 495-504. <https://doi.org/10.1007/s12161-011-9275-4>
- Tewari, A. K. et Maharana, B. R. (2011). Control of poultry coccidiosis: changing trends. *Journal of Parasitic Diseases*, 35(1), 10-17. <https://doi.org/10.1007/s12639-011-0034-7>
- Tirzitis, G. et Bartosz, G. (2010). Determination of antiradical and antioxidant activity: basic principles and new insights. *Acta Biochimica Polonica*, 57(1), 139-142. https://doi.org/10.18388/abp.2010_2386
- Topçu, G., Ay, M., Bilici, A., Sarıkürkcü, C., Öztürk, M. et Ulubelen, A. (2007). A new flavone from antioxidant extracts of *Pistacia terebinthus*. *Food Chemistry*, 103(3), 816-822. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.028>
- Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231-1246. <https://doi.org/10.3390/nu2121231>
- Udo, E. J. et Abba, A. M. (2018). Comparative study of *in-vitro* anti-coccidial efficacy of *Allium Sativum* and *Carica Papaya*. *Journal of Zoological Research*, 2(2), 10-14. <https://doi.org/10.22259/2637-5575.0202002>
- Valenzuela-Grijalva, N. V., Pinelli-Saavedra, A., Muhlia-Almazan, A., Domínguez-Díaz, D. et González-Ríos, H. (2017). Dietary inclusion effects of phytochemicals as growth promoters in animal production. *Journal of Animal Science and Technology*, 59, 8. <https://doi.org/10.1186/s40781-017-0133-9>
- Vanholme, R., Demedts, B., Morreel, K., Ralph, J. et Boerjan, W. (2010). Lignin biosynthesis and structure. *Plant Physiology*, 153(3), 895-905. <https://doi.org/10.1104/pp.110.155119>
- Varmaghany, S., Rahimi, S., Karimi Torshizi, M. A., Lotfollahian, H. et Hassanzadeh, M. (2013). Effect of olive leaves on ascites incidence, hematological parameters and growth performance in broilers reared under standard and cold temperature conditions. *Animal Feed Science and Technology*, 185(1-2), 60-69. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2013.07.002>
- Vermeulen, A. N., Schaap, D. C. et Schetters, Th. P. M. (2001). Control of coccidiosis in chickens by vaccination. *Veterinary Parasitology*, 100(1-2), 13-20. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(01\)00479-4](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(01)00479-4)

- Vezza, T., Algieri, F., Rodríguez-Nogales, A., Garrido-Mesa, J., Utrilla, M. P., Talhaoui, N., Gómez-Caravaca, A. M., Segura-Carretero, A., Rodríguez-Cabezas, M. E., Monteleone, G. et Gálvez, J. (2017). Immunomodulatory properties of *Olea europaea* leaf extract in intestinal inflammation. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(10), 1601066. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201601066>
- Vezza, T., Rodríguez-Nogales, A., Algieri, F., Garrido-Mesa, J., Romero, M., Sánchez, M., Toral, M., Martín-García, B., Gómez-Caravaca, A. M., Arráez-Román, D., Segura-Carretero, A., Micol, V., García, F., Utrilla, M. P., Duarte, J., Rodríguez-Cabezas, M. E. et Gálvez, J. (2019). The metabolic and vascular protective effects of olive (*Olea europaea* L.) leaf extract in diet-induced obesity in mice are related to the amelioration of gut microbiota dysbiosis and to its immunomodulatory properties. *Pharmacological Research*, 150, 104487. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2019.104487>
- Vincente, A. R., Manganaris, G. A., Ortiz, C. M., Sozzi, G. O. et Crisosto, C. H. (2014). Nutritional quality of fruits and vegetables. Dans *Postharvest Handling* (p. 69-122). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408137-6.00005-3>
- Vladimir-Knežević, S., Blažeković, B., Štefan, M. B. et Babac, M. (2012). Plant polyphenols as antioxidants influencing the human health. Dans Venketeshwer R. (dir.), *Phytochemicals as nutraceuticals - Global approaches to their role in nutrition and health* (p. 155-180). InTech. 10.5772/27843
- Vuolo, M. M., Lima, V. S. et Maróstica Junior, M. R. (2019). Phenolic compounds. Dans *Bioactive Compounds* (p. 33-50). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>
- Wang, D., Zhou, L., Li, W., Zhou, H. et Hou, G. (2018). Anticoccidial effects of areca nut (*Areca catechu* L.) extract on broiler chicks experimentally infected with *Eimeria tenella*. *Experimental Parasitology*, 184, 16-21. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2017.11.002>
- Wannes, W. A. et Marzouk, B. (2016). Research progress of Tunisian medicinal plants used for acute diabetes. *Journal of Acute Disease*, 5(5), 357-363. <https://doi.org/10.1016/j.joad.2016.08.001>
- Whetten, R. et Sederoff, R. (1995). Lignin biosynthesis. *The Plant Cell*, 7, 1001-1013.
- Willför, S. M., Smeds, A. I. et Holmbom, B. R. (2006). Chromatographic analysis of lignans. *Journal of Chromatography A*, 1112(1-2), 64-77. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.11.054>
- Yancheva, S., Mavromatis, P. et Georgieva, L. (2016). Polyphenol profile and antioxidant activity of extracts from olive leaves. *Journal of Central European Agriculture*, 17(1), 154-163. <https://doi.org/10.5513/JCEA01/17.1.1684>
- Yassin, M. T., Mostafa, A. A. F. et Al Askar, A. A. (2021). *In vitro* evaluation of biological activities and phytochemical analysis of different solvent extracts of *Punica granatum* L. (pomegranate) peels. *Plants*, 10(12), 2742. <https://doi.org/10.3390/plants10122742>

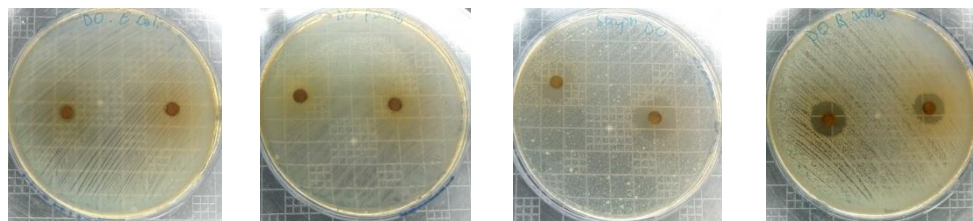
- Yefrida, Suyani, H., Alif, A., Efdi, M. et Aziz, H. (2018). Modification of phenanthroline method to determine antioxidant content in tropical fruits methanolic extract. *Research Journal of Chemistry and Environment*, 22(4), 28-35.
- Yuan, Y., Yang, L., Zhao, Q., Xiong, L., Yang, M., Suo, X. et Hao, Z. (2024). Ponazuril: clinical efficacy, ultrastructure, and histopathology studies of *in vivo* anticoccidial action against *Eimeria tenella*. *Veterinary Parasitology*, 326, 110098. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2023.110098>
- Zaheer, T., Abbas, R. Z., Imran, M., Abbas, A., Butt, A., Aslam, S. et Ahmad, J. (2022). Vaccines against chicken coccidiosis with particular reference to previous decade: progress, challenges, and opportunities. *Parasitology Research*, 121(10), 2749-2763. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07612-6>
- Zahin, M., Aqil, F. et Ahmad, I. (2010). Broad spectrum antimutagenic activity of antioxidant active fraction of *Punica granatum* L. peel extracts. *Mutation Research*, 703, 99-107. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2010.08.001>
- Zarai, Z., Boujelbene, E., Ben Salem, N., Gargouri, Y. et Sayari, A. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of various solvent extracts, piperine and piperic acid from *Piper nigrum*. *LWT - Food Science and Technology*, 50(2), 634-641. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.07.036>
- Zengin, G., Sarikurkcü, C., Aktumsek, A., Ceylan, R. et Ceylan, O. (2014). A comprehensive study on phytochemical characterization of *Haplophyllum myrtifolium* Boiss. endemic to Turkey and its inhibitory potential against key enzymes involved in Alzheimer, skin diseases and type II diabetes. *Industrial Crops and Products*, 53, 244-251. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.12.043>
- Zhao, S. S., Ma, D. X., Zhu, Y., Zhao, J. H., Zhang, Y., Chen, J. Q. et Sheng, Z. L. (2018). Antidiarrheal effect of bioactivity-guided fractions and bioactive components of pomegranate (*Punica granatum* L.) peels. *Neurogastroenterology & Motility*, 30(7), e13364. <https://doi.org/10.1111/nmo.13364>
- Zou, Y., Teng, Y., Li, J. et Yan, Y. (2024). Recent advances in the biosynthesis of coumarin and its derivatives. *Green Chemical Engineering*, 5(2), 150-154. <https://doi.org/10.1016/j.gce.2023.04.003>

ANNEXES

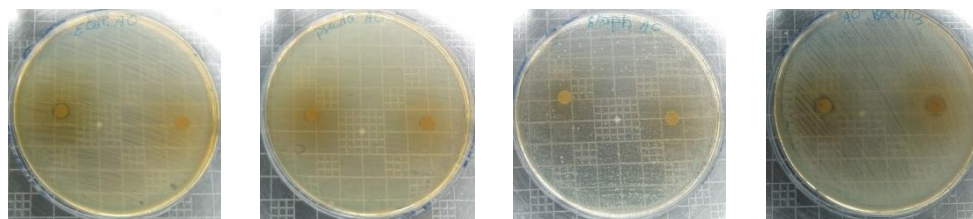
Annexe 01. Photos de l'activité antibactérienne des extraits étudiés (Photos prises par Chaabna)

Extraits	Germes	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	<i>Staphelococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Bacillus cereus</i> (ATCC 10876)
P					
DP					
AP					
BP					
O					

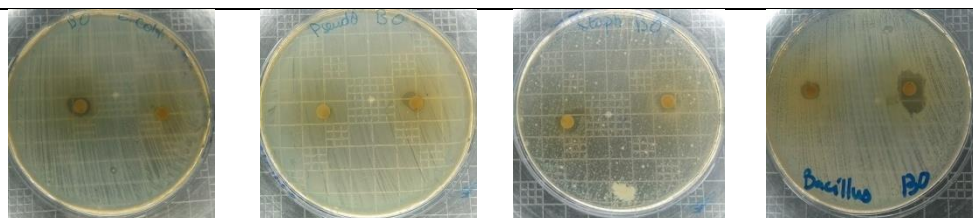
DO



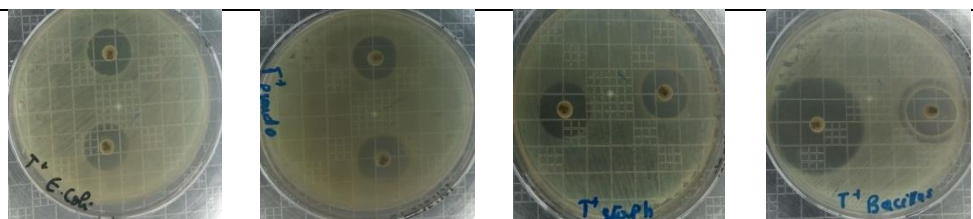
AO



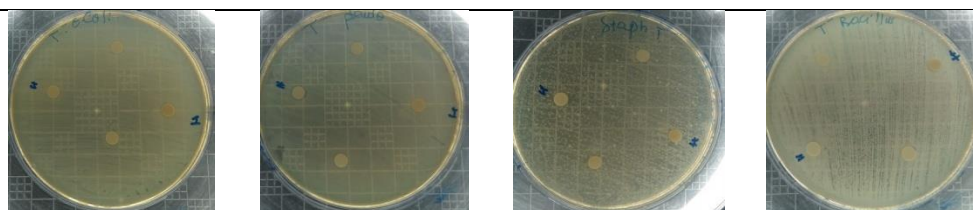
BO



Contrôles positifs



Contrôles négatifs



P: extrait éthanolique 70% des pelures de *P. granatum*, **DP:** extrait d'éther diéthylique des pelures de *P. granatum*, **AP:** extrait d'acétate d'éthyle des pelures de *P. granatum*, **BP:** extrait butanolique des pelures de *P. granatum*. **O:** extrait éthanolique 70% des feuilles d'*O. europaea*, **DO:** extrait d'éther diéthylique des feuilles d'*O. europaea*, **AO:** extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. europaea*, **BO:** extrait butanolique des feuilles d'*O. europaea*. Contrôles positifs : CX30 et CZ30. Contrôles négatifs : l'eau distillée et l'éthanol 96%.

Annexe 02. Taille de 197 oocystes sporulés de l'échantillon expérimental

Oocyste	Longueur (µm)	SD	Largeur (µm)	SD	Rapport	Oocyste	Longueur (µm)	SD	Largeur (µm)	SD	Rapport
1	20.68	0.23	17.19	0.26	1.20	100	20.30	0.26	17.80	0.13	1.14
2	22.42	0.26	19.24	0.13	1.17	101	19.92	0.13	16.74	0.26	1.19
3	21.74	0.35	17.57	0.92	1.24	102	21.66	0.26	18.63	0.45	1.16
4	22.57	0.52	19.39	0.35	1.16	103	23.86	0.23	20.45	0.45	1.17
5	21.74	0.47	18.93	0.35	1.15	104	22.49	0.82	19.69	0.26	1.14
6	21.66	0.35	18.55	0.73	1.17	105	20.83	0.13	18.10	0.35	1.15
7	20.90	0.23	18.25	0.35	1.15	106	23.25	0.66	20.22	0.00	1.15
8	18.55	0.66	15.75	0.26	1.18	107	19.92	0.13	17.42	0.35	1.14
9	21.66	0.35	18.78	0.13	1.15	108	20.52	0.26	17.95	0.23	1.14
10	20.75	0.13	17.95	0.23	1.16	109	21.51	0.47	18.86	0.00	1.14
11	22.57	0.92	19.01	0.69	1.19	110	20.90	0.45	18.33	0.35	1.14
12	20.60	0.35	17.49	0.60	1.18	111	20.90	0.39	18.18	0.23	1.15
13	23.25	0.47	19.61	0.26	1.19	112	20.22	0.23	17.65	0.13	1.15
14	23.33	0.13	18.93	0.73	1.23	113	22.95	0.39	20.07	0.35	1.14
15	21.13	0.45	17.12	0.57	1.23	114	21.28	0.47	18.63	0.23	1.14
16	22.57	0.47	17.27	0.45	1.31	115	21.51	0.57	18.71	0.47	1.15
17	18.18	0.23	16.51	0.35	1.10	116	21.81	0.00	18.78	0.35	1.16
18	20.30	0.13	15.83	0.13	1.28	117	21.43	0.35	18.55	0.35	1.16
19	20.37	0.57	15.83	0.35	1.29	118	22.57	0.26	19.01	0.47	1.19
20	21.81	0.39	18.78	0.57	1.16	119	21.21	0.95	17.04	0.39	1.24
21	21.58	0.39	18.40	0.60	1.17	120	20.98	0.47	18.33	0.35	1.14
22	23.63	0.60	18.02	0.26	1.31	121	19.16	0.35	16.74	0.47	1.14
23	22.19	0.13	19.01	0.26	1.17	122	22.04	0.23	19.16	0.26	1.15
24	23.63	0.23	17.87	0.26	1.32	123	22.19	0.35	19.31	0.00	1.15
25	21.89	0.13	18.71	0.13	1.17	124	21.28	0.13	18.02	0.26	1.18
26	22.64	0.47	19.77	0.60	1.15	125	21.66	0.35	18.86	0.39	1.15
27	20.60	0.26	17.87	0.47	1.15	126	21.13	0.39	17.87	0.52	1.18
28	21.21	0.35	18.48	0.13	1.15	127	21.81	0.23	19.08	0.23	1.14
29	21.66	0.73	19.39	0.57	1.12	128	21.51	0.35	18.55	0.26	1.16
30	22.80	0.26	19.46	0.13	1.17	129	21.36	0.60	18.71	0.35	1.14
31	20.07	0.35	17.27	0.23	1.16	130	21.43	0.13	18.63	0.23	1.15
32	23.10	0.13	19.61	1.25	1.18	131	19.16	0.26	16.89	0.35	1.13
33	16.43	0.73	19.31	0.23	0.85	132	21.66	0.13	18.93	0.47	1.14
34	20.90	0.23	18.18	0.23	1.15	133	18.18	0.45	16.36	0.23	1.11
35	20.52	0.35	17.95	0.68	1.14	134	23.02	0.35	19.61	0.13	1.17
36	22.04	0.23	19.24	0.35	1.15	135	21.89	0.13	18.86	0.23	1.16

37	21.51	0.66	18.78	0.13	1.15	136	21.89	0.26	19.16	0.47	1.14
38	20.75	0.35	16.66	0.66	1.25	137	20.07	0.35	17.57	0.13	1.14
39	19.54	0.39	16.36	0.39	1.19	138	21.96	0.13	19.08	0.00	1.15
40	20.68	0.45	18.10	0.57	1.14	139	22.72	0.23	19.77	0.23	1.15
41	22.80	0.57	19.99	0.45	1.14	140	21.66	0.26	18.93	0.26	1.14
42	20.60	0.13	17.49	0.39	1.18	141	21.81	0.00	18.86	0.00	1.16
43	19.61	0.35	17.04	0.39	1.15	142	21.58	0.45	18.71	0.57	1.15
44	20.52	0.26	17.80	0.35	1.15	143	21.89	0.35	19.01	0.13	1.15
45	22.64	0.13	19.54	0.23	1.16	144	22.72	0.45	19.84	0.26	1.15
46	20.75	0.26	18.10	0.35	1.15	145	22.57	0.69	19.69	0.13	1.15
47	20.68	0.23	17.65	0.35	1.17	146	19.54	0.23	16.96	0.13	1.15
48	21.05	0.47	17.87	0.47	1.18	147	21.66	0.35	18.86	0.23	1.15
49	21.74	0.26	19.01	0.13	1.14	148	20.15	0.35	17.49	0.45	1.15
50	22.42	0.13	19.16	0.13	1.17	149	22.34	0.13	18.86	0.23	1.18
51	22.95	0.39	19.99	0.23	1.15	150	21.43	0.35	18.78	0.13	1.14
52	19.84	0.13	17.34	0.13	1.14	151	21.58	0.45	18.86	0.23	1.14
53	21.36	0.45	18.71	0.35	1.14	152	21.05	0.26	18.40	0.23	1.14
54	19.69	0.35	16.66	0.26	1.18	153	21.58	0.39	18.86	0.23	1.14
55	21.43	0.47	18.71	0.35	1.15	154	21.66	0.52	18.71	0.13	1.16
56	21.81	0.23	17.87	0.35	1.22	155	22.57	0.35	19.77	0.23	1.14
57	20.83	0.35	17.65	0.35	1.18	156	22.04	0.23	19.31	0.23	1.14
58	21.51	0.26	18.33	0.26	1.17	157	21.43	0.47	18.71	0.26	1.15
59	18.78	0.26	15.68	0.45	1.20	158	23.78	0.13	19.16	0.35	1.24
60	21.05	0.26	18.10	0.35	1.16	159	21.66	0.35	18.86	0.23	1.15
61	21.96	0.47	19.24	0.52	1.14	160	21.28	0.35	18.55	0.13	1.15
62	21.81	0.23	19.08	0.23	1.14	161	21.89	0.35	18.93	0.26	1.16
63	21.36	0.39	18.71	0.35	1.14	162	19.69	0.35	17.19	0.13	1.15
64	23.40	0.39	20.52	0.35	1.14	163	19.31	0.00	16.89	0.13	1.14
65	21.74	0.26	19.01	0.47	1.14	164	21.58	0.23	18.86	0.00	1.14
66	20.60	0.35	17.57	0.35	1.17	165	22.11	0.13	19.08	0.23	1.16
67	21.66	0.35	18.86	0.60	1.15	166	23.48	0.35	20.37	0.66	1.15
68	20.30	0.35	17.65	0.35	1.15	167	21.36	0.39	18.63	0.00	1.15
69	21.28	0.35	18.40	0.79	1.16	168	21.58	0.23	18.78	0.57	1.15
70	21.36	0.23	17.49	0.79	1.22	169	23.17	0.60	20.07	0.13	1.15
71	20.75	0.47	17.72	0.23	1.17	170	21.58	0.00	18.71	0.26	1.15
72	19.24	0.26	15.60	0.66	1.23	171	22.11	0.52	19.08	0.23	1.16
73	19.46	0.35	16.66	0.13	1.17	172	23.33	0.26	19.39	0.26	1.20
74	20.52	0.52	17.72	0.45	1.16	173	22.04	0.00	18.78	0.35	1.17
75	19.31	0.23	16.74	0.35	1.15	174	20.22	0.23	17.34	0.35	1.17
76	21.66	0.13	18.86	0.23	1.15	175	22.49	0.23	19.01	0.35	1.18

77	21.58	0.39	18.48	0.35	1.17	176	20.90	0.23	17.95	0.60	1.16
78	20.22	0.00	17.42	0.13	1.16	177	22.11	0.13	19.08	0.39	1.16
79	19.08	0.60	17.19	0.52	1.11	178	21.43	0.47	18.71	0.47	1.15
80	19.61	0.69	16.66	0.13	1.18	179	21.89	0.35	19.08	0.45	1.15
81	21.21	0.47	18.48	0.52	1.15	180	19.46	0.47	16.89	0.13	1.15
82	20.98	0.35	18.25	0.13	1.15	181	21.89	0.13	18.63	0.00	1.17
83	21.51	0.35	18.86	0.23	1.14	182	21.21	0.35	18.55	0.35	1.14
84	22.11	0.13	19.31	0.23	1.15	183	21.89	0.26	18.71	0.26	1.17
85	21.13	0.23	18.40	0.23	1.15	184	20.90	0.23	18.02	0.35	1.16
86	20.98	0.52	18.10	0.35	1.16	185	20.37	0.57	17.72	0.45	1.15
87	20.98	0.57	18.33	0.47	1.14	186	21.36	0.39	18.63	0.45	1.15
88	23.17	0.39	18.18	0.23	1.28	187	21.66	0.35	18.93	0.47	1.14
89	21.89	0.13	19.08	0.23	1.15	188	19.08	0.23	16.51	0.13	1.16
90	22.11	0.13	19.31	0.60	1.15	189	23.70	0.35	20.22	0.23	1.17
91	20.90	0.23	17.80	0.26	1.17	190	21.21	0.13	19.16	0.35	1.11
92	21.74	0.52	19.01	0.26	1.14	191	20.22	0.23	17.57	0.13	1.15
93	22.87	0.47	19.39	0.13	1.18	192	19.84	0.13	17.19	0.57	1.15
94	22.57	0.13	19.77	0.60	1.14	193	20.52	0.13	17.95	0.00	1.14
95	23.10	0.13	18.93	0.35	1.22	194	20.60	0.13	17.95	0.39	1.15
96	20.45	0.39	17.65	0.13	1.16	195	22.11	0.35	19.31	0.23	1.15
97	19.84	0.13	17.27	0.23	1.15	196	22.80	0.57	19.77	0.23	1.15
98	22.95	0.45	19.61	0.26	1.17	197	23.33	0.57	19.99	0.45	1.17
99	21.81	0.23	18.86	0.39	1.16						

ملخص

يهدف هذا البحث إلى تقييم قشور *Punica granatum* L. وأوراق *Olea europaea* L. من خلال قياس تراكيز المركبات الفينولية وتقييم الأنشطة البيولوجية للمستخلصات الخام (P و O) وأجزائها : إيثر ثنائي إيثيل (DP و DO) ، و أسيتات الإيثيل (AP و AO) ، و البوتانولية (BP و BO). أظهرت نتائج التحليل الفيتوكيميائي الكمي تركيزاً مرتفعاً في الفينولات المتعددة والفلافونويد والفلافونول والديباغ ، حيث كانت مستخلصات الزمان أكثر غنا من مستخلصات الزيتون. تم الكشف مخبرياً عن النشاط المضاد للأكسدة من خلال خمسة اختبارات ، حيث أظهرت أجزاء *P. granatum* قدرة مضادة للأكسدة أعلى من المعايير المستخدمة. كان المستخلص (DP) هو الأكثر فعالية في اختباري DPPH والفينانثرولين (3.36±0.11 و 0.11±0.04 و 0.10±0.04 ميكروغرام/مل، على التوالي)، بينما كان المستخلص (AP) الأكثر فعالية في اختباري ABTS و CUPRAC واختبار القدرة الاختزالية (1.26±0.04 و 0.20±0.25 و 0.39±0.62 ميكروغرام/مل، على التوالي). أما بالنسبة إلى *O. europaea*، أظهر المستخلص (DO) أقوى نشاط في اختبارات DPPH و ABTS و CUPRAC (9.31±0.44 و 0.44±9.31 و 0.62±8.97 ميكروغرام/مل، على التوالي) وكان المستخلص (AO) أكثر فعالية في اختباري الفينانثرولين و القدرة الاختزالية (1.07±9.22 و 1.88±16.22 ميكروغرام/مل، على التوالي). كشفت نتائج النشاط المضاد للزهايمر أن أجزاء القشور ذات نشاط جيد ضد الكولينستيراز ، بينما كان المستخلص (DO) هو الوحيد الذي أظهر نشاطاً مضاداً للنيوترييل كولينستيراز (7.80±85.92 ميكروغرام/مل). تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا ضد نوعين من البكتيريا السالبة لصيغة جرام ونوعين من البكتيريا الموجبة لصيغة جرام. من بين البكتيريا السالبة لصيغة جرام. تبين أن *P. aeruginosa* حساسة فقط باتجاه المستخلص (BP) ، في حين أظهرت جميع المستخلصات نشاطاً كبيراً ضد البكتيريا الموجبة لصيغة جرام. أظهرت نتائج تحديد التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى للنباتين أن أفضل تركيز مثبط كان تجاه *B. cereus* بواسطة المستخلصات (AP) و (BO) (0.39 و 12.50 ملغ/مل، على التوالي)، بينما أفضل تأثير قاتل للبكتيريا كان بواسطة المستخلص (DP) ضد *S. aureus* (1.56 ملغ/مل) وبواسطة المستخلص (DO) ضد *B. cereus* و *S. aureus* (50 ملغ/مل). أيضاً تم تقييم الفعالية المضادة للكوكسيديا للمستخلص الخام لكل نبات (بتركيز 400 و 800 ملغ/كغ من العلف) وكذلك لمسحوقيهما (بتركيز 4 غ/كغ من العلف) على فراخ الدجاج اللحم من سلالة كوب 500 من اليوم 14 حتى اليوم 35 من العمر. أظهرت النتائج فعالية واعدة ضد الكوكسيديا مع انخفاض ملحوظ في عدد البويضات المتكيسة لـ *E. tenella* لكل غرام من الفضلات في المجموعات المعالجة. علاوة على ذلك، ساهم إدراج المستخلص الهيدرو-إيثانولي لقشور *P. granatum* و أوراق *O. europaea* في علف الدواجن بتركيزات 800 و 400 ملغ/كغ، على التوالي، في تحسين الأداء الحيواني للدجاج. النتائج أظهرت أن المستخلصات المدروسة تمتلك خصائص قوية كمضادة للأكسدة و مضادة لإنزيمات الكولينستيراز و مضادة للبكتيريا و مضادة للكوكسيديا، بحيث يعود ذلك إلى نوعية وكمية مكوناتها الفيتوكيميائية، خاصة مركباتها الفينولية المتعددة. تمثل هذه النباتات مصدراً محتملاً لمواد قيمة يمكنها أن تحل محل المركبات الكيميائية المستخدمة في مجالات الصيدلة والتغذية.

الكلمات المفتاحية: *Punica granatum* L.، *Olea europaea* L.، المركبات الفينولية، الأنشطة البيولوجية، الدجاج اللحم، تأثير مضاد للكوكسيديا.

Résumé

L'objectif de cette recherche est de valoriser les pelures de *Punica granatum* L. et les feuilles d'*Olea europaea* L., en mesurant les teneurs des composés phénoliques et en évaluant les activités biologiques des extraits bruts (P et O) et leurs fractions : d'éther diéthylique (DP et DO), d'acétate d'éthyle (AP et AO) et butanoliques (BP et BO). Les résultats de l'analyse phytochimique quantitative ont révélé des concentrations élevées en polyphénols, en flavonoïdes, en flavonols et en tanins, les extraits de *P. granatum* étant plus riches que ceux d'*O. europaea*. La mise en évidence du potentiel antioxydant a été réalisée par cinq essais *in vitro*. Les fractions de *P. granatum* ont montré un pouvoir antioxydant supérieur à celui des standards testés où (DP) était la fraction la plus puissante dans le test du DPPH et du phénanthroline (3.36±0.11 et 1.04±0.10 µg/mL, respectivement), tandis que (AP) était la fraction la plus puissante dans le test de l'ABTS, du CUPRAC et du pouvoir réducteur (1.26±0.04, 2.59±0.20 et 3.41±0.09 µg/mL, respectivement). Quant à *O. europaea*, la plus forte activité a été exercée par (DO) dans le test du DPPH, de l'ABTS et du CUPRAC (9.31±0.44, 6.89±0.39, 8.97±0.62 µg/mL, respectivement) et par (AO) dans le test de la phénanthroline et du pouvoir réducteur (9.29±1.07 et 16.22±1.88 µg/mL, respectivement). Les résultats de l'activité anti-Alzheimer ont révélé que les fractions des pelures ont présenté une bonne activité anti-cholinestérasique, tandis que, seul l'extrait (DO) a montré une activité anti-butyrylcholinestérase (85.92±7.80 µg/mL). L'activité antibactérienne a été évaluée vis-à-vis de deux bactéries Gram négatives et deux bactéries Gram positives. Parmi les bactéries Gram négatives, *P. aeruginosa* s'est montrée sensible uniquement envers (BP), tandis que, tous les extraits ont présenté une activité importante contre les bactéries Gram positives. Les résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice et de la concentration minimale bactéricide des deux plantes ont montré que la meilleure concentration inhibitrice a été observée vis-à-vis de *B. cereus* par les extraits (AP) et (BO) (0.39 et 12.50 mg/mL, respectivement), alors que le meilleur effet bactéricide a été exercé par (DP) contre *S. aureus* (1.56 mg/mL) et par (DO) contre *B. cereus* et *S. aureus* (50 mg/mL). L'évaluation du potentiel anticoccidien de l'extrait brut de chaque plante (à 400 et 800 mg/kg d'aliment) ainsi de leurs poudres (à 4 g/kg d'aliment) a été réalisée sur des poussins de chair de la souche Cobb 500, du 14^e jour jusqu'au 35^e jour d'âge. Les résultats ont montré une activité anticoccidienne prometteuse avec une réduction significative du nombre d'oocystes d'*E. tenella* par gramme de fèces dans les groupes traités. En outre, l'incorporation de l'extrait hydro-éthanolique de pelures de *P. granatum* et de feuilles d'*O. europaea* dans l'alimentation des volailles, aux concentrations 800 et 400 mg/kg, respectivement, a permis d'améliorer les performances zootechniques des poulets. Les résultats ont montré que les extraits étudiés possèdent des propriétés antioxydantes, anticholinestérasiques, antibactériennes et anticoccidiennes puissantes, attribuables à la qualité et à la quantité de leurs composants phytochimiques, en particulier leurs composés polyphénoliques. Ces plantes représentent une source potentielle de substances de grande valeur susceptibles de remplacer les composés chimiques utilisés dans les domaines de la pharmacologie et de l'alimentation.

Mots clés : *Punica granatum* L., *Olea europaea* L., composés phénoliques, activités biologiques, poulet de chair, effet anticoccidien.

Abstract

The objective of this research is to valorize the *Punica granatum* L. peels and *Olea europaea* L. leaves by measuring the phenolic compound concentrations and evaluating the biological activities of the crude extracts (P and O) and their fractions : diethyl ether (DP and DO), ethyl acetate (AP and AO), and butanolic (BP and BO). The results of the quantitative phytochemical analysis revealed a high concentration of polyphenols, flavonoids, flavonols, and tannins, with extracts from *P. granatum* being richer than those from *O. europaea*. The antioxidant potential was assessed using five *in vitro* tests. The *P. granatum* fractions demonstrated greater antioxidant power than the standards used. The (DP) was the most potent in the DPPH and phenanthroline assays (3.36±0.11 and 1.04±0.10 µg/mL, respectively), whereas (AP) showed the highest activity in the ABTS, CUPRAC, and reducing power assays (1.26±0.04, 2.59±0.20 and 3.41±0.09 µg/mL, respectively). For *O. europaea*, the strongest activity was exerted by (DO) in the DPPH, ABTS, and CUPRAC assays (9.31±0.44, 6.89±0.39, 8.97±0.62 µg/mL, respectively) and by (AO) in the phenanthroline and reducing power assays (9.29±1.07 and 16.22±1.88 µg/mL, respectively). The results of the anti-Alzheimer activity revealed that the peel fractions showed good anti-cholinesterase activity, while only the extract (DO) exhibited anti-butyrylcholinesterase activity (85.92±7.80 µg/mL). The antibacterial activity was evaluated against two Gram-negative and two Gram-positive bacteria. Among the Gram-negative bacteria, *P. aeruginosa* was shown to be sensitive only to (BP), while all extracts showed significant activity against Gram-positive bacteria. Moreover, the determination of the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of the two plants showed that the best inhibitory concentration was observed against *B. cereus* with extracts (AP) and (BO) (0.39 and 12.50 mg/mL, respectively). The strongest bactericidal effect was exerted by (DP) against *S. aureus* (1.56 mg/mL) and by (DO) against both *B. cereus* and *S. aureus* (50 mg/mL). The anticoccidial potential of the crude extract from each plant (at 400 and 800 mg/kg of feed) and their powders (at 4 g/kg of feed) was conducted on Cobb 500 broiler chicks from day 14 to day 35 of age. The results demonstrated promising anticoccidial activity, with a significant reduction in the number of *E. tenella* oocysts per gram of feces in the treated groups. In addition, the incorporation of the hydro-ethanolic extract of *P. granatum* peels and *O. europaea* leaves into the poultry diet at concentrations of 800 and 400 mg/kg, respectively, helped to improve the broilers' zootechnical performances. The results showed that the studied extracts possess strong antioxidant, anticholinesterase, antibacterial, and anticoccidial properties, attributable to the quality and quantity of their phytochemical components, particularly their polyphenolic compounds. These plants represent a potential source of valuable substances that can replace chemical compounds used in the fields of pharmacology and nutrition.

Keywords: *Punica granatum* L., *Olea europaea* L., phenolic compounds, biological activities, broiler chicken, anticoccidial effect.