République algérienne démocratique et populaire

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université ibn Khaldoun de Tiaret

Institut des sciences vétérinaires

THÈSE

En vue de l'obtention du diplôme de

DOCTORAT en sciences vétérinaires

Présenté par :

Mme. BENDELLA AMINA NOR EL HOUDA

THÈME

PLANTES MEDECINALES ET PRODUITS DE LA RUCHE : UNE APPROCHE ALTERNATIVE POUR LE CONTROLE DES MAMMITES CHEZ LES BOVINS

Devant le jury composé de :

Nom et prénom	Grade	Affiliation	Qualité
Aggad Hebib	Professeur	Université de Tiaret	Président
Ghazi Kheira	Professeure	Université de Tiaret	Directrice de thèse
Meddah Aicha	Professeure	Université de Mascara	Examinatrice
Meddah Boumediene	Professeur	Université de Mascara	Examinateur
Aichouni Ahmed	Professeur	C.U de Tissemsilt	Examinateur
Bourabah Akila	MCA	Université de Tiaret	Examinatrice

Année universitaire : 2019 - 2020

تهدف هذه الدراسة إلى تسليط الضوء على التركيب الكيميائي ، و تقييم نشاط كلا من الزيوت الأساسية للاوكالبتوس كروبولوس و الزعتر فنتانيزي النامية في غرب الجزائر (ولاية تيارت) كمضادات للبكتيريا، وكذا العسل متعدد الزهور.

أجريت عملية استخراج الزيت العطري من الأجزاء الهوائية من الاوكالبتوس كروبولوس و الزعتر فنتانيزي بواسطة التقطير المائي نوع كليفنجر و تم الحصول علي مردودية بمتوسط إنتاج **2.256 ± 0.094**٪ و**0,27 ±0,823**٪ على التوالي و هو مثير للاهتمام ويمكن أن يكون مربحا على نطاق صناعي.كما قمنا بتحليل التركيب الكيميائي للزيوت الأساسية بواسطة كروماتوغرافيا GC مما جعل من الممكن تمييز (91) من المكونات التي تمثل حوالي**99.92**٪من إجمالي المكونات المكتشفة والتي تمثل بشكل رئيسي كرفاكرول بالنسبة للزعتر فنتانيزي (**62.25 %**) ، أما فيما يخص الاوكالبتوس كروبولوس فقد كشفت التحاليل انه يوجد به مائة وأربعة وثلاثين (134) من المركبات المتطايرة التي تمثل **99.84** ٪ من إجمالي الزيت والمكون الرئيسي كان 1.8 سينول (**55.26** ٪) ، كما استخدامنا طريقتين مختلفتين في المختبر لتقييم نشاط كلا من الزيوت الأساسية للاوكالبتوس كروبولوس و الزعتر فنتانيزي كمضاد للبكتيريا ضد السلالات البكتيرية القياسية و السريرية المسؤولة عن التهاب الضرع عند البقر بطريقة النشر في القرص أو aromatogram و التي تجعل من الممكن إثبات مفعول الزيوت الأساسية كمضادة للبكتيريا مقابل السلالات البكتيرية التي تم اختبارها (***اشريشيا كولي ATCC 25922، ستافيلوكوكس ATCC 25923 ، و اشريشيا كولي وستافيلوكوكس المرضية***) ، هذه الطريقة جعلت من الممكن تحديد أقطار مناطق التثبيط ، أما الطريقة الثانية فهي طريقة التخفيف الدقيق في السائل الذي يهدف إلى تحديد الحد الأدنى من التركيز المثبط (**MIC**) من مجموعة من تركيزات المنتج في وسط الإنتاج وفقًا لـ NCCLS أو أحدثها اسم CLSI. يوضح نشاط الزيت العطري للزعتر فنتانيزي على السلالات البكتيرية بالطريقتين ، أن قوة مضادة البكتيريا لهذا الزيت مهمة جدًا وتتميز بعمل قاتل و مثبط ضد الجراثيم لكل من البكتيريا ذات الجرام سالب وإيجابي . بينما نشاط مضاد البكتيريا في الزيت الأساسي للاوكالبتوس كروبولوس ضد السلالات المختبرة ضعيفة و قد أظهر تقييم المضاد للميكروبات بواسطة الأروماتوجرام نشاطًا جيدًا لزيت الزعتر نوع فنتانيزي ضد جميع سلالات البكتيريا المختبرة ، وكانت مناطق تثبيط البكتيريا بين **23.33 ± 1.527** و **37.5 ± 3.535** ملم ، أما بالنسبة للزيت الأساسي للاوكالبتوس نوع كروبولوس نلاحظ أن منطقة التثبيط تتراوح بين **8** و **10** ملم كما أن البحث عن التراكيز مثبطة كحد الأدنى (**CMI /CMB**) و قاتلة الجراثيم جعل من الممكن التقييم الكمي لقوة مضادة للميكروبات للزيت العطري الزعتر فنتانيزي MIC الذي قدر

ب (**0.625** ميكرولتر / مل) لجميع السلالات البكتيرية المدروسة ، وكان أقل CMB لهدا الزيت هو **0.625** ميكرولتر/ مل ضد (***اشريشيا كولي*** المعيارية ATCC 25922). أما فيما يخص الزيت الأساسي للاوكالبتوس نوع كروبولوس فالنتيجة التي حصلنا عليها في هده الدراسة هي (**10** ميكرولتر / مل) لجميع الجراثيم التي تم اختبارها. بعد أن تم الكشف عن نشاط مضاد للميكروبات القوي لزيت الزعتر فنتانيزي ضد ***اشريشيا كولي*** و المكورات العنقودية الذهبية (السريرية والمعيارية) ، رجحنا ارتباط هذا النشاط بالتركيب الكيميائي للزيت الذي يتكون أساسًا من الكرفاكرول. فيما يخص العسل فقد أكدت دراسة حبوب غبار الطلع والخصائص الحسية الفيزيائية و الكيميائية لعينة العسل المدروسة و التي اجريت في مختبر CARI أن العسل الذي تم اختباره من نوع : جميع الزهور ذات الأصل النباتي: الفريبون ، العناب ، النحل. وعليه فان العينة التي تم تحليلها تستوفي المعايير القانونية ومعايير الجودة الموصى بها، ووفقًا لمعايير جودة CARI، يتوافق هذا العسل مع نجمتين . بالنسبة لتأثير مضاد للبكتيريا للعسل الذي تم اختباره بالطرق النوعية والكمية ، أظهر CMB أن العسل المستخدم في دراستنا بتركيزات تتراوح بين 16 إلى 21٪ و أن منطقة تثبيط تتراوح بين 13 و 25 مم (أكبر 12 ملم) فعال ضد البكتيريا المعزولة من التهاب ضرع البقر. هذا النشاط يرجع إلى تركيبة هذا العسل. قد يكون العلاج البديل بالزيوت الأساسية الزعتر فنتانيزي و الاوكالبتوس كروبولوس والعسل متعدد الأزهار لمختلف أنواع العدوى الحيوانية معقولًا.

الكلمات المفتاحية: الزيت العطري ، الزعتر فنتانيزي و الاوكالبتوس كروبولوس ، تقطير المائي ، التركيب الكيميائي ، GC ، النشاط المضاد للميكروبات ، التهاب الضرع البقر ، ***اشريشيا كولي*** ، ***ستافيلوكوكس***، *ATCC 25922*، *ATCC 25923* ، عسل متعدد الأزهار.

La présente étude a pour but de mettre en évidence la composition chimique et consiste à évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* et *eucalyptus globulus* poussés dans l'ouest algérien (wilaya de Tiaret), ainsi que le miel multifloral

L'extraction de l'huile essentielle à partir des parties aériennes de *Thymus Fontanesii* et *eucalyptus globulus* a été effectuée par hydrodistillation type Clevenger avec des rendements moyens obtenu respectivement de **2,256±0,094%** et de **0,823±0,27**% sont intéressant et peuvent être rentable à l'échelle industrielle.

La composition chimique des HEs a été analysée par chromatographie GC qui a permis de caractériser Quatre-vingt-onze (**91**) composés représentent environ **99,92%** du total des composants détectés qui est principalement représenté par le carvacrol (62,25%) pour le *T. Fontanesii*, et pour la composition d'***E. Globulus*** ont révélé la présence de cent trente-quatre (**134**) composés volatils représentant **99,84%** de l'huile totale et le composant principal était le 1,8-cinéole (55,26%),

Deux méthodes différentes sont employées pour l'évaluation de l'effet antibactérien in vitro de l'huile essentielle de ***T. Fontanesii*** et d'***E. globulus*** contre des souches bactériennes standard et cliniques responsables de mammite bovine: **la méthode de diffusion sur disque ou l'aromatogramme** (technique de Vincent) qui permet la mise en évidence du pouvoir antibactérien des huiles essentielles vis-à-vis les souches bactérienne testées (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* et *E Coli* clinique), cette méthode a permis de déterminer les diamètres des zones d'inhibition, et **la méthode de microdilution en bouillon** qui a pour objectif la détermination de la concentration minimal inhibitrice (CMI) à partir d'une gamme de concentrations de produit dans le milieu de culture selon NCCLS ou plus récemment nommé CLSI

L'activité de l'huile essentielle de ***T. Fontanesii*** sur les souches bactériennes par les deux méthodes, montre que le pouvoir antimicrobien de cette huile est très important et se caractérise par une action bactéricide et bactériostatique contre les bactéries gram négatif et gram positif. Alors que

l'activité antibactérienne de l'huile d'***E. Globulus*** contre les souches testées est faible. L'évaluation antimicrobienne par l'aromatogramme a montré une bonne activité antibactérienne de ***T. Fontanesii*** contre toutes les souches testées, les zones d'inhibition des bactéries étaient comprises entre **23,33±1,527**et **37,5±3,535** mm, mais pour l'***E. Globulus*** on observe une zone d'inhibition qui varie entre **8 et 10 mm.** La recherche des concentrations minimales inhibitrices CMI et bactéricides CMB a permis d'évaluer quantitativement le pouvoir antimicrobien de l'huile essentielle de ***T. Fontanesii*** dont la CMI est de (**0,625 µl/ml)** pour toute les souches**,** et la plus faible CMB était celle de *Thymus fontanesii* contre *E-Coli* ATCC 25922 (**0.625 µl/ml),** concernant l'***E. Globulus*** la CMI obtenu dans notre étude est de (**10µl/ml**) pour toute les germes testés. Une forte activité antimicrobienne de l'huile de ***T.Fontanesii*** vis-à-vis *E Coli* et *staphylococcus aureus* (clinique et standard) a été détectée, cette activité est liée à la composition chimique de l'huile qui constitue principalement de carvacrol

L'examen pollinique, les caractéristiques organoleptiques et les paramètres physicochimiques de notre miel effectués par le laboratoire CARI révélé que le miel testé est de Type : toutes fleurs d'origine botanique : Euphorbe, jujubier, apiacées. L'échantillon analysé répond aux normes légales et aux critères de qualité conseillés et selon les critères de qualité du CARI, ce miel correspond à 2 étoiles. Pour l'effet antibactérien du miel testé par les deux méthodes qualitative et quantitative la CMB a montré que le miel utilisé dans notre étude, à des concentrations variantes entre **16** à **21** % et une zone d'inhibition comprise entre **13** et **25** mm **(**supérieure à 12 mm) est donc efficace contre les bactéries isolées des mammites bovines. Cette activité est due à la composition de ce miel

Le traitement alternatif par les huiles essentielles (*T. fontanesii* et *E. globulus)* et par le miel multifloral de diverses infections animales peut être raisonnable

Mots clés: huile essentielle, *Thymus Fontanesii*, *eucalyptus globulus* hydrodistillation, composition chimique, GC, activité antimicrobienne, mammite bovine, *E. Coli, S. Aureus,* ATCC 25922, ATCC 25923, miel multifloral.

The aim of the present study was to determine the chemical composition and to evaluate the antibacterial activity of the essential oil of *Thymus Fontanesii* and *eucalyptus globulus* grown in the west of Algeria (wilaya of Tiaret). As well as multifloral honey

The oils were obtained by hydrodistillation Clevenger type from the aerial parts of *T. fontanesii* and *eucalyptus globulus* with average yields obtained respectively of **2.256 ± 0.094%** and **0,823±0,27 %** are interesting and can be profitable on an industrial scale.

The chemical composition of the HEs was analyzed by GC chromatography which made it possible to characterize Ninety-one (91) compounds representing approximately 99.92% of the total of the components detected which is mainly represented by carvacrol (62.25%) for *T. Fontanesii,* and for the composition of *E. globulus* revealed the presence of one hundred thirty four (134) volatile compounds representing 99.84% of the total oil and the main component was 1, 8-cineole (55.26%),

Two different methods are used to assess in vitro the antibacterial effect of the essential oil of *T. Fontanesii* and *E. globulus* against standard and clinical bacterial strains responsible for bovine mastitis, the disk diffusion method or the aromatogram (Vincent's technique) which makes it possible to demonstrate the antibacterial activity of essential oils against the bacterial strains tested (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus aureus* and *E Coli* clinical), this method made it possible to determine the diameter of inhibition zone, and the broth microdilution method which was used to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) from a range of product concentrations in the culture medium according to NCCLS or more recently named CLSI

The action of the essential oil of *T. Fontanesii* against bacterial strains by the two methods shows that the antimicrobial activity of this oil is very important and is characterized by a bactericidal and bacteriostatic action against gram negative and gram positive bacteria. While the antibacterial activity of oilof E *globulus* against the strains tested is weak

The antimicrobial evaluation by the aromatogram showed a good antibacterial activity of *T. Fontanesii* against all the strains tested, the inhibition zones of the bacteria were between 23.33 ± 1.527 and 37.5 ± 3.535 mm, but for l *'E. globulus* we observe a zone of inhibition which varies between 8 and 10 mm

The search for minimum inhibitory concentrations CMI and bactericides CMB made it possible to assess quantitatively the antimicrobial power of the essential oil of *T. Fontanesii* whose MIC is (0.625 µl / ml) for all strains, and the lowest CMB was that of *Thymus fontanesii* against *E-Coli* ATCC 25922 (0.625 µl / ml). Concerning *E. globulus* the MIC obtained in our study for all strains tested is (10µl / ml).

High antimicrobial activity of *T. Fontanesii* oil against *E Coli* and *staphylococcus aureus* (clinical and standard) has been detected, this activity is linked to the chemical composition of the oil which mainly consists of carvacrol

The pollen examination, the organoleptic characteristics and the physicochemical parameters of our honey carried out by the CARI laboratory revealed that the honey tested is of Type: all flowers of botanical origin: Euphorbia, jujube, apiaceae. The analyzed sample meets legal standards and recommended quality criteria and according to CARI quality criteria, this honey corresponds to 2 stars. For the antibacterial effect of honey tested by both qualitative and quantitative methods, the CMB has shown that the honey used in our study, at concentrations varying between 16 to 21% and an inhibition zone of between 13 and 25 mm (greater 12 mm) is therefore effective against bacteria isolated from bovine mastitis. This activity is due to the composition of this honey

Alternative treatment with essential oils (*T. fontanesii and E. globulus*) and multifloral honey for various animal infections may be reasonable

Key words: essential oil, *Thymus Fontanesii, eucalyptus globulus* hydrodistillation, chemical composition, GC, antimicrobial activity, bovine mastitis, E. *Coli, S. Aureus*, ATCC 25922, ATCC 25923, multifloral honey.