

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université ibn khaldoun – tiaret
Faculté des Sciences vétérinaire
Département de santé animal



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du
diplôme de docteur vétérinaire

THEME

EFFET DES HUILES ESSENTIELLES SUR DES SOUCHES ETIOLOGIQUES
DES MAMMITES CHEZ LES BOVINS

Présenté par :

Si BOUAZZA Abdelileh

TICHOUDAD Rim

Encadré par :

Dr SELLES SIDI MOHAMMED

Ammar

Année Universitaire 2018/2019

Sommaires

Sommaire	
Remerciement	
Dédicace	
Listes Abréviations	
Listes des figures	
Listes des tableaux	
Introduction	1

Chapitre 1 Les souches épidémiologiques des mammites bovine

1.1 Définitions, mammites cliniques et subcliniques.....	5
1.1.2 Mammites cliniques	5
1.1.3 Mammites subcliniques	5
1.2 Importance des mammites	7
1.2.1 Importance médicale des mammites.....	7
1.2.2 Importance sanitaire des mammites	7
1.2.3 Importance économique des mammites	7
1.3 Epidémiologie.....	8
1.4. Evolution des mammites dans l'élevage.....	8
1.5. Sources d'infection et voies de transmission.....	9
1.5.1 ETIOLOGIE.....	10
1.5.1.1 Bactérienne.....	10
1.5.1.2 Nature bactériologique des germes responsables de mammites.....	11
1.6 Germes responsables de maladies contagieuses	12
brucellose.....	12
La tuberculose.....	12
leucose.....	12
fièvre aphteuse.....	12
charbon bactérien.....	13
1.7 Les germes impliqués lors de mammites.....	13
<i>Les streptocoques</i>	13
<i>Le Streptocoque agalactiae</i>	13
Le Streptocoque dysgalactiae.....	14
Le Streptococcus uberis.....	14
Les Staphylocoques.....	15
Staphylococcus aureus (Staphylocoque doré).....	15
Le Staphylocoque coagulase +.....	15
Staphylocoques coagulase négative (SCN).....	16
Le Corynebacterium bovis.....	17
Les entérobactériacées.....	17
Escherichia coli.....	19
Klebsiella pneumonia.....	20
Le Pseudomonas aeruginosa.....	20
Les champignons.....	20

Actinomyces (Corynebacterium) pyogenes (mammité d'été).....	21
Les Mycoplasmes.....	22
Les Leptospires.....	23
Le Bacillus cereus.....	24
Le Nocardia asteroides.....	24

Chapitre2. GENERALITE SUR LES HUILES

2.1.Définition	29
Huiles Essentielles -Chémotypées (H.E.C.T)	29
Répartition et localisation	29
2.4. Techniques d'extraction des huiles essentielles.....	30
1. Les techniques conventionnelles.....	30
2.4. 1.1.L'hydrodistillation	31
2.4. 1.2. L'entraînement par la vapeur d'eau	31
L'hydrodiffusion (percolation)	31
L'expression à froid	32
Extraction par solvant.....	32
Enflourage ou digestion.....	32
2.4.2. Les techniques nouvelles ou innovantes	32
2.4. 2.1.L'extraction assistée par microondes	32
L'extraction accélérée par solvants.....	33
Extraction par des solvants supercritiques	33
2.5. Le marché mondial des huiles essentielles	34
Propriétés physiques	34
Critères de qualité des huiles essentielles chémotypées	35
Facteurs de variabilité des huiles essentielles	36
Les utilisations des huiles essentielles	37
2.10. Composition chimique des huiles essentielles.....	37
Les monoterpènes	37
Les sesquiterpènes	38
Les composés aromatiques	38
Importance industrielle des terpénoïdes.....	39
2.15. Rôles des huiles essentielles dans la plante.....	39
Activités biologiques des huiles essentielles	40
Les propriétés antioxydantes	41
2.18. Action antibactérienne	41
Action antifongique	41
Facteurs déterminant le degré de l'activité antimicrobienne des HEs	42
Méthodes d'évaluation d'activité antimicrobienne.....	43
L'effet de la matrice biologique	43
2.20. 3. Le type et la structure moléculaire des terpénoïdes	43
2.20.4. Le type des microorganismes ciblés	43
Effet Bactéricide et bactériostatique des huiles essentielles	43
3.1 .Huiles essentielles utiles lors d'infection de la mamelle.....	44

Remerciements

*En premier lieu et avant tout je tiens à remercier **DIEU** le tout puissant qui m'a donné le courage, la patience et la force de terminer ce travail.*

*Je voudrais commencer par remercier très chaleureusement mon encadreur de thèse, **Mr SELLES SIDI MOHAMMED Ammar**. pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire , pour son aide, et sa disponibilité. Ses conseils avisés ont toujours été très constructifs et m'ont permis de toujours bien avancer dans la thèse, je tiens à le remercier pour la confiance qu'elle m'a accordée ce qui m'a permis de pleinement m'épanouir au sein de son laboratoire et de développer mes recherches sereinement de façon encadrée mais autonome.*

*Je remercie très sincèrement **Mr BELHAMITI Taher** ,*

En terminant, je souhaite démontrer ma plus sincère gratitude à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de ce projet.

Merci à tous !

Dédicaces

Je dédie ce projet :

A ma chère mère fatima

A mon chère père mohammed

Qui n'ont jamais cessé, de formuler des priers a mon égard, de me soutnir et de m'épauler

Pour que je puisse atteindre mes objectifs.

A mes frère elmoundir et abdelrahmane

A ma chère soeur adorable hafssa

Pour ses soutiens tout au long de mes etudes

A mon cher grand-père qui je souhaite une bonne santé

A ma binome Rim et tous sa famille pour sa entente et sa sympathie

Et leur patience infinies

A mes chères amis abderrahmane S.Mohamed et bilal

Pour leur aides et supports dans les moments difficiles

A toute ma famille et la famille de ma binome Rym

A toute les autres ami(e)s,

Abdelileh

Que Dieu vous garde pour moi !

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail, fruit de mes années d'étude et de patience.

A celui qui m'a offert la vie et à ce que je dois réussir, source de sagesse, et de tendresse qui m'a appris le respect et le sens du devoir et qui a sacrifié le tout pour me voir heureuse. A toi mon cher père : ramdhan

A la prunelle de mes yeux celle qui m'a poussé moralement, à la femme qui est toujours fière de moi.

A toi ma chère mère : djemaa

A mon adorable frère : abderaouf

A mes très chères sœurs ahlam et manal

A mon binôme qui a partagé avec moi ce travail : abdelilah

A mes collègues surtout amina et khoula

A tous ceux qui m'ont aidé, de près ou de loin, même si avec un mot d'encouragement et de gentillesse.

Rym.

Liste des abréviations

- ADN: Acide Désoxyribo Nucléique.
- BHA: Butyl Hydroxy Anisol.
- BHT: Butyl Hydroxy Toluène.
- CI₅₀: Concentration à 50 % -d'inhibition.
- CMB: Concentration Minimale Bactéricide.
- CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.
- DPPH: 2,2-DiPhényl-1-Picryl Hydrazyle.
- F D A : Food and Drug Administration.
- FL: feuilles.
- FT: Fruit.
- GRAS: Generally recognized as safe.
- HEs: Huile essentielle.
- PR: Pouvoir réducteur.
- UFC: Unité Formant Colonie.
- ZI: Zone 'Inhibition.

Listes des figures

- Figure 1 : Mammite clinique chez la vache laitière.....	6
- Figure2 : Origine et cycle de transfert des germes pathogène(Durel et al,2011.....	9
- Figure 3 : Etiologie des mammites bovines dans l'est d'Algérie (Heleili et al,2012).....	10
- Figure 4 : Photo microscopique de <i>Streptococcus agalactiae</i>	13
- Figure5 : morphologie cellulaire de <i>Staphylococcus aureus</i> observée en microscopie électronique à balayage (Grosjean et al., 2011)	15
- Figure 6 : Image en 3 dimensions d' <i>Escherichia coli</i>	19
- Figure 7 : Photographie des différents types de glandes sécrétrices des HEs. (Djarri, 2011).A) Canal sécréteur/ dans la graine de Carvi (x406); B) Glande sécrétrice sur la feuille de <i>Origanum heracleoticum</i> et C) Cavité sécrétrice de <i>Eucalyptus citriodora</i>	30
- Figure 8 : Schéma du dispositif d'hydrodistillation (Penchev, 2010).....	30
- Figure 9 : Schéma de l'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau (Bousbia, 2011).....	31
- Figure 10 : Schéma du procédé d'hydrodiffusion (Bousbia, 2011).....	31
- Figure 11 :Extraction des HEs par microondes.....	33
- Figure 12 : Répartition de la production mondiale des HEs durant l'année 2008 (Bousbia, 2011)...	34
- Figure 13 : Exemples de monoterpènes (El Haib, 2011).....	38
- Figure 14 : Exemples de sesquiterpènes (El Haib, 2011).....	38
- Figure 15 : Exemples de composés aromatiques (El Haib, 2011).....	39
- Figure 16 : Images au microscope électronique à balayage de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , avant (A) et après traitement (B) à HE d'origan à 0,2 % (100 x) (Djarri., 2010). (A) <i>saccharomyces cerevisiae</i> , (B) la surface cellulaire montre des craquelures qui la parcourent dans tous les sens.....	42
- Figure 17 : Aspect des cellules de <i>Costridium perfringens</i>) traitées (B ou non (A) par des HEs(Recoquillay, 2009).....	42

LISTES DES TABLEAUX

- Tableau 1 - Caractéristiques des différents types de mammites	6
- Tableau 2 : Classification des germes de mammité.	12
- Tableau 3 : principaux microorganismes impliqués dans les infections mammaires, leurs caractéristique et leur prévention.....	24
- Tableau 4 : Propriétés physiques de quelques HEs.....	26
- Tableau 5 : Propriétés thérapeutiques des HEs	35
- Tableau 6 : Propriétés thérapeutiques des HEs (Mayer, 2012).....	40
- Tableau 7 : huiles essentielles utilisées précédemment dans le traitement des mammites.....	45

INTRODUCTION

Les propriétés médicinales des plantes ont été recherchées par de nombreuses études à Travers le monde, grâce à leur faible toxicité et leur caractère économique (**Auddy et al., 2003**). Ces études sont concentrées sur les bienfaits des composés phytochimiques des fruits, des légumes, et des plantes en général et sur leur impact sur la santé humaine. Les substances végétales sont riches en antioxydants qui sont utilisés pour lutter contre les radicaux libres responsables de plusieurs pathologies, telles que le cancer et les maladies neurodégénératives. Ces derniers sont aussi impliqués dans la détérioration de la qualité organoleptique et hygiénique des aliments (**Hale et al., 2008**). Quelque soit le cas, le risque est aggravé avec l'accumulation de ces radicaux libres dans l'organisme en aboutissant à une chaîne réactionnelle radicalaire qui dégrade les molécules biologiques (ADN, protéines, lipides, et glucides...).

Un autre problème qui touche la santé publique est l'émergence de la résistance aux antibiotiques, suite à l'utilisation massive et parfois abusive de ces derniers (**De Billerbeck, 2007**). Ceci a conduit à une forte demande du consommateur pour de nouveaux antibiotiques contre les germes pathogènes (**Fisher, 2008**), et a incité les scientifiques à recourir à la phytothérapie, dans le but d'avoir des molécules aux propriétés antioxydantes et antimicrobiennes.

En effet, il est bien connu que les huiles essentielles présentent une activité antiseptique non négligeable (**Kaloustian, 2008**). Elles exhibent une activité antibactérienne (**Bendjilali et al., 1986**), antivirale, antimycotique, antioxydante, antiparasitaire, et aussi un effet insecticide (**Burt, 2004**). Par conséquent, elles peuvent constituer un puissant outil de réduction de développement et de dissémination de la résistance bactérienne (**Stefanakis et al., 2013**). Actuellement, les huiles essentielles sont reconnues comme des substances GRAS par la FDA (**Food and Drug Administration 2005; Stefanakis et al., 2013**). Beaucoup d'études ont rapporté leur efficacité contre les germes pathogènes et les contaminants dans les aliments (**Gutierrez et al., 2008; Djenane et al., 2012**), ce qui laisse entrevoir des perspectives d'application dans le domaine alimentaire (**Benjilali et al., 1986**), et réduire ainsi le problème des intoxications alimentaires en hausse depuis quelques années; et ceci malgré l'amélioration des conditions d'hygiène et le développement des techniques de production (**Burt et al., 2004**).

Néanmoins, l'utilisation des huiles essentielles comme additif alimentaire demeure souvent limitée pour des considérations organoleptiques (**Delaquis et al., 2001; Lambert et al., 2001; Gutierrez et al., 2008**). Parmi les huiles essentielles utilisées en médecine, en parfumerie et aussi en industrie alimentaire, on retrouve celle des feuilles

de *E. globulus* (Tyagi et al., 2011). Elles ont des propriétés antiseptique, anti-inflammatoire (Hasegawa et al., 2008), antipyrétique, antalgique, antispasmodique et béchique (Tyagi et al., 2011).

Chapitre 1

Les souches étiologiques des mammites Bovines

1.1 /Définitions, mammites cliniques et subcliniques:

1.1.1 /Définition d'une mammite:

La mammite signifie l'inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la glande mammaire. Cette inflammation résulte le plus souvent d'une infection provoquée par des microorganismes qui pénètrent dans le quartier en franchissant le canal du trayon, se multiplient dans le lait qui sera caractériser par la présence de cellules, dites somatiques, en nombre anormalement élevé, et de modification chimiques et biochimiques du lait. Ces microorganismes colonisent la glande mammaire et produisent des toxines qui l'irritent.(**Mansour. 2011**).

1.1.2/ Mammites cliniques :

Les mammites cliniques sont caractérisées par la présence de symptômes fonctionnels (modifications macroscopiquement visibles de la quantité et de la qualité de l'aspect du lait), de symptômes locaux inflammatoires observés au niveau de la mamelle (douleur, chaleur, tuméfaction, etc.) et de symptômes généraux (hyperthermie, anorexie, arumination, etc.). En pratique, on considère qu'il y a mammite clinique dès qu'il y a une modification de l'aspect du lait ou de la sécrétion de la mamelle (critère le plus précoce et le plus constant). Enfin, selon la gravité et la simultanéité des symptômes, on distingue, par ordre décroissant de gravité, les mammites cliniques suraiguës, aiguës et subaiguës.(**Kadi .2017**)

1.1.3 /Mammites subcliniques:

Contrairement aux mammites cliniques, les mammites subcliniques ne s'accompagnent d'aucun symptôme, ni général, ni local, ni fonctionnel. Elles ne sont diagnostiquées qu'à l'aide d'examens complémentaires qui mettent en évidence une augmentation du taux cellulaire du lait ou de la conductivité du lait (numération cellulaire du lait individuel, Californian Mastitis Test, mesure de la conductivité du lait, etc.) (**Kadi .2017**)

Figure 1 : Mammite clinique chez la vache



laitière. [<http://atlas.bovinblagspot.com/p/maladie.html>]

Tableau 1 - Caractéristiques des différents types de mammites (Benhamed.2014)

Types de mammite	Symptômes caractéristiques
Clinique aiguë	Inflammation de la mamelle, Fièvre de plus de 39°C, Faiblesse et dépression, Manque d'appétit. Baisse rendement laitier..
Clinique suraiguë	Quartier enflé, chaud, rouge, douloureux. Fièvre de plus de 41°C. Absence d'appétit, Frissonne. Perd du poids rapidement. Interromption de la lactation.
Clinique subaiguë	Aucun changement apparent du pis, Présence de caillots dans le lait.
Infraclinique	Le lait est d'apparence normale. Surtout causée par <i>Staphylococcus aureus</i> .
Chronique	Mammite à répétition. Lait grumeleux. Quartiers enflés parfois indurés.
Gangréneuse	Le quartier affecté est bleu et froid au toucher. La décoloration progresse du bas vers le haut. Les parties nécrotiques tombent du corps. Mort de la vache.

Contagieuse	Mammite provoquée par des bactéries comme <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Streptococcus agalactie</i> .
Environnementale	Mammite provoquée par des bactéries comme les coliformes (<i>E. coli</i> , etc.), dont la source principale est un environnement contaminé le plus souvent par du fumier.

1.2/ Importance des mammites :

1.2.1/Importance médicale des mammites :

Toute mammite porte préjudice au bien-être de l'animal. De plus, certaines mammites sont mortelles, c'est le cas des mammites gangréneuses, ou les mammites colibacillaires (**Poutrel B, 1985**). Aussi Certains troubles de santé sont particulièrement associés à une élévation de la fréquence des cas cliniques : vêlage difficile, non délivrance, oedème mammaire, métrite, cétose, boiterie, lésions et affections du trayon (**Grôhn et al, 1990 ; Peeler et al, 1994 ; Oltenacu et al, 1994**). Des travaux expérimentaux ont quelquefois confirmé la relation. [**kadi .2017**)]

1.2.2/ Importance sanitaire des mammites :

Les mammites portent atteinte à l'hygiène animale et potentiellement à la santé publique. Le risque zoonotique lié à la contamination du lait par certains germes fait l'objet de préoccupations de santé publique (**Bradley Aj, 2002 ; Seegers H, Menard JI, Fourichon C.1997**). En effet, le lait « mammitieux » peut être vecteur d'agents responsables de toxi-infections alimentaires (*salmonellose, listériose, etc.*) (**Poutrel B,1985**). De fait, en l'absence de pasteurisation, des germes pathogènes pour l'Homme provenant de quartiers infectés peuvent contaminer les produits laitiers (**Bradley Aj, 2002 ; Seegers H, Menard JI, Fourichon C.1997**). Certains sont très étudiés : *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, ou *Salmonella*. D'autres le sont moins comme *Escherichia coli* (**Seegers H, Menard JI, Fourichon C.1997**). (**Kadi .2017**)

1.2.3 / Importance économique des mammites :

Les mammites constituent le trouble sanitaire le plus fréquent et aux plus fortes répercussions économiques au sein de l'élevage de bovins laitiers (**Coulon Jb, Lescourret F.1997 ; Guerin-Fauble V, Carret G, Houffschmitt P.2003 ; Poutrel B, 1985 ; Seegers H, Menard JI, Fourichon C.1997**). Ceci tient principalement du fait de leur fréquence, des frais vétérinaires qu'elles entraînent (honoraires, coût des traitements) et de leurs répercussions

néfastes tant qualitatives que quantitatives sur la production laitière. En effet, celle-ci s'en trouve réduite tandis que l'altération de la composition du lait qui en résulte (baisse du lactose, des caséines, de certains minéraux tels que le calcium et le phosphore, augmentation des protéines solubles inutilisables pour la fabrication de fromages) se répercute sur les aptitudes technologiques du lait (baisse des rendements fromagers, etc.). Ceci entraîne donc des pénalités de paiement du lait et une moindre rémunération de l'éleveur (**Poutrel B.1985**). L'impact économique est ainsi formé par la somme des coûts des actions de maîtrise (traitements et préventions) et des pertes (réductions de production, lait non commercialisé, pénalités sur le prix de vente mortalités et réformes anticipées) (Coulon **Jb, Lescourret .1997** **Seegers .1997 ; Ziv , 1994**). Les coûts de maîtrise représentaient 36% de l'impact économique (24% pour les traitements et préventions médicales et 12% pour les produits d'hygiène de traite et de lavettes) tandis que les pertes représentaient 64% (**Kadi .2017**)

1.3/ Epidémiologie :

Jusqu'à les années 90, les connaissances sur l'épidémiologie des infections mammaires reposaient essentiellement sur le diagnostic bactériologique avec l'identification d'espèces. Ces dernières années, le développement de nouvelles méthodes d'investigation, notamment l'identification précise des souches bactériennes par empreinte génétique et les épreuves d'adhérence et d'invasion de cellules épithéliales mammaires en culture, a constitué un saut technologique décisif à l'origine d'un rapide progrès des connaissances sur l'épidémiologie et la pathogénie des infections mammaires (**Seegers H, Serieys F. 2002; kadi .2017**)

1.4./ Evolution des mammites dans l'élevage :

L'évolution des mammites est variable en fonction des germes en cause. Certaines espèces bactériennes telles *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, sont le plus souvent responsables d'infections chroniques de type subclinique. Par contre, les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes...*), *Str. Uberis* et les streptocoques du groupe D (*Str. Faecalis*, *faecium*) sont fréquemment impliqués dans les mammites cliniques, notamment au vêlage. Néanmoins, une faible proportion des infections dues à des entérobactéries peut persister sous une forme subclinique.

La contagiosité est également variable. Les formes les plus sévères qui entraînent presque à tout coup la réforme des animaux sont les mammites à *Nocardia* et à *Corynebacterium pyogenes* pour lesquelles il y a une perte fonctionnelle de la glande mammaire.

Ces mammites sont rebelles aux traitements en lactation par les antibiotiques (**Poutrel, 1985**).[emile ségbégon houssa .2006.)

1.5. / Sources d'infection et voies de transmission :

Les espèces bactériennes impliquées dans les infections mammaires de la vache sont présentes sur l'animal lui-même ou dans son environnement (**Lerondelle, Poutrel. 1985**). Dans le premier cas, les micro-organismes sont transmis de quartiers à quartiers essentiellement pendant la traite par les mains du trayeur, les gobelets trayeurs, les lavettes. Quant aux bactéries d'environnement, la plupart survivent et se multiplient dans la litière et les animaux s'infectent entre les traites. Cependant lorsque le niveau d'infection par ces espèces bactériennes est élevé dans un troupeau, leur transmission peut également s'effectuer pendant la traite (**Poutrel, 1985**).

Notons aussi que des bactéries, et plus spécialement les Pseudomonas, peuvent persister dans les machines à traire nettoyées dans des conditions non satisfaisantes en concentration de produits et en durée de nettoyage (**Poutrel 1985 ; houssa .2006**)

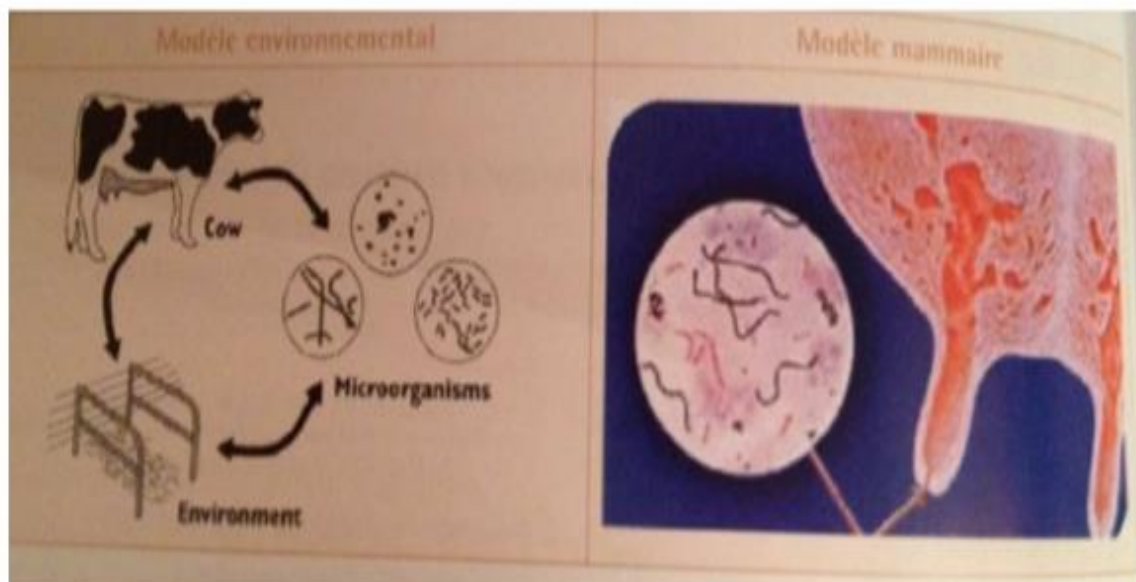


Figure2 :Origine et cycle de transfert des germes pathogène(**Durel et al,2011**)

(**Benhamed.2014.**)

1.5.1 ETIOLOGIE :

➤ Trois facteurs essentiels ont été impliqués dans les infections mammaires chez la vache. Le germe est considéré comme l'agent déterminant tandis que l'animal et son environnement sont jugés comme des facteurs favorisants. (Henzen .2010.)

❖ Les mammites sont dans la majorité des cas d'origine bactérienne. Cependant quelques cas d'origine virale et mycosique ont été décrits. (Benhamed.2014)

❖ 1.5.1.1 Bactérienne :

La classification des germes responsable de mammité est souvent répartie en deux groupes : les germes majeurs et les germes mineurs. Cette dichotomie repose sur la fréquence d'isolement et l'impact économique de ces germes lors des mammites clinique impliqué dans l'infections des mammites (Durel et al, 2011, Benhamed.2014.)

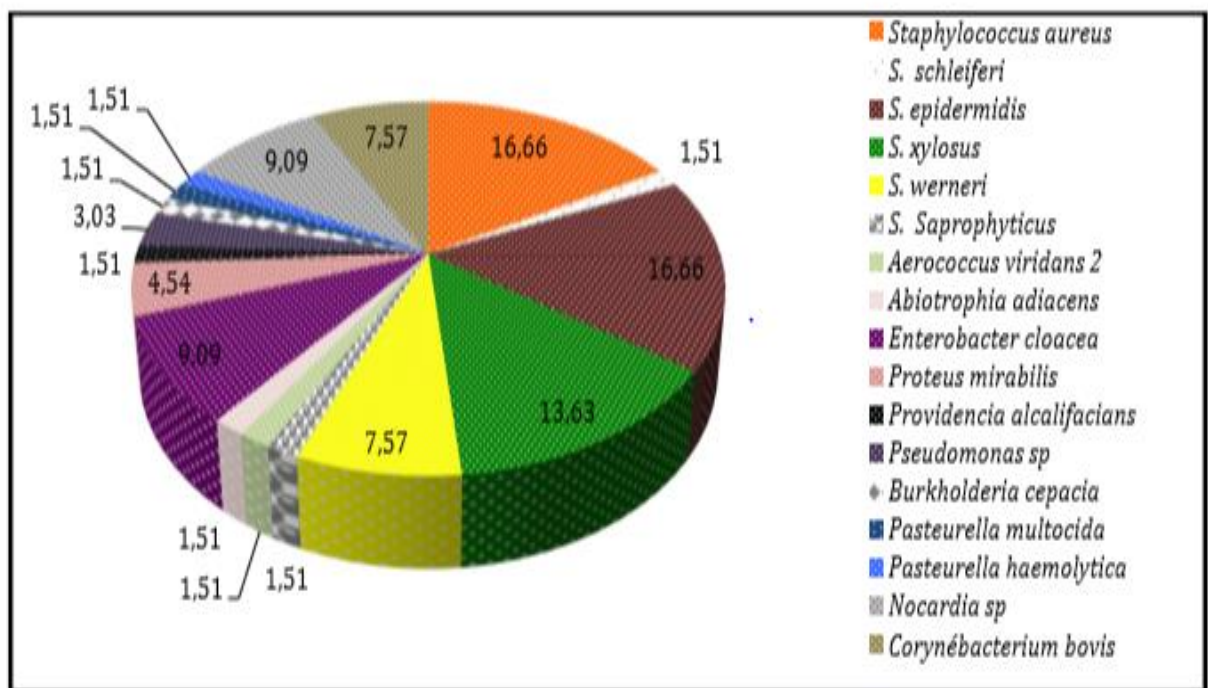


Figure 3 : Etiologie des mammites bovines dans l'est d'Algérie (Heleili et al,2012)
(Benhamed.2014)

1.5.1.2 Nature bactériologique des germes responsables de mammites

De nombreux germes ont été isolés et rendus responsables de mammites. Ils se distinguent en germes contagieux et en germes d'environnement, groupes au sein desquels on distingue des pathogènes majeurs et mineurs.

Les germes pathogènes majeurs contagieux comprennent le *Streptococcus agalactiae* et le *Staphylococcus aureus coagulase +* et les germes pathogènes majeurs d'environnement *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella sp.*

Les germes pathogènes mineurs contagieux comprennent le *Staphylocoque coagulase -* et le *Corynebacterium bovis* tandis que les germes pathogènes mineurs d'environnement regroupent les champignons et les levures.

D'autres germes responsables de maladies infectieuses contagieuses induisent également de temps à autre des troubles mammaires : *brucella*, *mycobactérium tuberculosis*, *bacillus anthracis*, *virus de la leucose et de la fièvre aphteuse*.

D'une manière générale, on peut estimer que 1% des quartiers de la population des vaches laitières sont infectées par des germes Gram - tandis que 35 à 50 % le sont par des germes Gram +. D'autres auteurs ont estimé qu'une infection par un germe Gram - était observée au bout de 2000 à 4000 traites. Cette fréquence est de l'ordre de 1 à 600 en ce qui concerne les germes Gram +. La fréquence relative des germes responsables de mammites souffre de variations géographiques. Ainsi, une étude française récente confirme la prédominance des infections à *E. coli*.

Il n'est pas inutile de mentionner la multiplicité des divers sérotypes des germes responsables de mammites. Leur comportement dépend donc des gènes qu'ils possèdent et donc des protéines qu'ils produisent. Ceci peut expliquer pourquoi, par exemple, certains staphylococcus aureus sont peu résistants et que d'autres le sont plus (**Dingwell RT et al. Can J Vet Res. 2006; Zecconi A. et al., Microb Pathog. 2006; Rabello RF et al. J Dairy Sci. 2005**).

Types de germes	Germes contagieux	Germes d'environnement
Germes pathogènes majeurs	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Staphylococcus aureus</i> (coagulase positive)	<i>E. coli</i> <i>Streptococcus uberis</i> <i>Streptococcus dysgalactiae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Klebsiella</i>
Germes pathogènes mineurs	<i>Staphylocoque coagulase négative (SCN)</i> <i>Corynebacterium bovis</i>	Champignons Levures

Tableau 2 : Classification des germes de mammites. (Houssa .2006)

1.6 / Germes responsables de maladies contagieuses :

- **brucellose:** la contamination peut se faire par la peau lésée du trayon ou par voie galactophore. Par ailleurs, l'élimination de *brucella* dans le lait provenant d'une mamelle saine est fréquente. Ce germe peut également être responsable de mammites subcliniques.
- **tuberculose :** la mamelle peut jouer le rôle d'émonctoire pour le bacille de la tuberculose provenant d'autres endroits de l'organisme. Habituellement la voie Lymphohématogène est la voie d'infection habituelle.

Cliniquement, la tuberculose mammaire existe sous trois formes : tuberculose miliaire aiguë, tuberculose lobulaire infiltrante et mammites caséuse.

- **leucose :** il n'existe à priori pas de mammites directement imputable au virus de la leucose bovine. Cependant l'élimination du virus par le lait est possible.
- **fièvre aphteuse :** cliniquement, on observe l'apparition de taches rouges au niveau desquelles des aphtes apparaissent. Ils se rompent au bout d'une semaine et laissent des érosions plates se réparant après formation de croûtes. La mulsion devient difficile.

- **charbon bactérien** : dans la forme septicémique, la lactation se tarit rapidement, le lait devient jaunâtre ou sanguinolent et visqueux. (Khiter.2015.2016)

1.7 / Les germes impliqués lors de mammites :

Les streptocoques :

Leurs caractéristiques sont d'être des coques à Gram + en chaînette (sur bouillon), anaérobies facultatifs, catalase -. Ils poussent préférentiellement sur gélose au sang où ils donnent en 24 h des petites colonies translucides en goutte de rosée. 3 streptocoques sont majoritairement responsables de mammites bovines : *Streptococcus agalactiae*, *dysgalactiae* et *uberis*. S'y ajoutent les entérocoques (*faecalis* et *faecium*) présents normalement dans le tube digestif de l'homme et des animaux. Ils ne sont pas le plus souvent pathogènes.

Le Streptocoque agalactiae :

Ce germe vit uniquement dans le pis de la mamelle et ne survit que quelques minutes à l'air libre. C'est une bactérie Gram positif, oxydase -, catalase -, immobile se regroupant par deux ou en chaînette plus ou moins longue., comme sur la photo de la Figure 4. (Houssa .2006.)



Figure 4 : Photo microscopique de *Streptococcus agalactiae*
pgotos.<http://www.bacterianiphotos.com>]

C'est un parasite obligé de la glande mammaire. Il est surtout présent dans le lait et les quartiers atteints mais également au niveau des plaies du trayon, des mamelles impubères et dans le milieu extérieur où il peut persister durant 3 semaines. La contamination se fait essentiellement pendant la traite. Les génisses impubères peuvent constituer une source de contamination. Elles peuvent en effet contracter la maladie par dépôt de lait infecté sur les ébauches mammaires, le *streptocoque* se maintenant dans la mamelle jusqu'au premier vêlage. Avec le *Staphylocoque*, il constitue la principale cause de mammite subclinique.

A l'inverse de celle provoquée par le *Staphylococcus aureus*, la durée de l'infection est plus courte. C'est le seul germe qui fait augmenter de manière significative le comptage bactérien du lait.

Le *Streptococcus agalactiae* est sensible à la pénicilline et à la plupart des antibiotiques. Cependant, le traitement est souvent décevant car la réinfection est fréquente. Aussi, l'éradication est essentiellement obtenue par la mise en place de mesures hygiéniques telles l'usage de serviettes individuelles, le lavage des mains et de la salle de traite, le traitement des lésions des trayons, le trempage et le traitement systématique au tarissement. Un traitement systématique de tous les quartiers bactériologiquement identifiés a également été recommandé par les auteurs anglo-saxons (**Blitz therapy**).

- Le streptocoque *agalactiae* est également responsable de mammites dans les espèces ovine, caprine et porcine. (**Henzen .2009**)

Le Streptocoque dysgalactiae :

C'est un Cocci Gram-positif. Cette espèce bactérienne prend l'aspect de coques d'environ 1µm de diamètre qui forment des chaînettes. (**Ratter .2017.**)

Il est présent dans le pis, sur la peau et les lésions des trayons ou les poils de la glande mammaire. Sa présence chez certains insectes piqueurs a été démontrée. Il constitue un facteur prédisposant aux infections par le *Clostridium pyogènes* (mammites d'été). Son éradication est difficile mais elle peut être contrôlée efficacement par le trempage après la traite. Ce germe est sensible à la pénicilline et à la plupart des antibiotiques. Son infection est souvent associée à celle du Staphylocoque. (**Henzen .2009.**)

Le Streptococcus uberis :

C'est un Cocci Gram-positif. Cette espèce bactérienne prend l'aspect de coques d'environ 1µm de diamètre qui forment des chaînettes. C'est un Streptocoque non groupable qui se fixe à l'épithélium des canaux lactifères. (**Ratter .2017**) L'identification exacte de ce germe en routine est difficile ce qui en sous-estime l'importance épidémiologique exacte. Il est présent dans la glande mammaire et sur la peau du trayon ainsi qu'au niveau des poils et dans les matières fécales. C'est un germe saprophyte du milieu extérieur. Il est responsable de mammites cliniques et subcliniques se déclenchant surtout pendant la période de tarissement et au cours des premières semaines de lactation. Il est résistant au froid. Il est souvent associé aux infections par *Escherichia coli*. Son infection est mal contrôlée par le trempage. Ce germe est sensible à la pénicilline. Sur le plan prophylactique, il est conseillé de traiter les

animaux au tarissement et de répéter ce traitement 3 semaines avant le vêlage. Par ailleurs, on portera une attention particulière aux conditions de logement des génisses et des vaches tarées. L'importance épidémiologique de ce germe semble être en extension. Il a été impliqué également dans les infections du tractus génital. Il est également responsable de mammites dans les espèces ovine, caprine et porcine.(**Henzen .2009**)

Les Staphylocoques :

Deux catégories de staphylocoques sont impliquées : *Staphylococcus aureus* et des staphylocoques coagulase négative (SCN).

Staphylococcus aureus (Staphylocoque doré) :

C'est un Cocci Grampositif. Cette espèce bactérienne prend l'aspect de coques d'environ 1µm de diamètre souvent regroupé en amas irréguliers et immobile, non sporulée et dépourvue de capsule. Elle est présente presque partout à la surface de la peau, et en particulier jusqu'au bout du trayon.(**Houssa .2006.**)



Figure5: morphologie cellulaire de *Staphylococcus aureus* observée en microscopie électronique à balayage (**Grosjean et al., 2011;Houssa .2006.**)

Le Staphylocoque coagulase + :

Le Staphylocoque coagulase + est un des principaux germes responsables de mammites dans l'espèce bovine. Son danger vient de ce que dans 80 % des cas il se manifeste par des mammites subcliniques. Sa présence est souvent associée à celle de lésions cutanées au niveau des mains du trayeur. Son action pathogène suppose sa pénétration par le canal du trayon. La contamination des vaches se fait surtout par la traite. Il entraîne la présence d'un taux d'infection subclinique très élevé accompagné d'un taux d'infections cliniques faible. La dissémination du germe est bien contrôlée par le trempage ainsi que par le traitement au tarissement. Il est responsable de mammites subcliniques et cliniques (mammites gangréneuse). C'est un germe résistant à de nombreux antibiotiques. Les rechutes sont donc

fréquentes surtout si les mesures d'hygiène ne sont pas appliquées. La sensibilité d'un examen bactériologique n'est que de 75 % en ce qui concerne ce germe ce qui revient à dire que 25 % des animaux infectés ont sur base d'une seule analyse un résultat négatif. On comprend dans ce contexte l'intérêt de multiplier le nombre de prélèvements.

La sensibilité du Staphylocoque aux antibiotiques peut varier d'une région à l'autre. Il semblerait que 90 % des souches de Staphylocoque soient sensibles aux céphalosporines, érythromycine, cl oxacilline, gentamycine, kanamycine, méticilline. 70 à 90 % d'entre elles sont sensibles à la tétracycline, streptomycine et novobiocine. 25 à 60 % d'entre elles sont sensibles à l'ampicilline et la pénicilline G.

La réussite d'un traitement d'une mammité à Staphylocoques dépend de plusieurs facteurs : la durée du traitement (6 injections à 12 heures d'intervalle semblent indispensables), son association avec un traitement par voie générale (l'injection journalière intramusculaire d'un antibiotique pendant 3 jours augmente les chances de guérison), l'âge de l'animal (diminution avec l'âge), des mesures hygiéniques prises pour réaliser le traitement local (désinfection...) et du moment du traitement (en lactation ou au tarissement). L'efficacité d'un traitement en lactation est faible. Une auto-guérison peut-être observée dans 25 % des cas. En lactation, le traitement sera donc surtout préventif et axer sur l'hygiène de la salle de traite, le trempage des trayons après la traite et le traitement au tarissement. La réforme de l'animal s'avérera souvent la meilleure solution en cas d'infection du troupeau.

L'efficacité d'un traitement au tarissement est comprise entre 50 et 70 %. Elle dépend du taux cellulaire observé avant le tarissement. Des valeurs supérieures à 1 million de cellules sont rarement associées à une guérison de la glande. Des traitements répétés pendant le tarissement n'augmentent pas les chances de guérison. L'injection de tétracycline (20 mg/kg) au moment du tarissement n'augmente pas davantage la guérison (25 %) que l'absence de traitement (33 %). **(HW *Staphylococcus aureus mastitis*. Part 1)**

Staphylocoques coagulase négative (SCN)

La mise en place de mesures de lutte contre les mammites contagieuses et d'environnement n'est sans doute pas étrangère à l'émergence de mammites imputables à des germes contagieux dits mineurs tels que les *Staphylococcus coagulase* - hyicus, chromogènes, warneri, epidermidis, simulans, xylosus et sciuri (CNS : Coagulase Négatives *Staphylococcus*). Ces germes sont des hôtes normaux des animaux. Ils sont fréquemment isolés sur la peau, les poils, le canal du trayon ou dans le lait prélevé aseptiquement. Ils sont responsables de taux cellulaire

Compris entre 200 et 400.000, voire 500.000 dans 10 % des cas. La prévalence de leurs infections semble être plus élevée chez les primipares. Et/ou dans les jours qui suivent le vêlage. La durée des infections dépasse fréquemment 200 jours. Elles sont très souvent éliminées spontanément au cours des premières semaines de la lactation. Leur manifestation est rarement clinique. Elle est plus élevée dans les troupeaux qui n'ont pas recours au trempage. Certains auteurs ont avancé l'hypothèse qu'une réduction de ces infections pouvait contribuer à augmenter la fréquence de celles imputables aux germes contagieux et d'environnement. (Henzen .2009)

Le Corynebacterium bovis :

Ce germe est rarement responsable de mammites. Son intérêt réside dans le fait que sa présence au niveau du pis pourrait augmenter la résistance à l'infection par des pathogènes majeurs tels les staphylocoques, les coliformes et le streptocoque uberis. Ce germe est présent sur la peau du trayon et dans le canal et la citerne ainsi que dans le lait. L'infection ne s'installe habituellement qu'en l'absence de germes majeurs. La contamination se fait essentiellement pendant la traite. Elle peut résulter de mesures préventives (trempage du trayon, traitement au tarissement) inadéquates. (Henzen .2009)

Les entérobactériacées :

Ce groupe rassemble les bactéries gram - du tube digestif. Les plus importantes en pathologie mammaire sont les germes lactose + plus spécifiquement encore appelées coliformes c'est-à-dire *Escherichia coli* (pathogène majeur), *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* et *aerogenes*, *Hafnia sp.* Et *Citrobacter Freund* (pathogènes mineurs).

Pseudomonas aeruginosa et *Serratia sp.* Sont lactose -. Les coliformes sont saprophytes du milieu extérieur ou ils se développent de manière optimale entre 30 et 44°C. Plus spécifiquement, les problèmes à *Klebsiella pneumoniae* ont été associés aux litières à base de sciure ou de copeaux, ceux d'*Enterobacter sp.* À la boue et enfin *Serratia sp.* A été retrouvé dans des pots de trempages contaminés. Ces germes ne colonisent habituellement pas le canal du trayon.

La mammite colibacillaire peut être précédée d'une phase diarrhéique résultant d'une dysbactériose intestinale entraînant une élimination massive de germes dans le milieu extérieur et constituant de ce fait un risque supplémentaire de son apparition. Les coliformes en général mais *Escherichia coli* en particulier sont essentiellement responsables de mammites cliniques au début et en fin de tarissement (risque 3 à 4 fois plus élevé en période

de tarissement qu'en période de lactation) mais surtout au moment du vêlage. L'infection Pathologie. (Concentration maximale des germes 5 à 16 heures après l'infection) se traduit par un afflux important de neutrophiles dans la glande mammaire contribuant à réduire le nombre de germes dans la glande mais pouvant entraîner une neutropénie. L'auto-guérison n'est pas rare lors de mammite subclinique ou subaiguë. Comme d'autres mammites d'environnement, la mammite à *E. coli* est habituellement de courte durée (moins de 10 jours dans 57 % des cas et plus de 100 jours dans 13 % des cas). Ce fait explique dans 20 % des cas les examens bactériologiques puissent être négatifs. Les mammites à *Klebsiella spp* sont davantage persistantes.

La thérapeutique visera davantage à traiter l'inflammation que l'infection. Le choix d'un antibiotique approprié supposera bien souvent la réalisation d'un antibiogramme. *Escherichia coli* est en effet résistant à la pénicilline et à la cloxacilline mais sensible à la gentamycine et à la polymyxine B, aux céphalosporines (ceftiofur : céphalosporine de 3ème génération : 2 mg/kg /jour) et aux aminoglycosides. En cas d'atteinte suraiguë, les traitements suivants ont été recommandés : l'oxytétracycline (10 mg /kg en IV toutes les 12 heures), la gentamycine (2 à 5 mg /kg en IV toutes les 12 heures). Divers traitements complémentaires ont été recommandés: l'ocytocine (30 UI), un massage régulier (toutes les heures) de la glande mammaire administration de sérum glucosé à 5% (40 ml / kg durant la première heure puis 10 à 20 ml/ kg au cours des heures suivantes pour un apport total de 20 à 60 litres selon l'animal, l'état d'hydratation et l'importance des pertes liquidiennes), solution de borogluconate de calcium (10 g de calcium en solution dans 500 ml mélangés à 10 à 20 litres d'une solution d'électrolytes dépourvue de bicarbonates pour éviter la formation de précipités avec le Ca). L'injection de corticoïdes doit être très précoce. Les corticoïdes injectés entraînent la libération de lipocortine connue pour inhiber le cycle de synthèse des prostaglandines. Ce fait explique la réduction très nette de l'efficacité des corticoïdes une fois les signes cliniques apparus. Les AINS inhibent le cycle de la cyclooxygénase. Bien que classiquement utilisés, leur efficacité réelle n'a pas été démontrée.

En matière de prévention, le trempage du trayon a été conseillé. On utilisera préférentiellement le dodecylsulfonate benzène acide plutôt que la chlorhexidine ou les iodophores. Un double traitement pendant le tarissement a également été proposé. Il conviendra aussi de maintenir l'environnement dans des conditions aussi hygiéniques que possible. (**Henzen .2010**)

Escherichia coli :

Escherichia coli est un membre de la famille des Enterobacteriaceae. Le genre Escherichia rassemble des bacilles droits, à Gram négatif, non sporulés, immobiles ou mobiles, aéro-anaérobies, à métabolisme respiratoire et fermentaire, oxydase négative, Catalase positive et nitrate réductase positive (**Euzéby.2004**).



Figure 6 : Image en 3 dimensions d'*Escherichia coli*. <http://microbiologie-médical.blogspot.fr>

E. coli est souvent impliqué lors de mammite clinique. *E. coli* est une cause fréquente d'infection intra mammaire. Chez les bovins laitières l'infection se manifeste généralement par des signes cliniques. Fondée sur des données épidémiologiques par des premières études de typage des souches, qui ont montré une grande hétérogénéité parmi les isolats associés à des cas de mammite dans des fermes (**Lam et al.1994**).

Escherichia coli est classé comme un pathogène opportuniste de l'environnement. Il n'y a pas de facteurs comme virulence spécifiques qui différencient les souches ayant la capacité de piquer une mammite à partir d'autres souches de *E. Coli* (**Suojala et al, 2006 et Bean et al ,2011, wenz et al,2004;Benhamed.2014**)

***Klebsiella pneumoniae* :**

Cet organisme colonise normalement les matières fécales et la litière. Son épidémiologie est comparable à celle d'E.Coli. L'infection provoquée a été associée à l'utilisation d'une sciure mal conservée. (Henzen .2010).

***Le Pseudomonas aeruginosa* :**

L'identification aisée en routine, le bacille pyocyanique existe surtout au niveau des lésions de la peau du trayon. c'est aussi un saprophyte du milieu extérieur, retrouvé par exemple dans les boues de sédimentation des abreuvoirs, de l'eau de lavage des pis, dans les tuyaux en caoutchouc, les lactoducs. Les mammites dont il est responsable sont sporadiques rarement enzootiques et ont été associées à un lavage des pis inadéquat. Une forme suraiguë séro-hémorragique a été décrite. L'antibiorésistance de ce germe est à souligner (Henzen .2009)

***Les champignons* :**

Les mammites à champignons sont imputables à 3 genres : *Candida* (*krusei*, *albicans*, *rugosa*, *tropicalis*, *pseudotropicalis*, *kefir*), *Trichosporon spp.* Et *Cryptococcus* (*neoformans*, *lactativirus*). Les champignons sont ubiquistes dans l'environnement. Certains aliments de la ration tels les pulpes fraîches de sucreries (*candida krusei*) peuvent en renfermer de grandes quantités. L'apparition de mammites à champignons présuppose une infection bactérienne préexistante, un traitement antibiotique préalable et un nombre important de germes.

L'infection est aisée et apparaît en moyenne 4 à 10 jours après la contamination. Les infections à champignons sont à suspecter lorsque les traitements intra-mammaires apparaissent inopérants ou ont été effectués sans avoir respecté les mesures d'hygiène habituelles. Les infections par *Candida* sont les plus fréquentes. Ce champignon utilise les pénicillines et oxytétracyclines injectées comme source d'azote. Les lésions sont habituellement limitées à la citerne et les signes locaux peu marqués. L'affection est généralement bénigne et régresse en l'espace d'une semaine. L'infection par un *Aspergillus* se traduit par l'apparition de multiples abcès dans le tissu mammaire. Ceux-ci s'entourent de tissu de granulation.

L'auto-guérison sans traitement anti-infectieux est possible pour autant que la fréquence des traites soit augmentée. Les champignons sont habituellement résistants aux antibiotiques mais sensibles aux dérivés iodés. *Candida* s'est révélé sensible au clotrimazole, à la nystatine,

à la polymyxine B, au miconazole. La prophylaxie médicale veillera à intensifier la qualité hygiénique des traitements intra-mammaires.

Certains praticiens préconisent le recours à la traite fréquente combinée à l'injection d'AINS pendant 2 à 3 jours.

L'application locale d'un onguent à base de salicylate de méthyl, menthol o eucalyptol est également conseillée.

Une amélioration peut être observée rapidement où prendre 15 jours. (**Henzen .2009**)

***Actinomyces (Corynebacterium) pyogenes* (mammite d'été):**

La mammite d'été encore appelée mammite de mouche a une étiologie diverse variable d'une étude à l'autre impliquant surtout *l'Actinomyces pyogenes* mais aussi le *Streptocoque dysgalactiae*, le *Peptococcus indolicus*, le *Streptococcus uberis*, le *Staphylocoque pathogène* et le *Moraxella bovis* Ce type de mammite concerne tant les génisses que les vaches. Les quartiers atteints deviennent durs et renferment une sécrétion épaisse et puante semblable à du fromage et difficile à extérioriser. Elle est surtout observée pendant les mois de juillet, août et septembre étant donné la transmission de ces germes par différentes variétés de mouches mais surtout par *Hydrotea irritans*.

La transmission de l'infection par l'insecte ne peut se faire que s'il y a lésion préalable du trayon .Ces lésions peuvent être de nature physico-chimique, traumatique ou induites par les insectes eux-mêmes.

La manifestation de cette mammite est clinique et se traduit par l'induration rapide d'un ou de plusieurs quartiers avec présence d'écoulement purulent et développement d'abcès. L'avortement est possible comme la naissance de veaux chétifs. Si le diagnostic n'est pas rapidement posé, cette mammite peut entraîner la mort de l'animal.

L'injection d'antibiotiques par voie générale ainsi que le drainage des abcès s'imposent rapidement. Le traitement local est souvent aléatoire bien que le germe soit sensible à la pénicilline.

La prophylaxie de la mammite d'été repose sur plusieurs mesures.

- Contrôle de la population d'insectes en évitant les zones de pâturages à risque et en traitant les animaux au moyen d'insecticides en pulvérisation (Stomoxin toutes les trois semaines), par application de boucles auriculaires (Atroban : permethrine, Flectron : cypermethrine) ou

par application d'insecticides systémiques (Butox : deltaméthrine, Sputop : deltaméthrine, Copertix : cyhalothrine) en 2 à 3 traitements à 4 ou 5 semaines d'intervalle. La deltaméthrine et la cyhalothrine ne posent pas de problèmes de résidus dans le lait.

- Obturation de l'extrémité du canal du trayon pendant la période à risque par l'injection intracanaliculaire d'un bouchon à base de sous-nitrate de bismuth, d'acriflavine et de vaseline, en pulvérisant l'extrémité du trayon avec de la laque à cheveux ou au moyen d'un film plastique (voir firme 3M) ou en appliquant du collodion d'éther ou du vernis à ongle coloré.

- Double traitement pendant la période de tarissement ou trempage des trayons pendant la période de tarissement.

- Vaccination des animaux au moyen d'un autovaccin adjuvé avant la mise en pâture et pendant la saison de pâture. (**Henzen . 2010**)

Les Mycoplasmes :

Divers mycoplasmes ont été rendus responsables de mammites. *Mycoplasma bovis* est plus fréquemment isolé que *Mycoplasma bovis genitalium*, *bovirhinis* ou *canadense*. La survie de ces germes est habituellement courte dans le milieu extérieur. Ils peuvent néanmoins persister pendant une semaine dans le matériel de traite et un mois dans les litières. Il existe de nombreux porteurs asymptomatiques. La contamination se fait essentiellement par la traite. Ces germes doivent être suspectés lorsqu'un traitement apparaît inefficace ou lorsque aucun germe n'a été isolé.

Les vaches tarées et en lactation peuvent être atteintes Les manifestations peuvent être cliniques ou sub-cliniques.

Le lait apparemment normal lors du prélèvement se sépare en cas d'atteinte clinique en deux phases : un surnageant quasi incolore et un dépôt floconneux, jaunâtre plus ou moins adhérent aux parois du tube de prélèvement. Cette sécrétion peut également prendre au cours des jours suivants un aspect muco-purulent.

Après la guérison clinique, des taux cellulaires élevés peuvent persister pendant très longtemps. L'animal atteint peut présenter des troubles respiratoires et des boiteries. Un traitement à la tylosine (1g par 100Kg et 1g par quartier pendant 5 jours) peut être efficace associé ou non à la dihydrostreptomycine (10g par voie IM et 5g par quartier). La réforme des animaux a également été conseillée. (**henzen .2009**).

Les Leptospires :

Le genre *Leptospira* se subdivise en trois espèces, deux espèces saprophytes (*Leptospira biflexa* et *Leptospira parva*) et une espèce pathogène (*Leptospira interrogans*) dont plus de 200 sérovars ont été identifiés. Seul apparemment le serovar hardjo semble jouer un rôle en pathologie mammaire. Son identification à partir du lait est pratiquement impossible étant donné sa grande fragilité. Aussi en pratique aura-t-on habituellement recours au diagnostic sérologique (sérologie couplée ou ELISA).

L'urine des animaux infectés constitue la source de contamination essentielle. Il ne faut cependant pas négliger d'autres sources d'infections telles les voies conjonctivale ou vénérienne, l'avorton,

les enveloppes foetales, les lochies, le sperme. Les moutons, chèvres et ruminants sauvages constituent des hôtes intermédiaires. La survie des leptospires dans le milieu extérieur est brève. Ils peuvent néanmoins persister longtemps dans des eaux propres légèrement alcalines.

Leptospira hardjo est responsable d'un syndrome se caractérisant par des avortements, de l'infertilité, des mammites et de l'agalactie. On observe une chute brutale de la production laitière avec atteinte simultanée des 4 quartiers. Chez l'homme, ce germe est responsable de la fièvre des trayeurs. Le lait présente un aspect jaunâtre sans altérations visibles du pis. La streptomycine (25mg/Kg) est le traitement indiqué. Des cas d'auto-guérison sont observés. Dans les exploitations infectées, la vaccination contre *Leptospira hardjo* constitue la mesure principale (primovaccination : 2 injections à 4 semaines d'intervalle et rappel annuel pendant 3 à 5 ans).

Une forme icterohémorragique due à *Leptospira icterohemorrhagiae* a également été décrite. L'animal présente une baisse importante de la production laitière, des muqueuses ictériques et de l'hémoglobinurie. (Henzen .2010).

Le Bacillus cereus :

Il se retrouve en abondance dans les matières fécales d'animaux nourris au moyen de drèches de brasserie. C'est un organisme d'environnement très résistant dans le milieu extérieur (spores). Il est responsable de mammite sporadique de caractère habituellement suraigu évoluant vers la gangrène. (Henzen .2010.)

Le Nocardia astéroïdes :

Son identification suppose une incubation prolongée pendant 3 jours. Ce germe est ubiquiste. La contamination résulte surtout d'interventions thérapeutiques septiques sur la glande mammaire (traitement en ou hors lactation). L'abattage économique est de règle, la mammite évoluant rapidement vers une forme phlegmoneuse avec amaigrissement de l'animal. (Henzen .2009)

Tableau 3 : principaux microorganismes impliqués dans les infections mammaires, leurs caractéristique et leur prévention.

Espèce	Source principale	Milieu de vie	Facteurs de propagation	Symptômes	Traitement préventif
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Vache infectées	Quartier infecté et pis seulement	Utilisation d'une guenille commune.	Fièvre peu forte d'environ 24heures.	Bain de trayon après la traite réduit le problème de 50%
<i>Staphylococcus aureus</i>	Vache infectées	Sur trayon anormal et pis, trayeuse, vagin, amygdalites	Transmis par mains ou guenilles, pénètre durant la traite.	Souvent très aigue quelques jours après le vêlage. Peut-être fécale. Le quartier enfle et devient mauve. Affecte tout le	Réforme des vaches infectées

				<p>système rapidement. Dans la forme chronique, durcissement du pis, sécrétion aqueuse, atrophie éventuelle du quartier. Forme intermédiaire avec sécrétion grumeleuse. Lait plus chaud que normale.</p>	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	Vache infectées	Quartier infecté, bless.		<p>Enflamment prononcé du ou des quartier infectés. Lait très anormale. Fièvre forte dans un cas grave</p>	
<i>Streptococcus uberis</i>	Environnement contaminé	Sur la peau de la vache, la bouche, le sol	Lave-pis négligé, séchage insuffisant, manque de litière, parc boueux.	<p>Enflamment prononcé du ou des quartier infectés. Lait très anormale. Fièvre forte dans un cas grave</p> <p>Affecte surtout les vaches tarées et les génisses.</p>	<p>Lave-pis laver les trayons seulement, bien sécher avec papier jetable pour chaque vache.</p>
<i>Escherichia coli</i>	Environnement	Sol,	Stalle de	Souvent très grave.	Litière

	t contaminé	laitière (copeaux et bran de scie), fumier eau	vêlage sale, manque de laitière, lave-pis inadéquat.	Peut mener à la perte du quartier et parfois a la mort. Les sécrétions sont maigres et jaunes, contiennent des grumeaux semblables a du son. Fièvre élevée souvent.	abondante
<i>Corynebacteriu m pyogenes</i>	Certains insectes	Vallées humides, boisés		Réaction systémique prononcée à cause des toxines produites par la bactérie. Souvent plus d'un quartier est effectué. Ils deviennent une sécrétion épaisse et puante semblable a du fromage et difficile à sortir. Abscesses qui crèvent et déchargent un pus crémeux et perte de tissus.	

Tableau 4 : principales caractéristiques des groupes d'agent pathogène.

Agent pathogène	Evolution	Virulence	Principaux facteurs favorisant les mammites
<i>Streptococcus agalactiae</i> (<i>agalactiae contagieuse</i>)	Aigue/chronique	Très fort	Contamination lors de la traite
<i>Streptocoque</i> (sauf <i>Streptocoque</i>)	Aigue/chronique	Fort	Altération des trayons comme hyperkératoses de

<i>environnementaux)</i>			la pointe des trayons ou blessures
<i>Streptocoque environnementaux</i>	Aigue/chronique	Faible	Manque d'hygiène Mauvaise fermeture des canaux des trayons
<i>Staphylocoque doré (Staphylococcus aureus)</i>	Aigue/chronique	Forte à faible	Erreurs lors de la traite Contamination lors de la traite
Autre <i>Staphylocoques</i>	Aigue/chronique	Forte à faible	Erreurs lors de la traite Contamination lors de la traite
<i>Escherichia coli, klebsielles et autre bâtonnets</i>	Aigue (chronique)	Faible	Alimentation Hygiène
<i>Levure et algues</i>	Aigue/chronique	Faible	Souvent après un traitement antibiotique

CHAPITRE 2

Généralités sur les huiles essentiels

2.1/.Définition

La norme AFNOR NF T 75-006, définit l'huile essentielle comme « un produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydrodistillation». L'HE est séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques, par exemple la décantation, ou par l'utilisation d'un solvant plus volatil que l'eau (éther diéthylique, pentane, etc) (**Ngakegni-Limbili, 2012**).

2.2/ .Huiles Essentielles -Chémotypées (H.E.C.T)

Les Huiles Essentielles Chémotypées sont une forme de classification chimique, botanique et biologique de la molécule présente en majorité dans une HE. Par exemple, l'H.E.C.T.de *Thymus vulgaris* à carvacrol est connue pour son activité antiseptique, alors que l'H.E.C.T. de *Thymus vulgaris* à thymol a des propriétés anti-infectieuses majeures. Il est donc préférable de choisir une H.E.C.T. lorsqu'on utilise les HEs en thérapeutique (**Mayer, 2012**).

2.3/ .Répartition et localisation

Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les HEs sont repartis dans un nombre limité de familles: Myrtacées, rutacées, lamiacées, astéracées, opiacées, cupressacées, zingibéracées, et pipéracées...etc (**Chouitah, 2012**).

Les huiles essentielles se retrouvent dans des glandes minuscules situées dans différentes parties de la plante aromatique: les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce et pour certaines plantes dans les racines (**Makhloufi, 2013**).

Les glandes sécrétrices sont réparties sur l'ensemble de la plante, rares sur les faces supérieures des feuilles et des tiges, elles sont un peu plus nombreuses sur le dessous des feuilles, mais elles abondent surtout sur le calice des fleurs. La formation des HEs dans les végétaux est le fait d'une multitude de réactions biochimiques dont certaines ne sont pas encore élucidées. Elles prennent naissance dans des appareils sécréteurs qui ont une forme variée (**Djarri,2011**), il s'agit par exemple de:

- Trichomes Glandulaires (Lamiaceae);
- Cavités sécrétrices (Myrtaceae et Rutaceae)
- Canaux sécréteurs (Apiaceae et Asteraceae).

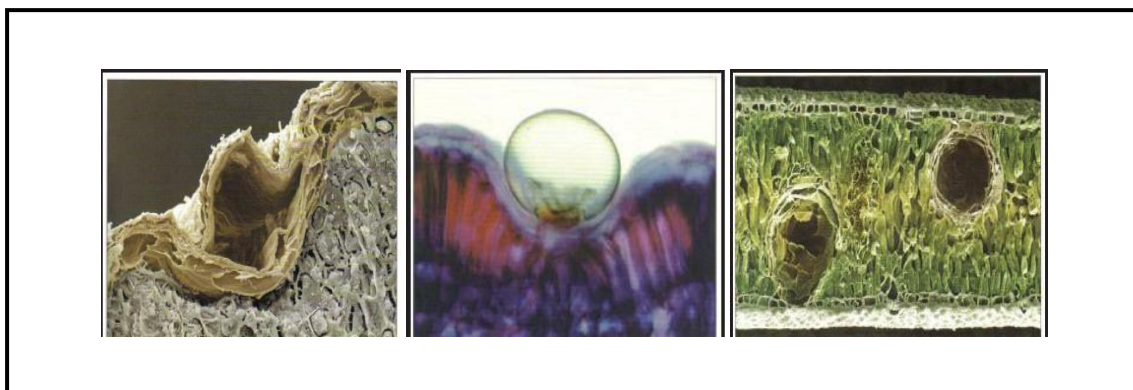


Figure 7: Photographie des différents types de glandes sécrétrices des HEs. (Djarri, 2011).

A) Canal sécréteur dans la graine de Carvi (x406); B) Glande sécrétrice sur la feuille de *Origanum heracleoticum* et C) Cavité sécrétrice de *Eucalyptus citriodora*.

2.4 /Techniques d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs techniques d'extraction des produits de haute valeur ajoutée présents dans les plantes. Ces techniques sont dites *conventionnelles* (utilisées depuis longtemps) et *nouvelles* ou *innovantes* (développées plus récemment).

2.4.1/ Les techniques conventionnelles

2.4.1.1/ L'hydrodistillation

Au cours de l'hydrodistillation, le matériel végétal est immergé dans l'eau, le mélange hétérogène est bouilli, et l'huile essentielle est volatilisée puis condensée. Etant donné l'insolubilisation dans l'eau de ses principaux composés volatils, l'HE peut être séparée par décantation après refroidissement dans un séparateur de phases (Penchev, 2010).

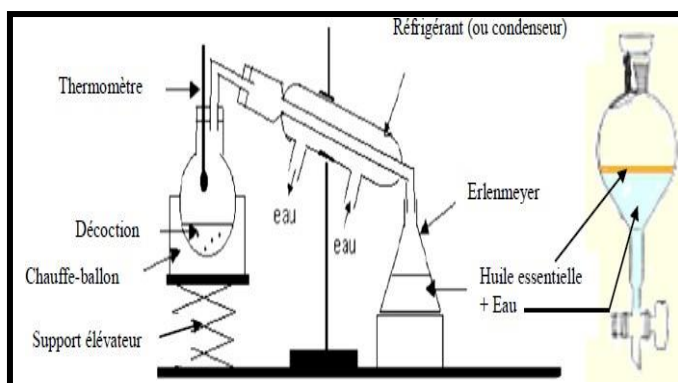


Figure 8: Schéma du dispositif d'hydrodistillation (Penchev, 2010).

2.4.1.2 / L'entraînement par la vapeur d'eau

C'est la seule distillation préconisée par la Pharmacopée française, car elle minimise les altérations hydrolytiques (notamment des esters). Les plantes entières, ou broyées (lorsqu'il s'agit d'organes durs: racine, écorce), sont disposées dans un alambic traversé par un courant de vapeur d'eau produit par la chaudière. La vapeur d'eau injectée à travers la masse végétale, disposée sur des plaques perforées, entraîne l'HE. Elle se condense ensuite dans le serpentin du réfrigérant. A la sortie de l'alambic, le vase florentin (essencier) permet de séparer l'eau de l'HE grâce à la différence de densité des deux liquides (**Da Silva, 2010**).

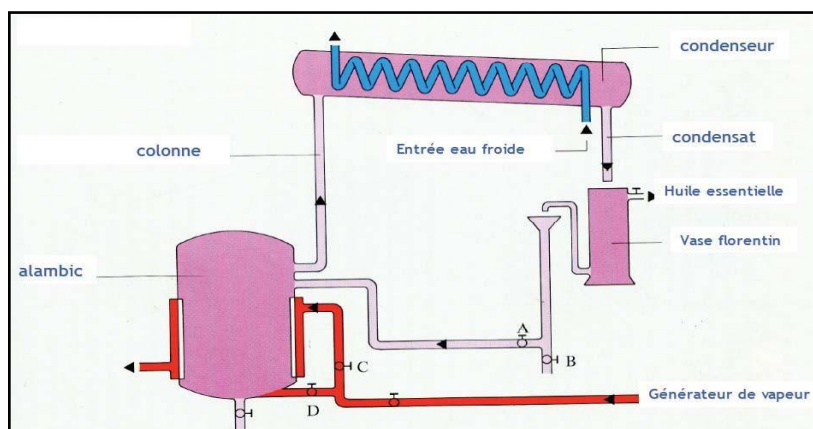
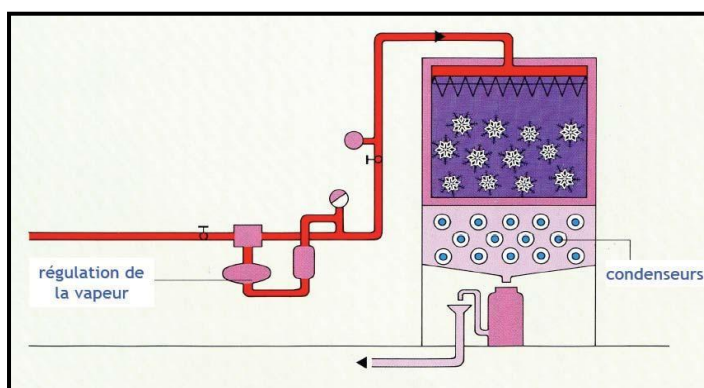


Figure 9: Schéma de l'appareil d'entraînement à la vapeur d'eau (**Bousbia, 2011**).

L'hydrodiffusion (percolation)

C'est une modification du processus de l'entraînement par la vapeur d'eau au cours duquel la vapeur d'eau arrive par le haut d'un conteneur d'herbe, permettant ainsi à la vapeur de percoler à travers la matière végétale par gravité. Les vapeurs d'huile et vapeurs d'eau sont ensuite condensées et séparées (**Benabdelkader, 2012**).

Figure 10: Schéma du procédé d'hydrodiffusion (**Bousbia, 2011**).



L'expression à froid

C'est une technique "physique" simple où les écorces des agrumes (citron, orange,...) sont pressées à froid pour extraire leurs HEs en utilisant des rouleaux ou des éponges. Aucune source de chaleur n'est utilisée, laissant ainsi à l'huile une odeur très proche de l'original. Le principe de cette méthode consiste à faire éclater par différents procédés mécaniques (compression, perforation) les poches qui sont situées à la surface de l'écorce de ces fruits renfermant l'HE. L'huile libérée est ensuite recueillie par un courant d'eau (**Herzi, 2013**).

Extraction par solvant

C'est un procédé qui conduit à l'obtention des concrètes, des résinoïdes et des absolues; le matériel végétal frais est par la suite épuisé par des solvants organiques volatils (**Da Silva, 2010**). Ces extraits sont très utilisés en parfumerie (**Benabdelkader, 2012**).

Enfleurage ou digestion

Ce procédé est développé à froid ou à chaud, utilise les organes végétaux fragiles comme les fleurs aromatiques qui permettent d'obtenir des huiles ou des graisses.

Lors de ce processus, les tissus végétaux sont mis en contact avec un corps gras (axonge) pour le saturer en essences végétales. Le corps gras est ensuite épuisé par l'alcool absolu et ce solvant évaporé sous vide pour ne laisser que les substances végétales (**Benabdelkader, 2012**).

2.4.2 / Les techniques nouvelles ou innovantes

2.4.1.2. / L'extraction assistée par microondes

Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par microondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation. Ce procédé permet un gain de temps (temps d'extraction divisé par 5 à 10) et d'énergie (température plus basse) considérable (**Piochon, 2008**).

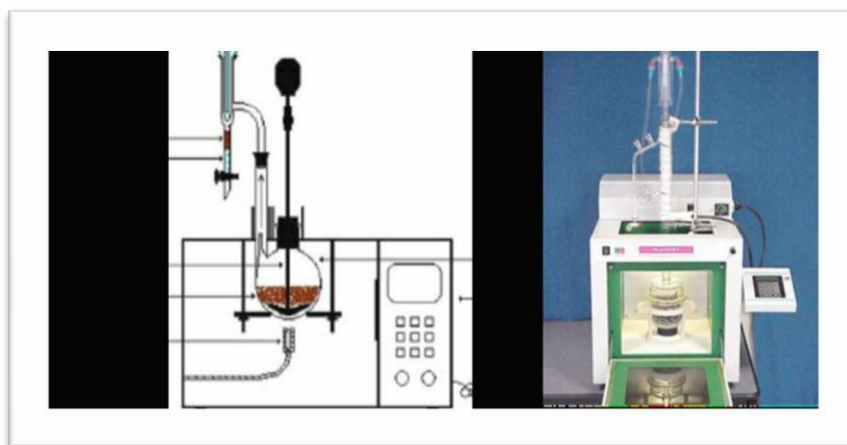


Figure 11: Extraction des HEs par microondes.

L'extraction accélérée par solvants (Accelerated Solvent Extraction-ASE)

C'est une technique brevetée de la société DIONEX qui utilise les solvants conventionnels à des températures (50 – 200 °C) et des pressions (100 – 150 bar) élevées. La pression est maintenue assez élevée pour maintenir le solvant à l'état liquide à température élevée. Pendant l'ASE®, le solvant reste toujours en dessous de ses conditions critiques. Les avantages de cette technique devant les techniques conventionnelles sont les suivants : l'absence des échauffements locaux, et la consommation de plus petites quantités de solvants. Ses inconvénients sont liés à sa non sélectivité, ce qui impose des procédures supplémentaires de nettoyage des extraits. Les températures opératoires élevées peuvent mener à une dégradation des solutés thermolabiles (**Penchev, 2010**).

Extraction par des solvants supercritiques

L'originalité de cette technique repose sur le comportement du solvant utilisé sous des conditions particulières puisque au-delà d'un certain point, dit point critique, caractérisé par une température (T_c) et une pression (P_c), les corps purs se trouvent dans un état particulier dit supercritique. Dans leurs conditions d'utilisation, les fluides supercritiques ont une masse volumique voisine de celle des liquides, une viscosité proche de celle des gaz et une diffusivité intermédiaire; leur polarité est modifiée par rapport à l'état liquide. Leur pouvoir dissolvant dépend fortement de la température et de la pression. Le fluide supercritique le plus utilisé est le dioxyde de carbone (**Bousbia, 2011**).

2.5 / Le marché mondial des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont valorisées principalement sur les marchés de l'aromathérapie, de la parfumerie et de la cosmétique. Elles peuvent soit rentrer dans la composition de produits élaborés (savons, crèmes, parfums, bougies,...), soit être utilisées en l'état. Elles sont recherchées pour leurs propriétés odorantes ou thérapeutiques. Les principaux marchés de consommation sont les pays développés qui représentent 80% des débouchés mondiaux (Europe 30 %, Japon et Amérique du Nord 50 %). Les quantités d'HEs produites dans le monde varient considérablement. La production annuelle de quelques unes dépasse 35 000 tonnes, tandis que d'autres ne peuvent atteindre que quelques kilogrammes (Ngakegni-limbili, 2012). La figure 12 montre les principaux pays producteurs d'HEs à travers le monde en 2008.

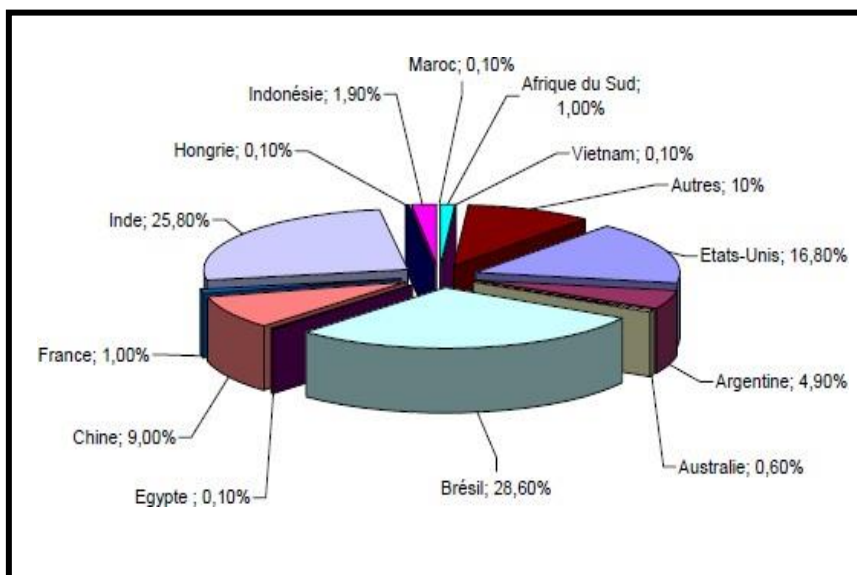


Figure 12: Répartition de la production mondiale des HEs durant l'année 2008 (Bousbia, 2011).

Propriétés physiques

Dans le tableau IV sont données les propriétés physiques de certaines HEs. Les HEs sont liquides à température ambiante, elles sont volatiles ce qui les différencie des huiles dites « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau. Elles sont liposolubles, en revanche solubles dans les solvants organiques usuels (Cohen, 2013). La liposolubilité des HEs est une propriété majeure qui leur confère une grande diffusibilité dans l'organisme quelque soit la voie d'administration utilisée.

Les HEs sont composées de molécules à squelette carboné, le nombre d'atomes de carbone étant compris entre 5 et 22 (le plus souvent 10 ou 15).

Ce sont des mélanges complexes de constituants variés en concentration variable. Ces constituants appartiennent principalement mais pas exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes: les terpenoides et les substances biosynthétisées à partir de l'acide shikimique (donnant naissance aux dérivés du phénylpropane) (**Da Silva, 2010**).

Tableau 5: Propriétés physiques de quelques HEs (**Smadja, 2009**)

Densité: en général inférieure à 1	Cannelle:1,052-1,070 Girofle:1,044-1.057 <i>E. cineria</i> : -fruit: 0,908 -feuilles: 0,909
Indice de refraction	Coriandre: 1,4620-1,4700 Vetyver Bourbon: 1,5220-1,5300 <i>E. cineria</i> :-fruit: 1,463 -feuilles: 1,458
Pouvoir rotatoire	Cannelle: feuilles:+7 à +13° Vetyver Bourbon: +19° à +30°

Critères de qualité des huiles essentielles chémotypées

L'obtention d'une HE de qualité thérapeutique se révèle être un processus particulièrement délicat car cette H.E.C.T. doit impérativement répondre à de nombreux critères de qualité:

- **La certification botanique**

L'appellation de la plante doit préciser le genre, l'espèce, la sous-espèce, le cultivar afin d'empêcher toute erreur issue des noms vernaculaires.

Ex.: Aniba rosaeodora var. *amazonica* - *Helichrysum italicum* ssp. *Serotinum*.

- **L'origine géographique**

Le nom du pays ou d'une région apporte des précisions intéressantes sur le biotope (l'environnement) de la plante aromatique et caractérisera sa composition biochimique particulière.

- **Le mode de culture**

Cette précision permettra de savoir si la plante est sauvage ou cultivée et issue d'une culture

biologique (label BIO) ou non.

- **Le stade de développement botanique**

Les caractéristiques des chémotypes dépendent parfois du stade de développement: cueillette avant, pendant ou après floraison...

- **L'organe distillé**

La composition biochimique des HEs chémotypées varie en fonction de la partie ou organe de la plante distillée.

- **Le mode d'extraction**

La composition des H.E.C.T. peut varier selon le mode d'extraction utilisé: distillation, hydrodistillation, percolation, expression.

- **Le chémotype ou chimiotype**

L'analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse indique les molécules fondamentales pour une bonne utilisation des H.E.C.T. (**Zhiri et Baudoux, 2008; Girard, 2010**).

Facteurs de variabilité des huiles essentielles

Ils sont très nombreux et problématiques. Ils résultent de la grande latitude laissée au fabricant en terme de source (organe producteur, variété et origine géographique) et mode d'obtention:

- **l'existence de chémotypes:** (c'est-à-dire une subdivision au sein d'une même espèce en fonction de sa composition chimique), très fréquents dans les plantes à HEs (le thym par exemple) (**Coudderc, 2001**).
- **l'influence du cycle végétatif :** qui peut faire varier de 50% la teneur d'un composé (**Coudderc, 2001**).
- **l'influence de facteurs extrinsèques:** comme l'environnement (température, humidité relative, durée totale d'insolation ou encore régime des vents) ou les pratiques culturales (apport d'engrais, régime hydrique), en effet des variations de composition chimique des HEs d'une même espèce d'eucalyptus provenant de différentes zones ont été observées selon une étude au Maroc (**Zrira et al., 1994**).
- **l'influence du procédé d'obtention:** la labilité des constituants des HEs entraîne leur modification lors de l'hydrodistillation sous l'influence de l'eau, l'acidité et la température (réarrangements, isomérisation, racémisations, hydrodistillation) (**Coudderc, 2001**).

utilisations des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont aujourd'hui omniprésentes dans les savons, les crèmes, les détergents, lessives et dans l'industrie agro-alimentaire. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Makhloufi, 2013**).

Elles sont appréciées pour leurs propriétés odorantes et antiseptiques dans le domaine de la parfumerie, de la cosmétologie et de l'industrie alimentaire. Leur intérêt en médecine humaine et vétérinaire est aussi grandissant. Elles sont utilisées par voie orale (diluée dans du lait, yaourt, miel..etc), rectale, ou par inhalation directe (**Degryse et al., 2008**). A l'heure actuelle, en France, la phytothérapie est reconnue par le Ministère de la Santé Publique comme thérapie officielle depuis 1986. L'aromathérapie, se soigner par les HEs, fait partie de cette médecine est donc, en développement (**Zhiri et al., 2010**). Les HEs sont également utilisées comme biopesticides efficaces (**Chiasson et Beloin, 2007**).

2. 10. / Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes pouvant contenir plus de 300 composés différents (Selles, 2006). Ces composés sont des molécules volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes (Piochon, 2008).

Les huiles essentielles sont constituées principalement de deux groupes de composés odorants distincts selon la voie métabolique empruntée ou utilisée. Il s'agit de terpènes (mono et sesquiterpènes), prépondérants dans la plupart des essences, il s'agit essentiellement des terpènes les moins volatils, c'est-à-dire ceux de masse moléculaire peu élevée et des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (**Cohen, 2013**).

2.11/ .Les monoterpènes

Les monoterpènes sont les plus simples constituants des terpènes dont la majorité est rencontrée dans les HEs (90%). Ils comportent deux unités isoprène (C₅H₈), selon le mode de couplage «tête-queue». Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. A ces terpènes se rattachent un certain nombre de produits naturels à fonctions chimiques spéciales (**El Haib, 2011**).

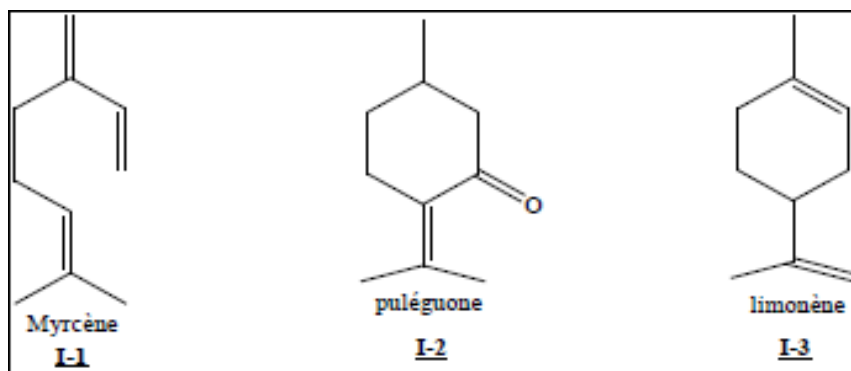


Figure 13 : Exemples de monoterpènes (El Haib, 2011).

2.12/ .Les sesquiterpènes

Ce sont des dérivés hydrocarbures en $C_{15}H_{22}$ (assemblage de trois unités isoprènes) (El Haib, 2011). Ils ont une variabilité structurale de même nature que les monoterpènes. L'allongement de la chaîne avant cyclisation lors de leur synthèse augmente le nombre de cyclisations possibles, d'où la très grande variété de structures connues (Cohen, 2013). Ils se trouvent sous forme d'hydrocarbures ou sous forme d'hydrocarbures oxygénés comme les alcools, les cétones, les aldéhydes, les acides et les lactones (El Haib, 2011).

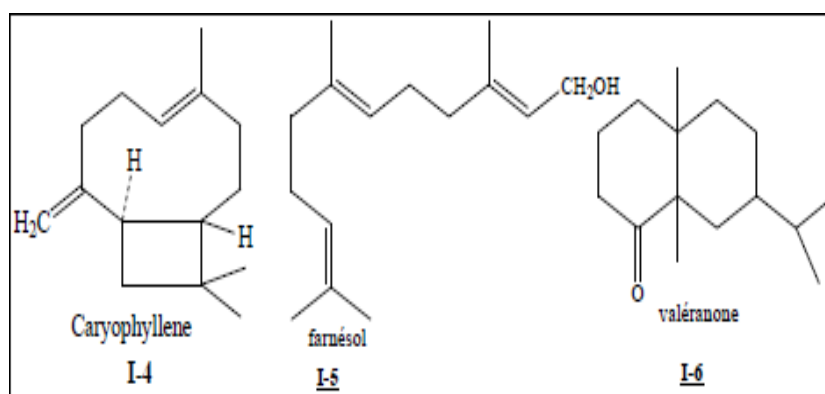


Figure 14: Exemples de sesquiterpènes (El Haib, 2011).

2.13/ .Les composés aromatiques

Une autre classe de composés volatils fréquemment rencontrés est celle des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Cette classe comporte des composés odorants bien connus comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthole, l'estragole (El haib, 2011).

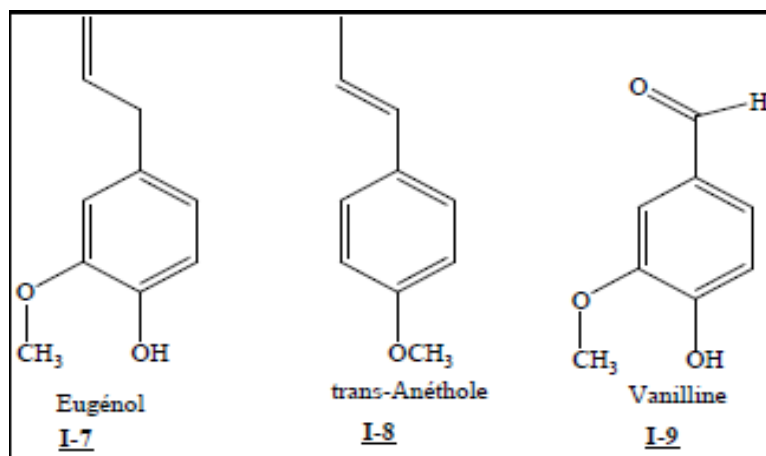


Figure 15 : Exemples de composés aromatiques (El Haib, 2011).

2.14/ .Importance industrielle des terpénoïdes

Les terpénoïdes sont disponibles en quantités relativement importantes sous forme HEs, de résines ou de cires qui constituent des ressources renouvelables importantes. Ils fournissent une gamme de produits commercialement utiles pour l'homme comme, par exemple, des arômes ou saveurs (menthol), matières industrielles (acides résiniques diterpéniques), compléments alimentaires sous forme de vitamines (linalol), ou édulcorants, pesticides, solvants, adhésifs et intermédiaires de synthèse (Benabdelkader, 2012).

2.15. / Rôles des huiles essentielles dans la plante

Les animaux sont mobiles pour chercher leur nourriture, pour échapper aux prédateurs et pour se reproduire. En revanche, les plantes sont immobiles ou presque, elles ont dû alors, développer des stratégies pour survivre et se reproduire. Les métabolites secondaires sont donc probablement impliqués étroitement dans **ces stratégies**:

dissuader les prédateurs: les odeurs repoussent les herbivores;

attirer les pollinisateurs: les couleurs et les odeurs attirent les insectes. Par exemple, certaines orchidées synthétisent des phéromones sexuelles qui sont des substances volatiles émises par les insectes femelles pour attirer les mâles;

décourager la compétition vis-à-vis d'autres espèces: c'est l'*allélopathie*.

Certaines plantes émettent des substances pour inhiber la croissance des autres plantes; c'est le cas du noyer qui produit de la *juglone* qui inhibe la croissance des autres plantes dans un rayon de 8 m autour du tronc (Bouhadjera, 2005).

2.16/ .Activités biologiques des huiles essentielles

Dans la plupart des cas, l'HE d'une plante ne se limite pas à une seule propriété. Cette multiplicité des actions possibles peut provenir essentiellement de leur composition très complexe d'où la magie des HEs. Dans le tableau ci-dessous sont montrées les différentes propriétés des HEs.

Tableau 6: Propriétés thérapeutiques des HEs (Mayer, 2012).

anti-infectieuse :	<p><i>Antibactériennes:</i> les phénols (clou de girofle) ;</p> <p>-<i>Antivirales:</i> phénol et à monoterpénol (Bois de Hô, Cannelle de Ceylan) ;</p> <p>-<i>Antifongiques:</i> Cannelle, de clou de girofle ou de Niaouli;</p> <p>-<i>Antiparasitaires:</i> Le thym à linalol (la sarriette des montagnes) ;</p> <p>- <i>Antiseptiques:</i> aldéhydes ou terpènes (<i>Eucalyptus radiata</i>);</p> <p>- <i>Insecticides:</i> aldéhydes (le citronnellal contenu dans l'Eucalyptus citronné ou la citronnelle.</p>
Anti-inflammatoires	géranium et gingembre.
Régulatrices du système nerveux	<p>-<i>Antispasmodiques :</i> Les esters ou les éthers possèdent une action sur les spasmes des muscles lisses ou striés (Hélichryse);</p> <p>-<i>Calmantes, anxiolytiques :</i> Les aldéhydes type citrals (la mélisse ou celle de Verveine citronnée).</p> <p>- <i>Analgésiques, antalgiques:</i> Eucalyptus citronné, Gingembre, Lavande vraie.</p>
Drainantes respiratoires	<p>-<i>Expectorantes :</i> 1,8 cineole de <i>E. globulus</i> et du romarin agissent sur les glandes bronchiques et sur les cils de la muqueuse bronchique.</p> <p>- <i>Fluidifiante :</i> Les cétones (le romarin).</p>
Digestives	Le cumin, (cuminal), l'anis étoilé, l'estragon ont une action digestive et apéritive en stimulant la sécrétion des sucs digestifs.
Cicatrisantes	Ciste, Lavande, l'immortelle, le Myrthe.

2.17/ .Les propriétés antioxydantes

Les propriétés antioxydantes des HEs sont largement étudiées. Le stress oxydatif, qui survient lors du déséquilibre entre la production de radicaux libres et d'enzymes antioxydantes, est en relation avec l'apparition de maladies, telles que l'alzheimer, l'artériosclérose et le cancer. Une façon de prévenir ce stress oxydatif qui endommage et détruit les cellules est de rechercher, dans l'alimentation, un apport supplémentaire de composés antioxydants (vitamine C, a-tocophérol, BHT, etc.). Les HEs de cannelle, muscade, clou de girofle, basilic, persil, origan et thym possèdent de puissants composés antioxydants. L'activité antioxydante des HEs est également attribuables à certains alcools, éthers, cétones, et aldéhydes monoterpéniques: le tinalool, le 1,8-cineole, le géraniol/nérol, le citronellal, l'isomenthone, la menthone et quelques monoterpènes: α -terpinène, γ -terpinène et l'aterpinolène (**Pionchon, 2008**).

2.18 / .Action antibactérienne

Le spectre d'action des HEs est très large: moisissures, levures, bactéries. Elles sont généralement plus actives sur les moisissures et les levures que sur les bactéries. D'une manière générale, pour les antiseptiques, les bactéries Gram+ qui ne possèdent pas de membrane externe sont naturellement moins résistantes que les bactéries Gram- qui en possèdent une. Pour les HEs, certains travaux rapportent une activité bactériostatique d'une manière générale meilleure sur les Gram+, mais l'activité des HEs dépend aussi de l'espèce bactérienne, que la bactérie soit Gram+ ou Gram- (**Zhiri et al., 2010**).

Leur activité antimicrobienne est principalement fonction de leur composition chimique et en particulier de la nature de leurs composés volatils majeurs (**Daroui-Mokaddem, 2012**).

Action antifongique

Les modes d'actions antifongiques sont assez semblables à ceux décrits pour les bactéries. Cependant, il faut y ajouter 2 phénomènes supplémentaires inhibant l'action des levures: L'établissement d'un gradient de pH et le blocage de la production d'énergie des levures ("phénomène de respiration").

Les huiles essentielles possèdent plusieurs modes d'action sur les différentes souches bactériennes, mais d'une manière générale leurs actions se déroulent

en **trois phases**:

- attaque de la paroi bactérienne, provoquant une augmentation de la perméabilité
- puis la perte des constituants cellulaires;
- acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la

synthèse des composants destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (Djarri, 2010).

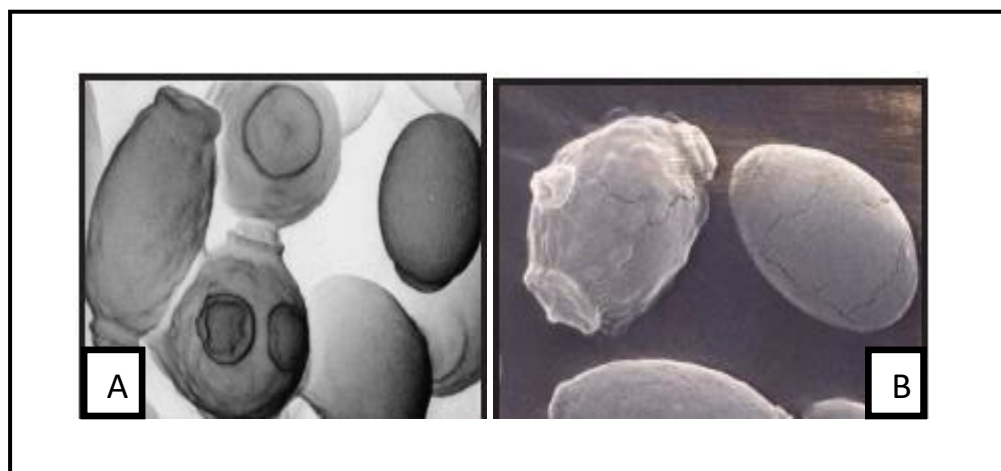


Figure 16: Images au microscope électronique à balayage de *Saccharomyces cerevisiae*, avant (A) et après traitement (B) à HE d'origan à 0,2 % (100 x) (Djarri., 2010). (A) *saccharomyces cerevisiae*, (B) la surface cellulaire montre des craquelures qui la parcourent dans tous les sens.

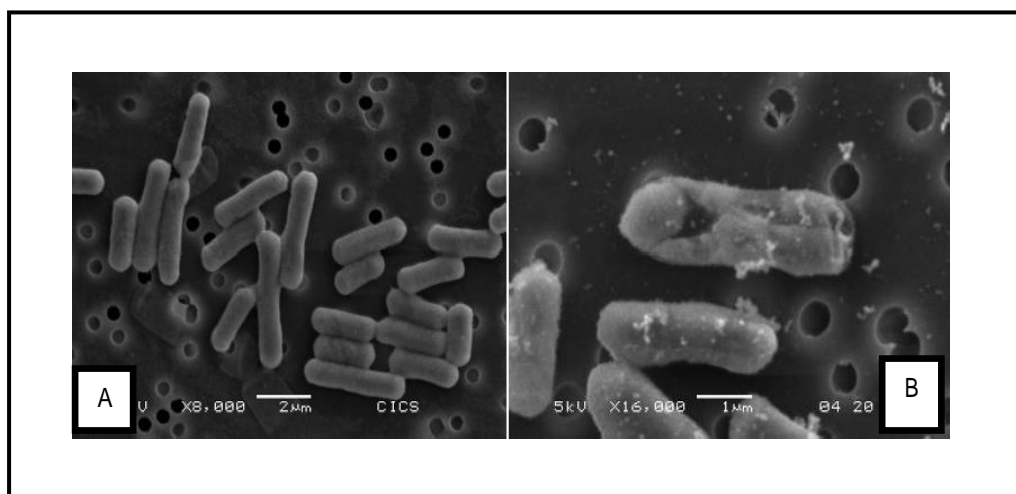


Figure 17 : Aspect des cellules de *Costridium perfringens*) traitées (B) ou non (A) par des HES (Recoquillay, 2009)

- **Facteurs déterminant le degré de l'activité antimicrobienne des huilés essentielles:**

Plusieurs paramètres influencent la détermination de l'activité antimicrobienne des HES ou de leurs composants actifs, tels que la méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne, l'effet de la matrice biologique, le type et la structure moléculaire des

composants actifs, la dose ajoutée, le type de microorganismes ciblés et leur éventuelle adaptation aux HES de structure;(Maleky, 2010).

L'effet de la matrice biologique

Les propriétés antimicrobiennes des HES sont différentes en fonction de la matrice à laquelle elles sont ajoutées, ou du fait du contact avec les macromolécules comme les lipides ou les protéines qui protègent les bactéries de l'action des HES. Ainsi les HES diluées dans la phase lipidique des aliments seront moins efficaces sur les bactéries de la phase aqueuse (Bouguerra, 2012).

2.20.3/ Le type et la structure moléculaire des terpénoïdes

Le principal facteur modifiant l'activité antimicrobienne des HES est le type ainsi que la structure moléculaire de ses composants actifs. Ainsi *in vitro*, une activité antimicrobienne plus élevée des terpènes oxygénés en comparaison des terpènes hydrocarbures a été observée. Les composants oxygénés purs ont aussi montré une activité supérieure par rapport aux HES dans lesquelles ils se trouvent (Maleky, 2010).

La structure moléculaire semble présenter un rôle aussi important que la présence d'oxygène dans la molécule de terpène: la caractéristique lipophile du squelette hydrocarboné ainsi que la propriété hydrophile des groupes fonctionnels sont déterminants *vis à vis* de l'activité antimicrobienne des terpénoïdes (Maleky, 2010).

2.20.4/ Le type des microorganismes ciblés

Un autre paramètre important déterminant l'activité antimicrobienne des HES est le type des microorganismes ciblés. En général, les différents microorganismes n'ont pas une sensibilité similaire *vis à vis* des HES (Bouguerra, 2012).

3/ .Effet Bactéricide et bactériostatique des huiles essentielles

A la manière des agents chimiques, on distingue deux sortes d'effets des HES sur les microorganismes, une activité létale (**bactéricidie**) et une inhibition de la croissance

Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne

Les méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne des HES les plus couramment utilisées sont la 'méthode de diffusion dans l'Agar et la 'méthode de dilution'. L'activité antimicrobienne des HES est différente selon la méthode suivie (Maleky, 2010). (**bactériostasie**). L'activité des HES est souvent assimilée à une activité bactériostatique.

Cependant certaines études ont montré que certains constituants chimiques des HES ont des

propriétés bactéricides (Carson et Riley, 1995; Lambert et al., 2001; Kunle et al., 2003; Walsh et al., 2003) et fongicides (Hammer et al., 2003 ; Pibiri, 2005). Toxicité des huiles essentielles.

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Comme tous les produits naturels: "ce n'est pas parce que c'est naturel que c'est sans danger pour l'organisme". Certaines HEs sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en thymol ou en carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde ou phototoxique (huiles de *citrus* contenant des furocoumarines. D'autres HEs ont un effet neurotoxique (huiles riche en α -thujone) ou cancérigènes. C'est le cas par exemple de dérivés d'allylbenzènes ou de propénylbenzènes comme le safrole (*Sassafras*), l'estragole (*Artemisia dracunculus*), la β -asarone (*Acorus calamus*) et le méthyl- eugénol. Des chercheurs ont mis en évidence l'activité hepatocarcinogénique de ces composés chez les rongeurs. De plus, tout dépend de la dose administrée lors des expériences et bien souvent la dose absorbée par l'animal est loin de correspondre à celle qu'un homme est susceptible d'ingérer par jour (Pionchon, 2008).

Huiles essentielles utiles lors d'infection de la mamelle

D'après des travaux précédemment effectués et des sondages auprès des éleveurs, les HE sont assez couramment utilisées lors de mammites Tableau 7. Philippe Labre a décrit deux types de traitements possibles. Le premier est l'injection intramammaire avec les HE suivantes : *palmarosa*, tea tree, lavandin et laurier. Mais le problème majeur est la stérilité de la préparation injectée. C'est pourquoi, il recommande le traitement topique avec un massage aromatique. Les HE recommandées en association sont le thym thymol, l'origan, le tea tree, le cyprès, l'eucalyptus citronné et la menthe poivrée . (Philippe Labre .2004)

L'essai AROMAVET datant de 2000 a décrit deux protocoles utilisant des HE contre les mammites aiguës et les mammites chroniques. L'appréciation des résultats est essentiellement défavorable .

Quelques thèses ont décrit des essais de terrains effectués il y a une dizaine d'années. Deux ont étudiées l'utilisation d'un traitement intramammaire. Un était constitué d'une seule HE : le thym vulgaire à linalool (Bouhadjera.2005). et l'autre était constitué d'un mélange d'HE : laurier noble, romarin officinal à verbénone et thym satureioïdes(Da Silva 2010) . Une autre thèse a décrit un traitement en massage aromatique constitué d'eucalyptus citronné, de menthe poivrée et de thym satureioïdes (Baba Aissa .2000). Une dernière thèse a décrit les résultats d'un sondage auprès d'éleveurs sur leurs pratiques en phytothérapie et en aromathérapie. Les éleveurs utilisent majoritairement les HE suivantes en massage par rapport à l'injection intramammaire : le tea tree, le *ravensara*, l'eucalyptus citronné, la menthe poivrée et le laurier noble .

Dans la littérature, les essais *in vitro* d'HE sur des bactéries responsables de mammites utilisent soit des HE soit des extraits des constituants majoritaires d'HE. Les résultats donnés correspondent aux diamètres d'inhibition obtenu par aromatoigramme et/ou des CMI et CMB avec une concentration en mL/L d'huile essentielle . **Bousbia .(2011)**.

Tableau 7 : huiles essentielles utilisées précédemment dans le traitement des mammites
(Philippe Labre .2004)

Huiles essentielles utilisées précédemment dans le traitement ou les essais <i>in vitro</i> sur les germes responsables de mammites	
Bergamote	Origan vulgaire
Cannelle de Ceylan	Palmarosa
Cyprès	Ravensara
Eucalyptus citronné	Romarin officinal verbénone
Eucalyptus globulus	Sarriette des montagnes
Fenouil doux	Tea tree
Lavandin	Thym vulgaire carvacrol
Laurier noble	Thym vulgaire linalol
Marjolaine à coquilles	Thym vulgaire thymol
Menthe poivrée	Thym satureioides

les HE utilisées allient des propriétés anti-infectieuses, anti-inflammatoires, antalgiques et immunomodulatrices.

Références bibliographiques

- 1-Amakura Y., Umino Y., Tsuji S., Ito H, Hatano S., Yoshida T., Tonogai Y.(2002).** Constituents and their antioxidative effects in eucalyptus leaf extract used as a natural food additive . *Food Chemistry* 77 (47–56)
- 2-Arma R .(2012).**Plantes medicinales .robin.arma@free.fr <http://www.robinarma.com>.P119
- Auddy B, Ferreira M., Blasina F., Lafon L., Arredondo F., Dajas F., Tripathi P.C., Seal T., Mukherjee B.(2003).** Screening of antioxidant activity of three Indian medicinal plants, traditionally used for the management of neurodegenerative diseases .*Journal of Ethnopharmacology* 84 (2003) 131_/138
- 3-Baba Aissa F. (2000).** Encyclopédie des plantes utiles. Flore d’Algérie et du Maghreb, substances végétales d’Afrique, d’orient et d’occident. Edition: Librairie moderne – Rouiba: P101
- 4-Bachir Raho G. et Benali M. (2012).** Antibacterial activity of the essential oils of *Eucalyptus globules* against *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* (2012)739-742
- 5-Barouki R.(2005).** **Stress oxydant et vieillissement.** Inserm UMR-S490, Université René Descartes,45, rue des Saints Pères,75270 Paris Cedex 06,France et Service de biochimie, Hôpital Européen Georges Pompidou, 20, rue Leblanc,75015 Paris, France.P268
- 6-Barus C .(2008).** Etude électrochimique de molécules antioxydantes et de leur association en milieu homogène et biphasique - Application aux produits dermocosmétiques.Thèse de doctorat en : Génie des procédés et environnement. Université Toulouse III - Paul Sabatier.P21
- 7-Batish D R, Pal Singh H, Kumar Kohli A , Shalinder Kaur S.(2008).**Eucalyptus essential oil as a natural pesticide *Forest Ecology and Management* 256 :2166–2174
- 8-Becila A(2009).**Prévention contre les alterations et les contaminations microbiennes mémoire de magister en *Alimentation, Nutrition et Santé*. Université Mentouri – Constantine.p20,23
- 9-Becquart P(2011),** Sécurité des huiles et graisses .www.paulbecquart.fr
- 10-Bekka F.(2009).** Effet des huiles essentielles d’Origanum glandulosum Desf. et Artemisia herba alba Asso sur des bactéries multirésistantes. Memoire de magister en Microbiologie Appliquée. Université de Béjaia
- 11-Belkheiri N.(2010).** Dérivés phénoliques à activités antiathérogène.Thèse de doctorat en chimie-Biologie-Santé.Université Toulouse III - Paul Sabatier,France.
- 12-Benabdelkader T.(2012).** Biodiversité, Bioactivité et Biosynthèse des Composés Terpéniques Volatils des Lavandes Ailées, *Lavandula stoechas Sensu Lato*, un Complexe d’Espèces Méditerranéennes d’Intérêt Pharmacologique. Thèse de doctorat en Biologie et Ecophysiologie Végétale de l’Ecole Normale Supérieure de Kouba-Alger et de l’Université Jean-Monnet de Saint-Etienne, France. P10,25
- 13-Benjlal.B. ; Tantaoui-Elara. A. ; Ismaïli-Alaou. M. ; Avadi.A.(1986).** Méthode d’étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé. *Plantes médicinales et phytothérapie*1986, Tome XX, n° 2, p. 155-167
- 14-Bharti P, Bai S, Seasotiya L, Malik A et Dalal S(2012).**Antibacterial activity and Chemical Composition of Essential Oils of Ten Aromatic Plants against selected Bacteria *International Journal of Drug Development & Research. Vol. 4 . Issue 4. ISSN 0975-9344*

- 15-Bouhadjera K.(2005).** Contribution a l'étude chimique et biologique de deux plantes médicinales sahariennes *oudneya africana* r.br. et *aristida pungens* .Thèse de doctorat en Chimie Organique Appliquée. Université Abou Bekr Belkaid . P44
- 16-Boulekbache-Mekhlouf L.(2011).**Activités biologiques et caractérisation des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la région de Bejaia: *Eucalyptus globulus*. Thèse de doctorat en Sciences Alimentaire. Université de Bejaia. p12.
- 17-Bousbia N.(2011).** extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydant a partir de produits naturels et de co-produits agro-alimentaires. Thèse de doctorat en Chimie de l'université d'Avignon et des pays de Vaucluse et de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique. P16
- 18-Brewer M.S(2011).** Natural Antioxidants: Sources, Compounds, Mechanisms of Action, and Potential Applications. Institute of Food Technologists® Vol. 10, 2011 _ Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety p221p229 p227
- 19-Buronso A.M.(2008).**Grand guide des huiles essentielles Santé Beauté et Bien Etre 23.7362.9 ISBN :978-2-0123-7362-4
- 20-Burt S.(2004)** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* 94 (2004) 223– 253
- 21-CherratL., Espina L., Bakkali M, Pagánb R., Laglaoui A.(2014)** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of *Mentha pulegium*, *Lavandula stoechas* and *Satureja calamintha* Scheele essential oils and an evaluation of their bactericidal effect in combined processes. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* xxx (2014) xxx– xxx
- 22-Chiasson. H et Beloin.N(2007).** Les huiles essentielles, des biopesticides « Nouveau genre » Bulletin de la Société d'entomologie du Québec Antennae , vol. 14, no 1
- 23-Chouitah O.(2012).**Composition chimique et activité antibactérienne des feuilles de *Glycyrrhiza glabra*. Thèse de doctorat en Biochimie. Université d'oran.p17
- 24-Cohen D. (2013).** les huiles essentielles à l'officine : dangers pour la femme enceinte et le nouveau-né . Thèse de doctorat en Pharmacie. Université Joseph Fourier de Grenoble. p 6,7
- 25-CoudercV.L(2001).**Toxicité des huiles essentielles.Thèse de doctorat en vétérinaire.Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.P 6,7,12;34,50
- 26-Da silva F.(2010)** .Utilisation des huiles essentielles en infectiologie ORL. Thèse de doctorat en Pharmacie .Université Henri Poincaré - Nancy p17,10,p18
- 27-De Billerbeck V-G(2007).**Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques.
- 28-Delaquis J.P.; Stanich K., Girard B, Mazza G.(2002)** Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology* 74 101– 109
- 29-Djenane D .,Lefsih K., Yangüela J., Roncalés P.(2011).** Composition chimique et activité anti-*Salmonella enteritidis* CECT 4300 des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, de *Lavandula angustifolia* et de *Satureja hortensis*. Tests in vitro et efficacité sur les oeufs entiers liquides conservés à 7 ± 1 °C *Phytothérapie* (2011) 9: 343–353 © Springer-Verlag France . DOI 10.1007/s10298-011-0664-z

- 30-Elaissi A, Hadj Salah K, Mabrouk S, Larbi K.M, Chemli R, Harzallah-Skhiri F(2011).** Antibacterial activity and chemical composition of 20 Eucalyptus species essential oils . *Food Chemistry* 129 (2011) 1427–1434
- 31-Fisher K.;Philip C(2008).** Potential antimicrobial uses of essential oils in food:is citrus the answer? Potential antimicrobial uses of essential oils in food:is citrus the answer? *Trends in Food Science & Technology* 19 (2008) 156e164
- 32-Geethalakshmi R.; Sarada D.V.L (2013).** Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of essential oil of *Trianthema decandra* L. *Journal of pharmacy research* 6- 101 -1060
- 33-Ghedira K.,Goetz P.,Le jeune R.(2008).** Eucalyptus globulus labill, monographie médicalisé Phytothérapie 6 :197-200
- 34-Girard G.(2010).** Les propriétés des huiles essentielles dans les soins bucco-dentaires d’hier à aujourd’hui. Mise au point d’un modèle préclinique de lésion buccale de type aphte pour tester les effets thérapeutiques des huiles essentielles. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université Henri Poincaré - Nancy P12,13
- 35-Goetz P.,Ghedira K.(2012).** Phytothérapie infectieuse, Springer Verlag, France , Paris, P 272
- 36-Guiraud J.et Galzy P. (1980).** Analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition: Usine Nouvelle-Paris, ISBN : 2-7327-0000-2, pp: 95,203.
- 37-Guo Q.-M. and Yang X.-W. (2006).** Cypellocarpin C and other compounds from the fruits of *Eucalyptus globulus* Labill. *Biochemical Systematics and Ecology* 34: 543-545.
- 38-Hasegawa T., Takano F, Takata T., Niiyama M., Ohta T.(2008)** Bioactive monoterpene glycosides conjugated with gallic acid from the leaves of *Eucalyptus globules*. *Phytochemistry* 69 (2008) 747–753
- 39-Herzi N.(2013).** Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l’extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles. Thèse de doctorat en Génie des Procédés et de l’Environnement Institut National Polytechnique de Toulouse
- 40-Hussain A.I., Anwar F., Sherazi S.T.H.,Przybylski R.(2008).** Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (*Ocimum basilicum*) essential oils depends on seasonal variations. *Food Chemistry* 108 (2008) 986_995
- 50-Kahouli I .(2010).** Effet antioxydant d’extraits de plantes (*Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, *Oléa Europea* L.) dans l’huile de canola chauffée. Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures de l’Université Laval dans le cadre du programme de maîtrise en génie agroalimentaire pour l’obtention du grade de Maître es sciences (M.Sc.) P22
- 60-Kaloustian J., Chevalier J.,Mikail C. , Martino M. , Abou L. , Vergnes M.F.(2008)** Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie* (2008) 6: 160–164 © Springer 2008 DOI 10.1007/s10298-008-0307-1
- 61-Khodadad Pirali-Kheirabadi., Mehdi Razzaghi-Abyaneh. , Halajian A.(2009).** Acaricidal effect of *Pelargonium roseum* and *Eucalyptus globules* essential oils against adult stage of *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* in vitro. *Veterinary Parasitology* 162 :346–349

- 62-Lambert R.J.W., Skandamis P.N. , Coote P.J., Nychas G.-J.E.(2001)** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol *Journal of Applied Microbiology*. 2001, 91, 453±462.
- 63-Makhloufi A. (2010).** Etude des activités antimicrobienne et antioxydante de deux plantes médicinales poussant à l'état spontané dans la région de bechar(*Matricaria pubescens* (Desf.) et *Rosmarinus officinalis* L) et leur impact sur la conservation des dattes et du beurre cru. Thèse de doctorat en Microbiologie et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen. P 64,65,66,67,74
- 64-Malecky M.(2008)** .Métabolisme des terpénoïdes chez les caprins. Thèse de doctorat en Physiologie de la Nutrition Animale (biotechnologie) .Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement(AgroParisTech). P29,30,32
- 65-Mayer F.(2012).** Utilisations thérapeutiques des huiles essentielles :Etude de cas en maison de retraite ,Thèse de doctorat en Pharmacie. Université de lorraine .France. p11,25,26,27
- 66-Mishra A K, Sahu N, Mishra A, Ashoke K. Ghosh, Jha S, Chattopadhyay P.(2010)** Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of essential oil of Eucalyptus leaf *Pharmacognosy Journal* || Vol 2 | Issue 16 P25-28
- 67-Ngakegni-Limbili.A.C.(2012).** Etude de synergie des effets chimiques et biologiques des huiles essentielles et des lipides de réserve des fruits et graines saisonniers de la région Afrique Centrale. Thèse de doctorat en Sciences des Agro-ressources. Université de Toulouse .p18
- 68-Pal Singh H.,Kaur S.,Negi K.,Kumari S.,Saini V.,Batish R D.,Kumar Kohli R.(2012)** Assessment of in vitro antioxidant activity of essential oil of Eucalyptus citriodora(lemon- scented Eucalypt; Myrtaceae) and its major constituents. *LWT - Food Science and Technology* 48: 23-241
- 69-Penchev P.I.(2010).** Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions.Thèse de Doctorat en: Génie des Procédés et de l'Environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse. P 9 ,P17,P19
- 70-Pereira S.,Freire S.R.C.; Neto P., Silvestre J. D., and Silva M.S.A.(2005).** Chemical composition of the essential oil distilled from the fruits of *Eucalyptus globulus* grown in Portugal .*Flavour and fragrance journal flavour fragr. J.* 2005; 20: 407–409
- 71-Pérez S., Renedo C. J., Ortiz A., Mañana M., Silió D., Peredo J. (2005).** comparison of energy potential of the eucalyptus globulus and the eucalyptus nitens. University of cantabria av los castros s/n, 39005 santander (spain).
- 72-Pibiri M.C(2005).** Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles. Thèse de doctorat en sciences. École Polytechnique Fédérale De Lausanne.France. p37
- 73-Piochon M.(2008).**Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne:composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse. Thèse de doctorat en ressources renouvelables.Université du Québec:P7,11,17,20
- 74-Plesiat P.(2011).** GDR Pseudomonas. Centre National De La Recherche scientifique agroupement De Recherche.France.

- 75-Raho B, Ghalem M et Benali M(2008).** Antibacterial activity of leaf essential oils of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus camaldulensis*. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol. 2(10)*. pp. 211-215, ISSN 1996-0816 © 2008 Academic Journals
- 76-Rhayour K.(2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum* Thèse de doctorat en Biologie cellulaire et moléculaire appliquée à l'environnement et la santé .Université Sidi Mohamed Ben Abdellah .Maroc .P12
- 77-Satrani B, Ghanmi M, Farah A , Aafi A , Fougrach H, Bourkhiss B , Bousta D, Talbi M(2007).** Composition Chimique Etactivité Antimicrobienne De L'huile Essentielle De *Cladanthus Mixtus*. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux*, 2007, 146, 85-96.
- 78-Smadja J.(2009).** Les Huiles Essentielles .Colloque GP3A - Tananarive Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles et des Sciences des Aliments (LCSNSA). Université de La Réunion. P22 ,23
- 79-Smith-Palmer A, Stewart J and Fyfe L.(1998).** Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against five important food-borne pathogens. *Letters in Applied Microbiology* 1998, 26, 118–122
- 80-Song A., Wang Y., Liu Y.(2009).** Study on the chemical constituents of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* Labill from China. *Asian Journal of Traditional Medicines*, 4 (4)PP
Eucalyptus houseana W.Fitzg. ex Maiden. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 7(2): 800-804, ISSN 1991-8631.
- 81-Tyagi A.,Malik A.**Antimicrobial potential and chemical composition of *Eucalyptus globulus* oil in liquid and vapour phase against food spoilage microorganisms.*Food Chemistry* 126 (2011) 228–235
- 82-Vilela G. R., De Almeida G. S., Bismara Regitano D'Arce M. A., Duarte Moraes M. H., Ota'vio Brito J, das G.F. da Silva M F, ˆo Cruz Silva S, de Stefano Piedade S M, Calori-Domingues M.**
- 83-A., Micotti da Gloria E(2009).** Activity of essential oil and its major compound, 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare .*Journal of Stored Products Research* 45 :108–111
- 84-Warot S.(2006).** Les Eucalyptus utilisés en Aromathérapie .Préparatrice en pharmacie. Mémoire de fin de formation en Phyto-aromathérapie.p3
- 85-Zhiri A et Baudoux D.(2008).**les huiles essentielles chémotyées :ISBN :2-919905-27-9 Edition Inspir Development. P7,P38
- 86-Zhiri A., Mayaud L., Bouhdid S., Baudoux D, Abrini J, Aubert G(2010).** Evaluation de l'activité bactéricide et bactériostatique des huiles essentielles visà-vis des souches d'origine clinique résistantes aux antibiotiques.Congres Francophone de Phytothérapie – Beyrouth.
- 93-ANSES (2016).** *Suivi des ventes de médicaments vétérinaires contenant des antibiotiques en France en 2015, Rapport annuel Octobre 2016 Edition scientifique.* Anses édition, 106 p.

87-HIVIN B. (2008). *Phytothérapie et aromathérapie en élevage biologique bovin enquête auprès de 271 éleveurs de France*. Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon : Université Claude Bernard, 145p.

88-HARLET M. (2012). *Mammmites de la vache laitière : étude de l'efficacité d'un mélange d'huiles essentielles par application cutanée locale dans 34 élevages bretons*. Thèse de doctorat vétérinaire. Lyon : Université Claude Bernard, 144 p.

89-AMBER R. et al. (2017). Antibacterial activity of selected medicinal plants of northwest Pakistan traditionally used against Mastitis in livestock, *Saudi Journal of Biological Sciences*, <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.008>

90-DEBERT A. (2001). *Traitement des mammmites cliniques en élevage biologique : essai sur le terrain d'une huile essentielle*. Thèse de doctorat vétérinaire. Nantes : Faculté de Médecine, 116 p. 117

91-MASSON H. (2006). *Enquête sur le traitement des mammmites cliniques en agriculture biologique en Bretagne, utilisation de l'aromathérapie*. Thèse de doctorat vétérinaire. Nantes : Faculté de Médecine, 116 p.

92-FRATINI F. et al. (2014). Antibacterial activity of essential oils, their blends and mixtures of their main constituents against some strains supporting livestock mastitis. *Fitoterapia*, 96, pp. 1-7.

93-MUBARACK H.M. et al. (2011). Activity of some selected medicinal plant extracts against bovine mastitis pathogens. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(6), pp. 738-741.

94Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt. *Le plan Ecoantibio 2012-2016*.

95-Agence Bio. *Chiffres de la bio en France* [en ligne]. URL : <http://www.agencebio.org/la-bio-en-france> [consulté le 07 juin 2017]

96-Ministère de l'agriculture, de l'agroalimentaire et de la forêt. *Ecoantibio², plan national de réduction des risques d'antibiorésistance en médecine vétérinaire 2017-2021* [en ligne]. URL : <http://agriculture.gouv.fr/telecharger/85068?token=ff73b081bc26158a3ef0bb9ad9206521> [consulté le 07 juin 2017]

97-ADAGE 35. *Actes du colloque, le 24 mars 2014, Agrocampus Ouest-Rennes, Retour sur 6 années d'expérimentation avec les huiles essentielles sur les bovins* [en ligne]. URL : <http://www.adage35.org/wp-content/uploads/2009/11/Colloque-HE-24-03-2014-Actes.pdf> [consulté le 07 juin 2017]

98-BUDRI P.E. et al. (2015). Effect of essential oils of *Syzygium aromaticum* and *Cinnamomum zeylanicum* and their major components on biofilm production in *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk of cows with mastitis. *Journal of Dairy Science*, 98(9), pp. 5899-5904.

99-Inter Bio Bretagne. *Traitement des mammmites bovines par l'aromathérapie* [en ligne]. URL : <http://www.bio-bretagne-ibb.fr/wp-content/uploads/expe07-Ed2008-L4.pdf> [consulté le 07 juin 2017]

100-LEFEVRE C. et al. (2008). Le traitement des mammites cliniques de la vache laitière par des huiles essentielles. *Innovations Agronomiques*, 4, pp. 79-83.

101-LEFEVRE C. (2009). *Traitement des mammites à partir d'huiles essentielles : Thymus saturoïdes et Rosmarinus officinalis* [en ligne]. URL : <http://doczz.fr/doc/248114/fiche-20-huiles-essentielles-mammites> [consulté le 07 juin 2017]

102-Inter Bio Bretagne. *Contrôle des mammites par l'aromathérapie* [en ligne]. URL : http://www.bio-bretagne-ibb.fr/wp-content/uploads/expe09ElevBovin_Res2009-Ed2010_2.pdf [consulté le 07 juin 2017]

103-LEFEVRE C. (2009). Traitement des mammites à partir d'huiles essentielles : Thymus saturoïdes et Rosmarinus officinalis. *Symbiose*, 136, pp. 10-11.

104 – [mansour. f. 2011. contribution à élévation du system de controle laitiere à constantine tracabilité des résidus d'antibiotiqueutilisé dans le traitement des mammites bovines

105-kadi .N.2017.incidence sanitaire et facteur de risque des mammites sur la fertilité des vaches laitière etude de cas . univercité abd el hamid ben badis de mostaganem.

106-<http://atlas.bovinblagspot.com/p/maladie.html>]

107-Benhamed.n.2014.évaluation de la qulité microbiologique et sanitaire de lait cru dans la region d'oran .algerie.étude de profil moléculaire virulente des staphylococcus auréus impliquées dans les marmites bovines

108-(Poutrel, 1985).[emile ségbégon houssa .2006.evaluation de prevalence et des cause des mamite subcliniques bovines laitiere intensif dans la zone périurbaine de Dakar cas des ferme de niacoulrab et de wayemben.

109-proch.ch.henzen .2009.2010.la pathologie infectieuse de la glande mammaire éthiopathogénie et traitement approche individuelle de troupeau.

110-emile ségbégon houssa .2006.evaluation de prevalence et des cause des mamite subcliniques bovines laitiere intensif dans la zone périurbaine de Dakar cas des ferme de niacoulrab et de wayemben]

112-khiter.R.2015.2016.l'étude Clinique et bibliographique de la mammite chez les bovins].

113-emile ségbégon houssa .2006.evaluation de prevalence et des cause des mamite subcliniques bovines laitiere intensif dans la zone périurbaine de Dakar cas des ferme de niacoulrab et de wayemben.

114-center for deseases control and prevention .streptococcus agalactiae. Bacteria in pgotos.<http://www.bacterianiphotos.com>].

115-constance ratter .2017.les mammites subclinique en elvages bovin laitière antibiothérapie et alternatives].