



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



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE ou INSTITUT : SCIENCE

DEPARTEMENT : BIOLOGIE

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : Guerzou Naima, Djeghaba Amel

DOMAINE : Science de la nature et de la vie (S .N.V)

FILIERE : Biologie

OPTION : Microbiologie environnementale et infectieuse

Thème

Etude de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes sur les bactéries isolées du lait mammiteux

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	Grade	qualité
Membre1	Lagha Nouria	Président
Membre2		Examineur1
Membre3		Examineur2
Membre4	Saidi Radhwane Maitre de conférence B	Rapporteur
Membre5	Bessas Amina Maitre assistant A	Co-rapporteur

Promotion : Juin- 2015



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



جامعة عمار ثليجي - الأغواط

كلية/معهد: العلوم
قسم: البيولوجيا

مذكرة ماستر

تقديم الطالب (ة): قرزو نعيمة, جغابة أمال

ميدان: علوم الطبيعة و الحياة

شعبة: بيولوجيا

تخصص: ميكروبيولوجيا المحيطية و المعدية

موضوع البحث

دراسة النشاط المضاد البكتيري لمستخلصات بعض النباتات على بكتيريات
معزولة من حليب ضرع مصاب بالتهاب

أعضاء لجنة المناقشة:

الاسم و اللقب	الدرجة العلمية	الصفة
عضو 1	لاغا نورية	رئيسا
عضو 2	كرانطال	ممتحن أول
عضو 3		ممتحن ثان
عضو 4	سعيدي رضوان أستاذ محاضر ب	مقررا
عضو 5	بسباس أمينة أستاذ مساعد	مقررا مساعدا

الدفعة: جوان- 2015

REMERCIEMENTS

J'exprime d'abord mes profonds remerciements à mon DIEU qui m'a donné le courage, la Volonté et la santé d'achever ce travail.

*Nous tenons également à remercier chaleureusement notre encadreur **M.Saidi Radhwane** qui a assuré la direction de ce travail, ses conseils prestigieux ses encouragements sans relâche, sa disponibilité et la confiance qu'il nous a accordée de nous initier à ce travail dans les meilleures conditions*

*Nous exprimons nos profondes gratitudees à **Dr. Gouzi Hicham**, **Mm Bessass**, et tous les enseignants de notre département et de différents niveaux d'étude qui participé et /ou veillé à notre formation*

Je voudrai remercier les membres de jury d'avoir bien voulu accepter d'évacuer

Cette mémoire.

Un autre grand merci adressé à toutes les personnes du laboratoire de biologie qui m'ont offert un cadre agréable pour l'accomplissement de ce travail Aicha, Nassima, ...

A tous ceux qui ne se sentent pas nomement citer la liste est longue, je dis merci

DEDICACE

Je dédie ce travail à Mes chers parents Abdelmalek, Fatima, vous étiez toujours là pour m'écouter, me soutenir,

Me réconforter et m'encourager dans les moments de doute....Tous les mots ne suffiraient pas...Sans vous, rien n'aurait été possible, merci pour votre soutien et votre amour.

À mes frères Hossine et son fils Maloka ,Skir et petit-fils Youssef, abdellah, bachire , À mes sœurs Soumia,Wahiba, Ola, Omelkeir et Amina pour votre soutien et votre présence à mes côtés.

À ma grande mère Aycha. À mes oncles : Ahmed, lakhder, Saad, Mabrouke ,Youssef,Taber,Saybe, Abdelkader.

À mes tante :Ola ,Houria , Wansa, Salma,Zobra

À la fois petite et grande famille

À mon fiancé Messaoude Djaid

À mes amis (es) dont particulièrement : la plus cher et plus proche camarade Abla Djaid, Naima G,KadidjaD, Sourya, Harzallah .À toute la promotion de Master Microbiologie 2015

À toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Je dédie ce travail à tous ceux qui me connaissent.

NAIMA

DEDICACE

C'est avec une grande joie et bonheur que je dédie mon travail :

-A mes très chers parents qui m'ont encouragé.

-A mon marie Fayçal qui ma soutenue et encouragé pour accomplir ce travail.

-A mes adorables enfants.

*-A tous mes amies du deuxième année master option :
Microbiologie. Surtout Naïma guerzou.*

AMEL

عنوان المذكرة : دراسة النشاط المضاد البكتيري لمستخلصات بعض النباتات على بكتيريا معزولة من حليب مرضى التهاب الضرع

المؤطر: سعيدي رضوان

الإسم: نعيمة، أمال

اللقب: قرزو، جغابة

ملخص: يهدف هذا العمل إلى دراسة النشاط المضاد البكتيري للزيوت الأساسية الطيارة للزعتر، إكليل، الشيح و الريحان ضد بكتيريا المكورات العنقودية متعددة المقاومة للمضادات الحيوية و التي عزلت من حليب حيوانات المصابة بمرض التهاب الضرع. هذه الزيوت العطرية تحصلنا عليها بطريقة التقطير المائي للجزء الهوائي. تراوحت مرد ودية هذه النباتات بين مردودية ضعيفة (0,3%) بالنسبة لنبته الريحان ونسبة مردودية جد عالية 2,5% بالنسبة للزعتر. مختلف نباتاتنا المدروسة اظهرت نشاط مضاد بكتيري فعال ملحوظ . النشاط المضاد البكتيري الأكبر لوحظ عند الزيت العطري للزعتر (9_52مم)، والزيوت الثلاثة المتبقية اظهرت نشاط مضاد بكتيري متوسط (9-19.5مم). و تطرقنا أيضا إلى دراسة التركيز الأدنى المثبط (CMI) ، و التركيز الأدنى القاتل (CMB) والنسبة بينهما CMI/CMB لزيت الزعتر ضد بكتيريا المكورات العنقودية متعددة المقاومة. تبين أن التركيز الأدنى المثبط يتراوح بين 0.01 و 0.016 مل/μg و التركيز الأدنى القاتل يتراوح بين 0.021 و 0.078 مل/μg. الزعتر لديه تأثير قاتل على البكتيريا المدروسة. **الكلمات المفتاحية :** النباتات الطبية، الزيوت الأساسية، المداواة بالزيوت العطرية، النشاط المضاد البكتيري، التهاب الضرع.

Memory title : The antimicrobial activity of extracts of plants contre bacteria isolated from mastitic milk.

Name: Guerzou, Djeghaba

First name: Naima, Amel

Directed by : Saidi Radhwane

Abstract: This work aims to study in vitro the antimicrobial activity of essential oils of *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Artimisia herba alba myrtus* and *communis* on multi resistant staphylococcal strains to antibiotics which isolated from mastitic milk.

The essential oils of these plants were obtained by hydro distillation of the aerial part. The contents of essential oils range from a low value “*Myrtus communis*” (0.3%) to a relatively high value “*Thymus vulgaris*” (2.5%).

Different essential oils tested revealed interesting antimicrobial activities. The highest antibacterial activity was observed for the essential oil of *Thymus vulgaris* (diameter of inhibition zone from 9 to 52mm), while essential oils of *Rosmarinus officinalis*, *Artimisia herba alba* and *Myrtus communis* showed mean antimicrobial activities (9-19.5mm).

We also determined the Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Bactericidal Concentration (MBC) and the ratio of MIC / MBC of *Thymus vulgaris* on the three multi-resistant strains of staphylococci. It turns out that the MIC fall between 0.01 and 0,016μg / ml and CMB fall between 0.021 and 0.078 g / ml. The *Thymus vulgaris* showed a bactericidal effect on the tested strains.

Keywords: Medicinal Plants, Essential Oil, Aromatherapy, Antibacterial Activity, Mastitis.

Titre du mémoire : Etude de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes sur les bactéries isolées du lait mammitieux

Nom: Guerzou, Djeghaba

Prénom: Naima, Amel

Encadreur: Saidi Radhwane

Résumé : Ce travail a pour objectif d'étudier in vitro l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Artimisia herba alba* et *Myrtus communis* sur des souches de staphylocoques multi résistantes aux antibiotiques et qui sont isolées à partir du lait mammitieux.

Les huiles essentielles de ces plantes ont été obtenues par hydro distillation de la partie aérienne. Les teneurs en huiles essentielles se situent entre une valeur faible de 0,3%, pour *Myrtus communis* et une valeur relativement élevée de 2,5% pour *Thymus vulgaris*. Les différentes huiles essentielles testées ont révélé des activités antimicrobiennes intéressantes. La plus forte activité antibactérienne a été observée pour l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* (9-52mm), tandis que les huiles de *Rosmarinus officinalis*, *Artimisia herba alba* et *Myrtus communis* ont montré des activités antimicrobiennes moyennes (9-19.5mm). Nous avons aussi déterminé la concentration minimale inhibitrice (CMI), concentration minimale bactéricide (CMB) et le rapport de CMI/CMB du *Thymus vulgaris* sur les trois souches multi résistantes de staphylocoques ; il s'avère que les CMI se rangent entre 0,01 et 0,016μg/ml et les CMB se rangent entre 0,021 et 0,078 μg/ml. Le *Thymus vulgaris* a révélé un effet bactéricide sur les souches testées.

Mots clés : Plantes Médicinales, Huile Essentielle, Aromathérapie, Activité Antibactérienne, Mammite.

Table de matières

	Page
Résumé	I
Liste des abréviations	II
Liste des figures	III
Liste des photos.....	IV
Liste des tableaux.....	V
Introduction.....	01

Partie 1. Etude bibliographique

Chapitre 1 .Les huiles essentielles.....	03
I. Introduction.....	04
II. Les composés phénoliques.....	04
II.1. Les principales classes des composés phénoliques.....	05
III. Les huiles essentielles (HE).....	05
III.1. Historique.....	05
III.2. Définition d'une huile essentielle.....	06
III.3. Lieu de production.....	06
III.4. La répartition botanique	07
III.5. Les méthodes d'obtention des huiles essentielles.....	07
III.5.1. L'hydro distillation.....	07
III.5.2. L'enfleurage	07
III.5.3. La distillation à vapeur saturée	07
III.5.4. Extraction par expression à froid	07
III.5.5. Extraction par solvants	08
III.6. Conservation des huiles essentielles	08
III.7. Composition chimique des huiles essentielles.....	09
III.8. Les domaines d'utilisation des huiles essentielles.....	10
III.9. L'Activités biologiques des huiles essentielles.....	10
III.9.1. L'activité antibactérienne	10
III.9.2. L'activité antifongique.....	10
III.9.3. L'activité antivirale.....	10

III.9.4. L'activité antioxydante	11
III.10. Le mode d'action des huiles essentielles.....	11
IV. Les plantes étudiées.....	11
IV.1. <i>Artemisia herba alba</i>	11
IV.2. <i>Thymus vulgaris</i>	12
IV.3. <i>Myrtus communis</i>	13
IV.4. <i>Rosmarinus officinalis</i>	14
Chapitre 2. Etude de la mammité.....	15
I. Définition	16
II. Etiologie.....	16
III. Symptômes.....	17
III.1. Mammites cliniques.....	17
III.1.1. Mammites suraiguës.....	17
III.1.2. Mammites aiguës.....	17
III.1.3. Mammites chroniques.....	18
III.2. Mammites subcliniques.....	18
IV. Diagnostic.....	19
IV.1. Diagnostic des mammites cliniques.....	19
IV.1.1. Signes généraux.....	19
IV.1.2. Signes locaux.....	19
IV.1.3. Signes fonctionnels.....	19
IV.1.3.1. Test du bol de traite ou du filtre.....	20
IV.1.3.2. Test d'homogénéité.....	20
IV.2. Diagnostic des mammites subcliniques.....	20
IV.2.1. Diagnostic individuel des mammites subcliniques.....	20
IV.2.1.1. Techniques de numération cellulaire.....	20
IV.2.1.1.1. Comptage cellulaire individuel.....	20
IV.2.1.1.2. Fossomatic.....	20
IV.2.1.1.3. Coulter-Counter	20

IV.2.1.1.4. California Mastitis Test (CMT).....	21
IV.2.2. Diagnostic immunologique des mammites individuelles.....	21
IV.2.2.1. Test immuno-enzymatique, ELISA	21
IV.2.2.2. Test de l'anneau.....	21
IV.2.2.3. Test de l'hybridation moléculaire ou sondes.....	21
IV.2.2.4. Test au latex.....	22
IV.2.3. Diagnostic bactériologique des mammites subcliniques.....	22
IV.2.4. Diagnostic par PCR (Polymerase Chain Reaction).....	23
V. Traitement des mammites.....	23
V.1. Traitement des mammites cliniques.....	23
V.2. Traitement des mammites subcliniques.....	24
V.3. Traitements complémentaires des mammites.....	24
V.3.1. Traitements hygiéniques.....	24
V.3.2. Traitements médicaux.....	24
V.3.3. La phytothérapie.....	25
VI. La prévention des mammites.....	26

Partie II. Etude expérimental

1.1.1. Souches bactériennes	28
1.1.2. Antibiotiques.....	29
1.1.3. Plantes testées.....	30
1.1.3.1. Choix des plantes	30
1.1.4. Produits utilisés.....	32
1.1.4.1. Milieu de culture.....	32
1.2. Méthodes.....	33
1.2.1. Préparation de l'huile essentielle	33
1.2.2. Calcul du rendement	33
1.2.3. Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne.....	33
1.2.3.1. Protocole pour l'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque(méthode de Vincent)	34
1.2.3.1.1. Préparation de l'inoculum	34
1.2.3.1.2. Ensemencement.....	34

1.2.3.1.3. Application des disques.....	34
1.2.3.1.4. Lecture des résultats	35
1.2.3.2. Détermination de la CMI et CMB	35
1.2.4. Etude statistique.....	36

Partie III. Résultats et discussion

1. Le rendement d'extraction des huiles essentielles.....	35
2. Activités antimicrobiennes.....	39
2.1.Résultats de la méthode de Vincent (méthode de disque).....	39
4. Les Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et (CMB).....	42

Conclusion.....	48
------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Liste Des Abréviations

AHA :	<i>Artemisia herba alba</i>
Cm :	Centimètre
CMI :	Concentration minimale inhibitrice
CMB :	Concentration minimale bactéricide
DMSO :	Dimethyl sulfo-oxyde
H.E :	Huiles essentielle
J :	Jour
MH :	Mueller Hinton
MHA :	Mueller Hinton agar
MC :	<i>Myrtus communis</i>
PAM :	Plantes aromatiques et médicinales
RO :	<i>Rosmarinus officinalis</i>
SCN :	Staphylococcus a coagulasses négatif
TV :	<i>Thymus vulgaris</i>

Liste Des Figures

- Figure 1** : Les quatre plantes étudiées, A : *Artemisia herba alba*, B : *Myrtus communis*,
C : *Rosmarinus officinalis* D : *Thymus vulgaris* **29**
- Figure 2** : Les valeurs du rapport de CMB/CMI des souches A(43), B(46), C(82) **44**

Liste Des Photos

Photo 1	: Le montage de Clivinger	33
Photo 2	: L'influence de Thymus sur la souche 53	40
Photo 3	: L'influence de Thymus sur la souche 43	40
Photo 4	: L'influence de Thymus sur la souche 46	41
Photo 5	: L'influence de Thymus sur la souche 39	41
Photo 6	: L'influence de l'armoisesur la souche 53	41
Photo 7	: L'influence de Thym sur la souche 82	41
Photo 8	: la CMI de La souche 82	46
Photo 9	: La CMI de La souche 43	46
Photo 10	: La CMB de La souche 82	46
Photo 11	: La CMB de La souche 46	46

Liste Des Tableaux

Tableau 1	: Principales classes des composés phénoliques	5
Tableau 2	: Les compositions des huiles essentielles	9
Tableau 3	: Classification des germes responsables des mammites	17
Tableau 4	: les souches testés contre les extraits	28
Tableau 5	: Les différents disques d'antibiotiques testées	29
Tableau 6	: Régions de collecte des plantes utilisées et les parties testées des plantes.	31
Tableau 7	: Milieux de cultures et réactifs utilisés durant l'étude	32
Tableau 8	: Rendement d'extraction des HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> , <i>Thymus vulgaris</i> , <i>Artemisia herba alba</i> , et <i>Myrtus communis</i>	38
Tableau 9	: Les diamètres en millimètre, des zones d'inhibition des HE	39
Tableau 10	: Les valeurs de concentration minimale inhibitrice (CMI) d'HE de <i>Thymus vulgaris</i>	42
Tableau 11	: Les valeurs de concentration minimale bactéricide d'HE de <i>Thymus vulgaris</i> sur les souches : (43, 46, 82)	43
Tableau 12	: Les valeurs du rapport de CMB/CMI	45

En élevage bovin laitier, les mammites ou l'inflammation de la glande mammaire représentent une dominante pathologique (Myllys *et al.*, 1998).

L'utilisation des anti-infectieux en médecine vétérinaire est indispensable au traitement des infections bactériennes et au contrôle des surinfections en cas d'atteinte virale. Cependant leur utilisation abusive ou/et souvent irréfléchie peut, se compliquer par la présence de résidus dans les denrées alimentaires d'origine animale d'une part et contribuer à la sélection de souches pathogènes multi-résistantes, d'autre part. Le développement de plus en plus rapide de ces résistances limite aujourd'hui fortement l'intérêt thérapeutique de ces molécules (Gentilini *et al.*, 2000).

La nécessité de trouver de nouveaux agents anti-infectieux et de stratégies thérapeutiques ou préventives alternatives constitue actuellement, un des enjeux majeurs de la recherche pharmaceutique. Dès lors, l'utilisation des huiles essentielles, de prébiotiques, de probiotiques ou encore des peptides antimicrobiens pourrait jouer un rôle de plus en plus prépondérant dans la gestion des antibiorésistances en médecine vétérinaire et en réduire l'impact sur la santé publique (Mubarak *et al.*, 2011).

Mais, il faut noter le manque d'information sur cette approche. Ailleurs, des essais contrôlés sont pourtant réalisés, mais ne sont pas publiés ou bien le sont dans des revues peu accessibles. En Algérie, aucun travail n'est penché dans ce sens en médecine vétérinaire. Paradoxalement, les informations sont plus nombreuses en médecine humaine où les extraits des plantes ont une action reconnue dans le traitement de diverses maladies infectieuses (Goncalves *et al.*, 2008; Tufekci *et al.*, 2008), mais ces références ne nous sont guère utiles en médecine vétérinaire et spécialement dans le cas des mammites. De plus, l'usage de telles substances en thérapeutique vétérinaire implique non seulement que le produit soit efficace, mais cher mais aussi qu'il ne soit pas source dans les denrées produites, de résidus potentiellement dangereux pour la santé de l'animal ou celle du consommateur.

Au cours de l'année 2012/2013, une enquête a été lancée auprès de 60 éleveurs bovins des communes de la région centre de l'Algérie, afin de connaître entre autre leur conduite de traitement face aux pathologies (Saidi *et al.*, 2010). Il est apparu un fréquent recours à la phytothérapie et l'aromathérapie avec l'emploi des plantes, leurs extraits et d'une dizaine d'huiles différentes, selon des modalités variées.

Une étude *in vitro* en premier lieu sur les germes responsables de maladies chez les animaux serait intéressante dans l'objectif de rechercher une alternative pratique aux traitements classiques.

Ce travail présente les résultats d'une étude sur l'efficacité in vitro des extraits de certaines plantes sur les bactéries isolées des cas de mammites de la vache laitière.

Les essais réalisés in vitro ont permis de tester les huiles essentielles de quatre plantes sur des souches bactériennes isolées de mammites cliniques et subcliniques et résistantes à la plupart des antibiotiques utilisés dans le traitement des pathologies animales. Les extraits provenant des plantes suivantes : *Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Artemisia herba alba* et *Myrtus communis*.

Ce travail comprend trois parties :

Une partie bibliographique, débutant par une illustration de l'utilisation des plantes médicinales à travers l'histoire puis des notions sur les huiles essentielles, leurs constituants chimiques, leurs méthodes d'extraction ainsi que leurs propriétés, à savoir l'activité antibactérienne, ..etc.. Elle est suivie par des notions sur la mammite.

La deuxième partie, consiste en une présentation détaillée du matériel et des méthodes expérimentales (protocoles) utilisés dans ce travail à savoir:

- L'extraction des huiles essentielles;
- L'évaluation du pouvoir antibactérienne de ces huiles,

La troisième partie est consacrée à la présentation des résultats ainsi que leur interprétation et discussion.

Le document est clôturé par une conclusion générale où quelques perspectives sont citées.

I. Introduction

Depuis la mise au point de protocoles d'extraction et de purification de principe actifs, les plantes ont acquis une importance qui a dépassé les cercles scientifiques spécialisés pour s'imposer, d'abord comme préoccupation scientifique puis comme enjeux à caractère économique et financier entre les plus grande firmes pharmaceutique multinationales.

Les plantes médicinales sont des drogues végétales dont au moins une partie possède des propriétés médicamenteuses (Farnsworth et *al.*, 1981).

La phytothérapie est le traitement par les plantes ; c'est-à-dire par la consommation ou l'utilisation en voie externe de produits préparés à partir de plantes sans passer par une étape de sélection des molécules, on ne consomme donc pas que le principe actif, mais tout ce que contient la plante (Diallo et *al.*, 2006).

Les chercheurs commencèrent à s'intéresser aux composants moléculaires dits métabolites secondaires des plantes qui constituent un groupe de produits naturels qu'il convient d'explorer pour leurs propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires et anticarcinogènes (Epifano et *al.*, 2007). Les principaux composants des plantes médicinales sont les composés phénoliques et les huiles essentielles.

II. Les composés phénoliques

Les composés phénoliques sont considérés comme des métabolites secondaires synthétisés par les plantes au cours de développement afin de se protéger des contraintes biologiques et environnementales (Beckman, 1998 ; Dewick, 2002). Ces métabolites secondaires phénoliques constituent une part importante de l'alimentation humaine et animale, ils possèdent également de remarquables activités pharmacologiques prouvées par de nombreuses études récentes (Apostolidis et *al.*, 2007).

et ils regroupent un ensemble de plus de 8 000 molécules, divisées en une dizaine de classes chimiques, qui présentent toutes un point commun : la présence dans leur structure d'au moins un cycle aromatique à six carbones, lui-même porteur du nombre variable de fonction hydroxyles (Hennebelle et *al.*, 2004).

II.1. Les principales classes des composés phénoliques

Les composés phénoliques peuvent être regroupés en de nombreuses classes chimiques qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base, le degré de modification de ce squelette et enfin les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres. Les représentants les plus connus sont les flavonoïdes, les stilbènes, les acides phénoliques et les tanins (Macheix et *al.*, 2005).

Tableau 1 : Principales classes des composés phénoliques

N°d'atomes de carbone	Squelette de base	Classe	Exemples	plantes
6	c6	Phénols simples	Catèchol,hydroquinone	Busserole
7	c6_c1	Acide phénolsbènzoïques	Ac.galique,vanilline	Artichaut saule
8	c6_c2	Acètophènonnes	3-acètyl6-méthoxybenzaldehyde	Saule
9	c6_c3	Acide phénols Cinnamiques	Ac_couramique, ac-cafeique	Romarin
10	c6_c4	Naphtoquinones	Shikonine	Drosera spp
13	c6_c1_c6	Xanthonnes	Bellidifoline,mangoctine	Racine de gentiane
14	c6_c2_c6	Stiblènes	Hydrogèno ,pinosylvine	Raisin
15	c6_c3_c6	Lignanes	Flavonoïde	Thym, camomile
18	(c6_c3)2	Lignanes	matairènisol	Chardon
30	(c6_c3_c6)2	Bi_flavonoïdes	Amentoflavone	Carciniahypericum
n	(c6_c3_c6)n	Tanins condensés (proanthocyanidols)	aesculitanins	Marronnier d'inde, vigne

(Bruneton, 2009).

III. Les huiles essentielles (HE)

III.1. Historique

En 1928, Gattefosse, chimiste et parfumeur, crée le mot « aromathérapie » et publie en 1931 un ouvrage du même nom dans le quel il décrit la relation entre la structure biochimique de l'huile essentielle et son activité.

En effet, les premiers jardins botaniques modernes, qui ont vu le jour au 16^{ème} siècle, en Italie, à Pise, Padoue et Florence, étaient des jardins de plantes médicinales rattachées à des écoles ou des facultés de médecine (Small et Catling, 2000).

La première mise en évidence de l'action des HE contre les bactéries a été réalisée en 1881 par Delacroix (Boyle, 1955). Depuis, de nombreuses huiles ont été définies comme antibactériennes (Burt, 2004).

L'histoire de l'aromathérapie naquit ainsi et, avec les progrès de la science, de nouveaux principes actifs et de nouvelles propriétés pharmacologiques ont permis de faire des plantes aromatiques et médicinales (PAM) d'authentiques médicaments (Bruneton, 1999).

III.2. Définition d'une huile essentielle

Les HE sont des substances aromatiques liquides odorantes, plus ou moins colorées, volatiles, de nature hydrophobe, totalement solubles dans les alcools, l'éther et dans les huiles végétales et minérales. Leur densité est, en général, inférieure à celle de l'eau. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart des HE dévient la lumière polarisée. A la différence des huiles végétales, les HE ne contiennent pas de corps gras et elles sont sensibles à la décomposition sous l'effet de la chaleur (Hassane et Ballouk, 2001).

III.3. Lieu de production

Les huiles volatiles sont élaborées au sein du cytoplasme des cellules sécrétrices. Cependant, on les trouve aussi bien dans les organes végétatifs que dans les organes reproducteurs. Les HE sont aussi renfermées dans les glandes à huiles, dans les veines, les sacs d'huile ou dans les cellules glandulaires des plantes aromatiques.

Lorsque la plante est laissée intacte, les huiles ne peuvent être entraînées par la vapeur qu'après être passées à travers la paroi des tissus à la surface (Hassane et Abdellah Ballouk, 2001).

Les HE se trouvent dans les glandes minuscules situées dans différentes parties de la plantes aromatiques : dans les feuilles (basilic), dans les fleurs (rose), dans les fruits (citron), dans les graines (corindre), dans l'écorce (cannelle) et dans les racines (ail) (Benmansour, 2001).

III.4. La répartition botanique

Les HES sont largement réparties dans le règne végétal, elles peuvent se rencontrer dans tous les organes végétaux : sommités fleuries, écorce, racine, fruits,...etc, dans une même plante. La composition des HES peut alors varier d'un organe à l'autre (Kambouche, 2000).

III.5. Les méthodes d'obtention des huiles essentielles

III.5.1. L'hydro distillation

Cette méthode est basée sur l'existence d'un azeotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés, l'huile essentielle et l'eau, pris séparément. Ainsi, les composés volatils et l'eau distillent simultanément à une température inférieure à 100°C sous pression atmosphérique normale. En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par sa vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures (Franchomme et *al.*, 1990)

III.5.2. L'enfleurage

C'est une technique utilisée en parfumerie, pour extraire les huiles de fleurs. Les fleurs sont déposées sur des plats couverts d'une couche mince de graisse, les huiles volatiles sont absorbées par la base de graisse, puis récupérées par trois extractions (Evans, 2008).

III.5.3. La distillation à vapeur saturée

Dans cette méthode, le matériel végétal n'est pas en contact avec l'eau. La vapeur d'eau est pulsée à travers la masse végétale, disposée sur des plaques perforées (Bruneton, 2009). Les cellules se relâchent et les particules d'huile se libèrent. Ces dernières sont alors vaporisées et condensées dans un serpentín réfrigéré (Lahlou, 2004). La récupération de l'HE se fait par la même procédure que dans l'hydro distillation. Ce procédé a été mis au point de façon à éviter l'hydrolyse des composants de l'HE ainsi que certaines altérations chimiques pouvant altérer le résultat d'extraction (Verdan, 2002).

III.5.4. Extraction par expression à froid

C'est un processus dans lequel les glandes contenant l'HE au niveau de l'écorce des fruits des Citrus sont écrasées mécaniquement pour libérer leur contenu. Ce

processus d'extraction donne des produits qui ne sont pas entièrement volatils (Kubeczka, 2010).

III.5.5. Extraction par des solvants

Cette méthode consiste à mettre la matière végétale dans un récipient et recouvrir de solvant qui peut être l'hexane, l'éther de pétrole, l'éthanol...etc. L'extrait obtenu peut contenir outre les HE des cires, des resinoïdes et des pigments.

Selon les étapes suivies, on obtient :

- **Une concrète** : qui est un extrait à odeur caractéristique obtenu par extraction à l'aide d'un solvant non aqueux éliminé par la suite par un procédé physique. En pratique on parle d'essence concrète ou essence.
- **L'absolue** : obtenue à partir d'une concrète par extraction à l'éthanol à température ambiante. La solution éthanolique est refroidie et filtrée dans le but de supprimer les cires ; l'éthanol est éliminé par distillation (Richard, 1992).


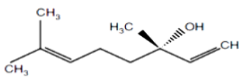
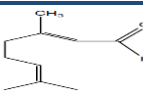

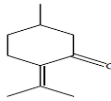
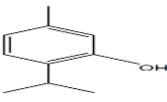
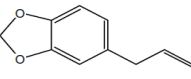

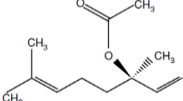
III.6. Conservation des huiles essentielles

Les molécules constituant les HE sont instables ; les possibilités de dégradation sont nombreuses. Elles peuvent modifier les propriétés du produit. On utilise des flacons, propres et secs en aluminium, en acier inoxydables ou en verre teinté antiactinique, presque entièrement remplis et scellés, afin d'éviter l'évaporation, La conservation des flacons se fait à une température variant entre 5°C à 35°C. Dans ces conditions, les HE pures et naturelles se conserveront pendant plusieurs années; au moins 5 ans (Zhiri et Baudoux, 2005).

III.7. Composition chimique des huiles essentielles

La composition chimique est présentée dans le tableau 2.

Tableau 2 : Les compositions des huiles essentielles.

Composition	description	exemple
Hydrocarbures	Contiennent que des atomes de carbone et d'hydrogène	 Limonène
Alcools	Contiennent un groupement hydroxyle attaché à la structure terpénique	 R-(+)-linalol
Aldéhydes	Terpénoïdes avec un groupement carbonyle et un atome d'hydrogène lié au carbone	 Géraniol
Aldéhydes cycliques	Groupement aldéhyde attaché au cycle de benzène	 Benzaldéhyde
Cétones	Contiennent un groupement carbonyle	 Pulégone
Phénols	Un groupement hydroxyle attaché au cycle de benzène	 Thymol
Ethers phénoliques	Contiennent un atome d'oxygène entre le carbone et le cycle de benzène	 Safrole
Oxydes	Contiennent un oxygène faisant un pont entre 2 carbones ou plus	 1,8-cinéole
Esters	Produits de condensation d'un acide et un alcool	 Acétate de linalyle

(Pengelly, 2004).

III.8. Les domaines d'utilisation des huiles essentielles

Les HE font l'objet de plusieurs applications, à savoir: la parfumerie, en cosmétique, dans les produits d'entretien et les produits pharmaceutiques (Narayana et *al.*, 2001), en agroalimentaire, en psychothérapie et même en kinésithérapie (Smadja, 2009).

III.9. L'Activités biologique des huiles essentielles

Une partie des métabolites secondaires se concentre dans les sacs oléifères, qui sont des poches sécrétrices d'HE (Duquenois, 1968). L'exploration des HE pour la recherche de molécules à activité antibiotique semble donc être une voie intéressante (Guinoiseau, 2010).

III.9.1. L'activité antibactérienne

Les vertus antimicrobiennes des HE sont connues et utilisées depuis longtemps, mais cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelle (Hala et Carla, 2000).

On distingue deux sortes d'effets des HES : une activité létale ou bactéricide et une activité bactériostatique ou inhibition de la croissance. Le plus souvent, l'action des HE est assimilée à un effet bactériostatique. Cependant, certains de leurs constituants chimiques semblent avoir des propriétés bactéricides (Wallace, 2004).

III.9.2. L'activité antifongique

Les HES agissent négativement contre le développement des champignons, en diminuant leur croissance. Les méthodes utilisées pour évaluer cette activité sont nombreuses. Elles donnent, parfois, des résultats différents, selon les conditions expérimentales adoptées par chaque manipulateur. Certaines HE sont, également, actives sur des champignons responsables de mycoses (Zhiri, 2006).

III.9.3. L'activité antivirale

Les virus sont très sensibles aux molécules aromatiques contenues dans les HE. Ce qui leur confère la capacité de combattre certaines pathologies virales. Les HE arrêtent le développement des virus et facilitent l'élimination du mucus, tout en stimulant le système immunitaire (Burt, 2007).

III.9.4. L'activité antioxydante

Les antioxydants naturels sont également étudiés dans le but de trouver de nouvelles structures modèles, pour le développement des médicaments thérapeutiques ou protecteurs. Ils représentent une alternative à l'utilisation d'antioxydants synthétiques, tels que le butylhydroxytoluène (BHT) ou le butylhydroxyanisole (BHA) (Cavin, 1999).

Ces antioxydants naturels ont des mécanismes d'action divers : captage de l'oxygène singulet, désactivation des radicaux par réaction d'addition covalente, réduction des radicaux ou peroxydes, complexations d'ions et de métaux de transition (Larson, 1995).

III.10. Le mode d'action des huiles essentielles

En effet, en raison de leur caractère lipophile, leurs constituants se lient aux membranes cellulaires des microorganismes. Parmi les effets qui pourraient être induits par les HE:

- L'inhibition des échanges d'électrons membranaires lors des phosphorylations oxydatives.
- L'inhibition du métabolisme énergétique.
- La lyse membranaire et la dénaturation des protéines cytoplasmiques en cas de fortes concentrations en HE (Burt, 2007).

IV. Les plantes étudiées

IV.1. *Artemisia herba alba*

Artemisia herba alba Asso (Armoise blanche) est une espèce de la famille des Asteraceae de l'Afrique du Nord (Quezel et Santa, 1962). Elle est très répandue sur les hauts plateaux dans l'étage bioclimatique semi-aride frais (Djebaili, 1984)

A. herba alba représente une importante ressource fourragère. (Nikolova et al, 2010) D'après des éleveurs, cette espèce est souvent préconisée dans l'alimentation des ovins comme vermifuge. (Mohamed Houmani, 2004) Elle est aussi utilisée dans la médecine traditionnelle pour faciliter la digestion, calmer les douleurs abdominales et celles du foie, dans le traitement du diabète et comme vermifuge ; (Baba Aissa, 2000) Les racines sont efficaces contre les convulsions (Nikolova et al, 2010).

C'est une plante méditerranéenne, bien adaptée aux conditions climatiques arides. Au Maroc, elle s'étend principalement sur les hauts plateaux de l'Oriental et sur les basses et

moyennes altitudes des chaînes de l'Atlas. Elle se caractérise par une bonne valeur fourragère et par une composition en huiles essentielles ayant des propriétés antiseptiques, vermifuges et antispasmodiques. Ces propriétés expliquent son utilisation en médecine traditionnelle et en alimentation animale (Hassane et Ballouk ;2001)

Description :

Plante herbacée vivace à feuilles dentées de couleur vert foncé, à grappes de petits capitules rougeâtres ou jaunes (1 m de haut)(Paul Iserin ,2001)

Habitat et culture

L'armoise pousse dans les régions tempérées de l'hémisphère Nord, sur les friches et dans les haies. On la récolte à la fin de l'été, avant la floraison.

parties utilisées Feuilles, racine (Paul Iserin ,2001)

Systématique de la plante

Règne : <i>Plantae</i>	Ordre : <i>Asterales</i>
Sous-règne : <i>Tracheobionta</i>	Famille : <i>Asteraceae</i>
Division: <i>Magnoliophyta</i>	Genre : <i>Artemisia</i>
Classe : <i>Magnoliopsida</i>	Espèce : <i>A. herba alba</i> (شايح)
Sous-classe : <i>Asteridae</i>	

IV.2. *Thymus vulgaris*

Plante vivace d'un vert grisâtre (surtout l'été), à tiges ligneuses et à rameaux dressés, compacts ; feuilles très petites, ovales lancéolées, charnues, veloutées, à bords enroulés, plus ou moins sessiles et opposées ; fleurs roses ou blanchâtres, en épis courts, axillaires et terminaux ; calice bossu, velu ; tétrakènes brunâtres ; saveur aromatique légèrement piquante(Baba Aissa, 1999)

L'utilisation du Thym est l'un des remèdes populaires les plus utiles, dans les traitements des affections respiratoires (rhumes, gripes, angines) et des troubles gastriques (dyspepsies, crampes, flatuosités). Son essence a une action neutralisante spectaculaire sur les cultures microbiennes (Baba Aissa, 1999)

Plante de la famille de Lamiacées. Le Thym est utilisé comme aromate en cuisine et comme plante, dans les tisanes pour soigner toutes les infections respiratoires ou même dans les bonbons. Aussi c'est un excellent calmant pour les nerfs. (Lamia Hamrouni, 2012),

Systématique de la plante

Règne: Plantae	Ordre: Lamiales
Embranchement: Spermatophyte	Famille: Lamiaceae
Sous-embranchement: Magnoliophyta (Angiosperme)	Genre: Thymus
Classe: Magnoliopsida (Dicotylédone)	Espèce: <i>Thymus vulgaris</i>

IV.3. Myrtus communis

Arbuste de 2 à 3 mètres de hauteur, buissonnant et touffu aux feuilles brillantes, Le myrte a des rameaux brun-rouge, les feuilles sont persistantes, ovales et pointues, de couleur vert foncé assez luisantes, (Brosse, 2000) elles sont coriaces. Ses fleurs sont blanches au parfum sucré, elles donnent des petites baies noires en automne. (Faucon, 2012)

Composition et Situation géographique

Monoterpènes 60% : -pinène (28,5 à 30%)

Se trouve dans tout le bassin méditerranéen, typique des maquis du sud de la France et de la Corse. Origines : Corse pour le myrte vert et Maroc pour le myrte rouge (Angioni A., Barra A. et Tuberoso C. (2006).

Classification systématique

Position systématique	Classe : Dicotylédones
Règne : Plantae	Ordre : Myrtales
Sous-règne : Eucaryotes	Famille : Myrtaceae
Embranchement : Spermaphytes	Genre : Myrtus
Sous-embranchement : Angiospermes	Espèce : <i>Myrtus Communis</i> L. (Quezel et Santa, 1963).

IV.4. *Rosmarinus officinalis* (Lamiacées)

Description

Le romarin peut atteindre jusqu'à 1,50 m de hauteur, voire jusqu'à 2 m en culture. Il est reconnaissable en toute saison à ses feuilles persistantes sans pétiole, coriaces, beaucoup plus longues que larges, aux bords légèrement enroulés, vert sombre luisant sur le dessus, blanchâtres en dessous. Leur odeur, très camphrée, évoque aussi l'encens d'où il doit son nom « *encensier* » en provençal (Quezel et Santa, 1963).

Plante aromatique originaire du littoral méditerranéen. Elle possède des propriétés antiseptique et diurétique. Le romarin est connu comme stimulant des sécrétions digestives, on lui reconnaît actuellement un effet de stimulation de l'activité cérébrale, d'amélioration de la mémoire, contre le vieillissement et pour calmer les douleurs abdominales (Lamia, 2012).

Classification systématique

Règne	Plantae	Ordre	Lamiales
Division	Magnoliophyta	Famille	Lamiaceae
Classe	Magnoliopsida	Genre	Rosmarinus

(Quezel et Santa, 1963).

Chapitre 2. Etude de la mammite

I. Définition

Une mammite est l'inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle (Fetrow et *al.*, 2008). C'est la réaction de défense contre une agression locale de la mamelle, la plupart du temps d'origine infectieuse (Noireterre, 2006).

II. Etiologie

La plupart des infections mammaires sont d'origine bactérienne. Les mammites mycosiques sont rares (Noireterre, 2006). Plusieurs familles de bactéries peuvent causer la mammite chez les vaches laitières. Leur façon d'infecter les vaches nous permet de les diviser en deux grandes catégories épidémiologiques: les bactéries contagieuses et les bactéries environnementales. Dans les deux cas, ces bactéries sont aussi appelées « agents pathogènes majeurs » en raison de leur importance épidémiologique et économique pour l'industrie laitière (Van Oostveldt et *al.*, 2001).

De nombreux autres agents infectieux constituent un groupe disparate et peuvent aussi causer des infections intra mammaires. Ils sont souvent désignés comme les « agents pathogènes mineurs » de la mammite (Fetrow et *al.*, 2008).

Genre Staphylococcus

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin, d'où leur nom (en grec staphylos), ils sont immobiles et cultivent sur des milieux contenant 5% de Na Cl et pour certains jusqu'à 10 et même 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs.

Les staphylocoques sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme, mais ils le sont plus fréquemment et en plus forte densité sur les surfaces cutano – muqueuses des mammifères.

Il existe une certaine relation entre les espèces de staphylocoques et l'hôte qui les héberge. *S.epidermidis* est l'espèce la plus fréquente et la plus abondante sur les surfaces cutanées de l'homme. *S.aureus* est l'espèce prédominante chez l'homme et autres mammifères, la cavité nasale de l'homme est sa niche préférentielle (Leclerc H et *al.*, 1995)

Tableau 03 : Classification des germes responsables des mammites.

Type de mammité	Germes majeurs	Germes mineurs	Germes environnementaux	Germe contagieux
Clinique	<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylocoques à coagulase négative	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Streptocoque</i>			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pasteurella hemolytica</i>	<i>Streptococcus uberis</i>	
	<i>Mycoplasma bovis</i>			
Sub-clinique	<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylocoques à coagulase négative	<i>Escherichia-coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	<i>Streptocoque</i>			
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Corynébactérium bovis</i>	<i>Streptococcus uberis</i>	
	<i>Bacillus cereus</i>			

DesCoteaux et Roy (2004).

III. Symptômes

Selon la symptomatologie rencontrée nous distinguons :

III.1. Mammites cliniques

Elles sont caractérisées par des:

- _ Symptômes fonctionnels telle qu'une modification de la sécrétion de la glande mammaire et un changement de l'aspect du lait,
- _ Symptômes anatomiques locaux marquant les différents stades de l'inflammation (rougeur, tuméfaction, chaleur et douleur de la mamelle ou du quartier atteint),
- _ Symptômes généraux (abattement, anorexie, hyperthermie, non rumination, déshydratation, troubles locomoteurs) résultant d'une intoxication (Gilbert et al, 1997 ; Taemchuay, 2009).

Selon l'évolution, on distingue trois types de mammites cliniques :

III.1.1. Mammites suraiguës

Elles s'accompagnent d'une très forte réaction inflammatoire et de symptômes graves. Aux signes locaux spectaculaires (congestion, œdème, sécrétion du lait décomposée ou purulente, abcès, fistule et gangrène), sont associés des signes généraux plus au moins

intense (hyper ou hypothermie, troubles nerveux, station couchée et amaigrissement). Ces mammites entraînent toujours d'importantes chutes de production. Quelquefois, la perte d'un quartier ou d'autres lésions fonctionnelles irréversibles conduisent à la réforme, exceptionnellement à la mort de l'animal (Erskine, 2004).

Dans ce type de mammites, on distingue la mammité paraplégique où la vache est en décubitus, avec généralement de la fièvre, et parfois de la diarrhée, et dont la sécrétion a un aspect de la bière ; et la mammité gangreneuse où l'inflammation du quartier infecté est très importante et conduit à la nécrose de celui-ci, après apparition d'un sillon disjoncteur (Descoteaux et Roy, 2004).

III.1.2. Mammites aiguës

Le quartier est enflammé, la sécrétion est modifiée avec des grumeaux. Les symptômes généraux sont peu marqués. L'évolution est plus lente et généralement ne se solde pas par la mort de l'animal. En l'absence de traitement, l'évolution vers la chronicité est fréquente. Tous les germes potentiellement responsables de mammité peuvent être isolés (Duval, 1995).

III.1.3. Mammites chroniques

Elles sont secondaires à une mammité aiguë. Les symptômes locaux sont discrets ; lentement le quartier évolue vers l'atrophie du fait de l'installation de zones de fibrose cicatricielle. La mamelle devient noueuse à la palpation. La sécrétion n'est souvent modifiée qu'en début de traite. L'évolution est lente vers le tarissement de la sécrétion au bout de plusieurs mois. Tous les germes donnant des mammites peuvent être isolés (Noireterre, 2006).

III.2. Mammites subcliniques

Elles ne s'accompagnent d'aucun changement macroscopique du lait, mais se manifestent par un comptage leucocytaire ou de cellules somatiques (CCS) élevé (Descoteaux et Roy, 2004) et une altération des propriétés chimiques du lait (Taemchuay, 2009).

Les trois espèces bactériennes impliquées à savoir *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* et *Streptococcus agalactiae*, sont principalement responsables de mammites subcliniques (Gilbert *et al.*, 1997).

IV. Diagnostic

IV.1. Diagnostic des mammites cliniques

IV.1.1. Signes généraux

Présents lors de mammites aiguës et surtout suraiguës, ils sont d'intensité variable et vont de la simple baisse d'appétit, avec ou sans fièvre, à la prostration complète, voire au coma par intoxication et parfois à la mort (Poutrel, 1985).

IV.1.2. Signes locaux

Ils sont mis en évidence par l'inspection et la palpation du pis et des trayons. Certains signes locaux sont assez caractéristiques: gangrène, quartier très enflammé associé à une agalaxie du reste de la glande, nombreux abcès contenant un pus caséux, verdâtre et nauséabond (Hanzen, 2010).

IV.1.3. Signes fonctionnels

Les signes fonctionnels concernent les modifications macroscopiques visibles dans le lait. Ces modifications concernent l'aspect, la coloration et l'homogénéité du lait et nécessitent des tests afin de les identifier (Piccinini et al, 2009).

IV.1.3.1. Test du bol de traite ou du filtre

Il consiste à recueillir, avant la traite, les premiers jets de lait de chaque quartier dans un récipient et à en examiner l'aspect. Le récipient peut être muni d'un filtre (petit tamis, passoire à thé) pour la mise en évidence de grumeaux, signes d'une inflammation et du passage dans le lait de facteurs de coagulation (Hanzen, 2009).

IV.1.3.2. Test d'homogénéité

Il faut recueillir quelques jets de lait dans un récipient en verre (tube à essai, flacon à prélèvement), de laisser reposer quelques minutes, puis d'observer l'aspect, l'homogénéité et la coloration du produit. On peut mettre en évidence un lait de couleur rougeâtre contenant des caillots sanguins lors d'hémolactation ou de mammites dues à des germes producteurs d'hémolysine. Lors de mammité à entérobactéries, le produit de sécrétion ressemble à de l'urine (ou de la bière) dans laquelle flotteraient quelques grumeaux. Parfois, c'est un pus crémeux, verdâtre et nauséabond qui est recueilli, lors de mammites à corynebactéries. Enfin, on peut ne trouver qu'un lait aqueux sans modifications particulières (Hanzen, 2013).

IV.2. Diagnostic des mammites subcliniques

IV.2.1. Diagnostic individuel des mammites subcliniques

Il repose d'une manière générale sur la mise en évidence des conséquences cellulaires et/ou biochimiques de l'état inflammatoire de la mamelle (Hanzen, 2009).

IV.2.1.1. Techniques de numération cellulaire

Les cellules présentes dans le lait sont pour la majorité d'entre elles d'origine sanguine. Elles sont représentées par les globules rouges (rares), les leucocytes polynucléaires neutrophiles surtout, acidophiles (rares), basophiles (très rares), les leucocytes mononucléaires tels les lymphocytes et les monocytes, les histiocytes, les macrophages et enfin les cellules épithéliales, résultat de l'abrasion de l'épithélium galactophore et de sa desquamation naturelle. Les lymphocytes (de type T pour la plupart) libèrent des lymphokines qui par chimiotactisme initialisent l'afflux des polynucléaires neutrophiles (Lam et *al*, 1997).

La numération des cellules sanguines peut être réalisée directement au microscope après étalement et coloration ou à l'aide d'appareils automatiques de type Coulter Counter ou Fossomatic ou indirectement par des tests tels les tests de la catalase, le test de Whiteside, le Californian Mastitis Test ou par le Brabant Mastitis Test (Hanzen, 2009).

IV.2.1.1.1. Comptage cellulaire individuel

Le comptage direct au microscope a été délaissé au profit du comptage électronique plus rapide réalisé sur le lait de mélange des quatre quartiers de chaque vache du troupeau (CCI : Comptage Cellulaire Individuel), réalisé dans le cadre du contrôle laitier (prélèvements mensuels) ou dans le cadre d'un plan de prophylaxie des mammites (Hanzen, 2009).

IV.2.1.1.2. Fossomatic

Ce comptage utilise l'appareil « FOSSOMATIC » qui est un microscope automatique à fluorescence. Les noyaux des cellules du lait sont rendus fluorescents par un colorant, le bromure d'éthidium, qui se fixe sur l'A.D.N. Après cette coloration, le lait est étalé sous forme d'un film très fin de 10 microns d'épaisseur sur le pourtour d'un disque rotatif qui sert de porte-objet pour le microscope. Chaque noyau, excité par la lumière d'une lampe au xénon, renvoie une lumière rouge qui est captée par le microscope lorsque le noyau passe sous l'objectif. Ces émissions de lumière sont transformées en signaux électriques qui sont comptabilisés (Taemchuay, 2009).

IV.2.1.1.3. Coulter-Counter

Le Coulter-Counter totalise les impulsions électriques qui résultent du passage de particules à travers un orifice situé entre deux électrodes. Quand une particule passe par

l'ouverture, la résistance entre les deux électrodes est modifiée, produisant une impulsion électrique proportionnelle au volume de la particule. L'appareil est calibré de façon à ce que les particules étrangères ne soient pas comptées (Lam et *al*, 1997).

IV.2.1.1.4. California Mastitis Test (CMT)

Développé depuis 1957, ce test est quantitatif indirect, peu onéreux et facile à réaliser sur le terrain. Le CMT est basé sur l'emploi d'un détergent tensioactif (solution de Teepol à 10%) et d'un colorant (pourpre de bromocrésol) sur le lait. Après élimination des premiers jets, un peu de lait (2 ml environ) est recueilli dans une coupelle transparente. On ajoute au lait prélevé une quantité égale du tensioactif et par un mouvement de rotation, on mélange les deux liquides dans les coupelles. Il se forme un précipité dont l'importance et la consistance sont fonction de la teneur en cellule de l'échantillon (Brouillette, 2005).

IV.2.2. Diagnostic immunologique des mammites individuelles

IV.2.2.1. Test immuno-enzymatique, ELISA

ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) est basé sur la détection d'anticorps spécifiques présents dans le lait lors de l'infection (Gilbert et *al*, 1997).

ELISA peut mettre en évidence un antigène ou un anticorps. Le complexe antigène anticorps formé est révélé au moyen d'une réaction enzymatique colorée, quantitativement mesurable. La recherche des anticorps (IgG surtout) peut se faire sur le lait entier ou sur le lactosérum après coagulation.

La mise en évidence des antigènes est souvent rendue difficile par la faible concentration en bactéries des laits infectés (Hanzen, 2009).

IV.2.2.2. Test de l'anneau

Creamrising tests : les IgA et IgM sécrétées localement en réponse à une infection sont pour une bonne part fixées à la surface des globules gras. Si des bactéries préalablement chlorées et mélangées au lait sont reconnues par ces anticorps, elles forment avec les globules gras un réseau qui remonte avec la crème formant un anneau de couleur (Hanzen, 2009).

IV.2.2.3. Test de l'hybridation moléculaire ou sondes

Il est plus récente mais aussi la plus lourde des techniques. Elle consiste à identifier une fraction du génome de la bactérie à l'aide d'une sonde c'est-à-dire d'un fragment d'ADN

ou d'ARN complémentaire de cette fraction. Cette sonde a été préalablement marquée à l'aide d'un isotope radioactif (sonde chaude) ou d'une enzyme (sonde froide). La réaction est révélée sur un film photographique ou par réaction enzymatique colorée (Hanzen, 2009).

IV.2.2.4. Test au latex

Selon Hanzen, ce test est basé sur des billes de latex de 0.008 à 0.01 mm de diamètre, éventuellement colorées sont fixés soit des antigènes soit des anticorps. La mise en présence de ces billes avec le lait contenant les anticorps ou les antigènes correspondant entraîne en quelques secondes une agglutination visible à l'œil nu. Ce principe a déjà fait l'objet d'applications commerciales.

La détection d'antigènes n'est cependant possible que s'ils sont en concentration suffisante d'où la nécessité d'un enrichissement préalable.

IV.2.3. Diagnostic bactériologique des mammites subcliniques

L'examen bactériologique est lourd, coûteux, il n'est utilisé que lors d'échec thérapeutique ou d'épizootie dans un élevage (Noireterre, 2006).

Selon (Noireterre, 2006).pour l'isolement des bactéries, il est impératif d'utiliser un milieu solide, non sélectif.

Une gélose au sang de mouton, coulée en boîte de Pétri, est le milieu de référence pour le diagnostic des mammites. Il permet la croissance de quasiment tous les micro-organismes pouvant être responsables d'infections mammaires, et donne des éléments d'orientation pour le diagnostic. Après incubation, des colonies se développent à la surface de la gélose.

Isolement des colonies

Tout isolement bactérien mérite d'être pris en compte quelle que soit son abondance, sous réserve que le prélèvement ait été réalisé de façon à éviter d'introduire des contaminants du milieu extérieur. Généralement, une seule espèce bactérienne est responsable de l'infection. L'association de deux espèces est rare, celle de trois tout à fait exceptionnelle et doit conduire à poser alors le problème de la qualité du prélèvement. La présence de plus de deux types de colonies conduit à déclarer le prélèvement contaminé (Brouillette, 2005)

Identification du germe

C'est bien l'identification qui fait la différence entre le laboratoire d'analyse et la paille du cabinet vétérinaire. Quatre tests simples permettent néanmoins une orientation

diagnostic satisfaisante : la coloration de Gram, la recherche de la catalase, de la coagulase liée (*clumping factor*) pour les staphylocoques et l'hydrolyse de l'esculine (Brouillette, 2005)

IV.2.4. Diagnostic par PCR (Polymerase Chain Reaction)

La technique utilisée pour analyser l'ADN des bactéries est l'amplification en chaîne par polymérase, mieux connue sous son acronyme anglais : PCR. Certains laboratoires offrent le service PCR pour le diagnostic de la mammité depuis quelques années déjà, mais les tests disponibles ne permettent d'identifier qu'une seule bactérie à la fois et sont plus coûteux que la culture bactérienne traditionnelle.

Toutefois, de nouveaux tests PCR permettant d'identifier plusieurs agents pathogènes en même temps font depuis peu leur apparition sur le marché. On les appelle PCR multiplexe. Pour la plupart, ces tests permettent même de mesurer la quantité de bactéries dans l'échantillon.

Dans ce cas, on dit du PCR qu'il est en temps réel. En laboratoire, ces tests sont très efficaces et offrent une avenue prometteuse dans le diagnostic de la mammité (Brouillette, 2005)

V. Traitement des mammites

V.1. Traitement des mammites cliniques

Il faut traiter la mammité clinique le plus précocement possible afin de garantir une plus grande efficacité du traitement. Un traitement par voie intramammaire doit être réalisé systématiquement. Le produit utilisé et le mode de traitement (durée, délai d'attente, association ou non avec un traitement par voie générale) doivent être prescrits par le vétérinaire. Pour réaliser les traitements intramammaires, des précautions sont à prendre :

- 1- vidanger la mamelle pour éliminer le lait chargé en bactéries.
- 2- désinfecter le bout du trayon pour éviter que de nouvelles bactéries ne soient introduites dans la mamelle.
- 3- injecter le produit en respectant la prescription.
- 4- désinfecter par trempage le trayon pour le protéger, le temps que le sphincter ne se referme.
- 5- identifier l'animal traité pour écarter son lait pendant le délai d'attente. Durant ce délai, le lait contient des résidus d'antibiotiques et se rend impropre à la consommation.
- 6- noter la date du traitement et le délai d'attente pour ne pas l'oublier.

- 7- noter le numéro de l'animal, et son traitement sur un cahier d'élevage afin de surveiller l'évolution de l'état de santé de la mamelle sur le reste de la lactation et de disposer de cette information au moment du tarissement.
- 8- traire les deux demi-mamelle de l'animal traité à la main dans un récipient réservé à cet usage, pour éviter tout risque de transmission de l'infection et de résidus antibiotiques (Debert, 2001).

V.2. Traitement des mammites subcliniques

Pour des raisons économiques et épidémiologiques, le traitement des mammites subcliniques, diagnostiquées sur la base de concentration cellulaires individuelles élevées, n'a pas lieu d'être fait en cours de lactation. D'une part les germes en causes sont suffisamment installés dans la mamelle pour résister à un antibiotique d'action courte et leur multiplication suffisamment faible pour ne pas représenter une source majeure de contagion. D'autre part, le manque à gagner lié au retrait du lait durant un délai d'attente n'est pas garanti par une amélioration de la qualité après traitement. C'est au cours de tarissement que l'administration d'une suspension intramammaire élimine l'infection, l'arrêt de la traite améliore alors la persistance, l'efficacité de l'antibiotique. Actuellement, la cure au tarissement est systématique et réalisée avec un double objectif : curative et préventive (Debert, 2001).

V.3. Traitements complémentaires des mammites

V.3.1. Traitements hygiéniques

La traite fréquente constitue une démarche logique pour traiter une mammité. Son rôle est de renouveler les leucocytes présents dans la glande mammaire. En effet, après quelques heures dans du lait, les polynucléaires et les macrophages perdent toute activité phagocytaire suite à l'ingestion de protéines et de matière grasse. La traite permet d'éliminer ces leucocytes et de les remplacer par une population nouvelle et donc beaucoup plus efficace pour lutter contre l'infection (Hanzen, 2013).

V.3.2. Traitements médicaux

D'après Hanzen (2013), La corticothérapie par voie générale est indiquée lors de mammité suraiguë afin de lutter contre le choc toxique.

L'acidose métabolique parfois observée en cas de mammite colibacillaire sera corrigée au moyen d'une solution bicarbonatée à 5 %. L'endotoxine colibacillaire serait douée de propriétés hypocalcémiantes. Cela a conduit certains auteurs à proposer la calcithérapie.

La vaccinothérapie à l'aide de vaccins du commerce ou d'autovaccins préparés avec une souche isolée de l'exploitation, a longtemps été préconisée ; l'efficacité d'une telle thérapeutique est aujourd'hui fortement contestée (Wallemacq *et al.*, 2009).

L'application d'argile (argilo-thérapie) a été recommandée compte tenu de son pouvoir absorbant. Le cataplasme utilisera de l'argile blanche verte ou grise qui sera mélangée à de l'eau ou à de l'huile d'olive ou à un mélange 50/50 des deux. Le produit final doit être assez liquide tout en adhérant fermement sur le pis. Une application sera réalisée deux à trois fois par jour.

V.3.3. La phytothérapie

La phytothérapie utilise la plante entière ou une partie de plante (feuilles, fleurs et graines) soit en poudre soit en macération ou en infusion. Les principes actifs de la phytothérapie sont nombreux car la plante contient des centaines de molécules différentes (éléments minéraux, molécules organiques), il n'y a pas de purification des molécules recherchées comme dans les médicaments de synthèse. Des plantes de l'exploitation peuvent servir à fabriquer des remèdes (infusions et décoction). Pour une vache, la posologie journalière est de faire infuser 150 à 250 g plantes sèches dans environ 3 l d'eau (Cowan, 1999)

En aromathérapie, le matériel végétal est distillé pour récupérer des huiles essentielles (HE). Ce sont donc des produits de composition complexe, renfermant des principes volatils contenus dans les végétaux et très concentrés en principes actifs. Elles sont par conséquent à manipuler avec précaution car elles passent la barrière cutanée et peuvent exprimer une toxicité. Sauf exception, on n'utilise jamais les huiles essentielles pures mais diluées dans un corps gras et on évite l'administration par voie orale et intramammaire. C'est une médication d'intervention très efficace dont les résultats sont équivalents aux antibiotiques actuellement. Pour une vache, la posologie maximale est de 5 grammes par jour (Chrsitophe, 2008)

Les HE sont appliqués soit en massage sur la mamelle, soit en application sur l'échine de la vache. Pour le massage, on utilise un gel neutre avec 15% de cétiol, mélangé aux gouttes d'huiles essentielles : elle pénètre mieux dans la mamelle, et le massage permet de bien suivre l'évolution de l'inflammation (Duval, 1995).

La voie transcutanée est à privilégier de part sa rapidité d'action et sa simplicité. Attention à leur utilisation car certaines huiles peuvent être agressives pour la peau ou les muqueuses, il est donc important de les diluer dans de l'huile végétale.

Bien que le champ d'action des huiles essentielles soit large, leur principale propriété reconnue est leur action antimicrobienne. Les HE de thym et de lavandes illustrent ce rôle d'antiseptiques généraux. Un exemple de traitement de mammite consiste en un mélange de *ravensara aromatica* + *mentha piperita* + *eucalyptus citriodora* à appliquer diluée sur les quartiers atteints (Mubarak, 2011).

Parmi les méthodes ayant prouvé une réelle activité nous pouvons citer celle de Christophe (2008).

Ces protocoles de traitement restent très variés est souvent associés à une autre méthode de traitement. Elles restent une alternative très intéressante et mérite des études plus approfondies et détaillées.

VI. La prévention des mammites

Elle passe en respectant et en application certaines règles :

- ✓ S'assurer que les trayons sont propres et bien asséchés avant la traite.
- ✓ L'utilisation d'un bain de trayon en prétraite (pré trempage) permet de diminuer la population bactérienne au bout du trayon avant la traite.
- ✓ Maintenir une litière propre et sèche en quantité adéquate.
- ✓ Maintenir la cour, le pâturage et les chemins secs.
- ✓ Entretien de l'équipement de traite pour réduire le glissement des manchons.
- ✓ Traiter universel au tarissement pour éliminer et prévenir les infections.
- ✓ Utilisation de la vaccination contre la mammite à *E.coli* (Descôteaux, 2004).
- ✓ Lorsqu'il y a un changement dans l'alimentation, celui-ci doit être progressif. On doit éviter les excès particulièrement pour ce qui est des concentrés et des aliments riches en azote non protéique (ex.: ensilage de luzerne et maïs-grain humide). Il faut assurer un rapport calcium-phosphore de 1,4 à 1,8, même en période de tarissement. Il peut être bon de donner des suppléments de sélénium et de vitamine E si la ration ne fournit pas le minimum nécessaire (Duval, 1995).

Notre essai vise à rechercher une alternative intéressante à proposer à la place des antibiotiques dans le traitement des mammites bovines. Il a pour objectif d'évaluer in vitro l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de quatre plantes : *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Artimisia herba alba* et *Myrtus communis*.

Ce travail a été réalisé au sein du laboratoire du département de biologie à l'Université de Laghouat.

1.1.1. Souches bactériennes

Différentes souches bactériennes isolées de mammites cliniques et subcliniques ont fait l'objet d'une évaluation de leur sensibilité in vitro aux antibiotiques. Ces souches ont été isolées durant l'année 2012 à l'Algérie à partir Aine Defla par Saidi et *al.*, 2010.

Elles se répartissent comme suit : 10 souches de staphylocoques coagulase positive, 35 souches de staphylocoques coagulase négative et 35 espèces bactériennes de groupe des entérobactéries.

Suite à l'antibiogramme, nous avons choisi que les bactéries multi résistantes : résistance à plus de deux antibiotiques. L'essai in vitro s'est effectué sur ces dernières. Elles sont au nombre de 5 représentés dans le tableau () (Saidi et *al.*, 2010)

Tableau 04 : les souches testées contre les extraits des plantes.

souches	Code	Nombre de résistance
SCN	53	7
SCN	43	6
SCP	82	7
SCN	39	4
SCN	46	7

1.1.2. Antibiotiques

Les vingt un (21) antibiotiques testés ont été sélectionnés parmi les molécules actives actuellement sur les staphylocoques (contre 12 différents antibiotiques). La plupart sont employés dans le traitement des mammites en lactation et / ou hors lactation (Anonyme, 2001).

Les disques d'antibiotiques testés sont les suivants :

Tableau 05 : Les différents disques d'antibiotiques testés.

Famille	L'antibiotique	abréviation	Concentration (µg)
β.lactamines	Pénicilline G	P	6
	Ampicilline	AMP	10
	Amoxicilline	AM	30
	Oxacilline	OX	1
	Amoxicilline + Acide Clavulanique	AMC	10
Céphalosporines	Cefotaxime	CTX	30
	Céfoxitine	FOX	30
	Céfodiazin	Cz	30
	Ceftiofur	XNL	30
Aminoglycosides	Clindamycine	CM	2
	Gentamicine	G	10
	Néomycine	N	30
Quinolones	Fluméquine	FT	30
	Chloramphénicol	C	30
	Acide nalidixique	NA	30
Macrolides	Erythromycine	E	15
	Enrofloxacin	ENR	5
Lincosamides	Vancomycine	VA	30
Association sulfamides diaminopyrimidines	Triméthoprime	SXT	1,25
	Sulfaméthoxazole		23,75
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30
Polypeptides	Colistine	CL	50

(Saidi et al., 2010)

1.1.3. Plantes testées

1.1.3.1. Choix des plantes

Dans le but de rechercher une alternative suite aux échecs thérapeutiques par des antibiotiques rencontrés sur le terrain dans le traitement des mammites bovines, notre choix s'est orienté vers une nouvelle approche non encore adoptée en Algérie : la phytothérapie. Mais, comme première étape, une évaluation *in vitro* est indispensable avant tout essai clinique. Cette évaluation a pour but de rechercher une réelle activité des extraits de certaines plantes traditionnellement utilisées en médecine traditionnelle contre les germes les plus fréquemment responsables de la maladie, entre autre staphylocoques.

Dans cette étude, nous avons sélectionné les plantes sur la base des critères suivants :

- Utilisées traditionnellement dans le traitement des maladies d'origine microbienne.
- La disponibilité de ces plantes.
- Leur potentiel en métabolites secondaires : composés phénoliques avec les huiles essentielles.
- Ces plantes doivent être non toxiques en raison de protéger le produit final qui est le lait et la santé de l'animal (la vache).

Le choix s'est arrêté sur quatre plantes. Ces dernières se sont révélées les plus utilisées en médecine traditionnelle.

Les plantes utilisées dans ce travail se trouvent sur le marché tout au long de l'année, pour leur importance majeure et leur usage quotidien dans la cuisine Algérienne. Elles ont été achetées sous forme séchée, quatre (4) plantes ont été utilisées comme source de métabolite secondaire ; les plantes ont été achetées chez un herboriste du Maamoura au niveau de la wilaya de Laghouat. Pour *Myrtus communis*, elle a été prélevée des montagnes de Jijel, comme le montre le tableau (5) , ainsi que le figure (1).

Tableau 06 : Régions de collecte des plantes utilisées et les parties testées des plantes.

Noms des plantes	Famille	Noms communs	Noms en arabe	Région de la collecte		Partie collectée et testée	L'utilisation médicinale
				Willaya	Localité		
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Labiées	Romarin	أكليل الجبل	Laghout	Maamoura	partie aérienne	Stimulation de l'activité cérébrale, amélioration de la mémoire, contre le vieillissement et pour calmer les douleurs abdominales (Paul, 2001).
<i>Thymus vulgaris</i>	Labiées	Thym	زعتر	Laghout	Maamoura	partie aérienne	Les traitements des affections respiratoires (rhumes, gripes, angines) et des troubles gastriques. (Baba Aissa, 2000).
<i>Artemisia herba alba</i>	Astéracées	Armoise blanche	شيج	Laghout	Aflou	partie aérienne	Faciliter la digestion, calmer les douleurs abdominales, contre les convulsions (Mohamed, 2004).
<i>Myrtus communis</i>	Myrtacées	Myrte	الريحان	Jijel	Jijel	partie aérienne	Contre les bronchites, les catarrhes muco-purulentes, la tuberculose pulmonaire, la rhinorrhées ; effet hypoglycémique (Mimica et al., 2010; Baba Aissa, 1999).



A



B



C



D

Figure 01 : Les quatre plantes étudiées, A : *Artimisia herba alba*, B : *Myrtus communis*, C : *Rosmarinus officinalis* D : *Thymus vulgaris* (Paul, 2001).

1.1.4. Produits utilisés

1.1.4.1. Milieu de culture

Le tableau suivant nous montre les milieux de culture utilisés pour réaliser notre essai in vitro.

Tableau 06: milieux de cultures et réactifs utilisés durant l'étude.

Milieux de cultures et réactifs	Utilisation
<p>Milieux solides</p> <p>Mueller-Hinton(MH)</p>	<p>L'antibiogramme (la sensibilité de la bactérie aux extraits des plantes)</p>
<p>Milieux liquides</p> <p>Bouillon nutritif (BN)</p> <p>Mueller-Hinton (MH)</p>	
<p>Réactifs</p> <p>DMSO</p> <p>L'eau physiologique stérile : NaCl (9g/l)</p>	<p>L'enrichissement des bactéries</p> <p>CMI</p> <p>La dilution des HE</p> <p>Pour préparer et diluer les suspensions bactériennes.</p>

1.2. Méthodes

1.2.1. Préparation de l'huile essentielle

Nous avons utilisé la partie aérienne : les feuilles et les tiges (séchées) des plantes. Nous avons fait l'extraction des HES avec la méthode de hydro distillation avec le montage de « Clivenger ». Au total, nous avons utilisé 200 grammes de chaque plante dans un litre d'eau distillée pendant 03 heures à 100°C (Anonymous, 1996).



Photo 1 :le montage de Clivenger.

1.2.2. Calcul du rendement

Le rendement en HE est déterminé par rapport au poids initial végétal. Nous l'avons calculé comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal à traiter.

$$\text{RHE}(\%) = \text{MHE} / \text{MS} \cdot 100.$$

R : Rendement en extraits fixes en g /100g de matière sèche.

MHE: quantité d'extrait récupérée exprimée en gramme.

MS : quantité de la matière végétale sèche utilisée pour l'extraction exprimée en gramme.

Matière sèche végétale a été obtenue (séchage à l'air ambiant ou a l'étuve jusqu'à déshydratation).

1.2.3. Méthode d'évaluation de l'activité antibactérienne

Les tests d'évaluation de l'activité antibactérienne des HE ont été réalisés par deux méthodes :

- ✓ La méthode de diffusion sur milieu solide, dans une première étape pour sélectionner des souches ayant une sensibilité importante.

- ✓ La méthode de dilution en milieu liquide, afin de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ainsi que les concentrations minimales bactéricides (CMB), pour les extraits actifs.

1.2.3.1. Protocole pour l'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque

Technique

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibactérienne d'une huile essentielle. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs.

Elle est appelée aussi technique de l'antibioaromatogramme. Dans cette méthode, nous avons utilisé des disques de papier filtre de 06mm de diamètre, imprégnés d'HE (5µl) et déposés à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé en surface à l'aide d'une suspension bactérienne selon la technique adoptée par Jacob et *al.*, (1979) ; Tharib et *al.*, (1983)

Après incubation, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition en mm.

1.2.3.1.1. Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 24 heures sur milieu d'isolement, nous avons raclé à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Nous avons ensuite déchargé dans 9 ml d'eau physiologique stérile tout en recherchant une suspension bactérienne avec une densité optique de 0,1 Mac Farland. L'ensemencement s'est fait dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

1.2.3.1.2. Ensemencement

Pour cela, nous avons trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne afin de le charger au maximum; et par la suite nous avons frotté l'écouvillon sur la totalité de MHA sèche de haut en bas en stries. Nous avons répété l'opération 3 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois et nous avons fini par un passement d'écouvillon sur la périphérique de la gélose.

1.2.3.1.3. Application des disques

Nous avons fait l'écoulement des boîtes de Petrie de 9 cm de diamètre avec le milieu MH et ces boîtes sont par la suite inoculées avec une suspension pure fraîchement préparée. Après, nous avons imbibé des disques de papier Watman stérile de 06mm de diamètre avec 5 µl d'HE de

différentes plantes testées et on les a déposés à la surface de la gélose ensemencée. L'ensemble a été incubé pendant 24h à 37°C (Durmaz *et al.*, 2006)

1.2.3.1.4. Lecture des résultats

La mesure avec précision des diamètres des zones d'inhibition à l'aide de pied à coulisse sur le fond de boîte de Pétrie. Les résultats sont exprimés par le diamètre d'inhibition et symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis à vis des HE (Ponce *et al.*, 2003) comme suivant :

- Non sensible (-) ou résistante : inférieur à 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre supérieur à 20mm.

1.2.3.2. Détermination de la CMI et CMB

Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en HE. Après incubation, l'observation de la gamme permet d'accéder à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus faible concentration en HE capable d'inhiber la croissance bactérienne (Dugeon *et al.*, 1991).

Cette technique de détermination des concentrations minimales inhibitrices « CMI » par contact direct en milieu liquide, consiste à disperser la solution d'extrait en concentration variable de façon homogène et stable dans le milieu de culture en présence d'un germe testé (Macheix *et al.*, 2005).

Pour notre essai nous avons opté pour la méthode décrite par Lahlou (2004).

D'abord, les HE ont été diluées préalablement dans le DMSO (un émulsifiant). Une suspension de chaque germe est préparée dans de l'eau physiologique stérile et ajustée à 10^8 cellules/ml. A partir de chaque suspension, 100µl, sont déposés sur le milieu de culture plus les extraits à différentes concentrations.

La lecture se fait à l'œil nu, à partir du premier tube absent de culot bactérienne.

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) correspond à la plus faible concentration en HE capable de tuer plus de 99,9 % de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0,01 % de survivants). Elle définit l'effet bactéricide d'une huile essentielle.

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) a été déterminée en milieu solide.

La même gamme de concentration, réalisée par la technique de macrodilution en milieu liquide, est utilisée pour déterminer la CMI et la CMB de l'HE à tester.

A l'aide d'une anse de platine calibrée, nous avons ensemencé en stries parallèles sur des boîtes de gélose (Muller Hinton). La série de tubes commençant à partir de celui qui a déterminé la CMI.

Des prélèvements ont été effectués dans le tube témoin et dans chacun des tubes dépourvus de culot bactérien puis déposés « en strie » sur gélose Muller Hinton. Les boîtes ensemencées sont incubées 24 heures à 37°C et ce, selon les recommandations de Sérieys (2006).

La CMB (% v/v) de l'huile essentielle est déduite à partir de la première boîte dépourvue de bactérie. Chaque expérience est réalisée trois fois au cours de trois expériences successives.

La lecture se à partir le premier boîte qui absenté de colonies.

1.2.4. Etude statistique

Les résultats expérimentaux ont été exprimés par la moyenne de trois répétitions \pm l'écart-type. Afin de ressortir l'aspect comparatif, le test ANOVA a été utilisé. On considère la différence comme significative entre les échantillons si la probabilité $p < 0,05$.

1. Le rendement d'extraction des huiles essentielles

Les résultats de rendement de l'hydro distillation des HE sont consignés dans le tableau 8.

Tableau 08 : Rendement d'extraction des HE de *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris*, *Artemisia herba alba*, et *Myrtus communis*.

	Poids (g)	Rendement (%)
<i>Thymus vulgaris</i> (TV)	200	2,5
<i>Rosmarinus officinalis</i> (RO)	200	1,1
<i>Artemisia herba alba</i> (AHA)	200	0,98
<i>Myrtus communis</i> (MC)	200	0,3

Le plus grand rendement est celui de *Thymus vulgaris* (2,5%) et le plus petit rendement est celui *Myrtus communis* (0,3%).

Les résultats obtenus dans ce présent travail sont supérieurs de ceux trouvés par Akrouit (2004) où il a rapporté un rendement en huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* de 0,65%. Pour l'espèce d'armoise, le rendement trouvé dans notre expérimentation est dans l'intervalle à celui du rendement d'armoise blanche noté en Espagne (0,41 % - 2,30 %) pour 16 échantillons de 4 provenances (Salido, 2004).

Le rendement de *Rosmarinus officinalis* est de 1,1%; ce rendement est inférieur de celui rapporté par Ayadi et al. (2011) dans la région de Sidi Bouzid en Tunisie (1,35%).

Toutes les extractions qui ont été réalisées pour les parties végétales séchées ont engendré des rendements significativement faibles. Ce déclin est probablement lié à l'évaporation des composés volatils lors d'un séchage prolongé (Bendimrad et al., 2005).

Le rendement de ces métabolites secondaires est différent d'une famille botanique à une autre, d'une espèce à une autre et même entre les plantes de la même espèce. De plus, cette différence de teneur en HE peut être liée à plusieurs facteurs tels que la zone géographique de collecte, le climat, les conditions pédoclimatiques, la technique d'extraction, le stade de développement et la saison (Marzouk et al., 2008 ; Ennajar et al., 2009 ; Medini et al., 2009).

Il peut être nettement supérieur chez d'autres Astéracées Anthémidées comme l'Armoise (Sefidkon et al., 2001).

2. Activités antimicrobiennes

2.1. Résultats de la méthode de Vincent (méthode de disque)

Les résultats de l'évaluation antimicrobienne des HE par la méthode des disques sont repris ci-après (tableau 09). Dans ce tableau, sont incluses les valeurs en (mm) des diamètres des zones des inhibitions, représentant la grandeur du halo formé par les bactéries détruites par l'activité antimicrobienne des HE.

La méthode de diffusion par des disques a permis la mise en évidence du pouvoir antimicrobienne des HE isolées à partir de quatre plantes ; le résultat positif satisfaisant est validé pour un halo d'inhibition d'un diamètre supérieur à 15 mm et ce, selon les recommandations rapportées par Billerbek (2007).

Tableau 09: Les diamètres en millimètre, des zones d'inhibition des HE.

Les souches	Diamètre en mm des HE (5µl/disque)			
	TV	RO	AHA	MC
39	31.25	9	6	16.5
53	39.87	6	13.25	6
82	45	10.5	8	6
46	47.5	6	6	6
43	52	11	11.75	19.5

Dans le test de l'activité antimicrobienne des HE, les résultats obtenus par la méthode de disques nous révèlent une large variation des diamètres des zones d'inhibition allant de 0 à 52 mm et ce, selon les souches. Les staphylocoques étudiées n'ont pas présenté la même sensibilité vis-à-vis des HE. L'huile essentielle de *Thymus vulgaris* s'est révélée efficace à 100%.

L'activité de cette huile est supérieure par rapport à celles des trois autres plantes.

Selon Conner (1993), les HE de Thyme et Romarin révèlent une forte capacité inhibitrice contre *staphylococcus sp* avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 52 mm.

Ceci est révélé par une zone d'inhibition supérieure à 52 mm et ce, quelque soit la souche bactérienne testée. Donc, ces germes ont montré une forte sensibilité à ce type d'huile.

En seconde position, l'HE de *Rosmarinus officinalis* a révélé une activité de 3/5 avec des zones d'inhibition comprises entre (9 et 11 mm). Ce présent résultat est similaire de ceux de Benikhlef (2014) et Frouhat et Lahcini (2013) qui ont montré que l'HE de *Rosmarinus officinalis* a une activité antimicrobienne moins importante contre *staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition égal à 09 mm.

Dans le même sens, Skocibusic et al, (2006) rapporte que l'HE de Romarin présente une activité antimicrobienne contre les *Staphylococcus*.

L'HE de *Myrtus comminus* a montré une certaine efficacité contre les souches bactériennes multi résistantes comme les souches (39,43). Cependant, cette huile semble efficace seulement avec 40% des souches et ce, selon les résultats de Skocibusic et al.,(2006).

Les résultats obtenus des zones d'inhibitions d'HE d'AHA (8mm -13,25mm) sont inférieurs de ceux de l'étude de Mighri et al., (2010) (22,3 mm).

Nous avons constaté que les HES étudiées n'inhibent pas toutes les espèces bactériennes testées.

Les résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles par la méthode de disque, nous a révélé une variation des diamètres des zones d'inhibitions allant de 9 mm à 52 mm selon les espèces testées (figure 4)

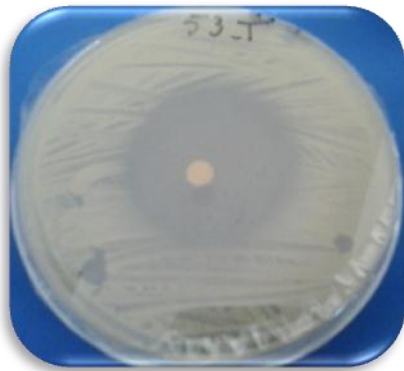


Photo 2 :L'influence de Thymus sur la souche 53.

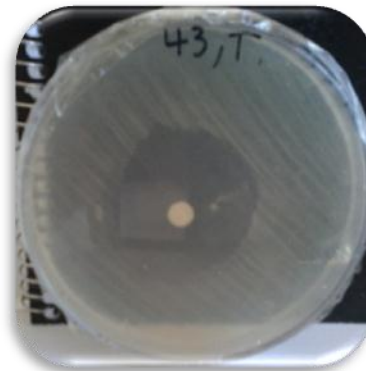


Photo 3 :L'influence de Thymus sur la souche 43.

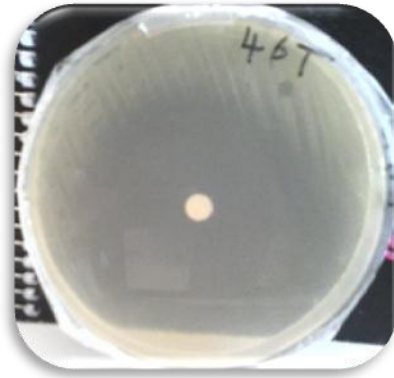


Photo 4 :L'influence de Thymus sur la souche 46.



Photo 5 :L'influence de Thymus sur la souche 39.

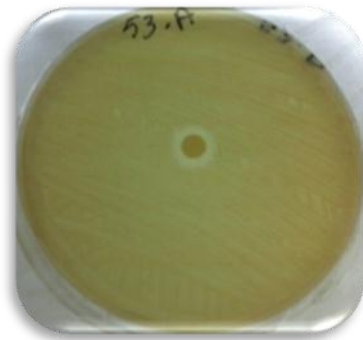


Photo 6 :L'influence de l'armoise sur la souche 53.

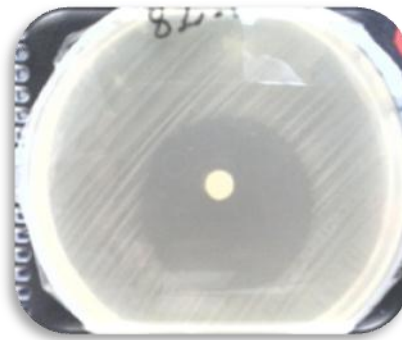


Photo 7 :L'influence de Thym sur la souche 82.

Figure 4 : Les zones d'inhibitions d'HE de *Thymus vulgaris* et *Artimisia hera alba* vis-à-vis de différentes souches étudiées.

Nos résultats montrent une activité antibactérienne des extraits des plantes testées et concordent à ceux de la littérature. En effet, les HE contiennent des terpènes qui ont des propriétés stimulantes, antibactériennes et sédatives (Bruneton, 1999).

Parce que les huiles essentielles sont constituées de phénol, elles ont souvent des rôles anti-infectieux contre les mammites (Dansereau, 2002).

Beaucoup de travaux entrepris ont montré que les bactéries Gram positives ont une forte sensibilité pour les huiles essentielles que les bactéries Gram négatives (Friedman et al., 2002) ; la structure de la paroi cellulaire des bactéries Gram positives les rend toutefois plus sensibles à l'action de ces huiles que celle des souches Gram négatives qui limite le passage des substances (Burt, 2004). Ces explications pourraient être les causes de la sensibilité des souches staphylocoques multi-résistantes (Gram positive) testées dans ce présent travail.

Nous constatons que certaines HE utilisées n'inhibent pas la croissance des souches bactériennes étudiées comme celles d'AHA et de MC.

Oussalah et al. (2007), ont rapporté que la différence dans les activités antibactériennes des HES peut être liée à la concentration, à la nature et le contenu, aux groupements fonctionnels, à la configuration des composés et, leur interaction synergique possible.

Dans ce cas, il faudra dès à présent élargir l'enquête dans le temps et dans l'espace et trouver d'autres alternatives nouvelles basées sur une meilleure utilisation de la biodiversité végétale et qui soient également capables de créer et de promouvoir de nouveaux produits à grande valeur ajoutée via des biotechnologies simples et accessibles.

3. Les Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et (CMB)

Cette technique, très fiable et reproductible pour les agents antimicrobiens hydrosolubles, pose un problème de diffusion et d'homogénéité de dispersion avec les huiles essentielles qui ont une très faible solubilité dans les milieux de culture aqueux.

Ce problème a été résolu en partie par l'utilisation d'émulsions des huiles essentielles dans des solutions de différents détergents comme le DMSO (Allegrini et al., 1973; Drugeon et al., 1991).

Pour la CMI, nous avons choisi l'HE la plus active, c'est-à-dire celle de *Thymus vulgaris* contre les bactéries multi résistantes les plus sensibles de ce HE, et nous avons éliminé les autres HE.

Les résultats de CMI et CMB et les valeurs du rapport de CMB/CMI sont illustrés dans les Tableaux (10 ,11 ,12).

Tableau 10: Les valeurs de concentration minimale inhibitrice(CMI) d'HE de *Thymus vulgaris*.

Les dilutions de CMI et les concentrations de l'extrait										
Les dilutions	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{33.33}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{16.66}$	$\frac{1}{14.25}$	$\frac{1}{12.5}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{6.66}$
Concentration <i>µg/ml</i>	0.005	0.010	0.016	0.021	0.026	0.031	0.036	0.042	0.052	0.078
Les souches										
46	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
82	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
43	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-

*+ : présence de croissance

*- : absence de croissance

Nous rapportons dans le tableau (10) les CMI de huile essentielle de thym lors de l'étude en milieu liquide, dont les diamètres d'inhibitions sont supérieurs à 15mm. Les CMI sont inversement proportionnelles aux diamètres des zones d'inhibition, obtenus avec la méthode des disques.

Les résultats des tests de CMI des HE extraites du *Thymus vulgaris*, testées sur les trois souches de *S. aureus* les plus sensibles de ce huile. Chez la souche 82 (SCN), nous avons remarqués l'absence de trouble, correspondant à une croissance et ce, avec les dilutions testées. Dans ce cas-là, il y a une absence totale de croissance même avec une faible concentration de HES.

On a trouvé dans notre étude que même avec des faibles concentrations de CMI (0.005 µg/ml ; 0.010 µg/ml) le thym inhibé tous les souches testés, alors notre résultats est inférieur par rapport au résultats de Moulay et al., (2015) l'étude de qui on a rapporté les résultats de CMI : (0.033 µg/ml ; 0.05 µg/ml) et celui de Benabed (2011) qui a rapporté des résultats de CMI de 1.016 µg/ml, et aussi celui de Alessandra et al. (2012) qui ont rapporté des résultats de CMI : (0.005 µg/ml) cette concentration peut inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus*.

Tableau 11 : Les valeurs de concentration minimale bactéricide d'HE de *Thymus vulgaris* sur les souches : (43, 46, 82).

Les dilutions de CMB ,les concentration de l'extrait										
Les dilutions	$\frac{1}{100}$	$\frac{1}{50}$	$\frac{1}{33.33}$	$\frac{1}{25}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{16.66}$	$\frac{1}{14.25}$	$\frac{1}{12.5}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{6.66}$
concentration µg/ml	0.005	0.010	0.016	0.021	0.026	0.031	0.036	0.042	0.052	0.078
46	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
82	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
43	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-

*+ : présence de croissance

*- : absence de croissance

Nous avons noté aussi que les CMI des huiles essentielles du *Thymus vulgaris* sur les trois souches testées, se rangent entre 0,01 et 0,016 $\mu\text{g/ml}$ et les CMB se rangent entre 0.021 et 0.078 $\mu\text{g/ml}$.

Notre résultat de CMB : (0,021 ; 0,078 $\mu\text{g/ml}$) est inférieur de celui de Benabed (2011) qui a rapporté des résultats de (1,016 $\mu\text{g/ml}$) ; cette concentration peut tuer les souches bactériennes.

AliGiannis et *al.* (2001) ont proposé une classification des HES du matériel végétal sur la base des résultats des CMI, comme suit :

- Forte inhibition : CMI inférieur à 0,5 *mg/ml*;
- Inhibition modérée : CMI varie de 0.6 à 1,5 *mg/ml*;
- Faible inhibition : CMI supérieur à 1,6 *mg/ml*.

Ainsi selon cette classification, on constate une forte inhibition avec l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les différentes souches testées.

Les différences observées pour les valeurs de CMI peuvent être expliquées par la présence de composés antibactériennes dans les HES des plantes à différentes concentrations, mais aussi par rapport au choix des techniques utilisées.

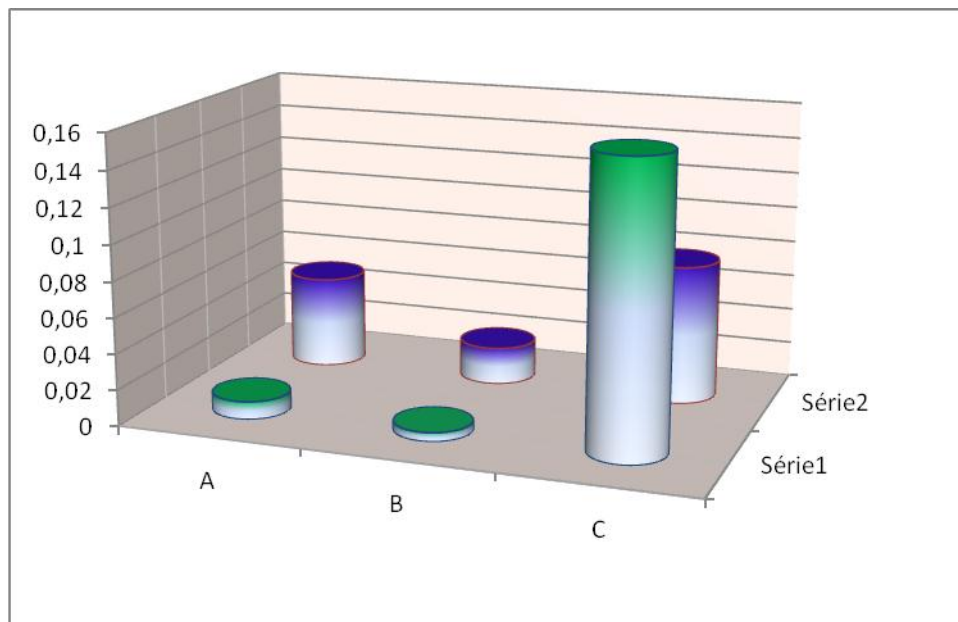


Figure 222: Les valeurs de CMB (série1) et CMI (série 2) des trois souches testées : 46(A) ,82(B), 43(C).

Afin d'évaluer l'activité de nos huiles essentielles en terme bactéricides ou bactériostatique, le rapport CMB/CMI a été calculé selon Oussou et *al.*, (2008).

Tableau 12 : Les valeurs de rapport de CMB/CMI

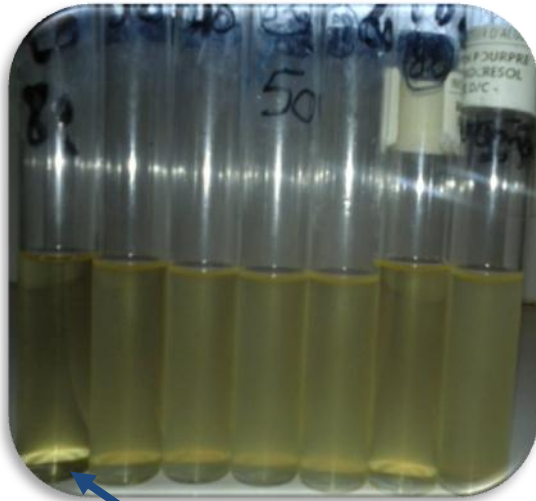
Les souches	CMI	CMB	CMB/CMI	effet
46	0.010	0.052	0.19	B.cide
82	0.005	0.021	0.238	B.cide
43	0.016	0.078	0.20	B.cide

*B.cide :effet bactéricide

Le rapport CMB/CMI permet de définir le caractère bactériostatique ou bactéricide d'une HE. Selon Moroh et al, (2008) et Oussou et al, (2008), lorsque le rapport d'activité CMB/CMI d'une substance antimicrobienne est inférieur ou égal à quatre (≤ 4) cette dernière est qualifiée de substance bactéricide et si le rapport CMB/CMI est supérieur à quatre (> 4), alors ce HE est dite une substance antimicrobienne bactériostatique.

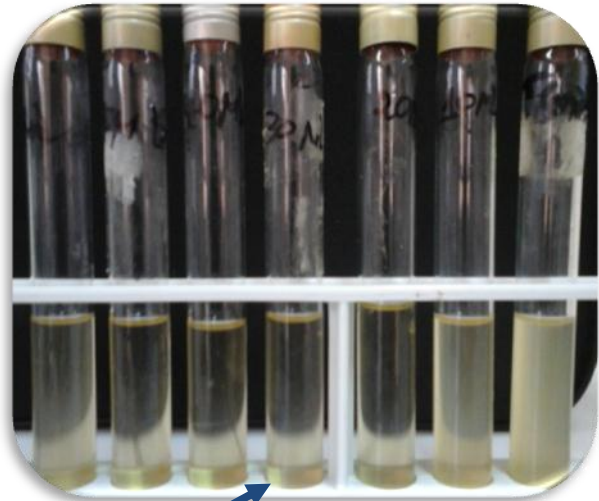
Les rapports CMB/CMI des HE de *Thymus vulgaris* sont tous inférieurs à 4 et donc considérées comme bactéricides, l'HE de *Thymus vulgaris* a un effet bactéricide sur les souches :(43, 46,82).

L'HE de TV inhibe la croissance de toutes les souches bactériennes utilisées dans cette étude. Afin de mesurer son potentiel d'inhibition, on a procédé à des tests de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur les trois souches bactériennes multirésistantes (tableau10). Ces tests ont été réalisés par la technique de microdilution en milieu liquide (photo 7,8), réalisé sur trois souches pour déterminer la CMI et sur milieu solide pour déterminer le CMB (photo 9,10).



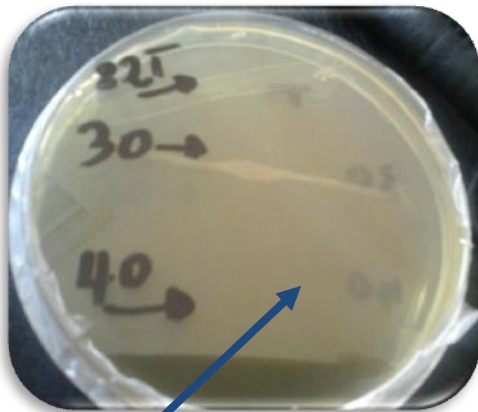
la CMI 0,005

Photo 8 : La CMI de La souche 82.



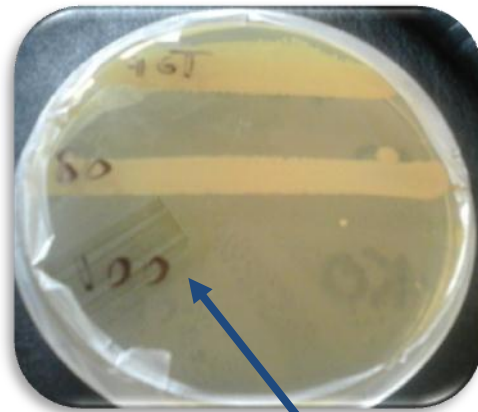
la CMI 0,016

Photo 9 : La CMI de La souche 43.



la CMB 0,021

Photo 10 : La CMB de La souche 82.



la CMB 0,052

Photo 11 : La CMB de La souche 46.

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Les huiles essentielles et leurs constituants ont une longue histoire comme agents antimicrobiens.

Le présent travail est consacré à l'étude de l'activité antibactérienne, du rendement des huiles essentielles extraites de trois plantes médicinales et aromatiques de la région de Laghouat et une plante de région de Jijel.

Les huiles essentielles du thym, romarin, armoise blanche et le myrte ont été obtenues par l'hydro distillation avec des rendements (2,4%, 1,1%, 0,98% et 0,3%), respectivement.

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles a montré une activité efficace et forte contre les souches bactériennes testées, notamment les résultats de l'extrait de *Thymus vulgaris* et de *Rosmarinus officinalis*. Cependant, des résultats moins importants ont été obtenus les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* et *Myrtus communis*.

En déterminant les CMI et les CMB d'huile de *Thymus vulgaris* qui a montré une grande activité sur les souches multirésistantes aux antibiotiques, nous avons trouvé que le *Thymus vulgaris* a un effet bactéricide sur les souches testées.

Dans notre étude, nous avons trouvé aussi que même avec de faibles concentrations de CMI (0,005 µg/ml-0,010 µg/ml), le thym inhibe toutes les souches testées et les CMB se rangent entre 0,021 et 0,078 µg/ml.

En fin, l'ensemble de ces résultats obtenus in vitro ne constitue qu'une première étape dans la recherche des substances de source naturelle biologiquement active. Des essais complémentaires seront nécessaires et devront pouvoir confirmer les performances mises en évidence et ce, *Connaitre la composition des HE en utilisant la chromatographie en phase gazeuse.*

Isoler les molécules actives afin de les utiliser pour des fins thérapeutiques et agro-alimentaires et étudier sa toxicité afin d'envisager des perspectives d'application de ces huiles dans les domaines, pharmaceutiques, cosmétique et comme conservateur dans le domaine agroalimentaire.

A

- **Ahmad N, Alamm K, Shehbaz, Khan A, Mannan A, Rashid Hakim S, Bisht D, Owais M. 2005.** Antimicrobial activity of clove oil and its potential in the treatment of vaginal candidiasis. *Drug. Target.* 13; 555-61.
- **Akrout A. 2004.** Etude des huiles essentielles de quelques plantes pastorales de la région de Matmata (Tunisie). In : Ferchichi A. (comp.), Ferchichi A. (collab.). Réhabilitation des pâturages et des parcours en milieux méditerranéens. Zaragoza : CIHEAM. 62 ; 289-292.
- **Alessandra F, Danila S, Diogo F, Mariadas G, Hilsdorf R. 2012.** In vitro antimicrobial properties of plant essential oils *thymus vulgaris*, *cymbopogon citratus* and *laurus nobilis* against five important food borne pathogens .ISSN 0101-2061. Ciênc. Tecnol. Aliment. Campinas. 32(1) ; 167-172.
- **Aligiannis N, Kalpotzakis E, Mitaku S, Chinou I. 2001.** Composition and antibacterial activity of the essential oils of two *Origanum* species. *J Agric. Food. chem.* 40 ; 4168-70.
- **Allegrini J, Simmeon B, Billot A. 1973.** Emulsions d'huiles essentielles, fabrication et application en microbiologie. Travaux de la Société de Pharmacie de Montpellier. 33 ; 73-86.
- **Angioni A, Barra A, Tuberoso C. 2006.** Chemical composition of volatiles in Sardinian myrtle (*Myrtus communis*) alcoholic extracts and essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 54 ; 1420 p.
- **Anonymous. 1996.** European pharmacopoeia. Strasbourg. (3^{ème} éd.). France: Council of Europe. 121-122.
- **Anonyme. (2001).** Dictionnaire des médicaments vétérinaires et des produits de santé animale. Editions du Point Vétérinaire, 9^{ème} édition. 1548 p.
- **Apostolidis E, Kwon Y, Shetty K. 2007.** Inhibitory potential of herb, fruit, and fungal enriched cheese against key enzymes linked to type II diabetes and hypertension. *Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies.* 8; 46-54.
- **Ayadi S, Jerribi C, Abderrabba M. 2011.** Extraction et étude des huiles essentielles de *Rosmarinus Officinalis*, cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie, *Journal de la Société Algérienne de Chimie. J. Soc. Alger. Chim.* 33 ; 28 p.
- **Azoug M. 1997.** Analyse par CG-SM des géraniums poussant en Algérie. mémoire de magister en Chimie. USTHB. Alger. 10-30.

B

- **Baba Aissa F. 1999.** Encyclopédie des plantes utiles Flore d'Algérie et du Maghreb. Edition librairie moderne Rouïba. 368 p.
- **Baba Aissa F. 2000.** Encyclopédie des plantes utiles. Ed. Librairie moderne. Rouiba. 368 p.
- **Beckman K. 1998.** The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev.* 81 p.
- **Benabed K. 2011.** Composition chimique et activités antioxydante et antimicrobienne des huiles essentielles de quelques plantes de la famille des *lamiaceae*. mémoire de magister. université Amar Telidji. Laghouat. 67; 44 p.
- **Bendimerad A. 2005.** Composition and antibacterial activity of *pseudocytisus (Salisb)*. essential oil from Algeria. *Journal of Agricultural and food Chemistry.* 53 ; 2947-2952.

- **Benmansour N. 2001.** Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artimisia herba alba* de différentes régions de l'Algérie. mémoire de Magister en chimie organique. Université USTHB Alger. 95 p.
- **Benikhlef A. 2014.** Comparaison entre les huiles essentielles et leurs effets antibactériens sur *Rosmarinus officinalis* de la région de Bechar et Ouargla. mémoire master agronomie. 27 ; 15-20.
- **Billerbeck V. 2007.** Huiles essentielles et bactéries résistantes aux antibiotiques. Pharmacognosie Phytothérapie. 5 ; 249-253.
- **Bouguendoura N. 2011.** Pouvoir antioxydant et antimicrobien des extraits d'espèces végétales *Saure jacaminthas sp nepta (nabta)* et *AjugaivaL (chendgoura)* de l'ouest d'Algérie. mémoire magister faculté des sciences. Université Abou Bakr Belkaid. Telemcen. 125 p.
- **Boyle W. 1955.** Spices and essential oils as preservatives. Am. Perfumer Essent. Oil Rev. 66; 25-28.
- **Brosse J. 2000.** Larousse des arbres et des arbustes. Ed. Larousse métier. 95 p.
- **Brouillette E, Hyodo M, Hayakawa Y, Karaolis D, Malouin F. 2005.** 3',5'-cyclic diguanylic acid reduces the virulence of biofilm-forming *Staphylococcus aureus* strains in a mouse model of mastitis infection. Antimicrob. Agents Chemother. 49 ; 3109-3113.
- **Bruneton J. 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, plantes médicinales. 3^{ème} éd. Paris : Tec et Doc Lavoisier. 1120 ; 483-1118.
- **Bruneton J. 2009.** Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales. 4^{ème} édition plantes médicinales internationales. Techniques et Documentation. Lavoisier, Paris. 1288 p.
- **Burt S. 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. International Journal of Food Microbiology. 94 ; 223-253.
- **Burt S. 2007.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review International. J. Food Microbiol. 94; 223-253.

C

- **Caurvalin P, Flandrois J, Goldstein F, Philippon A, Sirot J. 1988.** L'antibiogramme automatisé. mpc-vigt. Paris. 98 p.
- **Cavin A. 1999.** Investigations phytochimiques des trois plantes indonésiennes aux propriétés antioxydantes et antiradicalaires. *Tinosporacrisp* (Menispermaceae), *Merremiaemarginata* (Convolvulaceae) et *Oropheaenandra*(Annonaceae). Thèse doctorat. Lausanne. USA. 243 p.
- **Christophe L. 2008.** Traitement de mammite avec les huiles essentielles de *Thymus sateroides* et *Rosmarinus*, technique d'élevage. GAB 56 N° 136 .11 ; 10-11 P.
- **Clevenger J. 1928.** Apparatus for volatile oil determination. Description of New Type. American Perfumer et Essential Oil Review. 467-503.

- **Conner D E. 1993.** Naturally occurring compounds. In: Antimicrobials in Food .Marcel Dekker publishing company. New York. 115 p.
- **Cowan M. M.1999.** Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews.* 12 ; 564-582.

D

- **Dansereau S. 2002.** les Huiles essentielles contre les mammites. Journée d'information en agriculture biologique, st-eustache. vétérinaire et homéopathe conférence du 5 fevrier. 68 p.
- **Debert A. 2001.** Traitement des mammites cliniques en élevage biologique : essai sur le terrain d'une huile essentielle. Thèse de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes. London. 45 p.
- **Descoteaux L, Roy J. 2004.** La mammite clinique: Stratégies d'intervention. Symposium sur les bovins laitiers. 124 p.
http://www.agrireseau.qc.ca/bovinslaitiers/documents/Descoteaux_Luc.pdf
- **Dewick P. 2002.** Medicinal Natural Products, A Biosynthetic Approach. 2ème Ed. John Wiley and Sons Ltd. Angleterre. 507 p.
- **Diallo D, Bah S, Dembelle S, Paulsen B. 2006.** Ethnopharmacological survey of plants used for the treatment of schistosomiasis in Niono district. Mali. *Journal of Ethnopharmacology.* 105; 387-399.
- **Djebaili S. 1984.** Steppe algerienne: phytosociologie et écologie. Ed. OPU. Alger. 140 p.
- **Drugeon H, Legallou F, Caillon J. 1991.** Méthodes d'étude de l'activité bactéricide Bactéricide. Aspects théoriques et thérapeutiques. Paris. 113-126.
- **Durmaz H, Sagun E, Tarakci Z, Ozgokce F. 2006.** Antibacterial Activities of *Allium Vineale*, *Chaerophyllum Macropodium* and *Prangos Ferulacea*. *African Journal of Biotechnology.* 5 ; 1795-1798.
- **Duquenois P. 1968.** L'utilisation des huiles essentielles en pharmacie, leur normalisation et l'Europe du médicament. *Parf. Cosm. Sov.* 11 ; 414 p.
- **Duval J. 1995.** Soigner La Mammite Sans Antibiotiques. *AGRO-BIO.* 370-11.

E

- **Elodie G. 2010.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. thèse doctorat. Université : Pascal Paouli , Marseille. 143 p.
- **Ennajar M, Bouajila J, Lebrihi A, Mathieu, Arlette S, Manef A. 2009.** The influence of organ, season and drying method on chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of *Juniperus phoenicea* L. Essential oils. *Journal of Science Food and Agriculture.*90; 462-470.
- **Epifano F, Genovese S, MenghiniL, Curini M. 2007.** Chemistry and pharmacology of oxyprenylated secondary plant metabolites. *Phytochemistry.* 68; 939-953.
- **Erskine R. 2004.** Philosophical approach to antibiotic therapy : know, bug and drug. *Proceeding of the annual meeting of the National Mastitis Council .*11 ; 8-11.

F

- **Farnsworth N, Kaas R. 1981.** An approach utilizing information from traditional medicine to identify tumor_inhibiting plants. *Journal of Ethnopharmacology.* 3 ; 85-99.

- **Faucon M. 2012.** Traité d'aromathérapie scientifique et médicale. Ed. Sang de la terre et Médical. Paris. 879 p.
- **Fetrow J, Anderson k, Sexton S. 1988.** Herd composite somatic cell counts: average linear score and weighted average somatic cell count score and milk production. J. Dairy Sci. 71 ; 257-260.
- **Foster T. 2005.** Immune evasion by *staphylococci*. Nat. Rev. Microbiol. 3; 948-958.
- **Franchomme P, Péroël D. 1990.** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles .Roger Jallois éditeur. Limoges. London. 445 p.
- **Friedman A. 2002.** Bactericidal Activities of Plant Essential Oils and Some of Their Isolated Constituents against *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella enteric*, Journal of Food Protection. 65 (10) ; 1545- 1560.
- **Frouhat Z, Lahcini B. 2013.** Lutte biologique par l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. mémoire master académique. Université Kasdi Merbah. Ouargla. 49 ; 35 p.

G

- **Gentilini E, Denamiel G, Liorente P. 2000.** Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. J. Dairy Sci. 83; 1224-1227.
- **Gilber T, Rainard P, Poutrel B. 1997.** Prévention vaccinale et diagnostic des mammites : actualités et perspectives INRA, Laboratoire de Pathologie Infectieuse et d'immunologie. 37380 Nouzilly. Renc. Rech. Ruminants. 4; 243-250.
- **Goncalves F A, Andrade Neto M, Bezerra J N, Macrae A, Sousa O V, Fonteless-Filho A A, Vieira R H. 2008.** Antibacterial activity of Guava, *Psidium guajava* Linnaeus, leaf extracts on diarrhea-causing enteric bacteria isolated from Seabob shrimp, *Xiphopenaeus kroyeri*. Revue Institut Medecine Tropicale de Sao Paulo. 50; 11-15.

H

- **Haouari M, Ferchichi A. 2009.** Molecules Essential Oil Composition of *Artemisia herba-alba*. Southern Tunisia .14. 1585-1594.
- **Hala G M, Christ H, Carla K. 2000.** Traditional uses of *Salvia libanotica* (East Mediterranean sage) and the effects of essential oils. Journal of Ethnopharmacology, . 71(3). 5-13.
- **Hanzen Ch. 2013.** Physio-anatomie et propédeutique de la glande mammaire Symptomatologie, étiologie et thérapeutiques individuelles et de troupeau des mammites .Université de Liège Faculté de Médecine Vétérinaire Service de Thériogenologie des animaux de production .169 ; 46-100.
- **Hanzen Ch. 2009.** Propédeutique de la glande mammaire sèmiologie et diacnostic individuel et de troupeau, Propédeutique de la glande mammaire. Approche individuelle. 27 p.
- **Hanzen Ch. 2010.** Propédeutique de la glande mammaire Sémiologie et diagnostic individuel et de troupeau. Approche individuelle. 30 p.
- **Hassane C, Balouk A. 2001.** Les plantes aromatiques et médicinales. Marocan N°68.46; 22-30.
- **Hedi Mighri. 2010.** Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone Full paper. mémoire C. R. Chimie. 389 ; 380-386.

- **Hennebelle T, Sahpaz S, Bailleul F. 2004.** poly phénols végétaux, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*. 3-6.
- **Hurtel J. 2006.** Huiles essentielles et médecine. *Aromathérapie, .phytomania*. 1024. htm. 93 ; 183-195.

J

- **Jacob M, Pellecier J, Tomei R. 1979.** Centre régional d'étude et de développement des plantes à usage pharmaceutique. *Rivista Italiana E.P.P.O.S.* 11; 26-30.
- **Jaqueline S. 23 juillet 2009.** les huiles essentielles. Tananarive .LCSNSA.7 p.
- **Jonkers D, Broek E, Dooren I, Thijs C, Dorant E, Hageman G, Stobberingh E. 1999.** Antibacterial effect of garlic and omeprazole on *Helicobacter pylori*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.43 ; 837-839.

K

- **Kambouche N. 2000.** extraction, composition chimique de l'HE d'Ajowan (Noumkha) de la région d'Oran–mise en évidence son activité biologique. Mémoire de Magister en chimie organique. Université d'Oran Es- Sénia. 83 p.
- **Kubeczka KH. 2010.** History and sources of essential oils. *Handbook of essential oils science, technology and applications*. Başer K. H. C. et Buchbauer G., CRC Press. États Unis d'Amérique. 03-38.
- **Kerro-Dego O. 2006.** DNA-protein immunization against the gapB and gapC proteins of a mastitis isolate of *Staphylococcus aureus*. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 113; 125 p.

L

- **Lahlou M. 2004.** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytother. Res.* 18 ; 435-448.
- **Lam T, Vliet V, Schukken Y, Grommers F, Velden R , Barkema H, Brand A. 1997.** The effect of discontinuation of postmilking teat disinfection in low somatic cell count herds. II. Dynamics of intramammary infections. *Vet. Quart.* 19; 47-53.
- **Lamia H. 2012.** valorisation des plantes aromatiques et médicinales « pam » en Tunisie. 76 p.
- **Larson R A. 1995.** Antioxidant Mechanisms of secondary Natural Products, in *Oxidative Stress and Antioxidant defense in Biology*.London. 320 p.
- **Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M. 1995.** Microbiologie générale, la bactérie et le mondebactérien. Doin Editeurs, Paris.

M

- **Macheix J, Fleuriet A, Allemand C. 2005.** Les composés phénoliques des végétaux « un exemple de métabolites secondaires d'importance économique ». Ed Presse polytechniques et universitaires romandes. Rouanda. 192 p.
- **Marzouk B, Ben HadjFredj M, Mastouri M, Boukef K, Marzouk Z. 2008.** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from Tunisian *Mentha pulegium* L. *Journal of Food Agriculture and Environment.* 6; 78-82.

- **Markovic JA, Ruegg PL. 2003.** Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk samples submitted for bacterial culture : 8905 samples (1994-2001). *J. Am. Vet. Med.Assoc.*, 222 ; 1582-1589.
 - **Michel A, Wattiaux L. 1994.** Institut, Mammite : la maladie et sa transmission, Babcock pour la recherche et le développement international du secteur laitier. université du Wisconsin à Madison, Agriculture Hall USA. 240 p.
 - **Mimica D, Bugarin D, Grbović S, Mitić-Ćulafić D, Vuković-Gačić B, Orčić D, Jovin E, Couladis M. 2010.** Essential Oil of *Myrtus communis* L. As a Potential Antioxidant and Antimutagenic Agents. 15 ; 2759-2763.
 - **Medini H, Elaissi A, Khoujad F, Chemli R, Harzallah-Skhiri F. 2009.** Seasonal and Geographical Influences on the Chemical Composition of *Juniperus phoenicea* L. Essential Oil Leaves from the Northern Tunisia. *Chemistry and Biodiversity*. 6; 1378-1387 .
 - **Mohamed H. 2004.** Intérêt de *Artemisia herba alba* Asso dans l' alimentation du betail des steppes algériennes.151 (2) ; 165 p.
 - **Moroh J L, Bahi C, Dje K, Loukou Y, Guede F. 2008.** Étude de l'activité antibactérienne de l'extrait acétatique (EAC) de *Morindamorindoides* (Baker) milne-redheat (rubiaceae) sur la croissance in-vitro des souches d'*Escherichia coli*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 44-61.
 - **Moulay S, Elabed A, Elaabedy A, Elabed S, Abdellah F, Iraquiand M, Ibnsouda K. 2015.** Characterization and antibacterial activity of the essential oil from *Thymus vulgaris* cultivated in morocco (taounate) against ten bacteria. *Regional University Center of Interface, Sidi Mohamed Ben Abdellah University*. B. P. 4(5); 314-325.
 - **Mubarak M, Doss A, Dhanabalan R, Venkataswany R. 2011.**Activity of some Selected Medecinal Plant Extracts Against Bovine Mastitis Pathogens. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 10 (6) ; 738-741.
 - **Myllys V, Asplund K, Broefeldt E, Hirvelä –Koski V, Honkanen –Buzalski T, Junttila J, Kulkas L. 1998.** Bovine mastitis in Finland in 1988 and 1995- changes in prevalence and antimicrobial resistance. *Acta. Vet. Scand.* 39; 119-126.
- N
- **Narayana K, Reddy M, Chluvadiet R, Krishna D. 2001.** Bioflavonoids Classification, Pharmacological, Biochemical Effects and Therapeutic Potential. *India Journal of Pharmacology*. 33 ; 2-16.
 - **Nikolova M, Gussev C H, Nguyen T. 2010.** Evaluation of the Antioxidant action and flavonoid composition of *Artemisia* species extracts. *Biotechnol.* 21-23.
 - **Noireterre P. 2006.** Suivis de comptages cellulaires et d'examen bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière. étude expérimentale au centre d'élevage lucienbiz et de poisys. l'université Claude-Bernard médecine - pharmacie. Lyon .91 ; 40-70.

- **Oussalah F. 2007.** Mechanism of action of Spanish oregano, Chinese cinamon, and savory essential oils against cell membranes and walls of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogene*. *Jounal of food protection*. 6(5) ; 1046-1055.
- **Oussou K R, Yolou S, Boti J B, Guessemd K N, Kanko C, Ahibo C, Casanova J. 2008.** Etude chimique et activité antidiarrheique des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. *European Journal of Scientific Research*. 24 ; 94-103.

P

- **Paul I. 2001.** LAROUSSE Ecylopédie des plantes médicinales. édition mise à jour origènal. Paris. 335; 6-245.
- **Pengelly A. 2004.** The constituents of medicinal plants an introduction to the chemistry and therapeutic of herbal medicines. Ed. Allen et Unwin, Australie. 172 p.
- **Piccinini R. 2009.** The role of teat skin contamination in the epidemiology of *Staphylococcus aureus* intramammary infections. *J. Dairy Res.* 76; 36-41 p.
- **Ponce A, Fritz R, DelVall C, Roura S. 2003.** Antibacterial activy of essentiel oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel_Wissenschaft und Technologic*. 36 ; 679-684.
- **Poutrel B. 1985.** Généralités sur les mammites de la vache laitière : processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle. *Rec. Méd. Vét.* 161 (6-7) ; 497-511.

Q

- **Quezel P, Santa S. 1962.** Nouvelle Flore de l'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales. Editions du Centre National de la Recherche Scientifique. Paris. Tome I. 565 p.

R

- **Richard H. 1992.** Épices et Aromates. Technologie Lavoisier. Paris.339 p.
- **Roberson J . 1994.** Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. *Dairy Sci.*, 77. 3354-3364 p.

S

- **Saidi R, Khelef D, Kaidi R. 2010.** Evaluation d'un test de dépistage précoce des mammites subcliniques des vaches. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, , 63 (3-4) ; 57-61.
- **Salido S, Valenzuela LR, Altarejos J, Nogueras M, Sanchez A, Cano E. 2004.** Composition and infraspecific variability of *Artemisia herba-alba* from southern Spain. *Biochem. Syst. Ecol.* 32; 265-277.
- **Skocibusic M, Bezic N, Dunkic V. 2006.** Phytochemical composition and antibacterienne activeties of essentiel oil from Subbspicat vis .growin cro Tia *Food Chem.* 96; 20-28.
- **Small E, Catling P M. 2000.** Les cultures médicinales canadiennes, Conseil national de recherches. Canada. 281 p.
- **Sérieys F. 2006.** Antibiogramme et traitement des mammites. *Bulletin GTV.* 33 ; 36-38.
- **Sefidkon F, Jalili A, Mirhaji T. 2001.** Essential oil composition of three *Artemisia* spp. from Iran *FlavourFragr.* 17(2) ; 150-152.

T

- **Taemchuay D, Rukkwamsuk T, Sakpuaram T, Ruangwises N. 2009.** Antibacterial Activity of Crude Extracts of *Centella asiatica* against *Staphylococcus aureus* in Bovine Mastitis. Kaset sarn Veterinarians. 19; 3 p.
- **Tharib S, Gnan O, Veitch G. 1983.** Antimicrobial activity of compounds from *Artemisia campestris*. J. Food. Prot. 46; 681-685.
- **Tufecki E, Casagrande Z A, Lindauer S J, Fowler C E, Williams K T. 2008.** Effectiveness of an essential oil mouthrinse in improving oral health in orthodontic patients. Angle Orthodonty. 78; 294-298.

V

- **Van O, Van G, Dosogne H, Burvenich C. 2001.** Apoptosis and necrosis of blood and milk polymorphonuclear leukocytes in early and midlactating healthy cows. Vet. Res. 32; 617-622.
- **Verdan C. 2002.** Le monde magique du parfum. Une exposition proposée par le Comité Français du Parfum. Parfum-L'expo. 20 p.

W, Z

- **Wallace R J. 2004.** Antimicrobial Properties of Plant Secondary Metabolites. Proceedings of the Nutrition Society. 63; 621-629.
- **Wallemacq H, Girard B, Lekeux P, Bureau F. 2009.** La vaccination contre les mammites à *Staphylococcus aureus* chez la vache laitière. (154). 14 ; 16-29.
- **Zhiri A, Baudoux D. 2005.** Huiles Essentielles Chémotypées et leurs Synergies. Edition Inspir Development. S.A. rue Goethe. 1-L-1637 Luxembourg. 26 p.

Introduction

Chapitre 1 : les plantes Médicinales

Chapitre 2 : Etude de la Mammite

Matériels et Méthodes

*Partie II .Résultats et
Discussion*

Table de Matières

Conclusion

Références
Bibliographiques

Annexes

Tableau : Résultat de l'antibiogramme des souches testées et le nombre de résistance contre différentes antibiotiques.

Souches	Code	P	OX	FOX	AMC	ENR	VA	SXT	CM	GM	TE	N	E	R	I	S
SCN	53	R	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	7	0	5
SCN	43	R	R	R	S	I	R	S	R	S	S	S	R	6	1	5
SCP	82	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	S	R	7	0	5
SCN	39	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	4	0	8
SCN	46	R	R	I	R	S	R	S	R	S	R	S	R	7	1	4

*R : Résistance, *I : Intermédiaire, *S : Sensible.

L'étude statistique avec ANOVA

Statistiques descriptives

Variable	Observations	Obs. avec données manquantes	Obs. sans données manquantes	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
diamètremm	20	0	20	6,0000	52,0000	17,8560	15,8431

Régression de la variable diamètre mm

Coefficients d'ajustement

Observations	20,0000
Somme des poids	20,0000
DDL	16,0000
R ²	0,8956
R ² ajusté	0,8760
MCE	31,1223
RMCE	5,5787
DW	1,5275

Analyse de variance

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	3	4271,1122	1423,7041	45,7454	< 0,0001
Erreur	16	497,9575	31,1223		
Total corrigé	19	4769,0697			

Calculé contre le modèle $Y = \text{Moyenne}(Y)$

Équation de modèle

$$\text{diamètre mm} = 43,12400 - 34,12400 * \text{HES-AHA} - 32,32400 * \text{HES-MC} - 34,62400 * \text{HES-RO}$$

La composition des milieux de culture

1. Mueller-Hinton Agar (M-H : pour souches bactériennes)

Infusion de viande de boeuf déshydratée -----	3 g
Hydrolysat de caséine -----	17,5 g
Amidon de maïs -----	1,5 g
Agar-agar -----	16 g
Eau distillée -----	qsp 1L
pH final -----	7,2 – 7,4

Préparation :

38 g par litre. Stérilisation à l'autoclave à température 120°C pendant 20 mn.

2. Bouillon Nutritif (BN : pour l'enrichissement)

Peptone pancréatique -----	10 g
Extrait de viande -----	5 g
Chlorure de sodium -----	5 g
Eau distillée -----	qsp 1L
pH final -----	7,2 – 7,4

Préparation :

25 g par litre. Stérilisation à l'autoclave à température 120°C pendant 20 mn.

3. l'eau physiologique stérile

Composition en g ml

Chlorure de sodium (NaCl) ----- 9 g

Eau distillée ----- 1000 mL

pH final ----- 7

stérilisation à . 121c° pendant 15 mn .