



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du

Diplôme de Docteur Vétérinaire

Étude de la sensibilité des germes responsables de la
lymphadénite caséuse des petits ruminants envers quelques
huiles essentielles

Présenté par

AMMIMEUR Ouarda

DJBALLI Sabrina

Membre du jury :

Président(e) : YAHIAOU ILHEM MCB Univ.Blida1

Examineur : DOUIFI MOHAMED MCB Univ.Blida1

Promoteur : METREF Ahmed Khirredine MCB Univ.Blida1

Année : 2020

Remerciements

Nous tenons à témoigner notre gratitude la plus vive à toute personne ayant contribué à titre personnel ou professionnel à la réussite de ce présent travail.

Plus particulièrement, nous tenons à remercier :

Notre encadreur Mr METREF qui a su nous guider avec beaucoup de tact et de gentillesse, merci pour sa disponibilité, pour ses conseils avisés et pour sa supervision éclairée tout au long de la rédaction du mémoire.

Le laboratoire d'analyses vétérinaires AVCQ lab pour leur chaleureux accueil au sein de leur institution, merci à la dame qui nous a permis de voir et de pratiquer toute la partie expérimentale de notre étude.

A nos parents respectifs sans qui nous ne serions pas là aujourd'hui, que dieu les préserve en bonne santé, longue vie à eux.

A mon cher oncle, Abdellatif KEDDAD qui par ses précieux conseils a su guider mes réflexions et qui m'a donné de son temps malgré ses engagements.

A mon grand père paternel que dieu l'accueille dans son vaste paradis, ancien éleveur, j'espère qu'il est fier de moi de là où il se trouve.

Aux personnes qui ont accepté avec bienveillance de participer au jury de ce mémoire.

Je souhaite personnellement remercier ma binôme et amie Sabrine DJBALLI, avec laquelle j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler. Nous avons formé une belle équipe, je te remercie donc pour tous les moments que nous avons partagés ensemble tout au long de ce travail.

Ouarda.

Résumé

La lymphadénite caséuse, maladie commune aux ovins et aux caprins, est une pathologie à forte incidence dans les élevages Algériens. Bien que cette dernière n'affecte pas l'état général de l'animal, son impact sur le coût de l'animal a suscité notre attention.

Ce travail consiste à étudier la sensibilité des germes impliqués lors de la maladie des abcès envers l'huile de thym, ail, nigelle et de gingembre. En effet, des tests in vitro ont été effectués afin de démontrer le pouvoir bactéricide de ces huiles en les mettant en contacte directe avec les bactéries isolées à partir d'échantillons de caséum.

Des milieux de culture à base de ces huiles essentielles ont été fabriqués afin d'y faire pousser les germes de la maladie, le milieu qui ne présente aucune colonie après incubation est celui dont l'huile a un fort potentiel antimicrobien.

L'huile de nigelle est celle qui a présenté des résultats concluants, en espérant qu'elle puisse être utilisée dans le futur dans la fabrication de nouveaux moyens phytothérapeutiques luttant contre les abcès des petits ruminants.

Mots clés : lymphadénite caséuse, ovins, caprins, *Corynebactérium pseudotuberculosis*, germes pyogènes, huiles essentielles, phytothérapie.

Abstract

Caseous lymphadenitis is a common disease of sheep and goats, it is a pathology with high incidence rates in Algerian farms.

Although the latter does not affect the general condition of the animal, its impact on the cost has captured our interest.

This work consists in studying the sensitivity of the germs involved in the disease of abscesses towards thyme oil, garlic, black seed and ginger. In fact, in vitro tests were carried out to demonstrate the bactericidal power of these oils by putting them in direct contact with bacteria isolated from caseum samples.

Culture media based on these essential oils have been manufactured in order to grow the germs of the disease, the medium which does not present any colony after incubation is that whose oil has a strong antimicrobial potential.

Black seed oil is the one that has presented conclusive results, hoping that it can be used in the future in the manufacture of new phytotherapeutic means combating abscesses of small ruminants.

Keywords : caseous lymphadenitis, sheep, goats, pyogenic germs, essential oil, herbal medicine.

ملخص

إن التهاب العقد اللمفية هو مرض شائع بين الأغنام والماعز ، و هو ذو نسبة عالية في المزارع الجزائرية. على الرغم من أن هذا الأخير لا يؤثر على الحالة العامة للحيوان ، إلا أن تأثيره السلبي على القيمة المالية للماشية قد لفت انتباهنا.

ينص هذا العمل على دراسة حساسية البكتيريا المتسببة في هذا المرض تجاه أربع زيوت عطرية . تم إجراء اختبارات لإثبات قوة هذه الزيوت عن طريق وضعها في اتصال مباشر مع البكتيريا المعزولة من عينات الكازوم.

تم تصنيع أوساط مغذية مركبة أساسا من هذه الزيوت العطرية من أجل نمو البكتيريا، الوسط الذي لا يقدم أي نمو بكتيري بعد الحضانة هو ذلك الذي يحتوي على زيت ذو إمكانيات مضادة للميكروبات.

زيتحة البركة هو الذي قدم نتائج حاسمة، على أمل أن يمكن استخدامه في المستقبل في تصنيع علاجات نباتية جديدة لمكافحة هذا المرض.

الكلمات المفتاحية: العقد اللمفية ، الأغنام ، الماعز ، الجراثيم القيحية ، الزيوت العطرية، العلاج بالنباتات.

Partie I: BIBLIOGRAPHIE..... 1

Introduction..... 1

Chapitre I: Maladie des abcès..... 2

A. Définition 2

B. Etiologie..... 2

a. *Corynebacterium pseudotuberculosis* 2

b. *Staphylococcus aureus* 2

C. Physiopathologie 3

a. Voies d'entrée de la bactérie 3

b. Etapes de formation de l'abcès 3

D. Signes cliniques et lésionnels..... 4

a. Forme cutanée..... 4

b. Forme ganglionnaire 4

E. Diagnostic 5

a. Diagnostic clinique 5

b. Diagnostic expérimental..... 5

c. Diagnostic bactériologique..... 5

1. Prélèvement..... 5

2. Envoi..... 5

3. Méthodes..... 5

d. Diagnostic différentiel..... 6

F. Méthodes de lutte 6

a. Traitement..... 6

b. Prophylaxie..... 7

1. Sanitaire 7

1. 1. Locaux..... 7

1. 2. Elevage..... 7

1.1.1. Lors de la tonte 7

1.1.2. Lors des introductions et sorties d'animaux dans un troupeau

7

1.1.3. Dans les troupeaux infectés..... 8

2. Médicale..... 8

Chapitre II: Huiles essentielles	9
A. Extraction et fabrication des huiles essentielles	9
a. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau	10
1. Hydro-distillation simple	10
2. Entraînement à la vapeur sèche	10
3. Hydrodiffusion	11
b. Extraction par expression	11
c. Autres procédés.....	11
1. L'extraction au dioxyde de carbone (CO2) hypercritique	11
2. L'enfleurage.....	11
3. L'extraction par solvants chimiques	12
4. Macération	12
B. Activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	12
C. Aromatogramme/CMI	13
Chapitre III: Présentation des plantes	14
A. Plantes.....	14
a. Ail (<i>Allium sativum</i>).....	14
1. Présentation de la plante :	14
2. Principe actif :	15
b. Nigelle : (<i>Nigella Sativa</i> L)	16
1. Présentation de la plante	16
2. Principe actif	17
c. Thym (<i>Thymus vulgaris</i>).....	18
1. Présentation de la plante	18
2. Principe actif :	19
d. Gingembre	19
1. Présentation de la plante	19
2. Principe actif :	20

Partie II: (EXPERIMENTALE) ETUDE IN VITRO

Chapitre I: Recherche de l'activité antibactérienne de quelques huiles essentielles commercialisées en Algérie sur les germes de la lymphadénite caséuse	22
--	----

A. Introduction.....	22
----------------------	----

B.	Objectif :	22
C.	Matériel.....	22
a.	Laboratoire	23
b.	Animaux	23
c.	Huiles essentielles.....	23
d.	Gélose au sang frais	24
D.	Méthode expérimentale	24
a.	Prélèvement clinique.....	24
b.	Ensemencement du milieu.....	24
c.	Etude de l'activité antimicrobienne in vitro des huiles essentielles ...	25
d.	Dilutions de l'huile de nigelle	26
E.	Résultats.....	26
F.	Discussion.....	32
a.	Cultures bactériennes de référence	32
b.	Essai des huiles essentielles.....	33
c.	Dilutions de l'huile de nigelle	33
G.	Conclusion et perspectives.....	34
	<i>References</i>	35

Table des figures :

Figure 1: Distillation à la vapeur d'eau (inconnu).	10
Figure 2: Zones d'inhibition d'aromatogramme (inconnu).....	13
Figure 3: Allium Sativum (James Phillips, 1793).	14
Figure 4: Huile d'ail commercialisée en Algérie (photo personnelle).	16
Figure 5: Nigella Sativa L (Guignard J.L, 2001).....	17
Figure 6: Huile de nigelle commercialisée en Algérie (photo personnelle).....	18
Figure 7: Thymus Vulgaris (Iserin, 2001).....	19
Figure 8: Huile de thym commercialisée en Algérie (photo personnelle).	19
Figure 9: Rhizome gingembre (www.biolineaires.com).....	20
Figure 10: Zingiber officinale (Gingon, 2012).....	20
Figure 11: Huile de gingembre commercialisée en Algérie (photo personnelle).....	21
Figure 12: Ganglion préscapulaire d'un bouc (photo personnelle).....	23
Figure 13: Ganglion préscapulaire d'un mouton (photo personnelle).....	23
Figure 14: Sacs des prélèvements (photo personnelle).....	24
Figure 15: Incubateur (photo personnelle).	25
Figure 16: Gélose au sang frais et une micropipette (photo personnelle).....	26
Figure 17: Culture de prélèvement du bouc (photo personnelle).	26
Figure 18: Culture de prélèvement du mouton (photo personnelle).....	27
Figure 19: <i>Corynebacterium pseudotuberculosis</i>	32
Figure 20: aspect d'autres colonies bactériennes.	32

Partie I: BIBLIOGRAPHIE

Introduction

La Lymphadénite caséuse figure parmi les maladies les plus anciennement décrites en élevage ovin, aucun pays à travers le monde ne semble en être exempt. Elle est d'ailleurs l'une des pathologies les plus souvent rencontrées sur le terrain algérien actuellement et ce essentiellement dans les lots d'engraissement qui se constituent principalement à grande échelle durant les deux mois précédant l'Aïd el Kebir. En effet, pendant cette période et afin que leurs animaux soient fin prêts au sacrifice du point de vue embonpoint, les éleveurs infligent une phase d'augmentation massive de poids à ces derniers ce qui favoriserait l'installation de la pathologie.

Du fait de la négligence des intervenants du secteur (vétérinaires et éleveurs) envers cette pathologie, et que peu de recherches sur le sujet ont été établies à ce jour, nous nous sommes intéressées à ce travail.

L'incidence sur l'état général de l'animal est faible, néanmoins, elle suscite un intérêt économique indéniable, une marge considérable du prix de vente de l'animal chute en vue de la répugnance aux yeux de l'acheteur.

Sur le plan thérapeutique, il existe un traitement chirurgical et antiseptique mais il reste limité vu qu'il touche à l'intégrité tissulaire externe de l'animal. Par le biais de ce travail, nous ambitionnons à proposer des huiles essentielles ayant un effet bactéricide sur les germes des abcès du mouton, en espérant que ce travail soit poursuivi dans le futur par d'autres étudiants pour éventuellement essayer d'élaborer de nouvelles méthodes de lutte ayant comme but de limiter son impacte sur le prix de vente du sujet afin de préserver sa valeur marchande.

Chapitre I: Maladie des abcès

A. Définition

La lymphadénite caséuse est une maladie infectieuse bactérienne, chronique, fortement contagieuse, inoculable (J. Arsenault, 2001) dont le principal agent incriminé est *Corynebacterium pseudotuberculosis*, un germe tellurique pouvant causer une infection chez l'humain, d'où le caractère zoonotique de la maladie. D'autres germes sont aussi associés à cette bactérie dont *Fusobacterium necrophorum* et *Staphylococcus aureus* (Boukerrou et al., 1985 ; de la Fuente et al., 1997 ; Figueroa et al., 2007). Cette maladie touchant les moutons et les chèvres, se traduit par des ganglions lymphatiques superficiels et pulmonaires caséux (abcès des ganglions).

B. Etiologie

a. *Corynebacterium pseudotuberculosis*

Bactérie, immobile, gram positif, aéro-anaérobie facultative, acapsulée, asporulée et intracellulaire facultative, se présentant sous deux formes distinctes en culture artificielle ; une forme coccoïde et une seconde forme bacillaire présentant des granules métachromatiques absents dans les formes coccoïdes. Cette bactérie peut longtemps survivre dans le milieu extérieur sans pour autant s'y multiplier. *C. pseudotuberculosis* est un parasite intracellulaire facultatif qui a la capacité de survivre dans les macrophages (Chirino-Zàrraga et al., 2006).

Les colonies bactériennes sont blanches, régulières, et responsables d'une α -hémolyse. Elles ne cultivent bien que sur milieux riches (addition de sang, de sérum ou d'hémoglobine). Elles se regroupent en palissade, ou en lettres de l'alphabet. Leur croissance est à des températures variables (18 à 40°C). Le diamètre d'une colonie après 48h d'incubation est de 1 mm en moyenne. La croissance sur gélose au sang produit une odeur de souris (Connor et al, 2000).

b. *Staphylococcus aureus*

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, la grande majorité des souches sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule par culture.

Éliminée dans le milieu extérieur, cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement (Médecine Sorbonne université, cours bactériologie).

Les staphylocoques sont des bactéries peu exigeantes et peuvent être isolés en bouillon ou sur milieux solides tels que géloses ordinaires ou géloses au sang à 37°C en aérobiose. Sur les milieux usuels, les colonies sont de taille variable (1 à 3 mm après 24H d'incubation) circulaires, opaques, légèrement bombées ou aplaties. La pigmentation des colonies peut varier du blanc au jaune ou au jaune orangé. Sur gélose au sang, les souches <<typiques>> de *S.aureus* peuvent produire des colonies de couleur jaune dorée, entourées d'une hémolyse β (François Denis et al., 2016).

C. Physiopathologie

a. Voies d'entrée de la bactérie

La bactérie pénètre l'organisme principalement par le biais des lésions cutanées comme elle peut également infecter une peau saine récemment tondu. L'infection par les muqueuses et les voies respiratoires a été elle aussi rapportée mais ces modes semblent secondaires dans la transmission naturelle de la maladie (Nairn ME., Robertson JP., 1974). L'entrée se fait plus fréquemment au niveau de la tête et du cou. En effet, les plaies y sont plus fréquentes à cause des bagarres, les béliers et les caprins en particulier utilisant souvent leur tête. De plus, les plaies faisant suite au bouclage ou au tatouage peuvent servir de voie d'entrée. C'est aussi le cas des abrasions sur les lèvres et les mâchoires, résultant de la préhension d'aliments secs et fibreux. Enfin, la bactérie pourrait pénétrer par voie orale lorsque les aliments, l'eau ou les mangeoires sont eux-mêmes contaminés par du pus ou des aérosols (Baird, 2003).

b. Etapes de formation de l'abcès

Une fois la bactérie entrée dans l'organisme, ce dernier réagit alors par la formation d'un abcès entouré de capsules successives pour réduire sa dissémination, d'où l'apparence d'un abcès en pelure d'oignon. Le pus renfermé à l'intérieur de l'abcès est généralement épais, voire même sec, et de couleur jaune ou verdâtre.

Au niveau de la porte d'entrée de l'infection, on observe des lésions élémentaires marquées au début par des signes inflammatoires, suivis rapidement d'un phénomène suppuratif. A partir de ce foyer initial, le processus tend à diffuser : rôle de la toxine

(phospholipase D) par son action vasodilatatrice. Cette diffusion gagne en premier lieu les nœuds lymphatiques régionaux (Julie Arsenault, Denise Bélanger, 2000).

D. Signes cliniques et lésionnels

a. Forme cutanée

Évolue sous forme d'une dermite suppurée, plus fréquente chez les jeunes et se caractérise par la présence de petits abcès sous cutanés répartis en différents points de l'organisme de l'animal (encolure, thorax, flanc, bourse chez le mâle ou la mamelle chez la femelle) il s'agit d'abcès froid entouré d'une coque épaisse avec éventuellement une petite ouverture (fistule)(El Fassi Fihri, 1988).

b. Forme ganglionnaire

Elle peut être superficielle ou profonde, dans la forme superficielle l'abcédation intéresse surtout les nœuds lymphatiques rétro-pharyngiens, parotidiens, cervicaux superficiels et les poplités. Plus fréquente chez les agneaux de 3 à 12 semaines (Chikamatsu S., Zhao H., Kikuchi N., Hiramune T., 1989) (Mickael D., Piontkowski, Douglas W., Shivvers., 1998).

Les lésions de la forme superficielle s'ouvrent généralement sur l'extérieur et laissent s'échapper un pu crémeux de couleur vert pistache. Cependant, ces adénites superficielles ne semblent pas affecter sérieusement l'état général de l'animal (Richard Y., Fontaine M., Oudar J., Fontaine MP. 1979).

Dans le cas de la forme profonde, les abcès sont localisés aux nœuds lymphatiques profonds, en particulier les nœuds lymphatiques médiastinaux. L'atteinte de ces derniers peut être associée ou non à une atteinte simultanée des viscères. Par ailleurs, l'atteinte des nœuds lymphatiques médiastinaux peut provoquer une perturbation de la conduction vagale, ce qui est à l'origine des troubles de fonctionnement des pré-estomacs (météorisation récidivante) (Brugere-Picoux J. 1994).

En général, les adénites profondes entraînent un amaigrissement progressif de l'animal. Néanmoins, le diagnostic n'est établi qu'au moment de l'autopsie ou lors de l'inspection des carcasses aux abattoirs (Yeruham I., Braveman Y., ShpigelNy., Chizov-Ginzburg A., Saran A., Winkler M. 1996).

E. Diagnostic

a. Diagnostic clinique

L'observation d'abcès à coque épaisse et fibreuse dont les localisations superficielles sont le plus souvent en regard des nœuds lymphatiques oriente le diagnostic. Il se révèle beaucoup plus délicat lorsque ces abcès sont viscéraux. L'examen d'autres animaux du cheptel permet alors parfois d'orienter le praticien (Kuria et Nagattia, 1990 ; Pepin et al., 1999).

b. Diagnostic expérimental

Le recours au laboratoire est indispensable pour préciser l'étiologie de la maladie, pour apprécier les risques évolutifs et orienter la prophylaxie et la thérapeutique.

c. Diagnostic bactériologique

1. Prélèvement

Le pus est recueilli antiseptiquement, après tonte et désinfection cutanée, dans un flacon stérile, soit par ponction d'un abcès fermé et fluctuant, soit par écouvillonnage de la coque de l'abcès (Blood D.C., Henderson J.A et Radostits O.M., 1994).

2. Envoi

Dans l'ignorance du germe responsable, il est utile d'envoyer rapidement le pu recueilli dans un flacon sous protection du froid (4 à 5 °C) (Blood D.C., Henderson J.A et Radostits O.M.,1994).

3. Méthodes

Le protocole suivant peut être proposé :

- Examen direct : Consiste en la coloration de gram du frottis de pus. Il ne permet cependant pas de différencier entre *S.aureus* et *C.pseudotuberculosis* (Mubarak M, Bastawrows A.F, Abdel-hafeez MM., Ali MM., 1999).
- Identification : Recherche d'une catalase, caractères biochimiques, recherche en tube et en plaques (galerie 50 CHS en anaérobiose) (Blood D.C., Henderson J.A et Radostits O.M.,1994).

d. Diagnostic différentiel

Dans les localisations superficielles, la maladie des abcès doit être différenciée de toutes les affections nodulaires : hématome, actinobacillose, leucose, kyste salivaire, parasitose (*teaniamulticeps*, myiases), tumeurs (lymphosarcome) et l'hernie ombilicale (Brugere-Picoux J.1994).

La ponction s'avère une manœuvre sémiologique de grand intérêt. Dans les localisations profondes, le seul symptôme observé est le plus souvent un mauvais état général. Il convient de différencier la maladie des abcès de toutes les affections cachectisantes: sous nutrition, carence nutritionnelle, tuberculose, paratuberculose, parasitisme. Le diagnostic nécropsique s'avère nécessaire (Brugere-Picoux J.1994).

F. Méthodes de lutte

a. Traitement

La bactérie est sensible à de nombreux antibiotiques, cependant, leur accès au cœur de l'abcès est très difficile voire nul. La réponse thérapeutique est médiocre.

L'exérèse chirurgicale est la solution la plus adaptée. L'animal doit être isolé, les matières extraites ne doivent en aucun cas polluer l'environnement.

L'abcès est incisé, les débris retirés, la coque rincée par la polyvidone iodée, les écoulements du rinçage doivent également être récupérés. La vaporisation d'un antiseptique local doit être effectuée. L'eau de javel peut être utilisée pour désinfecter le matériel voire même la coque de l'abcès.

Les abcès non mûrs (sans fluctuations) ne doivent pas être traités.

Il est intéressant de déposer un répulsif à mouches à proximité de la zone traitée afin d'éviter les myiases. Il faut penser au port des gants lors d'une intervention sur ces abcès.

Une étude a mis en évidence l'efficacité d'un traitement à base de rifamycine et d'oxytétracycline quotidiennement pendant 10 jours et 3 jours respectivement. Ce protocole étant assez onéreux est rarement envisageable, de plus, aucune guérison bactériologique n'a été mise en évidence (Senturk S., Temizel M., 2006) (Baird G., 2006).

b. Prophylaxie

1. Sanitaire

1. 1. Locaux

On procèdera à des épandages réguliers de superphosphate sur la litière, au minimum une fois par an, une désinfection complète devra être effectuée, après lavage et décapage avec du formol ou du phénol ou d'autres désinfectants agréés. Eventuellement et dans la mesure du possible, il conviendra de prévoir des périodes du vide sanitaire (El Fassi Fihri, 1998).

Les parcs de rassemblement seront assainis par usage de sulfate de fer, de sulfate de cuivre ou de cyanamide calcique.

Enfin, tout objet traumatisant devra être éliminé : clous, fils de fer, arrêtes rugueuses... (Ben Tahar M., 1998).

1. 2. Elevage

1.1.1. Lors de la tonte

Le jour de la tonte, une injection de pénicilline, la désinfection des plaies provoquées avec une solution de bétadine et la stérilisation du matériel de tonte à l'autoclave diminuent significativement le nombre d'animaux contaminés à la suite de cette pratique (Al-Gaabary et al, 2009).

De plus, les agneaux et les jeunes devraient être tondus en premier. Les béliers devraient passer à la fin du troupeau, suivis seulement des animaux dont on sait ou suspecte qu'ils ont la maladie caséuse. De plus, des règles d'hygiène stricte doivent être respectées, et le tondeur devrait porter une tenue spécifique de l'élevage, ou jetable. Le matériel doit être soigneusement nettoyé et désinfecté entre chaque élevage, et même chaque animal (Baird, 2003). Les bains antiparasitaires ne devraient pas être réalisés dans la quinzaine suivant la tonte, pour laisser aux plaies et abrasions créées le temps de cicatriser.

1.1.2. Lors des introductions et sorties d'animaux dans un troupeau

Il est déconseillé d'acheter des animaux provenant de troupeaux infectés. Dans tous les cas, il est recommandé de respecter une quarantaine avant l'introduction dans le

troupeau. Idéalement, il faudrait que l'animal soit testé négativement avant l'achat, même lorsqu'il provient d'un troupeau supposé indemne.

Il faudrait aussi examiner les animaux nouvellement acquis, incluant les camélidés, tous les mois pendant au moins un an après leur introduction, et surveiller l'apparition de masses au niveau des nœuds lymphatiques (Smith et Sherman, 2009).

Concernant les exports, certains pays peuvent demander à ce que les animaux soient testés avant la vente. Il faut alors s'assurer qu'il n'y ait pas d'interaction entre le test et le vaccin, dans le cas où les animaux auraient été vaccinés.

1.1.3. Dans les troupeaux infectés

L'incidence de la maladie caséuse augmente avec l'âge des animaux. Il faudrait donc, dans les troupeaux infectés, renouveler 10 à 20% du troupeau tous les ans, avec des jeunes provenant du même élevage. En effet, en diminuant l'âge moyen, on diminue la probabilité de maintenir dans le troupeau des animaux infectés chroniquement, et donc susceptibles de contaminer l'environnement.

Si le producteur ne veut pas se séparer des animaux infectés, il faut l'inciter à séparer son troupeau en deux lots, un lot sain et un lot contaminé, qui seraient alors gérés de manière totalement indépendante l'un de l'autre. Ils devraient notamment être élevés dans des lieux distincts (Williamson, 2001).

De plus, il faudrait désinfecter les locaux contaminés. Cela n'est pas toujours évident, en particulier quand certains matériaux comme le bois sont utilisés, l'irrégularité des surfaces les rendant difficiles à nettoyer. Il faudrait aussi éviter les grillages, clous et autres matériaux contondants dans les bâtiments. Le contrôle du parasitisme est lui aussi important, car le prurit entraîne les animaux à se frotter aux structures formant l'enclos, et augmente donc le risque de lésions cutanées, donc d'infection (Baird et Malone, 2010).

Il faudrait désinfecter toutes les blessures visibles, et passer de l'iode sur l'ombilic des jeunes à la naissance.

2. Médicale

Un vaccin a été élaboré et utilisé aux USA et en Australie. Ceux présents actuellement dans le commerce sont en général dirigés contre la réponse immunitaire à

médiation humorale, donc plus utiles pour limiter la dissémination de la bactérie dans l'organisme que pour l'éliminer complètement. Le bénéfice de la vaccination réside donc essentiellement dans le fait qu'elle prévient l'établissement de l'infection chez les animaux n'ayant pas encore été exposés à la bactérie (Williamson, 2001). Toutefois, un animal vacciné n'est pas totalement indemne, il peut attraper la maladie.

Chapitre II: Huiles essentielles

A. Extraction et fabrication des huiles essentielles

À l'intérieur de leurs cellules, les végétaux renferment des essences, c'est-à-dire des sécrétions naturelles que l'on extrait pour obtenir les huiles essentielles. Il existe plusieurs méthodes d'extraction qui se pratiquent en fonction de la partie du végétal choisie.

Parmi les divers procédés d'extraction des huiles essentielles deux seulement sont admis par la pharmacopée française ainsi que par l'A.F.N.O.R et I.S.O :

- l'extraction par entraînement à la vapeur
- l'extraction par expression (pressage)

a. Extraction par entraînement à la vapeur d'eau

Trois variantes sont possibles selon la texture et la fragilité de la matière première à traiter :

1. Hydro-distillation simple

Il s'agit de la méthode la plus employée. Ce processus nécessite l'emploi de trois cuves reliées par des tubes.

Les parties de plante choisies sont placées dans une première cuve, traversée par de la vapeur d'eau. La vapeur qui provient de la première cuve traverse la deuxième en entraînant avec elle les principes actifs de la plante. Ensuite, la vapeur se refroidit en passant dans un long tube pour arriver dans la troisième cuve, où elle redevient de l'eau.

L'huile essentielle peut alors être séparée de l'eau car, comme elle est plus légère que celle-ci, elle reste en surface. Grâce à cette technique d'extraction, l'huile essentielle garde ses propriétés, et l'eau qui reste après la séparation peut servir à la fabrication des hydrolats (Alessandra Moro Buronzo, 2008).

2. Entraînement à la vapeur sèche

Pour éviter certains phénomènes d'hydrolyse sur des composants de l'huile essentielle ou des réactions chimiques pouvant altérer les résultats, le procédé de l'entraînement à la vapeur sèche a été mis au point. La masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche d'eau est pulsée, les cellules se distendent et les particules d'huile se libèrent, les composés d'huile volatils entraînés par la vapeur d'eau vont pouvoir être séparés par décantation du distillat refroidi (Padma S Vankar., 2004).

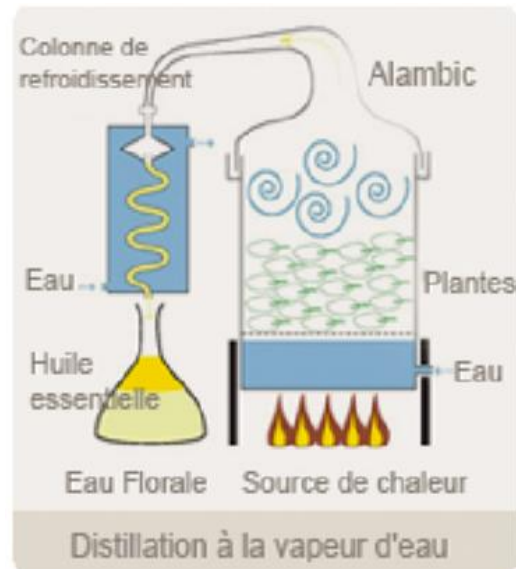


Figure 1: Distillation à la vapeur d'eau (inconnu).

3. Hydrodiffusion

Elle consiste à faire passer un courant de vapeur d'eau à très faible pression à travers la masse végétal. La composition des produits obtenus est sensiblement différente au plan qualitatif de celle des produits obtenus par les méthodes précédentes (Semen E., Hiziroglu S., 2005).

b. Extraction par expression

C'est une technique simple où le matériel végétal est pressé mécaniquement à froid pour extraire son huile essentielle, cette méthode est essentiellement utilisée pour recueillir les huiles essentielles des épicarpes de citrus (citrons, orange, mandarines et pamplemousses) (Willem J.P., 2004).

c. Autres procédés

1. L'extraction au dioxyde de carbone (CO₂) hypercritique

Ce procédé d'extraction est récent. Très coûteux, mais produit des huiles essentielles d'excellente qualité. À 33°C, le dioxyde de carbone atteint son point critique, c'est-à-dire la limite entre l'état gazeux et l'état liquide. Il possède, à cette température, certaines propriétés des états gazeux et liquides, ce qui en fait un excellent solvant pour l'extraction des huiles essentielles fragiles qui requièrent une basse température. Le dioxyde de carbone présente l'avantage d'être inerte, il ne produit aucune interaction chimique avec l'huile extraite. Une dépressurisation sépare l'H.E du dioxyde de carbone, ce procédé s'effectue dans une cuve en acier inoxydable sous forte pression (Jean-Claude Rodet, 2015).

2. L'enfleurage

L'enfleurage est une ancienne méthode d'extraction manuelle des essences, complexe et très coûteuse, qui n'est plus tellement pratiquée de nos jours. Elle est utilisée essentiellement pour les végétaux dont l'arôme est trop fragile pour supporter d'autres méthodes d'extraction. C'est par exemple le cas du jasmin, du narcisse ou du muguet (Alessandra Moro Buronzo, 2008).

Les plantes sont disposées à température ambiante sur des plaques de graisse qui ont pour but d'absorber le parfum. Une fois la plaque bien imprégnée, la matière grasse

est séparée de l'huile essentielle à l'aide d'un solvant. Grâce à cette méthode, on obtient des huiles essentielles de grande qualité (Alessandra Moro Buronzo, 2008).

3. L'extraction par solvants chimiques

Cette méthode est pratiquée au niveau industriel et utilise des produits chimiques comme le benzène, un solvant volatil. L'huile essentielle ainsi obtenue peut garder des traces du solvant utilisé dans l'opération (2 ou 3 %) (Alessandra Moro Buronzo, 2008).

4. Macération

Une macération est une préparation mettant un certain temps en contact un liquide et une plante ou une partie d'une plante (feuilles, graines, fleurs ou morceaux de racines...) dans le but de la conserver, de la ramollir et d'en extraire un principe actif utile pour soigner ou fabriquer des potions, baumes, pommades. En général, on utilise de l'huile de tournesol pour la macération. Il existe deux types de macération :

- **Macération à chaud** : Cette technique consiste à mélanger un liquide (ex : huile de tournesol, eau) avec la plante en question. Elle dure 1 heure à partir de l'ébullition, à la fin de la macération, le macérât est filtré pour retirer les morceaux solides, il doit être conservé à une température de +4° C.
- **Macération à froid** : Son principe est similaire à la macération à chaud, sauf qu'elle dure 24 heures à température ambiante (+20° C) (Bourgoin M-A., GarzaGuajardo R., Philippe G., Souchet S., 2017).

Ces quatre dernières techniques permettent d'obtenir des extraits de plantes qui théoriquement ne s'appellent plus huiles essentielles bien que très proches du point de vue chimique; ce sont les essences concrètes, les résinoïdes et les absolues (Hurtel J-M., 2006).

B. Activité antimicrobienne des huiles essentielles

La majorité des huiles essentielles ont un spectre d'action très large dont leurs terpènes ou terpénoïdes ont des effets contre les bactéries, les mycètes, les virus et les protozoaires. Les huiles essentielles exercent leur pouvoir antimicrobien par :

- Leur interférence avec la bicouche lipidique de la membrane de la cellule grâce à leur propriété hydrophobe ce qui entraîne une perturbation de la cellule (Burt S., 2004),

(Cowan M.M, 1999) En plus cette réaction varie en fonction de la nature de la bicouche lipidique ce qui explique la résistance des bactéries à Gram négatif (Mahmoud B.S.M et al., 2004).

- Destruction de certains systèmes enzymatiques incluant ceux qui participent dans la production d'énergie cellulaire et la production des composés structuraux (Cowan M.M, 1999 ; Liolios, 2009).
- Inactivation et destruction du matériel génétique du micro-organisme (Liolios C.C et al, 2009 ; Mahmoud B.S.M et al, 2004).

C. Aromatogramme/CMI

Il permet d'évaluer de manière fiable et reproductible, l'activité bactéricide des huiles essentielles vis-à-vis de bactéries données. Cette technique s'apparente aux études des antibiotiques (antibiogramme).

Dans une boîte de pétri, avec un milieu Mueller Hinton, on ensemence à la surface de la gélose une suspension bactérienne ou un germe donné. Sur cette surface microbienne, on vient placer des petits disques de buvard stérile, préalablement imprégnés des huiles essentielles à tester (en général 5 à 7 microlitres par disque). On laisse incuber à l'étuve à 37° C pendant 24h.

Des halos d'inhibition de taille plus ou moins importante vont se créer autour des pastilles en fonction du pouvoir bactéricide de l'huile essentielle, c'est-à-dire une auréole claire et transparente, circulaire à bord net et au-delà de laquelle le milieu est trouble en raison de la prolifération des germes. On mesure alors le diamètre de ces auréoles (incluant le disque) afin de définir l'activité microbienne in vitro de l'huile essentielle testée : c'est le diamètre d'inhibition. Plus le halo est grand plus l'huile essentielle est bactéricide sur le germe ensemencé. La figure représente différents diamètres

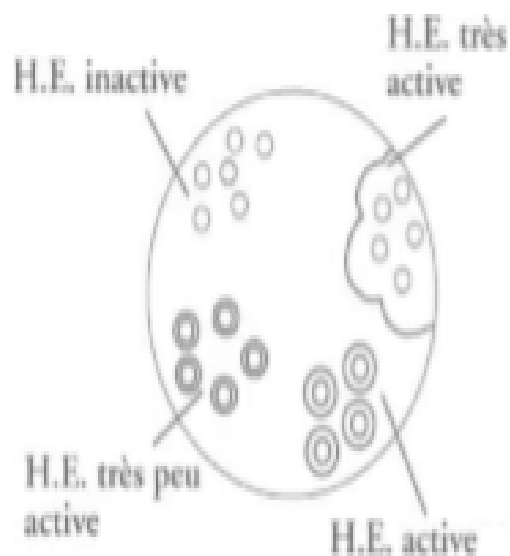


Figure 2: Zones d'inhibition d'aromato-gramme (inconnu).

d'inhibition.

CMI : Concentration minimale inhibitrice permettant d'inhiber la croissance bacterienne (Jollois R., Phénoël D., Franchomme P., Mars J., 2001).

Chapitre III: Présentation des plantes

A. Plantes

a. Ail (*Allium sativum*)

1. Présentation de la plante :

L'ail, est un membre de la famille des Alliaceae, comme épice. Ce bulbe les plus anciennement cultivés par l'homme qui l'utilisait autant pour son alimentation que pour sa santé (Berthet 2014).

Cette plante est de plus en plus mise en avant pour ses propriétés



Figure 3: *Allium Sativum* (James Phillips, 1793).

antimicrobiennes notamment grâce à la présence d'allicine. Ainsi, une étude a été réalisée avec pour objectif de déterminer l'effet inhibiteur d'extrait d'ail obtenu à partir de plusieurs méthodes d'extraction, seule la macération à froid permet d'obtenir un produit aux effets antimicrobiens (Berthet.,2014).

2. Principe actif :

Les constituants chimiques les plus importants signalés dans les bulbes d'ail sont les composés soufrés (Jungmin, James&H 2005).

Les sulfoxydes de cystéine et l'alliine représentent plus de 82% de la teneur totale en soufre de l'ail (Berthet 2014).

Les thiosulfates (ex : l'allicine), les ajoènes, les vinylthiines, et les sulfures sont des produits de dégradation de l'alliine (Guiet, 2011). Lorsque le bulbe d'ail est lésé, l'alliine est libéré de son compartiment et interagit avec l'alliinase (enzyme)

présente dans les vacuoles adjacentes pour former l'allicine (Guiet, 2011). La transformation de l'alliine, précurseur aromatique principal, en diverses molécules odorantes aux propriétés démontrées, est la clé de la génération de la plupart des molécules actives de l'ail (Majewski 2014). L'alliine est une substance qui est un antibiotique plus fort que la pénicilline ou la tétracycline (Majewski 2014).



Figure 4: Huile d'ail commercialisée en Algérie (photo personnelle).

b. Nigelle : (NigellaSativa L)

1. Présentation de la plante

C'est une plante annuelle herbacée (K. Ghedira.,2006), présente dans le bassin méditerranéen et au moyen orient, Ses graines sont appréciées pour leurs nombreux bienfaits sur la santé. Depuis plusieurs milliers d'années, elles sont récoltées avant d'être grillées, écrasées ou utilisées à l'élaboration de décoctions, d'une huile végétale et d'une huile essentielle. Les huiles de nigelle sont prisées en phytothérapie pour leur potentiel antioxydant, immunostimulant, antihistaminique (François Couplan., 2009) et

antibactérien notamment sur des bactéries à caractère pyogènes (Salman M. T, Khan R. A, Shukla I., 2008).

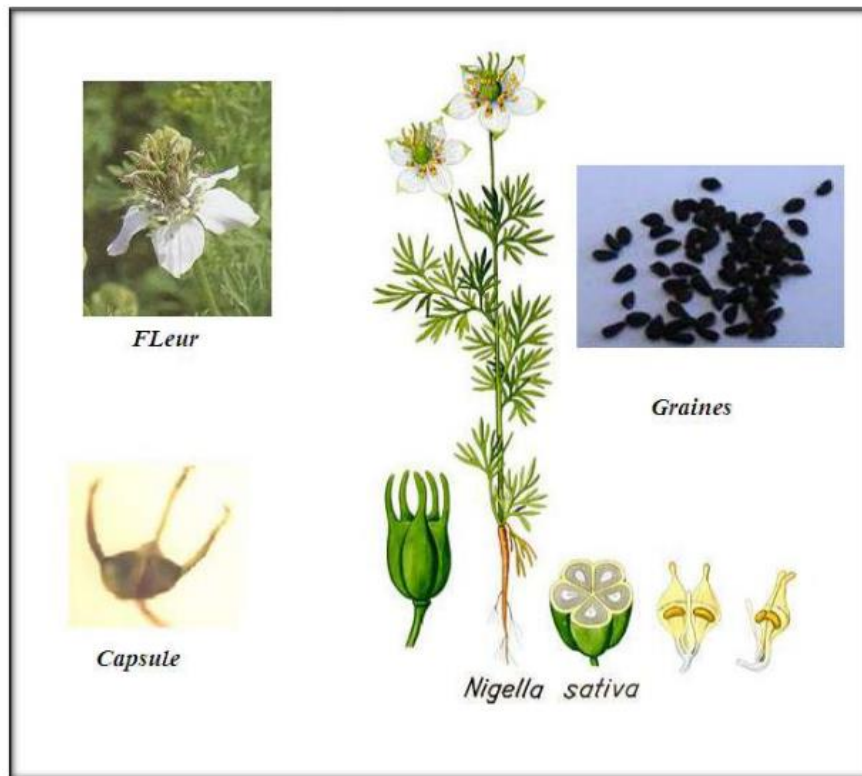


Figure 5: *Nigella Sativa* L (Guignard J.L, 2001).

2. Principe actif

Une étude sur *N. sativa* cultivée au Sahara Algérien a démontré que l'huile essentielle comprend 112 composés dont les principaux sont le p-cymène, le thymoquinone, le thymol et la thymohydroquinone, ayant des propriétés antioxydantes, antiinflammatoires et antihistaminiques. (Benkacie et al., Algerie 2006).



Figure 6: Huile de nigelle commercialisée en Algérie (photo personnelle).

c. Thym (*Thymus vulgaris*)

1. Présentation de la plante

Sous-arbrisseau ramifié à tiges linéuses, nombreuses petites feuilles pointues (Lesley Bremness., 1994) Poussant largement dans le bassin méditerranéen (Maksimovic et al., 2008).

L'huile essentielle de thym, distillée à partir des fleurs ou des sommités fleuries, a des propriétés pharmacologiques intéressantes (Lesley Bremness., 1994).

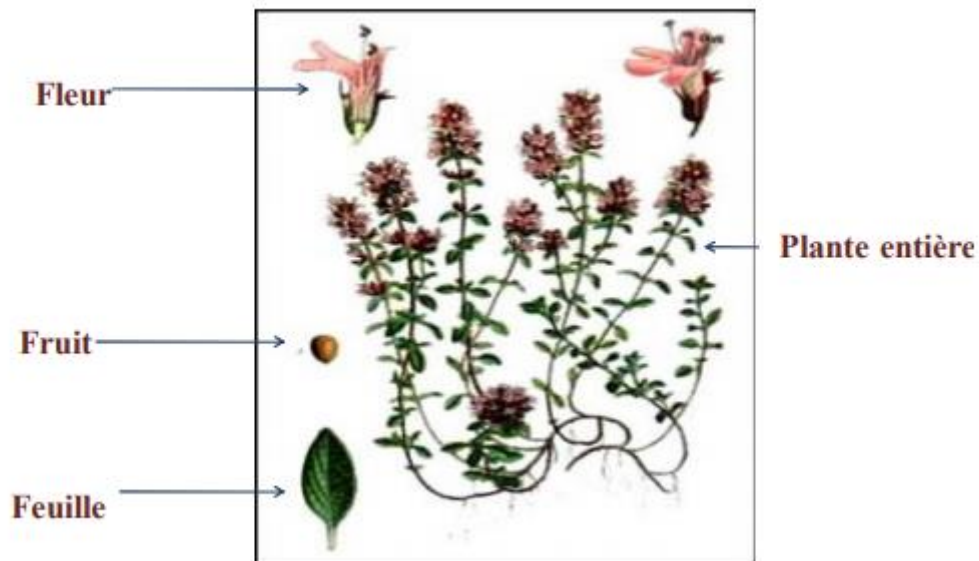


Figure 7: Thymus Vulgaris (Iserin, 2001).

2. Principe actif :

Les concentrations des composants de l'huile essentielle varient selon la saison, cependant le thymol est le constituant majeur dans toutes les saisons suivi par le o-cymène et le gamma-terpinene (Jordan et al., 2006).



Figure 8: Huile de thym commercialisée en Algérie (photo personnelle).

d. Gingembre

1. Présentation de la plante

Le gingembre est une grande plante tropicale (Snpe/Symtia, 2017), herbacée vivace, présente dans les régions ensoleillées et humides. Le rhizome est horizontal, ramifié, aromatique, blanc ou jaunâtre à brun (Rose, 2005), dans laquelle sont concentrés les éléments nutritifs (Minker et al, 2012). Les feuilles se développent à partir du rhizome ramifié (Kuete, Mbaveng, 2017), elles sont pointues, étroitement ou

linéaires-lancéolées, mesurent environ 20 cm de long et 1,5–2 cm de large, enserrant la tige. Les fleurs, qui ressemblent aux orchidées, sont discrètes et apparaissent en un épi dense (Rose, 2005). La richesse et la variété des produits chimiques présents dans les rhizomes de *Zingiber officinale* sont responsables du goût, de l'arôme et des propriétés curatives antibactériennes du gingembre (Quave., 2012).



Figure 9: Rhizome gingembre
(www.biolineaires.com).



Figure 10: *Zingiber officinale* (Gingon, 2012).

2. Principe actif :

Le gingembre contient plusieurs composés parmi lesquels un mélange de zingérone, de shogaols, de gingérols et d'huiles volatiles (Kueté, Mbaveng, 2017).

Les composés phénoliques du gingembre sont appelés les gingérols (4 – 7,5 %): Le principal composé est le 6-gingérol (On trouve d'autres composés tels que le 8-gingérol et le 10-gingérol, qui sont présents en plus petites quantités). Ils sont reconnus d'être synthétisés par les plantes en réponse à l'infection microbienne. Donc il est logique qu'ils aient trouvé que ces composés soient des substances antimicrobiennes efficaces avec un large spectre *in vitro* (Boulekbache et al., 2013). Les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes, possédant des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes. La force et le spectre d'activité antimicrobienne varient selon le type d'extrait et le type de bactéries (Djenane et al. 2012).

Elle est cultivée en vue d'en extraire de l'huile essentielle au parfum de rose. En Algérie, cette plante annuelle et spontanée est largement répandue. Bien que l'huile essentielle de ce pélargonium possède des propriétés anti-infectieuses, anti-inflammatoires, spasmolytiques, hémostatiques et cicatrisantes (Hassane SOS, Ghanmi M, Satrani B, ;et al., 2012) (Moro Buronzo A., 2008).



Figure 11: Huile de gingembre commercialisée en Algérie (photo personnelle).

Partie II: (EXPERIMENTALE) ETUDE IN VITRO

Chapitre I: Recherche de l'activité antibactérienne de quelques huiles essentielles commercialisées en Algérie sur les germes de la lymphadénite caséuse

A. Introduction

L'incidence imposante des abcès ganglionnaires sur les cheptels locaux suscite une attention bien particulière du fait de son impacte sur le coût de l'animal qui voit une baisse non négligeable des suite à cette affection.

Corynebacterium pseudotuberculosis représente le pathogène le plus incriminé dans la plupart des cas lors de la lymphadénite caséuse en association avec d'autres germes de surinfection dont le *staphylococcus aureus* ainsi que le *fusobacterium necrophorum*.

La recherche d'un nouvel agent d'origine naturelle comme alternative thérapeutique serait d'autant plus avantageuse que les moyens de lutte actuels, à savoir l'antibiothérapie.

De nos jours, l'intégration de la flore dans l'arsenal thérapeutique est d'actualité de par les bienfaits incontestables que ça procure.

Néanmoins, les travaux sur les vertus des plantes médicinales et leurs huiles essentielles en médecine vétérinaire demeurent peu nombreux et leurs effets antimicrobiens sur les germes des animaux sont peu étudiés.

Pour toutes ces raisons, nous avons souhaité mener une étude qui porte sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de certaines huiles essentielles d'origine algérienne ou indienne (toutes commercialisées en Algérie) sur les souches incriminées lors de la lymphadénite caséuse des petits ruminants.

B. Objectif :

Le but de notre étude est la recherche de l'activité antibactérienne de quatre huiles essentielles à savoir la nigelle, l'ail, le thym et le gingembre sur le germe le plus incriminé lors de la lymphadénite caséuse des petits ruminants (*Corynebacterium pseudotuberculosis*).

C. Matériel

a. Laboratoire

Tous nos travaux ont été réalisés en Février sur une période de 10 jours au sein du laboratoire d'analyses vétérinaires, contrôle de la qualité, la conformité et de la recherche appliquée AVCQ labà Baraki.

b. Animaux

Deux échantillons ont été prélevés à partir de ganglions pré-scapulaires sur deux sujets, un mouton et un bouc. Le cheptel se trouve à OuledChbel – Birtouta.



Figure 12: Ganglion préscapulaire d'un bouc (photo personnelle).



Figure 13: Ganglion préscapulaire d'un mouton (photo personnelle).

c. Huiles essentielles

Nigelle, ail, Thym, gingembre. Toutes ces huiles ont été choisies en fonction de leur pouvoir bactéricide étudié et documenté.

d. Gélose au sang frais

Nous avons mélangé 100g de gélose au sang synthétique déshydratée avec 100ml d'eau distillée. Nous avons pris 180 ml du mélange obtenu et on y a rajouté 9 ml de sang frais.

D. Méthode expérimentale

a. Prélèvement clinique

Il a été réalisé sur deux sujets atteints de lymphadénite caséuse, un mouton et une chèvre au niveau des ganglions pré-scapulaires.

Pour augmenter nos chances d'obtenir des échantillons avec des bactéries vivantes, nous avons procédé à deux types de prélèvement sur chaque sujet, le premier consiste en un raclage profond de l'abcès jusqu'à atteindre la coque à l'aide d'un écouvillon stérile aussitôt mit dans un flacon pour éviter les surinfections. Le deuxième, une récolte de pus à l'intérieur d'un tube Eppendorf.

Les prélèvements ont été mis dans une glacière pour leur transport et ont été directement acheminés au laboratoire d'analyses vétérinaires. Chaque prélèvement appartenant à chaque espèce a été mis dans de l'eau physiologique pour la dilution et le pré-enrichissement des bactéries présentes dans le pu avant d'être ensemencé dans le milieu de culture.

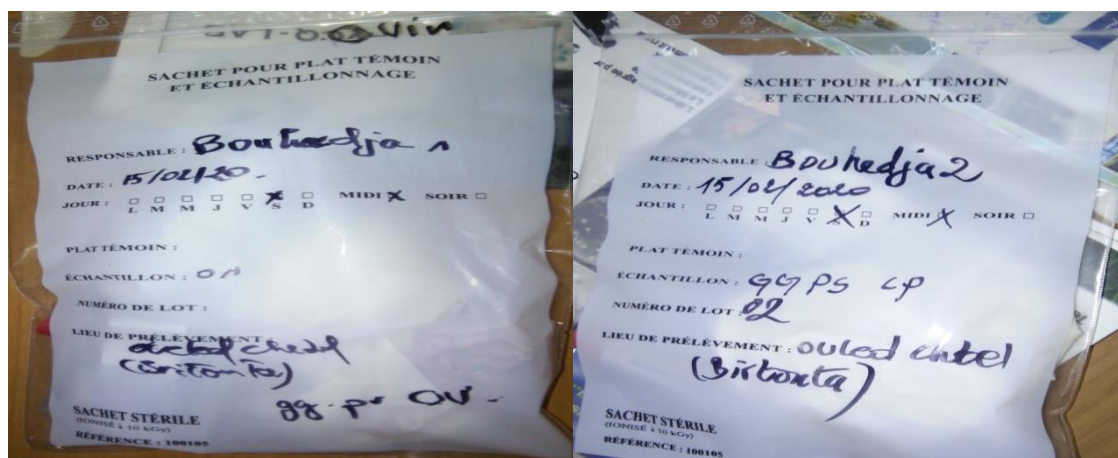


Figure 14: Sacs des prélèvements (photo personnelle).

b. Ensemencement du milieu

24 heures après l'incubation du milieu de culture et de l'échantillon enrichi, on fait fondre la gélose au sang dans un bain Marie, ensuite on la laisse refroidir jusqu'à atteindre une température approximative à 40°C. Dans un champ stérile près du bec benzène, on verse 10 ml de gélose dans deux boîtes Pétri. Une fois le milieu gélifié, à l'aide d'une pipette Pasteur, nous avons pris 1ml des deux milieux pré-enrichis (mouton et chèvre) que nous avons versé dans les deux boîtes Pétri, nous avons utilisé la pipette en râteau pour procéder à l'étalement sur toute la surface de la gélose. Les deux boîtes sont par la suite mises dans l'incubateur à une température de 37°C pour une durée de 24h.



Figure 15: Incubateur (photo personnelle).

c. Etude de l'activité antimicrobienne in vitro des huiles essentielles

En raison de la non disponibilité de disques d'antibiotiques vierges, nous avons opté pour la fabrication de milieu de culture à base des huiles essentielles choisies.

Nous avons eu besoin de 8 boîtes Pétri, 4 pour l'ovin et 4 pour le caprin. Dans chaque boîte Pétri nous avons versé 10ml de gélose au sang frais mélangée à 50 μ L de chaque huile, puis nous avonsensemencé. Les 8 boîtes ont été mises par la suite dans l'incubateur à 37°C Pendant 24H.



Figure 16: Gélose au sang frais et une micropipette (photo personnelle).

d. Dilutions de l'huile de nigelle

Dans un premier temps, nous avons utilisé une dilution maximale de toutes les huiles pour voir laquelle était efficace.

Dans cette partie, nous avons testé l'huile de nigelle à de plus faibles concentrations.

Nous avons utilisé 10 boîtes pétries. 5 boîtes pour l'échantillon de l'ovin et 5 autres boîtes pour le caprin. Cinq concentrations ont été appliquées : 25, 20, 15, 10 et 5 μL .

E. Résultats

-La lecture sur les boîtes témoin a été faite 24 heures après l'incubation à 37°C :











Figure 17: Culture de prélèvement du bouc (photo personnelle).





Figure 18: Culture de prélèvement du mouton (photo personnelle).

-Lecture des boites contenant les huiles essentielles après 24 heures :





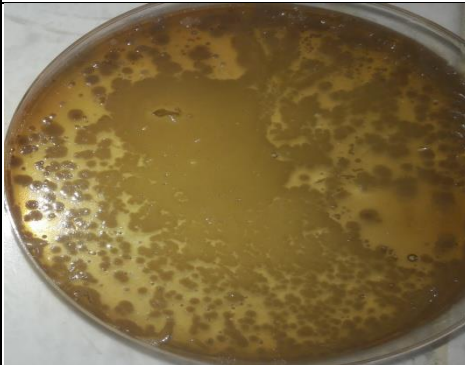



Boites	Ovin	Caprin
Gingembre		
Thym		

Ail		
Nigelle		







-Lecture des boites témoin après 48 heures :


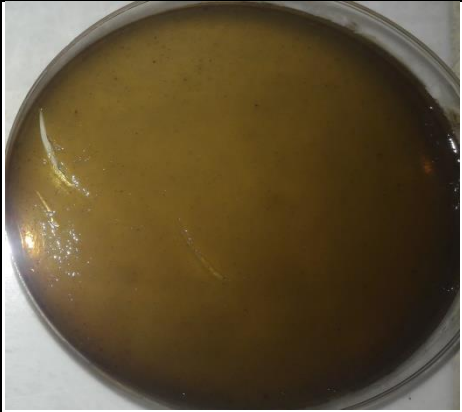


Ovin	Caprin
	

- Lecture sur les boites pétri 48 heures après l'incubation :

Boites	Ovin	Caprin
Gingembre		
Thym		
Ail		
Nigelle		

-Résultat des dilutions de l'huile de nigelle :

Dilutions	Ovin	Caprin
25 μ L		
20 μ L		
15 μ L		

10 μ L		
05 μ L		

F. Discussion

a. Cultures bactériennes de référence

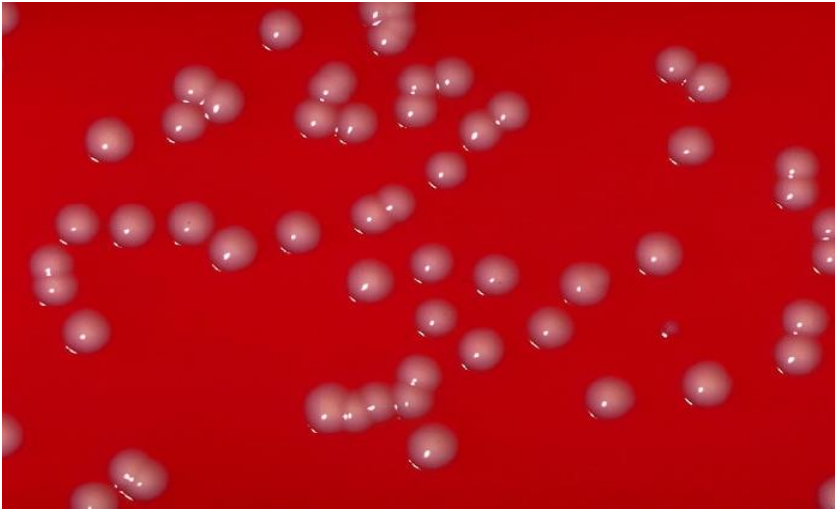


Figure 19: *Corynebacterium pseudotuberculosis*.

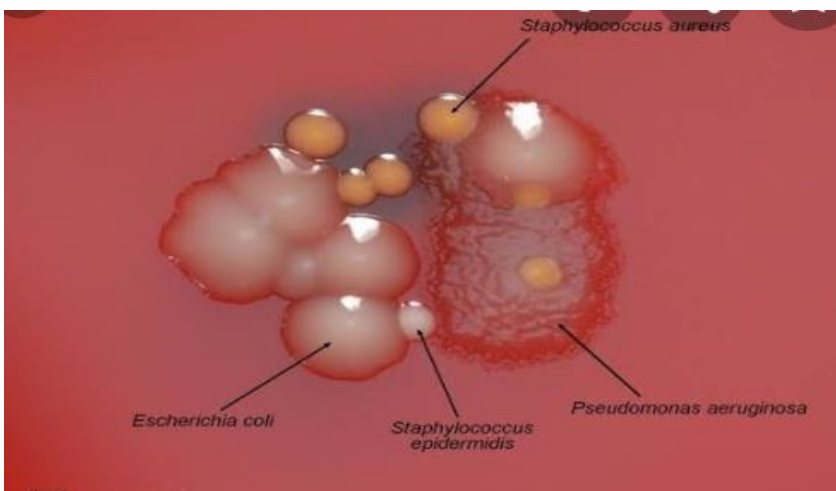


Figure 20: aspect d'autres colonies bactériennes.

b. Essai des huiles essentielles

Dans notre étude, l'identification présumptive *Corynebacterium pseudotuberculosis* et *Staphylococcus aureus* est basée sur la morphologie coloniale sur gélose et bactérienne au microscope. Cependant, pour confirmer les résultats, la réalisation de tests biochimiques sur galeries API et d'un test PCR spécifique sont recommandés.

En effet, nous avons procédé à une étude comparative entre les résultats obtenus et l'aspect des bactéries les plus incriminées dans la lymphadénite caséuse que nous avons pris à partir de travaux déjà établis auparavant sur ces derniers.

Les résultats obtenus 24 heures après l'ensemencement, montrent la présence de colonies de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Comme cité dans la partie bibliographique, ce pathogène présente un aspect blanc, régulier et bombé avec un regroupement en palissade ou en lettre de l'alphabet, de plus de l'odeur de souris bien particulière que dégageaient les boîtes.

48 heures après, lecture faite, nous remarquons que de nouvelles colonies se sont formées, des colonies de couleur jaune orangé qui pourraient faire allusion à des staphylocoques, le deuxième germe le plus incriminé dans les abcès ganglionnaires.

Dans les boîtes contenant l'huile d'ail, l'huile de gingembre et l'huile de thym, il y'a bien eu une poussée bactérienne ce qui veut donc dire que ces trois huiles n'ont pas eu d'effet bactéricide sur les germes. Seule l'huile de nigelle a donné des résultats concluants.

c. Dilutions de l'huile de nigelle

Pour le caprin, on note l'absence de colonies bactériennes à toutes les concentrations.

Pour l'ovine la concentration la plus élevée, à savoir 25 µL a inhibé la croissance de tout germe probablement présent dans le prélèvement. Dans toutes les autres concentrations, on remarque l'absence de colonies bactériennes et la présence de champignons qui deviennent de plus en plus conséquents à chaque fois que la concentration diminue.

G. Conclusion et perspectives

L'isolement de *Corynebacterium pseudotuberculosis* à partir d'un échantillon clinique sur une gélose au sang semble une technique concluante pour détecter ce pathogène étant donné que ce milieu est pourvu des propriétés nécessaires à la survie et la prolifération de ce germe.

Cette identification constituera ainsi une base pour l'étude de la susceptibilité de ce pathogène aux différents agents antimicrobiens, en l'occurrence les huiles essentielles qui représentent l'objet de notre étude.

L'huile de nigelle présente un fort potentiel bactéricide sur tous les germes incriminés dans la lymphadénite caséuse du mouton.

Nous concluons qu'il est plus adéquat d'utiliser l'huile de nigelle à une concentration élevée de 50 μL pour être sûr d'avoir un résultat optimal, au risque d'avoir une prolifération bactérienne ou l'apparition de nouveaux pathogènes dans le milieu si on diminue la concentration.

References

- Ahmed Abu Raghif, Maysaa Ali, ShurooqRayyisKadhim. Activité antibacterienne de l'huile essentielle d'Aloevera contre l'infection de la peau par Staphylococcus aureus: études in vitro et in vivo (2015).
- Alessandra Moro Buronzo, (2008). Grande guide des Huiles essentielles, page : 21.
- Alhaidariz.-(1988) Lantisepsie cutanée. Prat. Méd. Chir. Anim. Comp., 6, 525-527.
- Arsenault J., (2001) Prévalence et impact du maedi-visna, de la lymphadénite caséuse et de la paratuberculose chez les ovins du Québec, Département de pathologie et microbiologie vétérinaire, faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, Saint-Hyacinthe, 232 p.
- Baird G., Treatment of ovine caseousLymphadenitis, Vet. Rec., 2006, 159,500.
Ben Tahar M., (1998) Pathologies cutanées chez les ruminants domestiques. Thèse de doctorat Vétérinaire IAV Hassan II.
- Baird Gj (2003). Current perspectives on caseous lymphadenitis. In Pract., 25, 62 -68.
- Baird Gj, Malone Fe (2010). Control of caseous lymphadenitis in six sheep flocks using clinical examination and regular ELISA testing. Vet. Rec., 166, 358–362.
- Baird GJ., (2003) current perspectives on caseous lymphadenitis. In Pract., 25, 62-68.
- Baranton G. et Postic D.; 2011. Méthodes de laboratoire : Leptospire - Borréliose de Lyme, Institut Pasteur, Collection : Commission des laboratoires de référence et d'expertise de l'institut Pasteur Paris.
- Ben Tahar M., 1999. Pathologies cutanées chez les ruminants domestiques. Thèse de doctoratvétérinaire IAV Hassan II.
- Benjamin RD, Short MA, Vargas JC, Thomas SO, Mark CE. In vitro activity of a novel compound, the metal ion chelating agent AQ+, against clinical isolates Staphylococcus aureus. J antimicrobChemother. 2006 ; 57 (1) : 104-109.

- Benkaci-Ali F, Baaliouamer A, Wathelet JP, Marlier M. Chemical composition and physicochemical characteristics of fixed oils from algerian *Nigella sativa* seeds. *Chem Nat Compd.* 2007 ;47(6):925-31.
- Berthet , O. (2014). Y A-T-II Une Place Pour La Phytothérapie Dans La Prévention Des Maladies Cardiovasculaires. Doctorat, Joseph Fourier.
- Blood D.C., Henderson J.A et Radostits O.M., (1994). *Veterinary Medicine*, Baillière Tindal, 5^{ème} édition, London, 1763.
- Bougrow. S., Reconnaître les champignons les plante et baies sauvages, E/P/A, 410 p, 2009.
- Bougrow. S., Reconnaître les champignons les plante et baies sauvages, E/P/A, 410 p, 2009.
- Boukerrou A., Ganiere J.P., El Solh N., Andre G., Garros D., 1985. *Revue Méd. Vet.*, 136, 391-397
- Bourgoïn M-A., GarzaGuajardo R., Philippe G., Souchet S., (2017). Etude des propriétés antimicrobiennes de l'extrait d'ail (*Allium sativum* L.) p1
- Brugere-Picoux J. 1994. *Maladie des moutons - Manuel Pratique*. Ed. France Agricole. 150p.
- Burt S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential application in Foods. A review intern. *J of Food Microbiology*; 94: 223-253.
- Chardin, H., Barsotti, O. & Bonnaure-Mallet, M. *Fusobacterium*. in *Microbiologie en odonto-stomatologie* 44–48 (Maloine, 2006).
- Chikamatsu D., Zhao H., Kikichi N., Hiramune T. (1989). Seroepidemiological survey of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in sheep in Japan using Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Immunodiffusion *Jpn. J. Vet. Sci.* 51: 887-831.
- Chirino-Zàrraga C, Scaramelli A, Rey-valeiron C (2006). Bacteriological characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Venezuelan goat flocks. *Small Rumin. Res.*, 65, 170–175.
- Connor KM, Quirie MM, Baird GJ, Donachie W (2000). Characterization of United Kingdom isolates of *Corynebacterium pseudotuberculosis* using Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *J. Clin. Microbiol.*, 38, 2633-2637.
- Cowan M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Review*; 12(4): 564-582.

- Eastern Redcedar(*Juniperus Virginiana* L.) . American Journal of Environmental.
- El Fassi Fihri. (1988)., les maladies infectieuses des ovins- Tome1. Ed. Actes editions 262p.
- Fatiha Zaoui, 2013. These de doctorat, synthese et caracterisation de materiaux. Applications environnementale et catalyse. Université Abou-BekrBelkaid de Tlemcen, faculté des sciences, departement de chimie. Page : 2.
- Fleurette J. et al.-(1995) Antisepsie et désinfection. Paris: Les éditions E.S.K.A.
- François Couplan, Nigelle, Le régal végétal: plantes sauvages comestibles, Editions Ellebore, 2009 - 527 pages.
- François D., Marie-Cécille P., Christian M., Vincent C., Livre de bactériologie médicale : techniques usuelles. Maison d'édition Elsevier Masson. P263., 2016).
- Ghedira K. 2006. La Nigelle Cultivée : *Nigella arvensis* L. (*Ranunculaceae*). *Phytothérapie* 5 : 220-226.
- Gigon. F. (2012). Le gingembre, une épice contre la nausée. *Phéto*, 10:87-91 p.
- Gilly. G., Les plantes aromatiques et huiles essentielles a grasse : Botanique, Culture, Chimie Production et Marché, Edition l'Harmattan, 414p, 2005.
- Guaguere.-(1996) Topical treatment of canine and feline pyoderma. *Vet. dermatol.*, 7, 145-151.
- Guet, A. (2011). L'apport de *marrubiumValgare* L dans la Prévention du risque cardiovasculaire doctorat, Nantes.
- Guignard J.L. (2001). In : Botanique systématique moléculaire . 1 EmeEditionMasson (Paris), P: 304
- Iserin P. (2001) Encyclopédie des plantes médicinales. 2 ème Ed. Larousse. Londres Pp : 143 et 225-226.
- Jean-Claude Rodet (2015) Les huiles essentielles - Processus d'extraction des huiles essentielles des plantes - Biolinéaires | le magazine professionnel... p2
- Jean-Pierre, H., Dubreuil, L. &Marchandin, H. Bactéries anaérobies à Gram négatif. (2015).
- Jollois R., Phénoël D., Franchomme P., Mars J. L'aromathérapie exactement: encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles: fondements, démonstration, illustration et applications d'une science médicale naturelle. [S.I.]: jollois; 2001.

- Julie Arsenault, dmv et Denise Bélanger, Ph.D. dmv Faculté de médecine vétérinaire Université de Montréal. OVNI, le 1er mai 2000, p 2-3.
- Jungmin , L., James, M., Harnl, Y. (2005). Free Amino Acid and Cysteine Sulfoxide Composition Of 11 Garlic (*Allium Sativum* L) Cultivars By Gas Chromatography With Flame Ionization And Mass Selective Detection. *Agricultural And Food Chemistry(J. Agric. Food Chem)*, 53, 9100-9104
- KuriaetNagattia, (1990). Caseous Lymphadenitis of sheep and goats in Kenya. *Bulletin of Animal Health and production in Africa*. 38(1): 15-18.
- Kwochka K.W., Kowalski J.J.-(1991) Prophylactic efficacy of four antibacterial shampoos against staphylococcus intermedius in dogs. *Am. J. Vet. Res.*, 115-118.
- L. Ripoll, "Formulation cosmétique: Matière première," 2015.
- Liolios C.C, Gortzi O, Lalas S, Tsaknis J, Chinou I. (2009). Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanumdictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity. *Food Chemistry*; 112: 77-83.
- Magniez Frédéric, 2008. Le test ELISA – BiOutils.
- Mahmoud B.S.M, Yamasaki K, Miyashita K, Il-Shik S, Dong-suk C, Suzuki T. (2004). Bacterial microflora of carp (*Cypriuscarpis*) and its Shelf-life extension by essential oil compounds. *Food Microbiology*; 21: 657-666.
- Mahmoud B.S.M., Yamasaki K., Miyashita K., Il-Shik S., Dong-suk C., Suzuki T., 2004.
- Majewski , M. (2014). *Allium sativum*: facts and myths regarding human health. *RoczPanstwZaklHig. , 65.(1)*, 1-8.
- Médecine Sorbonne université, cours de bactériologie.
- Medical botany by William Woodville. London, James Phillips, 1793, 1. edition, volume 3 (plate 168).
- Mickael D., Piontkowski, Douglas W., Shivvers., (1998). Evaluation of a commercially available vaccine against *Corynebacterium pseudotuberculosis* for use in sheep. *JAVMA*. June 1.11: 212.

- Mubarak M, Bastawrows A.F, Abdel-hafeezMM., Ali MM.,(1999). Caseous lymphadenitis of sheep and goats in Assiut farms abattoirs. *Asst. Vet. Med.J*, 42 (83) : 89-112.
- Nairn ME, Robertson JP. *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection of sheep: role of skin lesions and dipping fluids. *AustVet J* 1974: 531-542.
- Padma S Vankar. (2004). *Essential Oils and Fragrances from Natural Sources*. P31,34.
- Pepin et Sanchis R., et Patron M., (1999). La lymphadénite caséuse des ovins et des caprins. *Point Vét.* 30: 33-40.
- Richard Y., Fontaine M., Oudar J., Fontaine MP., (1979). Contribution à l'étude de l'épidémiologie et de la pathogénie de la maladie des abcès du mouton. *Comp. Immun. Microbial. Infect. Dis.* 2: 125-148.
- Salman MT, Khan RA, Shukla I. Antimicrobial activity of Black Cumin seeds (*Nigella sativa*) against multidrug resistant strains of Coagulase negative Staphylococci. *Hippocratic Journal of Unani Medicine*. 2008; 3(1): 107-112.
- Semen E., Hiziroglu S. (2005). Production, Yield and Derivatives of Volatile Oils.
- Senturk S., Temizel M,. Clinical efficacy of rifamycin SV combined with oxytetracycline in the treatment of caseous lymphadenitis in sheep, *Vet. Rec*, 2006, 159, 216-217.
- Serikawa S., Ito S., Hatta T., Kusakari N., Senna K., Hiramune T., Kikuchi N., Yanagawa R. 1994) Protection from caseous lymphadenitis in sheep by spraying iodine tincture on shearing wounds. *J. Vet. Méd. Sc.* 56 (2): 411-412.
- Smith MC, Sherman DM (2009). *Goat Medicine*. 2nd ed. Ames, Iowa, Wiley-Blackwell, 888 p.
- WillemJ.P. (2004). *Les huiles essentielles, médecine d'avenir*. P 318.
- Williamson LH (2001). Caseous lymphadenitis in small ruminants. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.*, 17, 359-71
- Wilson MJ, Brandon MR, Walker J (1995). Molecular and biochemical characterization of a protective 40-kilodalton antigen from *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Infect. Immun.*, 63, 206–211.

- Yeruham I., Braveman Y., ShpigelNy.,Chizov-Ginzburg A., Saran A., Winkler M. 1996). Mastitis in dairy cattle caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* and the feasibility of transmission houseflies. *Vet. quart.* 18:87-89.
- Yozwiak ML, Songer JG (1993). Effect of *Corynebacterium pseudotuberculosis* phospholipase D on viability and chemotactic responses of ovine neutrophils. *Am. J. Vet. Res.*, 54, 392-397.
- Site électronique:

<https://www.chups.jussieu.fr/> . Consulté le 22/02/2020.

<https://www.biolineaires.com/>. Consulté le 07/04/2020.