

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE
LA TERRE
DÉPARTEMENT D'AGRONOMIE



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.AGRO/2021

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME de MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Agronomiques

Spécialité : PRODUCTION ET NUTRITION ANIMALE

Présenté par :

MECIED SARA & SENOUCI ILHAM

Thème

***Effets des huiles essentielles sur des bactéries pathogènes
dans une prospection de traitements***

Soutenu le: 12 /07/2021

Devant le jury composé de :

| <i>Nom et Prénom</i> | <i>Grade</i> | | |
|----------------------|--------------|-----------------|--------------|
| M. ABDELLI AMINE | MCA | Univ. de Bouira | Président |
| DOUMANDJI WAFFA | MAA | Univ. de Bouira | Promotrice |
| MME CHERIFI A | MCB | Univ. de Bouira | Examinatrice |

Année Universitaire : 2020/2021



Remerciements

La réalisation de ce mémoire n'a été possible que grâce à Allah

*Et à la Contribution de plusieurs personnes que nous remercions infiniment : en particulier, nous tenons à exprimer nos profondes gratitude à **Mme Doumandji Waffa** pour avoir accepté de nous encadrer afin de réaliser notre travail ; pour ses précieux conseils, et sa gentillesse et son soutien moral et ses encouragements*

*Nous sommes conscientes de l'honneur que nous a fait **Mrs ABEDULLA** en étant président du jury et **Mme Cherifi A** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nous réservons nos particuliers et sincères remerciements pour tout le personnel du laboratoire d'**MMEU***

Nos profonds remerciements vont également à toutes les Personnes qui nous ont aidé et soutenu de près ou de loin.

Dédicaces

Avec l'aide de dieu le tout puissant, ce travail fut accompli et je le dédie à :

A mon très cher père Mohamed qui peut être fier de trouver ici le résultat de Longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer

Dans la vie. Je le remercie d'être pour moi un exemple de persévérance, de Foi en l'avenir, et d'ambition.

A ma chère mère Malika qui s'est toujours sacrifiée pour mon éducation, Qui ma entourée de son amour et de son affection, je la remercie et je N'oublierai jamais son soutien moral dans les moments les plus difficiles, Que dieu la protège.

A mes chères frères Mohamed Chawki, Anouar Essaule, Sofiane Abd el Madjid et Ahcene Alaa Eddine

A mes belles Sœurs, Wissem, Cherifa

A ma petite nièce Manel, et mon neveu zein mohamed racim

A ma magnifique binôme Nham qui a partagé tous mes hauts et bas Tout le long de mon parcours universitaire, je t'adore.

A tous ceux qui ont croisé de près ou de loin mon chemin et qui m'ont Permis d'arriver là où je suis

SARA

Dédicaces

A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

"رَبِّ اغْفِرْ لِي وَلِوَالِدَيَّ وَارْحَمْهُمَا كَمَا رَبَّيَانِي صَغِيرًا"

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce mémoire : mon fiancé Ammar.

Mes Très Chères Sœurs :

*Noura, Samira, Ismahen, Ouhchia, Bassima. Pour Leur
Tendresse, Leur Complicité.*

A Mes Très Chers Frères :

Amar, Ilyas.

*A Mes nièces slasabil, malak, maroua, aya et mes neveux ouassim, yaser, alaa el din,
louay, seif eddine.*

Toute Ma Grande Famille Sans Exception

*A Tous Mes Amis Sans Exception Et Toutes Personnes Qui M'ont Aidé Pour
Faire Ce Modeste Travail.*

*A Ma Binôme Qui A Partagé Avec Moi Les Moments Difficiles De Ce Travail
Et Sa Famille.*

À Toute La Promotion Production et Nutrition Animale : 2020|2021.

9LHAM

Remerciement

Dédicace

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

Chapitre I :Le Lait Cru

I. Généralités.3

I.1. Composition de lait.....3

I.2. Propriétés physico-chimiques5

I.3. Les caractères nutritionnels de lait5

I.4. Qualités organoleptiques du lait.....6

I.4.1. La couleur6

I.4.2. L'odeur6

I.4.3. La saveur6

I.4.4. La viscosité.....7

I.5 microbiologie du lait.....7

I.5.1 flore originelle du lait7

I.5.2 flore de contamination du lait8

I.5.2.1 contamination de lait cru au stade de la production9

I.5.2.2 contamination par l'animal9

I.5.2.3 contamination au cours de la traite.....9

I.5.2.4 contamination au cours du transport10

I.5.3 la flore d'altération10

I.5.3.1 les *coliformes*10

I.5.3.2 levure et moisissure.....11

I.5.3.3 les *streptocoque(fécaux)*,les *streptocoque lactique* et *lactobacilles*11

I.5.4 la flores pathogène11

I.5.4.1 *S.Aureus*.....12

I.5.4.1 les *salmonelles*12

I.5.4.1 *coliforme totaux et fécaux*.....12

Chapitre II: la résistance des bactéries a l'antibiotique

| | | |
|--------------|---|----|
| II. | Antibiotiques..... | 14 |
| II.1. | Classification des antibiotique..... | 14 |
| II.2 | la notion de type d'activité | 18 |
| II.3 | spectre d'activité | 18 |
| II.4 | la résistance | 18 |
| II.4.1. | Différents types de résistance | 19 |
| II.4.1.1 | résistance non-génétique | 19 |
| II.4.1.2 | résistance génétique | 19 |
| II.4.1.2.1 | résistance naturelle | 19 |
| II.4.1.2.2 | résistance acquise | 20 |
| II.4.1.2.2.1 | résistance chromosomique | 20 |
| II.4.1.2.2.2 | résistance extra-chromo-somique..... | 20 |
| II.4.2 | Mécanisme de la résistance | 20 |
| II.4.2.1 | modification de la cible des antibiotiques | 21 |
| II.4.2.2 | synthèse l'enzyme inactivant les antibiotique | 21 |

Chapitre III: les huiles essentielles

| | | |
|----------|--|----|
| III. | Généralités | 22 |
| III.1. | Propriétés Physiques | 23 |
| III.2 | Compositions Chimiques Des Huiles Essentielles | 23 |
| III.3 | <i>Thymus Vulgaris</i> | 24 |
| III.3.1 | Nomenclature..... | 24 |
| III.3.2. | Composition Chimique | 24 |
| III. 4 | <i>Rosmarinus Officinalis</i> | 25 |
| III.4.1 | Nomeclature..... | 25 |
| III.4.2 | Composition Chimique | 26 |
| III.5 | <i>Mentha Piperita</i> | 27 |
| III.6 | L'activité Antimicrobienne Des Huiles Essentielles | 28 |
| III. 7 | Mode D'action Des Huiles Essentielles | 28 |
| III.8 | Les Facteurs Influençant l'activité Antimicrobienne des Huiles Essentielles..... | 30 |
| III.8.1 | Activité Liée a La Composition Chimique..... | 30 |
| III.8.2 | Activité liée au microorganisme | 31 |

Matériel et méthode

| | | |
|--------|--|----|
| I | Présentation du milieu d'étude..... | 32 |
| II | présentation du lieu de prélèvement..... | 32 |
| II.1 | technique de prélèvement..... | 32 |
| II.2 | Transport et conservation des échantillons | 33 |
| III | Analyse bactériologie du lait | 33 |
| III. 1 | microorganisme étudiés | 33 |
| III.2 | Milieus de culture utilisés | 34 |
| III.3 | Préparation des solution mères et dilution | 35 |
| III.4 | Enrichissement | 36 |
| III.5 | Identification des bactéries..... | 37 |
| VI | Activité antibactérienne | 38 |
| VI.1 | préparation de l'inoculum | 38 |
| VI.2. | antibiogramme..... | 38 |
| VI.2.1 | Mode opération..... | 38 |
| VI.3 | Aromatogramme..... | 41 |
| VI.3.1 | Préparation des disques..... | 41 |

Résultat et interprétation

| | | |
|--------|--|----|
| I. | Résultats de vérification de la pureté des souches collectées..... | 43 |
| I.1. | Résultats d'isolement | 43 |
| I.2. | Aspect macroscopique des colonies | 43 |
| I.3. | Aspect microscopique des colonies | 45 |
| II | Résultats de l'antibiogramme | 48 |
| III | Aromatogramme | 48 |
| III.1. | <i>Coliforme fécaux</i> | 48 |
| III.2. | <i>Entérocooccus faecalis</i> | 48 |
| III.3. | <i>Stréptocoque sp.</i> | 48 |
| III.4. | <i>S.aureus</i> | 48 |
| III.5. | <i>E.coli</i> | 49 |
| | Discussion..... | 71 |

Conclusion et recommandation.....75

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Abstract

المخلص

Liste des abréviations

% : Pourcentage.

° : Degré

°C : Degré Celsius

µg : Microgramme

µl: Microlitre

µm: Micromètre.

1^{ere} : Première

AFNOR: association française de normalisation

ATB : Antibiotique

BEA : Bile-Esculine-Azide

CLSI: Clinical and laboratory standards institute

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CMT : California Mastitis Test

D : Diamètre

DBK: draa ben khadda

DZI : diamètre de zone inhibitrice

E.coli: *Echirichia coli*

E/H : eau dans huile.

Ech: Echantillons

FAO : Food and Agriculture Organisation (Organisation pour l'Alimentation et l'Agriculture)

g/l : gramme par litre.

GN: gélose nutritive

Gram-: gram négative

Gram+: gram positive

GSF: Gélose au sang frais

H/E : huile dans l'eau.

HE: Huile essentielle

HEs: huiles essentielles

I : Intermédiaire

INMV: institut national de médecine vétérinaire

L : Litre

MH : Müller Hinton

MI : millilitre

MI: millilitre

MLS : Macrolides Lincosamides Streptogramines

Mm: millimètre

N° : Numéro

Na cl : Chlorure De Sodium

OMS: organisation mondiale de santé

P₂O₃ : Trioxyde Diphosphore.

PH : Potentiel Hydrogène.

R : Résistance

RM : Rouge De Méthyle

S : Sensible

S/L : Solide Dans Liquide.

s.aures : *Staphylococcus Aureus*

SP: species au singulier

TIAC : toxi-infections alimentaires collectives

TSI: Triple Sugar Iron

VRBL: milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure1 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne. | 29 |
| Figure 02 : Présentation de lieu de stage. | 32 |
| Figure 03 : préparation des dilutions décimales. | 35 |
| Figure 04 : l'enrichissement des bactéries sur la gélose nutritive. | 36 |
| Figure 05: Diagramme de recherche et identifications des souches bactériennes. | 37 |
| Figure 06 : Préparation de L'antibiogramme. | 40 |
| Figure 07 : Préparation de L'arommatogramme | 41 |
| Figure 08 : observation des souches après coloration de Gram au microscope optique avec différents grossissements.) | 45 |

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau 01 : Composition moyenne du lait de vache..... | 4 |
| Tableau 02: Constantes physiques usuelles du lait de vache..... | 5 |
| Tableau 03: Flore originelle du lait cru..... | 8 |
| Tableau 04: les différentes familles des antibiotiques, leurs mode d'action, quelques indications ainsi que leurs cibles..... | 16 |
| Tableau 05 : Principaux composés de l'huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i> L. de diverses régions..... | 24 |
| Tableau06 : Principaux composés de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> L. de divers pays..... | 26 |
| Tableau 07 : Composition chimique de huile essentielle <i>menthe piperita</i> (%)..... | 27 |
| Tableau 08: les différents milieux de cultures et réactifs utilisés..... | 34 |
| Tableau 9: Le différent antibiotique utilisé..... | 39 |
| Tableau 10: les différentes huiles essentielles utilisées..... | 41 |
| Tableau 11: Résultats obtenus selon la culture des différents prélèvements..... | 43 |
| Tableau 12: l'aspect macroscopique des colonies isolées sur milieux spécifiques..... | 44 |
| Tableau 13 : Résultats d'analyse obtenus de l'état frais et de la coloration de Gram..... | 46 |
| Tableau 14 : Activité antimicrobiennes de quatre huiles essentielles (<i>Rosmarinus Officinalis</i> , <i>Mentha Piperita</i> , <i>Thymus Vulgaris</i> , <i>Mélange</i>) sur <i>E.Coli</i> | 50 |
| Tableau 15: Activité antimicrobiennes de quatre huiles essentielles (<i>Rosmarinus Officinalis</i> , <i>Mentha Piperita</i> , <i>Thymus Vulgaris</i> , <i>Mélange</i>) sur <i>Coliforme fécaux</i> | 50 |
| Tableau16 : Activité antimicrobiennes de quatre huiles essentielles (<i>Rosmarinus Officinalis</i> , <i>Mentha Piperita</i> , <i>Thymus Vulgaris</i> , <i>Mélange</i>) sur <i>Entérocooccus Faecalis</i> | 51 |
| Tableau 17: .Activité antimicrobiennes de quatre huiles essentielles (<i>Rosmarinus Officinalis</i> , <i>Mentha Piperita</i> , <i>Thymus Vulgaris</i> , <i>Mélange</i>) sur <i>streptocoque sp</i> | 51 |

Tableau18 : Activité antimicrobiennes de quatre huiles essentielles (*Rosmarinus Officinalis*,
Mentha Piperita, *Thymus Vulgaris*, *Mélange*) sur *Staphylococcus Aureus*...52

Les Annexes

INTRODUCTION

Parmi les matières premières agroalimentaires le « lait », est à l'origine d'un grand nombre de produits très diversifiés. Cette diversité est liée à sa composition, mais également à l'intervention des microorganismes. En effet le lait est un milieu propice au développement des microorganismes, qu'ils soient d'intérêt technologique, neutres ou responsables d'altération voir même dangereux pour la santé humaine (**Michel et al., 2001**)

La résistance des bactéries pathogènes aux antibiotiques est en train de devenir un problème croissant pour la médecine humaine et vétérinaire en ce qui concerne le traitement des maladies infectieuses. En principe, toute utilisation d'antibiotiques augmente le risque de sélection de résistance (**Wallmann et al., 2003**). Une application excessive de ces agents a conduit à l'émergence de souches pluri résistantes comme un problème croissant dans les pays développés (**Jamali et al., 2015**).

Cette résistance antimicrobienne développée par les agents pathogènes est l'une des principales raisons du faible taux de guérison de la mammite chez les vaches laitières. (**Wang et al., 2015**).

Par conséquent, la surveillance de la résistance aux antimicrobiens est importante pour assurer des résultats optimaux d'utilisation des antimicrobiens et de minimiser le risque pour le développement et la propagation de la résistance aux antimicrobiens (**Waller et al., 2011**). Toute utilisation d'un agent antimicrobien peut sélectionner des bactéries ayant des concentrations minimales inhibitrices élevées (**Butaye et al., 2014**). Il est donc important d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et de revenir à des solutions alternatives, notamment des médecines dites douces, basées sur les propriétés des plantes médicinales notamment des huiles essentielles (**Oussou et al., 2010**).

Des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un important potentiel en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux. La diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés, ainsi qu'une utilisation moins dommageable, car ils n'ont pas d'effets secondaires (**Amarti et al., 2008; Mazari et al., 2010 ; Goetz et Ghedira, 2012**). Pour la même raison, aucune résistance particulière vis-à-vis des huiles essentielles n'a été décrite et il est important de souligner que certaines d'entre elles constituent des alternatives efficaces ou des compléments aux antibiotiques sans montrer le même effet secondaire (**Amarti et al., 2010; Rosato et al., 2010**).

De ce fait, l'objectif de notre étude est de mettre en évidence l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la *Mentha (piperita)*, *Rosmarinus (officinalis)*, *Thymus (vulgaris)* afin d'obtenir des zones d'inhibitions par rapport à des souches bactériennes multirésistantes obtenues suite à des analyses bactériennes de lait cru ; *Staphylococcus aureus*, *Coliformes*, streptocoques, *Entérocooccus fécaelis*, et *E.coli* dans le but d'éviter l'antibio-résistance chez les animaux et trouver d'autres alternatives naturelles de traitement aux infections .

Cette étude est structurée en deux parties:

- ✓ La première partie bibliographique donne un aperçu général sur le lait cru, sur les huiles essentielles et sur l'expression de résistance et de sensibilité des bactéries aux antibiotiques.
- ✓ La dernière partie présentera les moyens et la méthode de recherche utilisés pour élaborer ce travail et les résultats obtenus des différents tests effectués. L'interprétation des résultats, l'étude statistique et la discussion seront guidées par les résultats acquis. L'étude sera clôturée par une conclusion et des perspectives.

PARTIE

BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

I-Généralités :

Le Codex Alimentaires (1999) définit le lait cru comme suit : est un lait qui n'a subi aucun traitement thermique (chauffage) sans rien y ajouter ou en soustraire. Ce qui a pour conséquence qu'il conserve intégralement sa flore bactérienne (les microbes). Il s'agit du lait tel qu'il sort du pis des animaux.

Le lait cru constitue la matière première de tous les laits. Mais avant que le lait n'aboutisse dans les frigos des consommateurs, il subit bon nombre de traitements. Ces traitements ont pour but de garantir la sécurité et la durabilité du lait. Le type de traitement effectué influence la qualité finale du lait (**Leyon et Bouguetaib , 2014**).

(**Carole et Vignola**), **2002** ont défini que, Le produit sécrété par des glandes mammaires des mammifères, comme la vache. Du point de vue physico-chimique, il est un produit très complexe. Une connaissance approfondie de sa composition, de sa structure et de ses propriétés physiques et chimiques est indispensables à la compréhension des transformations du lait et des produits obtenus lors des différents traitements industriels

Jeantel et al., (**2008**) rapportent que le lait doit être en outre collecté dans de bonnes conditions hygiéniques et présenter toutes les garanties sanitaires. Il peut être commercialisé en l'état mais le plus souvent après avoir subi des traitements de standardisation lipidique et d'épuration microbienne pour limiter les risques hygiéniques et assurer une plus longue conservation .

I-1-Composition du lait :

Le lait est un système complexe constitué d'une solution vraie, d'une solution colloïdale, d'une suspension colloïdale et d'une émulsion. Le tableau **01** montre la dimension approximative et l'état physicochimique de chacun des constituants solides majeurs du lait.

Une solution vraie est un mélange de substances liquides ou solides solubilisées, appelées solutés, dans un solvant liquide.

Une suspension colloïdale est un mélange constitué d'une phase dispersée solide non solubilisée, présente sous forme de très fines particules solides dans une phase dispersante liquide (S\L): quand les particules ont beaucoup d'affinité pour la phase aqueuse, on nomme ce système une solution colloïdale.

Une émulsion consiste en un mélange d'une phase dispersée liquide non solubilisée, présente sous forme de très fines gouttelettes, dans une phase dispersante liquide; on peut donc avoir une émulsion huile dans l'eau (H/E) ou une émulsion eau dans l'huile (E/H) les matières grasses et l'eau du lait forment une émulsion (H/E), tandis que l'eau et les matières grasses du beurre forment une émulsion (E/H)(Carole. Vignola, 2002). Tableau 01

Tableau 01 : Composition moyenne du lait de vache (Alais et al., 2008).

| | Compositions (g/l) | Etat physique des composants |
|--|--------------------|---|
| Eau | 905 | Eau libre (solvant) plus eau liée (3,7%) |
| Glucides (lactose) | 49 | Solution |
| Lipides | 35 | Emulsion des globules gras (3 à 5µm) |
| Matière grasse | 34 | |
| proprement dite Lécithine (phospholipides) | 0,5 | |
| Insaponifiable (stérols, carotènes, tocophérol) | 0,5 | |
| Protides | 34 | Suspension micellaire phosphocaséinate de calcium (0,08 à 0,12 µm) Solution (colloïdale) Solution (vraie) |
| Caséine | 27 | |
| Protéines solubles (globulines, albumines) | 2,5 | |
| Substances azotées non protéiques | 1,5 | |
| Sels | 9 | Solution ou état colloïdale |
| De l'acide citrique (en acide) | 2 | |
| De l'acide phosphorique (P2O3) | 2,6 | |
| Du chlorure de sodium (Na Cl) | 1,7 | |
| Constituants divers (vitamines, enzymes, gaz dissous) | | Traces |
| Extrait sec total | 127 | |
| Extrait sec non gras | 92 | |

I-2- Propriétés physico-chimiques :

Vignola, (2002) montre que Les propriétés physico-chimiques du lait sont plus ou moins stables, elles dépendent soit de l'ensemble des constitutions comme la densité, soit des substances en solution comme le point de congélation ou encore des concentrations en Ions comme le pH (acidité).

Les principales propriétés physico-chimiques utilisées dans l'industrie laitière sont la masse volumique ou la densité, le point de congélation, le point d'ébullition et l'acidité

Ceci se résume comme suit:

Tableau 02: Constantes physiques usuelles du lait de vache (**Luquet, 1985**).

| Constantes | Valeurs |
|---------------------------------|--------------------------|
| pH (20°C) | 6,5 à 6,7 |
| Acidité titrable (°) | 15 à 18 |
| Densité | 1,028 à 1,036 |
| Température de congélation (°C) | (-0,51) à (-0,55) |
| Point d'ébullition (°C) | 100,5 |

I-3- Les caractères nutritionnels du lait

(FAO, 2010). On constaté que Le lait contient des nutriments essentiels et une source importante d'énergie alimentaire, de protéines de haute qualité et de matières grasses. Le lait peut apporter une contribution significative aux besoins nutritionnels recommandés en calcium, magnésium, sélénium, riboflavine, vitamine B12 et acide pantothénique. Le lait et les produits laitiers sont des aliments nutritifs et leur consommation permet de diversifier les régimes à base de plantes. Le lait d'origine animal peut jouer un rôle important dans l'alimentation des enfants dans les populations ne bénéficiant que d'un très faible apport en lipides et ayant un accès limité aux autres aliments d'origine animale

Favier, (1985), le lait est une source importante de protéines de très bonne qualité, riches en acides aminés essentiels, tout particulièrement en lysine qui est par excellence l'acide aminé de la croissance. Ses lipides, caractérisés par rapport aux autres corps gras alimentaires par une forte proportion d'acides gras à chaîne courte, sont beaucoup plus riches

en acides gras saturés qu'en acides gras insaturés. Ils véhiculent par ailleurs des quantités appréciables de cholestérol et de vitamine A et faibles quantités de vitamine D et E

I-4-Qualité organoleptique du lait

Vienrling, (2003) rapporte que l'aspect, l'odeur, la saveur, la texture ne peuvent être précisés qu'en comparaison avec un lait frais.

I-4-1- La couleur

Le lait est de couleur blanc mat, qui est due en grande partie à la matière grasse, aux pigments de carotène (la vache transforme le B-carotène en vitamine A qui passe directement dans le lait (**Fredot, 2005**).

Reumont, (2009) explique que dans le lait, deux composants, les lipides sous forme de globules de matière grasse et les protéines sous forme de micelles de caséines diffractent la lumière. Ces agrégats dispersent les rayons lumineux sans les absorber et le rayonnement qu'ils renvoient, est identique en composition au rayonnement solaire, à savoir une lumière blanche

I-4-2- L'odeur

Selon **Vierling, (2003)**, l'odeur est caractéristique le lait du fait de la matière grasse qu'il contient fixe des odeurs animales. Elles sont liées à l'ambiance de la traite, à l'alimentation (les fourrages à base d'ensilage favorisent la flore butyrique, le lait prend alors une forte odeur), à la conservation (l'acidification du lait à l'aide de l'acide lactique lui donne une odeur aigrelette).

I-4-3- La saveur

La saveur du lait normal frais est agréable. Celle du lait acidifié est fraîche et un peu piquante. Les laits chauffés (pasteurisés, bouillis ou stérilisés) ont un goût légèrement différent de celui du lait cru. Les laits de rétention et de mammites ont une saveur salée plus ou moins accentuée. Il en est parfois de même du colostrum. L'alimentation des vaches laitières à l'aide de certaines plantes de fourrages ensilés, etc. peut transmettre au lait des

saveurs anormales en particulier un goût amer. La saveur amère peut aussi apparaître dans le lait par suite de la multiplication de certains germes d'origine extra-mammaire (**Thieulin et Vullaume, 1967**)

I-4-4-La viscosité

Rheotest, (2010) a montré que la viscosité du lait est une propriété complexe qui est particulièrement affectée par les particules colloïdes émulsifiées et dissoutes. La teneur en graisse et en caséine possède l'influence la plus importante sur la viscosité du lait. La viscosité dépend également de paramètres technologiques. La viscosité est une caractéristique importante de la qualité du lait, étant donné qu'une relation intime existe entre les propriétés rhéologiques et la perception de la qualité par le consommateur

I-5- Microbiologie du lait cru :

Le lait est, de part sa composition, un aliment de choix. Il est donc un substrat très favorable au développement des microorganismes (**Larab, 2014**).

I-5-1-Flore originelle du lait :

Le lait contient peu de micro-organismes lorsqu'il est prélevé dans de bonnes conditions à partir d'un animal sain (moins de 10^3 germes/ml). Il s'agit essentiellement de germes saprophytes du pis et des canaux galactophores. Le lait cru est protégé des bactéries par des substances inhibitrices appelées « lacténines », mais leur action est de très courte durée (environ une heure).

D'autres micro-organismes peuvent se trouver dans le lait lorsqu'il est issu d'un animal malade : ils sont généralement pathogènes et dangereux. Il peut s'agir d'agents de mammites, c'est-à-dire d'infection de pis ; comme il peut s'agir aussi de germe d'infection générale qui peut passer dans le lait (**Guiraud, 2003**). Tableau 03

Tableau N°3: Flore originelle du lait cru (**Vignola, 2002**)

| microorganisme | pourcentage(%) |
|------------------------------|----------------|
| Micrococcus sp. | 30-90 |
| Lactobacillus | 10-30 |
| Streptococcus ou Lactococcus | < 10 |
| Gram négatif | < 10 |

I-5-2- Flore de contamination du lait :

Cette flore correspond à l'ensemble des microorganismes contaminant le lait de la traite jusqu'à la consommation.

Elle est composée d'une part, d'une flore d'altération, qui cause des défauts sensoriels ou qui réduit la durée de conservation des produits, et d'autre part, d'une flore pathogène dangereuse du point de vue sanitaire (**Vignola, 2002**).

Le lait se contamine par des microbes d'origines diverses :

- **Fèces et téguments de l'animal** : *Coliformes*, *Clostridies*, et éventuellement des *Entérobactéries* pathogènes (salmonella).
- **Sol** : *Streptomyces*, bactéries sporulées, spores fungiques, listéria
- **Laitière et aliments** : flore banale variée, en particulier, *Lactobacilles*, *Clostridium* butyriques (Ensilages) ;
- **Air et eau** : flore diverse dont *pseudomonas*, bactérie sporulées, etc.
- **Équipements de traite et de stockage du lait** : flore lactique, microcoque, *Lactobacilles*, *Streptocoques*, *Leuconostoc*, levure, cette flore sera souvent spécifique d'une usine à une autre
- **Manipulateurs** : *Staphylocoques* dans le cas de traite manuelle
- **Vecteurs divers** : insectes en particulier, flore de contamination fécale (**Guiraud, 1998**).

1-5-2-1-Contaminations du lait cru au stade de la production

La flore du lait cru est abondante et susceptible d'évoluer rapidement. Il faut donc abaisser sa température à moins de 10°C le plus rapidement possible, au mieux dans l'heure qui suit la traite. Le lait recueilli à la ferme par traite mécanique ou manuelle est soit directement transporté au centre de ramassage où il est réfrigéré, soit stocké dans des réservoirs réfrigérés avant transport dans le cas d'exploitations importantes. Dans ces conditions, la flore microbienne est stabilisée. Le lait cru doit être toujours maintenu au froid. La durée de conservation de ce lait est courte en raison de la possibilité du développement des germes psychrotrophes et psychrophiles (quelques jours) (**Guiraud et Galzy, 1980**).

1-5-2-2-Contamination par l'animal :

Le lait renferme, lorsque l'animal est sous médication, des résidus d'antibiotiques qui sont à l'origine de perturbations importantes des processus de fermentation et de maturation des produits laitiers de large consommation tels que les yaourt, fromages et autres laits fermentés (**Ben Mahdi et Ouslimani, 2009**). Ces laits anormaux doivent être séparés du lait sain et ne pas être utilisés pour la transformation. La propreté des vaches a un impact significatif sur la santé du pis et en particulier sur le taux de mammites environnementales. Le maintien de la propreté du pis et des membres des vaches permet de diminuer la propagation d'agents pathogènes de l'environnement vers le canal du trayon. Selon la zone de l'animal qui est souillée, on peut déterminer que les lieux dans l'étable où le niveau de propreté est inadéquat et ainsi apporter les correctifs nécessaires (**Levesque, 2004**).

1-5-2-3-Contamination au cours de la traite :

C'est en surface des trayons que l'on retrouve la plus grande diversité de groupes microbiens : une douzaine de groupes microbiens parmi les flores utiles, flores d'altération et pathogène sont systématiquement détectés. Les groupes microbiens utiles (bactéries lactiques) sont fortement dominants, leurs niveaux étant au moins 100 fois supérieures à ceux des groupes d'altération ou pathogènes (staphylocoques à coagulase positive). Pour un même réservoir, des différences de niveaux et de composition microbienne existent et sont liées à la saison ; ainsi, en été, les surfaces des trayons abritent des niveaux moindres de tous les groupes microbiens ; par contre, dans les lactoducs, en été, on extrait des niveaux plus

importants de *Pseudomonas* (germes d'altération). Pour une même saison, des différences de composition microbienne de ces réservoirs existent entre les exploitations : elles sont alors associées aux pratiques mises en œuvre.

Ainsi, en hiver, le niveau et la composition de la charge microbienne présente en surface Des trayons sont en lien avec la nature des litières et le confinement de l'ambiance (**Lemire, 2007**).

1-5-2-4 Contamination au cours du transport :

La collecte et le transport se font grâce à des camions-citernes réfrigérés qui récoltent Régulièrement le lait dans les fermes. Ils doivent respecter un certain nombre de règles légales Afin de livrer un lait de bonne qualité, notamment par le maintien du lait au froid qui a pour But d'arrêter le développement des microorganismes. Il constitue un traitement de Stabilisation (**Weber, 1985**). Une altération de la qualité au cours du transport par une Mauvaise réfrigération, peut avoir un impact grave sur la qualité du lait et engendrer des pertes financières importantes (**Jakob et al., 2011**).

1-5- 3-La flores d'altération :

Seules quelques-unes des espèces présentes seront responsables de l'altération du Produit. Elles sont d'abord sélectionnées en fonction des conditions physico-chimiques mises En jeu (nature de produit, pH, pression partielle en oxygène, température de stockage, etc.) (**Bennefoy et al., 2002**)

Elle exploite des défauts sensoriels (goût, arôme), ou qui réduira la durée de conservation des produits laitier. La flore d'altération comporte trois genres : les coliformes, les levures et les moisissures (**Essalhi, 2002**).

1-5-3-1- les coliformes :

Les coliformes sont des bactéries Gram (-) non sporulées, aérobies ou anaérobies facultatives. (**Billon et Sauve, 2009**). Leur présence indique une faute hygiénique, relevant soit d'une mauvaise qualité du produit soit de mauvaise hygiène matériel de fabrication ou de conditionnement (**Larpent, 1997**).

1-5-3-2-Levures et moisissures :

Les levures et moisissures sont des cellules eucaryotes rattachées au règne végétal par leur Structure cellulaire. Regroupées sous le vocable de flore fongique, elles peuvent être Retrouvées aussi bien dans le fromage (**Hermier et al., 1992**) ; le lait cru, le lait en poudre que dans tous les autres produits laitiers (**Abdessalam , 1984**).

1-5-3-3-Les *Streptocoques* (fécaux), les *Streptocoques* lactiques et les *Lactobacilles* :

Les *streptocoques* sont des cocci Gram+ souvent disposés en chainettes .il en existe de Nombreux espèces que plusieurs critères permettent de classer en groupe A à H et T selon la Classification de Lancfield (**Epelbon et macey, 2009**).

Les streptocoques du groupe « D » sont constamment rencontrés dans les matières Fécales et ont naturellement été choisi comme témoin de contamination fécale dans certains Aliments crus (**Bonnyfoy et al., 2002**). Ces streptocoques sont des hôtes commensaux de la Flore intestinale et sont parfois responsables de septicémies ou d'endocardites (**Pebret, 2003**).

1-5-4-La flore pathogène :

Les germes pathogènes auxquels on accorde une importance particulière, en raison de la Gravité ou de la fréquence des risques qu'ils présentent sont cités ci-dessous :

- Les principaux bactéries infectieuses sont *Slmonella sp*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* et *Campylobacter sp*.
- Les principales bactéries toxinogènes sont *Staphylococcus sp* *Clostridium botulinum* (**Vignola, 2002**).

1-5-4-1 *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus est le micro-organisme pathogène le plus souvent incriminé dans des cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) par le lait et les produits laitiers. Elle déclenche des nausées, vomissements, diarrhées, douleurs abdominales et maux de tête voire des conséquences plus graves.

La contamination du lait cru à la production est due à la flore présente dans la mamelle en cas d'infection, de la flore de décontamination apportée par le milieu extérieur au cours des différentes manipulations.

Staphylococcus aureus est une coque Gram+, On le trouve majoritairement sur la peau et la muqueuse. La présence de lésions au niveau des trayons (plaies, gerçures, crevasses) ou au niveau de la mamelle (pyodermite d'échauffement par exemple) constituent des réservoirs importants pour ce germe, de même la présence de crevasse dans les caoutchoucs des manchons de traites constitue des réservoirs bien identifiés (Durel et al., 2004).

Staphylococcus aureus est à l'origine de mammite sub-clinique dans la majorité des cas, le germe pénètre au sein du parenchyme (Eichr, 2003, Durel et al., 2004).

1-5-4-2 Les salmonelles :

Salmonella est une bactérie naturellement présente dans l'intestin des animaux (en particulier chez les volailles et les porcs), des oiseaux, des reptiles, de certains animaux de compagnie et de certaines personnes. Elle est également présente dans l'environnement et peut contaminer le lait à la production à la ferme (Van Kessel et al., 2004) Les personnes qui consomment du lait contaminé par *Salmonella* sont susceptibles de contracter la salmonellose. Comme dans le cas d'autres toxi-infections alimentaires (Streit et al., 2006) les symptômes de la salmonellose ressemblent à ceux de la grippe.

1-5-4-3-Les coliformes totaux et fécaux :

Les coliformes totaux sont utilisés depuis très longtemps comme indicateurs de la qualité microbienne parce qu'ils peuvent être indirectement associés à une pollution d'origine fécale.

Les coliformes totaux sont définis comme étant des bactéries en forme de bâtonnet, aérobies ou anaérobies facultatives, possédant l'enzyme β -galactosidase permettant l'hydrolyse du lactose à 35°C afin de produire des colonies rouges avec reflet métallique sur un milieu gélosé approprié (Archibald, 2000 ; Edberg et al., 2000) Des coliformes banals absorbés en quantité massive (1 million à 1 milliard de germes) peuvent déclencher des troubles gastro-intestinaux (nausées, vomissements et diarrhée), habituellement de courte durée.

Les *coliformes fécaux*, ou *coliformes thermo-tolérants*, sont un sous-groupe des *Coliformes totaux* capables de fermenter le lactose à une température de 44,5 °C. L'espèce la plus fréquemment associée à ce groupe bactérien est *l'Escherichia coli* (*E. coli*) et, dans une moindre mesure, certaines espèces des genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella* (Santé Canada, 1991; Elmund et al., 1999 ; Edberg et al., 2000).

La bactérie *E. coli* représente toutefois 80 à 90 % des *coliformes thermo-tolérants* détectés (Barthe et al., 1998; Edberg et al., 2000). Bien que la présence de *coliformes fécaux* témoigne habituellement d'une contamination d'origine fécale, plusieurs *coliformes fécaux* ne sont pas d'origine fécale, provenant plutôt d'eaux enrichies en matière organique, tels les effluents industriels du secteur des pâtes et papiers ou de la transformation alimentaire (Barthe et al., 1998; OMS, 2000). C'est pourquoi il serait plus approprié d'utiliser le terme générique « coliformes Thermo-tolérants » plutôt que celui de « coliformes fécaux » (OMS, 1994; Robertson, 1995).

L'intérêt de la détection de ces coliformes, à titre d'organismes indicateurs, réside dans le fait que leur survie dans l'environnement est généralement équivalente à celle des bactéries pathogènes et que leur densité est généralement proportionnelle au degré de pollution produite par les matières fécales (CEAEQ, 2000).

Chapitre II

II-Les antibiotiques

Mazari , (2015) définit les antibiotiques comme des substances chimique produites par un microorganisme (le plus souvent un champignon) capable de détruire (bactéricide) ou d'empêcher la croissance d'autres microorganismes (bactériostatique). Par extension, toute substance naturelle ou synthétique susceptible d'empêcher le développement des microorganismes est appelée antibiotique. Le premier antibiotique connu, est la sulfanilamide (sulfamide) a été isolé en 1935

Nous avons recours à leur utilisation de 2 manières selon leur spectres d'activité, c'est pour cela que l'on oppose les traitements documentés aux traitements dits probabilistes :

- Les traitements probabilistes : sont administrés sans avoir une connaissance précise de la bactérie impliquée, ni même de sa sensibilité aux antibiotiques. On utilisera alors les antibiotiques dits à "large spectre", le choix de la molécule est basé sur les micro-organismes infectants les plus probables avec un risque minimum d'allergie ou de toxicité.
- Les traitements documentés : sont administrés après avoir déterminé la sensibilité des bactéries à l'antibiotique, ce qui sous-entend d'avoir préalablement isolé la bactérie en cause. Ce traitement peut être de première intention ou faire suite au traitement probabiliste une fois les données nécessaires connues (**Démoré et al., 2012**).

II-1-classification des antibiotiques :

(**Yala et al., 2001**) montre que la classification des ATBs , se faire selon plusieurs critères :

- La nature chimique car il existe souvent une structure de base sur laquelle il y a une Hémi-synthèse définissant ainsi une famille d'antibiotique (Ex : β -lactamines).
- Le site d'action spécifique à chacun :
 - Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne (β -lactamines, glycopeptides, Fosfomycine).
 - Inhibition de la synthèse protéique (aminosides, cyclines, phénicolès, acide Fusidique, macrolides, oxazolidinones, mupirocine, synergistines).
 - Action sur la synthèse des acides nucléiques (quinolones, nitroimidazolés, rifamycines, sulfamides triméthoprime).

Chapitre II :la résistance des bactéries aux antibiotique

- Action sur les membranes (polymyxines, daptomycine) .
 - Le spectre antibactérien : il représente l'ensemble des bactéries sur lesquelles : l'antibiotique est actif et permet de prévoir son potentiel ainsi que ses limites.
 - Les antibiotiques à spectre large sont efficaces sur un grand nombre de types d'agents pathogènes. Ainsi, l'antibiotique sera actif sur une grande partie détours les cocci et tous les bacilles. Ils sont utilisés lorsque la bactérie n'est pas identifiée et que la pathologie peut être due à différents types d'agents pathogènes.
 - Les antibiotiques à spectre étroit sont efficaces sur un nombre limité d'agents infectieux leur permettant de cibler une pathologie en particulier.
 - Les modalités d'action
 - Un effet bactériostatique provoque une inhibition réversible de la croissance de l'organisme cible.
 - Un effet bactéricide entraîne la mort de celui-ci (**Démoré et al. 2012**).
- Les différentes familles des antibiotiques, leurs modes d'action, quelques indications ainsi que leurs cibles sont représentées dans le tableau 04.

Chapitre II : la résistance des bactéries aux antibiotiques

Tableau 04 : les différentes familles des antibiotiques, leurs mode d'action, quelques indications ainsi que leurs cibles

| Familles des antibiotiques | Quelques principes actifs | Quelques indications | Mode d'action | Spectre d'action | Référence |
|----------------------------------|--|---|--|---|--|
| Betalactamines (Pénicillines) | Amoxicilline Penicilline G et V Piperacilline | Divers bronchites, pneumonie, ORL et méningites | Inhibiteur de synthèse de la paroi bactérienne (bactéricide) | Gram+ (staphylocoque, streptocoques et pneumocoque) | (Lavigne, 2007) (Dedet, 2007) |
| Betalactamines (Céphalosporines) | -1 ère génération Céfazoline Céfaclor -2 ème génération Céfamandole Cefuroxime -3 ème génération Cefixime Ceftazidine Cefotaxime | Divers bronchites, pneumonies, ORL et méningites | Inhibiteur de synthèse de la paroi bactérienne (bactéricide) | Les Céphalosporines de 1ère génération sont actives contre Staphylocoque, E. coli, Proteus mirabilis et Klebsiella | (Lavigne, 2007) (Denooz, 2010) |
| Aminosides (Aminoglycosides) | Streptomycine Néomycine Tobramycine Amikacine Gentamicine | Tuberculose Maladies infectieuses des yeux, intestinales et plaies infectées | Perturbation de la synthèse protéique au niveau de la fraction 30S de ribosome (bactéricide) | agissant sur les bacilles Gram négatifs aérobies, les entérobactéries et sur les bacilles à Gram positif (Listeria) | (Yala et al., 2001) |
| Macrolides | Chlorotétracycline (Auréomycine) Tétracycline base (Terracine) Oxytétracycline (Terramycine) | acné, infections génitales, pulmonaire | Fixation réversible à la sous-unité 30S des ribosomes empêchant l'attachement des | -Bacilles à Gram négatif et positif. -Cocci à Gram négatif alors que celle de Gram positif sont résistantes | (Yala et al., 2001) (Lavigne, 2007) |

Chapitre II :la résistance des bactéries aux antibiotique

| | | | | | |
|------------|--|---|---|---|--------------------------------|
| | | | AminoacylRNA au site A du ribosome. Bactériostatique es | | |
| Quinolones | ciprofloxacine levofloxacine moxifloxacine norfloxacine ofloxacine | Infections urinaires (cystite), infections génétales | inhibent la synthèse de l'ADN de la bactérie en se fixant sur le complexe "ADN-ADN gyrase" en empêchant la réplication et transcription de l'ADN bactérien | bactéries à Gram négatif, les cocci à Gram positif | (Yala et al., 2001) |
| Sulfamides | sulfaméthoxazole et trimetoprime = cotrimoxazole sulfazalazine | Lors d'échec avec d'autres antibiotiques es lors d'infections urinaires, génétales, maladie de Crohn (sulfazalazine | Entre en compétition avec PAB (acide para aminobenzoïque en bloquant l'action de la synthétase. (bactériostatique que) | Elles ont un large spectre mais qui est réduit à cause de la résistance. -Cocci à Gram positif et négatif. - Bacilles à Gram positif | (Yala et al., 2001) |

II-2-La notion de type d'activité

On distingue 4 notions pour qualifier l'activité d'un antibiotique. Ces paramètres définissent leurs critères d'utilisation (choix des doses, voie d'administration, intervalles de prises) :

✓ Activité dite "temps-dépendante" : l'activité dépend de la durée d'exposition des bactéries à l'antibiotique. Il s'agit notamment des pénicillines, céphalosporines, macrolides, fluoroquinolones et glycopeptides.

✓ Activité dite "concentration-dépendante" : l'activité dépend de la concentration en antibiotique. Cette notion est applicable pour les aminosides, l'imipénème et fluoroquinolones.

✓ Effet post-antibiotique : c'est le maintien d'une absence de reprise de la croissance bactérienne pour un couple bactérie/antibiotique donné, après exposition à l'antibiotique.

✓ Effet inoculum : c'est l'influence de la quantité de bactéries en contact avec l'antibiotique (**Démoré et al., 2012**).

II-3-Spectre d'activité :

D'après **Nauciel et Vildé, (2008)**, L'activité antibactérienne d'un antibiotique ne s'exerce que vis-à-vis de certaines espèces bactériennes, ce qui définit son spectre d'activité.

Les espèces constamment résistantes possèdent ce qu'on appelle une résistance naturelle. Lorsque, dans une espèce jusque-là sensible à un antibiotique, des souches résistantes apparaissent, on utilise le terme de résistance acquise (**Alami et al., 2005 ; Nauciel et Vildé, 2008**).

II-4- La Résistance :

Aujourd'hui, la définition de la résistance d'une bactérie est variable selon le point de vue (bactériologique, pharmacologique, clinique, épidémiologique) :

La résistance à un ATB est considérée comme étant la capacité d'une bactérie de survivre à une concentration définie de cette molécule (**Nauciel et Vildé, 2008**).

Chapitre II :la résistance des bactéries aux antibiotique

Selon **Schwarz et Chaslus-Dancla (2001)**, une bactérie est considérée comme résistante à un antibiotique quand la concentration de ce dernier au site de l'infection n'est pas suffisamment élevée pour inhiber la multiplication de cette bactérie ou pour la tuer.

Cette définition n'attribue pas la résistance seulement au problème microbiologique, mais aussi aux aspects pharmacodynamiques, pharmacocinétiques et cliniques (**Abdennebi, 2006**).

II- 4- 1-Les différents types de résistance :

II-4-1-1- La résistance non-génétique : La résistance non-génétique à l'antibiotique n'est pas transmissible, que ce soit verticalement ou horizontalement. Elle est souvent une conséquence du milieu ou d'un changement dans le métabolisme de la bactérie (**Pebret, 2003**).

II-4-1-2-La résistance génétique : Une bactérie ne peut être résistante à un antibiotique que lorsqu'elle possède une information génétique lui permettant d'élaborer des mécanismes d'échappement à l'action de l'antibiotique, et réalise effectivement ces mécanismes (**Pebret, 2003**).

Selon **Nauciel et Vilde. (2005)**, **Cohen et Jacquot. (2008)**, on peut classer la résistance des bactéries à l'antibiotique en résistance naturelle (constitutionnelle, spontanée) et en résistance acquise.

II-4-1-2-1- La résistance naturelle : C'est une insensibilité à l'antibiotique, existant naturellement chez tous les membres d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Elle fait, donc partie du patrimoine génétique normal de germe.

Elle permet de définir le spectre d'action d'un antibiotique. Ceci peut être due à l'absence de la cible (comme l'absence de paroi chez les mycoplasmes les rendant insensibles aux β -lactaire) ou encore à l'absence de pénétration de l'antibiotique (rôle de la membrane externe chez les bactéries à Gram-négatif avec la vancomycine) (**Briskier ,1999 ; Poyart ,2002**).

Chapitre II :la résistance des bactéries aux antibiotique

II-4--1-2-2- La résistance acquise :

Le terme de résistance acquise est utilisé pour désigner des processeurs permettent à des bactéries appartenant à une espèce naturellement sensible de devenir résistante à une ou plusieurs antibiotiques. L'acquisition de la résistance peut être liée à un apport plasmatique ou à une mutation chromosomique (**Guerin et al., 1999**).

II-4-1-2-2-1- La résistance chromosomique :

La résistance chromosomique correspond à une mutation, c'est un phénomène rare (**Lazorthes, 2001**) aléatoire, qui peut se produire spontanément (**Grifith et al.,2002**).

Même si elles ne surviennent pas très souvent, certaines mutations spontanées dans le chromosome bactérien rendent les bactéries résistantes au antibiotique (**Prescot et al., 2003**).Elle touchent généralement le gène qui codent pour la cible de l'antibiotique, le transport de l'antibiotique (diminution de la perméabilité) ou le système du métabolisme (**Eyquem et al., 2000 ; Golan, 2007**). Ces mutations peuvent être transférées aux cellules filles (**Alian, 1999 ; Golan et al.,2007**), ce qui constitue une source de variabilité, et donc d'évolution (**Harry, 2001**).

II-4--1-2-2-2- La résistance extra-chromo-somique :

Les bactéries peuvent acquérir la résistance par de nouveaux matériels génétiques à partir des autres bactéries (transmission horizontale) (**Golan et al., 2007**). La résistance extra-chromosomique est portée par l'acquisition d'ADN étranger (plasmide) pouvant prévenir de la même espèce ou d'espèce différente (**Asszlineau et Zalta, 1973**) et d'intégrons (**Ploy et al., 2000**).

II-4-2-Mécanismes de La Résistance :

Un antibiotique agit du fait de son affinité pour une cible vitale pour la bactérie. Sa fixation spécifique inhibe le fonctionnement de cette cible qui est en général une enzyme ou structure clé impliquée dans la synthèse de la paroi, les acides nucléiques, des protéines ou de la membrane cytoplasmique. La résistance bactérienne aux antibiotiques est un facteur compliquant l'action de ces antibiotiques. Il en existe 3 modes :

II-4-2-1-Modification de la cible des antibiotiques :

La cible des antibiotiques peut être modifiée ou remplacée de telle manière que l'antibiotique ne puisse plus les reconnaître, donc ne s'y fixe plus ; cette résistance peut être incluse à tous les antibiotiques . Cette modification montrée selon trois niveaux :

- Modification de PLP.
- Modification de la cible ribosomale.
- Altération de la synthèse des acides nucléiques.

II-4-2-2-Synthèse l'enzyme inactivant les antibiotiques :

L'antibiotique soit modifié ou hydrolysé par la production d'une enzyme bactérienne. Ces enzymes agissent contre les bêta-lactamines, les aminosides, le chloramphénicol ou les antibiotiques de la famille des macrolides-lincosamides-streptogramines (MLS). **Guillemot , Leclercq ,2005. Et Seydina . Diene 2016**

Chapitre III

III-Généralités :

Les huiles essentielles, encore appelées «essences » ou « essences aromatiques végétales » sont des substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, élaborées par de nombreuses plantes dites plantes aromatiques. Elles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs (**Haberkorn et Lardry, 2007**).

Le terme «HUILE» se rapportant à leurs caractères hydrophobes et visqueux, tandis que le terme «essence» est utilisé pour désigner les molécules odoriférantes contenues dans la plante et aussi le caractère inflammable. Quant au terme «essentiels» se comprenant comme étant la caractéristique principale et typique de la fragrance de ces substances (**Boukhobza et Goetz, 2014**).

Selon l'association française de normalisation (AFNOR) l'huile essentielle (HE) est définie comme un produit odorant, de composition généralement complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau soit par des procédés mécaniques, cas des agrumes, soit par distillation « sèche » (**Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012**).

Fekih, (2014) rapporte que une huiles essentielles sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires volatils, isolés par hydro-distillation ou par expression mécanique.

Selon la pharmacopée européenne ce sont des Produits généralement odorant obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage.

Les huiles essentielles sont solubles dans l'alcool, l'éther et les huiles fixes, mais insolubles dans l'eau. Elles sont généralement liquides à température ambiante (**A-S, Carette 2000**).

III-1-Propriétés physiques :

Ce sont généralement des liquides à température ambiante, d'odeur aromatique très prononcée, les HE sont volatiles, ce qui les différencie des huiles « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en générale inférieure à celle de l'eau (**hayour, 2002**). (à l'exception des HE de Sassafras, de Girofle ou de Cannelle). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Solubles dans les solvants organiques usuels, elles sont liposolubles.

Entrainables à la vapeur d'eau, et très peu solubles dans l'eau, elles le sont toutefois suffisamment pour communiquer à celle-ci une odeur nette. Cette eau est une eau distillée florale. Une préparation voisine est obtenue par mise en solution d'arômes dans de l'eau purifiée: on parle alors « d'Eau aromatisée florale » Elles sont altérables et très sensibles à l'oxydation (**Jacques et Paltz, 1997**).

III-2- Compositions chimiques des huiles essentielles :

Les HE est un mélange complexe d'un grand nombre de composé lipo-solubles différents (**Dorman et Deans, 2000**). Elle ne contient pas des protéines, glucides, minéraux, vitamine : elle n'a donc aucune valeur nutritionnelle. il existe Différents types de classification. On peut considérer qu'elles sont composées de terpénoïdes, eux-mêmes classés en fonction de leur nombre d'unités isoprène (**Loomis et Croteau,1980**).

Une huile essentielle varies en fonction de différents facteurs incluant, les facteurs climatiques, la nature de sol, les pratiques culturales, et le mode d'extraction. Les compositions varient également selon l'état physiologique de la plante, tel que son âge et sa maturité (stade et période de récolte), ainsi que l'organe de la plante utilisé (feuille, fleur, racine...) pour extraire l'HE. Et selon les conditions de conservations (**Delaquis et al., 2002 ; Gonny et al., 2004 ; Burt, 2004 ; Boti et al., 2006, Oussou et al., 2009**)

L'étude de la composition chimique est généralement effectuée par chromatographie en phase gazeuse (CPG) et par la spectrométrie de masse (SM). La résonance magnétique nucléaire (RMN) peut également être utilisée pour identifier les constituants des huiles essentielles (**Tomi et al., 1995 ; Platzer, 2002**).

La plupart des HEs sont constituées de mélanges extrêmement complexes. Inclus dans deux groupes selon la voie métabolique empruntée: les composés terpéniques (hydrocarbures) et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (composés oxygénés), les deux sont synthétisés à travers deux voies métaboliques séparées: la voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique pour les terpènes et la voie de l'acide shikimique pour les dérivés du phénylpropane (**Amlan, 2011 ; Djilani et Dicko, 2012**).

III-3-*Thymus vulgaris*

Le genre *Thymus* (du nom grec : Thumos, venant du mot « Theo » signifiant : parfum ou plante odoriférante) (Hamideh, 2009 ; Bel-malha et al., 2015) .Il est principalement trouvé dans la région méditerranéenne, l'Asie, l'Europe du Sud et en Afrique du Nord (Kuçuka, 2007).

III-3-1- Nomenclature

Nom scientifique : *Thymus vulgaris*.

Nom Français : *Thym vulgaire*.

Nom Anglais : *Thyme*.

Nom arabe : زعيرة.

Nom vernaculaire : azukenni, zaatar (Fadil et al., 2014).

III-3-2-Composition chimique :

L'essence du *Thymus vulgaris* L. est souvent rapportée comme étant parmi les huiles essentielles les plus actives sur des bactéries Gram positif et Gram négatif (Al-Bayati, 2008).

Tableau 5: Principaux composés de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* L. de diverses régions.

| Composition chimique | Algérie (Sidali et al.,2014) | Maroc (El Oualilami et al., 2013) | Cameroun (Tchoumboungang et al., 2009) | Brazil (Porte et al.,2007) |
|-------------------------|------------------------------|-----------------------------------|--|----------------------------|
| α -Thujéne | 2.2 | 0.18 | 0.9 | - |
| α -Pinène | 2.9 | 0.85 | 1.2 | 0.8 |
| β -Pinène | 0.3 | 1.63 | - | - |
| 1-Octen-3-ol | 0.3 | | - | - |
| Mycènes | 2.0 | | 0.4 | 2.4 |
| α - Phellandréne | 0.3 | 0.28 | <0.1 | 0.3 |
| α -Terpinéne | 2.7 | 3.25 | - | 1.8 |
| p-Cymene | 9.2 | 15.59 | - | 18.6 |
| Limonène | 1.1 | | - | - |
| γ -Terpinene | 12.6 | 22.25 | 15.1 | 16.5 |
| Cis Sabinene hydrate | 0.5 | | - | - |
| Linalol | 3.8 | 1.79 | <0.1 | - |
| Menta-3,8-diene | - | | - | 0.4 |
| α -terpinolene | - | | 1.7 | 02 |
| Bornéol | - | 0.65 | 4.5 | 0.5 |
| Terpinén-4-ol | 0.3 | | 1.4 | - |
| Trans Sabinéne hydrate | 0.2 | | - | - |

| | | | | |
|------------------------|------|-------|-----|-------|
| Carvacrolmethyl Ether | 1.4 | | - | - |
| Thymol | 1.5 | 41.39 | 4.7 | 40.14 |
| Carvacrol | 55.1 | 2.06 | 2.4 | 2.4 |
| α -Gurjunene | 0.3 | | - | - |
| β -Caryophyllene | 0.6 | | 1.3 | 0.8 |

III-4- *Rosmarinus officinalis L*

Le mot romarin dérive du latin « *Rosmarinus* » qui se compose de Ros : rose et Marinus : marin. Ce qui signifie « Rose de la mer » (**Monod, 1978**).

Le *Rosmarin officinal* est une herbe aromatique qui pousse spontanément dans les lieux pierreux de la région méditerranéenne. Ou cultivée dans les jardins (**S. Athame-na1, 2015**)

III-4-1-Nomenclature

Nom scientifique : *Rosmarinus officinalis L.*

Nom Français : *Encensier, Herbe Aux Couronnes, Romarin, Romarin Officinal.*

Nom Anglais : *Rosemary.*

Nom Arabe : اكليل

Nom vernaculaire : *Yazir, Eklil (Ghédira et Goetz, 2012).*

III-4-2-Composition chimique

Plusieurs travaux ont été réalisés sur la composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.* en Algérie, au Maroc, en Espagne, et en Afrique du Sud. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

Tbleau6 : Principaux composés de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L.*

| Composition chimique | Algérie (Djeddi et al., 2007) | Maroc (Derwich et al.,2011) | Espagne (Navaja et al., 2007) | Afrique du Sud (Okoh et al., 2010) |
|------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| α Pinéne | 5.4 | 18.25 | 36.42 | 11.47 |
| 1, 8-Cineole | 12.2 | 5.25 | 12.02 | 11.91 |
| Camphene | 7.2 | 5.02 | 11.08 | 5.70 |
| 1-Octen-3-ol | 0.6 | 0.03 | - | - |
| Eucalyptol | - | - | - | 5.74 |
| Borneol | 10.6 | 3.10 | 4.00 | - |
| Verbenene | - | - | - | - |
| Bornyl acétate | 5.3 | 4.35 | 2.13 | 9.19 |
| Camphor | - | - | - | - |
| Verbenone | - | - | - | - |
| Verbenol | - | - | - | 17.43 |
| β -Pinéne | 8.5 | - | 3.67 | 1.12 |
| Linalool | 2.2 | - | 0.66 | 2.02 |
| β -Caryophyllene | 10.9 | 2.02 | 1.64 | 0.17 |
| 3-Octanone | - | - | - | - |
| β -Phellanderene | - | - | - | - |
| Limonène | - | - | - | - |
| Sabinene | - | - | - | - |

III-5-Mentha Piperita :

La réalisation des extraits avec différentes parties de la *Mentha Piperita* ont montré la diversité et la richesse en plusieurs constituants tel que : flavonoïdes (lutéolme, menthoside), tocophérols, azulènes, l'acide rosmarinique, des terpènes, des caroténoïdes, des tanins et huile essentielle (Iserin, 2001; Charles, 2013).

Tbleau7: composition chimique de huile essentielle *menthe piperita* (%).

| picN° | composé | Teneur % HE de Menthe poivrée | Teneur % HE de l'hydrolat de Menthe poivrée |
|-------|------------------------|----------------------------------|--|
| 1 | α pinène | 0,41 | - |
| 2 | β pinène | 0.47 | - |
| 3 | Sabinène | 0.17 | - |
| 4 | Limonène | 0.95 | - |
| 5 | Cinéol 1,8 | 2.82 | 4.62 |
| 6 | Paracymène | 0.41 | - |
| 7 | Octanol 3 | 0.23 | 0.71 |
| 8 | Octèn-1-ol-3 | 0.14 | 0.28 |
| 9 | Menthone | 20.24 | 18.89 |
| 10 | Menthofurane | 0.13 | - |
| 11 | Isomenthone | 5 | 5.15 |
| 12 | Néomenthyl acétate | 0.25 | - |
| 13 | Linalol | 0.11 | 0.81 |
| 14 | Menthyl acétate | 5.12 | 0.36 |
| 15 | Néomenthol | 5.17 | 4.75 |
| 16 | β -caryophyllène | 0.70 | 3.72 |
| 17 | Menthol | 49.03 | 44.81 |
| 18 | Isomenthol | 1.11 | 3.42 |
| 19 | α terpinéol | 0.37 | 0.51 |
| 20 | Pipéritone 0 | 0.49 | 6.40 |
| 21 | Caryophyllène | 0.39 | - |
| 22 | Viridiflorol | 0.14 | - |

III- 6-l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Au cours des dernières décennies, la résistance développée par les microorganismes aux antibiotiques constitue un phénomène biologique délicat et la médecine se trouve incapable pour établir des solutions permanentes A ce problème.

L'évolution des antibiotiques ne permet aux bactéries que de s'adapter et la recherche de nouvelles molécules actives et plus puissantes est indispensable. A cet égard, les produits naturels des plantes, à effet antimicrobien, ont gagné un grand intérêt (**Essawi et Srour, 2000**). Dans ce contexte, les huiles essentielles des plantes, qui se caractérisent par leur grande richesse de molécules naturelles tant en nombre qu'en variété, peuvent constituer une alternative à l'usage des antibiotiques inefficaces et ouvrir de nouvelles perspectives (**Guinoiseau, 2010; Derwich et al., 2011**).

La croissance des bactéries, résistantes et multi-résistantes aux antibiotiques, peut être inhibée par certaines huiles essentielles (**May et al., 2000 ; Tohidpour et al., 2010**).

Les HEs sont connues par leur activité antimicrobienne et certaines sont classées comme des substances sûres et pourraient donc être employées pour empêcher la croissance des microorganismes pathogènes et contaminants (**Gachkar et al., 2007; Rasooli et al., 2008**).

Le spectre d'action des huiles essentielles très étendu, car elles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d'une huile essentielle à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre (**Kalemba et Kunicka, 2003**). In vitro, l'effet microbicide de certaines HEs a même été trouvé supérieur à celui des antibiotiques (**Valnet et al., 2005, Guesmia,2002**).

Les huiles essentielles agissent aussi bien sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives (**Cimanga et al., 2002; Tenore et al., 2011; Ben Mansour et al.,2013**). Les bactéries Gram négatives paraissent moins sensibles à l'action des huiles essentielles et ceci est directement lié à la présence d'une paroi cellulaire lipopolysaccharide chez les Gram- qui limite la diffusion des composés hydrophobes (**Bezić et al., 2003; Burt, 2004; Ruiz Navajas et al., 2012**). Cependant, **Burt (2004)** a rapporté que les bactéries Gram+ ne sont pas toujours les plus sensibles aux huiles essentielles.

III-7-Mode d'action des huiles essentielles :

D'après (**Dormans et Deans, 2000**) Les huiles essentielles ont un spectre d'action très large due principalement à leur grande affinité aux lipides membranaires grâce à leur nature hydrophobe qui permet la solubilisation des HEs dans les membranes, qui a son tour provoque une déstabilisation de la structure et une augmentation de la perméabilité membranaire. Ces modifications entraînent une fuite d'ions et de composés intracellulaires (**Carson et al., 2002; Ultee et al., 2002**).

Des études portant sur le mode d'action des huiles essentielles vis-à-vis des microorganismes ont été réalisées. En général les huiles essentielles empêchent la multiplication, la sporulation et la synthèse des toxines des bactéries. Sur les levures, elles agissent sur la biomasse et la production du pseudomycélium. Sur les moisissures, elles inhibent la germination des spores, l'élongation du mycélium et la toxicogénèse (**Hulin et al., 1998**).

Kim et al., (1995) et **Hulin et al., (1998)** rapportent que les huiles essentielles semblent posséder plusieurs modes d'action sur les différents microorganismes. Ces modes d'action sont (**Fig.1**):

*interférence avec la bicouche lipidique de la membrane cellulaire, provoquant une augmentation de la perméabilité et la perte des constituants cellulaires.

*altération des différents systèmes enzymatiques dont ceux impliqués dans la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

*destruction ou inactivation du matériel génétique.

Inouye et al., (2003) attribuent l'action des huiles essentielles à l'insertion sélective des constituants de ces derniers sur les lipides de la membrane cytoplasmique pour perturber sa fonction. Cette insertion conduit à la perte des électrolytes et la réduction du niveau des sucres et des acides aminés.

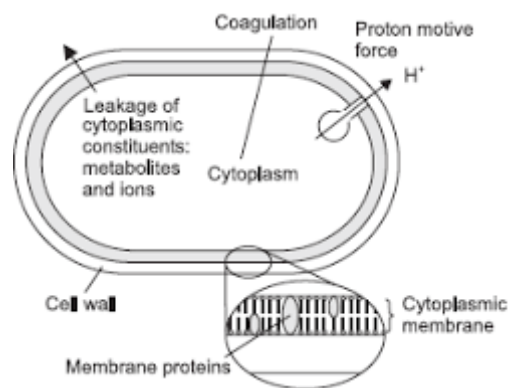


Figure1 : Action des huiles essentielles et de leurs constituants sur la cellule bactérienne (**Burt, 2004**).

Le mode d'action de certaines molécules antibactériennes a été décrit dans la littérature. Le carvacrol et le thymol semblent capables d'augmenter la perméabilité membranaire (**Lambert et al., 2001**).

En détruisant la membrane externe des bactéries Gram négatives, ils augmenteraient la perméabilité de la membrane plasmique aux métabolites cellulaires (**Helander et al., 1998**).

III-8- Les facteurs influençant l'activité antimicrobienne des HE

L'efficacité antimicrobienne des HE dépend de deux paramètres principaux : la composition chimique de l'HE d'une part et le micro-organisme d'autre part.

III-8-1-Activité liée à la composition chimique

Lahlou, (2004) montré que L'activité des huiles essentielles est souvent réduite avec la réduction de l'activité de ses composés majoritaires, ou ceux susceptibles d'être actifs. il est possible, qu'il agissent les composés minoritaires pourraient de manière synergique

Lawrence, (2000) signale que la valeur d'une huile essentielle en aromathérapie devant être liée a sa composition chimique.

De nombreuses études ont mis en évidence une activité antimicrobienne qualitativement similaire entre les huiles essentielles et leurs composés chimiques testés isolément. Cependant il existe des différences quantitatives. En effet, il a été prouvé que l'effet antimicrobien des huiles essentielles est supérieur à celui de ses composés majoritaires testés séparément (**Lahlou, Didry , Dubreuil et al 2004 1993**).

D'après l'étude de **Lambert et al. (2001)**, l'association des principaux composés actifs agirait de façon synergique en potentialisant l'action antimicrobienne de l'huile essentielle.

Cosentino., Tuberoso et al. (1999, 2000) Rapportent que les principales composés chimiques connus pour leur efficacité antimicrobienne et leur large spectre sont les phénols (thymol, carvacrol et eugénol), les alcools, (α -terpineol, terpinen-4-ol, linalol), les aldéhydes, les cétones et plus rarement les carbures

Les phénols, dont le thymol et l'eugénol, sont responsables de l'activité bactéricide des huiles essentielles qui en contiennent (**Cox., Mann. et al 2000**).

Ils produisent des dégâts irréversibles au niveau de la membrane (**Pibiri M.C,2006**). Cependant, il est à signaler que les phénols seuls ne sont pas responsables de l'intégralité de l'activité des huiles essentielles; les autres composés chimiques doivent également être pris en compte (**Cosentino., Tuberoso et al., 1999**).

Les alcools sont généralement plus connus pour leur activité létale que bactériostatique sur les cellules végétatives, en dénaturant les protéines (**Dorman et Deans ,2000**).

III-8-2-Activité liée aux microorganismes

Une huile essentielle peut être biocide vis-à-vis de certaines souches, bio-statique vis-à-vis d'autres ou encore n'avoir aucun effet. Ceci peut être lié au type de microorganisme (à Gram positif ou à Gram négatif), à sa forme planctonique ou en bio-film, à son métabolisme et à sa résistance.

En effet, les bactéries à Gram positif seraient plus résistantes aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatif (**Zaika, 1988**).

Par ailleurs, l'activité antimicrobienne des huiles essentielles diffère selon que la bactérie croît en forme planctonique ou au sein d'un bio-film bactérien.

La résistance bactérienne aux huiles essentielles, comme pour tout agent antimicrobien, semble être liée à la formation du bio-film. En effet, un isolat clinique récent peut montrer une résistance augmentée, pouvant provenir des interactions avec les cellules de l'hôte (**Alviano., Alviano, 2009**), tandis que les microorganismes évoluant sous forme planctonique sont plus susceptibles (**Fine., Furgang., Barnet, 2001**).

PARTIE

EXPERIMENTALE

Matériels et Méthodes

I- Présentation du milieu d'étude :

La partie expérimentale a été effectuée en deux étapes :

La première étape concernant à l'isolement et l'identification des souches bactériennes à partir de lait cru de vache.

La deuxième partie concernant à l'aromatogrammes et l'antibiogramme effectués au niveau de Laboratoire d'INMV de DBK.



Figures 02 : Présentation de lieu de stage

II- Présentation du lieu de prélèvement :

Le prélèvement s'est effectué à partir des vaches mammituses sub-cliniques de race Montbéliardes au niveau de la ferme située à Frakssa commune oued elberdi wilaya de Bouira.

II-1- Technique de prélèvement :

La valeur de l'examen bactériologique du lait de vache dépend en grande partie de la qualité du prélèvement, qui dépend à son tour de la technique de l'opérateur. La technique de prélèvement est se fait comme suite :

- Lavage des mains.
- Lavage et séchage des trayons.
- Désinfection de l'extrémité du trayon à l'aide d'un coton imbibé d'alcool à 70°.
- Elimination du premier jet de lait.

- Saisir le flacon à prélèvement entre le pouce et les doigts de la main droite et on retourne le flacon de façon à diriger le bouchon vers le bas.
- Dévisser le bouchon de la main gauche et on le porte entre l'index et le majeur de la main droite. Tube et bouchon ont alors leurs ouvertures dirigées vers le bas afin d'éviter toute contamination.
- Saisir alors le trayon de la main gauche, on le ramène en position horizontale et on trait dans le flacon incliné 6 millilitres de lait de chaque trayon.

II-2- Transport et conservation des échantillons

Une fois prélevés, les échantillons sont placés dans une glacière à une température voisine à +4°C, puis acheminées au laboratoire.

III-Analyses bactériologiques du lait :

III-1-Microorganisme étudiés

Les germes testés obtenus sont:

- Des bactéries à Gram négatif :
 - Escherichia coli*.
 - coliforme fécaux*.
- Des bactéries à Gram positif :
 - Staphylococcus aureus*.
 - streptococcus sp*.
 - entérocooccus feacalis*.

III-2-Les milieux de culture utilisés :

Les différents milieux de cultures et réactifs utilisés sont présentés dans le tableau 08 suivant

Tableau 08 : les différents milieux de cultures et réactifs utilisés.

| Appareillage | | Réactifs et autre |
|--|--------------------------|---|
| -Agitateur magnétique. -Boites de pétris -Centrifugeuse -Etuve -Filtres en papier -Pipette pasteur -Micropipette 10 µl,15µl,20 µl. -Gants stérilisés. -Ecouillons. -Bec benzène -Pince. -Bain marine. -Microscope photonique. -Lame/lamelle. -Seringue (10ml) -autoclave. | | -Plasma d'homme. -Rouge de méthyle. -L'eau oxygénée. -Violet de gentiane. -Lugole. -Fushine. -L'eau physiologique. -Eau distillé stérile. -TSI. -covacs - Eau hyper salé -tellurite de potassium -urée indole -citrate Simmons |
| Milieux de culture | | Matériel biologique |
| solides | Liquide | -Echantillon de lait cru prélever à partir de vaches sub-clinique |
| -Gélose nutritif. -Gélose Chapman. -GéloseMüller Hinton. -gélose vrbl -gélose de hektoène -gélose au sang frais - gélose de BEA | -Bouillon Clark et lubs. | |

III-3-préparation des solutions mères et dilution :

Dilution : on réalise à partir du lait des dilutions successives en progression géométrique de raison 1/10. Pour faciliter le dénombrement, on utilise un diluant : l'eau physiologie en température ambiante sont dilution se fait comme suit :

- ✓ Transféré aseptiquement 1 ml de suspension mère (lait cru) à l'aide d'une seringue de 10 ml stérile dans 9 ml de diluant.
- ✓ Procéder de manière identique pour les dilutions suivantes.
- ✓ Mélanger soigneusement chacune des dilutions pendant 5 à 10 secondes au moment de leur préparation et avant les ensemencements. (**Figure 03**).

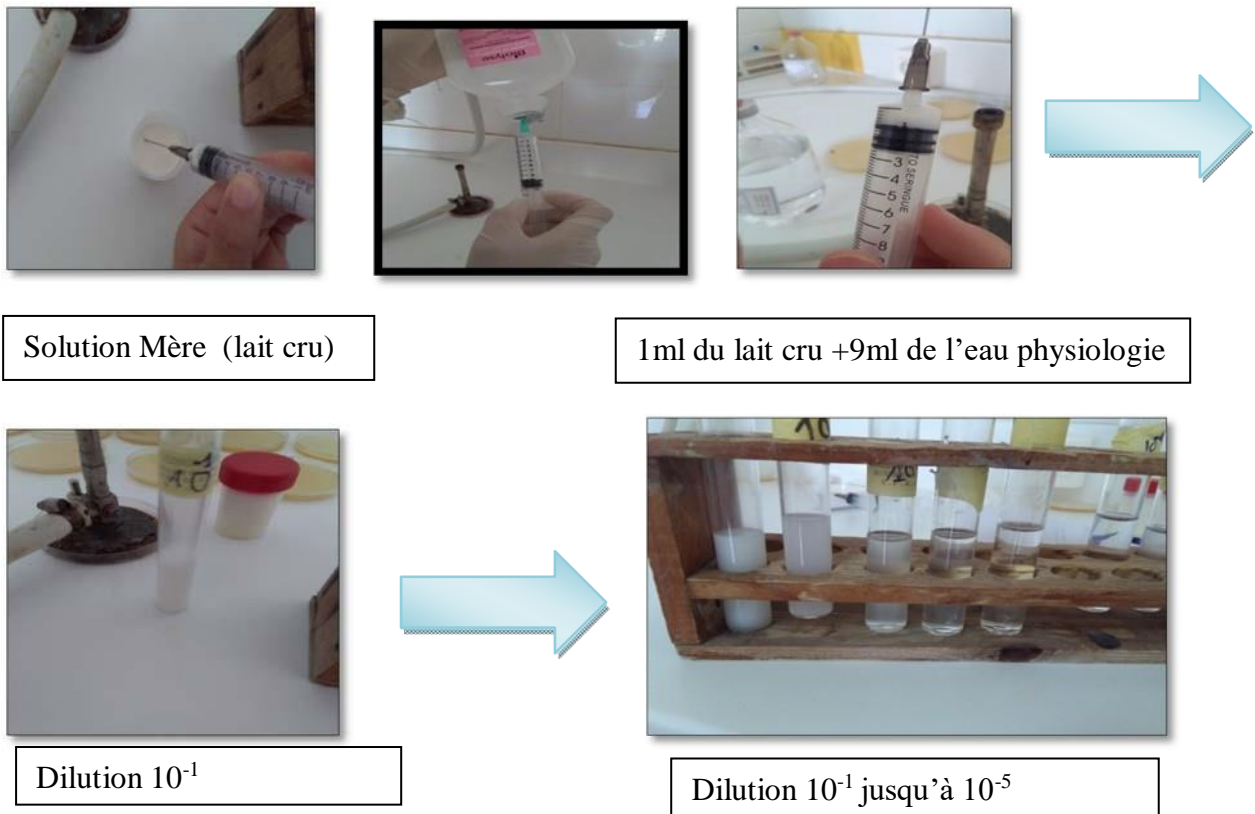


Figure 03 : préparation des dilutions décimales (photos personnelles).

III-4- l'enrichissement :

Généralement, on utilise le milieu de gélose nutritif qui est un milieu d'enrichissement pour faciliter la culture des bactéries. Cet enrichissement a pour but de favoriser la croissance d'une espèce en petit nombre.

On prend à l'aide de pipette pasteur stérile quelques gouttes à partir des dilutions dans les tubes (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}). Et on ensemence par stries sur des boîtes de pétries qui contiennent la gélose nutritive. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 48 heures (**Figure04**).

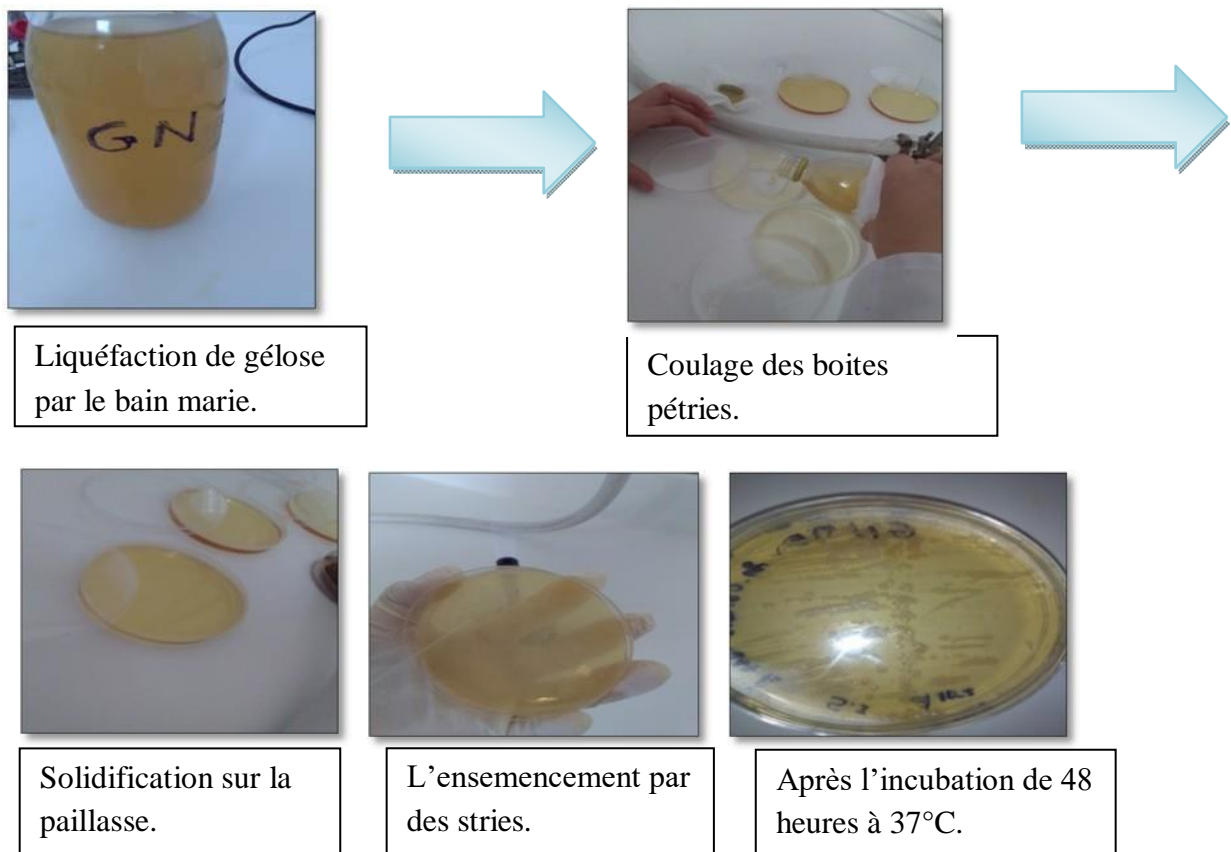


Figure04 : l'enrichissement des bactéries sur la gélose nutritive (photos personnelles).

III-5-l'identification des bactéries (mode opératoire annexe) :

Après la croissance des bactéries sur le milieu GN les colonies isolées ont été purifiées par la méthode des stries (isolement et repiquage sur le milieu gélosé spécifique). La pureté de chaque culture a été vérifiée par la détermination des caractères morphologiques macroscopique et microscopique ce comme illustré dans la **(Figure 05)**.

Enrichissement sur milieu GN

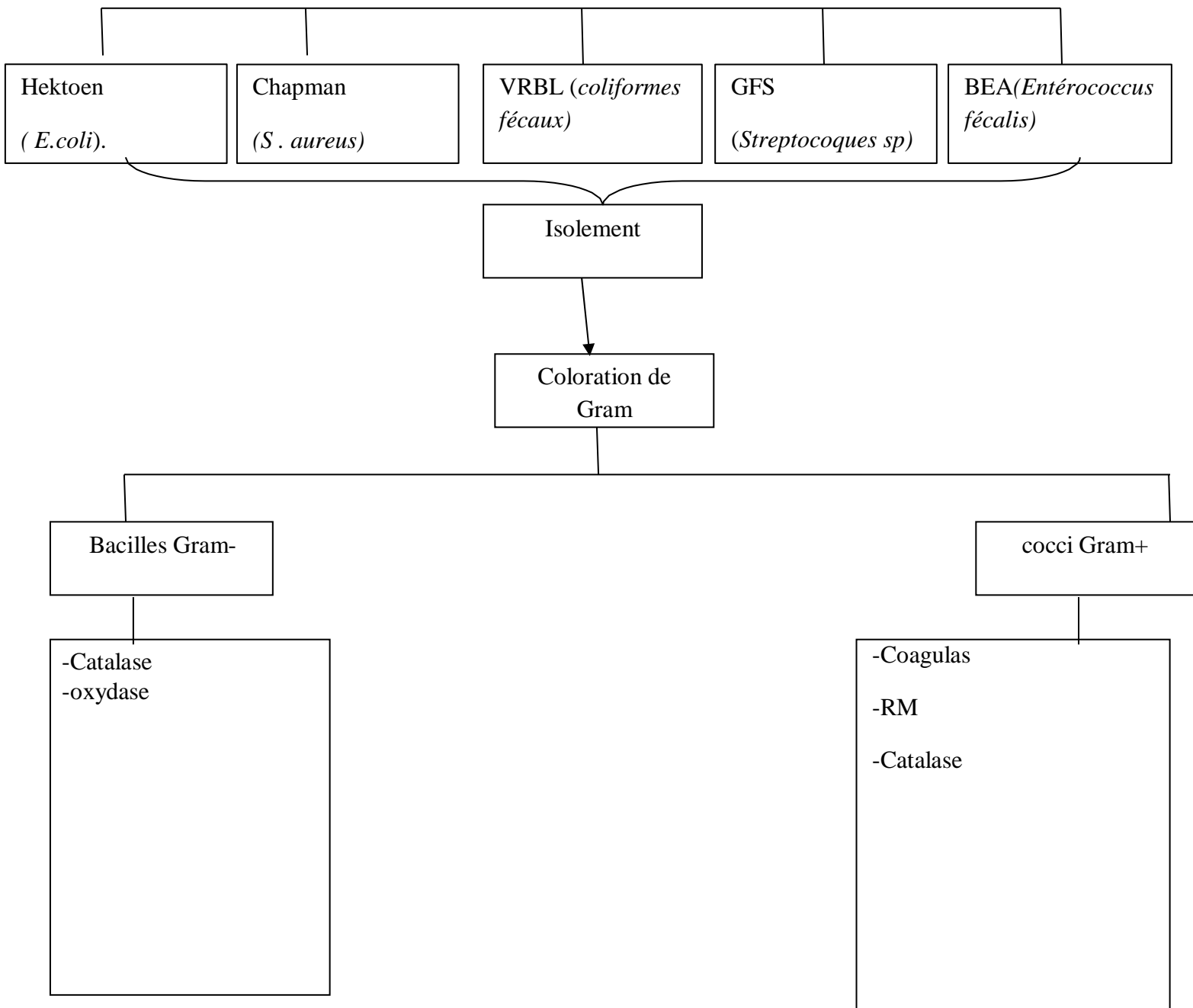


Figure 05 : Diagramme de recherche et identification des souches bactériennes

VI- Activité antibactérienne :

VI-1-Préparation de l'inoculum :

- A partir d'une culture pure de 24 h sur milieu d'isolement approprié, prélevé à l'aide de pipette pasteur quelques colonies bien isolées.
- Mettre les colonies isolées dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile, et homogénéisées à l'aide d'un vortex.
- Mesurer la capacité de la charge bactériennes avec le densitomètre ne doit pas dépasser 0.5Mc Ferland. (**figure 4**)

VI-2-Antibiogramme :

L'antibiogramme est une méthode de diffusion en gélose pour prédire la sensibilité des bactéries isolées aux antibiotiques en termes d'efficacité clinique, qui est recommandée par le Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (**CA-SFM**).

Il permet de classer une souche pathogène dans une des trois catégories suivantes (**Enriquez, 2007 ;Guillemot et al. 2006**) :

- **S** : ce sont les souches les quelle il existe une forte probabilité de succès thérapeutique avec le traitement par la voie systémique avec la posologie recommandée.
- **R** : ce sont des Souches les quelle il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique, quelle que soit la voie et la dose utilisé dans le traitement.
- **I** : sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique ne peut être prédit. (Ces souches constituent une groupe hétérogène pour le quel la seule valeur de la CIM ne peut pas prédire le succès thérapeutique).

VI-2-1-Mode opératoire :

-Des disques d'ATB de différentes familles (**tableau 09**) sont disposés sur la gélose MH préalablement ensemencée avec la souche teste par la méthode d'écouvillonnage.

-Après incubation à 37°C pendant 24h, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés en mm, l'interprétation des résultats obtenus se réfère aux critères définis par le (**CLSI, 2010**). (**figure4**).

Tableau09 : Les différents antibiotiques utilisés.

| Souches a testé | Antibiotiques a testé | Abréviation |
|------------------------------|---|-------------------------|
| Escherichia coli | Cefotoxime -amoxicillin -Fosfomycine -ampicillin | CTX AMX CIP FO |
| Coliform fécaux | -Kanamycin -ampicillin -gentamicin -chloramphenicol | K AMP GEN C |
| Staphylococcus aureus | -vancomycin -ofloxacin -fusidicacide -oxacillin | VA OF FC OX |
| Entérocooccusféaclis | - Pénicilline G -fusidic-acid - céfotoxitine -kanamycin | P FC CX K |
| Streptococcusfécause | -amoxicillin -penicillin-G -tétracycline -co-trimoxazole | P TE COT E |



Liquéfaction de gélose Muller Hinton.



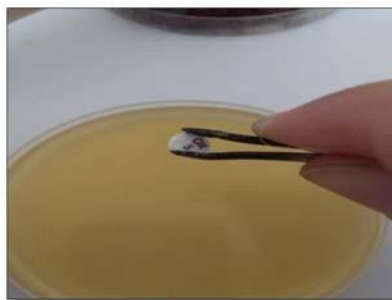
Coulage des boîtes.



Préparation de suspension
Eau physiologie + colonies.



L'ensemencement sur la
gélose par l'écouvillon.



Dépose le disque
d'antibiotiques sur la gélose.



Chaque boîte contient
jusqu'à 4 disques
l'incubation de 48 heures à

Figure 06 : Préparation de L'antibiogramme (photo personnelle).

VI-3-Aromatogramme :

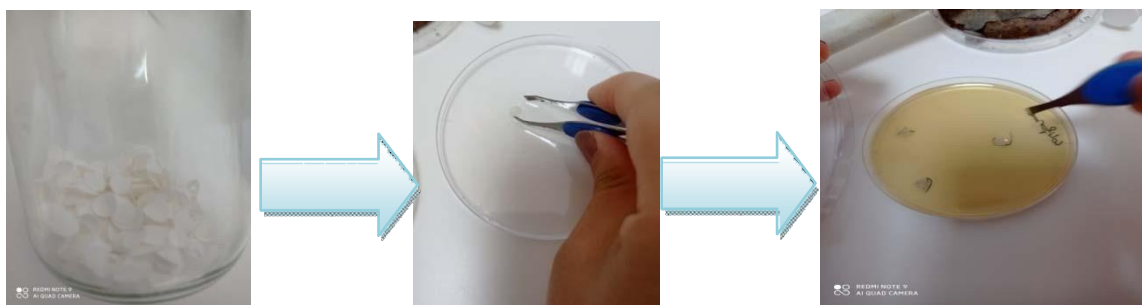
C'est une méthode de mesure in vitro du pouvoir antibactérien des HES.

VI-3-1-Préparation des disques :

- Des disques de papier Wattman N°1 de 6 mm de diamètre ont été préparés, stérilisés dans autoclaves puis imbibés dans 10 µl de chaque huiles essentielles(**tableau 10**).
- Les disques sont par la suite déposer à la surface des boîtes ensemencées.
- puis incubées à 37°C pendant 24h. L'essai est réalisé pour chaque souche
- Les diamètres du résultat sont mesurés en mm. (**figure7**).

Tableau 10 : les différentes huiles essentielles utilisées

| Les souches testées | Les huiles essentielles utilisées |
|-------------------------------|-----------------------------------|
| <i>Escherichia coli</i> | <i>Thymus Vulgaris.</i> |
| <i>Coliforme fécaux</i> | |
| <i>Entérocooccus féacalis</i> | |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | |
| <i>Streptococcus sp</i> | |
| | <i>Mentha Piperita.</i> |
| | <i>Rosmarinus Officinallis.</i> |



| | | |
|--------------------|--|--|
| Disques stérilisés | imbibé dans 10 µl de chaque huiles essentielles. | Déposer à la surface des boîtes ensemencées l'incubation de 48 heures à 37°C |
|--------------------|--|--|

Figure 07 : Préparation de L'aromatogramme (photo personnelle).

*RESULTATS ET
INTERPRETATION*

I-Résultats de vérification de la pureté des souches collectées

I.1. Résultats d'isolement

A partir l'isolement de différents prélèvements sur milieux appropriés spécifiques à chaque culture de germes" **Gélose nutritive, Chapman, Hektoen, VRBL , BEA, GSF** ".on a obtenu les résultats mentionnés dans le **tableau 11**.

Tableau 11 : Résultats obtenus selon la culture des différents prélèvements.

| Nature de prélèvement | Les géloses | | | | | |
|-----------------------|-------------|---------|---------|------|-----|-----|
| | GN | Chapman | Hektoen | VRBL | BEA | GSF |
| Ech | + | + | + | + | + | + |

A partir des boites, nous avons choisi les colonies suspectes et nous les avons repiquées dans de nouvelles boites afin de vérifier la pureté des souches. A partir des cultures pures, nous avons fait l'observation macroscopique et microscopique.

1-2-Aspect macroscopique des colonies

Le repiquage successif utilisé dans le seul but de purifier les souches nous a permis de distinguer les caractères de toutes les colonies sur leurs milieux spécifiques préférentiels d'isolement. Ces données sont résumées dans le Tableau 12

Tableau 12 : l'aspect macroscopique des colonies isolées sur milieux spécifiques.

| Les souches | Milieu | L'aspect des colonies |
|-------------------------------|----------------|--|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Chapman | -Des petites colonies de couleur jaune (doré), rondes, bombées et lisses à contour régulier, filantes sous l'anse avec un virage de couleur du milieu vers le jaune. |
| <i>E.coli</i> | Hektoen | -Des Colonies moyennes, saumonées, arrondies, bombées à contour régulier. |
| <i>Coliform fécaux</i> | VRBL | -présentent sous forme de colonies rouges foncées (lactose +) et d'un diamètre de moins de 0,5 mm et ayant une forme ronde et lenticulaire |
| <i>Streptococcus sp</i> | GSF | -Les Streptocoques forment des petites colonies fines rondes +/- transparentes, avec une hémolyse β . |
| <i>Entérocooccus Feacalis</i> | BEA | - Culture positive, colonies grise avec un halon noire. |

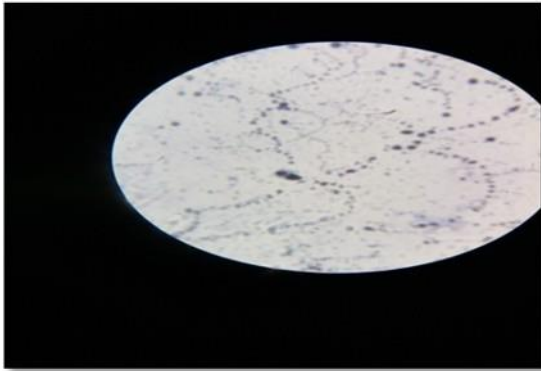
I.3. Aspect microscopique des colonies

Avant de fait le test de coloration de gram, elle est nécessaire de faire l'identification des souches à base des différents tests biochimiques.

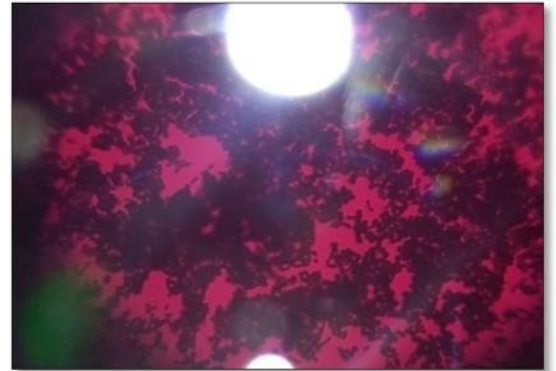
La coloration de Gram est un test essentiel permettant de différencier les bactéries Gram positif des bactéries Gram négatif et l'observation des caractères morphologiques de différentes souches bactériennes testée les résultats sont représentés dans le **tableau 12**.

Tableau 13 : Résultats d'analyse obtenus de l'état frais et de la coloration de Gram.

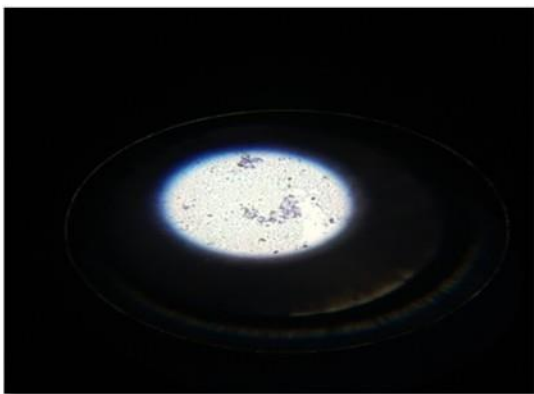
| Les souches | L'état frais | Coloration de Gram | Les tests de conformation |
|-------------------------------|---|---|--|
| <i>Staphylococcus aureus.</i> | -Cocci en petits amas, en diplocoques | -Cocci de couleur violette (Gram ⁺). regroupées en amas, en grappe de raisin. | -Catalase positive -Coagulase positive -Oxydase négative |
| <i>E.coli.</i> | -Bacilles fins et allongés, mobiles. | -Bacilles Gram ⁻ . | -Oxydase négative -Catalase positive -RM positive |
| Coliforme totaux | - Bacilles non sporulé. | - Bacilles Gram ⁻ . | - Oxydase négative |
| Streptocoques sp | -cocci de taille irrégulières, | -Cocci Gram +, | -Catalase négative -Oxydase négative |
| Entérocooccus Feacalis | -cocci, en grappees chaines courtes diplocoques, non mobile | -Cocci à Gram ⁺ . | -Catalase négative |



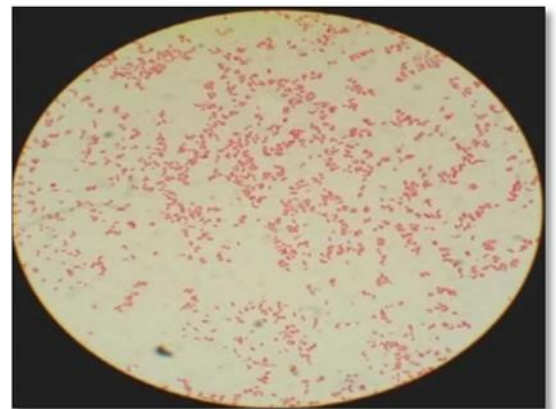
Entérocooccus feacalis G*40



S.aureus G*40



Streptoocoque sp G*40



E.coli G*100

Figure 08 : observation des souches après coloration de Gram au microscope optique avec différents grossissements.). (photo personnelles).

II- Résultats de l'antibiogramme

L'Antibiogramme à été effectué avec 5 souches différentes provenant de lait cru de vache testées en même temps. Nous avons utilisé la technique de diffusion en milieu gélosé comme décrite en matériel et méthodes.

Les tableaux(14, 15, 16, 17, 18).montré que la résistance des antibiotiques testés variait selon les différentes souches (*E.coli*, *staphylococcus aureus*, *coliforme totaux*, *streptocoques sp*, *entérocooccusfécalis*). Il est à noter que tous les souches sensibles a plusieurs antibiotiques appartenant à différentes familles saufs les deux souches *streptococcus fécalis* et *entérocooccus fécalis* sont résistants a la pénicilline et céfotaxime et *staphylococcus aureus* résistants à la vancomycin.

III-Aromatogramme :

D'après nos résultats, nous avons remarqué que l'inhibition de la croissance microbienne varie selon l'espèce des huiles essentielles et la dose à utilisée.

III- 1-Coliforme fécaux

Pour un disque imprégnés de 10ul : il est noter la souche est plus sensible à l'huile *Thymus Vulgaris* et *Mentha Piperita* avec un diamètre 35mm aux antibiotiques a testé.

III-2-Entérocooccus faecalis :

D'après le tableau 16 a trouvé les deux huiles, mélange, thymus vulgaris possède une forte activité antibactérienne avec des différents dose à étudié avec de diamètre de 37-46mm et 38-47mm par rapport les deux antibiotique le pénicilline et céfotaxime qui est résistants par contre les deux huiles *Rosmarinus Officinalis*, *Mentha Piperita* moins actives au dose 10ul

III-3-Streptocoque sp

D'après le tableau 17 Ce résultats obtenu pour les trois dose montre que l'huile *Thymus Vulgraris* exercée une activité antimicrobienne importants sur la bactérie streptocoque sp avec un diamètre d'inhibition 38-49mm, et les deux huile *Mélange*, *Mentha Piperita* montr une activité modérée avec un diamètre 10-35 par rapport la pénicilline qui résiste a cette bactérie. Sauf pour le Romarin il reste faible activité.

III-4-S.aureus

D'après les résultats obtenu, une activité importante d'huile essentielles *Thymus Vulgaris* Et *Le Mélange* est remarquée contre la *Staphylococcus Aureus* avec un diamètre de 23-45mm par rapports a la vancomycin qui résiste a cette bactérie. Les restes huiles ont un effet modéré contre la *S.Aureus*.

D'après les résultats de ce travail on a conclu la croissance de trois souches a testé *E.Coli*, *S.Aureus*, *Streptocoque Sp* à été inhibée pour tous les huiles essentielles à études avec des proportions variables.

Il est importants de noter que l'activité antibactérienne d'huiles essentielles tymus vulgaris , le mentha piperita et le mélange sur les 5 souches est plus important par rapport le romarinus a cineole comparativement aux antibiotiques de chaque souche.

III-5-E.Coli :

Concertants la dose 10ul : on à remarqué une effets inhibitrice faibles avec les trois huiles *Rosmarinus Officinalis*, *Mentha Piperita*, avec un diamètre (10mm, 26mm) en comparaison avec le diamètres générés par les deux ATB Fosfomycin et céfotaxime et une fort effet inhibitrice avec l'huiles de *Thymus Vulgaris* et le *Mélange* aux antibiotique amoxicilline et ampicilline.

D'après les résultats de ce travail on a conclu que la croissance des trois souches a tester *E.coli*, *S.aureus*, *Streptocoque sp* a été inhibée pour toutes les huiles essentielles étudiées avec des proportions variables. Il est importants de noter que l'activité antibactérienne des 'huiles essentielles tymus vulgaris et le mélanges des 3 huiles sur les 5 souches obtenues est plus importante comparativement à celle des antibiotiques.

Tableau14 : Activité antimicrobiennes de quatre huiles essentielles (*Rosmarinus Officinalis*, *Mentha Piperita*, *Thymus Vulgaris*, *Mélange*) sur *E.Coli*

| | ATB | | | | 10ul | | | |
|---------------|-----|-----|-----|----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | AMP | AMX | CTX | FO | HE ₁ | HE ₃ | HE ₄ | HE ₂ |
| <i>E.coli</i> | 15 | 18 | 30 | 35 | 25 | 11 | 24 | 10 |

Tableau15 : Activité antimicrobiennes de quatre huiles essentielles (*Rosmarinus Officinalis*, *Mentha Piperita*, *Thymus Vulgaris*, *Mélange*) sur *Coliforme fécaux*.

| | ATB | | | | 10ul | | |
|-------------------------|-----|-----|----|----|------------------------------------|-----------------|-----------------|
| | AMP | GEN | K | C | HE ₁ HE ₃ | HE ₄ | HE ₂ |
| <i>Coliforme fécaux</i> | 17 | 27 | 30 | 33 | 35 | 30 | 10 |

Tableau16 : Activité antimicrobiennes de quatre huiles essentielles (*Rosmarinus Officinalis*, *Mentha Piperita*, *Thymus Vulgaris*, *Mélange*) sur *Entérocooccus Faecalis*.

| | ATB | | | | 10ul | | | |
|-------------------------------|-----|---|----|----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | CX | P | K | FC | HE ₄ | HE ₁ | HE ₃ | HE ₂ |
| <i>Entérocooccus faecalis</i> | 9 | 5 | 15 | 26 | 38 | 37 | 12 | 9 |

Tableau 17: .Activité antimicrobiennes de quatre huiles essentielles (*Rosmarinus Officinalis*, *Mentha Piperita*, *Thymus Vulgaris*, *Mélange*) sur *streptocoque sp.*

| | ATB | | | | 10ul | | | |
|------------------------|-----|----|----|-----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | P | TE | E | COT | HE ₁ | HE ₄ | HE ₃ | HE ₂ |
| <i>Streptocoque sp</i> | 6 | 25 | 27 | 35 | 38 | 21 | 14 | 10 |

Tableau18 : Activité antimicrobiennes de quatre huiles essentielles (*Rosmarinus Officinalis*, *Mentha Piperita*, *Thymus Vulgaris*, *Mélange*) sur *Staphylococcus Aureus*

| | ATB | | | | 10ul | | | |
|-----------------|-----|----|----|----|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | VA | OF | FC | OX | HE ₁ | HE ₄ | HE ₃ | HE ₂ |
| <i>S.aureus</i> | 4 | 25 | 25 | 30 | 33 | 23 | 11 | 8 |

DISCUSSION

L'activité antibactérienne de l'huile *Thymus Vulgaris* sur les germes *Staphylococcus aureus* et *E.coli* concorde avec celle de **Dorman et al en 2000** qui ont trouvé une grande efficacité de cette huile sur les deux bactéries. Cette activité pourrait principalement être due aux composés majoritaires. Par contre l'activité antibactérienne d'huile *Thymus Vulgaris* est différente de celle découverte par **d'El Ouali Lalami et al (2013)**.

L'étude réalisée par **Mohamed Nadjib Boukhatem et al en 2014** a démontré que l'huile essentielle *Thymus Vulgaris* à une activité antibactérienne importante sur les bactéries à Gram+ où les DZI oscillent entre 26 et 60 mm pour les disques imprégnés de 20 µL, et entre 27 et 68 mm pour le disque imprégné de 40 µL et entre 24 et 70 mm pour un disque imprégné de 60 µL d'HE. Concernant les témoins positifs (disques ATB), les DZI varient selon les espèces.

Il est à noter que l'activité bactériostatique de *Thymus Vulgaris*, à la dose de 20 µL, paraît supérieure à celle des ATB (*S.aureus* (Sa1) = 42 mm vs Acide Fusidique (FA, 10 µg) = 18 mm). Les bactéries à Gram- ont présenté une certaine inhibition vis-à-vis de l'action antibactérienne de l'essence du *Thymus Vulgaris*, mais cette activité demeure inférieure comparativement aux Gram+. Ceci est en accord avec nos résultats.

l'efficacité d'huile *Thymus Vulgaris* sur les bactéries à gram+ est plus évidente que sur les bactéries à gram-, ceci est liée à la différence de la composition de la paroi cellulaire.

L'étude réalisée par **Conner en 1993**, a permis de constater que l' HE de *Thymus Vulgaris* a une forte capacité inhibitrice contre divers microorganismes pathogènes (*Coliformes Fécaux*, *Entérocooccus Feacalis*) et à un rôle d'altération dans différents aliments et que l'activité inhibitrice des extraits d'herbes est attribuée fondamentalement à sa richesse en composés phénoliques, le genre *Thymus* possède une grande importance pharmacologique, son huile essentielle est dotée d'activité antibactérienne et antifongique.

Le **journal de PCBS en 2014**, a signalé que l'huile de *Thymus Vulgaris* représente une activité antimicrobienne intéressante vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *E.coli*, mais beaucoup moins efficaces sur les germes *Streptocoque Sp.*

L'auteure **Shinet et al en 2005** aussi ont établi que Les huiles essentielles de *Thymus Vulgaris* sont capables d'inhiber la croissance de bactéries résistantes comme *Streptocoque Sp.*

D'après **Chalal Celina et Salmi Ouafae en 2018** l'activité d'huile essentielle *Mentha Piperita* a réagi positivement sur toutes les bactéries testées notamment les souches à gram- *Coliformes fécaux et E.Coli* qui sont les plus sensibles, avec un diamètre d'inhibition de 16.40mm et 14.46mm par rapport à la souche gram+ qui ont un diamètre d'inhibition de 10.7mm et 10.48mm respectivement. Ceci est en adhésion avec nos résultats.

Kalemba et Kunicka en 2003, qui confirment qu'il ya des effets de sensibilité des microorganismes vis-à-vis des huiles essentielles et qu'il est bien connu que les bactéries Gram + notamment *Enterococcus Feacalis*, *Streptocoque Sp* sont plus sensibles aux huiles essentielles comme *Mentha Piperita* que les bactéries Gram -. Ces résultats sont confirmés aussi par d'autres auteurs comme **Poole en 2001 ; Burt en 2004 et Busatta et al en 2008.**

Goudjil et al en 2015 ont observé une activité modérée de l'huile essentielle sur *Staphylococcus aureus* avec un diamètre d'inhibition de (13,33mm ; 13,16mm et 12,66mm) respectivement. Ce qui correspond à nos résultats.

D'autres auteurs ont montré que le pouvoir antibactérien de cette HE est plus important chez *Escherichia coli* avec un diamètre d'inhibition pouvant atteindre 14mm, alors que chez *Staphylococcus aureus* le diamètre n'est que de 10mm. Selon l'étude de **Hossain et Satmi en 2016.**

D'après **Schelz et al en 2006**, qui ont étudié l'activité antimicrobienne a révélé que l'HE de la *Mentha Piperita* présente une forte activité contre *Escherichia Coli*.

D'après les études trouvées par les deux précédents auteurs est en désaccord avec nos résultats.

Dans ce contexte, de nombreuse études effectuées par **Takarada et al en 2004** ont été réalisées sur l'efficacité de l'HE *Rosmarinus Officinalis* , seule ou en combinaison, dans la présente étude l'activité d'huile *Rosmarinus Officinalis* a montré une sensibilité modérée sur les Cinq souches étudiées par rapport aux deux huiles précédentes.

ces résultats sont similaires aux résultats obtenus par **Bernardes et al, Yesil Celiktas et al en 2007** qui ont trouvés que l'HE de *Romarin* a une faible activité sur les microorganismes testés. Les composés isolés de l'HE de *Romarin* sont plus actifs . Parmi les pathogènes testés, *Streptocoque Sp* est le plus sensible et *E. faecalis* le plus résistant. L'activité des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* a le même résultat que **Gachkar et al en 2007**. L'HE de *Romarin* a une activité bonne à modérée vis à vis de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, nos résultats divergent avec ceux de **Romano et al en 2009**, qui ont trouvé une activité antibactérienne forte contre la bactérie à Gram positif *S. aureus* que contre la bactérie à Gram négatif *Coliforme Fécaux*, *E. coli*. En général, les bactéries à Gram négatif sont plus résistantes à la plupart des agents antimicrobiens connus.

Des études réalisées par l'Organisation Mondiale de la Santé **OMS en 1999** et d'autres auteurs comme **Dorman et Deans en 2000** ont montré que les extraits de *Rosmarinus Officinalis*. et *Mentha Piperita*. ont montré une activité antimicrobienne importante contre *E. coli*.

D'après la proposition de **Moreira et al en 2005**, sur les extraits bruts aqueux de *Rosmarinus Officinalis*., et de *Mentha Piperita* ont révélé aussi des activités antimicrobiennes contre plusieurs microorganismes dont *Staphylococcus aureus* et indiquent bien une similitude avec les résultats obtenus dans le présent travail.

Skocibusic et al en 2006, ont découvert que l'extrait de *Romarin* à une activité antimicrobienne importante contre *l'Escherichia coli* par sa zone d'inhibition de 12 mm et la zone d'inhibition sur *staphylococcus aureus* est égale à 9mm, donc la souche *E.coli* qui est Gram- est sensible à l'huile essentielle et le *Staphylococcus aureus* est moins sensible ceci est analogue avec nos résultats.

Pour les résultats de l'activité antimicrobienne de mélange de trois huiles essentielles précédentes, sur les cinq souches testées il est important que noter l'effet antibactérien des huiles essentielles *Rosmarinus Officinalis* qui devient plus efficace lorsqu'elle est mélangée avec les deux huiles essentielles *Thymus Vulgaris* et le *Mentha Piperita* ce qui est confirmé par les résultats des travaux de **Benaziza Dehbiya et Benhalima Yamina en 2017**.

Alors que, d'après nos résultats et les différents résultats des auteurs précédents on a conclu que les bactéries à gram+ sont les souches les plus sensibles à l'huile essentielle *Thymus Vulgaris*.

L'effet des huiles essentielles peut varier d'une bactérie à une autre, cette variabilité peut être liée à plusieurs facteurs (la composition de bactéries, la durée de conservation des huiles et la composition des huiles etc....) la résistance des bactéries Gram – vis-à-vis des huiles essentielles peut être expliquée dans la complexité de l'enveloppe cellulaire de ces microorganismes qui comportent une double membrane, contrairement à la structure membranaire simple des bactéries Gram +.

CONCLUSION

ET

RECOMMENDATION

L'intérêt accordé à l'étude scientifique du pouvoir thérapeutique des plantes médicinales n'a cessé d'augmenter durant ces dernières années dans le but de rechercher des alternatives aux antibiotiques qui présentent des risques pour la santé animale et l'environnement. Dans ce contexte, nous avons essayé d'évaluer in-vitro l'activité antibactérienne, de *thymus Vulgaris*, *Mentha Pepirita*, *Rosmarinus Officilanus*, et ce *Mélange*.

En élevage laitier, les mammites constituent l'une des principales causes de retour à l'utilisation des antibiotiques. Leur efficacité est prouvée limitée. Les mammites peuvent engendrer des pertes économiques importantes (coût du traitement, baisse de la qualité du lait, pertes de production, temps d'attente,...).C'est pourquoi les éleveurs biologiques sont particulièrement intéressés par le développement d'autres méthodes dans ce domaine.

L'antibiogramme réalisé a confirmé la présence d'un phénomène indésirable d'antibioresistance chez quelques souches isolées.On peut confirmer l'importance et le pouvoir antibactérien de *Thymus Vulgaris Et Mélange Et Mentha Pepirita* en première position sur les cinq souches étudiées à part *Rosmarinus* qui est de faible activité face aux bactéries qui présentent une multi résistance aux antibiotiques.

On a conclu que Les huiles essentielles de *Thymus Vulgaris*, *Mentha Pepirita* et le *Mélange* des 3 huiles testés ont montré une efficacité comme agent antiinfectieux in vitro.Il est important de noter que l'activité antibactérienne des huiles essentielles *Rosmarinus Officinalis* devient plus importante lorsqu'elles sont mélangées avec les deux huiles essentielles *Thymus Vulgaris* et le *Mentha Piperita*.

Recommandations :

Vu les résultats obtenus, il serait très intéressant de valoriser et de commercialiser des solutions à base d'huiles essentielles des différentes plantes étudiées, Il serait aussi intéressant d'évaluer d'autres extraits (racines), synthétisés par les plantes, dans les traitements d'élevage.

Avec des protocoles standardisés bien déterminés, des essais doivent être élaborés dans des laboratoires et sur terrains pour donner aux éleveurs cette possibilité thérapeutique pour éviter la multiplication vis-à-vis d'autres espèces de bactéries multi-résistantes et cela dans un cadre réglementaire législatif défini.

Avec la tendance actuelle au niveau de l'être humain qui demande des traitements moins chimiques et plus naturels, l'aromathérapie trouve très bien sa place dans ce domaine et réduirait ainsi la résistance.

Références bibliographiques

- Abdennebi EH.2006.** Antibactériens en médecine vétérinaire. Actes Editions Maroc. P 303.
- ABDESSALAM A. D.** Contribution à l'étude du lait des ceintures laitières ériurbaines de la zone cotonnière du Sénégal. Th. Méd. Vét., Dakar, IQ95, n021, 126p
- Alais C, Linden G, Miclo L.2008.** biochimie alimentaire, Dunod 6^{ème} édition paris P 86 88.
- Alais C, Linden G, Miclo L.2008.** biochimie alimentaire, Dunod 6^{ème} édition paris P 86 88.
- Alami M, Barret R, Brion JD, Enguehard-Gueiffia C, Foliot P, Gaudy C, Gerondeau N, Alviano DS., Alviano CS., (2009).** Plant extracts: search for alternatives to treat microbial diseases. Curr Pharm Biotech. 10: 106-21.
- Amarti F, Satrani B, Aafi A, Ghanmi M, Farah A, Aberchane M, El Ajjouri M, El Antry S et Chaouch A. (2008).** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Thymus capitatus* et de *Thymus bleicherianus* du Maroc. Phytothérapie. 6, 342–347.
- Amlan KP. (2011).** Effets of Essentiel oils on Rumen Fermentation, Microbial Ecology and Ruminant Production. Asian Journal of Animal and Veterinary Advances. 6 (5), 416-428.
- A-S, Carette épouse Delacour,** La lavande et son huile essentielle. Thèse de doctorat, 2000.
- Asselineau J et Zalta.1973.** Antibiotique structure et exemple de mode d'action, éd .hermann, pari, 602 P
- Athamena, S., Laroui, S., & Athamena, M. (2015).** « Phenolic Composition, Antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis*. Sciences et Technologie, 21-30 »
- Barthe C., J Perron et J.M.R Perron. (1998).** Guide d'interprétation des paramètres microbiologiques d'intérêt dans le domaine de l'eau potable. Document de travail (version préliminaire), ministère de l'Environnement du Québec, 155 p. + annexes.
- Belmalha, S., El Idrissi, M., Amechrouq, A., & Echchgadda, G. (2015).** « Chemical characterisation of some species of Moroccan middle atlas Thyme (Region of Midelt). Global Journal of pure and applied chemistry research, 3(2), 43-52 ».
- BEN MAHDI MH. et OUSLIMANI S. (2009).** Mise en évidence de résidus d'antibiotiques dans le lait de vache produit dans l'algérois. European Journal of Scientific Research vol.36 n°3. PP: 357-362.

Ben Mansour, M., Balti, R., Rabaoui, L., Bougatef, A., Guerfel, M. (2013). Chemical composition, angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oil from south Tunisian *Ajuga pseudoiva* Rob. Lamiaceae. *Process Biochemistry* 48, 723-729.

Bernardes W.A., Lucarini R., Tozatti M.G. et al. Antibacterial activity of the essential oil from *Rosmarinus officinalis* and its major components against oral pathogens. *Zeitschrift für Naturforschung C., Journal of biosciences*, 2010 ; 65c ; 588- 93.

Bezić, N., Skocibusić, M., Dunkić, V., Radonić, A. (2003). Composition and antimicrobial activity of *Achillea clavennae* L. essential oil. *Phytotherapy Research* 17, 1037-1040.

BILLON P., SAUVE O. (2009). Traite des vaches laitières. 3ème édition, France, 555 p. Des exemples ; genres *Citrobacter*, *Enterobacter* et *Klebsiella*.

Bonnyfoy C., Guillet F, Luyral G., Bourdis E-V. (2002). Microbiologie et qualité dans les industries agro-alimentaires. Aquitaine : Doin, Paris. 248p.

Boti J.B., Muselli A., Tomi F., Kouakou G., N'guessan Y.T. Costa J. & Casanova. 2006. Combined analysis of *Cymbopogon giganteus* Chiov. Leaf oil from Ivory Coast by GC/RI, GC/MS and 13-NMR. *Compte rendu de Chimie*. 99 : 164-168.

Boukhobza F., Goetz P.,(2014). Phytothérapie en odontologie. 2ème édition, initiatives santé.

Briskier , Poyart.1999 : Agents antibactériens et antifongique.Paris. Ellipses. Chapitre II. Dans l'évolution et utilisation 200.p 1-6

Burt S., 2004. Essential oils:their antibacterial properties and potential applications in foods a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94: 223-253.

Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *International Journal of Food Microbiology* 94, 223-253.

Bustta c., Vidal R.S, Poplolski A.S ,Mossi A.J, Dariva C., Rodriguez M.R.A, Corazza M.L, Vladimir O.J et Cansian R.I., 2008. Application of *origanum majorana* L.essential oil as an antimicrobial agent in sousage. *Food Microbiology*, 25,207-211.

Butaye P, van Duijkeren E, Prescott J. F, et Schwarz S.2014 .Antimicrobialresistance in bacteria from animals and the environment. *Veterinary microbiology*, P 269-272.

Carole L, Vignola.2002. science et technologie du lait, transformation du lait, Canada, P 600.

Carson CF, Mee BJ, Riley TV (2002) Mechanism of action of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil on Staphylococcus aureus determined par time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. Antimicrob. Agents Chemother. 46: 1914-1920.

CEAEQ. (2000).Recherche et dénombrement des coliformes fécaux; méthode par filtration sur membrane. Centre d'expertise en analyse environnementale, Gouvernement du Québec, 24 p.

Chalal celina et salmi ouafae, 2018 . etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de citrus sinensis et mentha piperitaL en combinaison avec les antibiotiques p59.

Charles, D. J. (2013). Saffron. In antioxidant properties of spices, herbs and other sources. Springer Science & Business Media.

Cimanga, K., Kambu, K., Tona, L., Apers, S., De Bruyne, T., Hermans, N., Totte, J., Pieters, L., Vlietinck, A.J. (2002). Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. Journal of Ethnopharmacology 79, 213-220.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Institute antimicrobial susceptibility testing standards. 30(1).

Codex Alimentarius. (1999). Norme générale pour l'utilisation de termes de laiterie CODEX STAN 206- 1999. pp: 1-4.

Cohen Y.,Jacquot C.2008. Pharmacologie.Masson.459-465

Conner D.E. 1993. Naturally occurring compounds. IN: Antimicrobials in food. DAVIDSON P, BRANEN AL, MARCEL DEKKER publishing company New York.

Cosentino, S., & Tuberoso, C. I. G. (1999). In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. Letters in Applied Microbiology, 29(2), 130-135.

Cox, S. D., Mann, C. M., & Markham, J. L. (2000). The mode of antimicrobial action of the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil). Journal of Applied Microbiology, 88, 170–175.

Dedet J.P., (2007). La Microbiologie, de ses origines aux maladies émergentes Dunod, Paris, p : 205

Delaquis P.J., Stanich K., Girard B. & Mazza G. 2002. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. International Journal of Food Microbiology, 74:101-109.

Demoré B, Grare M, Duval R.2012. Pharmacie clinique et thérapeutique 4ème édition. Chapitre 40, Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. Elsevier Masson.

Denooz R., (2010). Intérêt clinique et économique du suivi thérapeutique pharmacologique pour des médicaments habituellement non contrôlés, thèse doctorat en Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques, Université de Liège, Faculté de Médecine. P : 24.

Derwich, E., Benziane, Z., & Boukir, A. (2009). « Chemical composition and antibacterial activity of leaves essential oil of *Laurus nobilis* from Morocco. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 3(4), 3818-3824».

Derwich, E.,Benziane, Z., Chabir, R.,Taouil, R.(2011). In vitro antibacterial activity and GC/MS analysis of the essential oil extract of leaves of *Rosmarinus officinalis* grown in Morocco. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences 3, 89-95.

Didry N., Dubreuil L. et al. Activité antibactérienne du thymol, du carvacrol et de l'aldehyde cinnamique seuls ou associés. Pharmacize 1993; 48: 301-4.

Didry, N., & Dubreuil, L. (1993). Activité antibactérienne du thymol, du carvacrol et de l'aldehyde cinnamique seuls ou associés. Pharmacize, 48(H4), 301-304.

Djeddi, S., Bouchenah, N., Settar, I., & Skaltsa, H. D. (2007). «Composition and antimicrobial activity of essential oil of *Rosmarinus officinalis* From Algeria. Chemistry of Natural Compounds, 43 ».

Djilani A et Dicko A. (2012). The Therapeutic Benefits of Essential Oils. Nutrition, Well Being and Health, Dr. Jaouad Bouayed (Ed.), ISBN: 978-953-51-0125-3, In Tech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/nutrition-well-being-and-health/the-therapeutic-benefits-of-essential-oils>.

Domans, H., & Deans, S. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.

Dorman H. J. D, et Deans S. G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J Appl Microbiol.* 2000;88(2):308-16.

Dorman, H.J.D., et Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiol.*88 (2), 308–316.

Durel L. (2004).La dépêche technique Mammmites des bovins (clinique et subcliniques) : démarches diagnostic et thérapeutiques Supplément n°87 à la dépêche vétérinaire du 20 décembre 2003 au 2 janvier 2004.39 pages.

Edberg SC., EW Rice., RJ Karlin et MJ Allen. (2000). Escherichia coli : the best biological drinking water indicator for public health protection. *Journal of Applied Microbiology*, 88 : 106S-116S

Elmund GK., MJ Allen et EW Rice. (1999).Comparison of Escherichia coli, total coliform and fecal coliform populations as indicators of wastewater treatment efficiency. *Water Environ. Res.*, 71 : 332-339.

ELouali.lalmi et al., 2013. activité composition chimique et activité antibactérienne de huiles essentielles de deux plants aromatiques du centre nord marocain : *Thymus V. ThymusS. Vole 8 N°31.*

Epelboin L., Macey J, 200 -Maladies infectieuses et transmissibles en France ,467p.

Eryquem A., Alouf J., Montagnier L.2000. Traité de microbiologie clinique. PICCIN.

Essalhi M. (2002). Relations entre les systems de production bovines et les Caractéristiques du Lait. Memoire D'ingénieur. Université institut Agronomiques et vétérinaire Hassan II. Rabat. P104.

Essawi, T.,Srour, M.(2000). Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 70, 343-349.

Fadil.A.Farah.T.H.S.R (2014). « Ethnobotanical Survey of plants operated by cooperatives and associations of the Meknes-Tafilate aera in Morocco. *Phytothérapie* ».

FAO, 2010 : Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine- Lait de consommation <http://www.horizon.documentation.ird.fr>

Ficher L.(2003).contrôler les mammites à *Staphylococcus aureus* Le point vétérinaire.33(228) :50-54.

Fine D.H., Furgang D., Barnet M.L., (2001). Comparative antimicrobial activities of antiseptic mouthrinses against isogenic planktonic and biofilm forms of *actinobacillus actinomycetemcomitans*. J Clin Periodontol; 28: 697-700.

Fine DH., Furgang D., Barnet ML. Comparative antimicrobial activities of antiseptic mouthrinses against isogenic planktonic and biofilm forms of *actinobacillus actinomycetemcomitans*. J Clin Periodontol. 2001; 28: 697-700.

Fredot E., (2006). Connaissance des aliments-Bases alimentaires et nutritionnelles de la diététique, Tec et doc, Lavoisier: 25 (397 pages).

Gachkar L., Yadegari D., Bagher Rezaei M. al. Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chemistry, 2007 ; 102 ; 898-904.

Gachkar, L., Yadegari, D., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2007). Chemical and biological characteristics of *Cuminum cyminum* and *Rosmarinus officinalis* essential oils. Food Chemistry, 102(3), 898-904.

Goetz P et Ghedira K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. Edition : Springer-Verlag France, Paris. Pp 4-194

Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). « Phytothérapie anti-infectieuse. Paris : Springer-Verlag France ».

Golan D.E., Tashjian A.H., and Armstrong A.W.2007. Principles of Pharmacology edition;2 Lippincott Williams et Wilkins.P: 576

Gonny M., Bradesi P. & Casanova J., 2004.Identification of the components of the essential oil from Corsican *Daucus carota* L. using ¹³C-NMR spectroscopy. Flavour and Fragrance Journal. 19: 424-433.

Goudjil M.B, Ladjel S., Bencheikh S.E., Zighmi S et Hamada DJ, 2015.Composition chimique, activités antibactériennes et antioxydantes de l'huile essentielle extraite de la *Mentha piperita* du sud algérien. *Research Journal of Phytochemistry*,9:79-87.

Griffith A J.F., Miller J.H., Suzuki D.T., Lewontion R.C.,Gelbert W.M.2002. Introduction à l'analyse génétique 3^{ème} Edition.Boeck université.

Gueffier A.2005. Antibiotiques pharmacologie et thérapeutique. Collection pharma Elsevier. P 269

Guerin-Fauble V.,Carret G.1999. l'antibiogramme ; principe, méthodologie, intérêt et limites. Journées Nationales GTV-INRA.

Guillemot D, Leclercq. R. Impact de l'exposition des populations sur le risque de résistance bactérienne. *Med Mal Infect* 2005; 35 (3): 212-220

Guinoiseau, E. (2010). Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : Séparation, identification et mode d'action. Thèse de Doctorat, Université de Corse-Pasquale Paoli. 143 P.

GUIRAUD J. et Galzy P. (1980). L'analyse microbiologique dans les industries alimentaires. Edition l'usine. 119p

GUIRAUD J.P. (1998) : Microbiologie alimentaire. Edition dunod, paris, p. 137.

GUIRAUD J.P. (2003).Microbiologie Alimentaire. Edition DUNOD. Paris. Pp : 136-139.

Haberkorn V ; LardryJ.M. (2007).L'aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesther Rev.*61: 14-17.

Hamideh, J., Hesamzadeh Hejazi, S. M., & Babayev, M. S. (2009). « Karyotypic Studies of three *Thymus* (Lamiaceae) species and populations in Iran. 62(4), 316-325 ».

Harry M.2000 . Génétique moléculaire et évolution .Malaine.p 14-5

HERMIER J., LENOIR J., WEBER F. (1992).Les groupes microbiens d'intérêt laitier.Edition CEPIU, paris, pp. 62-88.

Hossaim M.A., Satmi R.S.F., 2016. In vitro antimicrobial potential of crude extract and chemical composition of essential oils of leaves of *Mentha piperita* L native to the Sultanate of Oman. *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*,2(18): 103-106.

Hulin V., Mathot A.G., Mafart P. & Dufossé L., 1998.- Les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles et composés d'arômes. *Sciences des aliments*, 18: 563-582.

Inouye S., S. Abe, repot, 2003.Comparative study of antimicrobial and cytotoxic effects of selected essential oils by gaseous and solution contacts *International Journal of Aromatherapy* ,vol 13p 33-41.

J. KHRIBCH et al., 2017 .activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'*Escherichia coli* d'origine aviaire. 6 (3): 300-307.

Jacques G. et Paltz S.A., (1997). Le fascinant pouvoir des huiles essentielles. In : Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Fascicule du laboratoire "Jacques Paltz".

Jakob E., Winkler H. et Haldemann J. (2009).Critères Microbiologiques Pour La Fabrication Du Fromage. Edition, Agroscope Liebfeld-Posieux. Groupe de discussions N° 77.F. pp : 5-31

Jakob E., Winkler H., Schaeren W., Amrein R. et Geinoz M. (2011). La qualité du lait cru un défi permanent. Edition Agroscope Liebfeld-Posieux forum n°78 f.pp :5- 17.

Jamali H, Paydar M, Radmehr B, Ismail S etDadrasnia A. 2015 .Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Food Control*, 54 383-388.

Jeanet R., Croguennec T., Mahaut M., Schuck P. et Brule G, 2008 : Les produits laitiers ,2 èmeédition, Tec et Doc, Lavoisier : 1-3-13-14-17 (185 pages)

Kalemba D et Kunicka A., 2003. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Current medicinal chemistry*,10, 813-829.

Kalemba D. et Kunicka A., (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. In : Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles: séparation, identification et mode d'action *Cur ; Med. Chem.* 10: 813-829.

Kaloustian. J; Hadji-Minaglou .F. (2012).La connaissance des huiles essentielles :qualitologie et aromathérapie.Entre science et tradition pour une application médicale raisonnée. Phytothérapie pratique. 4eme Edition. Paris. pp. 2. ISBN : 978-2-8178-0308-1.

Kim Soon, Chan Park, Myung-Hee Ohh, Hyung-Chan Cho, Young-Joon Ahn,1995. Contact and fumigant activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Lasioderma serricornis* (Coleoptera: Anobiidae) *Journal of Stored Products Research*, Vol9, P11-19.

Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C., & Candan, F. (2007). « Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100, 526-534 ».

L. SIDALI et al., 2014 .Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Nord d'Algérie. Vol. 8 N° 3, P158.

Lahlou M., 2004.- Methods to study phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research*. 18 : 435-448.

Lahlou, M. (2004). Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour and Fragrance Journal*, 19(2), 159-165.

Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P. & Nychas G.J.E., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Appl. Microbiol.*, 91, 453-462.

Larab L. 2014 . contribution à l'étude de la qualité physico-chimique et microbiologie du lait cru réceptionné à la laiterie DANONE Djurdjura Algérie P 05

Larpent JP. (1997).Microbiologie alimentaire : technique de laboratoire. Paris. Ed : Tec et Doc : Lavoisier,.PP 26-804.ISBN : 2-85206-450-2.

Lavigne J.P., (2007). Effet des antibiotiques et mécanismes de résistances. Faculté de Médecine Montpellier – Nîmes.

Lawrence BM. 2000. Essential oils: from agriculture to chemistry. *Int J Aromather* 10: 82–98.

Lazorthes G.(2001) : Science humaines et sociales. Elsevier Masson.Edition 6. P 370-371

Lemire G. (2007).Évaluation de la qualité du lait et de la santé du troupeau laitière en régie biologique. Edition l'envol lait biologique. Québec. 9p

Levesque P. (2004).La traite des vaches laitières Etape par étape vers la qualité Guide pratique. Edition Educagri. Québec.

Leyou B, Bougu A.2014 . évaluation de la qualité de lait de vache à partir de la qualité physico-chimique de l'eau d'abreuvement P 02.

Loomis, D., and R. Croteau. 1980. Biochemistry of Terpenoids: A Comprehensive Treatise. In: P. K. Stumpf and E. E. Conn (eds.) The Biochemistry of Plants. Lipids: Structure and Function No. 4. p 364-410. Academic Press, San Francisco.

May J, Chan CH, King A, Williams L, French GL (2000) Time-kill studies of tea tree oils on clinical isolates. J. Antimicrob. Chemother. 45: 639-643.

Mazari K, Bendimerad N, Bekhechi C et Fernandez X. (2010). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. Journal of Medicinal Plants Research. 4(10), 959-964, 18.

Michel V, Hauwuy A, Chamba J F. (2001). Raw cow milk microflora: diversity and influence of conditions of production. Lait. 81: 575-592.

Mimica-Dukic N, Bozin B, Et al.Antimicrobial and antioxidant activities of three *Mentha* species essential oils.Planta Med. 2003;69(5):413-9.

Mohamed Nadjib Boukhatem et al., 2014 .Valorisation de l'essence aromatique du Thym (*Thymus vulgaris* L.) en aromathérapie anti-infectieuse. Vol,8 P 2028-2934.

Monod, T. (1978). « Les rosas de sancta marya de gil eanes (1434). Coimbra , XXVI».

Moreira M.R., Ponce A.G., Del valle C.E. et Roura S.I., 2005.Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. Food Science and Technology, 38, 565-570

Nadia FEKIH. Propriétés chimique et biologiques des huiles essentielles de trois espèce du genre pinus poussant en Algérie. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEN.2014. P7

Nauciel C, Vildé JL. 2008 . Bactériologie médicale. 2 éme éditions. Editions Masson. P 257.

Nauciel Cet vilde J.L.2005 .bactériologie médicale Masson 2éme édition.P257.

Okoh, O. O., Sadimenko, A. P., & Afolayan, A. J. (2010). « Comparative evaluation of the antibacterial activities of the essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. obtained by hydrodistillation and solvent free microwave extraction methods. *Journal homepage*, 120, 308-312 ».

OMS (1994) Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 1 recommandations. Organisation mondiale de la Santé, 2e édition, 202 p.

OMS. (2000). Directives de qualité pour l'eau de boisson; volume 2 – critères d'hygiène et documentation à l'appui. Organisation mondiale de la Santé, 2e édition, 1050 p. Accessible à : www.who.int/water_sanitation_health/GDWQ/Summary_tables/

Oussou K.R., 2009. –Etude chimique et activité biologiques des huiles essentielles de sept plantes aromatiques de la pharmacopée Ivoirienne. Doctorat de l'Université de Cocody-Abidjan, 241p.

P 34-78 -79

Patrick Theillère, 1999. 2ème Symposium international d'aromathérapie scientifique. Finalités thérapeutiques des végétaux aromatiques. Office de tourisme, d'animation et de promotion ; palais des congrès – cours Honoé Cresp – 06130 GRASSE. Page 80.

Pebret F. Maladies infectieuses: toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales, (2003). Edition : heures de France. Paris : 95- 96 p

Pebret François. 2003 . Anatomie, physiologie . pharmacologie générale 6e éd. rev. Et augm.

Pharmacopée européenne. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Agence Française de Sécurité Sanitaire des produits de santé (Afssaps) Mai 2008.

Pibiri, M. C. (2006). Assainissement Microbiologique de l'Air et des Systèmes de Ventilation au Moyen d'Huiles Essentielles, Thèse pour l'obtention du grade de docteur ès sciences. Lausanne, Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL).

Ploy, M. C., T. Lambert, J. P. Couty , and F. Denis. 2000. Integrons: an antibiotic resistance gene capture and expression system. *Clin Chem Lab Med* 38, 483-7

Poole K., 2004. Efflux-mediated multi résistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology and Infection*. 10: 12-26.

Porte, A., & Godoy, R. L. (2008). « Chemical composition of *Thymus vulgaris* L. (Thyme) essential oil from the Rio de Janeiro state (Brazil). *Journal of the Serbian*, 73(3), 307-312 »

Poyart, C., Jardy, L.; Quesne, G., Berche, P., Trieu -Cout, P. 2002 . Genetic basis of antibiotic resistance in *Streptococcus agalactiae* strains isolated in a French hospital. *Antimicrobial agents and chemotherapy*.47, 794-7

Prescott L. M.; Harley J. P.; Klein D. A.2003. *Microbiologie*. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition P 1164.

Reumont P, 2009 : Licencié Kinésithérapie, <http://www.medisport.be>.

Rhayour K.H., (2002). Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed ben Abdellah Faculté des sciences Dhar Mehraz-Fés

Rheotest M., (2010) Rhéomètre RHEOTEST® RN et viscosimètre à capillaire RHEOTEST® LK Produits alimentaires et aromatisants <http://www.rheoest.de/download/nahrungs.fr.pdf>.

Robertson, W (1995) Utilités et limites des indicateurs microbiologiques de la qualité de l'eau potable. Dans : *Air intérieur et Eau potable*, sous la direction de Pierre Lajoie et Patrick Levallois, Presses de l'Université Laval, p. 179-193.

Romano C.S., Abadi K., Repetto V. et al. Synergistic antioxidant and antibacterial activity of rosemary plus butylated derivatives. *Food Chemistry*, 2009 ; 115 ; 456-61.

Rosato A, Piarulli M, Corbo F, Muraglia M, Carone A, Vitali M E et Vitali C.(2010). In Vitro Synergistic Action of Certain Combinations of Gentamicin and Essential Oils. *Current Medicinal Chemistry*. 17, 3289-3295.

Ruiz-Navajas, Y., Viuda-Martos, M., Sendra, E., Perez-Alvarez, J.A., Fernández-López, J.(2012). Chemical characterization and antibacterial activity of *Thymus moroderi* and *Thymus piperella* essential oils, two *Thymus* endemic species from southeast of Spain. *Food Control* 27, 294-299.

Santé Canada. (1991) La qualité bactériologique. Document de support aux « recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada ». Accessible à : www.hcsc.gc.ca/ehp/dhm/dpc_eau_qualite/eauguide.htm

Schwarz S., Chaslus-Dancla E. 2001. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. *VetRes*, 32 (3-4), 201-225.

Schelz Z., Molnar J. et Hohmann J., 2006.Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils. *Fitoterapia*.,4(77): 279-285.

Seydina M. Diene AEMIP 2016 Mécanismes de résistance des bactéries aux agents antimicrobiens

Sidali, L., Brada , M ., Fauconnier , M-L ., Lognay, G. (2014). « Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* du Nord d'Algerie . *phytochem et Biosub journal*, 8(3) ».

SKOCIBUSIC M., Bezic, N.,Dunkic, V., (2006) : *Food Chem.*, (96),20-28.

Streit J.M., Jones RN., Toleman M.A., Stratchounski L.S. & Fritsche T.R. (2006) :Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns among gastroenteritis-causing pathogens recovered in Europe and Latin America and *Salmonella* isolates recovered from bloodstream infections in North America and Latin America: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program 2003. *International Journal of Antimicrobial Agent*, 27: 378-386.

ARCHIBALD F. (2000) : The presence of coliform bacteria in Canadian pulp and paper mill water systems - a cause for concern? *Water Quality Research Journal of Canada*, 35:1-22.

Takarada K., Kimizuka R., Takahashi N. et al. A comparison of the antibacterial efficacies of essential oils against oral pathogens. *Oral Microbiology and Immunology*, 2004 ; 19 ; 61-4.

Tchoumboungang, F., Dongmo, P. M. J., Sameza, M. L., Mbanjo, E. G. N., Fotso, G. B. T., Zollo, P. H. A., & Menut, C. (2009). « Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun/Larvicidal activity against *Anopheles gambiae* Giles and chemical composition of essential oils from four plants cultivated in Cameroon. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 13(1), 77».

Tenore, G.C., Ciampaglia, R., Apostolides Arnold, N., Piozzi, F.,Napolitano, F., Rigano, D.,Senatore, F. (2011). Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oil of *Salvia lanigera* from Cyprus. *Food and Chemical Toxicology* 49, 238-243.

Thieulin G. et Vuillaume R., (1967). Eléments pratiques d'analyse et d'inspection du lait de produits laitiers et des oeufs-revue générale des questions laitières 48 avenue, Président Wilson, Paris : 71-73(388 pages).

Tomi F., Bradesi P., Bighelli A. & Casanova J., 1995. Computer-aided identification of individual components of essential oils using Carbon-13 NMR spectroscopy. *J. Magn. Reson. Anal.* 1: 25-34

Ultee A, Bennik MH, Moezelaar R (2002) The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1561-1568.

Valnet M., (2005). Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth *International Journal of Food Microbiology*.85, 73-81.

Van Kessel J.S., Karns J.S., Gorski L., McCluskey B.J. & Perdue M.L. (2004). Prevalence of *Salmonellae*, *Listeria monocytogenes*, and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies. *Journal of Dairy Sciences*, 87:2822-2830.

Vierling E., (2003). Aliment et boisson-Filière et produit, 2ème édition, doin éditeurs, centre régional de la documentation pédagogique d'Aquitaine:11(270 pages).

VIGNOLA C. (2002). Science et Technologie du Lait Transformation du Lait. Edition Presses Internationales Polytechnique, Canada. pp. 3-75.

Waller K. P, Aspan A, Nyman A, Persson Y et Andersson U. G. 2011. CNS species and antimicrobial resistance in clinical and subclinical bovine mastitis. *Veterinary microbiology*, 152(1)-112-116.

Wallmann, J., Schröter, K., Wieler, L.H., & Kroker, R. 2003 . National antibiotic resistance monitoring in veterinary pathogens from sick food-producing animals. the German programme and results from the 2001 pilot study, *International journal of antimicrobial agents*, 22(4)- 420-428.

Wang D, Wang Z, Yan Z, Wu J, Ali T, Li J, Lv Y et Han B. 2015. Bovine mastitis is *Staphylococcus aureus*., Antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-sensitive strains in China. *Infection, Genetics and Evolution*, 31- 9-16.

WEBER F. (1985).Réfrigération du lait à la ferme et organisation des transports. Collection FAO Alimentation et nutrition n°47.

Yadegarinia, D., Gachkar, L., Rezaei, M. B., Taghizadeh, M., Astaneh, S. A., & Rasooli, I. (2006). Biochemical activities of Iranian *Mentha piperita* L. and *Myrtus communis* L. essential oils. *Phytochemistry*, 67(12), 1249-1255.

Yala D., Merad A.S., Mohamedi D et Ouar Korich M.N. 2001. Classification et mode d'action des antibiotiques. *Médecine du Maghreb* n°91

Yesil Celiktas O., Hames Kocabas E.E., Bedir E. et al. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chemistry*, 2007 ; 100 ; 553-9

Zaika, L. L. (1988). Spices and herbs: their antimicrobial activity and its determination1. *Journal of Food Safety*,9(2), 97-118.

ANNEXES

Annexe 1

Composition des milieux de cultures utilisés

Tableau 1: Gélose nutritif (Marque : Conda, Pays : Espagne)

| Composition | Quantité (g/l) |
|--------------------|----------------|
| Extrait de viande | 3 |
| Peptone de bœuf | 5 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Agar | 15 |
| pH | 7,2 |

Tableau 2: Gélose Chapman (Marque : Liofichem, Pays : Italie)

| Composition | Quantité (g/l) |
|--------------------|----------------|
| Extrait de viande | 1 |
| Chlorure de sodium | 75 |
| Peptone | 10 |
| Agar | 15 |
| D Mannitol | 10 |
| Rouge de phénol | 0.025 |

| | |
|----|-----|
| pH | 7,4 |
|----|-----|

Tableau 3: Gélose Muller Hinton

| Composition | Quantité (g/l)(m/l) |
|----------------------------|----------------------------|
| Peptone de caséine | 17.5 |
| Amidon de maïs | 1.5 |
| Agar | 10 |
| Infusion de viande de bœuf | 300 |
| pH | 7,4 |

Tableau 4: gélose de Héктоène

| Composition | Quantité (g/l)(m/l) |
|----------------------------|----------------------------|
| Peptone peptique de viande | 15 |
| Extrait de viande | 3 |
| Extrait de levure | 3 |
| Lactose | 12 |
| Salicine | 2 |
| Saccharose | 12 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Thiosulfate de sodium . | 5 |
| Citrate de fer ammoniacal | 1.5 |
| Sels biliaires | 4 |

| | |
|-----------------------|--------------|
| Bleu de bromothymol . | 0.064 |
| Fushine acide | 0.1 |
| pH | 7 |

Tableau 5: gélose de VRBL(milieu lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre)

| Composition | Quantité (g/l)(m/l) |
|----------------------|----------------------------|
| Peptone | 7 |
| extrait de levure | 3 |
| Lactose | 10 |
| chlorure de sodium | 5 |
| mélange sel biliaire | 1.5 |
| cristal violet | 0.002 |
| rouge neutre | 0.03 |
| agar-agar | 15 |
| eau distillée | 1000 |
| pH | 7,4 ±0,2 |

Tableau 6: gélose de BEA(Bile-Esculine-Azide)

| Composition | Quantité (g/l)(m/l) |
|-------------------------------|----------------------------|
| Tryptone | 17 |
| Peptone pepsique de viande | 3 |
| Extrait autolytique de levure | 5 |
| Bile de bœuf bactériologique | 10 |
| Chlorure de sodium | 5 |
| Esculine | 1 |
| Citrate ferrique ammoniacal | 0.5 |
| Azide de sodium | 0.15 |
| Agar agar bactériologique | 13 |

Tableau 7: Gélose au sang frais

| Composition | Quantité (g/l)(m/l) |
|-------------------------|----------------------------|
| Gélose de base columbia | 180ml |
| Mélange de peptones | 20 |
| D-glucose | 0.5 |
| Amidon | 1 |
| Chlorure du sodium | 5 |
| Agar | 12.5 |
| pH final | 7.3 ± 0,2 |
| Sang | 10 |

Annexe 02

1- dénombrement et recherche de *staphylococcus aureus* :

Les bactéries halotolérantes se développent sur le milieu hypersalé de Chapman

Mannitol Salt Agar . Ce milieu est retenu dans cette étude car il permet d'obtenir une croissance satisfaisante de la flore GRAM positif .

L'ensemencement se fait en surface par étalement de 0.1 ml d'inoculum. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 48 heures.

2-La recherche et le dénombrement des streptocoques SP.

La recherche et le dénombrement des streptocoques sp Dans le lait en milieu solide s consécutives .

Pour chaque prélèvement, un ensemencement systématique a été effectué: sur le Milieu gélose de sang frais pour l'isolement de bactéries à Gram positif tels que les streptocoques , avec la mise en évidence de gdivers types d'hémolyse.

En a préparés suspension bactérienne et étaler sur le millieux avec des stries et incubé pendant 48 h a 37 °C

3-Recherche et dénombrement des coliformes fécaux à 44°C

Les coliformes fécaux sont des entérobactéries qui possèdent la capacité de se multiplier à 44°C ainsi que la propriété de fermenter le lactose en présence de sels biliaires. La présence des coliformes fécaux dans le lait cru est un indice de contamination fécale

1ère étape: l'inoculation (test présomptif). L'ensemencement se fait en profondeur. Après identification des boîtes, déposer stérilement 1 ml homogénéisé.

2- Couler le gélose VRBL

3 -L'ensemencement se fait en surface par étalement d'inoculum. L'incubation A l'étuve à 44.5°C pendant , 72 h

4- Recherche et dénombrement d'Escherichia coli

La gélose Hektoen est un milieu sélectif pour l'isolement et la différenciation des bacilles Gram (-). La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de sels biliaires, de bleu de bromothymol et de fuchsine acide.

L'ensemencement se fait en surface par étalement de 0.1 ml d'inoculum. L'incubation est réalisée à 37°C pendant 48 heures.

5- Recherche et dénombrement entérocoque fécalis

La Gélose Bile Esculine Azide est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des entérocoques et des streptocoques. La sélection des entérocoques se fait grâce à la composition de ce milieu, en premier la bile inhibe la croissance des bactéries autres qu'intestinales, l'azide de sodium inhibe la croissance des bactéries à Gram négatif en plus de l'Esculine qui est un polyside complexe que les streptocoques fécaux et les entérocoques hydrolysent en libérant de l'aglycone, qui est décelée par une réaction chimique en présence de sels de fer, et donne une coloration noire après ensemencement et incubation à 37°C pendant 24 à 48h. Après homogénéisation, les échantillons ont été ensemencés en stries sur la gélose BEA; puis incubés à 37°C pendant 48h;

ANNEX 03

Vérification de la pureté des souches

Avant toute utilisation d'une souche, une vérification de sa pureté est indispensable. La pureté des souches est vérifiée en réalisant les tests suivants :

Tableau 8 : Différents tests d'identification effectués

| Test | Procédure |
|--------------------------|---|
| Test de RM | <ul style="list-style-type: none"> -On utilise bouillon Clark et Lubs. -On prend à l'aide de pipette pasteur stérile quelques colonies et mélangé dans le bouillon. -Ajouter 3 gouttes de rouge de méthyle, la lecture est immédiate. -Un résultat positif se manifeste par le changement de couleur du milieu vers le rouge. |
| Test de coagulase | Dans un tube sec, ajouter 500ml de plasma homme après on prend avec une pipette Pasteur qui contient des colonies et mélangé dans le plasma d'homme. |
| Test de catalase | Pour réaliser ce test nous avons sélectionné les colonies et mise contact avec une goutte d'eau oxygénée sur une lame propre |

| | |
|----------------|--|
| oxydase | <p>Ce test consiste à mettre un disque oxydase sur une lame, sur lequel une colonie bactérienne sera déposée. Le disque est ensuite imbibé d'une gouttelette d'eau stérile.</p> <p>Le résultat positif se traduit par un changement de la couleur du disque et la formation d'une couleur violacée</p> |
|----------------|--|

III-4-1-Etude microscopique

L'étude microscopique des souches isolées est réalisée après une coloration de Gram, afin de déterminer leur morphologie et leur type de Gram,

Examen à l'état frais

Permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie, de leur mode de regroupement, et de leur mobilité .

- Déposer aseptiquement sur une lame porte objet propre une goutte d'eau physiologique.

- Prélever à l'aide d'une anse de platine stérile une colonie à partir du milieu gélosé, la dissocier dans la goutte d'eau, puis recouvrir d'une lamelle en évitant la formation des bulles d'air.

- Observer à l'objectif x 10 puis x 40

Coloration de gram

Un frottis fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au violet de Gentiane ; il est ensuite traité pendant une minute par une solution de Lugol. Puis le rincé immédiatement à l'eau courante. Le frottis est soumis à une coloration de 30 secondes à la fuchine, puis un bref rinçage. Le frottis est séché avec le papier absorbant et examiné à l'objectif à l'immersion (grossissement X 1000).

Résumé :

L'utilisation accrue et inappropriée des antibiotiques a fait apparaître un problème de santé publique majeure qui est la résistance bactérienne aux antibiotiques par ingestion de lait cru. L'objectif principal est la recherche de nouvelles alternatives naturelles de traitement aux infections.

Notre étude est d'évaluer les propriétés antibactériennes des huiles essentielles de *mentha (piperita)*, *romarinus (a cineole)*, *thymus (vulgaris)*, ainsi que le mélange de ces huiles, sur des souches d'*Escherichia coli*, *stréptococcus sp*, *staphylococcus Aureus*, *coliformes fécaux et entérocoques fécaux* qui deviennent de plus en plus résistants et posent des problèmes de traitement et d'antibiorésistance, ces derniers proviennent de lait cru de vache présentant des mammites sub cliniques.

Dans cette recherche les propriétés ont été évaluées en utilisant des techniques usuelles de diffusion sur gélose et de macro-dilution pour la détermination de zone inhibitrice. Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence une puissante activité anti-bactérienne des quatre produits testés en comparaison avec 16 antibiotiques utilisés, en donnant de grands diamètres d'inhibition qui sont respectivement pour la *menthe (poivrée)* de 14-45, le *romarin (à cineole)* de 10 à 26, l'huile *thym (thymol)* 24 à 49 mm et le mélange des huiles de 21 à 47 mm. Ces résultats permettent de conclure que l'utilisation du mélange (synergie des 3 huiles), pourrait être une alternative efficace pour pallier aux traitements naturels aux infections et éviter de ce fait les résistances bactériennes qui sont sans cesse en évolution. Cependant, il serait intéressant de concrétiser ces résultats in vivo afin d'évaluer l'efficacité de ces huiles et de leurs principes actifs sur l'animal.

Mots-clés: lait cru Huiles essentielles, antibiotiques,. Résistances bactériennes, traitement naturel

Abstract

The increased and inappropriate use of antibiotics has resulted in a major public health issue that is bacterial resistance to antibiotics through the ingestion of raw milk. The main objective is the search for new natural alternatives to treatment of infections.

Our study is to evaluate the anti-bacterial properties of essential oils of *mentha piperita*), *rosmarinus officinalis*, *thym vulgaire*, as well as the mixture of these oils, on strains of *Escherichia coli* ,*stréptococcus sp*, *staphylococcus Aureus* , *faecal coliforms* and *faecal enterococcus*, which are becoming increasingly resistant and pose treatment and antibiotic resistance problems, these come from raw milk from cows with sub-clinical mastitis.

In this research the properties were evaluated using usual agar diffusion and macro-dilution techniques for the determination of inhibitory zone. The results obtained showed a strong anti-bacterial activity of the four products tested in comparison with 18 antibiotics used, giving large inhibition diameters which are respectively for *mentha piperita* 14 to 45 mm , *rosmarinus officinalis* 10 to 26, *thym vulgaire* 24 to 49 mm and oil mixture 21 to 47 mm,. These results lead to the conclusion that the use of the mixture (synergy of the 3 oils), could be an effective alternative to natural treatments to infections and thus avoid bacterial resistance that are constantly evolving. However, it would be interesting to concretize these results in vivo in order to evaluate the effectiveness of these oils and their active ingredients on animals

Keywords: raw milk ,Essential oils, antibiotics,. Bacterial resistance, natural treatment

ملخص

أسفر الاستخدام المتزايد وغير الملائم للمضادات الحيوية عن قضية رئيسية تتعلق بالصحة العامة تتمثل في المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية عن طريق ابتلاع الحليب الخام. والهدف الرئيسي هو البحث عن بدائل طبيعية جديدة لعلاج العدوى .

دراستنا هي تقييم الخصائص المضادة لألجسام لزويوت الأساسية (النعناع الفلفلي ، نيم تيمول ، اكليل الجبل فضال عن خلط هذه الزيوت على سالات *Escherichia coli* , *streptococcus sp* , *staphylococcus Aureus* , *faecal coliforms* and *faecal enterococcus*

التي تزداد مقاومتها وتشكل مشاكل في العلاج و مقاومة المضادات الحيوية وهذه تأتي من الحليب الخام

وفي هذا البحث ، تم تقييم الخصائص باستخدام تقنيات النشر المعتاد لأعشاب والتخفيف الكلي لتحديد المنطقة المثبطة. وأظهرت النتائج التي تم الحصول عليها نشاطاً قوياً مضاداً للبكتيريا للمنتجات الأربعة التي تم اختبارها مقارنة بـ 16 مضاداً حيوياً تم

استخدامها ، الأمر الذي أعطى قطراً ضخماً مبيحاً من (النعناع الفلفلي) من 14 إلى 45 مم ، وزيت اكليل الجبل من 10 إلى 26 ، من 24 إلى 49 مم ، وخليط الزيوت من 24 إلى 35 مم. تؤدي هذه النتائج إلى استنتاج مفاده أن استخدام الخلط (تأزر الزيوت 3) قد يكون بديلاً فعالاً للعلاج الطبيعي من العدوى وبالتالي تجنب المقاومة البكتيرية

التي تتطور باستمرار. ومع ذلك ، سيكون من المهم تجسيد هذه النتائج من أجل تقييم فعالية هذه الزيوت ومكوناتها النشطة على الحيوانات .

الكلمات الرئيسية: الحليب الخام: الزيوت الأساسية ، المضادات الحيوية ، المقاومة البكتيرية ، العلاج الطبيعي