



**Centre d'Etudes Doctorales : Sciences et Techniques de l'Ingénieur**

N° d'ordre 53/2020

## THESE DE DOCTORAT

Présentée par

**Mme : ASMAE CHAHBI**

Discipline : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologies

**Sujet de la thèse** : Etude des propriétés biologiques et thérapeutiques des huiles essentielles de trois plantes aromatiques (*Thymus vulgaris*, *Cinnamomum cassia* et *Origanum compactum*) : Applications pratiques en aviculture.

**Formation Doctorale** : Sciences et Génie de la matière, de la Terre et de la Vie.

**Thèse présentée et soutenue le lundi 26 octobre 2020 à 15h au Centre des Conférences devant le jury composé de :**

Nom Prénom	Titre	Etablissement	
EL AMRI Hamid	PES	Institut des Analyses Génétiques de la Gendarmerie Royale de Rabat	Président
SOULAYMANI Abdelmajid	PES	Faculté des Sciences de Kénitra	Rapporteur
ISMAILI ALAOUI My Mustapha	PES	Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II Rabat	Rapporteur
FARAH Abdellah	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Rapporteur
IHSSANE Bouchaïb	PH	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Examineur
NASSIK Saâdia	PH	Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II Rabat	Examinatrice
EL HADRAMI El Mestafa	PES	Faculté des Sciences et Techniques de Fès	Directeur de thèse

EL MAADOUDI El Haj	Dr	Institut National de la Recherche Agronomique Rabat	Invité
--------------------	----	---	--------

Laboratoire d'accueil : Laboratoire de Chimie Organique Appliquée (LCOA)

Etablissement : Faculté des Sciences et Techniques de Fès

## Résumé

La présente étude vise à caractériser 98 exploitations des élevages avicoles traditionnels réparties sur 4 provinces (Skhirat-Temara, Sidi Slimane, Khemisset et Salé) de la région de Rabat-Salé-Kénitra à partir d'une enquête qui porte sur les caractéristiques des élevages avicoles. Elle vise également à évaluer les propriétés antibactériennes et antioxydantes des produits naturels selon une approche pharmacodynamique afin de les proposer comme alternatives aux produits de synthèse. Trois huiles essentielles extraites de (*Thymus vulgaris*, *Cinnamomum cassia* et *Origanum compactum*) ont fait l'objet d'une étude chimique et biologique. Tout d'abord, nous avons évalué la sensibilité des souches de *Salmonella* et d'*E. coli* aviaire aux principaux antibiotiques utilisés, puis nous avons procédé à l'analyse chromatographique de la composition des trois huiles essentielles, et à l'étude de l'activité antioxydante de ces huiles, enfin, nous avons procédé à l'évaluation in vitro et in vivo des activités antibactériennes de ces huiles essentielles (seules et en combinaison avec des antibiotiques) après une optimisation des facteurs influençant cette activité par la méthode des plans d'expériences.

L'analyse des données recueillies a montré que les femmes sont les principales responsables des élevages avicoles (80%) et qu'elles utilisent le revenu modeste de ce type d'exploitations pour répondre aux besoins urgents des foyers ; 94,90% des éleveurs enquêtés n'ont aucune formation technique en aviculture; l'expérience dans les élevages enquêtés varie entre 10 et 50 ans ( $p < 0,0001$ ); les maladies les plus répondues chez le poulet Beldi sont la coccidiose (22%) suivis par la peste aviaire (21%), et la Colibacillose (16%). La majorité des éleveurs pratiquent des traitements traditionnels (63%), alors que seuls 37 % des éleveurs avaient recours aux traitements vétérinaires ( $p < 0,001$ ).

Les résultats de l'analyse chimiques des huiles essentielles ont montré que le carvacrol (35,2%) suivi du  $\gamma$ -terpinène (20,1%) ont été les principaux constituants de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* tandis que le cinnamaldéhyde (69,1%) représente le composant majeur de l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia*, le o-Cymene (33,62 %) et le thymol (23,26 %) constituent les principaux composants de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*.

Le profil d'antibiorésistance des souches testées (*Salmonelles* et *E. coli*) a montré une résistance maximale de 100% des deux souches vis-à-vis L'Erythromycine, une résistance de 41,28 % des souches de *Salmonelle* et de 89% des souches d'*E. coli* vis-à-vis de l'Oxytétracycline et une résistance de 35 % des souches de *Salmonelle* et de 40,5% des souches d'*E. coli* vis-à-vis de l'Amoxicilline. Les produits actifs extraits des huiles essentielles étudiées ont montré une activité antibactérienne contre les souches de *Salmonelles* et d'*E. coli*. Les produits à base de *Cinnamomum cassia* se sont révélés plus actifs contre *E. coli* (diamètre moyen d'inhibition 32mm) que les deux souches de *Salmonella*, et, parmi ces dernières, *S.gallinarum* (diamètre moyen d'inhibition 27,65mm) est plus sensible que *S. enteritidis* (diamètre moyen d'inhibition 16,25mm). La meilleure activité synergique avec les antibiotiques a été obtenue avec l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia* et de son produit actif, le cinnamaldéhyde. La concentration minimale inhibitrice la plus faible a été obtenue avec le cinnamaldéhyde (0,031%) vis-à-vis de *E. coli*,

(0,05%) vis-à-vis *S. enteritidis* et de (0,04%) vis-à-vis de *S. gallinarum*.

L'évaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles a montré que celle du thym et de l'origan sont douées d'une forte activité antiradicalaire, avec une CI50 de 0,007 µl/ml et 0,008 µl/ml en comparaison avec celle de cannelle pour laquelle ce paramètre n'est que de 0,18 µl/ml.

L'optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles a démontré que pour améliorer l'activité antibactérienne de ces huiles essentielles, il faudrait travailler dans l'obscurité et avec l'huile de *Cinnamomum cassia* diluée dans DMSO, ainsi qu'il faudrait diminuer la température (10°C) et augmenter l'humidité (70%).

L'étude de l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur *Escherichia coli* in vivo a montré que les deux huiles essentielles (cannelle et origan) ont montré une activité antibactérienne très efficace sur cette bactérie.

**Mots clés : Elevage avicole traditionnel, enquête Poulet Beldi, huile essentielle, thym, origan, cannelle, antibiorésistance, activité antibactérienne, activité antioxydante, plans d'expériences.**

## **Abstract**

The present study aims to characterize 98 traditional poultry farms spread over 4 provinces (Skhirat-Temara, Sidi Slimane, Khemisset, Salé) in the region of Rabat-Salé-Kénitra based on a survey covering the characteristics of the farms. It also aims to evaluate the antibacterial and antioxidant properties of natural products using a pharmacodynamic approach in order to propose them as alternatives to synthetic products. Three essential oils (*Thymus vulgaris*, *Cinnamomum cassia* and *Origanum compactum*) were the subject of a chemical and biological study. Firstly, we evaluated the sensitivity of *Salmonella* and avian *E. coli* strains to the main antibiotics used, then we proceeded to the chromatographic analysis of the composition of the three essential oils (EOs), and to the study of the antioxidant activity of these oils. Finally, we proceeded to the *in vitro* and *in vivo* evaluation of the antibacterial activities of these EOs (alone and in combination with antibiotics) after optimisation of the factors influencing this activity by experiment plan method.

Analysis of the data collected showed that women are the main managers of poultry farms (80%) and that they use the modest income from this type of farming to meet the urgent needs of the households; 94.94%. 90% of the farmers surveyed have no technical training in poultry farming; experience in the farms surveyed varies between 10 and 50 years ( $p < 0.0001$ ); the most common diseases in Beldi chickens were coccidiosis (22%) and fowl plague (21%), followed by Colibacillosis (16%). The majority of farmers practiced traditional treatments (63%), while only 37% of farmers used veterinary treatments ( $p < 0.001$ ).

The results of chemical analysis of essential oils showed that carvacrol (35.2%) followed by  $\gamma$ -terpinene (20.1%) were the main constituents of the essential oil of *Origanum compactum* while cinnamaldehyde (69.1%) is the major component of the essential oil of *Cinnamomum cassia*, *o*-Cymene (33.62%) and thymol (23.26%) are the main components of the essential oil of *Thymus vulgaris*.

The antibiotic resistance profile of the strains tested (*Salmonella* and *E. coli*) showed a maximum resistance of 100% of both strains to Erythromycin, a resistance of 41.28% of *Salmonella* strains and 89% of *E. coli* strains to Oxytetracycline and a resistance of 35% of *Salmonella* strains and 40.5% of *E. coli* strains to Amoxicillin. The active products extracted from the essential oils studied showed antibacterial activity against *Salmonella* and *E. coli* strains. Products based on *Cinnamomum cassia* were found to be more active against *E. coli* (mean inhibition diameter 32 mm) than the two *Salmonella* strains, and among the latter, *S. gallinarum* (mean inhibition diameter 27.65 mm) is more sensitive than *S. enteritidis* (mean inhibition diameter 16.25 mm). The best synergistic activity with antibiotics was obtained with the essential oil of *Cinnamomum cassia* and its active product, cinnamaldehyde. The minimum inhibitory concentration was obtained with cinnamaldehyde (0.031%) against *E. coli*, (0.05%) against *S. enteritidis* and (0.04%) against *S. gallinarum*.

The evaluation of the antioxidant activity of essential oil has shown that thyme and oregano have a strong antiradical activity, with an IC<sub>50</sub> of 0.007 µl/ml and 0.008 µl/ml compared to cinnamon for which this parameter is only 0.18 µl/ml.

The optimization of the factors influencing the antibacterial activity of essential oils has shown that to improve the antibacterial activity of these essential oils, it would be necessary to work in the dark and with Cinnamomum cassia oil diluted in DMSO, as well as decreasing the temperature (10°C) and increasing the humidity (70%).

The study of the effect of essential oils of cinnamon and oregano on Escherichia coli in vivo showed that both essential oils (cinnamon and oregano) have shown a very effective antibacterial activity on this bacterium.

**Key words : Traditional poultry farming, Chicken Beldi survey, essential oil, thyme, oregano, cinnamon, antibiotic resistance, antibacterial activity, antioxidant activity, experimental plans.**

## ملخص

تهدف الدراسة الحالية إلى توصيف 98 مزرعة دواجن تقليدية موزعة على 4 محافظات (الصخيرات-تمارة، سيدي سليمان، الخميسات وسلا) من جهة الرباط - سلا - القنيطرة بناءً على مسح يركز على خصائص مزارع الدواجن. كما يهدف إلى تقييم الخصائص المضادة للبكتيريا ومضادات الأكسدة للمنتجات الطبيعية باستخدام نهج الديناميكيات الدوائية من أجل تقديمها كبديل للمنتجات الاصطناعية. ثلاث زيوت عطرية مستخلصة من (الزعر، القرفة والزعتر) خضعت لدراسة كيميائية وبيولوجية. أولاً، قمنا بتقييم حساسية السالمونيلا وإشريشيا كولي الطيور للمضادات الحيوية الرئيسية المستخدمة، ثم أجرينا التحليل الكروماتوغرافي لتكوين الزيوت الأساسية الثلاثة، ودراسة النشاط المضاد للأكسدة لهذه الزيوت، وأخيراً أجرينا التقييم في المختبر و في الجسم الحي للأنشطة المضادة للبكتيريا لهذه الزيوت الأساسية (بمفردها وبالاقتران مع المضادات الحيوية) بعد تحسين العوامل التي تؤثر على هذا النشاط من خلال طريقة تصميم التجارب.

أظهر تحليل البيانات التي تم جمعها أن النساء هن المسؤولات بالدرجة الأولى عن مزارع الدواجن (80%) وأنهن يستخدمن الدخل المتواضع من هذا النوع من المزارع لتلبية الاحتياجات العاجلة للأسر؛ 94.90% من المزارعين الذين شملهم الاستطلاع ليس لديهم تدريب تقني في تربية الدواجن؛ تتراوح الخبرة في المزارع التي تم مسحها بين 10 و 50 سنة؛ أكثر الأمراض المتفشية عند الدجاج البلدي هي الكوكسيديا (22%) يليها طاعون الطيور (21%)، وكوليباسيلوز (16%). يمارس غالبية المربين المعالجات التقليدية (63%)، بينما يستخدم 37% فقط من المربين العلاجات البيطرية.

أظهرت نتائج التحليل الكيميائي للزيوت العطرية أن الكارفاكرول (35.2%) يليه بيتا تيربين (20.1%) كانت المكونات الرئيسية للزيت العطري لأوريجانوم كومباكتوم بينما سينامالديهيد (69.1%) يمثل المكون الرئيسي للزيت العطري من سيناموم كاسيا، أو-سيمين (33.62%) والثيمول (23.26%) تشكلان المكونات الرئيسية للزيت العطري من الغدة الصعترية.

أظهرت مقاومة مضادات الميكروبات للسلاطات المختبرة (السالمونيلا والإشريكية القولونية) مقاومة قصوى بنسبة 100% من السلالتين للإريثروميسين، ومقاومة 41.28% من سلاطات السالمونيلا و 89% من سلاطات الإشريكية القولونية للأوكسي تتراسيكلين و 35% مقاومة لسلاطات السالمونيلا و 40.5% من سلاطات الإشريكية القولونية للأموكسيسيلين. أظهرت المنتجات الفعالة المستخلصة من الزيوت الأساسية المدروسة نشاطاً مضاداً للبكتيريا ضد سلاطات السالمونيلا والإشريكية القولونية. لقد ثبت أن منتجات سيناموموم كاسيا أكثر نشاطاً ضد الإشريكية القولونية (متوسط قطر التثبيط 32 مم) من سلاتي السالمونيلا، ومن بين السلاطات الأخيرة، السالمونيلا غاليناروم (متوسط قطر التثبيط 27.65 مم) أكثر حساسية من السالمونيلا المعوية (متوسط قطر التثبيط 16.25 مم). تم الحصول على أفضل نشاط تآزري مع المضادات الحيوية مع الزيت العطري من سيناموموم كاسيا ومنتجها الفعال سينامالديهيد. تم الحصول على أقل تركيز مثبط مع سينامالديهيد (0.031%) ضد الإشريكية القولونية، (0.05%) ضد السالمونيلا المعوية و (0.04%) ضد السالمونيلا غاليناروم.

أظهر تقييم النشاط المضاد للأكسدة للزيوت الأساسية أن الزعتر والأوريجانو يتمتعان بنشاط قوي مضاد للجذور الحرة، مع تركيز IC50 قدره 0.007 ميكرو لتر / مل و 0.008 ميكرو لتر / مل مقارنةً بالقرفة. حيث تكون هذه المعلمة 0.18 ميكرو لتر / مل فقط.

أظهر تحسين العوامل المؤثرة على النشاط المضاد للبكتيريا للزيوت الأساسية أنه لتحسين النشاط المضاد للبكتيريا لهذه الزيوت العطرية، سيكون من الضروري العمل في الظلام ومع زيت سيناموموم كاسيا المخفف في ثنائي ميثيل سلفوكسيد، وكذلك يجب خفض درجة الحرارة (10 درجة مئوية) وزيادة الرطوبة (70%). أظهرت دراسة تأثير الزيوت العطرية من القرفة والأوريجانو على الإشريكية القولونية في الجسم الحي أن الزيتين الأساسيين (القرفة والأوريجانو) أظهروا فعالية كبيرة كمضاد للبكتيريا ضد هذه البكتيريا.

**الكلمات المفتاحية:** تربية دواجن تقليدية، مسح دجاج بلدي، زيت عطري، زعتر، قرفة، مقاومة المضادات الحيوية، نشاط مضاد للجراثيم، نشاط مضاد للأكسدة، تصميمات تجريبية.

# Dédicaces

Je dédie mon travail

A l'âme de mon père

Vous avez fait d'énormes sacrifices pour vos enfants et vous n'avez jamais cessé de nous prodiguer des conseils pour le droit chemin. Que votre simplicité, votre disponibilité, et votre respect pour les autres me servent d'exemples. Que ce modeste travail soit l'expression de mon amour éternel.

A ma chère mère Naima

Pour ton amour et sacrifice inconditionnel,

A mon cher mari Med-Anouar

Pour ton amour et ta présence à la contribution et à la réalisation de mon travail

A mes chères frères Mohamed, Youness et Youssef

A mes chères sœurs Rajae, Meryem et Nouhaila

A mes formateurs

Qui m'ont dirigé vers le chemin de succès par leur compréhension et leur conseil .Veuillez trouver dans ce travail, l'expression de mes profondes reconnaissances et ma grande estime.

# Remerciements

Au terme de ce travail, il m'est très agréable d'exprimer ma gratitude pour toutes les personnes qui m'ont offertes l'appui intellectuel, moral et matériel.

**Ma profonde gratitude va au Professeur El Mestafa EL HADRAMI ; Pofesseur et Vice Doyen de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès,**

Directeur de ma thèse, je vous remercie pour la confiance que vous m'avez accordée en acceptant d'encadrer ce travail de doctorat, également, pour votre grande patience, votre qualité humaine et votre soutien. Hommage respectueux.

**Mes sincères remerciements vont au Professeur Hamid EL AMRI ; Directeur de l'Institut des Analyses Génétiques de la Gendarmerie Royale de Rabat,**

Pour votre disponibilité, votre appui, pour toutes vos remarques et réflexions. Merci d'avoir consacré de votre temps pour lire et évaluer ce travail.

**Je tiens à témoigner ma vive reconnaissance au Docteur Mohamed BOUKHARTA ; Institut des Analyses Génétiques de la Gendarmerie Royale de Rabat,**

Pour votre aide et votre disponibilité tout au long de ce doctorat, pour votre soutien permanent et vos conseils judicieux. Merci d'avoir consacré de votre temps pour lire et évaluer ce travail.

**Je remercie tout particulièrement Docteur El Haj EL MAADOUDI ; Directeur du Centre Régional de la Recherche Agronomique -INRA Rabat,**

Pour vos conseils riches, votre disponibilité, votre appui et votre considération. Merci d'avoir consacré de votre temps pour lire et évaluer ce travail.

**Je remercie tout particulièrement Monsieur Abdellah HOUSSNI, Ancien Directeur du Centre Régional de la Recherche Agronomique -INRA Rabat,**

Pour vos conseils riches, votre disponibilité, votre aide, votre appui et votre considération.

**Ma profonde estime va au Professeur Saâdia NASSIK ; Professeur à IAV Hassan II,**

Pour votre grande gentillesse, votre aide, votre générosité et encouragement. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect. Merci d'avoir consacré de votre temps pour lire et évaluer ce travail

**Je tiens à remercier également Docteur Ahmed DOUIAK, du Centre Régional de la Recherche Agronomique -INRA Rabat, pour son aide et sa disponibilité tout au long de ce doctorat.**

**Je remercie également Monsieur Kabbour Mohammed Rachid le Responsable du Laboratoire de Technologie Agro-Alimentaire au Centre Régional de la Recherche Agronomique -INRA Rabat, pour son aide et sa disponibilité tout au long de ce doctorat.**

Mes sincères remerciements s'adressent aux rapporteurs : **Monsieur FARAH Abdellah, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès, Monsieur ISMAILI ALAOUI My Mustapha, Professeur à IAV Hassan II et Monsieur SOULAYMANI Abdelmajid, Professeur à la Faculté des Sciences Kénitra pour le temps qu'ils ont accordé à la lecture de cette thèse et de m'avoir fait l'honneur de rapporter ce travail.**

**Je remercie également Monsieur IHSSANE Bouchaib, Professeur à la Faculté des Sciences et Techniques de Fès d'avoir consacré de votre temps pour lire et évaluer ce travail.**

**Mes sincères remerciements vont à :**

**Mr. Abdenbi SAADI, Technicien du Laboratoire de Technologie Agro-Alimentaire au Centre Régional de la Recherche Agronomique de Rabat « CRRR-Rabat », pour son aide précieuse et tous ses efforts.**

**Mr. Mostafa CHEHEB, Technicien du Département des Sciences Nutritionnelles et Alimentaires de l'IAV Hassan II Rabat, pour son aide et sa contribution.**

**Mr. Mustapha CHICHI, Technicien de l'unité de Pathologie et Santé Publique Vétérinaires de l'IAV Hassan II Rabat, pour son aide et sa contribution.**

**Les professeurs et l'ensemble du personnel du Département de Technologie Alimentaire du Centre Régional de la Recherche Agronomique -INRA Rabat et du Département de Pathologie et Santé Publique Vétérinaires de l'IAV Hassan II Rabat.**

Enfin, j'aimerais remercier mes amis, mes proches ainsi que les personnes qui, de près ou de loin, m'ont soutenu par leurs paroles et leurs encouragements.

### *Liste des Publications*

1. **Asmae Chahbi**, Saâdia Nassik, Hamid El Amri, Ahmed Douaik, El Haj El Maadoudi, Mohamed Boukharta, and El Mestafa El Hadrami, 2020. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of two aromatic plants cultivated in Morocco (*Cinnamomum cassia* and *Origanum compactum*), *Journal of Chemistry*, vol. 2020, ID 1628710, 10 pages.
2. **A. Chahbi**, E. El Hadrami, H. El Amri, S. Nassik, A. Douaik et M. Boukharta, 2019. Non-industrial poultry farming in Morocco : A survey study in the Rabat-Salé-Kénitra region, *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* Vol.7 (3), pp : 437-446.

## *Liste des Communications Orales et Affichées*

1. **Asmae CHAHBI**, El Mestafa EL HADRAMI, Hamid EL AMRI, Saâdia NASSIK, Ahmed DOUAIK, Mohamed BOUKHARTA, El Haj EL Maadoudi. « Contribution to the study of the antimicrobial activity of the chemical compounds of essential oils of aromatic plants (*Cinnamomum cassia* and *Origanum compactum*) cultivated in Morocco », The International Biotechnology Congress at the service of the company "BIOTECH20, Faculty of Science and Techniques Fez, MOROCCO, February 27 -29, 2020.
2. **Asmae CHAHBI**, El Mestafa EL HADRAMI, Hamid EL AMRI, Saâdia NASSIK, Ahmed DOUAIK, Mohamed BOUKHARTA, El Haj EL Maadoudi. « Non-Industrial Poultry Farming In Morocco : A Survey Study In The Rabat-Salé-Kénitra Region», The 21st World Veterinary Poultry Association Congress - WVPAC 2019, Poultry : The value protein for one's health, Bangkok International Trade and Exhibition Center, Bangkok, Thailand, September 16 - 20, 2019.
3. **Asmae CHAHBI**, El Mestafa EL HADRAMI, Hamid EL AMRI, Saâdia NASSIK, Ahmed DOUAIK, Mohamed BOUKHARTA, El Haj EL Maadoudi. « Chemical composition, in vitro antimicrobial activity and synergistic effect of essential oil interactions (*cinnamomum cassia* and *origanum compactum*) », The 21st World Veterinary Poultry Association Congress - WVPAC 2019, Poultry : The value protein for one's health, Bangkok International Trade and Exhibition Center, Bangkok, Thailand, September 16 - 20, 2019.
4. **Asmae CHAHBI**, El Mestafa EL HADRAMI, Hamid EL AMRI, Saâdia NASSIK, Ahmed DOUAIK, Mohamed BOUKHARTA and El Haj EL Maadoudi. « Non-Industrial Poultry Farming In Morocco », 7th International Meeting on Chemometric and Quality, Faculty of Science and Technology, FES – Morocco, 23th to 25th October 2018.
5. **CHAHBI A.**, EL HADRAMI E., HOUSNI A., EL MAADOUDI E., LAGE M., AL FAIZ C., KABBOUR R. et BAKHY K. « Caractérisation des élevages avicoles traditionnels dans la région de Rabat-Salé-Kénitre », La Deuxième Journée du Doctorant en Biologie de L'USMBA : Pharmacologie et Biotechnologie, Faculté des Sciences et Techniques- Fès, 10 Mai 2017.
6. **CHAHBI A.**, EL HADRAMI E., HOUSNI A., EL MAADOUDI E., LAGE M., AL FAIZ C., KABBOUR R. et BAKHY K. « Enquête d'évaluation de l'utilisation et de l'efficacité

des plantes aromatiques et médicinales dans le traitement des maladies avicoles dans trois régions au Maroc », Congrès National : Innovation & le Management de la Qualité des Aliments, « CNIMQA 2016 », Faculté des Sciences Dhar El Mahraz - Fès, 28 et 29 Décembre 2016.

7. **CHAHBI A., LAHADRAMI E., EL OUALI LALAMI A., SQUALLI H F.Z., SQALLI H T., HANNIN M., LAZRAK M. et BERRADA S.** « Evaluation des connaissances et des précautions d'usage des plantes aromatiques et des huiles essentielles dans la ville de Fès », Le Forum International Sur Les Plantes Aromatiques et Médicinales : Valorisation et innovation, Faculté des Sciences et Techniques- Fès, 26-28 Novembre 2015.
8. **CHAHBI A., BERRADA S., SQUALLI F.Z., EL HADRAMI E. et ELOUALI LALAMI A.** « Enquête d'évaluation de l'utilisation et de la toxicité des plantes aromatiques et des huiles essentielles dans la ville de Fès », Le 1er Congrès International : Substances Naturelles & Modélisation : Applications Thérapeutiques, Environnementales & Développement Durable (CISNEM Taza 2014), Faculté Poly-disciplinaire de Taza, du 15 au 16 Décembre 2014.

# Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Les mécanismes d'acquisition de la résistance bactérienne (Millemann, 2010).	28
<b>Figure 2</b> : Schéma des étapes de l'hydrodistillation (Attou, 2011)	39
<b>Figure 3</b> : Schéma du système d'extraction CO2 des solides (Attou, 2011).	41
<b>Figure 4</b> : Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes (Lamamra, 2010)	41
<b>Figure 5</b> : Illustration de la méthode des aromagrammes sur boîte de Pétri (Guinoiseau, 2010)	45
<b>Figure 6</b> : Principe du test DPPH (Trouillas <i>et al.</i> , 2003)	49
<b>Figure 7</b> : Mécanisme réactionnel du test FRAP (Lamien- Meda <i>et al.</i> en 2008)	50
<b>Figure 8</b> : <i>Origanum compactum</i> (Origan) (Fellah-trade, 2014)	51
<b>Figure 9</b> : <i>Cinnamomum cassia</i> (Cannelle de chine) (Ravindran, 2004)	55
<b>Figure 10</b> : <i>Thymus Vulgaris</i> (Thym) (Iserin, 2001).	59
<b>Figure 11</b> : Morphologie et structure de la bactérie <i>E. coli</i> (Szalo <i>et al.</i> , 2006)	63
<b>Figure 12</b> : Pathogénie d'une souche virulente d' <i>E.coli</i> (Brugere-Picoux, 2015)	66
<b>Figure 13</b> : Formation de l'exsudat fibrino-hétérophilique caséeux lors d'une colibacillose (Brugere-Picoux, 2015)	67
<b>Figure 14</b> : Nombre de sérovars identifiés dans chaque espèce et sous-espèce de <i>Salmonella</i> (Langridge <i>et al.</i> , 2005)	69
<b>Figure 15</b> : Représentation schématique des différentes étapes de la pathogénie après infection orale par <i>Salmonella</i> (Millemann, 1998)	72
<b>Figure 16</b> : Les facteurs de virulence de <i>Salmonella</i> (Madigan <i>et Martinko</i> , 2007)	73
<b>Figure 17</b> : La formulation du problème (El Asri, 2013)	75
<b>Figure 18</b> : Mise en œuvre d'un plan d'expérience (Louvet <i>et al.</i> , 2006)	76
<b>Figure 19</b> : Evolution des techniques de criblage (Rabier <i>et al.</i> , 2007)	78
<b>Figure 20</b> : Distribution de résidus (Carbon, 2015)	85
<b>Figure 21</b> : Chromatographe en phase gazeuse monté sur un spectromètre de masse (Centre Régional de la Recherche Agronomique de Rabat « CRRA-Rabat »)	92
<b>Figure 22</b> : Matériel de l'aromatogramme	93
<b>Figure 23</b> : Matériels de l'essai de microdilution	94
<b>Figure 24</b> : Essai de microdilution pour la détermination de la CMI des huiles testées à différentes concentrations.	94
<b>Figure 25</b> : Matériels utilisés pour les prélèvements et l'injection des traitements	100
<b>Figure 26</b> : Administration du traitement par gavage	100
<b>Figure 27</b> : Répartition des animaux en 7 lots	101
<b>Figure 28</b> : Ecouvillonnage	102
<b>Figure 29</b> : Isolement d' <i>Escherichia coli</i>	102
<b>Figure 30</b> : Matériels utilisés dans l'antibiogramme (à gauche) et l'aromatogramme (à droite)	102
<b>Figure 31</b> : Différentes étapes d'autopsie des deux lots 3 (A) et 5 (B) traités par les huiles essentielles	103
<b>Figure 32</b> : Prélèvements des organes (foie, rate et cœur)	104
<b>Carte 1</b> : Provinces et Préfectures de la Région Rabat-Salé-Kénitra (2015)	106
<b>Figure 33</b> : Alimentation en été (haut gauche), Alimentation en hiver (haut droite).	109
<b>Figure 34</b> : Type de maladies (Gauche) et période de maladie (droite).	110
<b>Figure 35</b> : Traitements utilisés (gauche) et antibiotiques appliqués (droite).	111
<b>Figure 36</b> : Problèmes de l'élevage du poulet Beldi.	112
<b>Figure 37</b> : Pourcentage de résistance des <i>Salmonelles</i> aux antibiotiques.	121
<b>Figure 38</b> : Pourcentage de résistances des <i>E. coli</i> aux antibiotiques.	122
<b>Figure 39</b> : Changement de la couleur de la solution DPPH du violet au jaune.	131
<b>Figure 40</b> : Courbes représentatives du pouvoir antioxydant des HE d'origan, de thym et de la cannelle.	132
<b>Figure 41</b> : CI50 des deux huiles essentielles.	133
<b>Figure 42</b> : Etude graphique des effets de la réponse Y1- activité antibactérienne de M36	136
<b>Figure 43</b> : Etude de la réponse Y1 - Activité antibactérienne de M36	136
<b>Figure 44</b> : Etude graphique des effets de la réponse Y1 : Activité antibactérienne de G18	137
<b>Figure 45</b> : Etude de la réponse Y2 : activité antibactérienne G18	138
<b>Figure 46</b> : A gauche : graphe des résidus et à droite : droite d'Henry pour la réponse	142
<b>Figure 47</b> : Variation de l'activité antibactérienne M36 dans le plan de surface	144
<b>Figure 48</b> : à gauche : graphe des résidus et à droite : droite d'Henry pour la réponse	146
<b>Figure 49</b> : Variation de l'activité antibactérienne G18 dans le plan de surface	148
<b>Figure 50</b> : Isolement d' <i>Escherichia coli</i> sur la gélose EMB des 6 groupes après inoculation des poussins	151

<b>Figure 51</b> : Isolement d' <i>Escherichia coli</i> sur la gélose EMB des 6 groupes après le 1er jour du traitement .....	153
<b>Figure 52</b> : Isolement d' <i>Escherichia coli</i> sur la gélose EMB des 6 groupes après le 2ème jour du Traitement ..	155
<b>Figure 53</b> : Isolement d' <i>Escherichia coli</i> sur la gélose EMB des groupes 1 ,3 et 5 après le 2ème jour du Traitement .....	155
<b>Figure 54</b> : Isolement d' <i>Escherichia coli</i> sur la gélose EMB du groupe 1 après le 2ème jour du Traitement .....	155
<b>Figure 55</b> : Isolement d' <i>Escherichia coli</i> sur la gélose EMB du groupe 3 après le 2ème jour du Traitement .....	156
<b>Figure 56</b> : Isolement d' <i>Escherichia coli</i> sur la gélose EMB du groupe 5 après le 2ème jour du Traitement ....	156
<b>Figure 57</b> : Isolement d' <i>Escherichia coli</i> sur la gélose EMB de deux lots 3 (à droite) et 5 (à gauche) .....	158

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Evolution de la production avicole par secteur (Barkok, 2007).....	7
<b>Tableau 2 :</b> Importance des volailles locales dans quelques pays (Gueye, 1998). .....	10
<b>Tableau 3 :</b> Distribution des élevages avicoles et part de l'élevage du poulet beldi au Maroc (Barkok, 2007)....	12
<b>Tableau 4 :</b> Diamètres critiques et règles de lecture interprétative en médecine vétérinaire pour les Enterobacteriaceae (CASFM, 2016) .....	17
<b>Tableau 5 :</b> Comportement des antibiotiques étudiés dans un milieu aqueux (Lucas, 2017).....	20
<b>Tableau 6 :</b> Résorption orale des antibiotiques étudiés (Antibiovet, 2016) .....	20
<b>Tableau 7 :</b> Diffusion des antibiotiques étudiés (Antibiovet, 2016) .....	21
<b>Tableau 8 :</b> Biotransformation des antibiotiques étudiés (Antibiovet, 2016).....	21
<b>Tableau 9 :</b> Voies d'élimination des antibiotiques étudiés (Antibiovet, 2016) .....	22
<b>Tableau 10 :</b> Les principaux antibiotiques d'intérêt en aviculture. ....	26
<b>Tableau 11 :</b> La résistance des souches d'E.coli vis-à-vis des principaux antibactériens entre 1985 et 2003(Jaouzi et al., 2004) .....	31
<b>Tableau 12 :</b> Pourcentage de résistance et de sensibilité (intermédiaire et totale) des souches d'E. coli testées aux différentes molécules d'antibiotiques (de Janvier à Octobre 2012) (Rahmatallah et al., 2015).....	32
<b>Tableau 13 :</b> Antibiorésistance des souches <i>Salmonella enteritidis</i> isolées des œufs, de l'aliment et des fientes de poules pondeuses, dans la zone Rabat-Casablanca durant la période 1996-1997 (n=57) (Elared et al., 2001) .....	33
<b>Tableau 14 :</b> Caractéristiques physiques et organoleptiques de l'HE d' <i>Origanum compactum</i> (Belkamel et al., 2013) .....	52
<b>Tableau 15 :</b> Concentrations de 4 principaux composants dans 29 échantillons d'huile essentielle d' <i>Origanum compactum</i> (Belkamel et al., 2013). ....	53
<b>Tableau 16 :</b> Caractéristiques physiques et organoleptiques de l'HE de <i>Cinnamomum cassia</i> (Germann, 2014) .....	56
<b>Tableau 17 :</b> Caractéristiques physiques et organoleptiques de l'HE de <i>Thymus vulgaris</i> .....	61
<b>Tableau 18 :</b> Caractères biochimiques d' <i>Escherichia coli</i> .....	65
<b>Tableau 19 :</b> Lésions induites par E. coli selon sa virulence (peu ou très pathogène) (Brugere-Picoux, 2015) ....	67
<b>Tableau 20 :</b> Les principaux facteurs pathogènes chez <i>Escherichia coli</i> ainsi que leur rôle dans le pouvoir pathogène d' <i>E.coli</i> . ....	68
<b>Tableau 21 :</b> Caractères biochimiques de <i>Salmonella</i> (Gledel, 1996). ....	70
<b>Tableau 22 :</b> Les toxines chez les <i>Salmonelles</i> et leur rôle dans le pouvoir pathogène. ....	73
<b>Tableau 23 :</b> Domaine expérimentale .....	97
<b>Tableau 24 :</b> Désignation et caractéristiques des lots expérimentaux. ....	101
<b>Tableau 25 :</b> Caractéristiques des aviculteurs et des exploitations avicoles. ....	113
<b>Tableau 26 :</b> Valeurs médianes des caractéristiques quantitatives des exploitations avicoles. ....	114
<b>Tableau 27 :</b> Valeurs médianes de K.W pour les caractéristiques quantitatives des variables qualitatives. ....	118
<b>Tableau 28 :</b> Association des variables qualitatives des exploitations avicoles de Rabat-Salé-Kénitra. ....	120
<b>Tableau 29 :</b> Composition chimique d'HE de l' <i>Origanum compactum</i> . ....	123
<b>Tableau 30 :</b> Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Cinnamomum cassia</i> . ....	124
<b>Tableau 31 :</b> Composition chimique d'HE de <i>Thymus vulgaris</i> . ....	124
<b>Tableau 32 :</b> Diamètres des zones d'inhibition obtenues avec les souches de référence. ....	125
<b>Tableau 33 :</b> Diamètres en (mm) des zones d'inhibition obtenues avec les souches sauvages d' <i>E. coli</i> d'origine aviaire.....	127
<b>Tableau 34 :</b> Diamètres en (mm) des zones d'inhibition obtenues avec les souches sauvages de <i>S. enteritidis</i> d'origine aviaire. ....	127
<b>Tableau 35 :</b> Diamètres en (mm) des zones d'inhibition obtenues avec les souches sauvages de <i>S.gallinarum</i> d'origine aviaire. ....	128
<b>Tableau 36 :</b> Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) (%) (v/v) moyennes des huiles essentielles testées et leurs composés majoritaires selon le type de souche. ....	129
<b>Tableau 37 :</b> Evaluation de l'interaction des HE ou des PA avec les AB par la méthode des disques. Les valeurs (mm) représentent les diamètres des zones d'inhibition pour chaque produit testé séparément ou en association. .....	130
<b>Tableau 38 :</b> Activité antioxydante de l'HE de l' <i>Origanum compactum</i> .....	131
<b>Tableau 39 :</b> Activité antioxydante de l'HE de <i>Cinnamomum cassia</i> .....	131
<b>Tableau 40 :</b> Activité antioxydante de l'HE de <i>Thymus vulgaris</i> . ....	132
<b>Tableau 41 :</b> Facteurs fixés et leurs domaines de variation .....	134
<b>Tableau 42 :</b> les caractéristiques du problème. ....	135

<b>Tableau 43</b> : Plan d'expérience.....	135
<b>Tableau 44</b> : Facteurs fixés et leurs domaines de variation .....	138
<b>Tableau 45</b> : Caractéristiques du problème.....	139
<b>Tableau 46</b> : Matrice d'expériences.....	139
<b>Tableau 47</b> : Plan d'expérimentations (M36) .....	140
<b>Tableau 48</b> : Plan d'expérimentations (G18).....	140
<b>Tableau 49</b> : Analyse de la variance de la réponse .....	141
<b>Tableau 50</b> : Coefficients de corrélation et écart type de la réponse.....	141
<b>Tableau 51</b> : Effets du modèle de la réponse .....	142
<b>Tableau 52</b> : La valeur expérimentale et celle prédite pour le point test .....	143
<b>Tableau 53</b> : Analyse de la variance de la réponse .....	145
<b>Tableau 54</b> : Coefficients de corrélation et écart type de la réponse.....	145
<b>Tableau 55</b> : Effets du modèle de la réponse .....	146
<b>Tableau 56</b> : La valeur expérimental et celle prédite pour le point test .....	147
<b>Tableau 57</b> : Résultats de l'aromatogramme des deux huiles essentielles sur la souche sauvage d' <i>E.coli</i> de challenge .....	150
<b>Tableau 58</b> : Résultats de l'antibiogramme sur la souche sauvage d' <i>E. coli</i> de challenge .....	151
<b>Tableau 59</b> : Résultats de l'aromatogramme après l'inoculation des 6 groupes par la suspension bactérienne d' <i>E.coli</i> .....	152
<b>Tableau 60</b> : Résultats de l'antibiogramme après inoculation des 6 groupes par la suspension bactérienne d' <i>E. coli</i> .....	152
<b>Tableau 61</b> : Résultats de l'aromatogramme après le 1er jour du traitement sur les 6 groupes .....	153
<b>Tableau 62</b> : Résultats de l'antibiogramme après le 1er jour du traitement sur les 6 groupes .....	154
<b>Tableau 63</b> : Résultats bactériologiques de la matière fécale .....	156
<b>Tableau 64</b> : Résultats de l'aromatogramme après le 2ème jour du traitement sur les 4 groupes .....	157
<b>Tableau 65</b> : Résultats de l'antibiogramme après le 2ème jour du traitement sur les 4 groupes .....	158

## Liste des abréviations

<b>Abs :</b>	Absorbance	<b><i>E. coli</i> :</b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>AAR :</b>	Activité antioxydante relative	<b>eV :</b>	Electron volt
<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléique		
<b>AFNOR :</b>	Association française de normalisation	<b>FRAP :</b>	Redistribution de fluorescence après photoblanchiment.
<b>AFSSA :</b>	Agence française de sécurité sanitaire des aliments	<b>G+ :</b>	Gram positif
		<b>G- :</b>	Gram négatif
<b>Ag :</b>	Antigène		
<b>AMP :</b>	Adénosine mono-phosphate	<b>HE :</b>	Huile essentielle
<b>ANSES :</b>	Agences nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et le travail	<b>KD :</b>	Kilo-dalton
<b>ATB :</b>	Antibiotiques	<b>LMR :</b>	Limite maximale de résidus
		<b>LPS :</b>	Lipopolysaccharide
<b>ATCC :</b>	American type culture collection	<b>MBLA :</b>	Molecular bacterial load assay
<b>ATP :</b>	Adénosine tri-phosphate	<b>MH :</b>	Muller Hinton
<b>AUC :</b>	Area under curve	<b>O :</b>	<i>Origanum</i>
<b>C :</b>	<i>Cinnamomum</i>	<b>PA :</b>	Produit actif
<b>CASFM :</b>	Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.	<b>PG :</b>	Propylène glycol
<b>CI50 :</b>	Concentration d'inhibition 50	<b>S :</b>	<i>Salmonella</i>
<b>Cmax :</b>	Concentration maximale	<b>SM :</b>	Spectrométrie
<b>CMB :</b>	Concentration minimale bactéricide	<b>RCP :</b>	Résumé des caractéristiques du produit.
		<b>T</b>	<i>Thymus</i>
<b>CMI :</b>	Concentration minimale inhibitrice	<b>T<sub>1/2</sub> :</b>	Temps de demi-vie.
<b>CPG :</b>	Chromatographie Gazeuse	<b>TSB :</b>	Tryptic soy broth
<b>CTP :</b>	Culture Type Collection	<b>TMP :</b>	
<b>DI :</b>	Diamètre d'inhibition.	<b>TVC :</b>	Triméthoprime
<b>DPPH :</b>	1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle.	<b>UFC :</b>	Unité formant colonie
<b>DMSO :</b>	Diméthylsulfoxyde	<b>UV :</b>	Ultra -violet
<b>DL50 :</b>	Dose létale 50		
<b>DS :</b>	Distribution statistique		

# Table des Matières

<i>Résumé</i> .....	<i>ii</i>
<i>Abstract</i> .....	<i>iv</i>
<i>ملخص</i> .....	<i>vi</i>
<i>Dédicaces</i> .....	<i>vii</i>
<i>Remerciements</i> .....	<i>viii</i>
<i>Production Scientifique</i> .....	<i>x</i>
<i>Liste des figures</i> .....	<i>xiii</i>
<i>Liste des tableaux</i> .....	<i>xv</i>
<i>Liste des abréviations</i> .....	<i>xvii</i>
<i>Introduction générale</i> .....	<i>1</i>
<i>Première partie : Revue bibliographique</i> .....	<i>5</i>
<b><i>I. Aviculture traditionnelle</i></b> .....	<b><i>6</i></b>
1. Généralités .....	6
1.1. Définition.....	6
1.2. Historique .....	6
1.3. Description des ressources génétiques aviaires locales .....	7
1.4. Attributs de l'aviculture traditionnelle.....	7
1.4.1. Intérêts techniques .....	7
1.4.2. Autres intérêts .....	8
2. Le secteur d'élevage de poulet beldi.....	8
2.1. Dans le monde .....	8
2.1.1. Importance .....	8
2.1.2. Caractéristiques de la production avicole traditionnelle .....	10
2.1.3. Contraintes de l'élevage du poulet traditionnel .....	11
2.2. Au Maroc .....	11
2.2.1. Importance .....	11
2.2.2. Conditions d'élevage .....	12
2.2.3. Types de production.....	13
<b><i>II. De l'antibiothérapie à l'antibiorésistance chez la volaille</i></b> .....	<b><i>14</i></b>
1. Principes généraux de l'antibiothérapie.....	14
1.1. Définition d'antibiotique .....	14
1.2. Objectifs de l'antbiothérapie.....	14
1.3. Activité de l'antibiotique .....	15
1.3.1. Action de l'antibiotique sur le germe.....	15
1.3.2. Action de l'antibiotique sur l'animal .....	19

1.3.3.	Influence des caractéristiques chimiques de l'eau sur l'antibiotique.....	20
1.3.4.	Influence de l'hôte sur l'antibiotique.....	20
1.3.5.	Approche pharmacocinétique-pharmacodynamique (Pk/Pd) .....	22
1.3.6.	Influence du germe sur l'antibiotique .....	23
2.	Généralités sur l'antibiothérapie en aviculture .....	23
2.1.	Modalités d'usage des antibiotiques en aviculture .....	23
2.2.	Les principaux antibiotiques d'intérêt en aviculture .....	25
3.	L'antibiorésistance .....	27
3.1.	Notion de l'antibiorésistance .....	27
3.2.	Types de résistance bactérienne.....	27
3.3.	Mesure de la résistance bactérienne .....	28
3.4.	Usage des antibiotiques et la résistance : quels facteurs de risque ? .....	30
3.6.	La lutte contre l'antibiorésistance.....	33
3.7.	Les alternatifs à l'usage des antibiotiques en aviculture .....	34
<b>III.</b>	<b>Généralités sur les huiles essentielles.....</b>	<b>36</b>
1.	Définition .....	36
2.	Historique d'utilisation des huiles essentielles .....	36
3.	Localisation, Fonction et Répartition.....	36
4.	Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles.....	37
4.1.	Propriétés physiques .....	37
4.2.	Composition Chimique.....	37
5.	Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles .....	38
5.1.	Facteurs intrinsèques .....	38
5.2.	Facteurs extrinsèques.....	39
6.	Méthodes d'extraction des huiles essentielles .....	39
6.1.	Hydro distillation.....	39
6.2.	Distillation à vapeur saturée .....	40
6.3.	L'hydro diffusion.....	40
6.4.	Expression ou pressage à froid .....	40
6.5.	Enfleurage.....	40
6.6.	Extraction par CO2 supercritique .....	40
6.7.	Extraction assistée par Micro-ondes.....	41
7.	Techniques d'analyse des huiles essentielles.....	42
7.1.	La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG).....	42

7.2.	Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)	42
8.	Activités biologiques des huiles essentielles .....	43
8.1.	Activité antimicrobienne .....	43
8.2.	Mécanisme d'action.....	44
9.	Techniques d'études du pouvoir antibactérien des huiles essentielles .....	44
9.1.	Techniques en milieu liquide.....	45
9.2.	Techniques en milieu solide .....	45
9.3.	Détermination de la CMI.....	46
9.4.	Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) en milieu solide .	46
9.5.	Autres méthodes .....	47
9.6.	Mode d'action des huiles essentielles.....	47
10.	Activité antioxydante des huiles essentielles.....	48
10.1.	Méthodes d'évaluation <i>in vitro</i> des propriétés antioxydants des huiles essentielles	48
10.1.1.	Méthode de piégeage du radical libre DPPH.....	49
10.1.2.	La méthode de FRAP.....	49
10.1.3.	Test de blanchissement du $\beta$ -carotène : .....	50
11.	Toxicité des huiles essentielles .....	50
<b>IV.</b>	<b>Cas particuliers des HE d'origan, de cannelle et de thym.....</b>	<b>51</b>
1.	Origan compact ( <i>Origanum compactum</i> ) .....	51
1.1.	Présentation de la plante .....	51
1.2.	Description botanique.....	51
1.3.	Utilisations.....	52
1.4.	L'huile essentielle de l'origan .....	52
1.4.1.	Caractéristiques.....	52
1.4.2.	Composition.....	52
1.4.3.	Activité antibactérienne .....	53
1.4.4.	Mode d'action et spectre d'activité.....	53
1.4.5.	Toxicité .....	54
2.	Cannelle de chine ( <i>Cinnamomum cassia</i> ).....	55
2.1.	Présentation de la plante .....	55
2.2.	Description botanique.....	55
2.3.	Utilisations.....	56
2.4.	L'huile essentielle de la cannelle.....	56
2.4.1.	Caractéristiques.....	56
2.4.2.	Composition.....	57
2.4.3.	Activité antibactérienne .....	57

2.4.4.	Mode d'action et spectre d'activité.....	57
2.4.5.	Toxicité .....	58
3.	Thym ( <i>Thymus vulgaris</i> ).....	59
3.1.	Présentation de la plante .....	59
3.2.	Description botanique.....	59
3.3.	Utilisations.....	59
3.4.	L'huile essentielle du thym.....	60
3.4.1.	Caractéristiques.....	60
3.4.2.	Composition.....	61
3.4.3.	Activité antibactérienne .....	61
3.5.	Toxicité.....	62
<b>V.</b>	<b><i>Colibacillose et Salmonellose aviaires</i></b> .....	<b>62</b>
1.	Colibacillose aviaire.....	62
1.1.	Historique et Systématique .....	62
1.2.	Caractères bactériologiques .....	63
1.2.1.	Caractères morphologiques et structuraux.....	63
1.2.2.	Caractères cultureux.....	64
1.2.3.	Caractères biochimiques .....	64
1.3.	Caractères antigéniques .....	65
1.4.	Le pouvoir pathogène et les facteurs de virulence.....	66
2.	Salmonellose aviaire .....	68
2.1.	Historique et systématique :.....	68
2.2.	Caractères bactériologiques .....	69
2.2.1.	Caractères morphologiques.....	69
2.2.2.	Caractères cultureux.....	70
2.2.3.	Caractères biochimiques .....	70
2.3.	Caractères antigéniques .....	70
2.4.	Pouvoir pathogène et facteur de pathogénicité.....	72
<b>VI.</b>	<b><i>Méthodologie des plans d'expériences</i></b> .....	<b>74</b>
1.	Introduction.....	74
2.	Définition des plans d'expériences .....	74
3.	Formulation du problème.....	75
4.	Objectif d'utilisation .....	75
5.	Types des plans d'expériences .....	76
a-	Historique des plans de criblage .....	78
6.	Domaine d'utilisation.....	80
7.	Démarche pratique d'un plan d'expérience .....	80

8.	Validation statistique du modèle postulé .....	83
9.	Généralité sur le logiciel Nemrodw .....	85
<b>Deuxième partie : Etude Expérimentale .....</b>		<b>86</b>
<b>Matériel et Méthodes .....</b>		<b>87</b>
<b>I. Enquête .....</b>		<b>88</b>
<b>II. Etude des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i>, d'<i>Origanum compactum</i> et la <i>Cinnamomum cassia</i> et leurs composés majoritaires in vitro. ....</b>		<b>90</b>
1.	Matériel de laboratoire .....	90
2.	Produits chimiques et milieux de culture.....	90
3.	Matériels biologiques.....	91
3.1.	Plantes aromatiques .....	91
3.2.	Microorganismes .....	91
4.	Méthodologie .....	91
4.1	Extraction des huiles essentielles .....	91
4.2	Analyse chimique des huiles essentielles .....	92
4.3	Activité antibactérienne des Huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i> , d' <i>Origanum Compactum</i> et de la <i>Cinnamomum cassia</i> et leurs composés majoritaires in vitro.....	92
4.3.1.	Antibiogramme .....	92
4.3.2.	Evaluation de l'activité antibactérienne.....	93
4.3.3.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice .....	93
4.3.4.	Détermination de la concentration minimale bactéricide .....	94
4.3.5.	Interaction entre huiles essentielles, leurs composés majoritaires et antibiotiques. ....	95
4.3.6.	Analyses de données .....	95
4.3.7.	Activité antioxydante des huiles essentielles de thym, d'origan et de la cannelle.....	95
<b>III. Criblage et optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles .....</b>		<b>97</b>
1.	Plan de criblage.....	97
2.	Matériels .....	97
3.	Plan d'optimisation .....	97
4.	Démarche méthodologique .....	98
5.	Logiciel utilisé .....	98
<b>IV. Etude de l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur <i>Escherichia coli</i> in vivo.....</b>		<b>99</b>
1.	Matériel végétal .....	99
2.	Matériel biologique.....	99

<b>Résultats.....</b>	<b>105</b>
<b>I. Enquête .....</b>	<b>106</b>
<b>II. Antibiotypie.....</b>	<b>121</b>
<b>III. Etude des huiles essentielles de <i>Thymus vulgaris</i>, d'<i>Origanum compactum</i> et de <i>Cinnamomum cassia</i> et le et leurs composés majoritaires <i>in vitro</i> .....</b>	<b>123</b>
1. Rendement en huile essentielle.....	123
2. Analyse chimique des huiles essentielles .....	123
3. Activité antibactérienne des huiles essentielles de thym, de l'origan et de la cannelle et de leurs composés majoritaires .....	125
a) Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque.....	125
b) Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI et la concentration minimale bactéricide CMB.....	128
c) Interaction des huiles essentielles et leurs composés majoritaires avec les antibiotiques	129
4. Activité antioxydante des HE de thym, d'origan et de la cannelle.....	131
<b>IV. Criblage et optimisation des facteurs permettant d'améliorer l'activité antibactérienne des huiles essentielles ayant prouvé une efficacité élevée .....</b>	<b>134</b>
A. Plan de criblage.....	134
B. Plan d'optimisation .....	138
<b>V. Etude de l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur <i>Escherichia coli in vivo</i>.....</b>	<b>150</b>
<b>Discussion.....</b>	<b>159</b>
<b>Conclusion générale et Recommandations .....</b>	<b>168</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>172</b>
<b>Webographie.....</b>	<b>198</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>199</b>

# Introduction générale

Au Maroc, la production avicole est assurée par deux secteurs d'importance inégale, le secteur industriel et le secteur traditionnel. Cette production contribue à plus de 50% dans la consommation en viandes, soit une moyenne de 17,4kg par habitant et par an, et en œufs de consommation avec 140 œufs par habitant et par an (FISA, 2016).

Le secteur avicole traditionnel joue un rôle socio-économique très important (autoconsommation familiale et trésorerie pour les femmes rurales). En fait, sa production reste relativement stable, autour de 50000 tonnes de viande blanche et 800 millions d'œufs. Il est nettement moins exposé aux risques de propagation de la grippe aviaire à partir d'un foyer contaminé vu qu'il n'est pas sujet aux conditions de transport entre les régions (BIT-IAA N°23-2012). En outre, ce secteur connaît, depuis quelques années, un regain d'intérêt sans précédent suite à son intégration dans les programmes de développement humain en tant qu'activités génératrices de revenus, notamment pour la femme rurale.

Cependant, l'intensification de la filière avicole n'évolue pas sans problèmes plus particulièrement d'origine infectieuse. Ces derniers portent atteinte à la rentabilité et à la qualité des produits avicoles, où la nécessité du recours aux antibiotiques aussi bien à titre curatif qu'à titre préventif, surtout quand les mesures de biosécurité font défaut.

Néanmoins, un usage irrationnel des antibiotiques entraîne le phénomène d'antibiorésistance de manière de plus en plus importante et expose le consommateur au double risque de contamination par les résidus de ces molécules et par des bactéries résistantes.

L'utilisation abusive des agents antimicrobiens a conduit à l'apparition de bactéries résistantes. Cette résistance aux antibiotiques représente un danger pour la santé humaine et un réel problème de santé publique (Varma, 2005). Majoritairement, la résistance aux antibiotiques est due à des gènes susceptibles d'être exprimés dans n'importe quelles bactéries. Cette notion est illustrée par le terme « **résistome** » qui définit l'ensemble des gènes de résistance aux antibiotiques qui peuvent être retrouvés aussi bien chez les bactéries de l'environnement que chez les bactéries pathogènes (Yongfei, 2016).

C'est le cas des colibacilloses pour lesquelles, Amara (1996) a révélé que les souches d'*E.coli* qui y sont responsables chez les poulets de chair au Maroc, présentent des fréquences de résistance aux antibactériens très élevées avec une tendance nette à la multi-résistance.

Ces colibacilloses aviaires sont parmi les entités pathologiques dominantes rapportées dans la surveillance sanitaire des élevages avicoles (Maho, 1997). Même si cette colibacillose est plus

souvent considérée comme une infection secondaire (Nakamura, 1992), elle est responsable de pertes économiques majeures dans les élevages avicoles et représente une importante cause de saisie à l'abattoir (Elfadil, 1996), et à cette augmentation de perte que l'antibiothérapie a devenue de plus en plus fréquente (Stordeur, 2002).

Des études menées au niveau de la région méditerranéenne ont montré que les taux de résistance des *Escherichia coli* vis-à-vis les antibiotiques enregistrés au Maroc restent élevés avec ceux enregistrés en Algérie (Aggad, 2010), à l'exception de la résistance à la colistine, tous les autres fréquences sont supérieures : le taux de résistance à l'Enrofloxacin est de 45% en Algérie et 76.38% au Maroc et à l'ampicilline est de 0% en Algérie. La comparaison des résultats de résistance de ces *Escherichia coli* au Maroc avec ceux rapportés par le réseau de surveillance français de l'antibiorésistance (Resapath de l'agence française ANSES) pour l'année (2010) (Resapath, 2010), montre que les taux de résistance enregistrés au Maroc deviennent très inquiétants, avec un taux de résistance à l'Enrofloxacin de 12% en France contre 76.38% au Maroc.

Et le cas des *Salmonelles* résistantes aux antimicrobiens d'usage courant qui ont été détectées chez l'homme (tétracyclines, sulphonamides, ampicilline, fluoroquinolones) et également chez les volailles (EFSA, 2014). Les sérotypes *Salmonella Kentucky* et *Salmonella Infantis*, sont particulièrement préoccupantes car elles manifestent un niveau élevé de résistance à la ciprofloxacine ainsi qu'une multi-résistance à plusieurs médicaments (EFSA/ECDC, 2016). La multirésistance (résistance à trois antimicrobiens ou plus) est particulièrement observée pour les souches de sérotype *S.Typhimurium* (EFSA, 2019).

Au Maroc, des études menées dans la région de Tetouan ont montré que 39.6% des souches de *Salmonella* testées sont résistantes au moins pour un antibiotique et 22.9% sont multi-résistants au moins pour trois antibiotiques (Amajoud, 2015). Dans la région de Rabat-Casablanca, une étude a montré des taux de résistance relativement faibles pour la colistine (10,5%) et la gentamicine (8,8%). L'association triméthoprime-sulfaméthoxazole s'est montrée active sur la majorité des souches (taux de résistance = 3,5%) (Elared, 2001). Dans la région de Casablanca, la résistance aux antibiotiques des *S. Kentucky* a montré des taux de résistance un peu élevé : tétracycline (99,5 %), acide nalidixique et fluméquine (26,9 %), ciprofloxacine (24,6 %), amoxicilline (19,4 %), gentamycine (16,4 %), sulfamides-triméthoprim (13,4 %), cefquinome (8,2 %) et colistine (1,5 %)( Berradi, 2018).

Parallèlement aux mesures de prévention, les recherches scientifiques se sont orientées vers le développement de nouvelles molécules non ou peu sujettes au phénomène de résistance et aussi

vers la découverte de produits capables, par effet synergique, de restaurer la sensibilité aux antibiotiques déjà existants.

Aussi, dans le souci de préserver la santé du consommateur et retarder l'usure des antibactériens sans pour autant compromettre les performances de production du poulet, les produits chimiques à base d'extraits de plantes aromatiques peuvent constituer une alternative totale ou partielle aux antibiotiques usuels (Remmal, 1992 ; Lahlou, 2004).

Toutefois, et à l'instar de tous les produits utilisés en santé humaine ou animale, l'emploi rationnel d'un produit naturel doit se faire sur la base d'études pharmacologiques, toxicologiques et cliniques.

L'objectif de notre travail s'inscrit dans ce cadre et se propose dans un premier volet de réaliser un diagnostic actuel susceptible de ressortir les principales caractéristiques de l'élevage avicole traditionnel dans la région de Rabat Salé Kénitra, de contribuer à l'étude de la résistance aux antibiotiques des *salmonelles* et des *Escherichia coli* d'origine animale, d'évaluer les propriétés antibactériennes et antioxydantes des huiles essentielles (HE) de thym (*Thymus vulgaris*), de cannelle (*Cinnamomum cassia*) et d'origan (*Origanum compactum*), ainsi que leurs composants actifs majoritaires (cinnamaldéhyde et carvacrol) et, enfin, et d'étudier leurs interactions éventuelles avec des antibiotiques usuels utilisés en aviculture. Dans un second volet, le présent travail essayera de caractériser l'optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles ayant prouvé une efficacité élevée par la méthode des Plans d'Expérience, et d'évaluer finalement l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur l'*Escherichia coli* In Vivo.

Le présent document comporte deux parties :

Une première partie consacrée à une revue de la littérature sur les aspects en rapport avec notre problématique et nos objectifs ;

Une deuxième partie, dédiée à une étude expérimentale qui comprend les protocoles expérimentaux utilisés dans ce travail, ainsi que les résultats obtenus et leurs discussions pour aboutir à des conclusions et des recommandations. Et subdivisée en trois volets :

**Le premier volet (enquête) a consisté à :**

- Réaliser une enquête de recueil des informations préliminaires sur l'utilisation des huiles essentielles/plantes aromatiques et leurs efficacités pour le Poulet Beldi.

**Le deuxième volet (étude in vitro) a porté sur :**

- La détermination de la composition chimique des huiles essentielles issues des Trois plantes aromatiques (*Cinnamomum cassia*, *Thymus Vulgaris* et *Origanum compactum*) par la méthode de la Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG et CPG/SM), l'évaluation de leurs propriétés antibactériennes à l'égard des souches d'*E. coli* et de *salmonelles* résistantes d'origine aviaire ainsi que leurs interactions avec des antibiotiques usuels (Oxytétracycline et TMP-sulfamide) ;
- L'étude de l'activité antioxydante de ces trois huiles essentielles ;
- L'optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles ayant prouvé une efficacité élevée, par la méthodologie des Plans d'Expériences.

**Le troisième volet (étude in vivo) se concentre sur :**

- L'étude de l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur l'*Escherichia coli* In Vivo.

# **Première partie : Revue bibliographique**

## **I. Aviculture traditionnelle**

### **1. Généralités**

#### **1.1. Définition**

L'aviculture traditionnelle a été qualifiée par plusieurs termes : villageoise (Delpech, 1993), rurale (Reddy, 1997), traditionnelle (Niels et *al.*, 1997), familiale (Guéye, 2000), indigène (Dieng et *al.*, 1998) et fermière (El Houadfi, 1992). Afin de faciliter la communication entre les différents intervenants dans ce domaine, l'aviculture familiale se Benabdeljalil définit comme la production de volaille à petite échelle pratiquée par des ménages utilisant la main-d'œuvre familiale et, autant que faire se peut, les disponibilités alimentaires localement disponibles. Les volailles peuvent divaguer librement dans l'exploitation et rechercher une grande partie de leur propre nourriture, le supplément étant fourni par l'exploitant. Les participants à l'atelier tenu en 1989 à Ile-Ife, Nigéria, ont défini comme volaille rurale un troupeau de moins de 100 oiseaux de race améliorée ou non, élevé dans des systèmes fermiers de type extensif ou intensif. Le travail n'est pas rémunéré, et est effectué par les membres de la famille (Sonaiya, 1990). Cette définition a été ultérieurement clarifiée comme «de petits troupeaux, exploités par des familles rurales individuelles aux fins de sécurité alimentaire, de revenu, et d'emploi rémunérateur pour les femmes et les enfants» (Sonaiya, 1997). L'aviculture familiale est donc distincte de l'aviculture commerciale de moyenne à grande échelle.

#### **1.2. Historique**

L'espèce *gallus gallus* est originaire d'Asie du Sud R Est et furent dispersés dans le reste du monde par marins et commerçants. Le poulet fut introduit au Maroc vers le 6<sup>ème</sup> siècle au même temps qu'en Europe (Agenor, 1973).

Depuis ce temps l'aviculture a connu un développement important surtout pendant le 19<sup>ème</sup> siècle et la première moitié du 20<sup>ème</sup> siècle où l'exportation des œufs et des volailles vers les pays d'Europe et notamment l'Angleterre et l'Espagne a été florissante. Par la suite, le secteur traditionnel a connu une diminution de la demande à cause de l'abondance des produits avicoles venant de la mer noire (Agénor, 1973). Afin de redresser la situation en déclin de ce secteur, une œuvre de législation a été promulguée. Elle avait pour base des mesures susceptibles de stabiliser le rythme d'exportation des œufs et des volailles (Echerkaoui, 2001).

Vers les années 1960, toutes les stratégies étaient orientées vers le développement du secteur industriel qui a permis d'arriver à une production annuelle de 300.000 tonnes de viande et 2 milliards d'œufs en 2007 (FISA, 2007) alors que le secteur traditionnel ne produit que 50.000

tonnes de viandes et 800 millions d'œufs de consommations (Barkok, 2007). Ces initiatives ont favorisé le secteur industriel au détriment du secteur traditionnel (tableau 1).

**Tableau 1:** Evolution de la production avicole par secteur (Barkok, 2007)

Année	Poulet du secteur intensif (tonnes)	Poulet du secteur traditionnel (tonnes)	Œufs secteur industriel (milliards)	Œufs secteur traditionnel (milliard)
2000	200000	50000	2,3	0,8
2001	230000	50000	2,4	0,8
2002	250000	50000	2,5	0,8
2003	260000	50000	2,2	0,8
2004	275000	50000	2,5	0,8
2005	300000	50000	2,5	0,8
2006	290000	50000	2,0	0,8

### 1.3. Description des ressources génétiques aviaires locales

Les caractéristiques des volailles Beldi élevées dans le milieu rural ont été étudiées dans la région de Khénifra à travers plusieurs enquêtes. Outre l'observation directe et la description, les performances de production et de reproduction et les taux de mortalité des animaux (et leurs causes) ont été relevés. Les conditions de logement, d'alimentation et d'abreuvement ont été décrites. Les volailles demeurent caractérisées par une variabilité phénotypique étendue. Les couleurs noires, brunes, grises, et blanches, dominantes ou associées ont été fréquemment observées au niveau des plumages des poules. L'emplument est régulier. Les crêtes sont plutôt simples chez les poules et dentées chez les coqs. La maturité sexuelle a été atteinte vers 154 jours chez les coqs et 168 jours chez les poules. L'âge moyen d'entrée en ponte a été de 5,8 mois pour les poules. La ponte annuelle a été de 78 œufs par poule. Les taux d'éclosion observés ont été de 78 % chez les poules. Les maladies ont été les principales causes de mortalité dont les taux peuvent atteindre 77 % (Benabdeljalil, 2005).

Cependant, selon Barkok (2007), on ne peut pas parler de souches locales mais plutôt de populations très hétérogènes ayant subi un métissage très important depuis 1920, date de création de la 1<sup>ère</sup> station avicole de Meknès et l'introduction de races telles que la Sussex herminée, la Rhode Island Red, la Plymouth Rock Barrée, la New Hampshire.

### 1.4. Attributs de l'aviculture traditionnelle

#### 1.4.1. Intérêts techniques

La production avicole commerciale de petite échelle joue un rôle économique important dans le secteur de l'agriculture. En effet, les produits du poulet beldi (viande et oeufs) constituent une source nutritionnelle et économique facile et disponible en raison de leur cycle

de production par rapport aux autres espèces, permettant d'améliorer le régime alimentaire et d'assurer des entrées d'argent pour les ménages. Les produits avicoles sont en partie destinés à l'autoconsommation (52%) et l'autre partie pour la vente (48%). En outre, à l'opposé d'autres animaux, de petits effectifs de volailles peuvent être élevés par les deux genres, mais cet élevage reste encore une activité féminine. Ce qui permet d'atténuer l'effet genre au niveau des populations rurales (Benabdeljelil *et al.*, 2005).

#### **1.4.2. Autres intérêts**

L'aviculture traditionnelle jouit d'une importance culturelle particulière par rapport aux autres élevages. La viande qui en provient est appréciée grâce à sa saveur et sa convenance aux plats traditionnels. Le poulet "beldi" a une importance symbolique lors de nombreuses cérémonies sociales et religieuses : Ramadan, Achoura. Même cet événement religieux permet d'augmenter les bénéfices des villageoises de point de vue économique (Aklilu *et al.*, 2007).

Du point de vue socioculturel, les poules sont utilisées lors de fêtes spéciales ou pour satisfaire des obligations sociales. Elles sont également indispensables pour de nombreuses cérémonies traditionnelles de même que pour le traitement traditionnel de certaines maladies (Sharma, 2007). Une étude menée au Nigeria a révélé que l'aviculture familiale contribue de manière significative à l'amélioration du niveau de vie des personnes pauvres en ressources des zones périurbaines des pays en voie de développement (Baba, 2006). Toutefois, toute amélioration des modes d'élevage demeurera difficile, étant donnée la faiblesse des effectifs par foyer et leur immense étendue géographique. A moins que l'Etat ne mette en place un programme extensif, de long terme et coûteux, pour induire des changements dans les modes d'élevage, l'habitat, l'alimentation et la conduite sanitaire (vaccination des oiseaux de basse-cour).

## **2. Le secteur d'élevage de poulet beldi**

L'élevage traditionnel constitue un élément contribuant aux économies nationale et rurale de plusieurs pays. Il pourrait garantir la sécurité alimentaire en milieu rural et posséderait d'autres intérêts d'ordre social et culturel.

### **2.1. Dans le monde**

#### **2.1.1. Importance**

L'élevage traditionnel de volailles revêt une importance considérable dans plusieurs pays. Les statistiques relatives au cheptel pour l'année 1995 montrent la dominance des volailles parmi les animaux de la ferme (Gueye, 1998). Près de 75% de la production d'œufs et de chair

en Afrique, et de 50% des œufs produits dans les pays asiatiques proviendraient de volailles locales élevées dans des systèmes traditionnels (Reddy, 1997).

L'élevage avicole traditionnel revêt un grand intérêt en tant que source de revenus, d'emplois et pour la provision des ruraux en protéines d'origine animale (Sathe, 1996). Il assurerait un rôle important dans le développement du monde rural et dans l'utilisation durable des ressources naturelles. L'aviculture traditionnelle constitue un élément de lutte contre la pauvreté, pour la sécurité alimentaire et pour la promotion de la femme rurale.

Les croisements incontrôlés, le manque ou l'insuffisance de techniques d'élevage appropriées, les connaissances relatives au contrôle sanitaire, à la prévention et la propagation des maladies constitueraient des facteurs limitants au sein des élevages avicoles traditionnels.

La participation de l'aviculture traditionnelle à la production totale en produits avicoles des zones rurales du continent africain atteindrait 70% (Sonaiya, 1999).

Les volailles locales représentent 94% des populations locales du Nigeria et contribuent pour 12.4% à la production totale d'œufs estimée à 192.640 tonnes. En Côte d'Ivoire, les populations avicoles locales fournissent 69% des 21.500 tonnes de chair et 26% des 12.200 tonnes d'œufs produits en 1984. Près de 40% de la production d'œufs et 30 % de celle de chair en Indonésie serait issue des poules locales. En Inde, environ les 3/4 du cheptel avicole national appartiennent au type local et fournissent 18 à 20% de la production totale d'œufs du pays (Horst, 1991).

La part de l'élevage traditionnel dans la production d'œufs au Bangladesh dépasse 82% (Reddy, 1997). Au Burkina Faso, 25 millions des volailles rurales (formées essentiellement de pintades) ont produit 15.000 tonnes de chair en 1989. En outre, 60% de la production avicole nationale du Cameroun (13.000 tonnes) en 1989 a été attribuée au secteur traditionnel (Agbede, 1995).

La part de l'aviculture traditionnelle dans la production totale en produits avicoles de certains pays est améliorable vu la dépendance accrue du secteur industriel des importations et des manques périodiques d'aliments et d'autres intrants (Gueye, 1998).

**Tableau 2:** Importance des volailles locales dans quelques pays (Gueye, 1998).

Pays	Effectif (100 milles)	% du cheptel avicole national
Chine	2 0.000	50
Côte d'Ivoire	---	53
Ethiopie	532	99
Indonésie	1.870	60
Kenya	160	70
Malaisie	65	13
Népal	---	90
Nigeria	1.200	80
Pakistan	555	42
Philippines	430	72
Sri Lanka	25	25
Tanzanie	---	86
Thaïlande	1.200	80
Ouganda	160	80

### 2.1.2. Caractéristiques de la production avicole traditionnelle

La production avicole traditionnelle a été caractérisée dans un certain nombre de pays.

Dans les élevages avicoles traditionnels, les volailles appartiennent à des foyers bien déterminés. Durant le jour, elles fouillent la maison autour des champs et elles passent la nuit perchées sur les arbres et les toits. Des abris rudimentaires sont parfois conçus (Nsajigwa, 1999).

L'alimentation est basée sur la fouille et la distribution de quelques graines de céréales (Ahlers, 1999 ; Nsajigwa, 1999).

L'élevage traditionnel du poulet est assuré essentiellement par les femmes (86 %) qui sont parfois aidées par leurs enfants (Kitaly, 1997). Alors que, l'élevage traditionnel des pigeons dans certains pays d'Afrique appartient uniquement aux enfants (Gueye, 1998).

Les effectifs moyens élevés sont généralement faibles. Ils varient de 6 au Sénégal à 17 au Malawi (LY et al, 1999 ; Ahlers, 1999).

Dans les conditions d'élevage avicole traditionnel, la poule à titre d'exemple, pond en moyen entre 30 et 50 œufs par an. Cette ponte peut parfois atteindre 90 œufs par an.

Dans les élevages traditionnels, la poule arrive à éclore parmi les 10 à 14 œufs incubés entre 8 à 10 poussins éclos dont 6 à 7 sont sevrés et seulement, 2 à 4 arrivent à survivre et ils sont généralement, utilisés pour le remplacement (Ajuyah, 1999).

Ce niveau de production faible est lié à la forte mortalité causée par les prédateurs et les maladies parasitaires et infectieuses (Saidu et al, 1994 ; Gueye, 1998 ; Aini, 1999).

### **2.1.3. Contraintes de l'élevage du poulet traditionnel**

Le secteur avicole traditionnel a une importance socio-économique considérable. Il a été cependant, souvent négligé et considéré comme une activité secondaire devant l'agriculture et l'élevage des grands animaux vu son revenu faible (Ngoupayou, 1989). Les maladies représentent la contrainte principale qui entrave son expansion ajoutées aux contraintes d'ordres alimentaires et socio-économiques (Aini, 1999 ; Arfaoui, 2000).

Les maladies infectieuses et parasitaires sont responsables de pertes considérables.

Les prédateurs tels que les chiens, les chats, les rapaces et les pertes accidentelles (écrasement par véhicules, équidés, et homme) sont considérés aussi un problème majeur de la volaille fermière traditionnelle.

## **2.2. Au Maroc**

La production avicole au Maroc est assurée par deux secteurs d'importance inégale, un secteur fermier traditionnel et un secteur industriel (El Houadfi, 1992).

### **2.2.1. Importance**

La production avicole est assurée par deux secteurs : le secteur industriel qui permet d'alimenter la majeure partie du marché local en viandes blanches (87%) et en œufs de consommation (72%) et le secteur traditionnel alimente le marché en viandes blanches (13%) et en œufs de consommation (28 %) (Barkok, 2007). Vu la facilité de production et d'entretien, l'élevage traditionnel est pratiqué dans plusieurs régions du Maroc (tableau 3) (Barkok, 2007)

**Tableau 3 :** Distribution des élevages avicoles et part de l'élevage du poulet beldi au Maroc (Barkok, 2007).

Répartition régionale des élevages traditionnelle avicoles en 2006						
Région économique	Foyers ruraux enquêtés	Poules	Dindes	Pintades	Autres	Total foyers ruraux
Marrakech Tensift Haouz	8940	68312	334	2211	2049	316213
Rabat Sale Zemmour Zaer	3636	42172	4195	477	8971	81220
Grand Casa	591	3999	141	454	1316	63359
Tadla Azilal	187	2683	282	44	44	149144

### 2.2.2. Conditions d'élevage

Au Maroc, l'élevage avicole traditionnel est de type extensif. Les volailles divaguent toute la journée en recherchant des vers, des insectes, des graines de céréales ; le soir ils rentrent pour s'abriter dans un poulailler généralement en bois. C'est un système caractérisé par de faibles intrants, et un faible rendement. L'entretien sanitaire est quasiment inexistant dans ce type d'élevage (Belkadi, 1968 ; El Houadfi, 1992).

Les volailles dans les systèmes traditionnels d'élevage disposent d'abris rudimentaires voire inexistants (Agenor, 1973). Les matériaux de construction des logements proviennent en grande partie de l'exploitation et sont constitués principalement de roseaux, des petites branches, des pierres et de pisé (Akil, 1971). Les formes d'abris spécifiques pour volailles sont diversifiées manquant d'ouvertures latérales et frontales.

La supplémentation est effectuée deux fois voire même trois à quatre fois par jour (BABA *et al.*, 1991). Généralement, les volailles sont alimentées le soir pour les attirer vers leur abri (Tmiri, 2000). Les aliments sont distribués par terre ou sur des sacs en plastique. La quantité apportée est variable selon les disponibilités et les saisons surtout pendant les périodes de pénurie (Thiennel, 1989). Le son de blé, les graines d'orges et de blé dur sont les principaux aliments apportés avec une moindre utilisation de maïs et d'aliments composés (Karari, 2001). L'eau est servie aux volailles au moins une fois par jour dans des ustensiles usés, des pots en poterie ou en plastique ; elle provient des puits et des sources naturelles.

Pendant les périodes pluvieuses, les ruisseaux, les flaques d'eau boueuses et les marres stagnantes constituent les principales sources d'abreuvement des volailles (Belkadi, 1968 et

Akil, 1971). Certaines catégories d'animaux profitent d'une alimentation différente en quantité et en qualité de celle du troupeau. Les poussins reçoivent des miettes de pain, du son mélangé à l'eau, de l'orge ou du maïs moulus et de l'aliment composé ; les coqs et les dindons reçoivent une grande quantité d'orge pour des fins d'engraissement et des troupeaux de dindes sont menés sur les champs de céréales moissonnés pour picorer les grains (Thiennel, 1989).

Dans la région de Khénifra par exemple, Arfaoui (2000) a décrit que le logement est à base d'abris rudimentaires conçus spécialement pour volailles. Les matériaux utilisés sont : le Bambou (32%), le bois (29%), le pise (18%), le plastique (17%) et rarement le grillage et les tôles.

Dans cette région, la 'fouille' demeure la principale source d'alimentation pour les volailles en élevage traditionnel ; le son de blé, les graines d'orge, de blé et de maïs, l'aliment commercial et le pain sec forment les ressources alimentaires communément apportées aux volailles.

Du point de vue santé, il n'y a pas d'intervention vétérinaire (Jaouzi et *al.*, 2002). Pour le traitement de certains symptômes, l'éleveur utilise des produits naturels tels l'huile de cade, l'huile de moteur, l'oignon, l'ail, etc.... (Benabdjelil et *al.*, 2005 ; Jaouzi et *al.*, 2002).

### **2.2.3. Types de production**

En aviculture traditionnelle, il est difficile de distinguer les types de productions.

Selon Jaouzi et *al.* (2002) la volaille traditionnelle est élevée pour être vendue sur pieds ou pour la commercialisation des œufs. Cette vente se fait au niveau du douar et du souk. Les œufs sont le plus souvent pour la couvaison. La taille de couvaison peut atteindre 14 œufs chez la poule un taux d'éclosion de 78% (Benabdjelil et *al.*, 2005). Le prix du poulet varie de 54 à 62 dirhams/unité pour le mâle, et de 34 à 43 dirhams/unité pour la femelle (Benabdjelil et *al.*, 2005).

## **II. De l'antibiothérapie à l'antibiorésistance chez la volaille**

Depuis leur découverte, les antibiotiques se sont révélés très précieux dans la lutte contre les maladies d'origines bactériennes touchant l'Homme et les animaux d'élevage. Associés aux vaccinations et à une amélioration des conditions hygiéniques, les antibiotiques ont fortement contribué au développement de l'élevage dit «industriel». L'élevage avicole a été le premier à s'industrialiser et c'est aussi chez le poulet qui y a été découverte une autre propriété des antibiotiques : l'effet promoteur de croissance. Mais le monde bactérien s'est adapté aux antibiotiques et cela s'est traduit par l'émergence de souches résistantes chez l'Homme, chez les animaux et dans l'environnement. L'existence de ces bactéries résistantes a des conséquences sur la thérapeutique, la santé publique et l'hygiène de l'environnement (Guillot, 1989).

### **1. Principes généraux de l'antibiothérapie**

#### **1.1. Définition d'antibiotique**

Les antibiotiques sont des substances chimiques originellement produites par des microorganismes, ou obtenus par synthèse ou semi-synthèse. A faible concentration, capables d'entraîner la destruction ou l'arrêt de la multiplication des micro-organismes (AFSSA, 2006). Leur importance capitale a permis de réduire de manière spectaculaire la morbidité et la mortalité de plusieurs maladies bactériennes. Ces molécules sont employées dans de nombreux domaines comme principal moyen de lutte contre les infections bactériennes. Les antibiotiques sont la seconde classe de médicaments utilisés en médecine vétérinaire. Ils représentent environ 20% du volume des produits pharmaceutiques vétérinaires utilisés (Toutain, 2012).

#### **1.2. Objectifs de l'antibiothérapie**

D'un point de vue biologique, l'objectif d'un antibiotique est d'éradiquer directement ou indirectement la bactérie. En médecine aviaire, le traitement antibiotique doit, avant tout, diminuer les pertes économiques liées à la maladie, impactant l'éleveur ou même l'ensemble de la filière. En ce sens, l'antibiothérapie doit répondre à un enjeu économique.

### 1.3. Activité de l'antibiotique

#### 1.3.1. Action de l'antibiotique sur le germe

La pharmacodynamie décrit l'effet de l'antibiotique sur la bactérie. Elle est conditionnée par plusieurs aspects présentés ci-dessous :

##### a) Notion de spectre d'activité

Le spectre correspond à l'ensemble des espèces bactériennes sur lesquelles un antibiotique donné est actif. Si la famille d'antibiotique agit sur les bactéries Gram + et Gram -, le spectre est large. Si l'antibiotique n'agit que sur des bactéries Gram + ou des Gram -, le spectre est étroit (Tableau 7).

##### b) Mode d'action

Les organites ciblés par l'antibiotique sont variés et les mécanismes d'action diffèrent selon la famille d'antibiotique. L'efficacité de l'antibiotique est donc conditionnée par la présence de l'organite ciblé sur la bactérie (Tableau 7).

##### c) Tests *in vitro* pour évaluer l'activité antibactérienne

Même si le spectre théorique d'activité peut le laisser penser, de nombreuses souches bactériennes, appartenant à la même espèce, ne sont en réalité pas aussi sensibles aux antibiotiques.

La sensibilité, depuis le début de l'utilisation des antibiotiques, a effectivement beaucoup évolué, de sorte que le choix d'un antibiotique ne peut se faire sur la seule connaissance du spectre d'action naturel de l'antibiotique. L'analyse bactériologique en laboratoire est donc devenue un examen nécessaire pour guider la prescription (AFSSA, 2006)

##### ✓ Les tests statiques

Le principe d'un test statique est de déterminer l'état d'une population bactérienne après un temps d'exposition à une concentration d'antibiotique donnée. Deux principales méthodes ont été mises en place à cet effet :

• **La Méthode de dilution** : cette méthode est réalisée en milieu liquide. Elle consiste à mettre en contact un inoculum standardisé avec des concentrations décroissantes d'antibiotique selon une dilution de raison 2. En milieu liquide, l'inoculum est soit placé dans une série de tubes à essai (macro-dilution) ou dans des cupules (micro-dilution) contenant l'antibiotique à tester. Après un temps d'incubation également standardisé, la Concentration Minimale Inhibitrice

(CMI) est obtenue directement en identifiant le tube contenant la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible. (AFSSA, 2006)

• **La méthode de diffusion** : cette méthode, en milieu gélosé, consiste à évaluer l'activité des antibiotiques sur une souche bactérienne donnée. Cette activité est évaluée en mesurant le Diamètre d'Inhibition (DI) autour des disques contenant l'antibiotique. Le principe du disque contenant l'anti-infectieux est le suivant : lorsqu'un disque de papier buvard contenant l'antibiotique est déposé à la surface d'une gélose, ce dernier diffuse dans la gélose selon un gradient de concentration décroissant au fur et à mesure que l'on s'éloigne du disque. De ce fait, pour une souche bactérienne sensible à l'antibiotique, un halo autour du disque se formera. Ce halo correspond à la zone où la bactérie n'aura pas pu se multiplier, dite zone d'inhibition. Le diamètre de cette zone, correspond au diamètre d'inhibition. La méthode de diffusion, à la différence de la méthode de dilution, ne permet pas de chiffrer directement la valeur de la CMI. Cependant, il existe une relation entre les diamètres des zones d'inhibition et le logarithme base 2 des CMI (AFSSA, 2006). Cette relation correspond à la droite de concordance et elle est établie pour chaque disque d'antibiotique.

Pour classer les bactéries par catégorie, selon leur comportement vis-à-vis de l'antibiotique, des seuils critiques, « les breakpoints » sont déterminés par des experts. Ces derniers s'appuient sur les informations transmises par l'ensemble des professionnels concernés par l'antibiorésistance (cliniciens, pharmacologues, microbiologistes).

Pour interpréter ces tests *in vitro*, le comité de l'antibiogramme a défini trois catégories de comportement vis-à-vis de l'antibiotique testé :

• **Catégorie « S »** : Souche pour laquelle la probabilité de succès thérapeutique, avec l'antibiotique testé, est forte (dans les conditions d'utilisation recommandées dans le Résumé des Caractéristiques du Produit (RCP)).

• **Catégorie « R »** : Souche pour laquelle la probabilité d'échec thérapeutique est fort ; quelle que soit la posologie administrée.

• **Catégorie « I »** : Souche pour laquelle le succès thérapeutique est imprévisible. En effet, les résultats obtenus *in vitro* pour ces souches bactériennes vis-à-vis d'un antibiotique donné ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique. Deux exemples permettent de mieux comprendre cette catégorie « I » : *In vitro*, la souche bactérienne peut présenter un faible mécanisme de résistance vis-à-vis de l'antibiotique ; qui classe de fait cette bactérie dans la catégorie « S ».

Or, *in vivo*, cette même souche apparaîtra résistante au traitement antibiotique mis en place. A contrario, une souche bactérienne peut présenter *in vitro* un mécanisme de résistance moyen, sans pour autant être catégorisée « R », qui ne compromettra pas, selon certaines conditions d'utilisation (forte concentration locale par exemple), le succès thérapeutique *in vivo*.

**Tableau 4 :** Diamètres critiques et règles de lecture interprétative en médecine vétérinaire pour les *Enterobacteriaceae* (CASFM, 2016)

Antibiotique	Concentration du disque	Diamètre critique (en mm)	
		S	R
Amoxicilline	25 µg	≥ 21	< 14
Triméthoprime-sulfamide	1,25 /23,75 µg	≥ 16	< 10
Tétracycline	30 UI	≥ 19	< 17
Enrofloxacin	5 µg	≥ 22	< 17

#### ✓ Les tests dynamiques

Les tests dynamiques permettent quant à eux de suivre l'évolution de la population bactérienne au cours du temps par des techniques de dénombrement. Les courbes obtenues permettent de mettre en évidence deux types d'antibiotiques : les antibiotiques dits temps-dépendants et ceux dits concentration-dépendants.

- **La bactéricidie concentration-dépendant :** L'activité de l'antibiotique augmente selon sa concentration sérique. L'objectif est d'atteindre une Concentration maximale ( $C_{max}$ ) importante au-delà de la CMI. Ainsi un rapport  $C_{max}/CMI$  élevé est un facteur d'efficacité pour ce type d'antibiotique (Toutain, 2012). En pratique, il s'agit d'administrer l'antibiotique sur une courte période mais avec des valeurs plasmatiques élevées.

- **La bactéricidie temps-dépendante :** L'activité de l'antibiotique dépend du temps d'exposition. Dans ce cas-là le ratio  $C_{max}/CMI$  n'a pas besoin d'être élevé, il importe seulement que la CMI soit atteinte sur la durée déterminée. En pratique, il s'agit d'administrer l'antibiotique sur une période plus longue.

#### d) Associations d'antibiotiques

Théoriquement, l'utilisation en thérapeutique d'une association d'antibiotiques peut renfermer plusieurs avantages :

✓ **L'élargissement du spectre d'activité :**

Réalisé en combinant deux antibiotiques avec des spectres complémentaires. Ceci est en particulier justifié :

- Dans le traitement des infections polymicrobiennes.
- Dans le traitement des infections sévères, n'ayant pas pu être diagnostiquées avec précision.
- Comme traitement de première intention en l'attente des résultats de l'antibiogramme (Duval et Soussy, 1990 ; Brudere, 1992).

✓ **L'obtention d'un effet synergique :**

L'effet synergique résulte d'une interaction positive entre deux antibiotiques dont l'action antibactérienne conjointe est supérieure à la somme de l'action de chacun des deux antibiotiques pris isolément. Cet effet est justifié :

- Dans le traitement des infections dues aux germes bactériens peu sensibles et dont les valeurs des CMI se situent à la limite des concentrations critiques.
- Dans le traitement des infections sévères affectant des animaux immunodéprimés.
- Dans le traitement des infections dont le siège se situe à un endroit difficilement atteignable par les antibiotiques (Duval et Soussy, 1990 ; Brudere, 1992).

✓ **La diminution de l'émergence de souches bactériennes résistantes :**

La probabilité de deux mutations simultanées est égale au produit des deux taux de mutation : elle est très faible, donc statistiquement, il est très improbable qu'une bactérie acquière simultanément par mutation la résistance à deux antibiotiques, a fortiori à plusieurs (Duval et Soussy, 1990).

La prescription d'associations d'antibiotiques peut-être légitime notamment pour les antibiotiques dont le risque de sélection de mutants est relativement élevé (Triméthoprime, Quinolones) (Duval et Soussy, 1990).

✓ **La complémentarité des modes de diffusion tissulaires :**

Les difficultés de diffusion tissulaire d'un antibiotique peuvent être compensées par l'autre, ce qui permet d'atteindre l'agent infectieux dans les différents endroits de l'organisme. C'est le cas d'association d'un antibiotique faiblement absorbable par voie orale avec un autre diffusible par voie générale (Mogenet et Fedida, 1998).

✓ **La diminution de la toxicité :**

Pour réduire leur toxicité rénale, l'association de deux sulfamides, de solubilité et de vitesse d'élimination différente, s'avère moins dangereux que la dose double de l'un d'eux. Cette association prévient leur cristallisation dans les voies urinaires (Duval et Soussy, 1990 ; Martel, 1996).

Les mécanismes responsables de la synergie ou de l'antagonisme sont les suivants :

**L'effet synergique est obtenu par :**

- Facilitation de la pénétration dans la bactérie d'un antibiotique par le second (l'association  $\beta$ -lactamine-aminoside).
- Blocage d'une même voie métabolique à deux niveaux successifs (l'association triméthoprim sulfamide).
- Inhibition par un antibiotique d'un enzyme bactérienne qui inactiverait l'autre (l'association amoxicilline-acide clavulanique) (Duval et Soussy, 1990 ; Mogenet et Fedida, 1998).

**L'effet antagonique est obtenu par :**

- Inhibition, par un antibiotique, de la synthèse des protéines bactérienne, tandis que l'autre exige un niveau élevé de cette synthèse (l'association d'un macrolide ou tétracycline avec un  $\beta$ -lactamine ou un quinolone de 1<sup>ère</sup> ou 2<sup>ème</sup> génération).
- Inhibition du transport actif d'un antibiotique par l'autre (l'association tétracycline-aminoside).
- Induction, par un antibiotique, d'enzymes inhibant l'action du second (l'association des céphalosporines entre eux : synthèse de  $\beta$ -lactamases) (Duval et Soussy, 1990).

**1.3.2. Action de l'antibiotique sur l'animal**

Comme tout médicament, l'antibiotique présente des effets secondaires, mineurs ou majeurs selon les cas et ce, en condition d'usage normal. Il peut s'agir d'insuffisance rénale, comme c'est le cas avec les sulfamides ou bien d'incompatibilité médicamenteuse conduisant à la mort des animaux en quelques heures. Chez la dinde, un traitement à base de triméthoprim-sulfamides administré à des animaux recevant un aliment contenant des anticoccidiens (ionophores, type monensin) conduira à une intoxication aiguë mortelle.

Une action indirecte, bien que rare en élevage avicole, peut également être mentionnée. Suite à l'action lytique de l'antibiotique, la libération massive d'endotoxines par les bactéries Gram – et la synthèse de cytokines vont conduire au choc septique (Toutain, 2012).

### 1.3.3. Influence des caractéristiques chimiques de l'eau sur l'antibiotique

En élevage aviaire, la voie orale est de loin la voie d'administration la plus utilisée. A ce titre, les caractéristiques de l'eau utilisée en élevage telles que le pH vont jouer un rôle déterminant dans la solubilisation de l'antibiotique et influencent donc l'activité de l'antibiotique.

**Tableau 5 :** Comportement des antibiotiques étudiés dans un milieu aqueux (Lucas, 2017)

Antibiotiques	Amoxicilline	TMP-sulfamide	Tétracycline	Enrofloxacin
<b>Comportement</b>	Caractère acide, davantage soluble dans une eau basique. Précipitation si eau acide	Caractère basique, pH optimal de 6,5-7. Précipitation en cristaux blancs si Ph>8 ou enduit verdâtre si Ph <6	Caractère basique, davantage soluble dans eau acide	Caractère acide, davantage soluble dans eau basique

### 1.3.4. Influence de l'hôte sur l'antibiotique

La pharmacocinétique est l'action de l'hôte sur l'antibiotique et se décrit en quatre phases : l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'excrétion.

En antibiothérapie, la pharmacocinétique est essentielle pour adapter la posologie, en déterminant la concentration à administrer à l'animal pour que l'antibiotique soit efficace au site d'infection, et ce avant d'être transformé puis éliminé par l'organisme

- **L'absorption**

Cette phase correspond au passage du site d'administration à la circulation sanguine. Elle dépend des propriétés physico-chimiques de l'antibiotique et des modalités d'administration. Ici, seule la résorption orale nous intéresse compte tenu des pratiques d'antibiothérapies en élevage avicole.

**Tableau 6 :** Résorption orale des antibiotiques étudiés (Antibiovet, 2016)

Antibiotiques	Amoxicilline	TMP-sulfamide	Tétracycline	Doxycycline	Enrofloxacin
Absorption Voie orale	Rapide et presque complète, 80% environ	Rapide et presque complète	Faible	Presque complète, 93%	Presque complète, entre 80 et 100%

- **La distribution**

Après l'absorption de l'antibiotique, celui-ci se concentre dans différents compartiments de l'organisme. Un état d'équilibre entre la concentration au sein des organes de l'animal (la concentration tissulaire) et la concentration sanguine (la concentration plasmatique ou sérique) s'établit au cours du temps. Ces deux concentrations peuvent être très différentes l'une de l'autre. Lors d'une infection par une bactérie extracellulaire, la concentration plasmatique en antibiotique peut être considérée comme étant égale à la concentration active.

**Tableau 7 :** Diffusion des antibiotiques étudiés (Antibiovet, 2016)

Antibiotiques	Amoxicilline	TMP-sulfamide	Doxycycline	Tétracycline	Enrofloxacin
<b>Distribution</b>	Bonne diffusion	Liaison protéique plasmatique forte (longue persistance plasmatique), large diffusion	Liaison protéique 65%, large diffusion	Forte liaison protéique (longue persistance plasmatique), large diffusion (tissu lipophile)	Large diffusion, concentration dans les phagocytes (donc sur le site d'inflammation)

- **Le métabolisme**

La transformation d'un antibiotique par le métabolisme (hépatique, rénal) dépend à la fois de la structure de la molécule et des voies métaboliques. Tandis que certaines molécules sont rapidement dégradées en métabolites inactifs (perte d'activité antimicrobienne), d'autres sont peu dégradées.

**Tableau 8 :** Biotransformation des antibiotiques étudiés (Antibiovet, 2016)

Antibiotiques	Amoxicilline	TMP-sulfamide	Tétracycline	Enrofloxacin
<b>Intensité de la biotransformation</b>	Faible	Faible	Faible	Moyenne (40% environ)

- **L'excrétion et devenir du médicament**

Les concentrations dans les différentes sécrétions et excréta (urine, fèces, lait, bile, salive etc.) varient également au cours du temps en fonction des modalités d'excrétion passive ou active de l'antibiotique. Ces concentrations sont très souvent différentes de la concentration plasmatique.

**Tableau 9 :** Voies d'élimination des antibiotiques étudiés (Antibiovet, 2016)

Antibiotiques	Amoxicilline	TMP-sulfamide	Tétracycline	Doxycycline	Enrofloxacin
<b>Voie d'élimination principale</b>	Rénale, élimination rapide	Rénale, élimination retardée	Rénale, élimination rapide	Intestinale (cycle entéro-hépatique) et rénale	Rénale

L'administration d'un antibiotique à un animal engendre nécessairement des résidus médicamenteux dans les tissus qui seront plus ou moins longs à éliminer par l'organisme. Ces résidus revêtent une importance majeure lorsqu'il s'agit d'animaux de production puisque leurs différents produits vont être consommés par l'Homme. Il est donc nécessaire d'établir des seuils acceptables, les Limites Maximales de Résidus (LMR), au-dessus desquelles une denrée alimentaire ne peut être commercialisée en raison du risque sanitaire encouru. Les LMR sont définies en tenant compte de la toxicité de la substance résiduelle et de l'exposition du consommateur à ces substances.

De manière très générale, en lien avec la pharmacocinétique, une molécule qui diffuse facilement au sein des organes et tissus et présente une fixation tissulaire importante, laisse, à un instant temps (t) donné, davantage de résidus. L'intensité des biotransformations conditionne quant à elle la nature et la toxicité des résidus présents (Stoltz, 2008).

Une cinétique, nommée étude de déplétion tissulaire, est alors requise afin de déterminer le temps nécessaire pour que la concentration de résidus présents soit en dessous de la LMR. Ce temps, entre la dernière administration de l'antibiotique et la mise à la consommation des denrées alimentaires provenant des animaux traités, est appelé « temps d'attente ».

De par la complexité de la pharmacocinétique d'une molécule, des outils mathématiques ont été développés pour suivre les concentrations au cours du temps, en fonction des propriétés de l'antibiotique et de sa formulation. Malgré cela, le comportement pharmacocinétique d'un antibiotique reste très variable d'un individu à l'autre et les différentes concentrations mesurées (tissulaire, plasmatique) ne sont pas toutes de bons indicateurs de la concentration active au site d'action.

### **1.3.5. Approche pharmacocinétique-pharmacodynamique (Pk/Pd)**

L'utilisation de paramètres Pk/Pd pour comprendre le déroulement d'un traitement et son efficacité clinique et bactériologique se développe en médecine vétérinaire depuis les années 2000 (AFSSA, 2006).

Concrètement, ces modèles permettent d'étudier la relation entre des paramètres pharmacocinétiques ou Pk/Pd et les résultats cliniques/bactériologiques. Les principaux paramètres Pk/Pd utilisés sont :

- Le temps de maintien d'une concentration supérieure à la CMI.
- Le rapport concentration maximale et CMI.
- Le rapport de l'aire sous la courbe par la CMI.
- L'aire sous la courbe au-dessus de la CMI.

Ainsi par exemple, l'étude réalisée par Craig et Andes (1996) montre que le maintien d'une concentration en  $\beta$ -lactames supérieure à la CMI pendant plus de 40% des intervalles de dosages permettait une cure bactériologique dans 85 à 100% des cas.

De plus, l'utilisation de ces approches en médecine vétérinaire a permis d'élaborer des concentrations critiques pour tenir compte de la variabilité des expositions individuelles en élevage.

### **1.3.6. Influence du germe sur l'antibiotique**

Deux principaux effets directs sont à retenir :

- L'« effet inoculum » tout d'abord, qui correspond à l'effet d'un inoculum bactérien important. Plus ce dernier augmente, plus il sera difficile pour l'antibiotique d'éradiquer totalement la population bactérienne ; ce qui conduit à un risque accru d'émergence de résistance (Toutain, 2012).
- D'autre part, le germe visé, peut avoir la capacité, par l'acquisition de résistances, de détruire l'antibiotique administré. L'exemple le plus connu est la résistance aux  $\beta$ -lactamines, via la production de  $\beta$ -lactamases par les bactéries

## **2. Généralités sur l'antibiothérapie en aviculture**

### **2.1. Modalités d'usage des antibiotiques en aviculture**

Le médicament vétérinaire est un outil essentiel de protection de la santé animale et de façon indirecte la santé humaine. Il permet de contrôler le niveau sanitaire et la productivité des animaux et d'assurer la qualité des produits d'origine animale destinés à la consommation humaine. Les antibiotiques sont utilisés à trois fins principales qui sont :

- **Antibiothérapie préventive**

C'est le fait de prescrire un traitement antibiotique avant qu'une infection se déclare chez des sujets se trouvant dans une situation pathologique les exposant à un risque infectieux

important (Duval et Soussy, 1990). Elle peut être mise en œuvre durant certaines périodes dites de risque, lorsque la probabilité de développement d'une infection est élevée ; période de démarrage lorsque les conditions générales d'hygiène sont médiocres ou, dans les cas où les réactions post-vaccinales sont relativement sévères (Brudere, 1992). Le traitement sera dirigé contre les principaux germes pouvant être rencontrés selon la situation (colibacilles au démarrage, clostridies après un traitement anticoccidien) (Mogenet et Fedida, 1998).

- **Antibiothérapie curative**

Elle est presque constamment métaphylactique. Elle consiste en l'administration d'antibiotiques à l'ensemble des animaux d'un lot lorsqu'une partie d'individus sont malades et que l'agent pathogène suspecté est connu comme infectieux (Sanders, 2005). L'antibactérien est une aide à apporter lorsque le système immunitaire est trop faible ou la souche infectieuse particulièrement virulente ; donc son but c'est de limiter la souffrance de l'animal malade, d'éviter la mortalité et rétablir le niveau de production pour les animaux de rente (AFSSA, 2006).

- **Utilisation en métaphylaxie**

Elle permet de traiter les animaux soumis à la pression infectieuse alors qu'ils sont encore en incubation ou lorsque les manifestations cliniques sont très discrètes (Maillard, 2002), les antibiotiques sont alors utilisés lorsqu'une infection collective et très contagieuse se déclare dans un élevage avec de grands effectifs et évolue sur un mode aigu, avec suffisamment d'éléments concordants pour incriminer une bactérie, l'ensemble du groupe d'animaux est traité.

- **Promoteurs de croissance**

Les antibiotiques, administrés à faibles doses de quelques milligrammes à 50 mg/kg dans l'alimentation animale en vue d'une amélioration du gain de poids (2 à 5 %) en exercent un effet métabolique, chez certaines espèces bactériennes vivant en symbiose, qui se traduit par une modification des conditions de compétition au sein de ces flores complexes (Sanders, 2005). Mais actuellement, très peu de molécules antibiotiques restent autorisées en tant qu'additifs ou facteurs de croissance. Suite au fait que ce sont considéré comme facteur de risque pour la santé humaine, et ceci depuis la mise en évidence des facteurs de transmission des résistances plasmiques (R-factors) entre bactéries appartenant à des familles différentes en particulier le gène commun à l'avoparcine, réservée à l'alimentation animale, et à la

Vancomycine, utilisée en dernier recours dans les maladies nosocomiales humaines.(Sanders, 2005).

## **2.2. Les principaux antibiotiques d'intérêt en aviculture**

En fonction de leur structure chimique, les antibiotiques sont classés en plusieurs familles. A l'intérieur d'une même famille, diverses particularités font l'originalité et l'intérêt des différents produits (Fontaine et Cadoré, 1995). Les principaux antibiotiques en aviculture utilisés contre les infections sont présentées dans le Tableau 10 (Mogenet et Fedida, 1998 ; Abdennbi, 2006).

**Tableau 10** : Les principaux antibiotiques d'intérêt en aviculture.

Famille	Molécule(s)	Activité	Mécanisme d'action	Spectre d'activité
<b>β-Lactamines</b>	Aminopénicillines : Ampicilline, Amoxicilline Céphalosporines : Ceftiofur	Bactéricide	Altère le développement de la, paroi cellulaire bactérienne en inhibant la synthèse de peptidoglycane par blocage de l'enzyme transpeptidase.	Large
<b>Polypeptides</b>	Colistine (polymyxine)	Bactéricide	pénètrent dans la cellule bactérienne et se fixent sur les phospholipides de la membrane externe. Celle-ci, se déforme et sa perméabilité devient perturbée	Etroit : entérobactéries
<b>Aminosides</b>	Spectinomycine Apramycine	Bactéricide	par sa fixation à la sous-unité 30S de ribosome bactérienne ce qui induit a l'accumulation des erreurs dans les protéines synthétisées et aberrantes	Large spectre
<b>Macrolides</b>	Erythromycine Josamycine Tyrosine	bactériostatique	Ils inhibent la synthèse des protéines bactériennes ARN-dépendantes, en se lient de façon réversible à la sous-unité 50 S des ribosomes au niveau du site P Ils empêchent le transfert du complexe peptidylARNt depuis le site P vers le site A	Etroit à (coques gram - et +. Les Entérobactéries sont insensibles)
<b>Sulfamides</b>	Sulfaguanidine Sulfadiméthoxine Triméthoprime (TMPsulfamides)	Bactériostatique	Arrêtent la prolifération bactérienne en interférant avec la cascade de synthèse de son acide folique et ce, de façon séquentielle	Large
<b>Tétracyclines</b>	Oxytétracycline -Tétracycline -Doxycycline	Bactériostatique	Arrête la prolifération bactérienne en se liant au ribosome bactérien et en inhibant la synthèse des protéines	Large
<b>Phénicolés</b>	Florfénicol, Chloramphénicol Thiamphenicol	Bactériostatique	Inhibition de la synthèse protéique (ribosomes)	Large
<b>Quinolones</b>	Enrofloxacin Flumequine	Bactéricide	inhibe la synthèse du DNA bactérien en détruisant l'activité de la DNAgyrase bactérienne (les fluoroquinolones bloquent la synthèse de l'ADN en agissant sur les).et donc impliquées dans les modifications topologiques de l'ADN	Etroit pour les Gram+, étendue au Gram- selon la génération

### **3. L'antibiorésistance**

L'antibiorésistance est un problème de santé publique concernant aussi bien la médecine humaine que la médecine vétérinaire. Il est important de souligner que tout usage d'antibiotiques, même justifié et judicieux, entraîne éventuellement le développement ou la sélection de souches microbiennes résistantes. Le risque de développement de la résistance sera d'autant plus important que l'usage sera fréquent (en continu ou répété) et étendu à une forte proportion d'un troupeau.

Malheureusement, on a constaté que depuis l'introduction successive des différents antibiotiques en thérapeutique, la sensibilité des bactéries à ces antibiotiques a beaucoup évolué, de sorte que le pourcentage de souches résistantes dans les différentes espèces pathogènes est actuellement important. (Chevalier, 2012).

#### **3.1. Notion de l'antibiorésistance**

Une souche bactérienne, par une modification génétique, résiste à un antibiotique quand elle peut croître en présence d'une concentration plus élevée de cet antibiotique que la concentration tolérée par les autres bactéries de la même espèce ; conduisant à une résistance clinique.

#### **3.2. Types de résistance bactérienne**

- **Résistance naturelle**

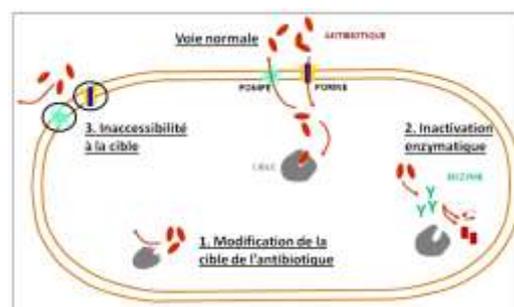
Certaines espèces bactériennes sont dites naturellement résistantes à une famille d'antibiotique. D'un point de vue biologique cette résistance s'explique simplement par l'absence de la cible de l'antibiotique sur la bactérie (comme l'absence de paroi chez les mycoplasmes les rendant insensibles aux  $\beta$ -lactamines), ou bien par l'inaccessibilité de cette cible par l'antibiotique (rôle de la membrane externe chez les bactéries Gram négatives résistantes à la vancomycine).

Cette résistance, propre à une espèce bactérienne, est portée par le chromosome. Elle est donc transmise à sa descendance, est stable dans le temps, mais ne peut pas ou difficilement se transmettre de manière horizontale, au sein de la même espèce ou entre différentes espèces (Peshkova, 2015).

- **Résistance acquise**

La résistance à un antibiotique peut également s'acquérir via des mutations génétiques venant modifier la cible de l'antibiotique ou le métabolisme de la bactérie. Les principaux mécanismes sont synthétisés ci-dessous :

- **Le système d'efflux** : Composant normal d'une cellule bactérienne, la pompe à efflux est un mécanisme de défense contre de nombreux agents antibactériens. Il s'agit de protéines transmembranaires qui permettent à la bactérie, par un système actif de pompage, d'extérioriser l'antibiotique en dehors de la bactérie. Le fait d'exposer la bactérie à un antibiotique engendre une surexpression de ces protéines. L'antibiotique ne peut alors atteindre son site d'action et devient donc inefficace.
- **La réduction de la perméabilité** : La perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie est modifiée, de telle sorte que l'antibiotique ne puisse atteindre sa cible d'action. Les porines auraient un rôle important dans la modification de perméabilité des membranes bactérienne.
- **La production d'enzymes** : Certaines familles de bactéries ont la capacité de synthétiser des protéines enzymatiques qui vont inactiver l'antibiotique administré. Nous pouvons citer les  $\beta$ -lactamases, qui en détruisant la liaison amine sur le cycle lactame, inactivent soit les pénicillines, les céphalosporines ou l'ensemble des  $\beta$ -lactamines.
- **Modification de la cible** : Ce dernier mécanisme est spécifique de la famille d'antibiotique considérée. Pour les  $\beta$ -lactamines, par exemple, les Protéines Liant les Pénicillines (PLP) sont modifiées, de telle sorte que l'affinité de la cible (PLP) pour l'antibiotique soit amoindrie, voire nulle.
- **Augmentation du nombre de cibles** : Cette stratégie bactérienne a pour conséquence d'augmenter la CMI. Ne parvenant pas à saturer toutes les cibles exprimées, une concentration en antibiotique plus importante est en effet nécessaire.



**Figure 1** : Les mécanismes d'acquisition de la résistance bactérienne (Millemann, 2010).

### 3.3. Mesure de la résistance bactérienne

La cible pharmacologique d'un antibiotique est la bactérie pathogène. Pour qu'un antibiotique soit actif, il faut donc que cette dernière soit présente et accessible. L'effet de l'antibiotique est variable selon concentration : ralentissement de la croissance bactérienne

(effet sub-inhibiteur), inhibition de la croissance (effet bactériostatique) jusqu'à la mort de la bactérie (effet bactéricide). Plusieurs tests, statiques ou dynamiques, permettent d'étudier *in vitro* la pharmacodynamie des antibiotiques sur une population bactérienne (AFSSA, 2006).

Pour mesurer microbiologiquement la résistance d'une bactérie, la notion communément utilisée dans le monde scientifique est la concentration minimale inhibitrice (CMI). C'est un test statique. La CMI représente la première concentration en antibiotique pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est observée. La mesure de la CMI est souvent accompagnée de la mesure concentration minimale bactéricide (CMB). Elle correspond à la concentration permettant de réduire la population bactérienne d'un facteur 1000 (Scott, 2009). Les mesures des CMI et des CMB sont dépendantes des conditions de cultures de la bactérie. Les conditions de déterminations de ces indicateurs ont donc été calibrées et standardisées (AFSSA, 2006).

Ensuite, des antibiogrammes peuvent être réalisés. Leur interprétation repose sur l'évaluation de la CMI en fonction du diamètre d'inhibition. Ces outils permettent de prédire la sensibilité des bactéries aux antibiotiques en matière d'efficacité clinique. Ainsi, une souche pathogène peut être catégorisée cliniquement de sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R). L'antibiogramme sert également à la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne, et peut orienter l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles (AFSSA, 2006).

Les tests dynamiques déterminent l'évolution de la population bactérienne au cours du temps. Ils nécessitent la mise en place de techniques de dénombrement. L'indicateur le plus utilisé est l'aire sous la courbe (AUC). Cette approche permet d'étudier la cinétique de bactéricide ou l'effet post antibiotique. Ce dernier représente le temps de maintien de la suppression de la croissance bactérienne après avoir enlevé l'antibiotique du milieu (*in vitro*) ou après que les concentrations soient devenues inférieures à la CMI (*in vivo*) (AFSSA, 2006).

Depuis une vingtaine d'années, les experts ont développé une approche pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK/PD) pour décrire, prédire et comprendre les relations entre le déroulement d'un traitement et son efficacité clinique et bactériologique. Les principaux paramètres utilisés sont le maintien d'une concentration supérieure à la CMI, le rapport de la concentration maximale par rapport à la CMI, le rapport de l'AUC par la CMI et l'AUC supérieure à la CMI (AFSSA, 2006 ; Bousquet-Mélou et *al.*, 2012).

Différents outils moléculaires sont actuellement utilisés pour la détection et la caractérisation des gènes et des mutations impliquées dans la résistance aux antibiotiques. Ces gènes de

résistance aux antibiotiques sont situés soit sur des structures auto-répliquatives autonomes (de type plasmides), soit sur le chromosome. La méthode de choix, utilisée à la fois pour la détection des gènes de résistance et pour la mise en évidence de mutations est la PCR (Polymerase Chain Reaction) (AFSSA, 2006).

### **3.4. Usage des antibiotiques et la résistance : quels facteurs de risque ?**

Tout usage d'antibiotiques, même justifié, entraîne éventuellement la sélection de souches microbiennes résistantes. Le risque de développement de la résistance sera d'autant plus important que l'usage sera fréquent (en continu ou répété) et étendu à une forte proportion d'un troupeau (Chevalier, 2012).

L'utilisation d'antibiotiques en aviculture présente des caractéristiques qui peuvent constituer des facteurs de risques supplémentaires de sélection de résistances. Elles sont définies comme des points critiques :

- L'administration d'un traitement en élevage généralement réalisé par l'éleveur.
- La dose à administrer dépend souvent de l'âge des animaux : le sous-dosage peut être à l'origine de bactéries résistantes.
- La durée du traitement : cette durée d'administration qu'elle soit trop courte ou trop longue peut être à l'origine de la sélection de germes plus résistants.
- La fréquence d'administration doit être impérativement respectée : un rythme trop faible avec un antibiotique temps-dépendant entraîne des vides thérapeutiques à l'origine d'un sous-dosage primaire, aboutissant secondairement à la sélection de bactéries antibiorésistance (Guillot et *al.*, 1983)
- L'automédication : l'éleveur une fois confronté aux mêmes symptômes traitera ses animaux avec les mêmes antibiotiques que ceux précédemment prescrits par le vétérinaire, ne faisant appel à ce dernier qu'en cas d'échec thérapeutique. Cette pratique, si elle est mal conduite ou non adaptée à la maladie en cours, peut aboutir elle aussi à la sélection de bactéries résistantes (AFSSA, 2006).

### **3.5. Etat des lieux de l'antibiorésistance au Maroc**

Au Maroc, plusieurs études ont été menées dans le cadre de l'évaluation de l'antibiorésistance chez la volaille, les résultats se sont avérés alarmants.

Un suivi de l'antibiorésistance chez 410 souches d'*E. coli* isolées chez le poulet industriel dans la région de Rabat-Salé, pendant la période 2006-2011, a permis d'avancer les résultats suivants:

- Toutes les souches d'*E. coli* isolées entre 2006 et 2007 sont multi résistantes (résistantes à plus de trois familles antibiotiques).
- Une légère régression des souches multirésistantes avec une reprise de la sensibilité aux quinolones et  $\beta$ -lactames a été notée en 2008.
- A partir de 2009, il y a eu une augmentation remarquable de l'antibiorésistance qui s'est poursuivie jusqu'en 2011.

Il a été constaté que toutes les souches isolées étaient résistantes aux tétracyclines (Doxycycline et Oxytétracycline). La résistance au Thiamphénicol est passée de 45,5% en 2006 à 100% à partir de 2009. Parallèlement, la résistance aux quinolones, Triméthoprime-sulfamide et  $\beta$ -lactames a nettement augmenté durant la même période. Seule la résistance à la colistine a connu une évolution favorable passant de 36,36% en 2006 à 7% en 2011 (Nassik *et al.*, 2011).

Ces résultats ont permis de compléter en partie ceux rapportés par (Jaouzi *et al.*, 2004), concernant des souches isolées au laboratoire de pathologie aviaire de l'IAV Hassan II entre 1985 et 2003.

**Tableau 11 :** La résistance des souches d'*E.coli* vis-à-vis des principaux antibactériens entre 1985 et 2003(Jaouzi *et al.*, 2004)

Antibiotiques	Pourcentages des souches résistantes (%)				
	85/86	91/92	93/95	96/99	00/03
<b>Ampicilline</b>	20	14	NR	85	90
<b>Gentamicine</b>	0	7	8	52	80
<b>Chloramphénicol</b>	42	41	57	65	NR
<b>Oxytétracycline</b>	82	65	83	90	NR
<b>Colistine</b>	0	0,4	20	62	94
<b>Sulfamides</b>	62	78	80	81	NR
<b>TMP-sulfaméthoxazol</b>	8	61	67	80	70
<b>TMP-sulfachlorpyrid</b>	NR	NR	80	81	68
<b>Nitrofuranes</b>	64	1	10	15	19
<b>Acide oxolinique</b>	NR	24	56	63	NR
<b>Acide Nalidixique</b>	4	25	66	85	NR
<b>Fluméquine</b>	0	23	55	75	87
<b>Enrofloxacin</b>	NR	23	17	34	72
<b>Danofloxacin</b>	NR	NR	14	36	37
<b>Amoxicilline</b>	NR	NR	NR	65	98

NR= Non Réalisé

Une autre étude a été réalisée sur 70 cultures d'*E.coli* isolées à partir d'organes prélevés de cadavres autopsiés de poulets de type chair. Les prélèvements ont concerné le foie, le cœur, le poumon, la rate, la moelle osseuse et le sac vitellin de poussins d'un jour de type chair. Ces

cadavres de poulet ont été pris de différents élevages de poulet de chair de la région de Rabat-Salé-Zemour-Zaer, pendant la période allant de janvier 2012 à juin 2012. Toutes les souches isolées sont résistantes à l'Oxytétracycline, 88% le sont à l'Amoxicilline, 87,18% aux Sulfamides, 78,21% à l'Enrofloxacin et 63,89% sont résistantes au Florfénicol. Les molécules ayant un faible taux de résistance sont la Fosfomycine avec 17,65%, la Colistine avec 14,75% et la Gentamicine avec 11,76%. (Rahmatallah et al., 2015).

Le tableau suivant présente le pourcentage de résistance et de sensibilité des souches d'*E.coli* testées aux différentes molécules d'antibiotiques de Janvier à Octobre 2012.

**Tableau 12 :** Pourcentage de résistance et de sensibilité (intermédiaire et totale) des souches d'*E. coli* testées aux différentes molécules d'antibiotiques (de Janvier à Octobre 2012) (Rahmatallah et al., 2015)

<b>Antibiotiques</b>	<b>Sensible (%)</b>	<b>Intermédiaire (%)</b>	<b>Résistant (%)</b>
<b>Colistine</b>	77,03	10,81	12,16
<b>Gentamicine</b>	77,78	7,41	14,81
<b>Fosfomycine</b>	73,68	11,84	14,47
<b>Enrofloxacin</b>	4,17	19,44	78,21
<b>Amoxicilline</b>	5,71	5,71	88,00
<b>Oxytétracycline</b>	0,00	0,00	100,00
<b>Doxycycline</b>	0,00	1,64	98,36
<b>Florfénicol</b>	25,00	11,11	63,89
<b>TMP-Sulfamide</b>	5,13	7,69	87,18

Le phénomène de multirésistance est très élevé. Toutes les souches sont résistantes à en moins deux antibiotiques. La fréquence des souches résistantes à trois antibiotiques est de 97,44%, tandis que celle des souches résistantes à plus de quatre antibiotiques est de 80,77%, 55,13% des souches le sont à cinq antibiotiques (Rahmatallah et al., 2015)

Une étude réalisée en 2001 sur 57 souches de *S. enteritidis* isolées à partir des œufs, de l'aliment, et des fientes entre 1996 et 1997 dans différents élevages de poules pondeuses situés à Casablanca et Rabat a montré que 10,52% des souches isolées sont résistantes à la Colistine, 8,77% sont résistantes au Gentamicine et 3,51% aux Triméthoprim sulfaméthoxazole.

Le tableau suivant présente le pourcentage de résistance et de sensibilité des souches de *S. enteritidis* testées aux différentes molécules d'antibiotiques (Elared et *al.*, 2001).

**Tableau 13** : Antibiorésistance des souches *Salmonella enteritidis* isolées des œufs, de l'aliment et des fientes de poules pondeuses, dans la zone Rabat-Casablanca durant la période 1996-1997 (n=57) (Elared et *al.*, 2001)

<b>Antibiotiques</b>	<b>Souches résistantes(%)</b>
<b>Colistine</b>	10,52
<b>Gentamicine</b>	8,77
<b>Triméthoprime-sulfaméthoxazole</b>	3,51
<b>Florphénicol</b>	00
<b>Amoxicilline</b>	00
<b>Fluméquine</b>	00
<b>Doxycycline</b>	00
<b>Enrofloxacin</b>	00
<b>Ceftriaxone</b>	00

En 2017, une étude réalisée sur 25 souches de Salmonelle issues de 72 élevages situés dans différents régions du Maroc a montré que 42,85% des souches isolées sont résistantes à l'Oxytétracycline, 36% sont résistantes à l'Amoxicilline, 24% résistantes à l'Enrofloxacin, 8% au Thiamphénicol et 4% sont résistantes au Florphénicol et la colistine. (Aamili, 2017)

### **3.6. La lutte contre l'antibiorésistance**

Le développement de la résistance aux antibiotiques est un problème global. L'utilisation abusive et irréfléchie des antibiotiques a largement contribué à l'émergence des germes pathogènes multirésistants. Donc il s'agit d'un effet indésirable incontournable qui nécessite des actions de recherche, de surveillance et d'éducation destinées à développer un usage prudent, ciblé, et raisonné de cette classe thérapeutique essentielle pour les médecins et les vétérinaires afin de préserver la santé publique (Sanders, 2010).

Plusieurs stratégies doivent être développées pour minimiser ce fléau, elles peuvent être classées en deux catégories principales : éducative et restrictive :

Les mesures éducatives se concentreraient sur la sensibilisation des citoyens et des éleveurs du danger de l'automédication et l'utilisation irraisonnée des antibiotiques (Choi et *al.*, 2008),

Cependant, les mesures restrictives seraient considérées plus efficaces et auraient un impact plus durable que des stratégies éducatives :

- La mise en place des réseaux de surveillance de la résistance aux antibiotiques des principales bactéries isolées de cas cliniques chez les bovins, les porcs et les volailles. Les objectifs de ces réseaux seraient la détection de l'émergence de phénomènes d'antibiorésistance et le suivi de leur évolution dans le temps et dans l'espace (Blanco et *al.*, 1997).
- La diminution de l'usage des antibiotiques en élevage par la prévention des maladies et l'amélioration des mesures de biosécurité
- l'utilisation judicieuse des antimicrobiens, par un choix raisonné de l'antibiotique en tenant compte de l'identité du germe responsable, la capacité de l'antibactérien à atteindre le site d'infection, les données épidémiologiques et les résultats des antibiogrammes, ainsi il faut respecter les bonnes pratiques d'usage des antibiotiques «Traiter vite, Traiter fort, Traiter brièvement» (Abdennbi, 2006).
- Le développement de méthodes alternatives ou complémentaires à l'antibiothérapie

### 3.7. Les alternatifs à l'usage des antibiotiques en aviculture

Pour pallier à ce fléau, les acteurs de la filière avicole se trouvent dans l'obligation de réduire l'utilisation des antibiotiques et de s'orienter vers l'amélioration des mesures d'accompagnement sanitaires des élevages et le développement des alternatives à l'antibiothérapie.

Parmi les alternatifs les plus éventuels actuellement, on compte :

- **Les probiotiques** : micro-organismes d'intérêt zootechnique, ils exercent un effet hygiénique en intervenant sur la flore commensale et ont une action nutritionnelle en agissant comme promoteurs de croissance (Chattelet, 2007). Les résultats de certaines études ont montré que le probiotique exerce une activité inhibitrice très remarquable contre la microflore du poulet de chair et des *Escherichia coli* entérohémorragiques. Les résultats de la partie *in vivo*, ont montré que le probiotique agit en faveur des paramètres de croissance, régule la flore endogène et améliore le rendement en viande blanche (Ajdar, 2008). Les probiotiques, oligosaccharides considérés non comme additifs mais comme ingrédients, agissant dans le colon en stimulant le système immunitaire de l'animal, soutenant la flore commensale qui s'y trouve et y empêchant l'adhésion de bactéries pathogènes. Il est apparent qu'aucun de ces éléments ne peut remplacer ou atteindre les performances des additifs antibiotiques. Mais, ils restent une piste alternative à explorer.

- **Les prébiotiques** : sont des ingrédients des aliments non digestibles, qui ont un effet bénéfique sur l'animal par le biais d'une stimulation de la croissance et/ou de l'activité d'un nombre restreint d'espèces bactériennes déjà résidente dans la flore digestive de l'animal ce qui peut contribuer à l'amélioration de la santé de l'animal (Cummings et Kong, 2004 ; Gibson et *al.*, 2004).
- **Les acides organiques** : ils ont des effets bactériostatiques et bactéricides dans la lumière intestinale et ils sont à l'origine d'une meilleure acidification des aliments dans l'estomac. Parmi eux, on retrouve les acides acétique, lactique, citrique ou tartrique (Brutsaert, 2009).
- D'autres perspectives reposent sur l'introduction de deux classes de molécules thérapeutiques innovantes dans la prévention et le traitement de processus infectieux. L'intérêt de peptides antibactériens purifiés comme substances anti-infectieuses et l'usage préventif et curatif de molécules anti-oxydantes telles que la vitamine C et la vitamine E (Baret, 2007 ; Bennmahdi et *al.*, 2008) Les recherches actuelles sur le génome bactérien stimulent considérablement les travaux pour la découverte de nouveaux antibiotiques qui échapperont à la résistance, car elles auront un mécanisme d'action nouveau (Abdenni, 2006).
- **La phytothérapie** : correspond à l'utilisation de plantes, entières ou non, d'extraits de plantes ou de principes actifs à des fins thérapeutiques. Tous les moyens d'extraction, pourvu qu'ils n'entraînent pas de modification par synthèse chimique, sont autorisés. Les produits issus de ces plantes sont un mélange complexe de composants qui agissent en synergie. L'ensemble de ces molécules actives est appelé « totum » (ANSES, 2016).
- **L'aromathérapie** : correspond à l'utilisation des huiles essentielles à des fins thérapeutiques. En ce sens, elle peut être considérée comme un domaine particulier de la phytothérapie.

L'aromathérapie est considérée comme un candidat potentiel pour la réduction de l'utilisation des antibiotiques et la lutte contre l'antibiorésistance. La partie suivante s'attachera à définir les huiles essentielles d'un point de vue biologique et montrera ses différentes activités biologiques démontrées.

### **III. Généralités sur les huiles essentielles**

#### **1. Définition**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes composées de plusieurs constituants qui peuvent atteindre jusqu'à 300 molécules ou plus (Sell, 2006). L'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicerpe frais de certains agrumes, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques (Bouguerra, 2012).

#### **2. Historique d'utilisation des huiles essentielles**

Les premières preuves de fabrication et d'utilisation des huiles essentielles datent de l'an 3000 avant J.C. (Baser & Buchbauer, 2010). Les huiles essentielles semblent donc avoir accompagné la civilisation humaine depuis ses premières genèses. Les égyptiens puis les grecs et les romains ont employé diverses matières premières végétales ainsi que les produits qui en découlent, notamment les huiles essentielles. Ces utilisations concernaient différents domaines : parfumerie, médecine, rites religieux, coutumes païennes, alimentation, etc.

L'étape byzantine de la civilisation a permis l'instauration des bases de la distillation et, avec l'ère arabe de la civilisation, l'huile essentielle devient un des principaux produits de commercialisation internationale. Ainsi, vers l'an mille, Avicenne, médecin et scientifique persan, a défini précisément le procédé d'entraînement à la vapeur. L'Iran et la Syrie deviennent les principaux centres de production de divers types d'extraits aromatiques. Par la suite, les huiles essentielles ont bénéficié des avancées scientifiques, au niveau des techniques d'obtention et de l'analyse de leur composition chimique (Bouguerra, 2012). En Afrique noire les feuilles de tabac malaxées dans l'eau étaient utilisées pour lutter contre les moustiques. Au Maroc, l'utilisation des plantes contre les invasions de moustiques est une pratique très courante, surtout dans les régions rurales. De nos jours, la médecine moderne utilise les vertus thérapeutiques des huiles essentielles et de leurs constituants. En effet, de nombreux composés volatils sont aujourd'hui des ingrédients courants des préparations pharmaceutiques (Perfumer, 2009).

#### **3. Localisation, Fonction et Répartition**

La synthèse des huiles essentielles et leurs cumulations sont généralement reliées à la présence de structures histologiques spécialisées, souvent localisées sur / ou à proximité de la surface de la plante. Ce sont des cellules à huiles essentielles des *lauraceae* ou des

*zingiberaceae* , des poils sécréteurs des *lamiaceae*, des poches sécrétrices des *Myrtaceae* ou *Rutaceae*, des canaux des *Apiaceae* ou des *Asteraceae* (Buneton, 1999) La fonction biologique des terpénoïdes des huiles essentielles est mal connue. Il est toutefois vraisemblable qu'ils ont un rôle écologique, on remarquera que le rôle de certains d'entre eux a été établi expérimentalement aussi bien dans le domaine des interactions végétales (agents allélopathiques, notamment inhibiteurs de germination que dans celui des interactions végétal-animal : protection contre les prédateurs (insectes, champignons) et attraction des pollinisateurs (AFNOR, 1986).

Environ 1% des espèces combinées des essences, se caractérisent par le grand nombre d'espèces à essences qu'elles groupent et en particulier les labiés (Thym, Menthe, Lavande, Origan, Sauge, etc.), les Ombellifères (Anis, Fenouil, Angélique, Cumin, Coriandre, Persil, etc.), les Myrtacées (Myrthe, Eucalyptus), et les Lauracées (Camphrier, Laurier-sauce, Cannelle (Hellal, 2011).

#### **4. Propriétés physiques et chimiques des huiles essentielles**

##### **4.1. Propriétés physiques**

Liquides à température ambiante, les huiles essentielles sont volatiles ce qui les différencie des huiles dites « fixes ». Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est généralement inférieure à celle de l'eau à laquelle elles sont généralement peu miscibles voire non miscibles. Liposolubles, elles sont en revanche solubles dans les solvants organiques usuels (Cohen, 2013).

##### **4.2. Composition Chimique**

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de constituants qui appartiennent quasi exclusivement à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes et, beaucoup moins fréquents, le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane. Elles peuvent également renfermer divers produits issus de processus dégradatifs mettant en jeu des constituants non volatiles (Cohen, 2013).

###### **4.1.1. Terpénoïdes**

Dans les huiles essentielles, il s'agit essentiellement des terpènes les moins volatils, c'est-à-dire ceux de masse moléculaire peu élevée : mono- et sesquiterpènes. Les espèces intermédiaires étant porteuses de fonctions cationiques à réactivité variable, il existe plusieurs milliers de composés décrits.

#### **4.1.2. Monoterpènes**

Les carbures sont presque toujours présents. Ils peuvent être acycliques, monocycliques ou bicycliques. Ils constituent parfois plus de 90% de l'huile essentielle (Citrus, térébenthines).

#### **4.1.3. Sesquiterpènes**

Ils ont une variabilité structurale de même nature que les monoterpènes. L'allongement de la chaîne avant cyclisation lors de leur synthèse augmente le nombre de cyclisations possibles, d'où la très grande variété de structures connues.

#### **4.1.4. Composés aromatiques**

Beaucoup moins fréquents que les terpénoïdes, ce sont des dérivés du phénylpropane (C6-C3) ou en C6-C1 (vaniline). Certaines huiles essentielles comportent également des lactones dérivées des acides cinnamiques (les coumarines) (Cohen, 2013).

#### **4.1.5. Composés d'origines diverses**

Ces produits résultent de la transformation de molécules non volatiles, par dégradation des acides gras ou des terpènes. Ils sont présents dans les huiles essentielles lorsqu'ils sont entraînés dans la vapeur d'eau (Cohen, 2013).

### **5. Facteurs de variabilité de la composition des huiles essentielles**

Etant formées de mélanges généralement complexes, les huiles essentielles présentent une très grande variabilité, tant au niveau de leur composition, qu'au plan du rendement des plantes d'origine. Cette variabilité peut s'expliquer par différents facteurs (Besombes, 2008), que nous pouvons regrouper en deux catégories :

- Facteurs intrinsèques, liés à l'espèce, au type de clone, à l'organe concerné, à l'interaction avec l'environnement (type de sol ou climat, ...) et au degré de maturité du végétal concerné, voire au moment de la récolte au cours de la journée ;
- Facteurs extrinsèques, en lien avec ou la méthode d'extraction.

#### **5.1.Facteurs intrinsèques**

Les cellules productrices d'huile essentielle pouvant se situer dans différents organes, il est possible d'obtenir différentes huiles selon les parties sélectionnées d'une même plante. Ainsi les huiles essentielles extraites à partir des baies et des feuilles de piment ne sont pas identiques. Les travaux de Maffei et Sacco (1997), ont montré des différences de composition des huiles essentielles en raison d'organes différents (feuilles et fleurs) et de sous-espèces différentes.

Le stade végétatif au moment de la récolte est un facteur déterminant pour le rendement et la composition de l'huile essentielle des plantes de *Lavandula* obtenu par clonage (Fantino, 1990).

## 5.2. Facteurs extrinsèques

Huang et al. (1995) ont montré l'influence des méthodes d'extraction sur la composition des huiles essentielles.

Le stockage des matières premières avant distillation peut également influencer la composition et le rendement des huiles essentielles. Fantino (1990) a noté des pertes considérables d'huile essentielle lors d'un stockage prolongé au congélateur, mais peu d'évolution de la composition. Par ailleurs, le temps de stockage des huiles essentielles après extraction tend aussi à modifier la composition de ces huiles. D'après Carette (2000), les huiles essentielles se conservent entre 12 et 18 mois après leur obtention, car avec le temps, leurs propriétés tendent à décroître.

D'autres travaux ont mis en évidence l'influence de l'origine géographique de la matière première (Verzele et al., 1988).

## 6. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

### 6.1. Hydro distillation

Cette méthode est réalisée en deux étapes :

➤ La partie de la plante contenant la molécule à extraire est placée dans un ballon avec de l'eau et quelques morceaux de pierre ponce pour assurer le brassage de la solution. En chauffant, l'eau s'évapore entraînant avec elle les molécules aromatiques. En passant dans un réfrigérant, l'eau se condense et tombe dans un erlenmeyer où il est possible de distinguer 2 phases bien distinctes : l'huile essentielle dessous, et, l'eau aromatique (ou hydrolat) chargée d'espèces volatiles contenues dans la plante et ayant une densité plus élevée ;

➤ On récupère les 2 phases huile essentielle / eau aromatique, chargée d'espèces volatiles, dans une ampoule à décanter. Après avoir laissé reposer le contenu quelques secondes, il est possible d'éliminer totalement l'eau aromatique. Il ne reste alors plus que l'huile essentielle dans l'ampoule à décanter (Figure 2) (Attou, 2011).

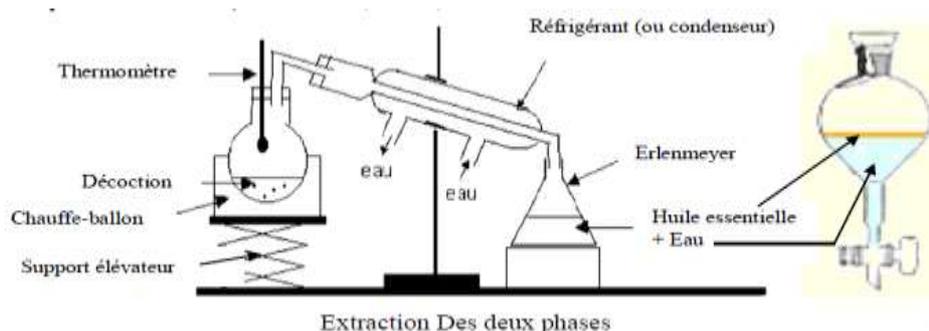


Figure 2 : Schéma des étapes de l'hydrodistillation (Attou, 2011)

## **6.2. Distillation à vapeur saturée**

Le principe de la distillation à vapeur saturée est le même que celui à l'hydrodistillation. Le matériel végétal n'est pas en contact direct avec l'eau, il est placé sur une grille perforée au-dessus de la base de l'alambic. La vapeur d'eau traversant la structure des cellules végétales emporte avec elle les composés volatils. Le distillat est ensuite récupéré par condensation, et les phases sont séparées ensuite par décantation (Lucchesi, 2005).

## **6.3. L'hydro diffusion**

Cette méthode diffère de la distillation à la vapeur seulement par le fait que la vapeur entre dans l'alambic par le haut, donc au-dessus des plantes, et non par dessous. La percolation convient parfaitement aux bois ou aux matériaux fibreux, car la vapeur peut s'y infiltrer (Lardry et al., 2007). Cette technique est employée usuellement dans les industries pour la production à grande échelle.

## **6.4. Expression ou pressage à froid**

Ce mode d'obtention ne s'applique qu'aux fruits d'agrumes (*Citrus spp.*) par des procédés mécaniques à température ambiante. Le procédé consiste à exercer sous un courant d'eau une action abrasive sur toute la surface du fruit. Après élimination des déchets solides, l'huile essentielle est séparée de la phase aqueuse par centrifugation.

La plupart des installations industrielles permettent en fait la récupération simultanée ou séquentielle des jus de fruits et de l'huile essentielle (Attou, 2011).

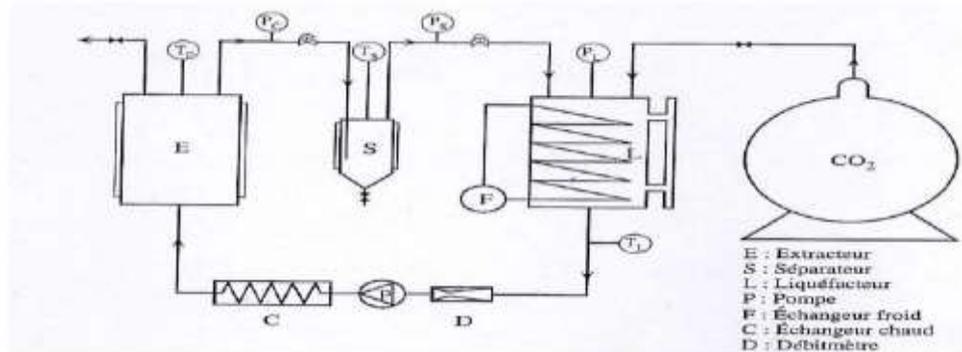
## **6.5. Enfleurage**

Cette méthode se rapproche quelque peu de l'extraction par solvants volatils, mais dans ce cas on utilise des graisses comme solvant. Ces dernières ayant elles aussi une forte affinité avec les composés odorants, cette méthode peut être réalisée à froid ou à chaud, et on obtient ainsi des absolues de pommade (Attou, 2011).

## **6.6. Extraction par CO<sub>2</sub> supercritique**

Le terme supercritique signifie que le CO<sub>2</sub>, sous pression et à une température de 31°C, se trouve entre l'état liquide et l'état gazeux. Lorsqu'il est dans cet état, il est capable de dissoudre les huiles essentielles. La matière végétale est chargée dans l'extracteur où est ensuite introduit le CO<sub>2</sub> supercritique sous pression et réfrigéré. Le mélange est ensuite recueilli dans un vase d'expansion où la pression est considérablement réduite. Le CO<sub>2</sub> s'évapore et il ne reste plus que l'huile essentielle qui est proche du naturel et sans trace de solvant.

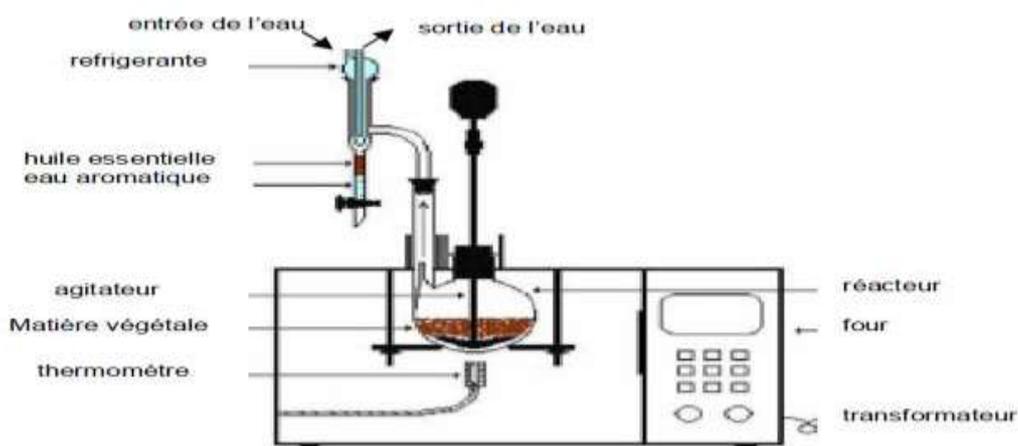
En outre, le CO<sub>2</sub> est non toxique, incolore, inodore et ininflammable, ce qui permet des conditions de sécurité supérieures (Figure 3) (Mohammedi, 2006 ; Sugisawa, 1981).



**Figure 3 :** Schéma du système d'extraction CO<sub>2</sub> des solides (Attou, 2011).

### 6.7.Extraction assistée par Micro-ondes

C'est un procédé utilisant les micro-ondes et les solvants transparents aux micro-ondes pour extraire de façon rapide et sélective des produits chimiques de diverses substances (Paré, 1997). Le matériel végétal est immergé dans un solvant transparent aux micro-ondes de manière à ce que seul le végétal soit chauffé. Les micro-ondes vont chauffer l'eau présente dans le système glandulaire et vasculaire de la plante, libérant ainsi les produits volatils qui passent dans le solvant (non chauffé). On filtre et on récupère ensuite l'extrait. L'extraction par micro-ondes a le grand avantage de réduire le temps d'extraction à quelques secondes (France Ida, 1996). Ce procédé (Fig. 4), très rapide et peu consommateur d'énergie, livre un produit qui est le plus souvent de qualité supérieure à celle du produit d'hydro distillation traditionnelle (Bruneton, 1999). Par ailleurs, l'analyse des huiles essentielles obtenues par cette méthode a montré selon Scheffer (1996) que la composition qualitative des huiles essentielles était la même que celle des huiles obtenues par distillation mais le pourcentage des constituants variait de manière significative (Lamamra, 2010).



**Figure 4 :** Principe schématisé de l'appareillage d'hydrodistillation sous micro-ondes (Lamamra, 2010)

## **7. Techniques d'analyse des huiles essentielles**

L'analyse des huiles essentielles est une opération délicate nécessitant la mise en œuvre de plusieurs méthodes. Ces dernières sont utilisables dans l'industrie pour contrôler la qualité et la régularité en vue d'une bonne commercialisation et pour y déceler une éventuelle spécificité en vue de sa valorisation.

### **7.1. La Chromatographie en Phase Gazeuse (CPG)**

C'est une méthode de choix pour la séparation d'un mélange complexe de produits volatils. La séparation des constituants de l'H.E est basée sur le phénomène d'adsorption des différentes substances à l'état vapeur sur la paroi du tube (Arpino et *al.*, 1995). Cette méthode permet d'effectuer l'individualisation des constituants à partir d'échantillons de l'ordre du milligramme voire du microgramme. Son principe est d'injecter dans le système, les mélanges à séparer et durant son passage à travers une colonne, les molécules qui le constituent sont distribuées. Cette distribution dépend des interactions sélectives selon la polarité de chaque partenaire qui en décide. Il en résulte donc un certain temps de rétention pour chacun des composants du mélange injecté. Cette valeur est mesurable, elle renseigne sur les différents pics du chromatogramme (Hoffmann et *al.*, 1991).

Les techniques de couplage de la CPG avec des techniques spectroscopiques (SM, IRTF) ont permis une approche beaucoup plus précise de l'identification.

### **7.2. Le couplage Chromatographie en Phase Gazeuse/Spectrométrie de Masse (CPG/SM)**

Si la chromatographie permet à elle seule de séparer correctement les différents constituants d'un mélange, il est néanmoins délicat de se livrer à une interprétation structurale permettant une identification certaine car les paramètres déduits de la rétention sélective des solutés au travers de la colonne sont souvent lourds à manier, et dans la plupart des cas, peu reliés aux édifices moléculaires organiques. L'idée de coupler une autre méthode physique d'investigation après séparation chromatographique, dans le but d'ajouter à la chromatographie une deuxième dimension analytique, s'est concrétisée dès 1960 dans la combinaison entre la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse CPG-SM (De Maack et Sablier, 1994).

Le principe de cette méthode consiste à transférer par le gaz vecteur (phase mobile) les composés séparés par chromatographie en phase gazeuse dans le spectromètre de masse au niveau duquel, ils vont être fragmentés en ions de masse variables dont la séparation sera en fonction de leur masse. La comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou

plusieurs bibliothèques de référence permet son identification à condition que la similitude des spectres, inconnus et de référence, soit suffisante et que les indices de rétention soient identiques dans des conditions opératoires comparables (Desjobert et *al.*, 1997; Bruneton, 1999).

Le couplage de la chromatographie en phase gazeuse avec la spectrométrie de masse (CPG/SM) permet d'effectuer simultanément la séparation et l'analyse des différents constituants d'un mélange complexe.

## **8. Activités biologiques des huiles essentielles**

Les huiles essentielles possèdent de nombreuses activités biologiques. En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne, par exemple contre les bactéries endocanalaire ou au niveau de la microflore vaginale et d'origine fongique contre les dermatophytes (Mghri et *al.*, 2009).

### **8.1. Activité antimicrobienne**

Les vertus antimicrobiennes des plantes aromatiques et médicinales sont connues depuis l'antiquité. Toutefois, il aura fallu attendre le début du 20<sup>ème</sup> siècle pour que les scientifiques commencent à s'y intéresser. Cependant, cette utilisation se basait sur des pratiques traditionnelles (Mghri et *al.*, 2009).

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles est principalement liée à leur composition chimique majeure et en particulier à la nature de leurs composés majoritaires (Hoffmann et *al.*, 1991).

Les terpénoïdes et les phénylpropanoïdes ont montré une activité antimicrobienne.

En effet, elle est admise que l'activité antibactérienne des huiles essentielles se classe dans l'ordre décroissant suivant la nature de leurs composés majoritaires :

**Phénol>alcool>aldéhyde>cétone>oxyde>hydrocarbures>esters.**

L'activité antimicrobienne des HE a fait l'objet d'un grand nombre de publications à l'échelle internationale (El Kalamouni, 2010).

La complexité de la composition chimique des huiles essentielles, toute laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des huiles essentielles ait son propre mécanisme d'action, d'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

\* Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.

\* Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.

\* Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (El Kalamouni, 2010).

## **8.2.Mécanisme d'action**

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des huiles essentielles il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire.

- Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique et une fuite d'ions (K<sup>+</sup>): ce mécanisme a été observé avec l'huile de l'arbre à thé sur les bactéries Gram<sup>+</sup> (*Staphylococcus aureus*) et Gram- (*E. coli*) et les levures (*Candida albicans*) in vitro.

- Certains composés phénoliques des huiles essentielles interfèrent avec les protéines de la membrane des micro-organismes comme l'enzyme ATPase, soit par action directe sur la partie hydrophobe de la protéine, soit en interférant dans la translocation des protons dans la membrane prévenant la phosphorylation de l'ADP. Une inhibition de la décarboxylation des acides aminés chez *Enterobacter aerogenes* a aussi été rapportée.

- Les huiles essentielles peuvent aussi inhiber la synthèse de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des polysaccharides.

- Le mode d'action des huiles essentielles dépend aussi du type de microorganismes : en général, les bactéries Gram- sont plus résistantes que les Gram<sup>+</sup> grâce à la structure de leur membrane externe. Ainsi, la membrane extérieure des bactéries Gram- est plus riche en lipopolysaccharides et en protéines que celle des bactéries Gram<sup>+</sup>, ce qui la rend plus hydrophile ; ceci empêche les terpènes hydrophobes d'y adhérer. Néanmoins, certains composés phénoliques de bas poids moléculaire comme le thymol et le carvacrol peuvent adhérer à ces bactéries (Malecky, 2008).

## **9. Techniques d'études du pouvoir antibactérien des huiles essentielles**

La technique utilisée pour déterminer le pouvoir antimicrobien des HE a une grande influence sur les résultats. Des difficultés pratiques viennent de l'insolubilité des constituants des HE dans l'eau, de leur volatilité et de la nécessité de les tester aux faibles concentrations (Rhayour, 2002).

## 9.1. Techniques en milieu liquide

### 9.1.1. Méthode de disques de Sarbach.

L'essence est déposée à différentes concentrations sur des disques en papier filtre de 10 mm de diamètre, l'ensemble est placé dans des tubes à essai. Dans chaque tube, est réparti un certain volume de bouillon nutritifensemencé. Une agitation mécanique est assurée pendant toute la durée de l'incubation.

L'action bactéricide totale est confirmée par repiquage en milieu liquide d'une anse prélevée sur le milieu liquide de subculture. Le pouvoir bactéricide partiel est apprécié par l'évaluation du pourcentage de survivants par repiquage en milieu solide (Rhayour, 2002).

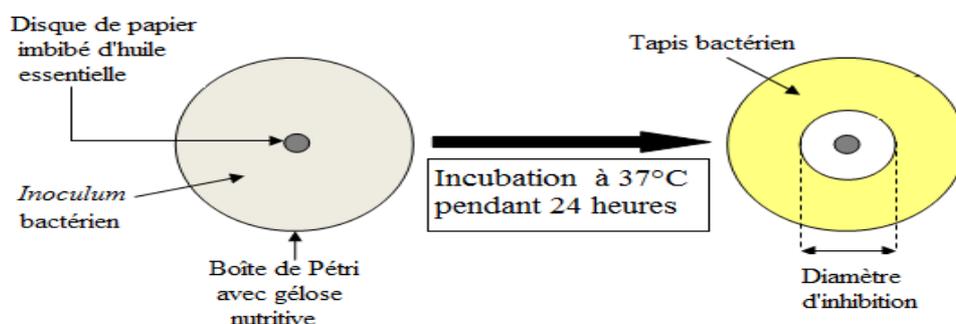
### 9.1.2. Méthode de Maruzuella

Elle permet l'étude du pouvoir bactéricide en bouillon après solubilisation de l'HE dans l'éthanol. Les solutions mères sont préparées dans l'éthanol 95%, la solution alcoolique est ensuite répartie à différentes doses dans le milieu liquide préalablementensemencé. Après la durée d'incubation, on effectue des subcultures qui permettent d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) (Rhayour, 2002).

## 9.2. Techniques en milieu solide

### 9.2.1. La méthode de diffusion sur les disques stériles

Elle est appelée aussi technique de l'aromatogramme. Elle consiste à utiliser des disques formés par des papiers filtre stérilisés de 6 mm de diamètres, imbibés d'huiles essentielles et déposés à la surface d'un milieu gélosé,ensemencé par inondation avec une souche bactérienne en bouillon nutritif de titre connu. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les zones d'inhibition apparaissent autour des disques stériles sont évaluées (Guinoiseau, 2010). Les essais sont répétés trois fois, la lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre d'inhibition exprimée en mm (Figure 5).



**Figure 5 :** Illustration de la méthode des aromatogrammes sur boîte de Pétri (Guinoiseau, 2010).

### **9.2.2. La méthode des puits.**

Elle correspond à la technique des disques stériles mais légèrement modifiée. Elle consiste à faire des trous dans la gélose coulée, solidifiée etensemencée par inondation avec une souche bactérienne dans les boîtes de pétrie et à les remplir d'un volume donné d'HE qui va diffuser dans la gélose. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, les zones d'inhibition apparaissent autour des disques stériles sont évaluées (Bouhdide, 2006).

### **9.2.3. Méthode de micro-atmosphère**

C'est une technique d'étude en phase vapeur. Son principe est d'ensemencer une boîte de pétri avec les germes tests, tandis que l'on dépose quelques gouttes d'HE sur un papier filtre au fond et au centre du couvercle. La boîte est incubée couvercle en bas. Il se produit une évaporation des substances volatiles. La lecture de la croissance des germes ou de leur inhibition, se fait après incubation (Burnichon et *al.*, 2003).

## **9.3.Détermination de la CMI**

La CMI n'est pas, pour une bactérie donnée, une constante biologique. Elle est définie par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) comme étant la plus faible concentration d'une gamme de dilutions d'antibiotique de demi en demi qui entraîne l'inhibition de toute croissance bactérienne visible.

La méthode par dilution successive en milieu solide est la méthode de référence pour déterminer la sensibilité bactérienne aux antibiotiques. Cette détermination exige une standardisation rigoureuse du protocole expérimental (influence de l'inoculum, du délai séparant ensemencement et observation, milieu de culture), toute modification des conditions expérimentales rendant l'interprétation difficile (Burnichon et *al.*, 2003).

## **9.4.Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB) en milieu solide**

La concentration minimale bactéricide (CMB) correspond à la concentration en HE nécessaire à laquelle l'action bactéricide est totale. Elle est rapportée comme étant la plus faible concentration où aucune croissance n'est observée après repiquage en milieu nutritif frais (Singh et *al.*, 2011) ou bien la concentration capable d'engendrer 99,9% de mortalité des cellules bactériennes initiales (Moreira et *al.*, 2005). Le test de la CMB succède directement au test de la CMI. En fait, la même gamme de concentration réalisée par la technique de dilution par la CMI est utilisée pour déterminer la CMB de l'huile essentielle à tester. La CMB est

déterminée par l'évaluation des survivants après l'élimination du composé inhibiteur (Rota et *al.*, 2008).

La méthode consiste à faire des prélèvements des cultures n'ayant pas donné de développement bactérien (résultat du test de la CMI) sur un milieu de culture neuf. Puis, les géloses ensemencées sont incubées à la température optimale du germe pendant 24 à 48 h. Après incubation, la CMB est considérée comme étant la concentration minimale en HE pour laquelle aucun développement bactérien n'est observé.

## **9.5. Autres méthodes**

### **9.5.1. Dynamique d'action des huiles essentielles par mesure de la décroissance bactérienne (Time-kill assay)**

Cette méthode permet de caractériser l'activité antibactérienne d'une huile essentielle au cours du temps. Elle permet d'évaluer la décroissance des bactéries soumises à une concentration donnée en huile essentielle, sur plusieurs heures (De Azeredo et *al.*, 2011).

### **9.5.2. Microscopie électronique à transmission**

Cette méthode consiste à observer les effets d'une huile essentielle au niveau cellulaire. Elle est principalement adaptée pour visualiser les altérations au niveau de la paroi ainsi que la perte du contenu cytoplasmique (Lambert et *al.*, 2001).

### **9.5.3. Compte total de viables (total viable count (TVC))**

Cette méthode consiste à utiliser une gélose de dénombrement (plate count agar) pour quantifier, après l'utilisation de l'inhibiteur, la concentration bactérienne présente dans les produits alimentaires tels que la viande, le lait, les produits à base de viande, etc. Elle est exprimée en unité formant colonie (UFC) par g ou par ml d'échantillon (Pavelková et *al.*, 2014).

## **9.6. Mode d'action des huiles essentielles**

Le mode d'action des huiles essentielles sur les cellules bactériennes n'est pas clairement élucidé (Kalemba et Kunicka, 2003 ; Burt, 2004).

Du fait de la variabilité des quantités et des profils des composants des HE, il est probable que leur activité antimicrobienne ne soit pas attribuable à un mécanisme unique, mais à plusieurs sites d'action au niveau cellulaire (Carson et *al.*, 2002). Etant donné la complexité de leur composition chimique, tout laisse à penser que ce mode d'action est assez complexe et difficile à cerner du point de vue moléculaire. Il est très probable que chacun des constituants des HE

ait son propre mécanisme d'action. Le mode d'action des HE dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane (Cox et *al.*, 2000 ; Carson et *al.*, 2002).

D'une manière générale, leur action se déroule en trois phases :

- attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires.
- acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie (Daferera et *al.*, 2003).

## **10. Activité antioxydante des huiles essentielles**

D'un point de vue chimique l'oxydation est générée par la présence des radicaux libres; espèces chimiques instables, neutres ou chargées qui cherchent toujours à récupérer un électron dans sa couche externe pour retrouver son état stable, très rapide et se propage en cascade.

Ils pointent surtout les corps gras comme les phospholipides des membranes cellulaires ainsi que les protéines. L'oxydation entraîne une modification ou une perte d'activité biologique de la molécule, en cas d'enzyme, ce qui conduit à des désorganisations cellulaires irréversibles qui provoque la mort cellulaire (Rolland, 2004)

Les antioxydants sont des molécules qui fixent les radicaux libres et protègent les protéines essentielles et qui diminuent ou empêchent l'oxydation d'autres substances chimiques (Weber, 2009).

Certains constituants des huiles essentielles présentent un pouvoir antioxydant très marqué et sont aujourd'hui commercialisés : c'est le cas de l'eugénol, du thymol, du carvacrol, etc. Les résultats déjà publiés montrent que les huiles essentielles constituent une bonne source d'antioxydants naturels recherchés pour leur innocuité relative (Tepe et *al.*, 2005)

### **10.1. Méthodes d'évaluation *in vitro* des propriétés antioxydants des huiles essentielles**

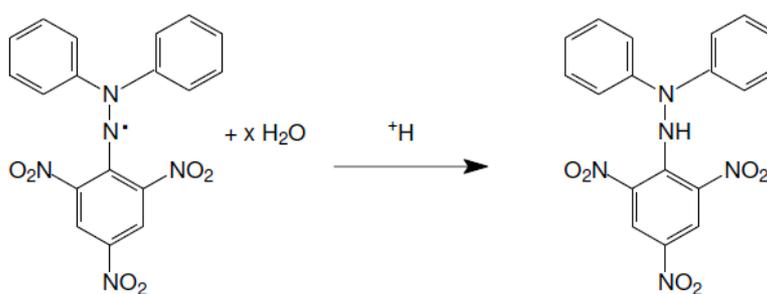
L'examen des données bibliographiques fait apparaître de nombreuses méthodes spectrométriques de détermination de l'activité antioxydante.

### 10.1.1. Méthode de piégeage du radical libre DPPH

Le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (capteur de proton) est un radical libre, stable au cours du temps

et largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante d'un composé quelconque (Trouillas *et al.*, 2003), le radical DPPH en solution est coloré en violet.

En présence d'antioxydant (donneurs de proton), le radical DPPH est réduit en formant une liaison moléculaire stable (figure 6). Le produit réduit présente une coloration qui tire vers le jaune. On mesure à l'aide d'un spectromètre UV à 517 nm, la diminution de coloration de la solution qui est proportionnelle à la quantité d'antioxydant. L'activité antioxydante de l'extrait est comparée à celle d'un antioxydant de référence en termes d'équivalence ou en termes d'inhibition.

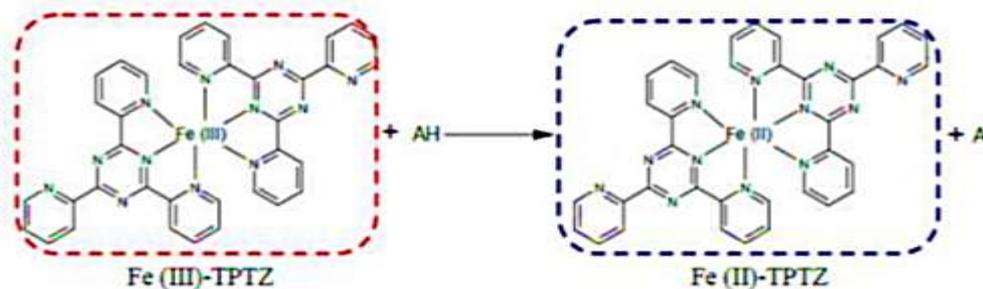


**Figure 6 :** Principe du test DPPH (Trouillas *et al.*, 2003)

### 10.1.2. La méthode de FRAP

Les métaux sont en général les meilleurs initiateurs de réactions en chaîne susceptibles de déséquilibrer la balance du stress oxydatif en faveur de pro-oxydants. Parmi ces métaux, le cation ferrique  $Fe^{3+}$  est le plus actif et on le retrouve souvent dans les aliments d'origine végétale ou animale. Le pouvoir réducteur d'un extrait vis-à-vis du cation ferrique peut être considéré comme un indicateur de son activité antioxydante. L'activité antioxydante, non enzymatique, d'inhibition de radicaux libres et de la peroxydation lipidique, est généralement contrôlée par des réactions d'oxydo-réduction, la méthode FRAP peut être une bonne méthode pour investiguer le pouvoir antioxydant d'un extrait en évaluant son pouvoir de réduction du cation ferrique.

La capacité totale en antioxydant de chaque extrait de plante est déterminée par la méthode Hinneburg adaptée par Lamien- Meda *et al.* en 2008. Le dosage consiste à réduire le complexe tripyridyltriazine ferrique [(Fe(III)-TPTZ] de couleur jaune en complexe ferreux [(Fe(II)-TPTZ] de couleur bleu, sous l'action d'un antioxydant par un transfert d'électron (figure 7). La variation de la coloration est mesurée 700 nm.



**Figure 7 :** Mécanisme réactionnel du test FRAP (Lamien- Meda *et al.* en 2008)

### 10.1.3. Test de blanchissement du $\beta$ -carotène :

Principe : L'activité antioxydante des échantillons est déterminée en mesurant l'inhibition de la dégradation oxydative du  $\beta$ -carotène par les produits d'oxydation de l'acide linoléique (Avlessi *et al.*, 2004). L'activité antioxydante relative des échantillons (AAR) est calculée selon l'équation suivante :  $AAR = \text{Abs de l'échantillon (t=48h)} / \text{Abs de l'échantillon (t=0)}$   
Absorbance lue à 490nm après 48h.

## 11. Toxicité des huiles essentielles

L'utilisation des huiles essentielles n'est pas à prendre à la légère. Les effets toxiques sont très variables d'une huile essentielle à l'autre et dépendent beaucoup de la sensibilité des consommateurs. Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de molécules, dont on peut distinguer deux groupes : les terpènes et les aromatiques.

Les terpènes et leurs dérivés sont formés d'unités isopréniques (unités pentacarbonnées ramifiées). Pour cette gamme de composés, seules les molécules de poids faible, entre 10 et 20 atomes de carbones, sont présents dans les huiles essentielles. Par conséquent, elles peuvent plus facilement pénétrer la peau et ainsi provoquer des allergies et des inflammations. Cependant, ces effets sont provoqués majoritairement par d'autres composés comme les lactones sesquiterpéniques, l'aldéhyde cinnamique et les phénylpropanoïdes.

Les huiles essentielles contenant certains composés aromatiques, notamment les phénols et dérivés, comme l'eugénol, le thymol et le carvacrol, sont à utiliser avec précautions. Ces molécules peuvent provoquer de sévères irritations sur les peaux sensibles ou les muqueuses. De plus, les cellules du foie peuvent se trouver altérées, lorsque les doses prises sont élevées et que la durée de la cure est longue.

D'autres familles de composés s'avèrent être également toxiques. Ceux sont les cétones, les aldéhydes et quelques esters. Les conséquences sur la santé vont de la photosensibilisation aux risques d'avortement, dans les cas les plus graves (Cazzola et Doublet, 2015).

#### IV. Cas particuliers des HE d'origan, de cannelle et de thym

##### 1. Origan compact (*Origanum compactum*)

###### 1.1.Présentation de la plante

- Nom Commun : Marjolaine sauvage
- Nom scientifique : *Origanum compactum*
- Nom local en arabe : Zaâtar, Sahtar tadlaoui
- Nom local en berbère : Zwi

###### 1.2.Description botanique



**Figure 8 :** *Origanum compactum* (Origan) (Fellah-trade, 2014).

*Origanum compactum* (figure 8) est une plante endémique du Maroc et de l'Espagne méridionale (Johandiez et Maire, 1932). Elle est commune dans le Nord et le Centre du Pays. Les noms vernaculaires sont « zaatar tadlawi » et « zaatar », ce dialectal est porté par d'autres origans du Maroc et divers thym (Bellakhdar 1997). Il est considéré par les Marocains comme le vrai za'tar, c'est le plus recherché.

C'est une plante vivace, en général pubescente, tige pubescente couverte de poils longs, feuilles caulinaires ovales-ovoïdes, velues, inflorescences en épis denses et courts, très pourprés, bractées florales ovales-lancéolées, rigides, coriaces, fleurs grandes, calice à 5 dents triangulaires et subégales, à marges ciliolées (Benabid 2000).

Il est rencontré dans les forêts, broussailles et matorrals, sur des sols bien drainés, sous des bioclimats Semi-arides et Subhumides à variantes chaudes et fraîches et au niveau des étages de végétations Thermo-méditerranéen et Méso-méditerranéen (Benabid 2000). Il est réparti

dans Moyen Atlas, le Maroc Atlantique Moyen, Maroc Atlantique Nord et le Rif (Fennane et *al.*, 2007).

### 1.3. Utilisations

Partout dans le Maroc, cet origan est considéré comme une panacée. Il est largement utilisé en médecine populaire en raison de ses multiples effets thérapeutiques. On l'emploie surtout, en infusions ou en décoction dans le traitement des dysenteries, des colites, des affections gastro-intestinales, de l'acidité gastrique et des affections broncho-pulmonaires, contre les rhumes, les gripes, les affections oto-rhino-laryngée (O.R.L.) et les bronchites. On l'administre aussi sous forme de fumigations. On l'utilise en gargarismes contre les affections de la bouche (aphtes et gingivites) (Bellakhdar 1997 ; Lahsissene et *al.*, 2009). Dans la région de Zaër, la tige feuillée, en infusion ou en décoction, est utilisée aussi comme hypoglycémiant (Lahsissene et *al.*, 2009). Enfin, il est employé comme tonique, aphrodisiaque et stimulant de l'appétit (Bellakhdar 1997). C'est aussi un condiment culinaire courant utilisé aussi comme conservateur pour le smen (beurre rance).

### 1.4. L'huile essentielle de l'origan

#### 1.4.1. Caractéristiques

Caractéristiques organoleptiques et physiques sont rapportées dans le tableau 14.

**Tableau 14 :** Caractéristiques physiques et organoleptiques de l'HE d'*Origanum compactum* (Belkamel et *al.*, 2013)

Caractéristiques	Huile essentielle d' <i>Origanum compactum</i>	
Organoleptiques	Aspect	Liquide, mobile et limpide
	Couleur	Jaune clair à jaune brunâtre
	Odeur	Phénolée et caractéristique du carvacrol
Physiques	Densité à 20°C	0,930 à 0,960
	Indice de réfraction	1,500 à 1,520
	Pouvoir rotatoire à 20°C	-4° à +4°
	Point éclair	+62°C

#### 1.4.2. Composition

Les principaux composants actifs de l'huile essentielle d'origan sont deux phénols et un monoterpène :

Le carvacrol (composé majoritaire), le thymol et le  $\rho$ -cymène. Le 4ème composant est le  $\gamma$ -terpinène, un autre monoterpène.

Suivant la variété d'origan, son huile essentielle aurait une proportion différente en ses composants. Par exemple, l'huile essentielle d'*Origanum compactum* contient environ 32.22 % de carvacrol et 22.67% de thymol (Tableau 15) (Belkamel et al., 2013). contre environ 80% de carvacrol et 2.5% de thymol pour *Origanum vulgare*. Quoiqu'il en soit, l'huile essentielle d'origan doit avoir une teneur en carvacrol et thymol au minimum de 60% (Pharmacopée européenne, 6<sup>ème</sup> édition).

Concernant les huiles essentielles commerciales d'origan, certaines peuvent ne pas être "typiques" dans le sens où elles peuvent être composées de 0.5% de carvacrol et 32% de thymol (le constituant majoritaire est alors le p-cymène à 40%) (Bruneton, 2009).

**Tableau 15** : Concentrations de 4 principaux composants dans 29 échantillons d'huile essentielle d'*Origanum compactum* (Belkamel et al., 2013).

Composants	Moyenne(%)	Concentration minimale (%)	Concentration maximale (%)	Ecart type
<b>Carvacrol</b>	31.22	14.37	56.36	7.337
<b>Thymol</b>	22.67	14.45	37.23	4.990
<b>Gamma terpinène</b>	18.6	10.7	26.26	3.928
<b>Para-cymène</b>	13	4.1	21.64	3.805

### 1.4.3. Activité antibactérienne

Les propriétés antibactériennes de l'huile essentielle de l'*Origanum compactum* et de ses extraits contre les bactéries pathogènes ont été mentionnées dans de nombreuses études et ont obtenu des résultats prometteurs (Bellakhder et al., 1997), comme l'effet antibactérien démontré de l'HE d'*Origanum compactum* contre cinq des bactéries pathogènes de *Salmonella sp* isolées à partir de denrées alimentaires.

L'huile essentielle de *O. compactum* a été testée également contre six bactérie Gram + (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* sérotype 4b, *Listeria innocua* et *Enterococcus faecium*) et quatre bactéries Gram - (*Escherichia coli* K12, *Escherichia coli* sérotype O157 : H7, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus subtilis*), et elle a inhibé la croissance de toutes les bactéries testées à des CMI allant de 0,0078 pour *S. aureus* (MBLA) à plus de > 1 % pour *P. aeruginosa* (Bouhdid et al., 2009).

### 1.4.4. Mode d'action et spectre d'activité

Différents modes d'action sont impliqués dans l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits de plantes. Du fait de la variabilité de la quantité et des profils chimiques des composants des huiles essentielles, il est probable que leur activité antibactérienne ne soit pas due à un seul mécanisme. Il est considéré que ces composants ont

plusieurs sites d'action au niveau cellulaire. En règle générale, il y a six mécanismes possibles de l'action antibactérienne :

- la désintégration de la membrane cytoplasmique
- l'interaction avec des protéines membranaires (ATPases et autres),
- la perturbation de la membrane externe des bactéries Gram- avec la libération des lipopolysaccharides,
- la déstabilisation de la force motrice de protons avec une fuite d'ions
- la coagulation du contenu de la cellule
- l'inhibition de la synthèse des enzymes.

Le mécanisme de l'action antibactérienne semble avoir une relation avec l'ensemble de constituants complexes des HE et non pas avec des composants actifs spécifiques, ce qui peut donner lieu à différents modes d'action et l'identification difficile du point de vue moléculaire (Carson *et al.*, 2002 ; Burt, 2004).

Le carvacrol (composant principal de l'HE d'*Origanum compactum*) a été démontré capable de déstabiliser la membrane cytoplasmique et agit comme un échangeur de protons, réduisant ainsi le gradient de pH à travers la membrane cytoplasmique. L'effondrement résultant de la force motrice de protons et l'épuisement des ATPs conduit finalement à la mort cellulaire (Ultee *et al.*, 2002).

L'huile essentielle d'*Origanum compactum* a montré une forte activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Cette activité peut être associée à la présence du carvacrol et du thymol, qui sont les principaux composants de l'huile. Le mécanisme d'action est lié à la capacité de l'huile essentielle d'*O. Compactum* pour induire une fuite des ions potassium K<sup>+</sup> intracellulaire à partir des cellules, induisant des altérations du potentiel membranaire et provoquant des altérations dans la membrane bactérienne. Ces modifications conduisent à la perte de la perméabilité sélective de la membrane et donc l'inhibition de l'activité respiratoire, ainsi que la perte d'autres activités enzymatiques essentielles, tous ces changements conduisent à la mort cellulaire (Bouhdid *et al.*, 2009).

#### **1.4.5. Toxicité**

La toxicité des huiles essentielles est difficile à établir. En effet, si l'on peut étudier et décrire les effets biologiques et/ou pharmacologiques d'un monoterpène ou sesquiterpène pur, il est difficile (voire impossible) de parler de pharmacologie de pharmacologie et pharmacocinétique

ou de métabolisme d'une huile essentielle, c'est-à-dire d'un mélange d'une centaine de composés (Bruneton, 2009).

Le carvacrol et le thymol purs sont (comme tous les phénols) irritants pour la peau et les muqueuses et sont également hépatotoxiques (Franchomme, 2001 ; Faucon, 2015). Un surdosage pourrait entraîner des convulsions (Labre, 2012). En usage humain, il est recommandé de ne pas dépasser 1% dans les mélanges (Germann, 2014).

Sur des souris, une administration par voie orale de 650 mg/kg de poids vif d'huile essentielle d'origan est létale. Par contre, des doses plus petites (environ 100-200 mg/kg) administrées quotidiennement et mélangées avec de l'huile d'olive sont très bien tolérées (Manohar et *al.*, 2001)

## 2. Cannelle de chine (*Cinnamomum cassia*)

### 2.1. Présentation de la plante

- Nom Commun : Cannelle de chine
- Nom scientifique : *Cinnamomum cassia*
- Nom local en arabe : Qarfa
- Nom local en berbère : Slikha

### 2.2. Description botanique



**Figure 9 :** *Cinnamomum cassia* (Cannelle de chine) (Ravindran, 2004)

*Cinnamomum cassia*, nommé également cannelle de chine, est un arbre indigène à feuilles persistantes qui appartient à la famille des lauracées. Originaire du Sud-Ouest de la Chine, cet arbre toujours vert, à feuilles simples, entières, insérées en hélice, coriaces, possède une écorce épaisse et rugueuse. Les inflorescences sont des grappes très ramifiées de fleurs blanchâtres, régulières et à 6 pétales. Le fruit est une baie ressemblant à celle du laurier noble. Il aime la pluie, une température élevée et un sol riche et léger (Rombi, 1991).

### 2.3. Utilisations

Dans les pays de l'Est et de l'Ouest de l'Asie, l'écorce de la cannelle de Chine a été considérée comme une épice naturelle populaire depuis l'antiquité, et a été traditionnellement utilisée dans les traitements de la gastrite, troubles de la circulation sanguine, dyspepsie et maladies inflammatoires (Choi et al., 2001, Wang et al., 2008). En Chine, c'est l'un des principaux produits médicinaux chinois tels qu'ils figurent dans la Pharmacopée de la République populaire de Chine. L'huile essentielle obtenue à partir de l'écorce et des jeunes branches de cette plante a été largement utilisée dans la médecine, comme additif alimentaire et dans la cosmétique en raison de ses propriétés uniques, telles que les propriétés antioxydantes (Lin et al., 2003), antifongique (Lee et al., 2007) et antibactérienne (Chang et al., 2001). En outre, les produits contenant de l'huile de *C. cassia* peuvent également être utilisés comme répulsifs potentiels et agents antitumoraux (Chang et al., 2006).

### 2.4. L'huile essentielle de la cannelle

#### 2.4.1. Caractéristiques

Cette huile essentielle est obtenue par distillation de feuilles ou d'écorces de cannelle (Labre, 2012)). L'huile essentielle de feuilles de cannellier est plus douce que l'huile d'écorces de cannellier (Germann, 2014). L'écorce de cannelle contient au minimum 12% d'huile essentielle et fournit 20 ml/kg de cette huile (Bruneton, 2009).

Une bonne huile essentielle de cannelle doit avoir les caractéristiques physiques et organoleptiques suivantes. (Tableau 16)

**Tableau 16 :** Caractéristiques physiques et organoleptiques de l'HE de *Cinnamomum cassia* (Germann, 2014)

Caractéristiques	Huile essentielle de <i>Cinnamomum cassia</i>	
Organoleptiques	Aspect	Liquide
	Couleur	Jaune à marron rougeâtre
	Odeur	Chaude, sucrée, rappelant l'odeur du cinnamaldéhyde
Physiques	Densité à 20°C	1,052 à 1,070
	Indice de réfraction à 20°C	1,600 à 1,614
	Pouvoir rotatoire	-1 à +4°
	Point éclair	+88°C

### 2.4.2. Composition

Dans la Pharmacopée Européenne, on trouve également l'huile essentielle de cannellier *C. cassia*. A l'époque où la Pharmacopée Française était encore d'usage, elle n'était pas inscrite. Cette huile essentielle est extraite des feuilles et des jeunes rameaux. Elle sert parfois à falsifier l'huile essentielle de cannelle de Ceylan, son coût étant bien moindre.

Les composés principaux sont :

- L'aldéhyde trans-cinnamique : entre 70% et 90%
- L'acétate de cinnamyle : entre 0% et 6%
- L'eugénol : inférieur à 0.5%
- La coumarine : entre 1.5% et 4.0%
- Le trans-2méthoxycinnamaldéhyde : entre 3.0% et 15%

L'eugénol est quasiment absent de cette huile essentielle ; c'est cependant la plus riche en aldéhyde trans-cinnamique (la plus part du temps supérieur à 85%) et on trouve une quantité plus importante de coumarine

### 2.4.3. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle de cannelle de Chine (riche en trans-cinnamaldéhyde) a été démontrée *in vitro* contre *Escherichia coli O157:H7*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus*... (Pozzatti et al., 2010 ; Unlu et al., 2010).

Elle est également active sur *P. aeruginosa* et elle est capable de la détruire sous forme de biofilm (Kavanaugh et al., 2012)

Cependant l'huile essentielle de cannelle de Chine n'a pas d'action sur *L. monocytogenes* (Rusenova et al., 2009).

### 2.4.4. Mode d'action et spectre d'activité

Les huiles essentielles de cannelle (de tout type) ont un spectre antibactérien large. Elles ont une action antibactérienne démontrée sur les bactéries à Gram+, les bactéries à Gram- et les champignons (Rusenova et al., 2009).

D'après Helander et al. (1998), contrairement aux phénols (carvacrol et thymol), le cinnamaldéhyde ; composé majoritaire de l'HE de cannelle ; ne montre pas de désintégration de la membrane externe des bactéries à Gram- ni de diminution de l'ATP intracellulaire. Le *trans*-cinnamaldehyde aurait accès directement au périplasme et aux parties profondes de la

cellule. Cependant, Kim *et al.* (2004) ainsi que Di Pasqua *et al.* (2007) démontrent par observation au microscope électronique de bactéries *E. coli* et aussi de *S. aureus* et *S. typhimurium*, que le cinnamaldéhyde peut tout de même endommager et détruire la structure de la surface bactérienne.

Une autre étude de Gill et Holley (2004) n'est pas tout à fait en accord avec la théorie de Helander. Comme pour l'eugénol, ils démontrent que l'ATP intracellulaire sur *L. monocytogenes* diminue en présence de cinnamaldéhyde, mais que cette diminution est moins importante quand les bactéries sont au préalable mises en présence de glucose. Ils émettent plusieurs hypothèses suite à l'expérience

- Le cinnamaldéhyde agit comme modificateur membranaire inhibant l'absorption du glucose par la bactérie ce qui inhiberait la synthèse d'ATP.
- Le cinnamaldéhyde inhiberait l'utilisation du glucose par la bactérie en agissant sur le système enzymatique de la glycolyse.
- Ils émettent aussi une 3<sup>ème</sup> hypothèse selon laquelle le cinnamaldéhyde perturberait la membrane cytoplasmique et induirait la fuite de protons (H<sup>+</sup>) et d'autres ions (mais pas de grosses molécules comme l'ATP), perturbant la force protomotrice et la synthèse d'ATP. Ne possédant pas de fonction hydroxyle comme le carvacrol, le thymol, l'hypothèse du cinnamaldéhyde comme transporteur transmembranaire de protons et d'ions K<sup>+</sup> est peu probable, selon eux (Gill et Holley, 2004).

Indépendamment, de cela, il a été démontré que le cinnamaldéhyde peut se lier à la protéine FstZ. La protéine FstZ est une protéine procaryote homologue à la tubuline (protéine du cytosquelette des cellules eucaryotes). Sa polymérisation permet la séparation des cellules filles lors de la division cellulaire. Par sa liaison, le cinnamaldéhyde perturberait ainsi sa polymérisation et donc la multiplication cellulaire (Domadia *et al.*, 2007).

En conclusion, le mode d'action antibactérien du cinnamaldéhyde reste à préciser. L'action au sein même de la cellule et la capacité à endommager la surface des bactéries est démontrée. Cependant, des interrogations persistent concernant l'action ou non de cette molécule sur les membranes cellulaires et toutes les études ne sont pas d'accord sur ce point.

#### **2.4.5. Toxicité**

Les cannelles à cinnamaldéhyde sont des huiles essentielles qui sont très irritantes et caustiques pour les muqueuses et la peau (utilisé dans des excipients et à faible dose) (Labre, 2012). La concentration maximale est de 0.5% et ne doit être utilisée qu'en application externe (Germann, 2014). Elle est contre indiquée en cas de gestation (Bruneton, 2009).

L'HE de la cannelle est également hépatotoxique du fait qu'elle contient des quantités plus ou moins importante de la coumarine et elle est potentiellement tératogène chez le poulet (Couderc, 2001)

La toxicité aiguë de l'huile essentielle est très faible (DL50 = 4.16 g/kg chez le rat par voie orale) (Bruneton, 2009).

La consommation de cannelle ne présente pas de risques à la dose journalière acceptable pour l'humain a été fixée à 1.25 mg/kg de cinnamaldéhyde (Bruneton, 2009).

### 3. Thym (*Thymus vulgaris*)

#### 3.1. Présentation de la plante

- Nom Commun : Thym
- Nom scientifique : *Thymus vulgaris*
- Nom local en arabe : Zaitra

#### 3.2. Description botanique



**Figure 10 :** *Thymus Vulgaris* (Thym) (Iserin, 2001).

*Thymus vulgaris* est couramment appelées thym ou serpolet, de la famille des Lamiacées et l'ordre des lamiales. Ce genre comporte plus de 300 espèces. Ce sont des plantes rampantes ou en coussinet portant de petites fleurs rose pâle ou blanches (fig.10) Ces plantes sont riches en huiles essentielles et à ce titre font partie des plantes aromatiques. La principale huile essentielle du thym commun (*Thymus vulgaris*) est un terpénoïde qui lui doit son nom, le thymol, une substance bactéricide. Dans le sud de la France, le thym est aussi fréquemment appelé farigoule (de son nom occitan : farigola) (Arvy et *al.*, 2003 ; Iserin et *al.*, 2001).

#### 3.3. Utilisations

En médecine populaire, le thym est utilisé sous forme de bains aromatiques (en respectant les restrictions d'emploi usuelles) ou en compresses préparées après infusion à 5 %, pour le

traitement complémentaire des pathologies hivernales et en cas de prurit. Des extraits de thym sont utilisés par voie orale dans le traitement des dyspepsies et autres troubles gastro-intestinaux.

Des applications par voie externe d'extrait de thym sont préconisées dans le traitement de plaies superficielles, du rhume et des affections de la cavité buccale. L'huile essentielle et le thymol entrent dans la composition de pommades antiseptiques et cicatrisantes, de sirops antitussifs et de préparations pour inhalation (GOETZ *et al.*, 2012).

#### ❖ Indications actuelles

Selon l'agence du médicament (1998), la feuille et les sommités fleuries sont indiqués :

- Dans le traitement symptomatique de la toux et des troubles digestifs (ballonnement épigastrique, lenteur à la digestion, éructations, flatulence) ;
- Dans la médication de petites plaies après lavage abondant ;
- En cas de nez bouché et de rhume ;
- Comme antalgique dans les affections de la cavité buccale et/ou du pharynx ;
- En bain de bouche pour l'hygiène buccale.

En Allemagne, la Commission E précise que la feuille et les fleurs sont utilisées dans le traitement symptomatique des bronchites et de la coqueluche, ainsi qu'en cas d'inflammation des voies respiratoires supérieures.

L'huile essentielle et le thymol entrent dans la composition de diverses spécialités (pommades antiseptiques et cicatrisantes, sirops pour le traitement des affections des voies respiratoires, préparations pour inhalation).

L'huile essentielle est largement utilisée en aromathérapie comme antiseptique, alors que le thymol comme antiseptique externe et intestinal, entre dans la composition de spécialités destinées à l'antisepsie buccale et au traitement d'irritations cutanées.

Le thym est utilisé sous forme de bains aromatiques (avec une température comprise entre 35 et 38 °C et une durée limitée entre 10 à 20 min), ainsi qu'en traitement complémentaire en cas d'affections aiguës ou chroniques des voies respiratoires ou de prurit lié à une dermatose. On l'utilise aussi en frictions, diluée à 10 %, pour traiter les douleurs rhumatismales et les névralgies (Goetz *et al.*, 2012).

### **3.4. L'huile essentielle du thym**

#### **3.4.1. Caractéristiques**

Cette huile essentielle est obtenue par hydro distillation de la partie aérienne de Thym.

Une bonne huile essentielle de thym doit avoir les caractéristiques physiques et organoleptiques suivantes (Garnero, 1991 ; Fesneau, 2005 ; Naves, 1974). (Tableau 17)

**Tableau 17** : Caractéristiques physiques et organoleptiques de l'HE de *Thymus vulgaris*

Caractéristiques	Huile essentielle de <i>Thymus vulgaris</i>	
	Aspect	Liquide
Organoleptiques	Couleur	Jaune rougeâtre
	Odeur	odeur aromatique âcre et de saveur fortement piquante
	Densité à 20°C	0,9 à 0,955
Physiques	Indice de réfraction à 20°C	1,491 à 1,510
	Pouvoir rotatoire	-5 à +0°

### 3.4.2. Composition

(Bruneton, 2009 ; Rota et al., 2008 ; Takeushi et al., 2004 ; Teusher et al., 2005 ; Thompson et al., 2003 ; Van den Broucke et al., 1983 ; Wang et al., 1991 ; Who et al., 1999)

Familles de constituants chimiques	Constituants chimiques
Huile essentielle (5 à 25 mL/kg) de composition variable (chimiotypes)	Thymol (36-55 %), carvacrol (1-5%), cymène (15-28 %), $\gamma$ -terpinène (5-10 %), $\beta$ -myrcène, $\alpha$ -terpinène, terpinène-4-ol (0,2-2,5 %), linalol (4-6,5 %), $\alpha$ -terpinéol, camphre, géraniol, 1,8-cinéole, trans-thujanol, acétate de géranyle, acétate de linalyle, acétate d' $\alpha$ -terpényle, trans-sabinène
Flavonoïdes	- Flavones libres : apigénine, 6-hydroxylutéoline et lutéoline - Flavanonols : taxifoline - Flavanones : naringénine - Flavones méthoxylées : cirsilinéol, 8-méthoxycirsilinéol, cirsimaritrine, ériodictyol, genkwanine, sakuranétine, salvigénine, sidéritoflavoné, thymonine et thymusine - Hétérosides flavoniques : apigénine-7-glucoside, lutéoline-7-glucoside et vicénine-2
Dérivés de l'acide hydroxycinnamique (= principes amers des Lamiacées, jusqu'à 2,5 %)	Acide rosmarinique (environ 0,8 à 2,6 %)
Dérivés de l'acétophénone glycosylés	4-hydroxyacétophénone et des hétérosides estérifiés avec des dérivés de l'acide benzoïque (27)
Triterpènes	acide ursolique (1,9 %), acide oléanolique (0,6 %)
Monoterpène glycosylé	2- et 5- $\beta$ D-glucopyranosylthymoquinols, angelicoïdénol- $\beta$ -D-glucopyranoside, - <i>p</i> -cymen-9-yl $\beta$ -D-glucopyranoside

### 3.4.3. Activité antibactérienne

Des extraits de thym ainsi que son huile essentielle et le thymol sont fortement antimicrobiens. Tous les chimiotypes sont actifs, mais l'activité bactéricide est plus marquée pour les types à thymol et à carvacrol. Cette activité s'exerce vis-à-vis de *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* et d'autres espèces

bactériennes. L'effet antibiotique du thymol est 25 fois supérieur à celui du phénol et moins toxique que ce dernier (Aureli et *al.*, 1992 ; Burt et *al.*, 2003 ; Dorman et *al.*, 2000 ; Horvath et *al.*, 2009 ; Marino et *al.*, 1999 ; Panizzi et *al.*, 1993 ; Rota et *al.*, 2008 ; Takeushi et *al.*, 2004 ; Tohidpour et *al.*, 2010).

La croissance de *Helicobacter pylori* est également inhibée par l'extrait aqueux de thym qui potentialise l'activité de l'uréase (Tabak et *al.*, 1996).

### **3.5. Toxicité**

Le potentiel de sensibilisation du thym est faible. Quelques réactions allergiques ont été observées ponctuellement, mais il existe des réactions croisées avec d'autres *Lamiaceae*. L'huile essentielle n'est responsable d'aucune sensibilisation chez les sujets de plus de 12 ans (Goetz et *al.*, 2012).

## **V. Colibacillose et Salmonellose aviaires**

### **1. Colibacillose aviaire**

Les colibacilloses sont fréquentes en pathologie aviaire. Entraînant de la mortalité, des baisses de performances et des saisies à l'abattoir, elles engendrent également des pertes économiques importantes. Les colibacilloses prennent des formes localisées ou bien générales, avec une voie d'entrée plutôt respiratoire. En revanche, il semble à ce jour que la plupart des colibacilles aviaires ne soient pas zoonotiques (Brugere-Picoux, 2015).

La bactérie *Escherichia coli* est un germe commensal de tube digestif, son caractère opportuniste fait qu'il peut engendrer la maladie en cas de stress, de défaillance en gestion d'aération et d'hygiène générale, de présence d'infections concomitantes (mycoplasmoses), ou de surinfections bactériennes.

#### **1.1. Historique et Systématique**

*Escherichia coli*, également appelée colibacille et abrégée en *E. coli*, a été découverte en 1885 par Theodor Escherich, dans des selles des chèvres, c'est un coliforme fécal généralement commensal. Cependant, certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes, entraînant alors des gastro-entérites, des infections urinaires, des méningites.

*Escherichia coli* (*E. coli*) est une bactérie à Gram négatif, asporulée, le plus souvent mobile. Elle est présente dans le tube digestif de la volaille et est généralement bénéfique. Elle contribue en effet au développement et à la croissance de l'oiseau. Mais sur un animal affaibli par une infection virale ou de mauvaises conditions environnementales, le colibacille profite d'une altération des défenses de l'hôte pour proliférer et devenir pathogène.

Sa classification est la suivante :

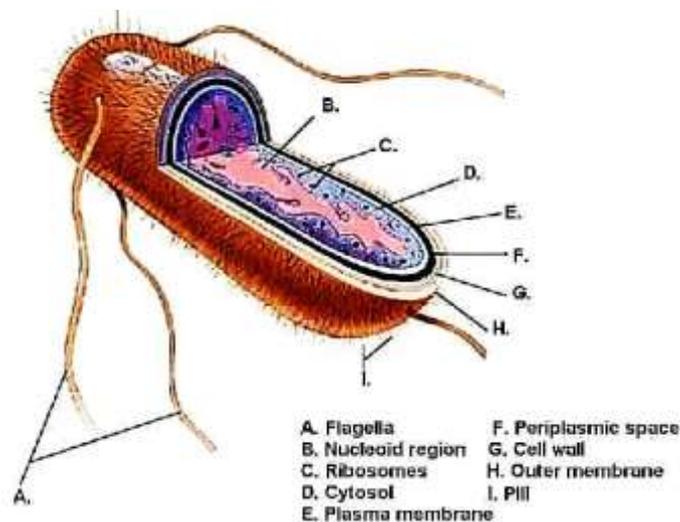
- ✓ **Règne** : Procaryotae
- ✓ **Domaine** : Bacteria
- ✓ **Phylum** : Proteobacteria
- ✓ **Classe** : Gammaproteobacteria,
- ✓ **Ordre** : Enterobacterales,
- ✓ **Famille** : Enterobacteriaceae
- ✓ **Genre** : *Escherichia*
- ✓ **Espèce** : *Escherichia coli*

## 1.2. Caractères bactériologiques

### 1.2.1. Caractères morphologiques et structuraux

#### 1.2.1.1. Morphologie

*E. coli* est un bacille, donc de forme cylindrique (bâtonnets) ou Coccobacillaire, gram négatif uniformément coloré, non sporulé, de 2µm à 4µm de long sur 0.4-0,6µm de large. Il se présente soit seul ou groupé le plus souvent par deux (diplobacilles), très rarement ils sont rencontrés en amas. Ils sont mobiles grâce à une ciliature péritriche (figure 11) (Szalo et *al.*, 2006).



**Figure 11** : Morphologie et structure de la bactérie *E. coli* (Szalo et *al.*, 2006).

#### 1.2.1.2. Structure

La paroi des *Escherichia coli* a une constitution identique à celle des bactéries à Gram négatif.

Elle se présente sous forme de deux membranes, interne et externe. Les deux membranes sont séparées d'un espace périplasmique, au milieu duquel vient se loger le peptidoglycane. La

membrane externe est formée d'une couche phospholipidique intérieure surmontée de macromolécules LPS (lipopolysaccharides) ce dernier est composé de trois entités synthétisées séparément, qui seront par la suite assemblées l'une à l'autre.

- **Le lipide A** : appelé aussi endotoxine c'est un disaccharide D-glucosamines, enchâssé dans la membrane externe représente la partie proximale du LPS qui est fortement conservé. C'est l'élément pathogène majeur car il est responsable de l'activation de la réponse immunitaire non spécifique et des chocs endotoxiniques
- **Le noyau** : c'est un composé d'hydrates de carbone, noyau interne très conservé et noyau externe plus variable qui forme la partie médiane de la bactérie
- **L'antigène O** : composé d'un oligosaccharide, chaîne d'hydrates de carbone identique entre eux ou non, et représente l'interface entre la bactérie et son milieu. Une très grande variabilité intra-spécifique concernant l'antigène O est observée, selon le type d'hydrate de carbone, leur nombre et la présence de substitutions latérales. Plus de 170 sérogroupes O ont ainsi été distingués chez *E. coli*. Le LPS d'une bactérie donnée ne porte généralement qu'un seul type d'antigène O. Mais chez *E. coli*, le LPS peut aussi être le support des antigènes capsulaires K1 et K4 (Szalo et *al.*, 2006).

### 1.2.2. Caractères cultureux

*E. coli* pousse sur milieux ordinaire à une température optimale de 37°C. Incubées 24 heures sur gélose agar à 37°C, les colonies sont convexes, lisses et incolores. Elles ont en général un diamètre compris entre 1 et 3 mm avec une structure granulaire, une marge intacte, un aspect métallisé et une consistance gluante (Bergey et *al.*, 1984 ; Ziani, 1992).

### 1.2.3. Caractères biochimiques

Les principaux caractères biochimiques d'*Escherichia coli* seront présentés dans le tableau 14 (Bergey et *al.*, 1984).

**Tableau 18** : Caractères biochimiques d'*Escherichia coli*

Tests biochimiques	Réaction	Tests biochimiques	Réaction
Oxydase	-	Gaz	+ ou -
Lactose	+	Glucose	+
Test ONPG	+	Gelatinase	-
H <sub>2</sub> S	-	Mannitol	+
LDC	D	Inositol	-
ODC	D	VP	-
ADH	D	Desaminase	-
Uréase	-	Mobilité	+ ou -
TDA	-	Indol	+

**LDC** : Lysine-décarboxylase, **ODC** : Ornithine-décarboxylase, **ADH** : Arginine-dihydrolase, **VP** : Vogues-Proskauer (recherche de l'acétoïne), **TDA** : désaminases du tryptophane et de laphénylalanine, **ONPG** : orthonitrophényl-β-D-galactopyranoside, **D** : Différents types biochimiques, + : positif, - : négatif.

### 1.3.Caractères antigéniques

Les principaux antigènes des *Escherichia coli* sont :

La surface d'*E. coli* est menue de trois types d'antigènes : somatique (Ag O) définissant le séro groupe, L'antigène flagellaire (Ag H) qui est de nature protéique entrant dans la structure du flagelle permettant la mobilité de la bactérie et l'antigène de surface (Ag K) est présent de façon inconstante mais bloque l'agglutinabilité de l'antigène O s'il est présent. L'identification des antigènes et sérogroupes a permis de différencier entre les souches pathogènes et les souches commensales (Beutin, 1999).

#### a) Les antigènes somatiques O

Actuellement plus de 180 antigènes somatiques différents ont été identifiés (Brugere-Picoux, 2015). Les antigènes O sont partis du lipopolysaccharide (LPS) et contiennent une fraction protéique qui rend l'ensemble antigénique, avec un grand nombre d'unités répétées d'oligosaccharides de 6 à 34 sucres dont la combinaison détermine la diversité des antigènes O. Ils sont thermostables avec un pouvoir agglutinant en présence d'un immunosérum complémentaire on peut avoir un séro groupe, ce qui permet de différencier des souches pathogènes des souches commensales, les sérotypes pathogènes les plus isolées chez le poulet sont : O1, O2 et O78 (Ziani, 1992).

### b) Les antigènes flagellaires H.

Il y a 60 antigènes H, et ce sont de nature protéique, thermolabile. L'antigène H permet à la bactérie de se mobiliser, ces antigènes sont variables entre espèces mais aussi parfois au sein d'une même espèce et contribuent à définir le sérovar. L'espèce *E. coli* peut être subdivisée en sérotypes par la combinaison des deux antigènes somatique O et flagellaire H ou sérogroupes si l'antigène somatique O seul a été déterminé.

### c) Les antigènes K

Ce sont en nombre de 80. Ce sont des acides polymériques au niveau de la membrane bactérienne, on distingue trois types d'antigènes K selon leur pouvoir de saturation des agglutinines et leur thermolabilité (Bergey et al., 1984).

d) **L'antigène L** : c'est un antigène de surface, de nature protéique, thermolabile et fréquent

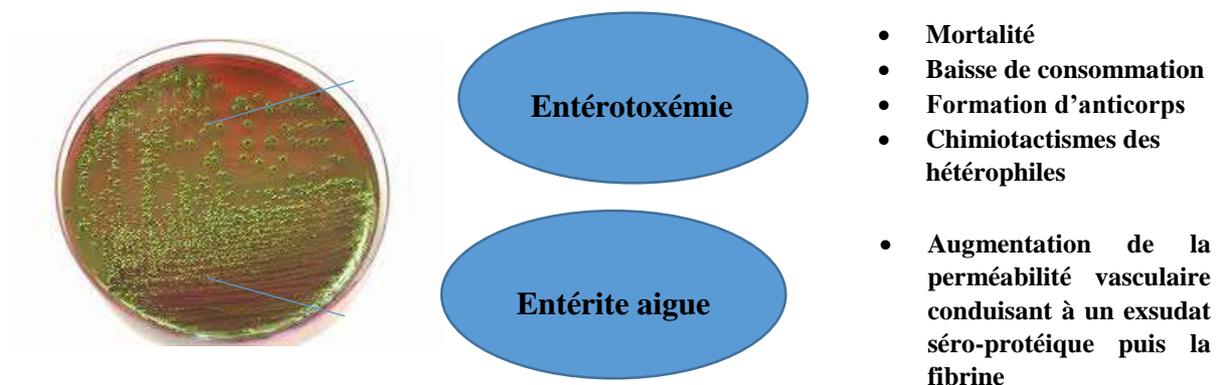
e) **L'antigène B** : Il est de nature polysaccharidique, thermolabile

f) **L'antigène A** : antigène capsulaire, thermostable mais sa thermostabilité peut être inhibée par simple mutation, trouvé chez *E. coli* qui cause l'infection urinaire.

## 1.4. Le pouvoir pathogène et les facteurs de virulence

### 1.4.1. Le pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène des colibacilles est lié à leur capacité d'adhésion aux muqueuses respiratoires et digestives par des facteurs d'adhésion (les pilis) codés par un plasmide. Ces facteurs disparaissent lorsque la bactérie pénètre dans l'organisme car ces derniers favorisent la phagocytose.

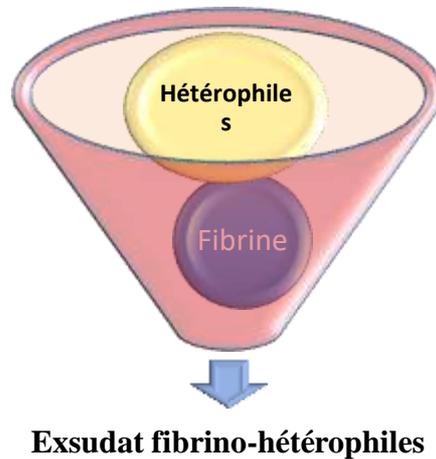


**Figure 12** : Pathogénie d'une souche virulente d'*E. coli* (Brugere-Picoux, 2015)

*E. coli* utilise les pilis pour coloniser la muqueuse tapissant les voies aériennes. Une fois la muqueuse traversée, l'endotoxémie va, entre autres, attirer les hétérophiles.

La bactérie va engendrer une inflammation, ce qui augmente la perméabilité vasculaire et se traduit par l'infiltration d'un exsudat séro-protéique en dehors du compartiment sanguin. Dès lors, le fibrinogène du plasma est converti en fibrine par la thrombine.

La présence massive d'hétérophiles et de fibrine va alors générer un exsudat qui devient caséeux, et qui sera visible à l'autopsie.



**Figure 13 :** Formation de l'exsudat fibrino-hétérophilique caséeux lors d'une colibacillose (Brugere-Picoux, 2015)

Selon la virulence de la souche, les lésions induites seront plus ou moins visibles :

**Tableau 19:** Lésions induites par E. coli selon sa virulence (peu ou très pathogène) (Brugere-Picoux, 2015)

<b>Souche très pathogène</b>	<b>Peu de lésions</b>	<b>Œdème des séreuses, rate hypertrophiée et congestionnée</b>
<b>Souche peu pathogène</b>	<b>Davantage de lésions</b>	<b>Lésions caséuses étendues</b>

#### 1.4.2. Facteurs de virulence

Selon les travaux de Johnson et *al.*, 2000, plusieurs facteurs de virulence ont été associés aux infections par les colibacilles (Tableau 20)

**Tableau 20 :** Les principaux facteurs pathogènes chez *Escherichia coli* ainsi que leur rôle dans le pouvoir pathogène d'*E.coli*.

Facteurs pathogènes	Rôle
Adhésines	Confèrent aux souches qui les possèdent la propriété de se fixer aux cellules épithéliales
Protéine à activité hémagglutinante	Permet aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément
Système aéro bactéine de captation du fer	Fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication
Antigène capsulaire polysaccharidique	S'oppose à la phagocytose
Toxines et cytotoxines	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L'endotoxine</li> <li>• Les entérotoxines : ST (thermostables) et LT (thermolabiles)</li> <li>• Les mycotoxines (SLT1 et SLT2 (Shiga-like toxine))</li> <li>• L'hémolysine.</li> </ul>

## 2. Salmonellose aviaire

Les salmonelles constituent partout dans le monde une source conséquente de maladies humaines d'origine alimentaire et une cause importante de morbidité, de mortalité et de pertes économiques dans les élevages avicoles. Les salmonelloses figurent parmi les maladies d'origine alimentaire les plus fréquemment notifiées dans le monde.

### 2.1. Historique et systématique :

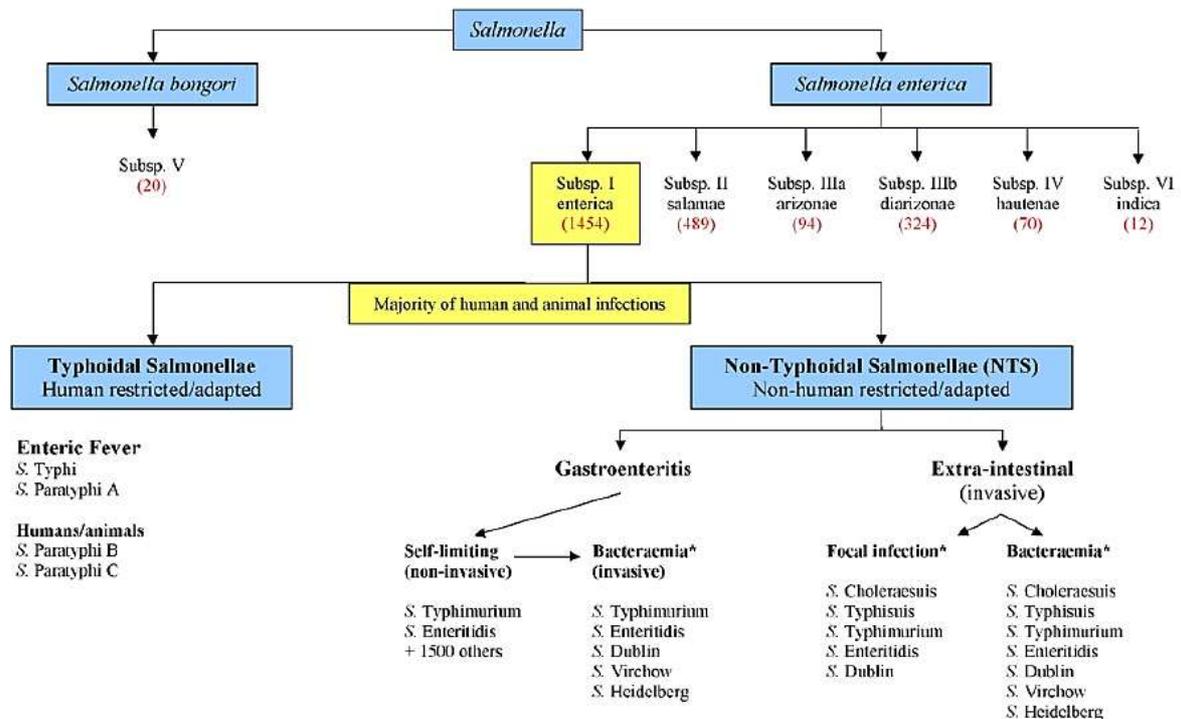
Les salmonelles sont des entérobactéries, nommées ainsi en l'honneur du médecin vétérinaire américain Daniel Elmer Salmon (Bergeron, 2009).

En 1880, Eberth observe le bacille de la typhoïde dans des coupes de rate et de ganglion dont la culture de la bactérie a été possible en 1884 par Gaffky. Puis, en 1889 Klein isola l'agent de la typhose aviaire *Salmonella Gallinarum*. Ensuite le bacille de Loeffler, *Salmonella Typhimurium* a été isolé à partir de sang des souris atteintes de salmonellose en 1890. En 1894, Smith a décrit *Bacillus cholerae* maintenant connu comme *Salmonella Choleroesuis*, l'agent responsable de choléra du porc (la fièvre porcine). Enfin, en 1896 Widal a mis en évidence la diversité antigénique des souches de salmonelles à l'aide d'un nouveau test qu'il a appelé le sérodiagnostique. Depuis, de nombreux sérovars sont identifiés (Grimont *et al.*, 2000; Camart-périe, 2006).

*Salmonella* représente certainement le genre le plus complexe et le plus vaste de la famille des *Enterobacteriaceae*, sa classification a fait l'objet de beaucoup de modifications et de controverses ces dernières années. Elle repose notamment sur le schéma de Kauffmann-White

qui tient compte des caractères antigéniques, auxquels les données biochimiques et moléculaires (hybridations ADN-ADN) ont été ajoutées (Grimont, 2007).

Selon le Bergey's Manuel (2001), le Genre *salmonella* fait partie de la Famille des *Enterobacteriaceae*, de l'ordre des *Enterobacteriales*, Classe des *Gamma-proteobacteria* et du Phylum des *Proteobacteria* (Scaria *et al.*, 2008).



**Figure 14 :** Nombre de sérovars identifiés dans chaque espèce et sous-espèce de *Salmonella* (Langrignier *et al.*, 2005)

## 2.2. Caractères bactériologiques

### 2.2.1. Caractères morphologiques

*Salmonella* est un bacille Gram négatif non sporulé de type aéro-anaérobie, dont la mobilité propre est assurée par des flagelles péritriches elles sont généralement mobiles, mais certains sérovars sont immobiles comme *S. Gallinarum Pullorum* et d'autres ayant perdu leurs flagelles. Elle se présente sous forme de bâtonnets dont la taille varie entre 2 et 5 µm de longueur sur 0,7 à 1,5 µm de largeur, une bactérie mésophile et peu exigeante.

Le développement de *Salmonella* est optimal à des températures proches de la température corporelle des animaux à sang chaud, 35 à 37°C, et un pH de 6,5 à 7,5 ; bien que la multiplication reste possible à des températures de 6,7 à 41°C (David, 2009).

### 2.2.2. Caractères cultureux

Les salmonelles sont aéro-anaérobies facultatives. Après 24 heures d'incubation à 37°C sur un milieu ordinaire de pH compris entre 6.5 à 7.5, les colonies obtenues ont un diamètre de 2 à 4 mm à l'exception de certains sérovars donnant toujours des colonies naines tel que : *S. Abortusovis* et *S. Abortusequi*. A l'isolement, les colonies sont blanchâtres, circulaires, limitées par un bord régulier, légèrement bombées, translucides, généralement lisses, rarement rugueuses (Bourgeois *et al.*, 1996).

### 2.2.3. Caractères biochimiques

En résumé, le profil biochimique de la majorité des souches de *Salmonella* isolées chez l'homme et les animaux à sang chaud, appartenant à la sous-espèce I est présentées dans le tableau 21.

**Tableau 21** : Caractères biochimiques de *Salmonella* (Gledel, 1996).

Tests	Réaction	Tests	Réaction
Motilité <sup>(1)</sup>	+	<b>Fermentation de</b>	
Réduction des nitrates	+	Glucose avec gaz <sup>(2)</sup>	+
		Mannitol	+
Oxydase	-	Maltose	+
Catalase	+	Lactose <sup>(3)</sup>	-
Uréase	-	Saccharose <sup>(3)</sup>	-
Indole	-	Salicine	-
Production d'H <sub>2</sub> S	+	Adonitol	+
Utilisation du citrate	+	Dulcitol	
Rouge de méthyle	+		
Vogue – Proskauer	-	Lysine décarboxylase <sup>(3)</sup>	+
Gélatinase	- / +	Arginine dihydrolase	+
ONPG <sup>(4)</sup>	- / +	Ornithine décarboxylase	+
Tétrathionate réductase	+	Désaminase de la phénylalanine	-

(1) Sauf *S. Gallinarum* ; (2) Sauf les sérovars Typhiet Gallinarum ; (3) Certaines souches atypiques peuvent fermenter le lactose (exemple : *S. Seftenberg*) ou le saccharose ou ne pas décarboxyler la lysine. Les *S. arizonae* peuvent fermenter le lactose ; (4) ONPG : Orthonitrophenyl-β-D-galactopyranoside.

### 2.3. Caractères antigéniques

Trois types d'antigènes sont considérés pour les salmonelles : Les antigènes somatiques (O), flagellaires (H) et (surtout pour le sérovar Typhi) l'antigène capsulaire de surface (Vi). Cette structure antigénique a été révélée par absorption croisée de l'antisérum, qui subdivise les

antigènes en différents facteurs. Le système de typage, qui a été construit durant plus de 70 ans par Kauffmann-white et Le Minor, est un modèle en son genre (Patrick *et al.*, 2007).

#### **a) Antigène O**

La spécificité de chacun des 67 antigènes (O) répertoriés est déterminée par sa composition. Ces antigènes sont portés par les chaînes spécifiques du lipopolysaccharide (LPS) qui est un des constituants de la membrane externe de la paroi bactérienne (Bonhomme, 2003).

Les antigènes (O) sont constitués de trois éléments, de l'intérieur vers l'extérieur :

- Le lipide A (Endotoxine), responsable du pouvoir pathogène et donc des effets toxiques.
- Le core ou noyau polysaccharidique de base semblable pour toutes les salmonelles.
- Des chaînes spécifiques polysaccharidiques constituées par la polymérisation d'unités oligosaccharidiques se composant de 2 à 6 monosaccharides.

Chez les salmonelles, les antigènes (O) sont classés en facteurs (O) majeurs et en facteurs (O) accessoires :

- Les facteurs (O) majeurs permettent de définir des groupes et toutes les souches possédant en commun un facteur (O) majeur sont placées dans le même groupe.
- Les facteurs (O) accessoires peuvent être liés, de manière constante, à un ou à plusieurs facteurs (O) majeurs et ils sont alors dépourvus de tout intérêt diagnostique (Euzeby, 2004).

#### **b) Antigène H**

Les flagelles sont constitués d'une molécule protéique, la flagelline, dont la composition en acides aminés détermine le type antigénique H. Cette composition est codée par un gène de structure H1 pour la phase 1 et un gène H2 pour la phase 2.

Certains sérotypes sont monophasiques. Ils ne peuvent synthétiser de la flagelline que d'une seule spécificité. Cependant, la plupart des sérotypes sont diphasiques. Ils peuvent synthétiser des antigènes H soit de la phase 1, soit de la phase 2 (Patrick *et al.*, 2007).

Les antigènes « H » sont thermolabiles et sont détruits par l'alcool. L'agglutination de H est rapide, floconneuse et facilement dissociable par agitation (Le Minor et Véron, 1989).

#### **c) Antigène Vi**

L'antigène Vi est un polysaccharide capsulaire, trouvé dans les sérotypes Typhi, Paratyphi C et Dublin (Duguid *et al.*, 1975).

Les souches Vi (+) qui produisent une quantité importante d'antigène Vi sont O-inagglutinables. Elles deviennent habituellement O-agglutinables après un chauffage à 100°C qui fait passer l'antigène Vi dans le surnageant (Avril *et al.*, 1992).

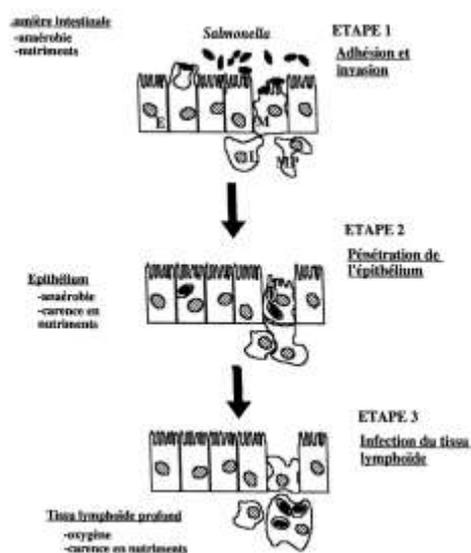
## 2.4. Pouvoir pathogène et facteur de pathogénicité

### 2.4.1. Pouvoir pathogène

Les salmonelles ont un pouvoir entéro-invasif, qui leur permet de pénétrer dans les cellules de la muqueuse intestinale. Les souches à propagation bactériémique se multiplient dans les ganglions mésentériques et passent dans la circulation lymphatique puis le canal thoracique et se déversent dans la circulation sanguine occasionnant la bactériémie. Une période de latence de plusieurs heures précède la phase de multiplication intracellulaire intense des salmonelles (Finlay et *al.*, 1988).

Elles provoquent simultanément une dégénérescence des microvillosités et de la bordure en brosse, et induisent des ondulations membranaires des cellules épithéliales (Gahring et *al.*, 1990). Internalisé dans des vacuoles des entérocytes les salmonelles se multiplient ou bien seront phagocytées et arrivent au niveau des nœuds lymphatiques mésentériques puis se multiplient avant qu'une partie de la population bactérienne passe dans le courant lymphatique puis sanguin (Barrow et *al.*, 1994)

Sachant que la majorité a un tropisme pour les cellules M des plaques de Peyer (Clark et *al.*, 1994) et que la localisation aux organes internes tels que le foie et la rate s'explique par la richesse de ces organes en tissu réticulo-endothélial (les cellules phagocytaires captent les salmonelles à partir du sang) (Carroll et *al.*, 2004). Quelques Salmonelles seulement sont capables de provoquer des bactériémies, très peu des septicémies (figure 15).



**Figure 15 :** Représentation schématique des différentes étapes de la pathogénie après infection orale par *Salmonella* (Millemann, 1998)

**E :** cellules épithéliales

**M :** Cellule M des plaques de Peyer

**MP :** macrophages

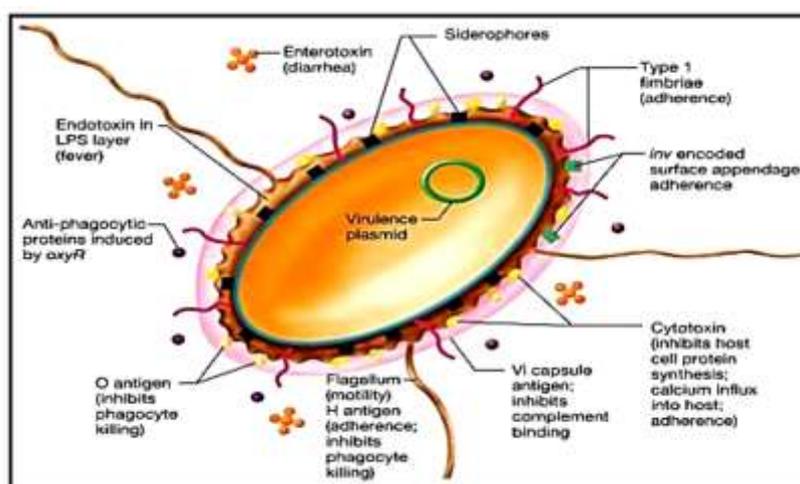
**L :** Lymphocytes

## 2.4.2. Facteur de virulence

Les facteurs de virulence chez les salmonelles sont impliqués dans les diverses étapes de l'infection, soit : la production de toxines (endotoxine, entérotoxine, cytotoxine), la colonisation, l'adhésion et l'invasion, ainsi que dans la survie à l'intérieur des cellules de l'hôte (Finlay et Brumell, 2000 ; Millemann, 1998) (figure 16).

**Tableau 22** : Les toxines chez les *Salmonelles* et leur rôle dans le pouvoir pathogène.

Toxines	Rôle pathogène
<b>L'endotoxine (lipide A du LPS)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Responsable des symptômes toxiques dans une salmonellose invasive.</li> <li>• L'action de cette toxine sur les paramètres biologiques aboutit à une hypotension artérielle, l'installation d'un collapsus cardio-vasculaire et dans certains cas l'installation d'un état de choc pouvant aboutir à la mort.</li> <li>• L'endotoxine est ainsi responsable de la plupart des symptômes de la fièvre typhoïde et du choc septicémique consécutif à une bactériémie (Spink, 1962).</li> </ul>
<b>La cytotoxine</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• élaborée par la membrane externe, qui inhibe la synthèse des protéines dans les cellules épithéliales.</li> </ul>
<b>L'entérotoxine</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ressemble à la toxine du choléra et serait responsable de l'augmentation du taux intracellulaire d'AMP (Adénosine Mono Phosphate) cyclique et entraîne l'accumulation des fluides, et jouent probablement un rôle dans les diarrhées des formes gastro-entéritiques (Finaly et Falkow, 1988).</li> </ul>



**Figure 16** : Les facteurs de virulence de *Salmonella* (Madigan et Martinko, 2007)

## **VI. Méthodologie des plans d'expériences**

### **1. Introduction**

Cette étude a été réalisée à l'échelle laboratoire en utilisant des solutions modèles et industrielles. Et ceci en appliquant la méthodologie de plan d'expérience notamment le plan du plackett et burman (criblage) afin d'organiser et de réduire le nombre essais, et d'étudier l'influence de chaque facteur sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles dans ce travail

### **2. Définition des plans d'expériences**

Le plan d'expérience est une méthode statistique correspond à une série d'essais définies à partir d'une stratégie optimale permettant la prédiction d'une réponse avec le minimum des erreurs et le minimum d'essais sur la base d'un modèle postulé. Selon la Norme ISO 3534 (Poirier, 1991) : planification d'expériences afin d'obtenir des conclusions solides et adéquates de manière efficace et économique.

La méthodologie des plans d'expériences se base sur le fait qu'une expérience convenable organisée, conduira fréquemment à une analyse et à une interprétation statistique relative simple des résultats.

Les plans d'expériences consistent à sélectionner et ordonner les essais afin d'identifier, à moindres coûts, les effets des paramètres sur la réponse du produit. Il s'agit de méthodes statistiques faisant appel à des notions mathématiques simples. La mise en œuvre de ces méthodes comporte trois étapes :

1. Postuler un modèle de comportement du système (avec des coefficients pouvant être inconnus) ;
2. Définir un plan d'expériences, c'est-à-dire une série d'essais permettant d'identifier les coefficients du modèle ;
3. Faire les essais, identifier les coefficients et conclure.

Si l'analyse du problème conduit à une stratégie de construction d'un plan d'expérience alors, l'expérimentateur a accès à deux familles de plan : les plans pour l'étude des facteurs (plans de criblage..) et les plans pour la modélisation des surfaces de réponses (plan d'optimisation) qui dépendront d'un modèle empirique postulé à priori.

### 3. Formulation du problème

L'étude d'un phénomène peut, le plus souvent, être schématisé de la manière suivante : on s'intéresse à une grandeur  $Y$ , que nous appellerons par la suite réponse qui dépend d'un grand nombre de variables  $X_1, X_2, X_3, \dots, X_n$  que nous appelons par des facteurs (El Asri, 2013)

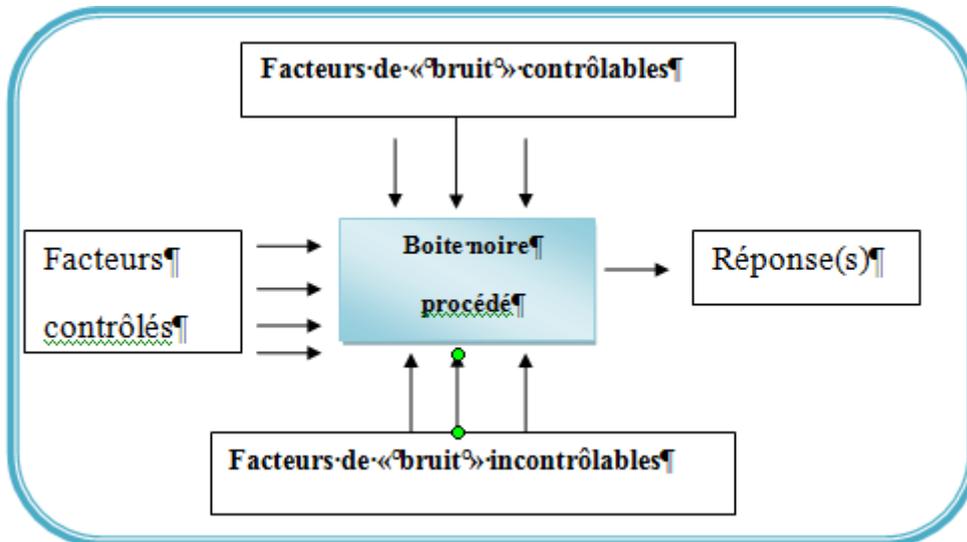


Figure 17 : La formulation du problème (El Asri, 2013)

### 4. Objectif d'utilisation

Les progrès des sciences et de la technologie sont étroitement liés aux réponses que l'homme a pu apporter aux interrogations que lui pose régulièrement la nature. Ces réponses résultent le plus souvent d'une analyse des observations expérimentales obtenues par une approche méthodologique rigoureuse. Nous pouvons donc dire que, sans expérimentation physique ou numérique, il n'y a pas de solution.

L'expérimentation est parmi les moyens privilégiés pour acquérir ou améliorer les connaissances (Louvét et *al.*, 2006). L'objectif des plans d'expériences est donc d'obtenir des informations les plus fiables possibles avec minimum d'essais en réduisant l'erreur des essais.

Elle vise :

- une diminution notable du nombre, du temps et du coût des essais.
- L'augmentation du nombre des facteurs étudiés ou de leurs niveaux.
- Le réglage facile des paramètres d'un procédé.
- Une prise en compte d'éventuelles interactions entre facteurs.
- Une recherche de la réponse optimale.
- Une modélisation simple des résultats.
- Une bonne précision dans la détermination des résultats.

Le schéma ci-dessous résume la stratégie de plan d'expérience



**Figure 18** : Mise en œuvre d'un plan d'expérience (Louvet et *al.*, 2006)

## 5. Types des plans d'expériences

Il existe plusieurs types des plans d'expériences, on peut citer :

### ✚ Plan de mélange :

Ce type de plan nous permet de connaître si une ou plusieurs propriétés dépendent de la proportion de chaque constituant dans le mélange étudié.

La démarche générale des plans de mélange consiste à traduire la variation d'une réponse en fonction des constituants du mélange par la relation (Rabier et *al.*, 2007) :

$$Y = f(X_i)$$

Avec :

$X_i = 1$  et  $i$  varie entre 1 et

$k$  (le nombre total de facteurs)

### ✚ Plans factoriels complets :

Ce sont les plus utilisés car les plus simples et les plus rapides à mettre en œuvre. Ces plans permettent l'étude de  $k$  facteurs à raison de deux niveaux (-1, +1) par facteur. Ils renferment toutes les combinaisons possibles des  $k$  facteurs à leurs deux niveaux. Le principe consiste alors à répartir de façon optimale les essais dans le domaine expérimental.

Pour étudier  $k$  facteurs, sur la base des plans factoriels à deux niveaux, il faut réaliser  $2^k$  essais, d'où le nom de plans  $2^k$  donné à cette famille de plans (Rabier et *al.*, 2007).

La matrice des essais comporte  $k$  colonnes et  $2^k$  lignes. Elle se construit de la façon suivante :

- Colonne du 1<sup>er</sup> facteur : alternance de -1 et +1.

- Colonne du 2<sup>ème</sup> facteur : alternance de -1 et +1 de 2 en 2
- Colonne du 3<sup>ème</sup> facteur : alternance de -1 et +1 de 4 en 4

### ✚ Les plans en surface de réponse

Un grand nombre de problèmes industriels se pose souvent spontanément en termes d'optimisation. En effet, on associe à la recherche d'une performance donnée, la minimisation des coûts.

L'objectif visé (François 2007) lors d'une étude de surface de réponse peut être de différentes natures :

- ✓ Optimiser (maximiser/minimiser) une ou plusieurs variables de réponse,
- ✓ Trouver un compromis satisfaisant entre plusieurs variables de réponse,
- ✓ Construire une cartographie de la variation d'une réponse dans un plan,
- ✓ Rechercher dans quelles proportions on peut mélanger des constituants Préalablement choisis

Cette recherche passe par l'utilisation d'un modèle mathématique empirique pour représenter chaque réponse dans le domaine expérimental. Le modèle polynomial retenu est soit du premier degré soit du second degré. Ces plans utilisent au minimum trois niveaux pour les facteurs expérimentaux. Parmi les plans proposés :

- Plans centrés composites.
- Plans de Box-Benhken,
- Plan de Doehlert

On rappelle que l'étude des plans en surfaces de réponse est associée à l'utilisation de modèle empirique de degré 2 qui s'écrivent sous la forme générale suivante (Sandrine, 2004) :

$$\hat{y}_i = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i X_i + \sum_{i=1}^k b_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^k b_{ij} X_i X_j$$

Avec Y : la réponse étudiée.

X<sub>i</sub> : les facteurs (i : 1, ..., k) ;

b : le coefficient de chaque facteur (i : 1, ..., k).

- **Plan de Doehlert :**

La principale caractéristique de ce plan est la répartition uniforme des points expérimentaux dans l'espace expérimental. En effet, ils sont situés à la même distance du centre du domaine expérimental. Pour un plan à deux facteurs, les points expérimentaux se trouvent sur un cercle

trigonométrique. Le domaine expérimental est donc un hexagone régulier (Goupy, 2006).

Le plan de Doehlert un plan formé par  $(k^2 + k + 1)$  essais avec les points expérimentaux répartis uniformément dans l'espace expérimental (sphère de rayon 1). Tous les points se situent à la même distance du centre du domaine d'étude.  $k$  étant le nombre de facteurs, c'est-à-dire le nombre de variables.

Le nombre d'expériences est obtenu, d'après la définition, par l'équation suivante :

$$n = k(k+1) + 1$$

Comme  $k = 3$ , la valeur de  $n$  est de 13 alors qu'il faut tenir compte des 3 points centraux, le nombre des essais est donc de 15.

Pour un plan de Doehlert à trois facteurs, les points se trouvent dans un plan sphérique.

Les sept points se trouvant sur le plan horizontal du centre forment un empilement de tétraèdres sur la base de l'hexagone. Les six points restant forment deux triangles situés audessus et audessous de l'hexagone.

#### ✚ Plan de criblage :

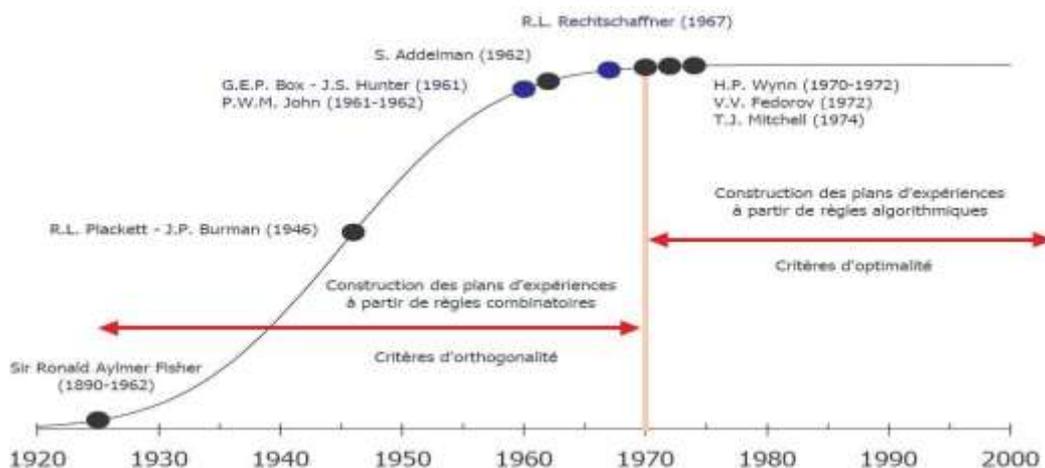
Il est conçu pour déterminer les facteurs les plus importants affectant une variable de réponse. Les facteurs peuvent être quantitatifs ou qualitatifs à deux niveaux uniquement (Lamure, 03).

L'équation de modèle postule de plan de criblage est :

$$y = b_0 + \sum_{i=1}^k b_i * X_i$$

#### a- Historique des plans de criblage

On peut représenter l'évolution des méthodes de plan d'expériences pour l'étude des effets des facteurs (études de criblage) par la figure suivante (Rabier et al., 2007):



**Figure 19** : Evolution des techniques de criblage (Rabier et al., 2007)

## b- Plan de Plackett et Burman

A propos d'un processus ou d'un phénomène, les premiers problèmes auxquels les plans d'expériences peuvent apporter de l'information sont ceux de criblage des paramètres. Une étude de criblage peut être définie comme une étape permettant de repérer rapidement, dans un grand nombre ( $k$ ) de facteurs, ceux qui sont effectivement influents sur un processus dans un domaine expérimental fixé. Cette étude permettra de déterminer le "poids" de chaque niveau de chaque facteur, pour ensuite les classer par ordre d'importance (Goupy, 2006).

Les matrices d'expériences de criblage les plus connues sont les matrices d'Hadamard pour lesquelles le nombre de simulations est proche du nombre de facteurs étudiés.

Ces plans sont des matrices à colonnes orthogonales composées uniquement des valeurs +1 ou -1 et pour laquelle la matrice d'information  $X'X$  est telle que :

$$X'X = NI_n$$

Avec,  $I_n$  : matrice identité.

$X$  : la matrice des facteurs

Ces plans sont le plus souvent saturés et le modèle mathématique est un modèle sans interactions (Goupy, 2006).

Ce plan est basé sur :

- Des matrices d'Hadamard (orthogonales sans être de taille  $2p$ ). Tailles : 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36. (multiplication de quatre) Générées par permutation circulaire d'un vecteur initial.
- Nombre d'essais intermédiaire avec les plans factoriels  $2p$ .
- Modèle mathématique sans interactions :

$$y = a_0 + \sum a_i x_i$$

Avec  $i : 1, \dots, k$

Le plan de Plackett et Burman est un plan factoriel fractionné, et l'effet principal d'une telle conception peut être simplement calculé comme la différence entre la moyenne des mesures effectuées au niveau haut (+1) du facteur et la moyenne des mesures effectuées au niveau bas

(-1). Cela permet la détermination de l'effet de chaque facteur. Un grand contraste coefficient positif ou négatif indique qu'un facteur a un grand impact sur la réponse ; tandis qu'un

coefficient proche de zéro signifie qu'un facteur a peu ou n'a pas d'effet (Goupy, 2006).

## 6. Domaine d'utilisation

Ils interviennent dans de nombreux domaines industriels (Levin, 2005). On peut notamment citer :

- Industries chimiques, pétrochimiques et pharmaceutiques
- Industries mécaniques et automobiles
- Industries métallurgiques

## 7. Démarche pratique d'un plan d'expérience

### 8.1. Définir le problème

Définir le problème, c'est le poser clairement en précisant de quoi il s'agit, et en quoi le sujet proposé est un problème. Pour cela, il est recommandé de faire appel à la méthode du QQCOQP qui consiste à répondre aux questions suivantes (Hidalgo, 2003).

Q : En Quoi consiste le problème ?

Q : Qui est gêné par le problème ? Qui est le demandeur de l'étude ? C : Combien de cas ? Combien ça coûte ?

O : Où cela se passe-t-il ? Q : Quand cela arrive-t-il ?

P : Pourquoi est-ce un problème ?

### 8.2. Objectif

Pour formuler le plus clairement possible les objectifs visés, il est conseillé d'écrire une phrase courte et précise définissant clairement le but visé. De manière générale, les deux objectifs principaux visés sont :

- « Débroussailler », c'est-à-dire faire le tri parmi l'ensemble des variables d'entrées susceptibles d'influencer les variables de sortie et les hiérarchiser.
- « Prévoir », c'est-à-dire estimer avec suffisamment de précision l'effet de l'ensemble des variables d'entrées influentes, de façon à pouvoir modéliser de manière assez fiable, la valeur de la variable de sortie que l'on obtiendrait pour l'ensemble des combinaisons des variables

d'entrées (Sandrine, 2004).

- Il est également indispensable de recenser les contraintes de l'étude comme le nombre d'essais maximum qu'il sera possible de réaliser et les ressources disponibles.

### **8.3. Réponse**

La réponse Y (variable de sortie) correspond à un paramètre de sortie du système étudié. Une réponse doit être représentative, quantifiable et la moins dispersée possible pour des variables d'entrées maîtrisées et constantes. Pour appliquer la méthodologie des plans d'expériences, il est conseillé d'avoir une réponse exprimée sous forme quantitative. En effet, les méthodes d'analyses des résultats d'essais telles que l'analyse de variance ou l'analyse de régression au sens des moindres carrés, s'appuient sur des données exclusivement quantitatives. Par ailleurs, les réponses qualitatives comme, par exemple, la morphologie d'un dépôt (lisse, poreux...etc.) qui n'est pas un critère quantitatif, pourront s'interpréter à partir d'un codage spécifique des modalités des réponses (Sandrine, 2004).

### **8.4. Facteurs**

Un paramètre d'entrée d'un système (variable d'entrée) est appelé facteur X. Ce facteur est une cause possible de variation de la réponse Y. Le choix d'un facteur se fait souvent en plusieurs phases : une phase de recensement faisant appel à la créativité du groupe, une phase de classement et une phase de sélection où les modalités des facteurs devant être étudiés de façon prioritaire seront définies.

Après avoir déterminé le nombre k de facteurs principaux d'un système, il faut maintenant décider, pour chaque facteur, quelles valeurs ils sont susceptibles de prendre durant l'expérimentation. Deux cas sont à considérer selon la nature de ces facteurs : facteurs qualitatifs ou quantitatifs (Sandrine, 2004).

#### ➤ Facteurs qualitatifs

Un facteur qualitatif prend ou on lui attribue des modalités (mi) qui sont soit non numériques (couleurs, descriptions, ...), soit numériques et discrètes (appréciations, dosage d'une poudre,...). Le nombre et le choix des modalités d'un facteur qualitatif sont laissés à l'expérimentateur. Ces facteurs sont destinés à l'étude des effets qui s'effectue lorsqu'il y a nécessité de faire un choix (à cause des limites économiques) entre les différents facteurs. Il faudra donc justifier le nombre et le choix des modalités en fonction des besoins d'information recherchée en termes d'effet des facteurs (Sandrine, 2004).

➤ Facteurs quantitatifs

Un facteur quantitatif prend des valeurs continues ou discrètes appelées niveaux. Le choix du nombre de niveaux et la valeur prise  $U_i$  par chaque facteur à chacun des niveaux est défini par le plan d'expériences choisi et l'étendue de ces facteurs. L'étendue de variation de ces facteurs est matérialisée à partir de deux limites  $U_{min}$  et  $U_{max}$  à l'intérieur desquelles on définira les niveaux  $U_i$  imposés par le plan d'expériences. Il est important de s'informer sur la difficulté de réglage de ces facteurs dans les plages données et intéressant de savoir s'il est possible de faire des expériences en dehors du domaine expérimental (Sandrine, 2004).

### 8.5. Choix de plan d'expérience

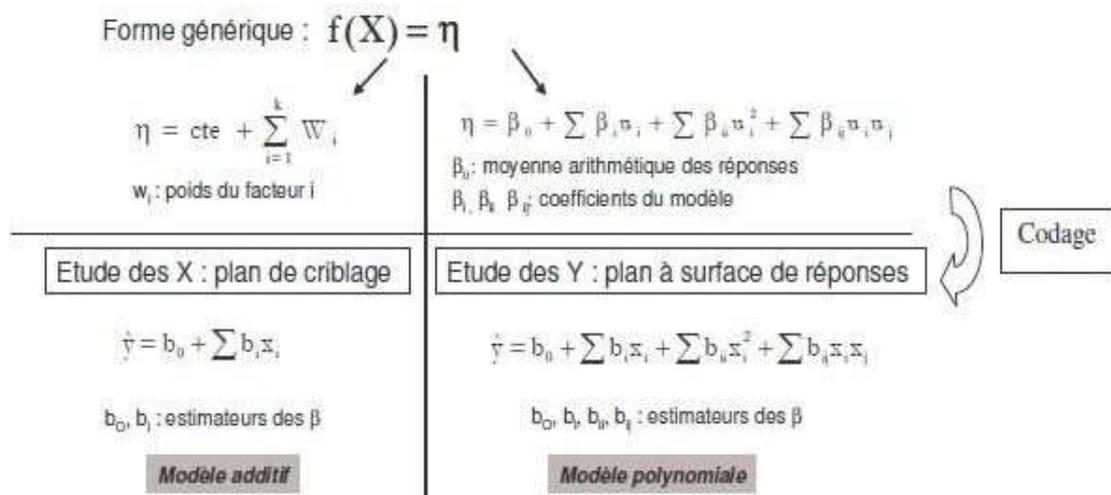
Les plans d'expériences ont pour but d'apporter le maximum d'informations avec un minimum d'expériences. La méthodologie des plans d'expériences consiste à fabriquer un modèle approximatif qui apportera des éléments d'informations à l'expérimentateur encore appelé « modèle empirique » (Lundstedt et al., 1998).

Pour cela, le choix du plan d'expériences à mettre en œuvre dépend du problème posé.

### 8.6. Choix de modèle

Pour l'ensemble des points constituant le domaine expérimental, nous voulons connaître la valeur de la réponse étudiée. Mais, pour des contraintes de coût, de temps, nous ne pouvons pas réaliser des expériences en tout point du domaine expérimental. C'est pourquoi, nous allons utiliser un modèle empirique, qui nous permettra d'avoir cette information en réalisant un minimum d'expériences (Lundstedt et al., 1998). Ce modèle est de la forme générale :

F (facteurs) = Réponses



Ces fonctions polynomiales contiennent  $p$  coefficients ( $b_0, b_1, b_2 \dots$  etc.) qu'il faudra estimer

grâce à l'analyse des résultats d'essais. La nature et la qualité du modèle dépendent donc de ce que l'on souhaite établir comme relation entre les réponses et les facteurs.

## 8. Validation statistique du modèle postulé

### 9.1. Analyse de la variance.

L'analyse de la variance (ANOVA) est un outil qui permet de déterminer le degré de confiance de nos résultats. Elle consiste à comparer la somme des carrés des écarts, due uniquement à la régression (modèle «  $V_{reg}$  »), avec la somme des carrés des résidus (modèle «  $V_{res}$  ») (Gargouri et *al.*, 2007). Cette analyse constitue un test statistique (test de Fisher-Snedecor) et elle fournit les réponses aux deux questions suivantes :

- Est-ce que le modèle nous apporte quelque chose ? La régression est-elle significative ? Explique-t-elle en grande partie les variations observées de  $y_i$  ? C'est le test de signification globale de la régression que nous appellerons le test de validation 1.
- Est-ce que le modèle représente bien le phénomène ? Si oui, le modèle introduit un biais acceptable. Sinon, il convient d'en chercher un autre. La première validation concerne donc l'analyse des résidus du modèle. Nous appellerons cette étape, le test de validation 2

On définit alors trois types de variations :

- ✓ La variation due à la liaison linéaire :

$SCE_L$  : « somme des carrés des écarts dues à la liaison »

$$SCE_L = \sum_i^n (\hat{y}_i - \bar{y}_i)^2$$

- ✓ La variation résiduelle

$SCE_R$  : « somme des carrés des écarts des résidus »

$$SCE_R = \sum_i^n (y_i - \hat{y}_i)^2$$

- ✓ Somme totale des carrés des écarts

$$SCE_T = SCE_L + SCE_R$$

On définit de plus un « carré moyen : CM » qui est le quotient d'une somme de carrés des écarts par son degré de liberté :  $SCE_L$  aura  $(p-1)$  degrés de liberté ( $p$  est le nombre de coefficient estimés à partir du modèle) ;  $SCE_R$  aura  $(n-p)$  degrés de libertés ( $n$  est le nombre d'expériences réalisées) ;  $SCE_T$  aura  $(n-1)$  degré de liberté (Carbon, 2015).

Le test statistique (ANOVA 1) se présente comme suit :

- ❖ Hypothèse  $H_0$  : « les deux sommes des carrés des écarts sont de même grandeur » ce qui

prouve que la régression n'est pas significative.

❖ Hypothèse  $H_1$  : « la somme des carrés des écarts dû à la régression est significativement plus grande que la somme des carrés des écarts dû aux résidus » donc la régression est globalement significative (Carbon, 2015).

Alors, la règle du test pour un risque  $\alpha$  choisi est :

- Si  $V_{reg} \approx V_{res}$  on accepte l'hypothèse  $H_0$  ;  $p > \alpha$
- Si  $V_{reg} > V_{res}$  on accepte l'hypothèse  $H_1$  ;  $p < \alpha$  Avec :

$p$  : le risque d'erreur en acceptant  $H_1$

$\alpha$  : le risque maximum choisi à priori

L'analyse de la variance (ANOVA 2) consiste aussi à comparer l'existence éventuelle d'un défaut d'ajustement, c'est-à-dire comparer la variance due à l'erreur du modèle ( $V_{LOF}$ ) à la variation due à l'erreur pure ( $V_{PE}$ ) (Carbon, 2015).

Le test se présente comme suit :

- ❖ Hypothèse  $H_0$  :  $V_{LOF} = V_{PE}$  (le modèle ne présente pas un défaut d'ajustement, il est prédictif)
- ❖ Hypothèse  $H_1$  :  $V_{LOF} > V_{PE}$  (le modèle présente un défaut d'ajustement, il n'est pas prédictif).

Alors la règle du test pour un risque  $\alpha$  choisi est :

- Si  $V_{LOF} \approx V_{PE}$ , on accepte l'hypothèse  $H_0$ .  $p > \alpha$ .
- Si  $V_{LOF} > V_{PE}$ , on accepte l'hypothèse  $H_1$ .  $p < \alpha$ .

## 9.2. Coefficient de détermination $R^2$

Le coefficient de détermination de la régression multiple au carré, mesure la quantité de la variation autour de la moyenne expliquée par le modèle (Carbon, 2015), il est égal à :

$$R^2 = 1 - \left( \frac{SCER}{SCET} \right)$$

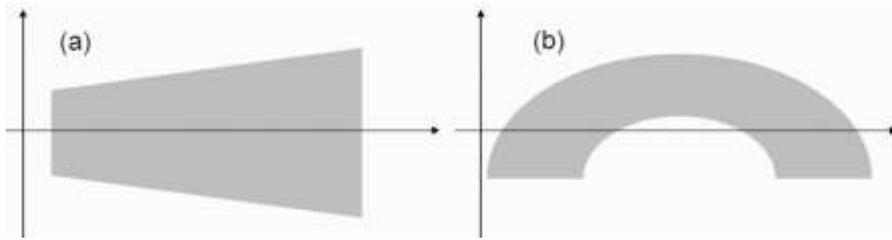
Le coefficient de détermination ne peut prendre que des valeurs comprises entre 0 et 1

## 9.3. Examen de résidus

Résidus : les points doivent se distribuer de façon aléatoire autour de la droite  $Y = 0$ . Si les résidus se distribuent suivant (a) ou (b), cela signifie que dans le cas :

- ✓ (a) l'hypothèse d'homogénéité des variances n'est pas remplie

- ✓ (b) il manque un terme quadratique dans le modèle ( $Y = a + bx + cx^2$ ) (Carbon, 2015)



**Figure 20** : Distribution de résidus (Carbon, 2015)

#### 9.4. Signification des facteurs

Le teste statistique qui permettent de dire si, compte tenu de cet incertitude, un facteur est ou non significativement différent de zéro c'est le test de student selon la relation suivante (Carbon, 2015) :

$$t = \frac{a_i}{S_i}$$

Avec

$a_i$  : Effet de facteur  $i$ .

$S_i$  : Ecart type d'effet.

On compare la valeur de  $t_{cal}$  avec fractile  $t_{crit}$  donné par la table de t-Student

si :  $t_{cal} < t_{crit}$  , on déclare que l'effet est non significatif

### 9. Généralité sur le logiciel Nemrodw

Comme tous les logiciels très spécialisés, Nemrodw présente l'avantage d'être rapidement utilisable pour traiter une étude menée à l'aide d'un plan d'expériences et très convivial. Ses points forts sont de plus les plans d'expériences pour mélanges ainsi que les sorties graphiques très claires (Mathieu et *al.*, 2017). Il constitue une aide à la conception des stratégies optimales, il permet la construction des plans d'expériences et d'analyses des résultats des expériences. Ce logiciel s'adapte à tous les problèmes qui entraînent des recherches scientifiques ou des études industrielles. Pour le traitement des plans d'expériences, le logiciel Nemrodw met des outils d'analyses et des indicateurs statistiques spécifiques de l'objectif poursuivi. C'est un outil qui permet de construire un large éventail des matrices d'expériences optimales par (Tinsson, 2010):

- La génération d'un rapport au format RTF (teste, graphiques, tableaux).
- L'importation des données (tableurs, traitement de texte) ou exportation (tableaux, graphiques au format BMP)

# **Deuxième partie : Etude Expérimentale**

## Matériel et Méthodes

### 1. Contexte de l'étude :

La présente étude a été menée pour évaluer l'activité des trois huiles essentielles de Thym, d'Origan compact et de la Cannelle de Chine, mettre en évidence leurs propriétés biologiques antibactériennes et antioxydantes.

Par la méthode des Plans d'Expérience, nous avons caractérisé l'optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles.

Cette étude nous a permis finalement d'évaluer l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur l'*Escherichia coli* In Vivo.

Cette étude comportait cinq volets :

- L'enquête du recueil des informations préliminaires sur l'utilisation des huiles essentielles/plantes aromatiques et leurs efficacités pour le Poulet Beldi ;
- La détermination de la composition chimique des huiles essentielles issues des Trois plantes aromatiques (*Cinnamomum cassia*, *Thymus Vulgaris* et *Origanum compactum*) par la méthode de la Chromatographie en Phase Gazeuse Couplée à la Spectrométrie de Masse (CPG et CPG/SM), l'évaluation de leurs propriétés antibactériennes à l'égard des souches d'*E. coli* et de *salmonelles* résistantes d'origine aviaire ainsi que leurs interactions avec des antibiotiques usuels (Oxytétracycline et TMP-sulfamide) ;
- L'étude de l'activité antioxydante de ces trois huiles essentielles ;
- L'optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles ayant prouvé une efficacité élevée, par la méthodologie des Plans d'Expériences ;
- L'étude de l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur l'*Escherichia coli* In Vivo.

### 2. Lieux de l'étude

Ce présent travail a été réalisé dans le Laboratoire de Chimie Organique Appliquée « LCOA » de la Faculté des Sciences et Techniques de Fès « FSTF » en collaboration avec le Laboratoire de Technologie Agro-Alimentaire du Centre Régional de la Recherche Agronomique de Rabat « CRRA-Rabat » et l'Unité de Pathologie Aviaire de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II « IAV Hassan II » à Rabat.

## I. Enquête

### ❖ Zone d'étude

L'étude a été réalisée dans la région de Rabat-Salé-Kénitra. Cette zone est considérée parmi les régions les plus importantes qui hébergent des élevages traditionnels à proximité de zones urbaines. Elle offre également un vaste marché pour la commercialisation des produits (Sraïri, 2011).

La région de **Rabat-Salé- Kénitra** s'étend sur une superficie de 18.194 km<sup>2</sup> et compte 4.581 milliers d'habitants (RGPH 2014), soit une densité de 251,8 habitants au km<sup>2</sup> et une superficie de 2,56% du territoire national.

Elle est limitée au Nord par la région de Région de Tanger-Tétouan-Al Hoceïma, à l'Est par la Région de Fès-Meknès, au Sud par la région de Beni Mellal-Khénifra et la Région de Casablanca-Settat et à l'Ouest par l'Océan Atlantique.

La région compte trois préfectures : Rabat, Salé et Skhirate-Témara et quatre provinces: Kénitra, Khémisset, Sidi Kacem et Sidi Slimane. Le nombre de communes est de 114 dont 23 urbaines et 91 rurales, soit à peu près 7,6 % de l'ensemble des communes à l'échelon national.

Cette région est issue de la fusion des deux anciennes régions Rabat-Salé-Zemmour-Zaër et Gharb-Cherarda-Béni Hssen.

Le chef-lieu de la région est la préfecture de Rabat (MONOGRAPHIE GENERALE de la région de Rabat-Salé-Kénitra 2015)

### ❖ Enquête

L'étude a eu lieu entre Juin 2016 et Mars 2017 et a consisté à collecter un ensemble d'informations auprès de 98 éleveurs au niveau de leurs propres foyers moyennant un questionnaire. Les informations recueillies ont concerné divers aspects tels que :

- Informations propres à l'éleveur : Le statut de l'éleveur, le genre, le niveau d'instruction et l'ancienneté en aviculture.
- Informations relatives à l'élevage : La composition de la basse-cour, le mode d'élevage, l'infrastructure, la production, la commercialisation, l'alimentation, les maladies, le taux de morbidité et de mortalité et les traitements utilisés.

### ❖ **Analyses des données**

La collecte des données dans chaque ménage a été réalisée sur la base d'un questionnaire d'enquête structuré et d'interviews participatifs auprès des 98 éleveurs enquêtés. Les données ont été organisées à l'aide du logiciel Excel 2007.

Les données ont subi une analyse statistique descriptive pour déterminer les caractéristiques générales des exploitations avicoles. Les variables quantitatives ont subi un test de normalité, la distribution était non normale. Ensuite nous avons effectué un test chi 2 d'égalité des proportions pour les variables qualitatives. Une procédure non paramétrique de test de Kruskal-Wallis a été utilisée pour calculer les médianes et déterminer l'influence des variables qualitatives sur les variables quantitatives. Un test exact de Fisher a été utilisé pour savoir s'il y a une association entre les variables qualitatives étudiés. Ces analyses ont été faites en utilisant le logiciel SAS (SAS, 2006).

## II. Etude des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, d'*Origanum compactum* et la *Cinnamomum cassia* et leurs composés majoritaires in vitro.

### 1. Matériel de laboratoire

- Etuve réglée à 37 °C
- Autoclave
- Boîtes de pétri en plastique stériles
- Tubes à essai en verres stériles
- Connes stériles
- Disques stériles fabriqués à partir de Papier Wattman de 6 mm de diamètre
- Tube Eppendorf
- Agitateur Vortex
- Anse en platine
- 03 Balance de précision
- Bec benzène
- Micropipettes de 1- 40 µl
- Micropipettes de 10-100 µl
- Pipette de 1ml
- Eprouvette en verre
- Seringues stériles à usage unique
- Pincettes stériles
- Spectrophotomètre UV/VIS

### 2. Produits chimiques et milieux de culture

- Eau physiologique stérile
- Disques contenant les antibiotiques :
  - ✓ Oxytétracycline (TE) 30µg
  - ✓ Doxycycline 30 µg
  - ✓ Amoxicilline (AX) 10µg
  - ✓ TMP-sulfamide (STX) 25 µg
  - ✓ Florfénicol (FFC) 30µg
  - ✓ Thiamphénicol (T) 30µg
  - ✓ Enrofloxacin (ENR) 5µg
  - ✓ Erythromycine (E) 15 UI
  - ✓ Colistine (C) 25-50 µg
- Milieu MH (gélose de Mueller Hinton)
- Milieu Eosine Bleu de Méthylène (EMB)
- Milieu Vert Brillant
- Milieu TSB (Bouillon Trypto-Caseine Soja)
- Agar 0,2%
- DMSO
- DPPH à 0,004%

### 3. Matériels biologiques

#### 3.1.Plantes aromatiques

Les plantes aromatiques, *Thymus vulgaris*, *Cinnamomum cassia* et d'*Origanum compactum* ont été prélevés, en 2018, au niveau de la région de Rabat. Les échantillons obtenus ont été conservés à 4°C jusqu'au moment d'analyse. L'extraction des huiles essentielles des échantillons a été effectuée au niveau du laboratoire du Département des Sciences Nutritionnelles et Alimentaires de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II (IAV Hassan II). Le cinnamaldéhyde (Sigma-Aldrich, 99%) et le Carvacrol (Sigma-Aldrich, >98%), de référence ont été fournies par le même département.

#### 3.2. Microorganismes

Les souches bactériennes testées ont été isolées à partir des autopsies de poulets de chair provenant de différentes régions du Maroc. Les prélèvements ont été effectués au sein de l'Unité de Pathologie Aviaire de l'IAV Hassan II.

Les bactéries isolées, ont été conservées +4°C et maintenues en vie par des repiquages continus sur milieu trypticase-soja agar (TSA) gélosé. Au total, quarante-deux (42) souches ont été testées : 10 souches de *Salmonella Enteritidis*, 10 souches de *Salmonella gallinarum* (sensibles au Florfénicol et résistantes à l'Oxytétracycline et à l'Amoxicilline) et une souche de référence de *Salmonella* (CTP 8059), 20 souches d'*E. coli* (sensibles à la Colistine et multirésistantes vis-à-vis de l'Oxytétracycline, TMP-sulfamide, Doxycycline et Amoxicilline) et une souche de référence d'*Escherichia coli* (ATCC25922).

### 4. Méthodologie

#### 4.1 Extraction des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont été extraites, des parties aériennes d'*Origanum compactum* et de *Thymus vulgaris* et de l'écorce de *Cinnamomum cassia*, par hydro-distillation pendant trois heures à l'aide de l'appareil de type Clevenger [18].

Le rendement en huile, exprimé en pourcentage, est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rdt HE} : (\text{MHE} / \text{MV}) * 100$$

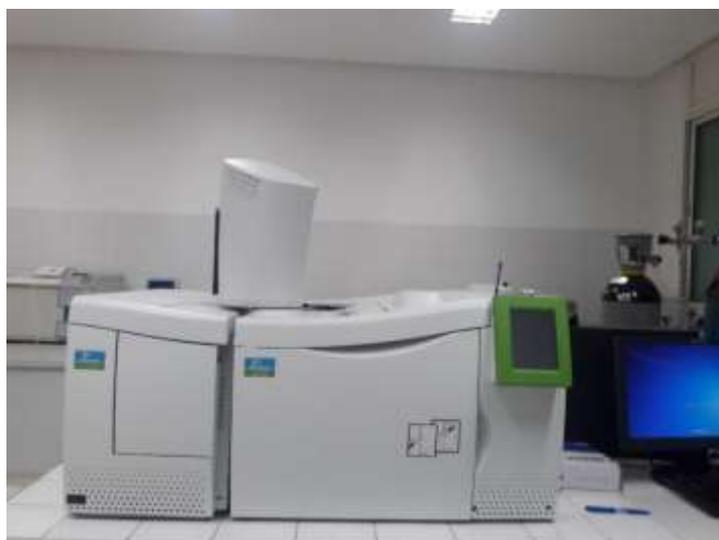
(Rdt HE : Rendement en huile essentielle (%). MHE : Masse de l'huile essentielle (g),  
MV : Masse de matériel végétal sec (g).)

## 4.2 Analyse chimique des huiles essentielles

Un chromatographe en phase gazeuse (CLARUS 580) monté sur un spectromètre de masse (Clarus SQ 8S) et fonctionnant en mode impact électronique positif (70 ev) et une colonne VB-5 (5% phényle, 95% méthyl-polysiloxane), de 30m de longueur, 0,25 mm de diamètre interne et 0,25mm d'épaisseur, ont été utilisés.

Les températures de l'injecteur et du détecteur étaient de 250 et 300 °C. Le gaz utilisé est l'hélium à un débit de 1 ml/min. La température de programme rampe de 50 à 280°C avec un gradient de 8,1°C/min. La quantité relative des composants individuels de l'huile totale a été exprimée en pourcentage d'aire du pic par rapport à la zone de pic totale.

L'identification des composantes a été réalisée en utilisant la combinaison de *NIST-MS Research Program* et la base de données *Pubchem* (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).



**Figure 21** : Chromatographe en phase gazeuse monté sur un spectromètre de masse (**Centre Régional de la Recherche Agronomique de Rabat « CRRA-Rabat »**).

## 4.3 Activité antibactérienne des Huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, d'*Origanum Compactum* et de la *Cinnamomum cassia* et leurs composés majoritaires in vitro

### 4.3.1. Antibiogramme

L'antibiogramme a été réalisé selon la méthode de diffusion sur le milieu gélosé Mueller-Hinton (Patel et al., 2014). À l'aide d'une anse, quelques colonies ont été prélevées et diluées dans l'eau physiologique stérile de manière à avoir une dilution de 1/10 à l'échelle de 0.5 MacFarland.

Les disques d'antibiotiques ont été déposés séparément puis les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24h.

Au total, huit antibiotiques sont utilisés : le florfénicol, le thiamphénicol, l'enrofloxacin, l'amoxiciline, l'oxytétracycline, le sulfaméthoxazole-trimétoprime, l'erythromycine et la colistine

#### 4.3.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose (Muller-Hinton) (Patel *et al.*, 2014). L'ensemencement de l'inoculum préalablement préparé et homogénéisé, a été réalisé aseptiquement, par inondation du milieu Muller Hinton. Après 15 à 30min, les disques stériles ont été déposés à l'aide d'une pince stérile dans les boîtes inoculées. L'imprégnation des disques par l'huile a été ensuite effectuée à raison de 5µl / disque. Deux témoins ont été réalisés : un témoin négatif avec 10µl d'eau distillée stérile en présence de 10 % de DMSO et un disque représentant un des antibiotiques comme témoin positif. Les boîtes sont laissées une heure au réfrigérateur à +4°C puis retournées et incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Après incubation, le diamètre d'inhibition est mesuré en millimètres. Chaque test est réalisé trois fois.

La figure 22 illustre l'essentiel du matériel utilisé lors de cette étape d'évaluation de l'activité antibactérienne des HEs par la technique de diffusion sur gélose.



**Figure 22** : Matériel de l'aromatogramme

#### 4.3.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée par la technique de microdilution sur une microplaque à fond rond de 96 puits à fond rond (Wiegand *et al.*, 2008), en utilisant la resazurine comme indicateur de viabilité (Mann *et al.*, 1998). Une série de dilutions de l'huile essentielle à demi (de 1/2, 1/4, 1/8, jusqu'à 1/512) a permis de préparer une gamme de concentration allant de 1% à 0,00195%, sachant que la concentration de la solution mère de chaque huile est de 1µl/100µl. La méthode de dilution consiste à préparer une série de puits contenant du bouillon de soja tryptique (TSB). Les puits sont remplis avec 69 µl de TSB.

Ensuite, 1  $\mu\text{l}$  d'huile essentielle est ajoutée à la première puis une dilution. Ensuite, chaque puits est inoculé avec 25  $\mu\text{l}$  de la suspension bactérienne. Les puits, utilisés comme contrôle négatif, ne contiennent pas d'huile essentielle, et ceux utilisés comme contrôle positif contiennent de l'huile essentielle sans suspension bactérienne. Les microplaques ont été incubées à 37°C pendant 18-24 h. Pour la révélation de la CMI, 5  $\mu\text{l}$  de resazurine 0,01% (p / v) ont été ajoutés à chaque puits. La CMI a été définie comme la plus faible concentration d'huile qui ne produisait pas de changement de couleur de la resazurine, et qui correspond à l'absence de croissance bactérienne.



**Figure 23 :** Matériels de l'essai de microdilution



**Figure 24 :** Essai de microdilution pour la détermination de la CMI des huiles testées à différentes concentrations.

#### **4.3.4. Détermination de la concentration minimale bactéricide**

La (CMB) est calculée en utilisant 10  $\mu\text{l}$  des puits qui n'ont pas montré de croissance bactérienne sur un milieu solide, puis, les géloses ensemencées sont incubées à 37°C du germe pendant 24 à 48 h. Après incubation, la CMB est considérée comme étant la concentration

minimale en huile essentielle pour laquelle aucun développement bactérien n'est observé. L'évaluation de la CMI et CMB a été réalisée en trois reprises.

#### **4.3.5. Interaction entre huiles essentielles, leurs composés majoritaires et antibiotiques.**

L'association des huiles essentielles et leurs composés majoritaires avec les antibiotiques a été évaluée par la méthode de diffusion par disques en milieu solide préconisée par Halawani, 2009 et Toroglu, 2011. Cette étude consiste à comparer l'activité inhibitrice vis-à-vis d'une souche sauvage d'*E. coli* et d'une souche de référence d'*E. coli* ATCC25922 de trois disques : le premier est un disque d'antibiotique (ATB), le second est un disque neutre stérile imbibé de 5 µl de l'huile essentielle (HE) ou du composé majoritaire (PA) à tester et le troisième est un disque d'antibiotique imbibé de 5µl de la même huile essentielle ou le composé majoritaire à tester.

Après incubation, la lecture de trois diamètres d'inhibition en mm est réalisée à l'aide d'une règle. Les données ont été analysées selon les trois possibilités suivantes :

**A : Indifférence** : les zones d'inhibition de l'HE/PA seul, de l'ATB seul et de l'association HE+ATB restent inchangées.

**B : Antagonisme** : la zone d'inhibition de l'association HE+ATB est moins importante que celle de l'HE/PA tout seule et de l'ATB tout seul.

**C : Synergie** : la zone d'inhibition de l'association HE+ATB est plus importante que celle de l'HE/PA tout seule et de l'ATB tout seul.

#### **4.3.6. Analyses de données**

La méthode de l'analyse de la variance (ANOVA) a été utilisée pour tester les effets des facteurs sur les variables mesurées (diamètres d'inhibitions). Si nous rejetons l'hypothèse nulle d'égalité des moyennes, nous utilisons le test de comparaison multiple de moyennes de Duncan pour constituer des groupes homogènes des huiles essentielles et des principes actifs qui ne diffèrent pas entre eux. Ces analyses ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS, 2006).

#### **4.3.7. Activité antioxydante des huiles essentielles de thym, d'origan et de la cannelle.**

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH. Le test de DPPH a été réalisé selon la méthode décrite par (Mighri et al., 2010) où chacune des solutions méthanoliques des HE testées à différentes concentrations (200µl/ml, 400 µl/ml, 600 µl/ml, 800 µl/ml) sont mélangées avec 5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%)

(Annexe 2). Les solutions préparées sont conservées à l'obscurité pendant 30 min, puis l'absorbance est lue à 517nm.

Le pourcentage d'inhibition est ensuite calculé par la relation suivante :

$$\% \text{ inhibition} = 100 (A (\text{blanc}) - A (\text{échantillon})) / A (\text{blanc})$$

Le blanc représente l'absorbance du radical DPPH avec le méthanol (test négatif)

Abs (DPPH+ MeOH) = 1, 140 nm.

### III. Criblage et optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles

#### 1. Plan de criblage

Le plan de criblage adopté est un plan de **Plackett et Burman**. Ce choix est justifié par la rapidité et l'efficacité de la sélection des facteurs influents. Le nombre de répétition dans ce plan est un.

#### 2. Matériels

Les caractéristiques du plan de criblage sont les paramètres et le domaine expérimental.

##### A. Paramètres retenus pour l'expérimentation

Pour réaliser le plan de criblage correspondant à l'activité antibactérienne des huiles, nous retenons comme facteurs :

X1 : Type d'huile essentielle

X2 : Température

X3 : Lumière

H4 : Humidité

X5 : Solvant de Dilution

##### B. Domaine expérimental

Les facteurs retenus et les niveaux étudiés sont représentés dans le tableau suivant.

**Tableau 23** : Domaine expérimentale

Facteurs	Unité	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
Huile		Huile de <i>Cinnamomum cassia</i>	Huile d' <i>Origanum compactum</i>	
Température	°C	10	35	
Lumière		sans	avec	
Humidité	%	50	70	
Solvant Dilution		DMSO	AGAR 0. 2%	ETHANOL

#### 3. Plan d'optimisation

Pour la suite de ce travail, notre choix s'est porté sur un plan de surface de réponse comme plan d'optimisation.

Nous proposons pour cette étude un modèle de second degré. Notre choix s'est porté sur un plan **DOLHER**. Ce plan nécessite 16 essais.

#### **4. Démarche méthodologique**

La mise en œuvre d'un plan d'expérience pour étudier la surface de réponse d'un système expérimentale et trouver un optimum se résume selon la procédure suivante :

- 1- Définir le problème à étudier ;
- 2- Sélectionner la réponse et les facteurs contrôlables ;
- 3- Définir le domaine expérimental, en fixant les niveaux des facteurs sélectionnés ;
- 4- Choisir un modèle ;
- 5- Choisir un plan d'expérience tenant compte des conditions propres au problème à traiter ;
- 6- Réaliser les essais ;
- 7- Traiter les données par un logiciel adéquat ;
- 8- Interpréter la validité du modèle postulé et la significativité des coefficients ;
- 9- Sélectionner les coefficients significatifs si le modèle est validé ;
- 10- Prédire les niveaux des facteurs à l'optimum ;
- 11- Faire un essai complémentaire en appliquant les valeurs optimales des facteurs pour valider les conclusions.

#### **5. Logiciel utilisé**

Pour la réalisation de ces expérimentations, nous avons utilisé le **logiciel NEMROD-W**

#### **IV. Etude de l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur *Escherichia coli* in vivo**

Sur la base des résultats obtenus lors de notre étude criblage et optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles, cette présente étude vise à évaluer l'activité antibactérienne de l'huiles essentielles de la cannelle et d'origan in vivo.

##### **1. Matériel végétal**

Dans cette étude nous avons évalué l'activité antibactérienne in vivo de deux huiles essentielles la *Cinnamomum cassia* (cannelle) et l'*Origanum Compactum* (origan) et un antibiotique la colistine.

##### **2. Matériel biologique**

###### **1.1. Les animaux**

Dans cette expérience, 45 poulets mâles de souche *Gallus gallus domesticus* âgées de 26 jours et ayant un poids moyen de 1,6 kg ont été utilisés. Ces animaux sont répartis en 7 lots (Figure 27) à l'animalerie de l'Unité de Pathologie Aviaire, auprès de l'Institut Agronomiques et Vétérinaires Hassan II à Rabat. Les animaux avaient un accès libre à l'aliment et à l'eau pendant toute la durée de l'expérience.

###### **1.2. Matériel bactérien**

La souche bactérienne d'*Escherichia coli* de challenge testée a été isolée à partir des autopsies de poulets de chair. Les prélèvements ont été effectués au sein de l'Unité de Pathologie Aviaire de l'IAV Hassan II.

###### **1.3. Mode opératoire in vivo**

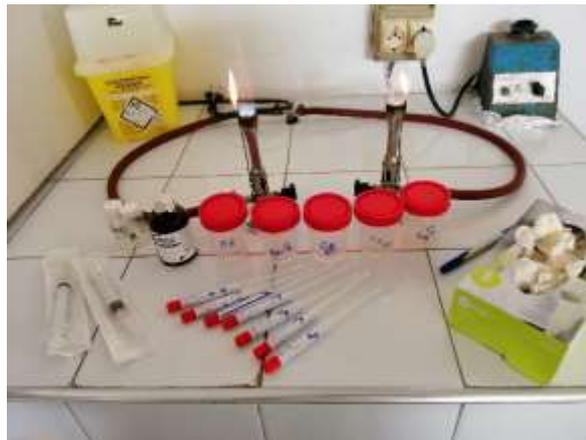
Les 45 poulets mâles de souche *Gallus gallus domesticus*, reçus à l'âge de 26 jours ont servi à l'étude. Ces animaux ont été mis en place le 17 Juin 2019 dans l'animalerie du laboratoire de l'Unité de Pathologie Aviaire de l'IAV Hassan II.

Ils ont été élevés dans des conditions d'hygiène parfaitement contrôlées, afin d'éviter toute contamination pouvant survenir avant la réalisation de l'étude. Tous les besoins des animaux en matière d'ambiance et de nutrition ont été correctement satisfaits. Ces animaux avaient un accès libre à l'aliment et à l'eau pendant toute la durée de l'expérience (figure 27), et ont été vaccinés contre les maladies de Gumboro, Influenza aviaire, Bronchite infectieuse et NewCastle, ainsi que des analyses bactériologiques des prélèvements cloacaux ont permis de vérifier l'indemnité des animaux de la colibacillose, avant la réalisation de l'infection

expérimentale.

Dès la réception, ces animaux ont été répartis en 7 Lots de cinq animaux chacun, suivant la nature du traitement (Tableau 24), dont un, est le groupe témoin composé de 10 poulets. Les doses des huiles essentielles de *Cinnamomum cassia* et d'*Origanum Compactum* testées sont 1ml /l et 2ml/l, l'antibiotique testé est la colistine. Les traitements ont été reçus par gavage.

Le premier jour tous les poussins ont reçu 1ml de suspension bactérienne, et les deux jours après, les lots 3, 4, 5 et 6 ont reçu 1 ml du traitement et le lot 1 a reçu l'antibiotique (la colistine).



**Figure 25** : Matériels utilisés pour les prélèvements et l'injection des traitements



**Figure 26** : Administration du traitement par gavage

### ❖ Constitution des lots expérimentaux

Dès la réception, ces animaux sont répartis en 7 lots suivant la nature du traitement.

**Tableau 24** : Désignation et caractéristiques des lots expérimentaux.

(Illustration schématique de la répartition des lots en fonction du protocole expérimentale)

<p><b>Lot 7 (NC.NT)</b> Lot témoin non contaminé non traité</p>	<p><b>Lot 2 (C.T.O1)</b> Contaminé traité par l'origan (dose 1)</p>
<p><b>Lot 6 (C.T.C1)</b> Contaminé traité par la cannelle (dose 1)</p>	<p><b>Lot 3 (C.T.O2)</b> Contaminé traité par l'origan (dose 2)</p>
<p><b>Lot 5 (C.T.C2)</b> Contaminé traité par la cannelle (dose 2)</p>	<p><b>Lot 4 (C.NT)</b> Contaminé non traité</p>
<p><b>Porte</b></p>	<p><b>Lot 1 (C.T.AB)</b> Contaminé traité par la Colistine</p>



**Figure 27** : Répartition des animaux en 7 lots

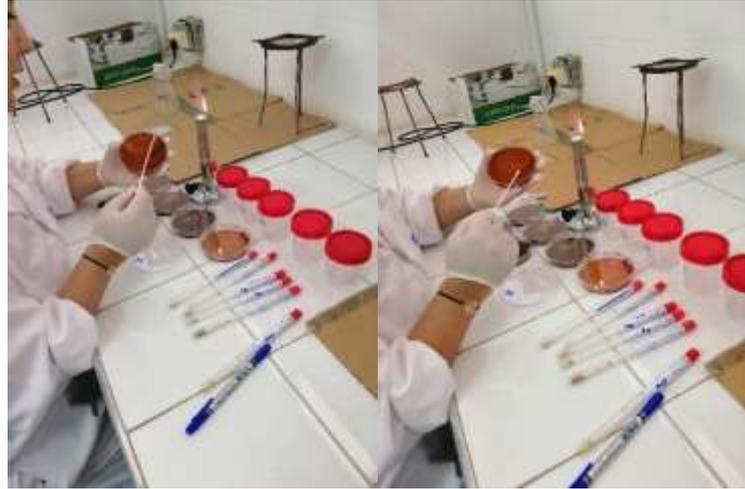
### ❖ Prélèvements de la matière fécale et l'isolement d'Escherichia coli

Chaque matin, des prélèvements de la matière fécale de chaque lot ont été effectués à l'aide des écouvillons cloacaux stériles dans des conditions aseptiques pour éviter la contamination,

ensuite les écouvillons ont été ensemencés sur des boîtes de pétri contenant une gélose EMB, pour confirmer la présence ou l'absence d'*Escherichia coli*, les différentes boîtes ensemencées sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 heures. Les cultures des prélèvements confirmant la présence d'*E. Coli* ont subi par la suite un antibiogramme et un aromagramme en utilisant la même technique de la partie *in vitro*.



**Figure 28 :** Ecouvillonnage



**Figure 29 :** Isolement d'*Escherichia coli*

❖ **Antibiogramme des prélèvements issus des sept lots**

Les cultures des sept prélèvements confirmées *E. Coli* ont été testées par l'antibiogramme en utilisant les mêmes antibiotiques et la même technique de la partie *in vitro*.

❖ **Aromatogramme des prélèvements issus des sept lots**

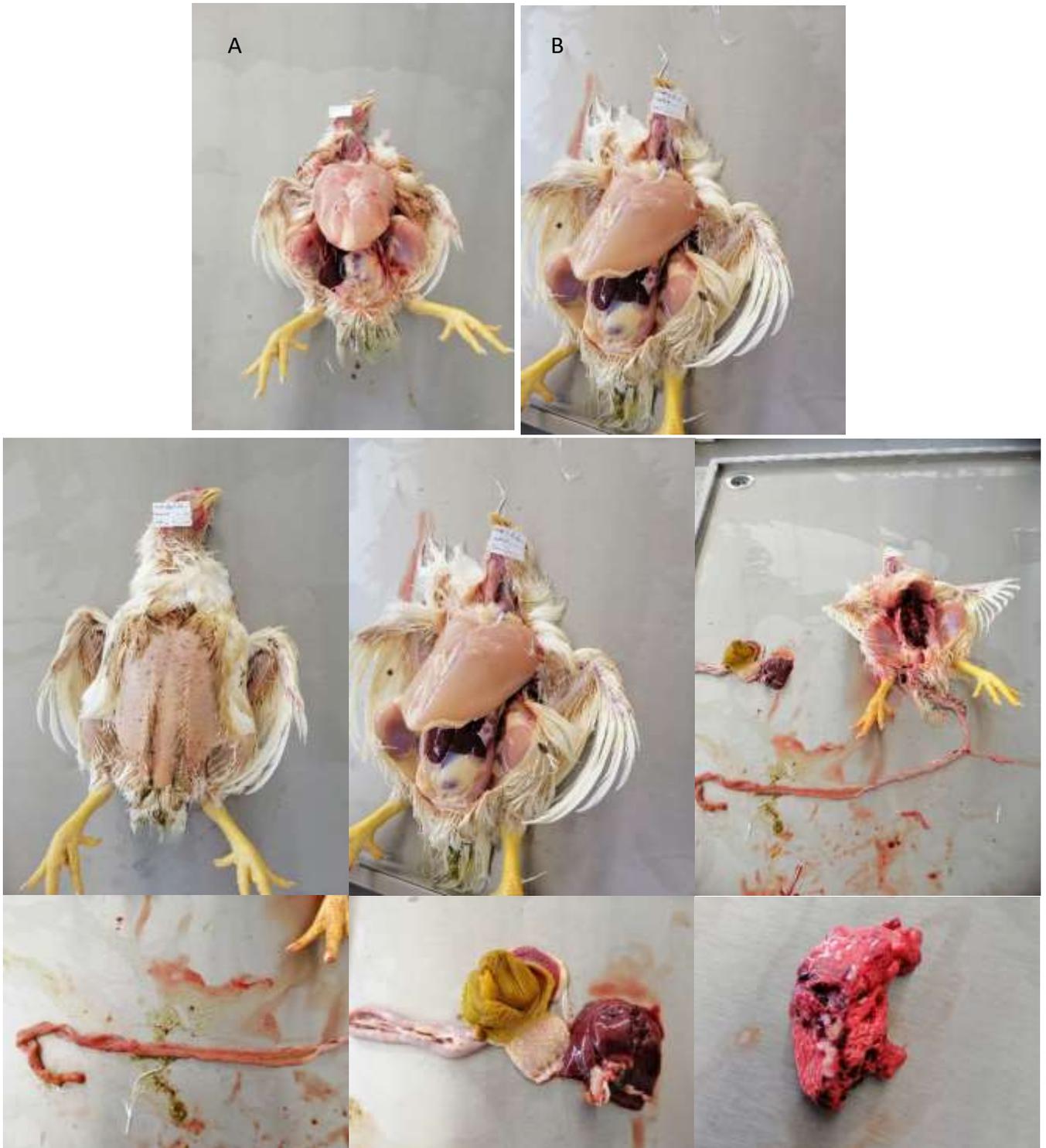
Les cultures des sept prélèvements confirmées *E. Coli* ont été testées par l'aromatogramme en utilisant les deux huiles essentielles (*Cinnamomum Cassia* et *Origanum Compactum*) et la même technique de la partie *in vitro*.



**Figure 30 :** Matériels utilisés dans l'antibiogramme (à gauche) et l'aromatogramme (à droite)

#### 1.4. Autopsie

L'autopsie a été réalisée à la fin de l'expérience (le 5ème jour), 1 poulet de chaque lot (lot 3 et lot 5) est sacrifié et l'état des différents organes a été évalué pour confirmer l'absence ou la présence d'*E. Coli*.



**Figure 31** : Différentes étapes d'autopsie des deux lots 3 (A) et 5 (B) traités par les huiles essentielles

Le matériel utilisé :

- Plateau en inox
- Boîtes de Pétri
- Marqueur
- Pince mousse
- Ciseaux
- 2 Bec Bunsen
- Anse en Platine
- Gélose EMB
- Incubateur réglé à une température de 37°C

❖ **Isolement et identification de l'agent responsable**

En présence de lésions évoquant la colibacillose, seulement l'isolement et l'identification de l'agent responsable sur la base de réactions biochimiques, permettront de confirmer la maladie. Les prélèvements sont réalisés à partir des tissus affectés (foie, rate et cœur) en évitant toute contamination par le contenu intestinal. Les prélèvements sontensemencés dans des boîtes contenant le milieu approprié (EMB).

Les boîtes ont été divisées et identifiées selon le nombre des échantillons, L'anse a été introduite dans l'organe à travers la surface brulée par une pince et a étéensemencée sur les boîtes de gélose EMB. Ensuite les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24h, enfin la lecture a été effectuée après 24h.



**Figure 32 :** Prélèvements des organes (foie, rate et cœur)

# Résultats

## I. Enquête

### 1. Caractéristiques des aviculteurs et des exploitations avicoles

Dans cette étude nous avons réalisé un test chi 2 d'égalité des proportions pour déterminer les caractéristiques générales des exploitations avicoles.

$H_0$  : égalité des proportions

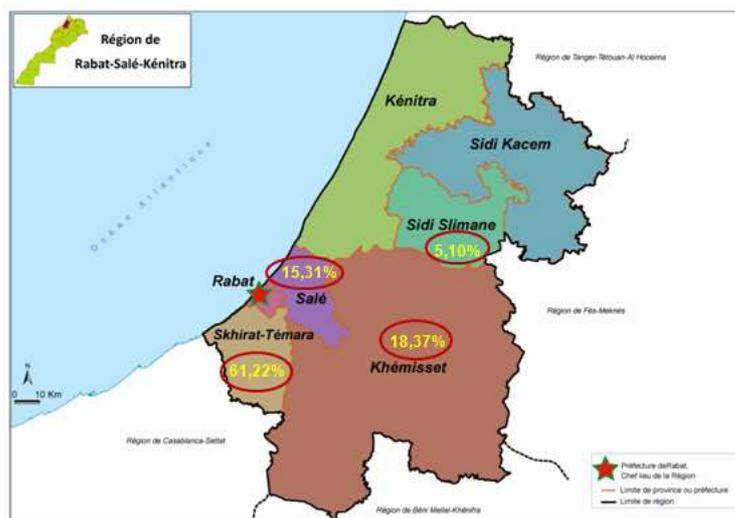
Si  $p < 5\%$  ,  $H_0$  est rejetée, et les proportions sont différentes.

#### ❖ Caractérisation de l'échantillon d'étude

L'étude a été réalisée dans 4 provinces dans la région de Rabat-Salé-Kénitra à savoir : Skhirat-Temara, Sidi Slimane, Khemisset, Salé.

Le tableau 25 montre que 61.22% des exploitations appartiennent à la province du skhirat-Temara, alors qu'uniquement 5,10% appartiennent à la province de Sidi Slimane. Le nombre d'exploitations diffère entre les 4 provinces ( $p < 0.0001$ ).

L'enquête révèle que, de façon générale, la volaille appartient principalement aux femmes (Tableau 25). En effet, elles sont propriétaires à 80% contre 20% pour les hommes, avec une grande variabilité entre les provinces ( $p < 0.0001$ ). Cette prédominance serait justifiée par l'état de pauvreté des femmes et des enfants comme décrit dans d'autres aires géographiques (Ndegwa et Kimani, 1996).



**Carte 1:** Provinces et Préfectures de la Région Rabat-Salé-Kénitra (2015)

## ❖ **Caractérisation des enquêtés**

### ✓ **Activités des éleveurs**

Les résultats ont montré que les responsables de la conduite des élevages considèrent cette activité comme étant une activité principale soit un pourcentage de 76,53%, alors que 23,47% ne la pratique que d'une manière secondaire ( $p < 0.0001$ ) (Tableau 25).

### ✓ **Niveau d'instruction**

94,90% des éleveurs enquêtés n'ont aucune formation technique en aviculture, tandis que seulement 5,10% des éleveurs ont eu une formation technique ( $p < 0.0001$ ) (Tableau 25).

Quand au niveau d'instruction des aviculteurs, il est généralement bas, 57,14% des éleveurs sont analphabètes, alors que seulement 8,16% ont un niveau universitaire ( $p < 0.0001$ ) (Tableau 25).

### ✓ **Expérience dans l'élevage**

L'expérience dans l'élevage avicole des personnes enquêtées varie entre 10 et 50 ans avec une moyenne de 27,9 ans. D'après le tableau 25, nous constatons que 74,49% des éleveurs enquêtés ont une grande expérience dans l'élevage qui dépasse 20ans alors que 10,20% ont une expérience inférieure à 10ans ( $p < 0.0001$ ).

## ❖ **Caractérisation des volailles exploitées**

### ✓ **Espèces exploitées**

La composition de la basse-cour au niveau des différentes exploitations enquêtées est très variée. Toutefois, elle est représentée essentiellement par le poulet (74%) suivi de la dinde (14%) et autre (pintade, pigeon, etc.) (12%) ( $p < 0.0001$ ). Ce qui montre son importance dans la vie socio-économique des ménages au niveau de cette région (Tableau 25).

### ✓ **Taille et mode d'élevage du cheptel avicole**

Les effectifs de volailles élevés sont compris en majorité (48,98%) entre 20 et 100 individus, alors que ceux ayant plus de 100 représentent environ 27,55% ( $p < 0.0040$ ) (Tableau 25).

Les élevages visités sont à 100% conduits au sol.

### ✓ **Espèces aviaires élevées**

Les poulets "beldi", élevés au Maroc, ne sont pas vraiment des souches locales mais plutôt des populations très hétérogènes, ayant subi un métissage très important depuis 1920, date de création de la première station avicole de Meknès, avec l'introduction de races telles que la Sussex herminée, la Rhode Island Red, la Plymouth Rock barrée, la New Hampshire, etc. Depuis, des poussins fermiers produits par les couvoirs nationaux produisent un poulet local (Beldi) de petite taille, très rustique, avec un poids moyen entre 1 et 1,5 kg. La poule produit

entre 60 et 100 œufs par saison de production. C'est une race très couveuse. Les poulets ne dépassent pas 1,5kg de poids vif à l'âge de 5 mois (Revue du secteur avicole 2008).

L'étude a montré que les espèces aviaires les plus dominantes dans les élevages enquêtés sont le Rouge (26%) et Hjarlouad (24%), suivis par le Noir (23%) et Nouar lfoul (18%)(Photo 1).D'autres populations ont été aussi notées, mais à des fréquences relativement plus faibles( $p<0.0001$ ) (Tableau 25).

#### ❖ Alimentation

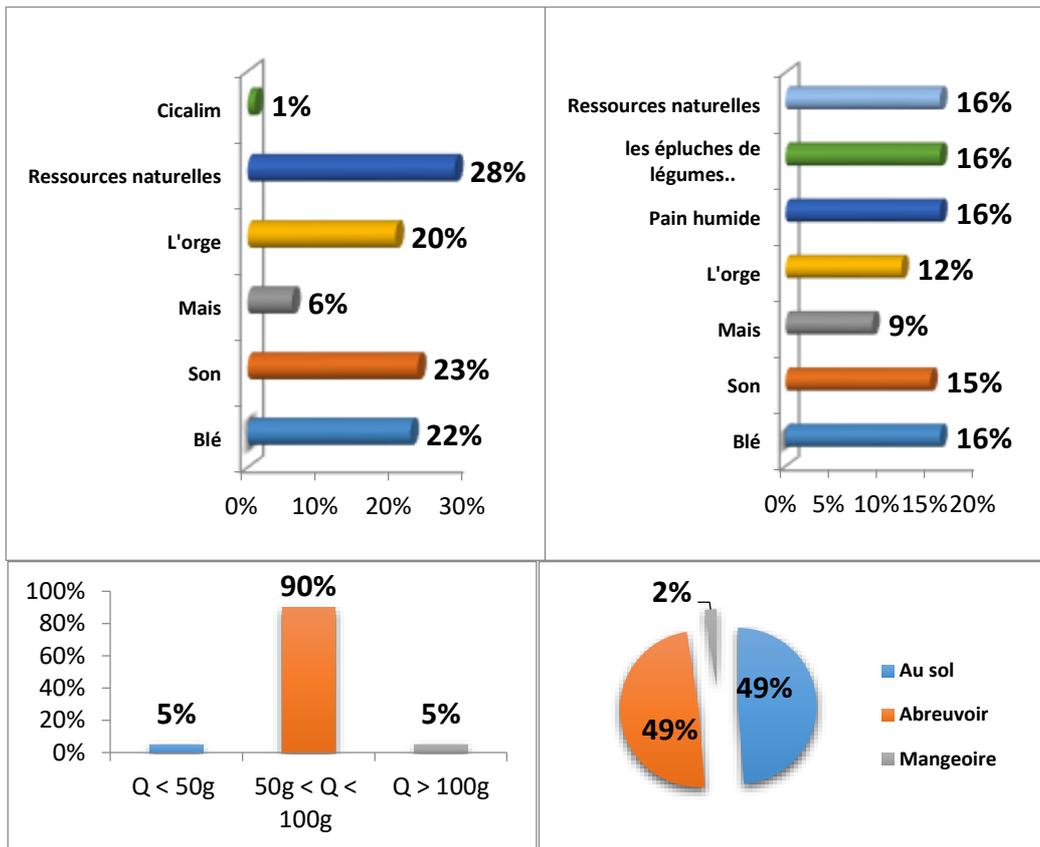
La nourriture de la volaille dans la zone d'étude est basée essentiellement sur les ressources naturelles (28%) et le propriétaire n'apporte de supplémentation que lorsque celles-ci deviennent insuffisantes (en hiver notamment) ou pour les jeunes poussins. La supplémentation est principalement à base de grains et de sous-produits de céréales (orge, maïs, blé et son de blé) et secondairement par le pain humide et les épluches de légumes.

D'après le tableau 25, la nourriture distribuée aux poulets en été varié d'un aliment (25,21%) à trois (03) aliments (41,84%) ( $p<0.0007$ ). Elle est basée essentiellement sur les ressources naturelles (28%), suivi par le son (23%) et le blé (22%). D'autres aliments sont aussi utilisés, mais à des fréquences relativement plus faibles (Figure 33, haut gauche).

Alors que la nourriture distribuée en hiver varie entre trois (03) aliments (9,18%) et quatre (4) aliments (39,80%) ( $p<0.0003$ ) (Tableau 25). Elle est basée essentiellement sur les ressources naturelles (16%), le blé (16%), les épluches de légumes (16%), le pain humide (16%) et le son (15%). D'autres aliments sont aussi utilisés, mais à des fréquences relativement plus faibles (Figure 33, haut droite).

L'aliment est distribué deux fois par jour par 77% des éleveurs enquêtés et trois fois par jour chez le reste des éleveurs ( $p<0.001$ )(Tableau 25). L'aliment est distribué manuellement, avec une quantité comprise entre 50 et 100g/ jour/sujet (Figure 33, bas gauche). Ces aliments sont distribués par terre ou dans des récipients très vétustes (Figure 33, bas droite).

L'eau utilisée dans les élevages est une eau de puits et aucune analyse physico-chimique ou bactériologique n'a été faite sur cette eau.



**Figure 33 :** Alimentation en été (haut gauche), Alimentation en hiver (haut droite).  
Quantité d'aliment distribuée/ j/Sujet (bas gauche), Distribution de l'aliment et d'eau (bas droite)

## 2. Description des poulaillers et matériaux de construction

### ✓ Description des poulaillers

Les résultats de l'enquête ont fait ressortir que 59,18% des élevages sont constitués d'un seul poulailler, alors que 1,02% des élevages enquêtés ne possèdent pas de poulaillers adéquats et spécifiques pour les volailles ( $p < 0.0001$ ) (Tableau 25). En effet, les volailles passent toute la journée dehors à la recherche de la nourriture et divaguent dans les terrains et les exploitations voisines. Ces derniers sont généralement exigus et ne protègent pas correctement les animaux contre les intempéries, les prédateurs et les agents pathogènes.

### ✓ Matériaux de construction

La présente étude a montré que 100% des élevages enquêtés ont des bâtiments dont le sol est en terre battue.

Les constructions les plus fréquentes sont faites en brique et en pierre (30,53%) pour les murs. La toiture est généralement faite en tôle et en bois (branches d'arbres) (48,96%) et très rarement en béton (5,21%) (Tableau 25).

### 3. Maladies rencontrées

Le tableau 25 montre que 50% des éleveurs ont trois maladies, alors que 2,04% ont une seule maladie ( $p < 0,0001$ ). La majorité des éleveurs pratiquaient des traitements traditionnels, soit un pourcentage de 63%, alors que seuls 37 % des éleveurs avaient recours aux traitements vétérinaires ( $p < 0,001$ ). 65,31% des aviculteurs utilisent trois traitements traditionnels, tandis que 3,05 utilisent 5 traitements ( $p < 0,0001$ ). Seuls 12,24% des éleveurs enquêtés utilisent deux médicaments vétérinaires dans leur élevage.

D'après les résultats de l'enquête, nous constatons que les maladies les plus répandues chez le poulet Beldi sont la coccidiose (22%) et la pseudopeste aviaire (Newcastle) (21%), suivies par E.coli (16%) et la variole (11%). D'autres maladies ont été notées, mais à des fréquences relativement plus faibles (Figure 34). Ces maladies sont concentrées en été et en hiver et apparaissent respectivement chez 50% et 46% des élevages (Figure 34).

La phytothérapie est fréquemment pratiquée par les éleveurs. En effet, l'étude a montré que les traitements les plus utilisés étaient l'oignon (35%) et le thym (23%), suivi par l'origan (20%) et l'ail (12%), D'autres traitements ont été aussi notés, mais à des fréquences relativement plus faibles (Figure 3). Pour le traitement vétérinaire, les éleveurs utilisent la tétracycline (54%) et la pénicilline (33%) (Figure 35).

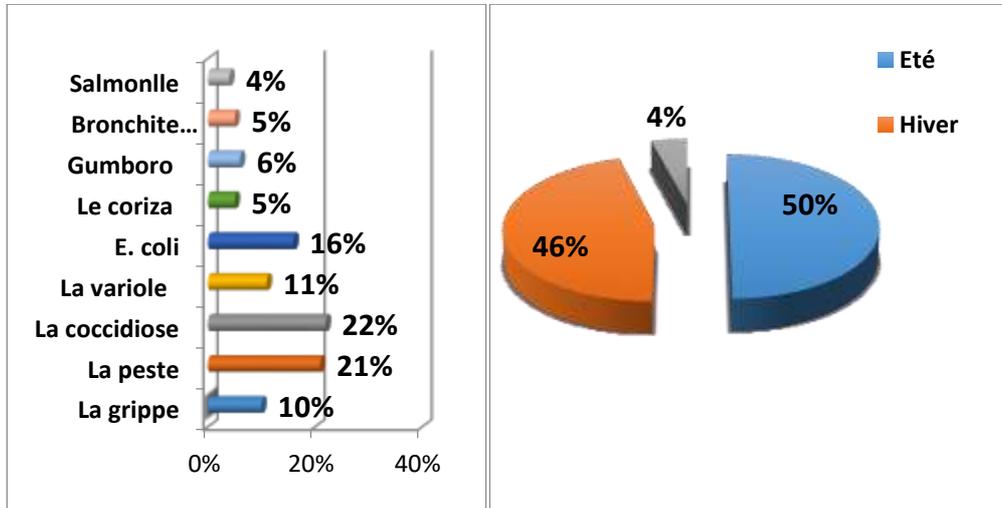
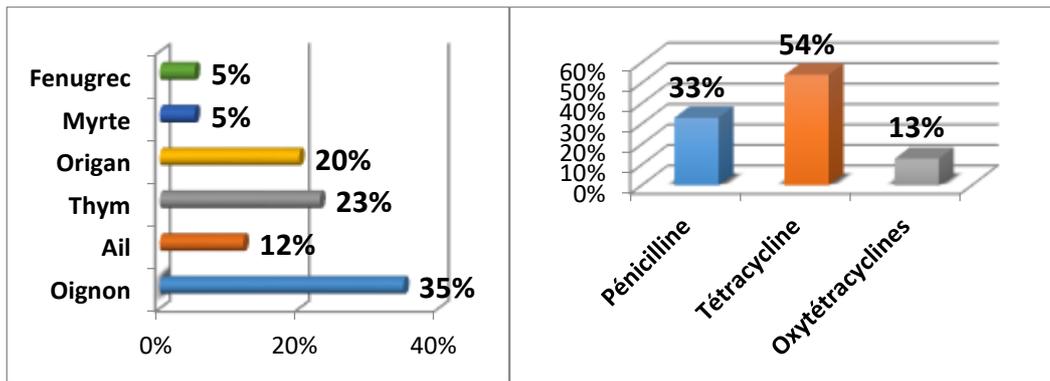


Figure 34 : Type de maladies (Gauche) et période de maladie (droite).



**Figure 35 :** Traitements utilisés (gauche) et antibiotiques appliqués (droite).

#### 4. Mesures d'hygiène et mesures préventives

Le lavage du poulailler n'est pratiqué que par 36,90% des éleveurs, alors que 63,10% des éleveurs ne pratiquent aucun lavage ( $p < 0,0164$ ) (Tableau 25).

Directement après l'enlèvement du fumier, les éleveurs commencent le nettoyage de leurs bâtiments par un balayage au balai et un arrosage du sol et des murs à l'eau.

Les éleveurs pratiquant le lavage du poulailler procèdent à de la désinfection avec de la chaux vive (48%). 43% des aviculteurs se limitent à un lavage à l'eau seule ou associée à l'eau de javel. Le reste utilise un détergent d'usage courant (9%).

#### 5. Commercialisation

En plus de l'autoconsommation, les foyers vendent leurs produits. La commercialisation des animaux se fait généralement dans toute la région.

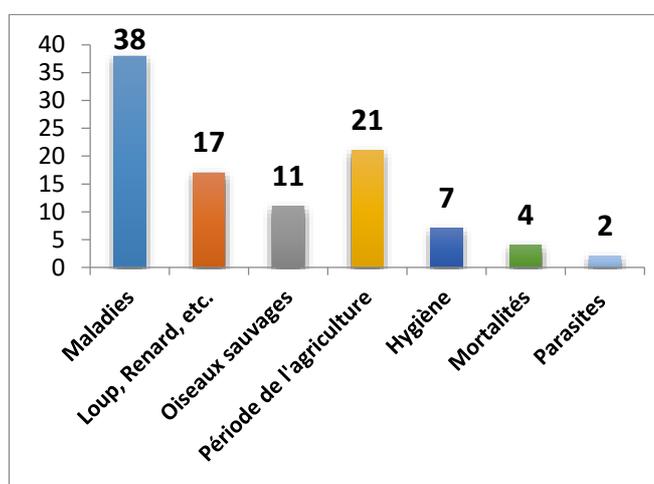
Cependant, certains éleveurs vendent leurs produits localement au niveau du souk (28%) de la commune rurale, ou sur l'exploitation à des revendeurs locaux (26%). Tandis que 36% des éleveurs vendent leurs produits chez eux et aussi au souk.

L'analyse des données collectées montre que 60% des éleveurs vendent leurs produits toute l'année (TA) alors que 40% concentrent leur vente pendant l'hiver (H), printemps (P) et été. L'âge de commercialisation est compris entre 6 mois et 1 an pour 80% des éleveurs, alors que 20% d'eux vendent leurs animaux à un âge supérieur à 1 an.

Les coqs sont vendus à un prix moyen de 76.5 dhs par sujet, alors que les poules sont vendues à un prix moyen de 50 dhs par sujet. 90% des œufs sont vendus à un prix compris entre 1.50 et 1.75 dh/œuf.

## 6. Contraintes au développement

Malgré son importance socio-économique considérable, le secteur traditionnel a été, cependant, souvent négligé et considéré comme une activité secondaire devant l'agriculture et l'élevage des grands animaux vue son revenu faible. Les maladies représentent la contrainte principale qui entrave son expansion ajoutées aux contraintes alimentaires et socio-économiques. Les maladies infectieuses (38%) sont responsables de pertes considérables. Les prédateurs (17%) tels que les loups, les chiens, les chats, les rapaces, les oiseaux sauvages, l'écrasement par des véhicules, les équidés et l'homme sont considérés aussi parmi les problèmes majeurs de la volaille fermière traditionnelle (21%) (Figure 36).



**Figure 36 :** Problèmes de l'élevage du poulet Beldi.

**Tableau 25** : Caractéristiques des aviculteurs et des exploitations avicoles.

Variables	Fréquence (%)	p (Chi <sup>2</sup> test d'égalité des proportions)
Province	Skhirat-Temara ( 61,22%) Sidi Slimane (5,10%)	< .0001
Sexe	Femme (80%) Homme (20%)	< .0001
Statut Eleveur	Activité principale (76,53%) Activité secondaire (23,47%)	< .0001
Formation Technique	Non (94,90%) Oui ( 5,10%)	< .0001
Niveau d'éducation	Analphabète ( 57,14%) Niv d'éducation universitaire (8,16%)	< .0001
Ancienneté en Aviculture	> 20ans ( 74,49%) < 10 ans(10,20%)	< .0001
Espèces exploités	Poulet (74%) Dinde (14%)	< .0001
Effectif	50 <Effectif < 100 ( 48,98%) Effectif > 100 (27,55%)	0.0040
Races	Le rouge (26%) Hjarlouad (18%)	< .0001
Nombre d'aliments distribués en été	3 ( 41,84%) 1 (25,21%)	0.0007
Nombre d'aliments distribués en hiver	4 ( 39,80%) 3 (9,18%)	< .0003
Fréquence de distribution d'aliment	2fois/jours (77%) 3fois/jours (23%)	< .0001
Nombre du poulaillers	1 ( 59,18%) 0 (1,02%)	< .0001
Matière de construction du mur	Brique et Pierre ( 30,53%) Bois et Grillage (3,16%)	< .0001
Matière de construction du toit	Tôle et bois (48,96%) Béton (5,21%)	< .0001
Nombre de Maladies	3 ( 50%) 1 (2,04%)	< .0001
Traitements utilisés	Traditionnel (63%) Médical (37 %)	< .0001
Nombre de Traitements traditionnels Utilisés	3 ( 65,31%) 5 (3,06%)	< .0001
Nombre d'antibiotiques utilisés	1 (26,53%) 2 (12.24%)	0.0359
Lavage et désinfection	Non (63,10%) Oui (36,90%)	0,0164

## 7. Valeurs médianes des caractéristiques quantitatives des exploitations avicoles

Le tableau 26 représente les valeurs médianes des caractéristiques quantitatives de l'ensemble de 98 exploitations avicoles enquêtées. Il en ressort que la valeur médiane du taux de vente pour l'ensemble des exploitations concernées par la présente étude est 50% avec une variabilité de 20% (écart absolu de la médiane MAD), alors que la valeur médiane du taux de consommation, du taux de morbidité et du taux de mortalité dans la zone d'étude est (10%) avec une variabilité de 5% (MAD). La surface agricole utile médiane au niveau des exploitations enquêtées est de 2 ha avec une variabilité de 0.5 (MAD). Elle varie de 0,5 ha à 10 ha selon l'élevage enquêté. Nous constatons que l'importance des effectifs ne dépend pas de l'importance des superficies. Ce qui s'explique par la disponibilité des parcours.

Pour la surface du poulailler, la valeur médiane est 20m<sup>2</sup> avec une variabilité de 11m<sup>2</sup>(MAD). Tandis que la valeur médiane de la distance séparant les élevages de l'exploitation la plus proche est de 100m avec une variabilité de 50 m (MAD).

**Tableau 26 :** Valeurs médianes des caractéristiques quantitatives des exploitations avicoles.

Variables	Taux de vente (%)	Taux de consommation (%)	Taux de morbidité (%)	Taux de mortalité (%)	Capacité de la ferme (ha)	Surface du poulailler (m <sup>2</sup> )	Distance de l'exploitation la plus proche (m)
Médiane	50	10	10	10	2	20	100
Interquartile Range	30	15	12	12	1,5	21	100
MAD	20	5	5	5	0,5	11	50
CV Robuste	40	50	50	50	25	55	50

## 8. Valeurs médianes de Kruskal-Wallis pour les caractéristiques quantitatives des variables qualitatives des exploitations avicoles

Dans cette étude nous avons fait un test d'égalité des médianes de Kruskal-Wallis correspondant à chacune des caractéristiques quantitatives des variables qualitatives pour l'ensemble de la zone d'étude.

H<sub>0</sub> : Pas de différences entre les médianes

Si  $p < 5\%$ , H<sub>0</sub> est rejetée et les médianes sont différentes

Dans le Tableau 27, nous n'avons donné que les valeurs médianes minimales et maximales des caractéristiques quantitatives pour chaque variable qualitative

L'analyse des données révèle que les valeurs médianes des caractéristiques quantitatives (Taux de vente, taux de consommation, taux de morbidité, taux de mortalité, capacité de la ferme, Surface du poulailler et la distance de l'exploitation la plus proche) varient selon les variables qualitatives (Statut de l'éleveur, Formation technique, Niveau d'éducation, etc.).

### ✓ Statut de l'éleveur

Le tableau 27 montre que le taux de vente chez un éleveur ayant l'aviculture comme une activité principale (médiane = 90%) est pratiquement 2 fois chez son homologue qui ne la pratique que d'une manière secondaire (médiane = 50%) à capacité de ferme égale (médiane = 2 Ha).

Ce dépassement explique ainsi la différence des deux taux médians de morbidité et de mortalité qui sont 18% et 15% pour l'éleveur à activité principale contre 10% pour l'éleveur à activité secondaire (vu la différence de l'effectif). Par contre les deux taux de consommation sont inversés vu la nature de l'activité.

La distance séparant l'éleveur qui a une activité secondaire de l'exploitation la plus proche est de (médiane = 70m), alors que la distance séparant l'éleveur qui a une activité principale de l'exploitation la plus proche est de (médiane = 100m), ce qui ne respecte pas la norme d'élevage qui exige une distance de 1 km au minimum (l'arrêté du Ministre de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêches Maritimes n° 2129-05 du 15 décembre 2005 fixant les distances minimales à respecter entre une ferme d'élevage avicole et une autre, ou entre une ferme d'élevage avicole et un couvoir ou entre deux couvoirs).

### ✓ Formation Technique

A partir du tableau 27, nous pouvons conclure qu'avec une capacité de ferme égale (médiane de 2 ha), le niveau technique des éleveurs reste le paramètre clé pour le développement de l'activité avicole.

Ainsi, les éleveurs sont tenus de suivre des formations techniques pour améliorer leurs ventes de ((médiane de 20%) pour les éleveurs qui n'ont pas une formation technique à (médiane de 60% ) pour les éleveurs qui ont suivis une formation technique), et réduire les taux de morbidité de (médiane de 20% ) à (médiane 10%) et de mortalité de (médiane de 20%) à (médiane de 10%).

### ✓ Niveau d'instruction

Les résultats de cette étude ont montré que pour la même capacité de ferme (médiane 2 ha), l'éleveur qui a un niveau d'instruction primaire présente le meilleur taux de vente (médiane 80%) contre des taux de vente moyens pour les universitaires et les analphabètes (médiane 50%). Cela est dû principalement à l'ancienneté et à l'expertise du premier.

Pour son taux de consommation, l'éleveur du niveau primaire ne dépasse pas 5% et maîtrise ses taux de morbidité et de mortalité (médiane 10%).

Bien évidemment, l'analphabète a les taux les plus élevés de consommation, de morbidité et de mortalité (médiane 15%). Quant à l'universitaire, son taux de mortalité est de (médiane 15%).

Pour l'éleveur qui a un niveau d'éducation secondaire, la distance séparant l'exploitation la plus proche (médiane 30m) est plus petite que celle exigée par l'arrêté du Ministre de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêches Maritimes n° 2129-05 du 15 décembre 2005 fixant les distances minimales à respecter entre une ferme d'élevage avicole et une autre, ou entre une ferme d'élevage avicole et un couvoir ou entre deux couvoirs.

#### ✓ **Ancienneté en aviculture**

Les résultats du tableau 27 montrent que le taux de vente pour l'éleveur d'ancienneté dépassant 20 ans est de l'ordre de 60% (médiane), contre un taux de 30% pour celui qui ne dépasse pas 10 ans d'expérience.

Le tableau indique aussi que tous les éleveurs ont un taux médian de consommation de 10%, alors que l'éleveur expérimenté (>20 ans) subit des taux médian de morbidité et de mortalité de 10% plus bas que celui de l'éleveur à 10 ans d'expérience (taux de 20%). La surface du poulailler du premier (médiane = 16m<sup>2</sup>) est plus petite que celle de l'éleveur qui a une expérience inférieure à 10 ans (médiane = 36 m<sup>2</sup>).

Pour la distance séparant les élevages de l'exploitation la plus proche, les deux éleveurs respectent la distance exigée par la norme avec une valeur supérieure ou égale à 1km (l'arrêté du Ministre de l'Agriculture, du Développement Rural et des Pêches Maritimes n° 2129-05 du 15 décembre 2005 fixant les distances minimales à respecter entre une ferme d'élevage avicole et une autre, ou entre une ferme d'élevage avicole et un couvoir ou entre deux couvoirs).

#### ✓ **Lavage et désinfection du poulailler**

Les résultats des enquêtes démontrent que les éleveurs qui pratiquent le lavage et la désinfection du poulailler, et qui respectent les mesures d'hygiène ont un taux médian de morbidité et de mortalité de 10%, inférieur que celui des éleveurs qui ne pratiquent aucun lavage (médianes 15% et 10%).

Le taux de vente est assez élevé chez les éleveurs qui font le lavage et la désinfection (médiane = 60%).

#### ✓ **Nombre de maladies**

L'analyse des résultats a montré que le taux de morbidité et de mortalité augmentent d'une manière significative avec le nombre de maladies, les taux médians sont de l'ordre de 60% et 50% pour les éleveurs qui ont 9 maladies, et de l'ordre de 7,5% et 10% pour les éleveurs qui n'ont qu'une seule maladie. Ce qui explique l'augmentation ou la diminution du taux de vente et de consommation.

Le tableau montre aussi qu'une surface de poulailler plus petite (médiane 15 m<sup>2</sup>) et une distance séparant l'élevage le plus proche inférieure à celle exigée par la norme (médiane 75m) peuvent augmenter le nombre de maladies (4), ce qui influence le taux de morbidité et de mortalité.

✓ **Nombre de traitements traditionnels utilisés par les éleveurs**

L'étude a montré que les éleveurs qui utilisent trois (03) ou quatre (04) traitements traditionnels ont un taux de vente et de consommation élevé (médianes 60% et 20%), et un taux de morbidité et de mortalité assez faible (médianes 10% et 9.5%), par rapport aux éleveurs qui utilisent un (01) ou deux (02) traitements seulement qui ont un taux de vente et de consommation assez faible (médianes 40% et 10%), et un taux de morbidité et de mortalité élevé (médianes 30% et 37.5%),

✓ **Nombre d'antibiotiques utilisés**

Le tableau 27 montre que les éleveurs qui utilisent deux (02) antibiotiques ont un taux de vente élevé (médiane 60%), et un de taux de morbidité et de mortalité assez faible (médianes 12,5% et 10%). Aussi un taux de consommation faible (médiane 10%), par rapport aux éleveurs qui utilisent un seul antibiotique avec un taux de vente assez élevé (médiane 50%), et un de taux de morbidité et de mortalité élevé (médianes 20% et 15%). Aussi un taux de consommation élevé (médiane 20%).

**Tableau 27 : Valeurs médianes de K.W pour les caractéristiques quantitatives des variables qualitatives.**

Caractéristiques quantitatives	Caractéristiques qualitatives	Taux de vente (%)	Taux de consommation (%)	Taux de morbidité (%)	Taux de mortalité (%)	Capacité de la ferme (ha)	Surface du poulailler (m <sup>2</sup> )	Distance de l'exploitation la plus proche (m)
<b>Statut Eleveur</b>	Activité principale	90	5	18	15	2	20	100
	Activité secondaire	50	10	10	10	2	15	70
<b>Formation technique</b>	Oui	60	10	10	10	2	39	150
	Non	25	10	20	20	2	16	100
<b>Niveau d'éducation</b>	Analphabète	50	15	15	15	2	20	100
	Niveau d'éducation primaire	80	5	10	10	2	20	100
	Niveau d'éducation secondaire	60	10	10	10	2	18	30
	Niveau d'éducation universitaire	50	10	12	15	2	16	125
<b>Ancienneté en Aviculture</b>	A < 10 ans	30	10	20	20	2	36	150
	A > 20ans	60	10	10	10	2	16	100
<b>Lavage et désinfection du poulailler</b>	Oui	60	10	10	10	2	36	150
	Non	50	10	15	12	2	15	100
<b>Nombre de maladies</b>	Nombre de maladies	3 ( 60) 9 (25)	2 (20) 9 (10)	9 (60) 1 ( 7,5)	9 ( 50) 1 (10)	8 ( 3,5 ) 9 (1,5)	2 (36 ) 3 (15)	1 ( 150) 3 (75)
<b>Nombre de traitements traditionnels</b>	Nombre de traitements traditionnels Utilisés	3 ( 60) 2 (40)	3 (20) 2 (10)	1 (30) 4 (10)	2 ( 37,5) 4 (9,5)	4 ( 2,5 ) 5 (1)	1 (36 ) 4 (18)	2 ( 150) 4 (75)
<b>Nombre d'antibiotiques</b>	Nombre d'antibiotiques utilisés	2 ( 60) 1 (50)	1 ( 20) 2 (10)	1 ( 20) 2 (12,5)	1 (15) 2 (10)	1 ( 2) 2 (2)	1 ( 36) 2 (20)	1 ( 150) 2 (100)

## 9. Association des variables qualitatives des exploitations avicoles

Dans cette étude, nous avons effectué le test exact de Fisher pour savoir si il y a une association ou au contraire, une indépendance entre les variables qualitatives, ainsi que de quantifier le niveau ou le degré d'association s'il y a lieu.

$H_0$  : il n'y a pas d'association entre deux (02) variables qualitatives

Si  $p < 0$ ,  $H_0$  est rejetée et les variables sont associées

D'après le tableau 28, nous pouvons conclure qu'il y a une association entre :

- Les provinces et l'effectif de poulets des exploitations enquêtées ( $p < 0,0001$ ). Cette association est très forte ( $v$  de Cramer = 0,4556). (Dans la province de Sidi Slimane, 100% des éleveurs ont un effectif compris entre 10 et 100 individus, par opposition à ceux de la province Khmissèt dont 78% ont un effectif supérieur à 100 individus).
- Les provinces et le niveau d'instruction des éleveurs enquêtés ( $p < 0,0001$ ). Cette association est forte ( $v$  de Cramer = 0,3736). (Dans la province de Skhirat-Temara 65%

- des éleveurs sont analphabètes par opposition à ceux de la province Salé dont 67% ont un niveau d'éducation primaire).
- Le niveau d'instruction et le statut des éleveurs enquêtés ( $p < 0,0001$ ). Cette association est très forte ( $v$  de Cramer = 0,6096). (95% des éleveurs analphabètes pratiquent l'aviculture comme activité principale par opposition aux éleveurs qui ont un niveau d'éducation secondaire dont 56% ne la pratiquent que d'une manière secondaire).
  - Les provinces et le nombre des maladies rencontrées chez les éleveurs ( $p < 0,005$ ). Cette association est forte ( $v$  de Cramer = 0,3231). (40% des éleveurs de la province de Skhirat-Temara ont trois maladies par opposition à ceux de la province Salé dont 80% ont trois maladies).
  - Le nombre de traitements traditionnels utilisés par les éleveurs enquêtés et le nombre de maladies rencontrées ( $p < 0,0001$ ). Cette association est très forte ( $v$  de Cramer = 0,4975). (50% des éleveurs qui pratiquent deux traitements ont une seule maladie par opposition à ceux qui utilisent qu'un seul traitement dont 22% ont trois maladies).
  - Le nombre des antibiotiques utilisés par les éleveurs et le nombre de maladies rencontrées ( $p < 0,0001$ ). Cette association est très forte ( $v$  de Cramer = 0,8093). (47% des éleveurs qui n'utilisent qu'un seul antibiotique ont trois maladies par opposition à ceux qui utilisent deux antibiotiques dont seuls 16% ont trois maladies).
  - Le lavage du poulailler pratiqué par les éleveurs enquêtés et le nombre de maladies rencontrées ( $p < 0,0001$ ). Cette association est très forte ( $v$  de Cramer = 0,5527). (74% des éleveurs qui ne pratiquent pas le lavage et la désinfection du poulailler ont trois maladies au minimum par opposition à ceux qui pratiquent le lavage et la désinfection dont 16% ont deux maladies).
  - Les provinces et le nombre d'aliments distribués aux poulets par les éleveurs enquêtés ( $p < 0,0001$ ). Cette association est très forte ( $v$  de Cramer = 0,3716). (la nourriture distribuée aux poulets varie d'un aliment à trois (03) aliments pour 47% des éleveurs de la province de Skhirat-Temara par opposition à ceux de la province Sidi Slimane dont 80% distribuent 4 aliments).
  - Le statut de l'éleveur et le nombre d'aliments distribués aux poulets ( $p < 0,0001$ ). Cette association est très forte ( $v$  de Cramer = 0,4238). (92% des éleveurs ayant l'aviculture comme une activité principale distribuent 3 aliments au minimum aux poulets par opposition à ceux qui la pratiquent d'une manière secondaire dont 44% distribuent qu'un seul aliment).

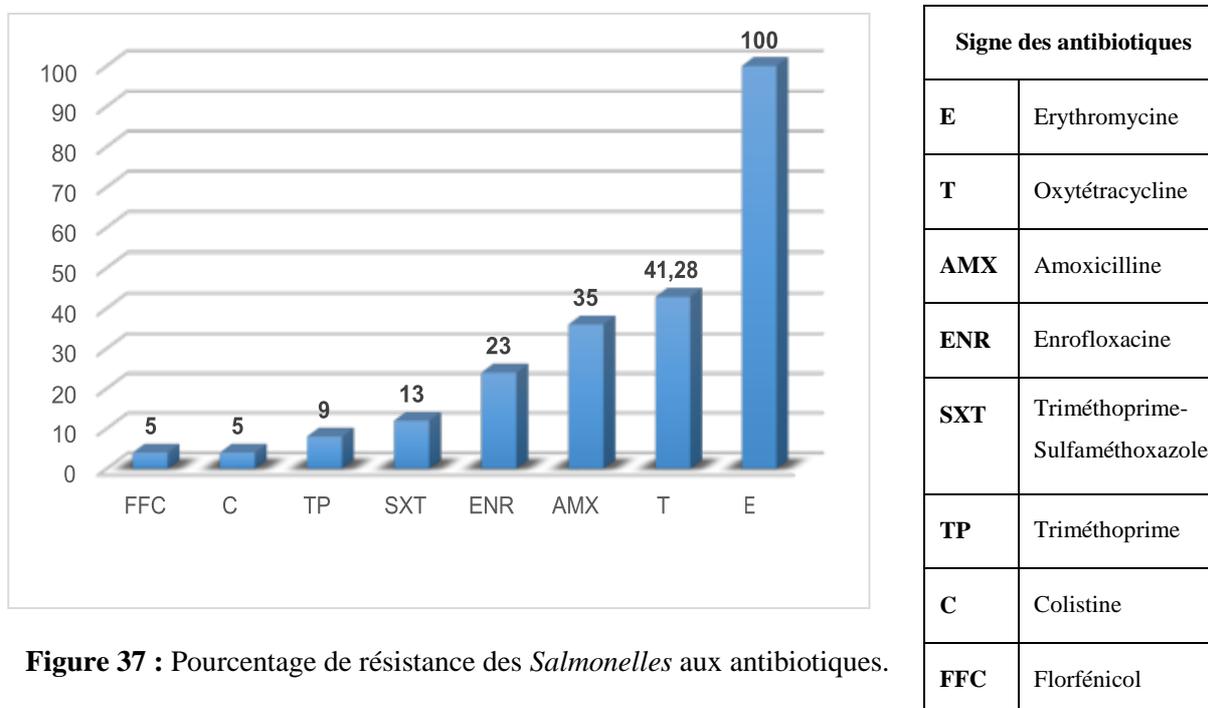
**Tableau 28 :** Association des variables qualitatives des exploitations avicoles de Rabat-Salé-Kénitra.

<b>Association</b>	<b>Valeur P du test exact de Fisher</b>	<b>V de Cramer</b>
Effectif avec Province	$0 < 5\%$	0.4556
Effectif avec Statut de l'éleveur	$0 < 5\%$	0.3736
Niveau d'instruction avec Province	$0 < 5\%$	0.3720
Niveau d'instruction avec statut de l'éleveur	$0 < 5\%$	0.6096
Nombre de maladies avec Province	$0.0331 < 5\%$	0.3231
Nombre de traitements traditionnels utilisés avec Nombre de maladies	$0 < 5\%$	0.4975
Nombre Antibiotiques utilisés avec Nombre de maladies	$0 < 5\%$	0.8093
Lavage et désinfection avec Nombre de maladies	$0 < 5\%$	0.5527
Nombre d'aliments distribués en été avec Province	$0 < 5\%$	0.3716
Nombre d'aliments distribués avec Statut de l'éleveur	$0 < 5\%$	0.4238

## II. Antibiotypie

La figure 37 représente les pourcentages de résistance des souches de salmonelle testées aux antibiotiques. L'Erythromycine a montré une résistance maximale, soit un pourcentage de résistance de 100% et cela est expliqué du fait que *Salmonella* est naturellement résistante à ce dernier, car elle a la particularité de posséder une membrane externe à perméabilité sélective la rendant résistante aux antibiotiques de poids moléculaire élevé (Schwartz et *al.*, 2006).

La résistance des souches étudiées à l'Oxytétracycline était de 41.28%, et de 35 % vis à vis l'Amoxicilline, alors que l'Enrofloxacin et Triméthoprim-Sulfaméthoxazole ont montré respectivement un pourcentage de résistance de l'ordre de 23 et 13%. Le Thiamphénicol, a montré une résistance de 9%. Cependant, la Colistine (25) a montré une résistance de 5%, c'est le cas pour le Florfénicol (5%).

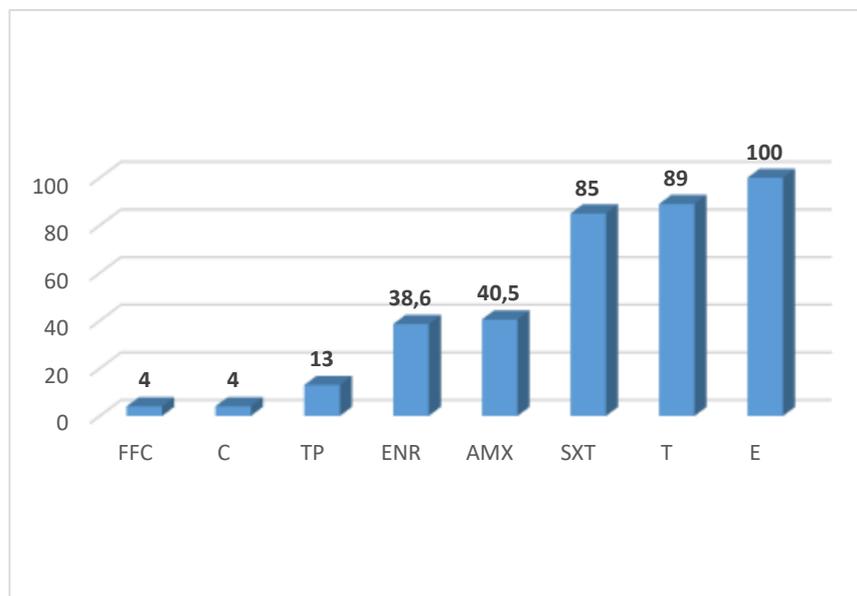


**Figure 37 :** Pourcentage de résistance des *Salmonelles* aux antibiotiques.

La figure 38 représente les pourcentages de résistance des souches d'*E. coli* testées aux antibiotiques. L'Erythromycine a montré une résistance maximale, soit un pourcentage de résistance de 100% et cela est expliqué du fait que *E. coli* est naturellement résistante à ce dernier.

La résistance des souches étudiées à l'Oxytétracycline était de 89%, et de 85 % vis à vis Triméthoprim-Sulfaméthoxazole, alors que l'Amoxicilline et l'Enrofloxacin ont montré respectivement un pourcentage de résistance de l'ordre de 40,5 et 38,6%. Le Thiamphénicol,

a montré une résistance de 13%. Cependant, la Colistine (25 µg) et le Florfénicol ont montré une résistance de 4%.



**Figure 38 :** Pourcentage de résistances des *E. coli* aux antibiotiques.

Signe des antibiotiques	
<b>E</b>	Erythromycine
<b>T</b>	Oxytétracycline
<b>AMX</b>	Amoxicilline
<b>ENR</b>	Enrofloxacin
<b>SXT</b>	Triméthoprime-Sulfaméthoxazole
<b>TP</b>	Triméthoprime
<b>C</b>	Colistine
<b>FFC</b>	Florfénicol

### III. Etude des huiles essentielles de *Thymus vulgaris*, d'*Origanum compactum* et de *Cinnamomum cassia* et de leurs composés majoritaires in vitro

#### 1. Rendement en huile essentielle

L'huile essentielle de l'écorce de la cannelle de Chine (*Cinnamomum cassia*) est un liquide de couleur jaunâtre, d'une odeur forte et caractéristique avec un rendement de 1,18% (p/p).

Les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* et de l'*Origanum compactum* ont été calculées en fonction de la matière végétale sèche de la partie aérienne de la plante, et ils ont montré respectivement un rendement de l'ordre 0.9% et 1,6%.

#### 2. Analyse chimique des huiles essentielles

##### a) *Origanum compactum*

La composition chimique de l'huile essentielle de l'*Origanum compactum* été étudiée par chromatographie en phase gazeuse couplée avec la spectrométrie de masse (CPG et CPG/SM). Au total, dix (10) constituants ont été identifiés dont les majoritaires sont : le Carvacrol (35,17%) suivi du  $\gamma$ -terpinène (20,089%), Thymol (17,553%) et le o-cymène (13,669%) représentent 86,481% de l'huile (Tableau 29) (Annexe 1).

**Tableau 29** : Composition chimique d'HE de l'*Origanum compactum*.

Temps de rétention (mn)	Constituants	Pourcentage (%)
6,792	3-Methyl-apopinène	0,848
7,922	Myrcène	1,953
8,476	4-carène	2,267
8,647	o-cymène	13,669
9,360	$\gamma$ -terpinène	20,089
10,102	Linalool	4,146
13,675	Thymol	17,553
13,896	Carvacrol	35,173
15,976	Caryophyllène	3,111
18,519	Oxyde de Caryophyllène	1,193
<b>Total</b>		100%

##### b) *Cinnamomum cassia*

La composition chimique d'HE a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplée avec une spectrométrie de masse et le résultat a été répertorié dans le Tableau 30 (Annexe 2).

Au total, quatre (04) composants de l'HE de *Cinnamomum cassia*, représentant 100% de l'ensemble des composants identifiés. Les résultats ont montré que le cinnamaldehyde est le principal composé (69,146%), suivi par l'acide méthoxycinnamique (21,188%), le benzyl alcool (6,137%), et le Benzyl benzoate (3,529%).

Le nombre de composants identifiés dans l'HE de la cannelle dans notre étude est beaucoup plus réduit que ceux rapportés dans certaines études antérieures. Ceci peut être, en partie expliqué par la volatilité des composants et les méthodes d'extraction et d'analyse. Mais aussi par d'autres facteurs tels que le stade de croissance, partie de la plante, géo-origines graphiques (Huang et al., 2014).

**Tableau 30** : Composition chimique de l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia*.

Temps de rétention (mn)	Constituant	Pourcentage(%)
8,814	Benzyl alcool	6,137
13,508	<b>Cinnamaldéhyde</b>	<b>69,146</b>
15,550	<b>Acide méthoxycinnamique</b>	<b>21,188</b>
20,974	Benzoate de benzyle	3,529
<b>Total</b>		100%

*c) Thymus vulgaris*

Les résultats de l'analyse de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* par GC/MS montrent que les composants majeurs sont respectivement le o-Cymene (33,62 %), le thymol (23,26 %) et le  $\gamma$ -terpinène (19,45 %) (Tableau 31) (Annexe 3). La variation de la composition chimique des huiles essentielles est influencée par les conditions édaphiques, climatiques ainsi que les conditions de culture des plantes et même la méthode d'extraction et le mode de conservation (Echeverrigaray, 2001 ; Kulkarni, 1996).

**Tableau 31** : Composition chimique d'HE de *Thymus vulgaris*.

Temps de rétention (mn)	Constituants	Pourcentage (%)
6,646	$\alpha$ -thujène	3,873
6,796	$\alpha$ -pinène	1,918
7,926	$\beta$ -pinène	4,403
8,480	$\alpha$ -terpinène	4,903
8,684	<b>o-Cymene</b>	<b>33,615</b>
9,360	<b><math>\gamma</math>-terpinène</b>	<b>19,451</b>
10,102	Linalol	4,245
13,841	<b>Thymol</b>	<b>23,256</b>
15,976	Caryophyllène	4,4337
<b>Total</b>		100%

### 3. Activité antibactérienne des huiles essentielles de thym, de l'origan et de la cannelle et de leurs composés majoritaires

#### a) Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque

Les aromatogrammes ont été réalisés en premier lieu sur des souches de référence (*E. coli* ATCC25922 et *Salmonella* CTP 8059) et ensuite sur des souches d'isolats cliniques d'*E.coli*, de *S. enteritidis* et de *S. gallinarum* d'origine aviaire.

Les résultats, sont exprimés par les diamètres des zones d'inhibition. D'après Meena et Sethi (1994) et Ela et al., (1996), la sensibilité à une HE a été classée en fonction des diamètres des zones d'inhibition comme suit :

- HE fortement inhibitrice : Diamètre de la zone d'inhibition > 28 mm
- HE modérément inhibitrice : Diamètre de la zone entre 16-28 mm
- HE légèrement inhibitrice : Diamètre de la zone varie entre 10-16 mm
- HE non inhibitrice : Diamètre d'inhibition est inférieur à 10 mm

#### ➤ Les souches de références :

Le tableau 32 présente les résultats de l'activité antibactérienne des HE et des composés majoritaires étudiés sur les souches de référence.

Les données du tableau 32 montrent que les huiles essentielles du thym, de l'origan et de la cannelle et leurs composés majoritaires présentent une activité inhibitrice contre les deux souches étudiées. L'HE de la cannelle et le cinnamaldéhyde ont montré une activité antibactérienne plus importante que l'HE du thym, de l'origan et du carvacrol. Ce qui indique que les deux souches bactériennes sont plus sensibles à l'HE de la cannelle et au cinnamaldéhyde qu'à HE du thym, de l'origan et du carvacrol.

**Tableau 32 :** Diamètres des zones d'inhibition obtenues avec les souches de référence.

Souche de référence	<i>E. coli</i> ATCC25922	<i>Salmonella</i> CTP 8059
	Moyenne ± ET	Moyenne ± ET
HE du Thym	17 ± 1	19 ± 1,0
HE de l'origan	19 ± 2	21 ± 2,0
Carvacrol	23 ± 2	24,6 ± 1,5
HE de la cannelle	30 ± 2	25 ± 2,0
Cinnamaldéhyde	30 ± 1	30 ± 1,5

### ➤ **Souches sauvages d'origine aviaire**

Les tests qualitatifs initiaux des huiles essentielles et de leurs composés majoritaires sur les souches étudiées, en utilisant la méthode de diffusion sur gélose ont abouti à des zones d'inhibitions, énumérées dans les tableaux 33 à 35.

L'HE de la cannelle présente en moyenne l'activité inhibitrice la plus importante sur les trois souches par rapport à l'HE de l'origan et du thym. Cependant cette activité varie d'une souche à une autre. En effet, *E. coli* est plus sensible à l'HE de la cannelle (32mm) (tableau 33) que les deux souches de *Salmonella*, et, parmi ces dernières, *S.gallinarum* (27,65mm) (tableau 35) est plus sensible que *S. enteritidis* (16,25mm) (tableau 34).

L'activité de l'HE de cannelle est, en moyenne, plus puissante que celle du cinnamaldéhyde. Ce qui montre l'intervention des composés minoritaires dans l'activité antibactérienne globale de cette huile essentielle.

Cependant, le carvacrol semble être plus actif que HE de l'origan ce qui peut être justifié par sa faible teneur dans la composition de l'HE (35,173%) ou la présence de composés antagonistes au carvacrol dans l'huile essentielle de l'origan (Lambert et *al.*, 2001).

L'HE du thym présente en moyenne l'activité inhibitrice la plus faible sur les trois souches ce qui peut être justifié par sa faible teneur en thymol dans la composition de l'HE (23,26%).

D'après ces résultats, on conclut que l'activité antibactérienne des HE est étroitement liée à la nature et la teneur des principes actifs qui entrent dans leur composition.

**Tableau 33 :** Diamètres en (mm) des zones d'inhibition obtenues avec les souches sauvages d'*E. coli* d'origine aviaire.

N° de la souche <i>E. coli</i>	HE du thym	HE de l'origan	Carvacrol	HE de la cannelle	Cinnamaldéhyde
1	17	24	25	30	27,5
2	18	25	27,5	33	29
3	18	25	28	30,5	26
4	21	26	27	35	31
5	19	20	25	32	28
6	17	20	22	25	20
7	20	22,5	24	31	27
8	16	20	26	29	25
9	19	21	22,5	28,5	24
10	17	19,5	21	37	34
11	21	25	27	32,5	26
12	20	25,5	28,5	34	26,5
13	21	26	29,5	35,5	32,5
14	19	25	26	32,5	28,5
15	18	24,5	29	29,5	29
16	21	26,5	29	29,5	26,5
17	21	28	29,5	36	31
18	19	25,5	29,5	29	25
19	20	28,5	28,5	35,5	32
20	21	29	30	35	32
<b>Moyenne ± ET</b>	<b>19,16± 1,6</b>	<b>24,32 ± 2,9</b>	<b>26,70 ± 2,7</b>	<b>32 ± 2,7</b>	<b>29,25 ± 2,9</b>

**Tableau 34 :** Diamètres en (mm) des zones d'inhibition obtenues avec les souches sauvages de *S. enteritidis* d'origine aviaire.

N° de la souche <i>S. enteritidis</i>	Diamètre de la zone d'inhibition (en mm)				
	Thym	Origan	Carvacrol	Cannelle	Cinnamaldéhyde
1	10	10	13	15	13
2	9	12	15	17	13,5
3	11	10,5	11	13	12,5
4	6	9	11	13,5	12
5	9	9,5	12	14	13
6	10	11	14	18	17,5
7	11	12	15	19	18,5
8	11	13	16	20	16
9	6	12	12	15	12
10	10	11	14	18	16
<b>Moyenne ± ET</b>	<b>9,30± 1,8</b>	<b>11 ± 1,2</b>	<b>13,30 ± 1,7</b>	<b>16,25 ± 2,4</b>	<b>14,40 ± 2,3</b>

**Tableau 35** : Diamètres en (mm) des zones d'inhibition obtenues avec les souches sauvages de *S.gallinarum* d'origine aviaire.

Souches de <i>S.gallinarum</i>	Diamètre de la zone d'inhibition				
	Thym	Origan	Carvacrol	Cannelle	Cinnamaldéhyde
1	18	20	23	25	23,5
2	15	17	20	27	24
3	13	15,5	19,5	27,5	22
4	16	18	20,5	27	21
5	15	16,5	19	27	23
6	16	19	21	28,5	24
7	15	16	22	26	22,5
8	13	15	21,5	30	25,5
9	16	19	23	29	23
10	18	21	24	29,5	26
<b>Moyenne ± ET</b>	<b>15,50 ± 1,7</b>	<b>17,70 ± 2</b>	<b>21,35 ± 1,6</b>	<b>27,65 ± 1,5</b>	<b>23,45 ± 1,5</b>

**b) Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI et la concentration minimale bactéricide CMB**

Dans la présente étude nous avons quantifier l'activité antibactérienne des trois huiles essentielles et leurs composés majoritaires sur les trois souches bactériennes par la détermination des CMI et CMBs. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 36 :

En milieu liquide, l'HE de cannelle a été, en moyenne, la plus efficace (0,01, 0,015, 0,02) et son effet a également été très stable. L'HE du thym et d'origan ont été moins efficace que celle de la cannelle. De même, le cinnamaldéhyde a présenté des CMI de 0,031, 0,04 et 0,05% témoignant ainsi d'une forte activité antibactérienne sur les souches étudiées.

Le cinnamaldéhyde semble inhiber la production d'enzymes par les bactéries et/ou causer des dommages à la paroi cellulaire des bactéries (Gill et Holley, 2004 ; Di Pasqua et *al.*, 2007).

Les résultats obtenus pour les CMI sont pour la majorité en concordance avec les diamètres des zones d'inhibition observés dans l'essai de diffusion sur gélose.

D'autre part, tous les produits testés ont montré une activité bactéricide, les valeurs des CMBs étaient similaires ou presque à celles de CMI.

*Cinnamomum cassia* a présenté l'activité inhibitrice et bactéricide la plus élevée contre les trois souches .

**Tableau 36** : Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et Concentrations Minimales Bactéricides (CMB) (%) (v/v) moyennes des huiles essentielles testées et leurs composés majoritaires selon le type de souche.

Les Agents	Souches bactérienne					
	<i>E.coli</i>		<i>S.enteritidis</i>		<i>S. gallinarum</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<b>HE du thym</b>	0,08 ± 0,036	0,08 ± 0,036	0,1 ± 0,036	0,2 ± 0,07	0,125±0,07	0,125 ± 0,07
<b>HE de l'origan</b>	0,08 ± 0,036	0,08 ± 0,036	0,1 ± 0,036	0,2 ± 0,07	0,125±0,07	0,125 ± 0,07
<b>HE de la cannelle</b>	<b>0,01 ± 0,004</b>	<b>0,02 ± 0,009</b>	<b>0,015 ± 0,007</b>	<b>0,025 ± 0,009</b>	<b>0,02 ± 0,009</b>	<b>0,025 ± 0,009</b>
<b>Carvacrol</b>	0,0625 ± 0,03	0,08 ± 0,036	0,14 ± 0,09	0,16 ± 0,007	0,1 ± 0,036	0,125 ± 0,07
<b>Cinnamaldéhyde</b>	0,031 ± 0,001	0,031 ± 0,001	0,05 ± 0,018	0,31 ± 0,001	0,04 ± 0,018	0,05 ± 0,018

### c) Interaction des huiles essentielles et leurs composés majoritaires avec les antibiotiques

A partir des résultats de l'aromatogramme et de la CMI de chaque huile vis-à-vis les souches bactériennes étudiées, nous avons déterminé l'interaction des deux huiles essentielles ayant prouvé une efficacité élevée vis-vis les deux souches d'*E. coli* avec les antibiotiques. Les huiles ainsi testées sont la cannelle et l'origan et leurs composés majoritaires.

Nous avons combiné chaque huile essentielle et chaque principe actif avec différents antibiotiques auxquels la souche d'*E. coli* montre une résistance à savoir : Oxytétracycline et TMP-sulfamide, pour déterminer d'une manière qualitative des interactions éventuelles entre les huiles essentielles et les principes actifs d'une part et les antibiotiques d'autre part. (tableau 37).

D'après les résultats de l'ANOVA, il y a des différences significatives entre les souches bactériennes ( valeur F = 976,82 et valeur p < 0,0001), les produits ( valeur F = 223,45 et valeur p < 0,0001) et les produits utilisés ( valeur F = 76,05 et valeur p < 0,0001). De même, toutes les interactions sont significatives sauf celle entre les souches et les produits utilisés ( valeur F = 0,60 et valeur p = 0,5787).

L'analyse des données obtenues montre que l'association de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* avec Oxytétracycline a donné des interactions synergiques (18mm) par rapport à celle de l'huile essentielle seule (14,5mm) et l'antibiotique seul sur les deux souches d'*E. coli* tandis qu'un léger effet antagoniste est obtenu avec le TMP-sulfamide (9mm), et ce, par rapport à l'huile essentielle seule (14,5 et 22 mm).

Le tableau 37 montre une interaction antagoniste lors de l'association du carvacrol avec le TMP-sulfamide (15,75mm); cependant, une synergie est obtenue avec l'Oxytétracycline (20mm).

Les résultats montrent une interaction synergique de l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia* (23 et 22,75 mm) et du cinnamaldéhyde (21,5 et 20 mm) avec tous les antibiotiques testés.

D'après les résultats cités précédemment, nous avons constaté que la sensibilité des deux souches d'*E. coli* aux associations HE/PA-AB testées, diffère selon l'huile essentielle et l'antibiotique utilisés. L'huile essentielle de *Cinnamomum cassia* et le cinnamaldéhyde étaient les plus actifs en association avec les antibiotiques dont le résultat était toujours une synergie.

**Tableau 37 :** Evaluation de l'interaction des HE ou des PA avec les AB par la méthode des disques. Les valeurs (mm) représentent les diamètres des zones d'inhibition pour chaque produit testé séparément ou en association.

Souches bactériennes	Produits utilisés	HE d' <i>Origanum compactum</i>	HE de <i>Cinnamomum cassia</i>	Carvacrol	Cinnamaldéhyde	Antibiotique Oxytétracycline	Antibiotique TMP-sulfamide	Moyenne
<i>E. coli</i> ATCC25922	Antibiotique Oxytétracycline	22	29	25	26	-	-	22.1 A
	Antibiotique TMP-sulfamide	16	29	19,5	25	-	-	
	Sans antibiotique (Rien)	18	28	21	23	-	-	
	Antibiotique seul	-	-	-	-	19	9	
<i>E. coli</i> sauvage	Antibiotique Oxytétracycline	14	17	16	17	-	-	14.2 B
	Antibiotique TMP-sulfamide	10	16,5	12	15	-	-	
	Sans antibiotique (Rien)	11	16	13	14	-	-	
	Antibiotique seul	-	-	-	-	18	9	
Moyenne	Antibiotique Oxytétracycline	18**	23**	20,5**	21,5**	-	-	18.1
	Antibiotique TMP-sulfamide	13	22,8**	15,8	20**	-	-	
	Sans antibiotique (Rien)	14,5*	22*	17*	18,5*	-	-	
	Antibiotique seul	-	-	-	-	18,5*	9*	

Signification (\*) : présence d'une interaction synergique

Signification (\*\*) : présence d'une bonne interaction synergique

Signification (-) : pas de test

Le synergisme entre les HE et les antibiotiques est une interaction positive créée quand l'association des deux agents, provoquent un effet inhibiteur supérieur à la somme de leurs

effets individuels. En effet, les huiles essentielles peuvent sensibiliser la bactérie à un antibiotique précédemment inefficace (Aiyegoro et Okoh, 2009) .

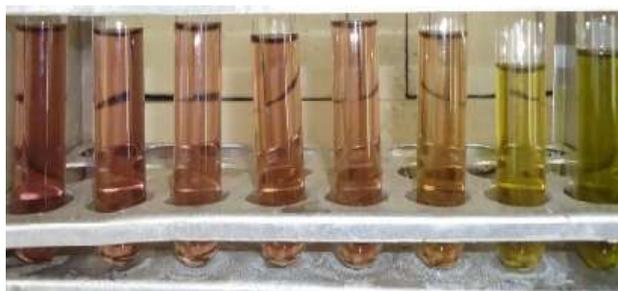
Il a été démontré que certains composés de plantes peuvent inhiber efficacement les pompes à efflux impliqués dans les mécanismes de résistance aux antibiotiques. Cela pourrait conduire à la restauration de la sensibilité aux antibiotiques et de réduire leurs doses (Fadli et al., 2012).

L'association des HE aux antibiotiques peut être employée pour augmenter le spectre antimicrobien (Fadli et al., 2012), empêcher l'apparition des mutants résistants, réduire et minimiser les effets secondaires de l'antibiotique (Lv et al., 2011), ce qui pourrait être une alternative à la monothérapie pour des cas présentant des infections envahissantes difficiles à traiter, comme ceux dues aux espèces multirésistantes (Aiyegoro et Okoh, 2009) .

#### 4. Activité antioxydante des HE de thym, d'origan et de la cannelle.

L'activité antioxydante des HE est exprimée par le changement de couleur de la solution du DPPH d'une coloration violette intense à une coloration jaune pâle (figure 39).

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux 38, 39 et 40.



**Figure 39 :** Changement de la couleur de la solution DPPH du violet au jaune.

**Tableau 38 :** Activité antioxydante de l'HE de l'*Origanum compactum*.

Concentration (µl/ml)	L'absorbance en 517nm	% d'inhibition
200	0,261	77,10
400	0,196	82,80
600	0,163	85,70
800	0,141	87,63

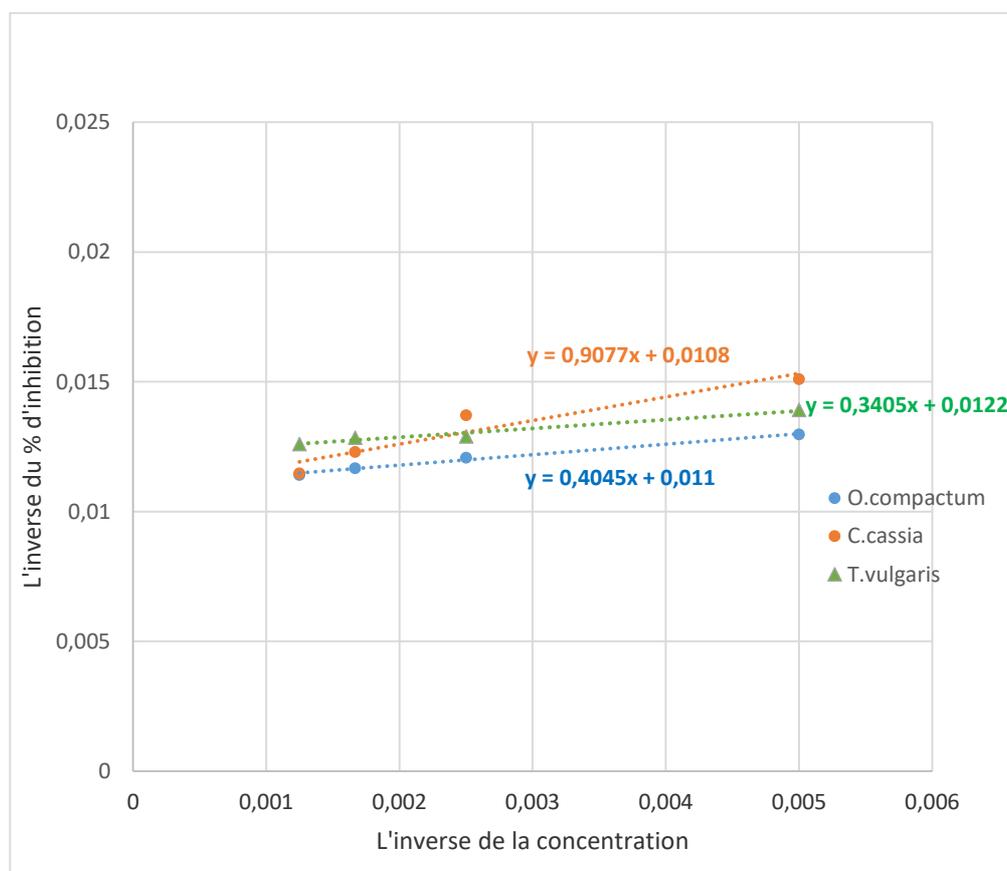
**Tableau 39 :** Activité antioxydante de l'HE de *Cinnamomum cassia*.

Concentration (µl /ml)	Absorbance en 517 nm	% d'inhibition
200	0,385	66,23
400	0,309	72,89
600	0,213	81,3
800	0,146	87,19

**Tableau 40** : Activité antioxydante de l'HE de *Thymus vulgaris*.

Concentration (µl /ml)	Absorbance en 517 nm	% d'inhibition
200	0,321	71,84
400	0,256	77,54
600	0,253	77,81
800	0,236	79,30

Les résultats du pourcentage d'inhibition du radical DPPH par les trois huiles essentielles sont représentés dans la figure 40.

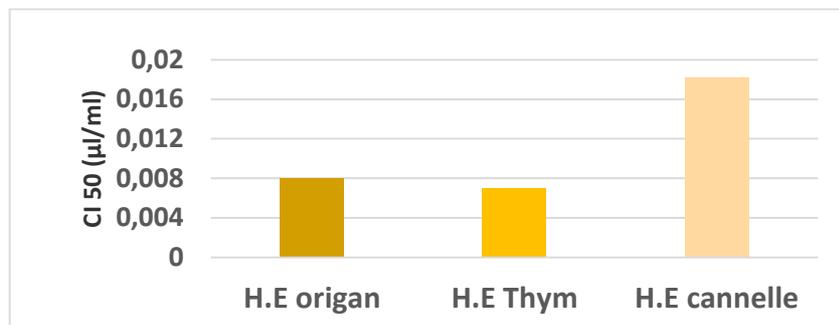


**Figure 40** : Courbes représentatives du pouvoir antioxydant des HE d'origan, de thym et de la cannelle.

Ce test nous a permis de déduire que les huiles essentielles de l'origan et du thym ont été plus efficace pour piéger les radicaux libres DPPH que celle de la cannelle.

Nous constatons aussi que l'activité antiradicalaire est d'autant plus importante quand la concentration d'HE est importante (Bouhdid et *al.*, 2009)

Le paramètre CI50, qui représente la concentration d'HE qui inhibe 50% du radical DPPH, est inversement lié au pouvoir antioxydant. Les valeurs CI50 de l'HE de l'origan, du thym et de la cannelle sont présentées sur la figure 41.



**Figure 41** : CI50 des deux huiles essentielles.

Nous notons une forte activité antiradicalaire de l'HE du thym et de l'origan dont la CI50 est de 0.007µl/ml et de 0,008µl/ml en comparaison avec l'HE de la cannelle pour laquelle ce paramètre a été de 0,018µl/ml.

La présence d'une activité antiradicalaire importante au niveau de ces plantes nous amène à suggérer son utilisation comme additif naturel pour remplacer les antioxydants synthétiques dont certains pourraient présenter des effets cancérigènes. Cette propriété présente également un atout supplémentaire pour ces produits naturels dans la mesure où elles peuvent renforcer l'immunité de l'animal.

#### IV. Criblage et optimisation des facteurs permettant d'améliorer l'activité antibactérienne des huiles essentielles ayant prouvé une efficacité élevée

L'objet de ce travail est de cribler et optimiser les facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles ayant prouvé une efficacité élevée contre des germes isolés à partir des autopsies de poulets de chair provenant de différentes régions du Maroc (*Salmonelle* (M36) et *E. coli* (G18)).

##### A. Plan de criblage

###### 1. Caractéristiques du plan de criblage

###### a- Paramètres retenus pour l'expérimentation

Pour réaliser le plan de criblage permettant d'améliorer l'activité antibactérienne des huiles essentielles, nous retenons comme facteurs :

X1 : Huile

X2 : Température

X3 : Lumière

X4 : Humidité

X5 : Solvant de Dilution

**Tableau 41** : Facteurs fixés et leurs domaines de variation

Facteurs	Unité	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
Huile		Huile de <i>Cinnamomum cassia</i>	Huile <i>d'Origanum compactum</i>	
Température	°C	10	35	
Lumière		sans	avec	
Humidité	%	50	70	
Solvant Dilution		DMSO	AGAR 0.02%	ETHANOL

###### b- Choix des réponses

La réponse à optimiser est l'activité antibactérienne des huiles essentielles, dont le diamètre d'inhibition doit être supérieur à 14 mm.

###### c- Stratégie

Dans le cas de cinq paramètres, il est nécessaire d'en faire une étude de criblage. Cette étude permettra de confirmer, sans ambiguïté, l'importance de ces paramètres sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles. Nous allons adopter le plan de **Plackett-Burman**. Ce plan exige huit essais pour cinq facteurs.

#### d- Caractéristiques du problème

Le tableau 42 représente les caractéristiques du problème

**Tableau 42** : les caractéristiques du problème.

Objectif de l'étude	Etude de criblage
Nombre de variables	5
Nombre d'expériences	8
Nombre de coefficients	6
Nombre de réponses	2

#### e- Modèle mathématique

$$Y = b_0 + b_1 * X_1 + b_2 * X_2 + b_3 * X_3 + b_4 * X_4 + b_5 * X_5$$

#### f- Plan d'expérience

La matrice d'expérience obtenue pour un plan de criblage de 5 facteurs est une matrice d'Hadamard de huit (08) essais. Elle est représentée dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 43** : Plan d'expérience

Nbre d'expériences	Huile	T°	Lumière	Humidité	Dilution	Y (activité antibactérienne M36)	Y (activité antibactérienne G18)
1	H1	35	Avec	50	DMSO	20	13
2	H1	10	Avec	70	AGAR 0.02%	26	15
3	H1	35	Sans	70	ETHANOL	26	18
4	H1	10	Sans	50	DMSO	35	16
5	H2	10	Sans	70	DMSO	30	18
6	H2	35	Sans	50	AGAR 0.02%	18	14
7	H2	10	Avec	50	ETHANOL	12.5	11
8	H2	35	avec	70	DMSO	20	16

### 1. Résultats du plan de criblage

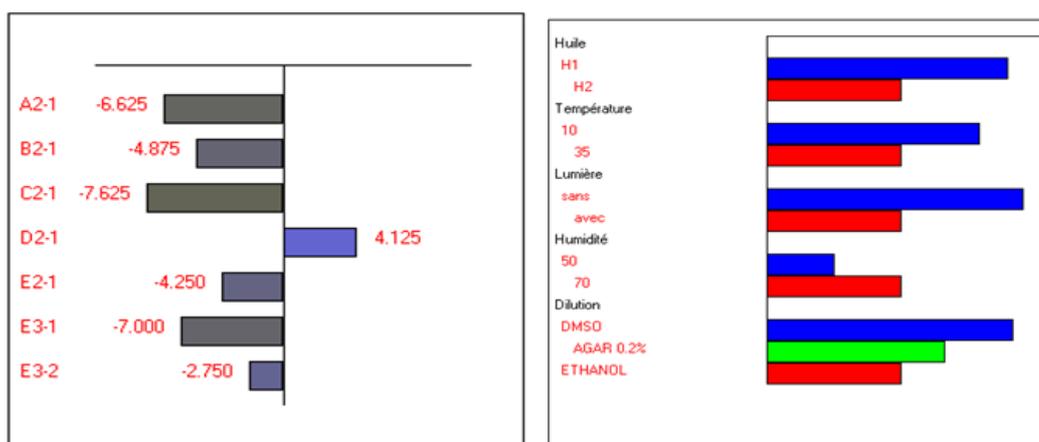
#### 1.1 Activité antibactérienne pour le cas *Salmonelle* (M36)

##### a- Etude graphique

L'étude graphique représente l'effet de chaque facteur sur la réponse étudiée. Dans ce cas, il s'agit de l'activité antibactérienne déduite à partir du diamètre d'inhibition. Cette étude nous a permis de déduire les facteurs influençant sur l'activité antibactérienne.

## Différences des poids des différents niveaux

## Etude graphique des effets totaux



**Figure 42 :** Etude graphique des effets de la réponse Y1- activité antibactérienne de M36

L'étude graphique nous montre que la lumière est le facteur qui influence le plus sur l'activité antibactérienne ( $b_3 = -7.625$ ), suivie de la nature du solvant de dilution ( $b_5 = -7.000$ ), du type d'huile ( $b_1 = -6.625$ ), de la température ( $b_2 = -4.875$ ) et de l'humidité ( $b_4 = 4.125$ ).

Par conséquent, afin d'avoir une activité antibactérienne plus élevée, il faudrait travailler sans lumière et avec l'huile de *Cinnamomum cassia* diluée dans DMSO, ainsi qu'il faudrait diminuer la température ( $10^\circ\text{C}$ ) et augmenter l'humidité (70%).

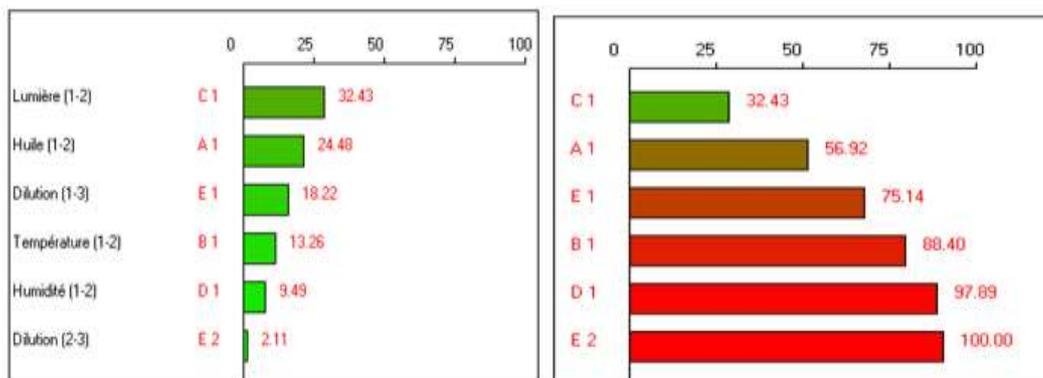
### b- Effets Pareto individuels et cumulés de la réponse activité antibactérienne

Le diagramme de Pareto s'appuie sur les résultats donnés par le diagramme des effets en classant les facteurs selon leur contribution dans la variation de la réponse.

Il permet ainsi de déduire et de classer les facteurs les plus influents.

#### Effets Pareto individuels

#### Effets Pareto cumulés



**Figure 43 :** Etude de la réponse Y1 - Activité antibactérienne de M36

La loi de Pareto appliquée pour l'activité antibactérienne, nous a permis de déduire les quatre facteurs régissant cette réponse : la lumière, le type d'huile, le solvant de dilution et la température.

En se basant sur la loi de Pareto la lumière, le type d'huile, la dilution et la température sont les facteurs qui influencent plus de 80% de l'activité antibactérienne.

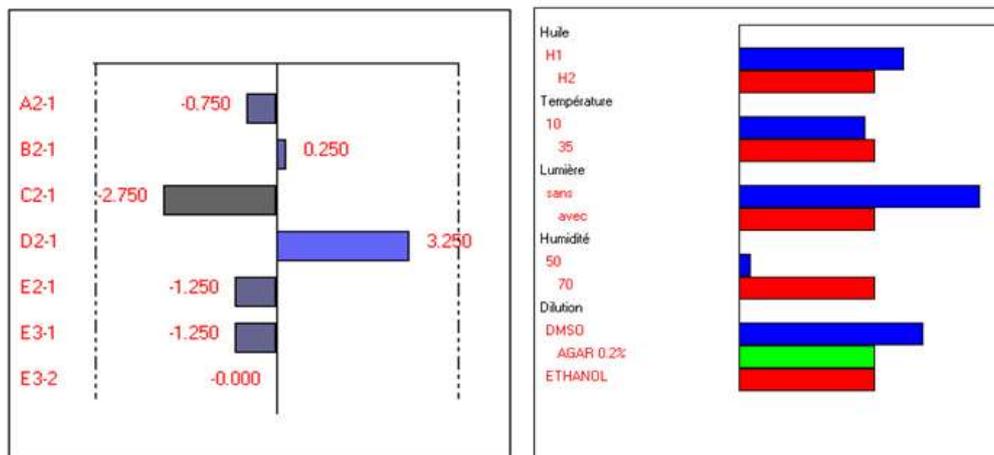
## 1.2 Activité antibactérienne pour le cas *E. coli* (G18).

### a- Etude graphique

L'étude graphique représente l'effet de chaque facteur sur la réponse étudiée. Dans ce cas, il s'agit de l'activité antibactérienne déduite à partir du diamètre d'inhibition. Cette étude nous a permis de déduire les facteurs influençant sur l'activité antibactérienne.

#### Différences des poids des différents niveaux

#### Etude graphique des effets totaux



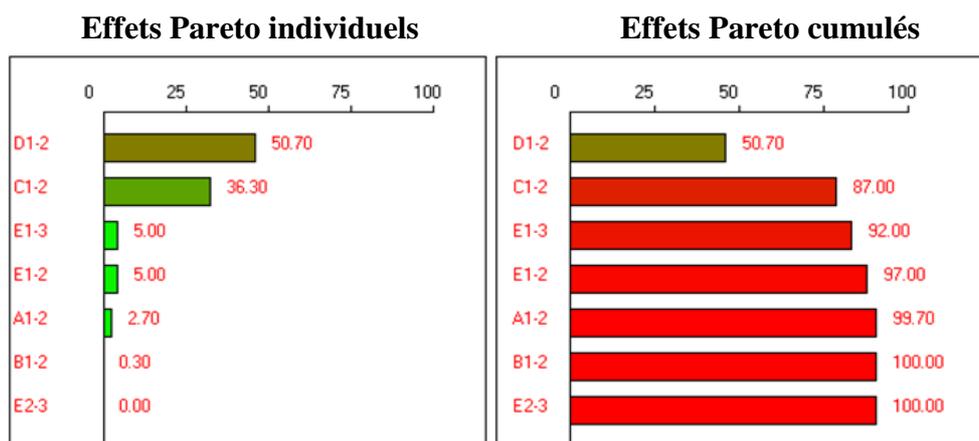
**Figure 44** : Etude graphique des effets de la réponse Y1 : Activité antibactérienne de G18

L'étude graphique nous montre que l'humidité ( $b_4=3.250$ ), la lumière ( $b_3=-2.750$ ) sont les facteurs qui influencent le plus l'activité antibactérienne, suivis de la nature du solvant de dilution ( $b_5=-1.250$ ), le type d'huile ( $b_1=-0.750$ ) et la température ( $b_2=0.250$ ).

Par conséquent, afin d'avoir une activité antibactérienne plus élevée, il faudrait augmenter l'humidité (70%) et travailler aussi en obscurité (sans lumière) et avec l'huile de *Cinnamomum cassia* diluée dans DMSO.

### b- Effets Pareto individuels et cumulés de la réponse activité antibactérienne

Le diagramme de Pareto s'appuie sur les résultats donnés par le diagramme des effets en classant les facteurs selon leur contribution dans la variation de la réponse. Il permet ainsi de déduire et de classer les facteurs les plus influents.



**Figure 45** : Etude de la réponse Y2 : activité antibactérienne G18

La loi de Pareto appliquée pour l'activité antibactérienne nous a permis de déduire les trois facteurs régissant cette réponse : l'humidité, la lumière et la nature du solvant de dilution.

En se basant sur la loi de Pareto l'humidité, la lumière et la nature du solvant de dilution sont les facteurs qui influencent le plus de 90% de l'activité antibactérienne.

## B. Plan d'optimisation

Pour la suite de ce travail, notre choix s'est porté sur un plan de surface de réponse comme plan d'optimisation.

### 1. Caractéristiques du plan de surface

#### a- Paramètres

Nous avons retenu, par rapport à l'étude de criblage, des paramètres fixes, d'autres variables avec un léger changement de réglage.

Le domaine d'opérabilité est regroupé dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 44** : Facteurs fixes et leurs domaines de variation

Facteur	Centre	Pas de variation
Température en °C	22.5	12.5
Volume de DMSO en µL	1.25	0.25
Concentration d'huile en mg/ml	75	25
Humidité en %	70	
	Fixe	
Lumière	Sans	
	Fixe	
Huile	H1	
	Fixe	

## b- Réponse

Nous avons retenu la même réponse de l'étude de criblage des paramètres « l'activité antibactérienne »

## c- Stratégie :

Nous proposons pour cette étude un modèle de second degré. Notre choix s'est porté sur un plan DOELHER avec 4 expériences au centre. Ce plan nécessite seize (16) essais.

### • Caractéristiques du problème

Les caractéristiques du problème sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

**Tableau 45 : Caractéristiques du problème**

Objectif de l'étude	Etude dans un domaine expérimental : Surface de réponses
Nombre de variables	3
Nombre d'expériences	16
Nombre de coefficients	10
Nombre de réponses	1

## a- Modèle mathématique

Le modèle mathématique postulé est un modèle avec interaction

$$Y = b_0 + b_1 * X_1 + b_2 * X_2 + b_3 * X_3 + b_{11} * (X_1 * X_1) + b_{22} * (X_2 * X_2) + b_{33} * (X_3 * X_3) + b_{12} * (X_1 * X_2) + b_{13} * (X_1 * X_3) + b_{23} * (X_2 * X_3)$$

## b- Matrice d'expériences

La matrice d'expérience est représentée par le tableau suivant :

**Tableau 46 : Matrice d'expériences**

N exp	Volume de DMSO	Concentration d'huile	Température
1	1.0000	0.0000	0.0000
2	-1.0000	0.0000	0.0000
3	0.5000	0.8660	0.0000
4	-0.5000	-0.8660	0.0000
5	0.5000	-0.8660	0.0000
6	-0.5000	0.8660	0.0000
7	0.5000	0.2887	0.8165
8	-0.5000	-0.2887	-0.8165
9	0.5000	-0.2887	-0.8165
10	0.0000	0.5774	-0.8165
11	-0.5000	0.2887	0.8165
12	0.0000	-0.5774	0.8165
13	0.0000	0.0000	0.0000
14	0.0000	0.0000	0.0000
15	0.0000	0.0000	0.0000
16	0.0000	0.0000	0.0000

### c- Plan d'expérimentation

Les tableaux suivants présentent les plans des expériences réalisés pour les deux souches bactériennes testées (*Salmonelle* (M36) ; *E. coli* (G18))

#### c-1 plan d'expérimentation de l'activité antibactérienne pour le Cas *Salmonelle* (M36)

**Tableau 47 :** Plan d'expérimentations (M36)

Nbre d'exp	Volume de DMSO	Concentration d'huile	Température	Activité antibactérienne
1	1.5	75	22.5	7
2	1	75	22.5	7
3	1.375	96.65	22.5	10
4	1.125	53.35	22.5	7
5	1.375	53.35	22.5	7
6	1.125	96.65	22.5	11
7	1.375	82.22	32.71	21
8	1.125	67.78	12.29	20
9	1.375	67.78	12.29	7
10	1.25	89.44	12.29	14
11	1.125	82.22	32.71	7
12	1.25	60.57	32.71	8
13	1.25	75	22.5	23
14	1.25	75	22.5	17
15	1.25	75	22.5	14
16	1.25	75	22.5	14

#### c-2 plan d'expérimentation de l'activité antibactérienne pour le Cas *E. coli* (G18).

**Tableau 48 :** Plan d'expérimentations (G18)

Nbre d'exp	Volume de DMSO	Concentration d'huile	Température	Activité antibactérienne
1	1.5	75	22.5	7
2	1	75	22.5	7
3	1.375	96.65	22.5	12
4	1.125	53.35	22.5	11.5
5	1.375	53.35	22.5	11
6	1.125	96.65	22.5	16
7	1.375	82.22	32.71	14
8	1.125	67.78	12.29	7
9	1.375	67.78	12.29	13
10	1.25	89.44	12.29	14.5
11	1.125	82.22	32.71	14
12	1.25	60.57	32.71	13
13	1.25	75	22.5	18.5
14	1.25	75	22.5	15
15	1.25	75	22.5	18
16	1.25	75	22.5	18

## 2. Résultats du plan d'optimisation

### 2.1. Activité antibactérienne pour le Cas *Salmonelle* (M36)

#### a- Analyse de la variance de la réponse (activité antibactérienne)

Le tableau suivant nous montre les résultats de l'analyse de la variance de la réponse

**Tableau 49** : Analyse de la variance de la réponse

Source de variation	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	rapport	signif
Régression	338.8499	9	37.6500	21.5140	0.176 **
Résidus	8.7501	5	1.7500		
Validité	2.7501	3	0.9167	0.3056	82.4
Erreur	6.0000	2	3.0000		
Total	347.6000	14			

D'après le tableau de l'analyse de la variance, nous pouvons conclure que :

⇒ **L'ANNOVA 1** montre que la régression explique bien le phénomène étudié puisque la signification du risque est inférieure à 5%, et puisque :

**H1 :  $V_{reg} > V_{res}$  ➡ la régression est globalement significative**

⇒ **L'ANNOVA 2** montre que le modèle fait moins d'erreurs que l'expérimentation, puisque la signification du risque est supérieure à 5%. Il est donc prédictif.

**H0 :  $V_{LOF} \approx V_{PE}$  ➡ Le modèle ne présente pas un défaut d'ajustement, il est prédictif**

#### b- Estimation et statistique de coefficients

##### ▪ Statistiques classiques

Le tableau suivant représente l'écart type sur la réponse et les deux coefficients de corrélation :

**Tableau 50** : Coefficients de corrélation et écart type de la réponse

Ecart type de la réponse	1.3228844
R2	0.975
R2A	0.930

Le tableau nous montre que le modèle est explicatif ou significatif, puisque le  $R2 > 0.8$  et  $R2A > 0.7$

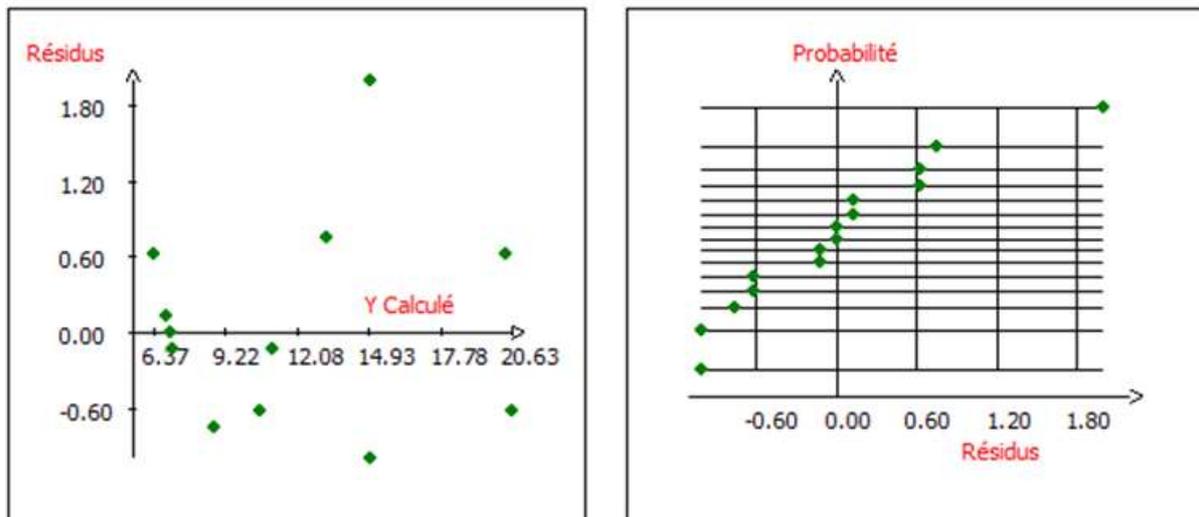
- **Effets des facteurs**

Les coefficients du modèle pour la réponse sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 51** : Effets du modèle de la réponse

Nom	Coefficient	Signif. %
b0	15.000	< 0.01 ***
b1	0.000	100.0
b2	2.454	1.39 *
b3	-1.021	18.3
b11	-8.000	0.118 **
b22	-5.667	0.537 **
b33	0.167	89.0
b12	-0.577	72.1
b13	16.738	0.0188 ***
b23	4.714	3.98 *

Nous remarquons que les coefficients b0, b2, b11, b22 et b13, b23 sont significatifs.



**Figure 46** : A gauche : graphe des résidus et à droite : droite d'Henry pour la réponse

Les graphes des résidus et la droite d'Henry confirment la validité du modèle pour la réponse étudiée.

- **Modèle mathématique**

Puisque les coefficients b0, b2, b11, b22 et b13, b23 sont significatifs, le modèle postulé est le suivant :

$$Y = 15 + 2.454 X_2 - 8(X_1 * X_1) - 5.667(X_2 * X_2) + 16.738(X_1 * X_3) + 4.714(X_2 * X_3)$$

### c- Vérification du modèle par des points tests

Le modèle postulé à priori est validé statistiquement. Pour le vérifier expérimentalement afin de l'exploiter pour une éventuelle prédiction, nous allons tester ce modèle via des points tests, à ce sujet nous avons effectué plusieurs essais.

Le tableau suivant donne le résultat expérimental et le résultat théorique donné par le modèle.

**Tableau 52 :** La valeur expérimentale et celle prédite pour le point test

Coordonnées du point expérimental			Réponse : Activité antibactérienne M36	
Volume de DMSO	Concentration d'huile	Température	Y Prédite	YExp
1.25	89.09	34.97	16.38 ± 4	16.2

➡ Les résultats mentionnés sur le tableau montrent sans ambiguïté qu'il n'y a pas de différence significative entre la réponse expérimentale et celle prédite.

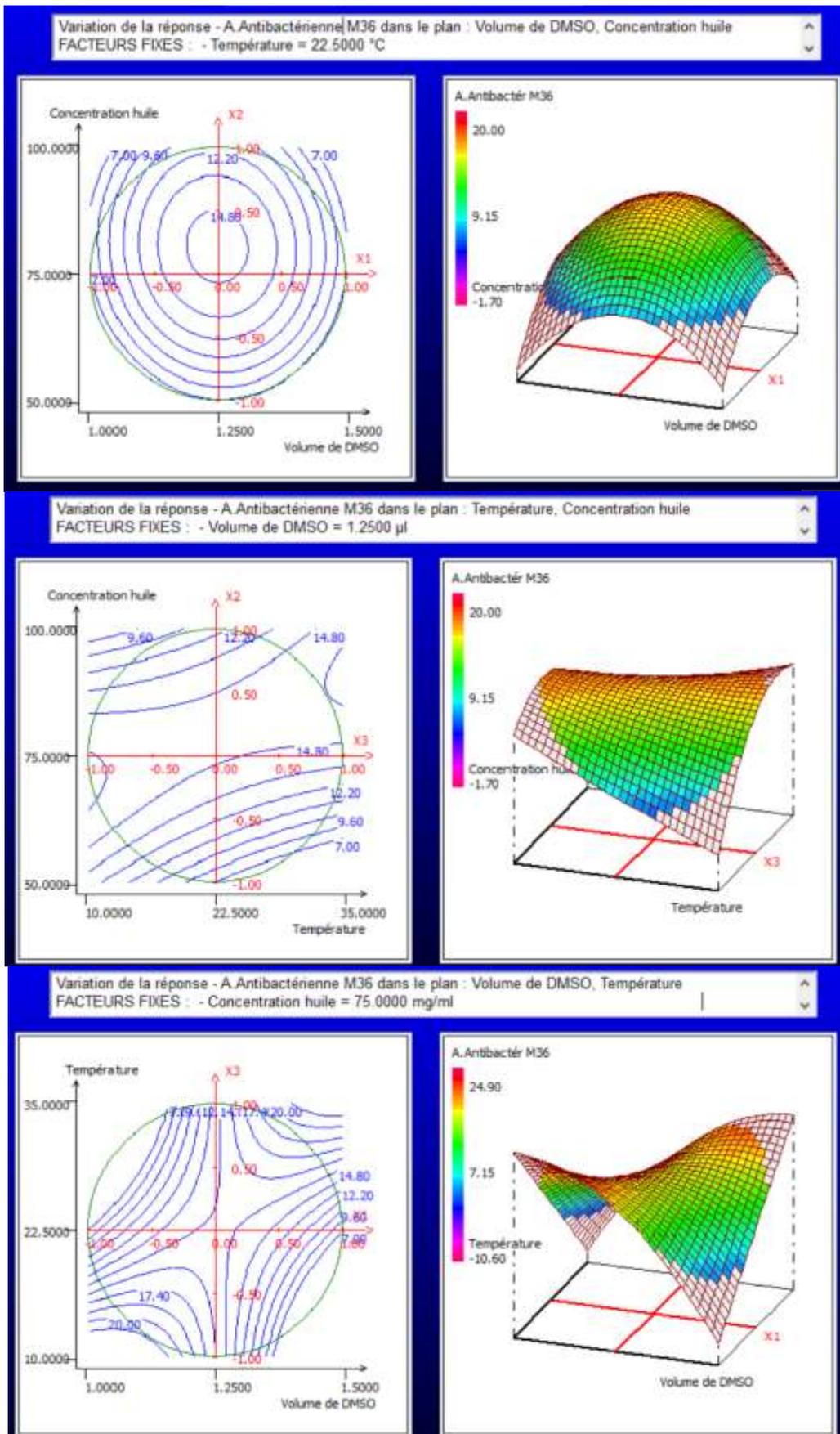


Figure 47 : Variation de l'activité antibactérienne M36 dans le plan de surface

## 2.2. Activité antibactérienne pour le Cas l'*E. coli* (G18)

### a- Analyse de la variance de la réponse (activité antibactérienne)

Le tableau suivant nous montre les résultats de l'analyse de la variance de la réponse

**Tableau 53 :** Analyse de la variance de la réponse

Source de variation	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	rapport	signif
Régression	189.1099	9	21.0122	5.3649	2.80*
Résidus	23.4995	6	3.9166		
Validité	15.8120	3	5.2707	2.0568	28.4
Erreur	7.6875	3	2.5625		
Total	212.6094	15			

D'après le tableau de l'analyse de la variance, nous pouvons conclure que :

⇒ **L'ANNOVA 1** montre que la régression explique bien le phénomène étudié puisque la signification du risque est inférieure à 5%, et puisque :

**H1 :  $V_{reg} > V_{res}$  ➡ la régression est globalement significative**

⇒

**L'ANNOVA 2** montre que le modèle fait moins d'erreurs que l'expérimentation, puisque la signification du risque est supérieure à 5%. Il est donc prédictif.

**H0 :  $V_{LOF} \approx V_{PE}$  ➡ Le modèle ne présente pas un défaut d'ajustement, il est prédictif**

### b- Estimation et statistique de coefficients

#### ▪ Statistiques classiques

Le tableau suivant représente l'écart type sur la réponse et les deux coefficients de corrélation :

**Tableau 54 :** Coefficients de corrélation et écart type de la réponse

Ecart type de la réponse	1.979
R2	0.889
R2A	0.724

Le tableau montre que le modèle est explicatif ou significatif, puisque le  $R2 > 0.8$  et  $R2A > 0.7$

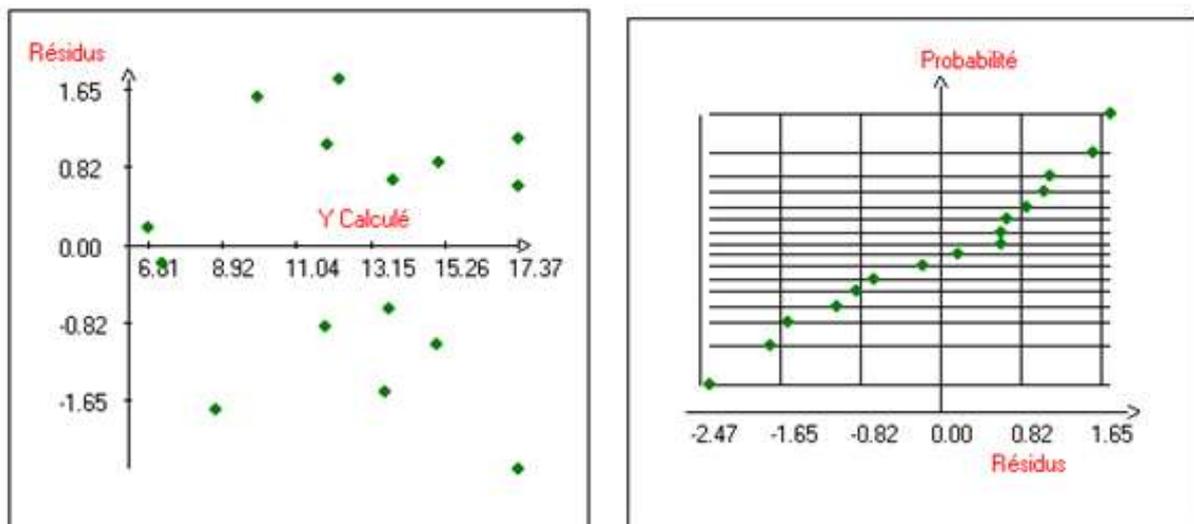
- **Effets des facteurs**

Les coefficients du modèle pour la réponse sont regroupés dans le tableau suivant :

**Tableau 55** : Effets du modèle de la réponse

Nom	Coefficient	Signif. %
b0	17.375	0.01***
b1	0.188	85.0
b2	1.985	9.0
b3	1.327	22.8
b11	-10.375	0.115**
b22	-2.875	14.3
b33	-3.875	5.2
b12	-2.021	41.4
b13	-2.960	29.1
b23	0.177	94.6

Nous remarquons que seulement les coefficients b0 et b11 sont significatifs.



**Figure 48** : à gauche : graphe des résidus et à droite : droite d'Henry pour la réponse

Les graphes des résidus et la droite d'Henry confirment la validité du modèle pour la réponse étudiée.

- **Modèle mathématique**

Puisque seulement les coefficients b0, b11 sont significatifs, le modèle postulé est le suivant :

$$Y = 17 - 10.375(X1 * X1)$$

### c- Vérification du modèle par des points tests

Le modèle postulé à priori est validé statistiquement. Pour le vérifier expérimentalement afin de l'exploiter pour une éventuelle prédiction, nous allons tester ce modèle via des points tests, à ce sujet nous avons effectué plusieurs essais.

Le tableau suivant donne le résultat expérimental et le résultat théorique donné par le modèle.

**Tableau 56 :** La valeur expérimental et celle prédite pour le point test

Coordonnées du point expérimental			Réponse : Activité antibactérienne M36	
Volume de DMSO	Concentration d'huile	Température	Y Prédite	YExp
1.27	81.39	25.6	17.62 ± 0.96	17

➡ Les résultats mentionnés sur le tableau montrent sans ambiguïté qu'il n'y a pas de différence significative entre la réponse expérimentale et celle prédite.

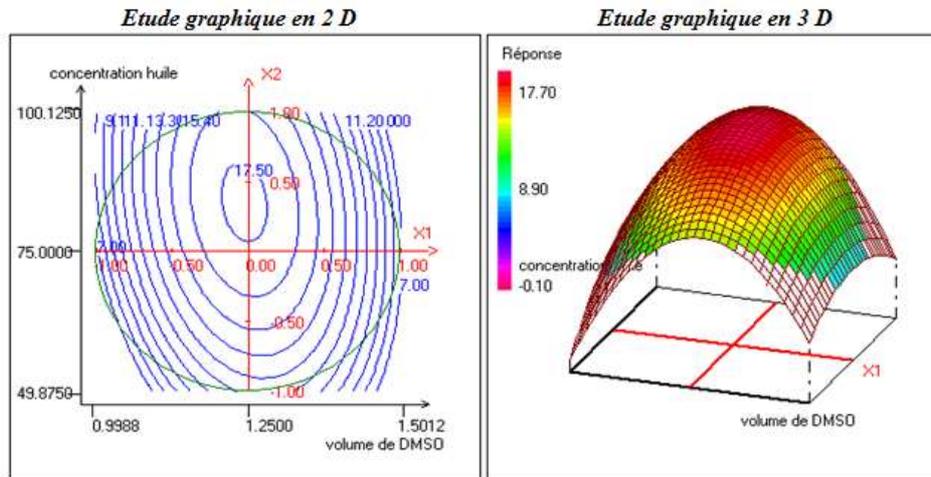


Figure 7 : Variation de la réponse - activité antibactérienne G18 dans le plan : volume de DMSO, concentration huile  
FACTEURS FIXES : température = 22.5000 °C

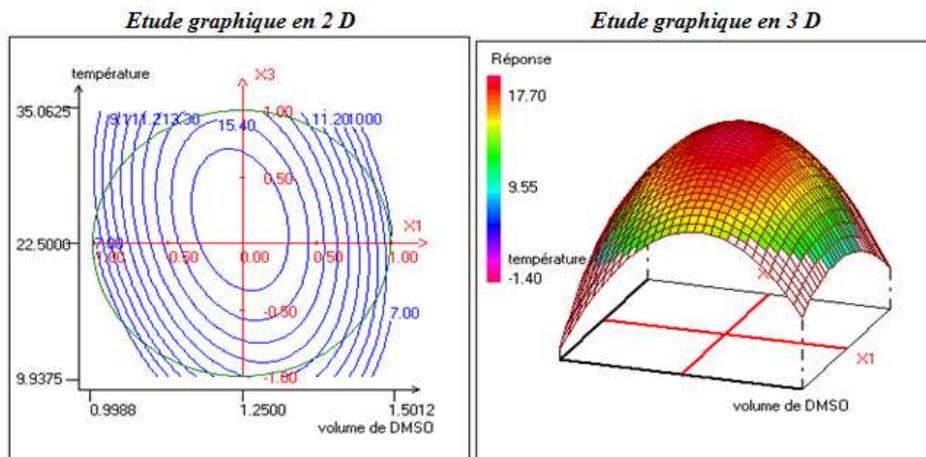


Figure 8 : Variation de la réponse - activité antibactérienne G18 dans le plan : volume de DMSO, température  
FACTEURS FIXES : - concentration huile = 75.0000 mg/ml

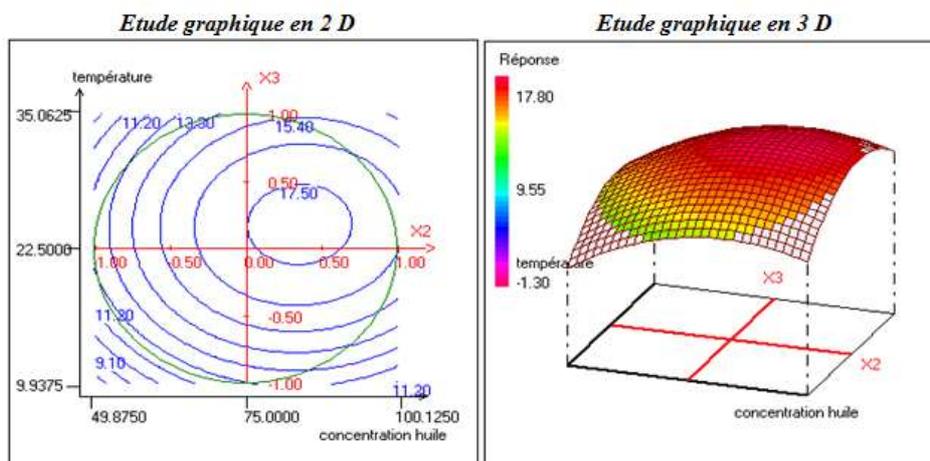


Figure 9 : Variation de la réponse - activité antibactérienne G18 dans le plan : concentration huile, température  
FACTEURS FIXES : - volume de DMSO = 1.2500 ml

Figure 49 : Variation de l'activité antibactérienne G18 dans le plan de surface

### **Conclusion de l'étude d'optimisation**

Le modèle ainsi postulé a été validé statistiquement et expérimentalement. Ce qui lui confère la qualité descriptive du phénomène étudié. La comparaison du résultat expérimental à celui prédit le rend prédictif. Donc, nous recommandons l'utilisation de ce modèle en toute confiance pour prédire la réponse en tout point du domaine expérimental.

#### **- Conclusion générale de l'étude**

L'étude ainsi réalisée nous a permis dans un premier temps au moyen d'un plan de criblage, de définir les facteurs influents sur l'activité antibactérienne. Et dans un deuxième temps de modéliser la réponse ciblée en fonction des paramètres déterminés précédemment.

Sur la base de ces résultats de criblage et d'optimisation, on peut conclure que pour avoir la meilleure activité antibactérienne de la CMI des huiles essentielles il faut : Travailler en absence de la lumière ; Travailler avec l'huile de Cinnamum cassia diluée dans DMSO ; Diminuer la température et Augmenter l'humidité.

## V. Etude de l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur *Escherichia coli* in vivo

Dans cette étude nous avons évalué l'activité antibactérienne in vivo de deux huiles essentielles la *Cinnamomum cassia* (cannelle) et l'*Origanum Compactum* (origan) et un antibiotique la colistine. 45 poulets de souche *Gallus gallus domesticus* âgées de 26 jours ont été utilisés. Ces animaux sont répartis en 7 lots. Le premier jour tous les poulets ont reçu 1ml de suspension bactérienne (Inoculation des poussins), et les deux jours après, les lots 2, 3, 5 et 6 ont reçu 1 ml du traitement et le lot 1 a reçu la colistine.

Chaque matin, des prélèvements de la matière fécale de chaque lot ont été effectués. Les cultures des sept prélèvements confirmant la présence d'*E. coli* ont subi par la suite un antibiogramme et un aromatoگرامme en utilisant les mêmes antibiotiques et la même technique de la partie in vitro.

### 1. Résultats de l'aromatoگرامme et d'antibiogramme sur la souche sauvage d'*E. coli* d'origine aviaire de challenge

Dans cette expérience nous avons commencé par les tests d'aromatoگرامme et d'antibiogramme sur la souche sauvage d'*E. coli* de challenge.

Les données du tableau 57 montrent que les huiles essentielles de l'origan et de la cannelle présentent une activité inhibitrice importante contre la souche d'*E. coli* de challenge étudiée. L'HE de la cannelle a montré une activité antibactérienne plus importante que l'HE de l'origan. Ce qui indique que la souche de challenge est plus sensible à l'HE de la cannelle qu'à HE de l'origan.

**Tableau 57 :** Résultats de l'aromatoگرامme des deux huiles essentielles sur la souche sauvage d'*E.coli* de challenge

DI Souche de challenge	Diamètre d'inhibition des huiles essentielles			
	O1	O2	C1	C2
<i>E. coli</i>	35	38	38.5	40

O1 : signifie la dose 1ml/l de l'HE d'origan ; O2 : signifie la dose 2ml/l de l'HE d'origan  
C1 : signifie la dose 1ml/l de l'HE de la cannelle ; C2 : signifie la dose 2ml/l de l'HE de la cannelle

Le tableau 58 représente l'antibiogramme de la souche sauvage d'*E.coli* de challenge testée. La doxycycline (DO) a montré une résistance maximale, soit un DI de 7mm. Les résultats de l'antibiogramme montrent que le Florfénicol (FFC), l'Enrofloxacin (ENR) et l'Amoxiciline (AMX) présentent une activité inhibitrice contre la souche d'*E. coli* de

challenge étudiée. La Colistine (CT) a prouvé une activité antibactérienne intermédiaire. Ce qui indique que la souche de challenge est plus sensible au FFC.

**Tableau 58** : Résultats de l'antibiogramme sur la souche sauvage d'*E. coli* de challenge

Souche de challenge	Diamètre d'inhibition des antibiotiques				
	FFC	ENR	CT	AMX	DO
<i>E. coli</i>	24 S	22 S	16 I	21 S	7 R

S : Sensible ; I : Intermédiaire ; R : Résistant

## 2. Résultats des prélèvements de la matière fécale et l'isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB des 7 groupes après inoculation des poulets :

D'après la figure 50 toutes les cultures des prélèvements des 6 groupes infectés confirment la présence d'*E. coli*.

Par, contre le groupe 7 (lot témoin) montre l'absence d'*E. Coli* (Tableau 63).



**Figure 50** : Isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB des 6 groupes après inoculation des poussins

## 3. Résultats de l'aromatogramme et de l'antibiogramme après l'inoculation des 6 groupes de poulets par la suspension bactérienne d'*E. coli*

Nous constatons une sensibilité des souches isolées des six groupes vis-à-vis les deux huiles essentielles (l'origan et la cannelle). Le tableau 59 montre que les deux huiles essentielles présentent une activité inhibitrice importante contre les souches d'*E. coli* testées.

Nous constatons également que les souches testées sont moins sensibles aux deux huiles essentielles par rapport à la souche d'*E. coli* de challenge, ce qui montre que les souches sont devenues plus résistantes après l'inoculation.

**Tableau 59** : Résultats de l'aromatogramme après l'inoculation des 6 groupes par la suspension bactérienne d'*E.coli*

DI Groupes	Diamètre d'inhibition des huiles essentielles			
	O1	O2	C1	C2
G 1	21	22	30	32
G 2	35	33	27	29
G 3	20	30	27	30,5
G 4	27,5	30	28,5	28,5
G 5	25,5	36	22,5	32,5
G 6	35,5	36,5	29	38,5
<b>Moyenne ± ET</b>	<b>27,4 ± 7,5</b>	<b>31,3 ± 5,3</b>	<b>27,3 ± 2,6</b>	<b>31,8 ± 3,6</b>

O1 : signifie la dose 1ml/l de l'HE d'origan ; O2 : signifie la dose 2ml/l de l'HE d'origan  
C1 : signifie la dose 1ml/l de l'HE de la cannelle ; C2 : signifie la dose 2ml/l de l'HE de la cannelle

D'après les résultats du tableau 60, nous constatons une résistance des souches isolées des six groupes testés vis-à-vis des quatre antibiotiques (FFC, AMX, ENR, et DO). La Colistine CT a montré une activité antibactérienne intermédiaire pour la majorité des groupes (1, 2, 3 et 4). Cependant les deux souches isolées des groupes 5 et 6 ont prouvé une résistance maximale. Nous remarquons aussi que les souches testées sont devenues plus résistantes par rapport à la souche d'*E. coli* de challenge après l'inoculation.

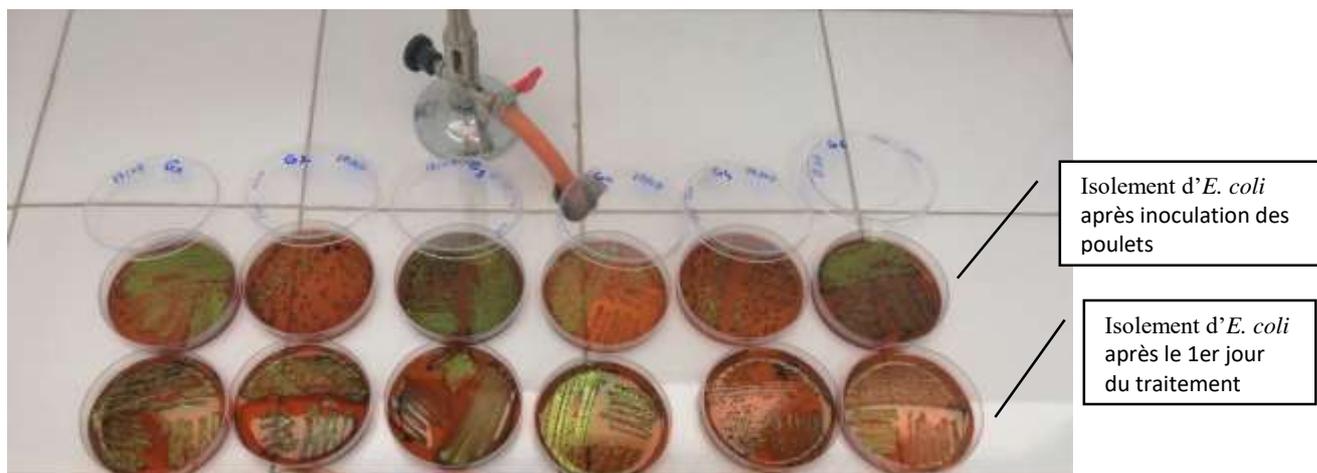
**Tableau 60** : Résultats de l'antibiogramme après inoculation des 6 groupes par la suspension bactérienne d'*E. coli*

DI Groupes	Diamètre d'inhibition des antibiotiques				
	CT	FFC	AMX	ENR	DO
G 1	17	14	7	11	13
G 2	15	16	7	12	8
G 3	16	7	7	7	7
G 4	16	7	7	8	7
G 5	8	7	7	7	7
G 6	8	8	7	10	7

#### 4. Résultats des prélèvements de la matière fécale et l'isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB des 6 groupes de poulets après le 1er jour du traitement :

La figure 51 montre les résultats de l'isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB de six groupes infectés après le 1<sup>er</sup> jour du traitement. Les résultats de l'étude ont montré ainsi une diminution de l'infection dans le Groupe 1, 3, 5 et 6, cependant une augmentation de l'infection dans les Groupes 4 (Groupe contaminé non traité) et 2 (groupe traité avec 1ml/l de l'huile essentielle de l'origan).

Nous constatons que toutes les cultures des prélèvements confirment la présence d'*E. coli*, à l'exception du groupe 7 (lot témoin) (Tableau 63).



**Figure 51 :** Isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB des 6 groupes après le 1er jour du traitement

### 5. Résultats de l'aromatogramme et de l'antibiogramme après le 1<sup>er</sup> jour du traitement sur les 6 groupes de poulets

Le tableau 61 représente les diamètres d'inhibition de l'huile essentielle de l'origan et de la cannelle sur les souches isolées des six groupes après le premier jour du traitement. Nous constatons surtout une sensibilité des souches testées vis-à-vis des deux huiles essentielles. L'HE de la cannelle a prouvé une activité antibactérienne plus importante que celle de l'origan. Ce qui indique que les souches testées sont plus sensibles à l'HE de la cannelle qu'à celle de l'origan.

Nous remarquons ainsi que les souches testées sont devenues plus sensibles aux deux huiles essentielles après le premier jour du traitement.

**Tableau 61 :** Résultats de l'aromatogramme après le 1er jour du traitement sur les 6 groupes

DI Groupes	Diamètre d'inhibition des huiles essentielles			
	O1	O2	C1	C2
G 1	31	35	30	40
G 2	21	21	34	33
G 3	22	28	32	34
G 4	30	30,5	24,5	27,5
G 5	15	18	21	27
G 6	25	24	35	36
Moyenne ± ET	24 ± 6	25,2 ± 6,6	29,4 ± 5,6	32,9 ± 5

O1 : signifie la dose 1ml/l de l'HE d'origan ; O2 : signifie la dose 2ml/l de l'HE d'origan  
C1 : signifie la dose 1ml/l de l'HE de la cannelle ; C2 : signifie la dose 2ml/l de l'HE de la cannelle

Le tableau 62 représente les diamètres d'inhibition des antibiotiques sur les souches isolées des six groupes après le premier jour du traitement. Nous constatons une résistance des souches

testées vis-à-vis des quatre antibiotiques (FFC, AMX, ENR, et DO). La Colistine a montré une activité antibactérienne intermédiaire pour la majorité des groupes (1, 3, 5, 6 et 7). Quant au groupe 2 (Groupe traité par 1ml/l de l'HE d'origan), il a montré une résistance maximale pour la colistine (DI=8mm) et une sensibilité maximale pour le florfénicol (DI=25mm), Ce qui indique qu'il existe un effet antagoniste entre la colistine et l'HE d'origan et une interaction synergique entre le florfénicol et l'HE d'origan.

Le groupe 4 (Groupe contaminé non traité) a prouvé une résistance vis-à-vis des cinq antibiotiques.

**Tableau 62 :** Résultats de l'antibiogramme après le 1er jour du traitement sur les 6 groupes

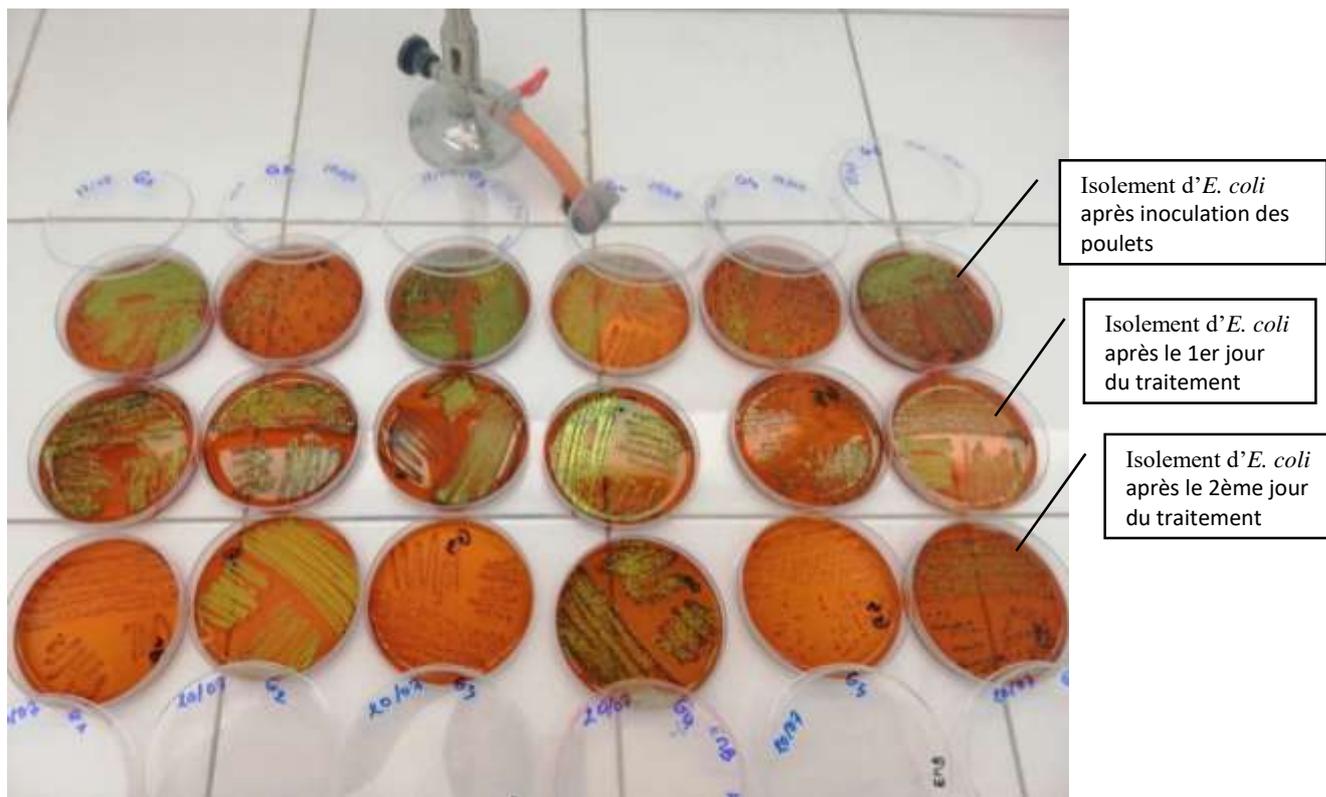
Groupes	DI	Diamètre d'inhibition des antibiotiques				
		CT	FFC	AMX	ENR	DO
<b>G 1</b>		15	7	6	8	7
<b>G 2</b>		8	25	6	9	6
<b>G 3</b>		15	7	6	6	6
<b>G 4</b>		13	6	6	9	7
<b>G 5</b>		15	8	6	7	6
<b>G 6</b>		15	6	6	9	9
<b>G 7</b>		15	6	6	6	9

#### **6. Résultats des prélèvements de la matière fécale et l'isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB des 6 groupes des poulets après le 2ème jour du traitement :**

La figure 52 représente les résultats de l'isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB des six groupes testés après le 2<sup>ème</sup> jour du traitement. Les résultats de l'étude montre la disparition totale de l'infection dans les Groupes 3 (groupe traité avec 2 ml/l de l'huile essentielle d'origan) et 5 (groupe traité avec 2 ml/l de l'huile essentielle de la cannelle), la diminution remarquable de l'infection dans les Groupes 1 (groupe traité avec la colistine) et 6 (groupe traité avec 1ml/l de l'huile essentielle de la cannelle), et une diminution légère de l'infection dans le groupe 2 (groupe traité avec 1ml/l l'huile essentielle d'origan). Par contre nous constatons une augmentation de l'infection dans le Groupe 4 (groupe contaminé non traité).

Ainsi les cultures des prélèvements du groupe 1, 2, 4, et 6 confirment la présence d'*E. coli* (Tableau 63).

Nous remarquons aussi que la deuxième dose (2ml/l) des deux huiles essentielles à un effet antibactérien plus important que la première dose (1ml/l).



**Figure 52** : Isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB des 6 groupes après le 2ème jour du Traitement



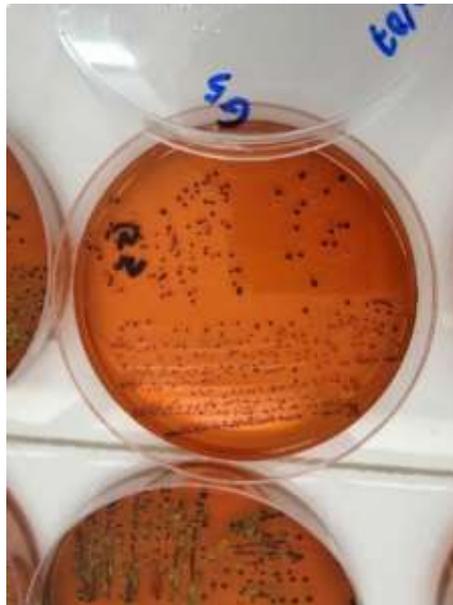
**Figure 53** : Isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB des groupes 1 ,3 et 5 après le 2ème jour du Traitement



**Figure 54** : Isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB du groupe 1 après le 2ème jour du Traitement



**Figure 55 :** Isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB du groupe 3 après le 2ème jour du Traitement



**Figure 56 :** Isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB du groupe 5 après le 2ème jour du Traitement

**Tableau 63 :** Résultats bactériologiques de la matière fécale

Jours	Groupe 01	Groupe 02	Groupe 03	Groupe 04	Groupe 05	Groupe 06	Groupe 07 témoin
1	+	+	+	+	+	+	-
2	+	+	+	+	+	+	-
3	+	+	-	+	-	+	-

+ : Présence d'*Escherichia coli*.

- : Absence d'*Escherichia coli*.

## 7. Résultats de l'aromatogramme et de l'antibiogramme après le 2<sup>ème</sup> jour du traitement sur les 4 groupes des poulets

Le tableau 64 représente les diamètres d'inhibition de l'huile essentielle de l'origan et de la cannelle des groupes confirmant encore la présence d'*E. coli* après le deuxième jour du traitement. Nous constatons une sensibilité des souches isolées des quatre groupes testés vis-à-vis les deux huiles essentielles. L'HE de l'origan a montré une activité antibactérienne plus importante que celle de la cannelle (avec un diamètre moyen d'inhibition de 40mm). Cela confirme que les souches testées sont devenues plus sensibles à l'HE d'origan qu'à celle de la cannelle.

Nous constatons que les souches testées sont devenues plus sensibles aux deux huiles essentielles après le deuxième jour du traitement.

**Tableau 64** : Résultats de l'aromatogramme après le 2<sup>ème</sup> jour du traitement sur les 4 groupes

DI Groupes	Diamètre d'inhibition des huiles essentielles			
	O1	O2	C1	C2
G 1	40	40	30	38
G 2	38	40,5	40	40
G 4	30	39,7	30	38
G 6	38	40	30	35
Moyenne ± ET	36,8 ± 3,9	40,05 ± 0,3	31 ± 5,5	36,2 ± 3,9

O1 : signifie la dose 1ml/l de l'HE d'origan ; O2 : signifie la dose 2ml/l de l'HE d'origan  
C1 : signifie la dose 1ml/l de l'HE de la cannelle ; C2 : signifie la dose 2ml/l de l'HE de la cannelle

Le tableau 65 représente les diamètres d'inhibition des antibiotiques des groupes confirmant encore la présence d'*E. coli* après le deuxième jour du traitement. Nous constatons une résistance des souches testées vis-à-vis les cinq antibiotiques (CT, FFC, AMX, ENR et DO). La Colistine CT n'a été montrée active que sur le groupe 4 (Groupe contaminé non traité) (DI=18), Cela indique qu'il existe un effet antagoniste entre la colistine et les huiles essentielles.

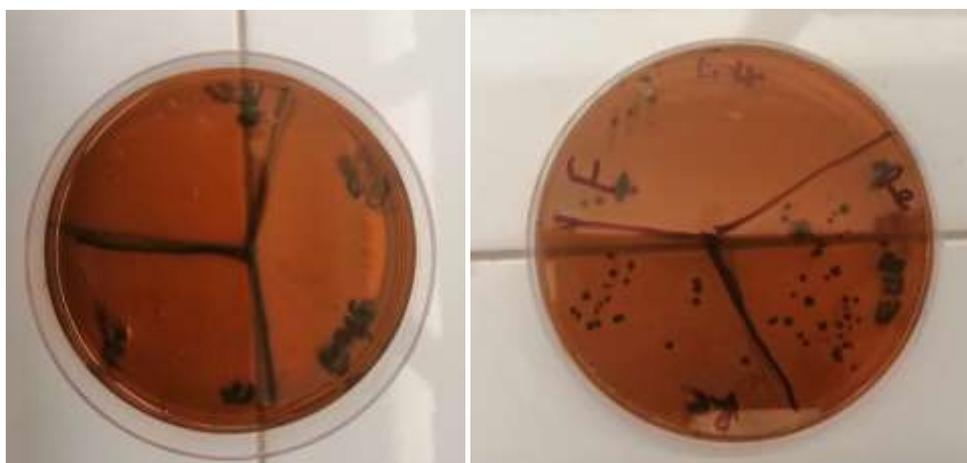
Nous remarquons ainsi que le groupe 1 (groupe traité avec la colistine) a montré une résistance vis-à-vis la colistine in vitro.

**Tableau 65 :** Résultats de l'antibiogramme après le 2ème jour du traitement sur les 4 groupes

Groupes	DI	Diamètre d'inhibition des antibiotiques				
		CT	FFC	AMX	ENR	DO
G 1		6	7	6	6	6
G 2		14	9	6	11	9
G 4		18	9	8	11	8
G 6		6	6	6	11	9

## 8. Résultats de l'autopsie

L'évaluation de l'état des différents organes des deux lots traités par les huiles essentielles (lot 3 et 5) à partir des tissus affectés (foie, rate et cœur) a confirmé l'absence totale d'*E. coli*.



**Figure 57 :** Isolement d'*Escherichia coli* sur la gélose EMB de deux lots 3 (à droite) et 5 (à gauche)

# **Discussion**

La prédominance des femmes (80% des cas) observée dans notre enquête, est liée au fait que l'élevage des poules locales est une activité traditionnellement féminine dans la plupart de pays africains (Téleu Ngandeu et *al.*, 2006 ; Bell et *al.*, 2000) pour lutter contre la pauvreté qui affecte généralement les femmes et les enfants. Ces résultats confirment ceux obtenus par Ouédraogo (2010) et Pousga (2009) qui indiquent que l'aviculture en milieu villageois ou familial est surtout une activité des femmes et des enfants. Les mêmes tendances ont aussi été trouvées par Fotsa et *al.*, (2007) qui concluaient que cette activité était tenue à 56,6 % par les femmes. Ceci est également le cas pour Moula et al (2012) dont les travaux, menés au Bas-Congo en République Démocratique du Congo révélait que dans 42,9 % des familles visitées, l'élevage des poules concerne exclusivement les femmes contre 15,6 % seulement chez les hommes.

L'aviculture constitue la principale activité des éleveurs enquêtés, ce résultat est en contradiction avec les tendances générales des travaux de Ekue et *al.*, (2002) en Afrique, Mack et *al.*, (2005) dans les pays en développement, Fotsa et *al.*, (2007) au Cameroun et Moula et *al.*, (2012) qui la considèrent comme étant une activité secondaire au Bas-Congo, République Démocratique du Congo (RDC).

L'étude a montré que 94,90% des éleveurs enquêtés n'ont aucune formation technique en aviculture, tandis que 5,10% seulement des éleveurs ont eu une formation technique comme c'est le cas pour les travaux de Mahmoudi et *al.*, (2015) qui concluaient que 67 % des éleveurs interrogés conduisent leurs élevages sans formation approfondie dans le domaine et plus de 52 % d'entre eux accomplissent seuls les tâches quotidiennes d'élevage.

La forte prédominance des poules (74%) dans les effectifs de volailles locales corrobore les observations de Fotsa et *al.*, (2007), Raach- Moujahed, (2011) et Moula et *al.*, (2012).

Les poulets "beldi", élevés au Maroc, ne sont pas vraiment des souches locales mais plutôt des populations très hétérogènes. Depuis, des poussins fermiers produits par les couvoirs nationaux produisent un poulet local (Beldi) de petite taille, très rustique, avec un poids moyen entre 1 et 1,5 kg. La poule produit entre 60 et 100 œufs par saison de production. C'est une race très couveuse. Les poulets ne dépassent pas 1,5kg de poids vif à l'âge de 5 mois, comme l'affirment Mugumaarhahama et *al* (2016) dans la République Démocratique du Congo et Letebrhan et *al.*, (2015) en Ethiopie. L'étude a montré que les populations locales les plus dominantes sont le rouge (26%) et Hjarlouad (24%), suivis par le noir (23%) et Nouarloul (18%).

Le système d'alimentation courant des animaux repose sur la divagation. Les volailles sont élevées en liberté et leur alimentation est basée essentiellement sur les ressources naturelles

(28%). Nos résultats corroborent ceux obtenus dans d'autres pays (Sonaiya et al., 2004 ; Ayssiwede et al., 2011 ; Ouedraogo 2015). La supplémentation est principalement à base de grains et de sous-produits de céréales (orge, maïs, blé et son de blé) et secondairement par le pain humide et les épluchés de légumes. Des résultats similaires ont été observés dans la zone du Burkina Faso (Pousga, 2009) et confirmé par les travaux de Goromela et al., (2006), Moula et al, (2012) et Mahammi F Z, (2014). Ces conditions d'élevage expliquent la faible productivité de la poule locale.

La plupart des éleveurs ne se soucient pas d'offrir un logement à leurs volailles, et ceux qui le font n'assurent qu'un abri très sommaire. Nos observations sont également en accord avec celles faites par Pousga, (2009), Nmoula et al., (2012) et Diagne, (2012) qui indiquent qu'en milieu rural, 80% des poulaillers sont construits selon le style traditionnel avec du banco (73% des poulaillers) ou de la paille (7% des poulaillers). Ils soulignent par ailleurs que, dans certains cas, les animaux ne bénéficient d'aucun abri et passent la nuit perchés sur les arbres. Cette situation les expose davantage à la prédation et aux intempéries diverses, principales causes des fortes mortalités observées.

Les maladies les plus répandues chez le poulet Beldi étaient la Coccidiose (22%) et la pseudopeste aviaire (Newcastle) (21%), suivis par *E.coli* (16%) et la variole (11%). Ceci conforte les informations données par El-Yuguda, (2009) et Ouedraogo (2015). Dans la région d'Ait Ichou, une enquête réalisée en 2013, a révélé que la pathologie chez ces animaux est dominée par deux affections, la maladie de Newcastle (91.30%), appelée localement Rih et les ectoparasites (78.26%), dont plus particulièrement les infestations par le pou rouge (*Dermanyssusgallinae*) (Khribch, 2013). Selon d'autres enquêtes réalisés en 2009, les maladies parasitaires sont les plus importantes, soit une fréquence de 43 % suivi de la maladie de Newcastle, soit une fréquence de 34 % (Abdellaoui, 2001). Dans la province d'Ifrane, une enquête réalisée en 2013, a montré l'existence des maladies contagieuses telles que les maladies respiratoires, bronchite infectieuse, laryngotrachéite, variole aviaire, choléra aviaire, salmonellose et coccidiose (Aidi, 2013).

La phytothérapie est habituellement pratiquée par les éleveurs marocains, la majorité des éleveurs pratiquaient des traitements traditionnels, soit un pourcentage de 63%, alors que seuls 37 % des éleveurs avaient recours aux traitements vétérinaires. En effet, plusieurs études ont montré que, selon les régions, 60,86 % pratiquent des traitements traditionnels, alors que seuls 52,17 % des éleveurs ont recours à la fois au traitement médical et traditionnel (Khribch, 2013 ; Arfaoui, 2000). D'autres études ont montré que le poulet traditionnel ne bénéficie d'aucun

traitement (Abdellaoui, 2001 ; Atifi, 2001). Selon d'autres études, 30,8 % des éleveurs ne font aucun traitement et 15,4 % utilisent encore des traitements traditionnels (Foughalii, 2005) Les contraintes les plus fréquemment citées sont les maladies, le manque de suivi et les prédateurs. Ces contraintes ont été également rapportées dans de très nombreuses études généralement dans les pays en voies de développement : Kugonza et *al.*, (2008) en Ouganda, Raach-Moujahed et *al.*, (2011) en Tunisie, Bett et *al.*, (2012) au Kenya, Moula et *al.*, (2012) en RDC et Djitie et *al.*, (2015) au Cameroun.

Les résultats de l'antibiogramme dans notre étude ont montré une résistance de 41,28 % des souches de *salmonelle* et de 89% des souches d'*E. coli* vis-à-vis de l'Oxytétracycline, ce qui est élevé par rapport au pourcentage trouvé par Kassimi et *al.*, (2014) (28,58%) et à celui obtenu par Ziyate et *al.*, (2016) qui était de 25% (Ziyate , 20016). Ceci est probablement due à leur utilisation comme additifs alimentaires dans certaines parties du monde (Helmuth et *al.*, 2000; Ungemach et *al.*, 2006).

En ce qui concerne l'Amoxicilline, 35% des souches de *salmonelle* et 40.5% des souches d'*E. coli* étaient résistantes, résultat élevé par rapport au pourcentage trouvé par Ziyate et *al.*, (2016) qui étaient de 21% pour *salmonelle* et 28% pour *E. coli*, cela peut être expliqué par le fait que c'est un antibiotique très utilisé pour traiter les entérites chez le poulet.

Presque 23% des souches de *salmonelle* et 38.6% des souches d'*E. coli* sont résistantes à l'Enrofloxacin ce qui est inférieur au pourcentage trouvé par Antunes et *al.*, 2003, qui rapportent que 75 % des souches isolées à Porto (Portugal) sont résistantes à un antibiotique ou plus et particulièrement à l'enrofloxacin (Antunes et *al.*, 2003).

Environ 13% des souches de *salmonelle* et 85% des souches d'*E. coli* étaient résistantes au Triméthoprim-Sulfaméthoxazole, résultat qui reste faible pour les souches de *salmonelle* et élevé pour les souches d'*E. coli* par rapport aux taux rapporté par Gad et Hafez (2012) qui est de 59% et de 62% en Allemagne. Pour le Thiamphénicol, 9% des souches de *salmonelle* et 13% des souches d'*E. coli* sont résistantes ce qui est due au fait qu'il n'est plus autorisé chez la volaille.

Une résistance de 5% des souches de *salmonelle* et 4% des souches d'*E. coli* vis à vis de la Colistine (25 et 50 µg). Selon Humbert et *al.*, 1997, la colistine reste parmi le nombre suffisant des antibiotiques actifs sur les *salmonelles*. Et une résistance de 5% et de 4% au Florfénicol pourrait être expliquée du fait que cette molécule n'est pas d'usage courant chez la volaille.

L'étude de la composition chimique des huiles essentielles a montré que les constituants majoritaires de l'huile essentielle de l'*Origanum compactum* sont le Carvacrol (35,17%) suivi

du  $\gamma$ -terpinène (20,09%), Thymol (17,55%) et le o-cymène (13,67%) représentent 86,48% de l'huile. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans l'étude de Ben-Hammou et *al.*, 2011, qui a montré que le composé le plus abondant dans la composition chimique de cette huile essentielle est le carvacrol (36,31%), suivi par le thymol (16,88%) et le p-cymène (9,21%).

Par ailleurs, L'analyse des huiles essentielles d'*O. compactum* de différentes régions du Maroc a révélé la présence de trois principaux composants à des taux variables : thymol (0 à 43,4%), le carvacrol (3,8 à 71%) et le p-cymène (0 à 25,4%) (Van Den et *al.*, 1980).

D'autres études ont révélé la présence de 37 composants représentés principalement par le carvacrol (2,18 à 63,65%), le thymol (0,16 à 34,29%), le p-cymène (6,69 à 42,64%) et le  $\gamma$ -terpinène (2,95 à 22,97%) (Laghmouchi et *al.*, 2018).

L'ensemble de ces résultats bien que légèrement variables, permettent, a priori, de confirmer la prépondérance du Carvacrol comme composé majoritaire de l'huile essentielle de cette espèce végétale.

Pour l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia*, l'étude a montré que le cinnamaldéhyde est le principal composé (69,15%), suivi par l'acide méthoxycinnamique (21,19%), l'alcool benzylique (6,14%), et le benzoate de Benzyle (3,53%). Ces résultats concordent avec ceux rapportés dans des études antérieures (Choi et *al.*, 2001; Geng et *al.*, 2011). Tao et *al.*, 2004 et Wang et *al.*, 2008 ont identifié respectivement 38 et 27 composants dans l'huile essentielle de *C.cassia* et ont trouvé que le cinnamaldéhyde (30,67-90,74%), copaène (27,71%), a-hexahydro-4 et 7-diméthyl-1-(1-méthyléthyl)-(1S-cis)-naphtalène (13,55%) étaient les principaux composés de cette huile essentielle.

Pour l'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, nous avons constaté que les composants majeurs sont respectivement le o-Cymene (33,62 %), le thymol (23,26 %) et le  $\gamma$ -terpinène (19,45 %). La variation de la composition chimique des huiles essentielles est influencée par les conditions édaphiques, climatiques ainsi que les conditions de culture des plantes et même la méthode d'extraction et le mode de conservation (Echeverrigaray, 2001 ; Kulkarni, 1996).

Des études réalisées à Ozoud-Azilal (Grand Atlas du Maroc) par Jaafari et *al.*, (2007) ont donné des résultats différents avec la dominance du thymol (34,07 %) et du bornéol (25,28 %). Alors que celle du Nord du Portugal est composée de thymol (23,8 %) et du géraniol (18,2 %) accompagnés du p-cymène (13,6 %) et d'acétate de géranyle (16,3 %) (Moldão-Martins, 1999). Des études réalisées également en Portugal par Machado et *al.*, (2010) ont donné des résultats similaires avec la dominance du p-cymène (36,6 %), de  $\gamma$ -terpinène (21,0 %) et du thymol (15 %). Les HEs de plusieurs échantillons de *Thymus vulgaris* d'Espagne étudiés par Richard et

*al.*, (1985) sont constituées en majorité par le thymol (1,1 à 30,7 %) ou le carvacrol (6,5 à 42,9 %) accompagnés d'autres constituants tels que le p-cymène (23,3 à 28,5 %), l'oxyde de caryophyllène (1,5 à 9,8 %), le linalol (1,5 à 4 %) et le thymol-méthyl-éther (0 à 4,5 %). L'essence de *Thymus vulgaris* de la région de Paca en France est caractérisée par un taux élevé de thymol (84,9 %) accompagné de p-cymène (9,7 %), de  $\gamma$ -terpinène (2,3 %) et de linalol (1,4 %) (Kaloustian et *al.*, 2008).

L'étude de l'aromatogramme a montré que les huiles essentielles et les produits actifs testés sont dotés d'une activité antibactérienne *vis-à-vis* des souches de références et les souches bactériennes étudiées. Les produits de *Cinnamomum cassia* se sont montrés les plus actifs.

Cette étude a révélé que *E. coli* est plus sensible à l'HE de la cannelle (32mm) que les deux souches de *Salmonella*, et, parmi ces dernières, *S.gallinarum* (27,65mm) est plus sensible que *S. enteritidis* (16,25mm). Cependant, le carvacrol semble être plus actif que l'huile essentielle de l'*Origanum compactum* ce qui peut être justifié par sa faible teneur dans la composition de l'huile essentielle (35,17%) ou la présence de composés antagonistes au carvacrol dans l'huile essentielle de l'*O.compactum*. L'HE de thym présente en moyenne l'activité inhibitrice la plus faible sur les trois souches ce qui peut être justifié par sa faible teneur en thymol dans la composition de l'HE (23,26%).

D'après ces résultats, nous avons conclu que l'activité antibactérienne des huiles essentielles est étroitement liée à la nature et à la teneur des principes actifs qui entrent dans leur composition. Ces composés majoritaires sont le plus souvent responsables de l'activité antibactérienne observée (Dorman et *al.*, 2000 ; Kalemba et *al.*, 2003). Mais d'autres études montrent qu'en plus des composés majeurs, les composés minoritaires jouent un rôle important dans l'activité antibactérienne de l'huile essentielle (Rota et *al.*, 2008).

D'autre part, la sensibilité d'une bactérie aux huiles essentielles dépend des propriétés du microorganisme lui-même. En général, les bactéries Gram- sont plus résistantes que les Gram+ grâce à leur membrane externe. En effet, le mode d'action principal des huiles essentielles consiste en la lyse de la paroi bactérienne du fait de leurs propriétés lipophiles. Chez les bactéries à Gram -, la membrane externe, constituée de lipopolysaccharides, forme une barrière de perméabilité efficace grâce à ses charges négatives de surface, empêche la diffusion des molécules hydrophobes (Nikaido, 2003) alors que les bactéries à Gram+ sont moins protégées parce que la paroi est formée d'une couche de peptidoglycane seulement qui n'entrave que la

diffusion de substances dont le poids moléculaire est de 50 KD. Toutefois certains composés organiques de faible poids moléculaire comme le cinnamaldéhyde, le carvacrol et le thymol peuvent adhérer à ces bactéries par fixation aux protéines et aux lipopolysaccharides membranaires grâce à leurs groupements fonctionnels et atteindre ainsi la membrane intérieure plus vulnérable (Dorman, 2000).

Les résultats de la concentration minimale inhibitrice ont montré que les valeurs des CMI varient selon la souche et selon le produit naturel utilisé, la CMI du cinnamaldéhyde était la plus faible *vis-à-vis* des souches testées (0,04 et 0,05%). Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans des travaux antérieurs sur des bactéries à Gram- (Chang *et al.*, 2001). Néanmoins, les valeurs des CMI trouvées demeurent supérieures à celles obtenues dans notre étude, traduisant ainsi une meilleure activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia*, ce qui peut être expliqué par l'effet combiné du cinnamaldéhyde (69,15 %) et des autres composés minoritaires. Le cinnamaldéhyde semble inhiber la production d'enzymes par les bactéries et/ou causer des dommages à la paroi cellulaire des bactéries (Gill *et al.*, 2004 ; Pasqua *et al.*, 2007).

Les résultats obtenus pour les CMI sont pour la majorité en concordance avec les diamètres des zones d'inhibition observés dans l'essai de diffusion sur gélose. D'autre part, tous les produits testés ont montré une activité bactéricide, les valeurs des CMBs étaient similaires ou presque à celles de CMI. *Cinnamomum cassia* a présenté l'activité inhibitrice et bactéricide la plus élevée contre les deux souches.

Les résultats de l'interaction des huiles essentielles et des antibiotiques ont également démontré l'effet potentialisateur des huiles essentielles et leurs composés majoritaires sur l'activité des antibiotiques testés, la meilleure activité synergique avec les antibiotiques a été obtenue avec l'huile essentielle de *Cinnamomum cassia* et son produit actif le cinnamaldéhyde. Nos résultats sont, dans l'ensemble, comparables à ceux rapportés pour l'*Origanum compactum* et la *Cinnamomum cassia* et leurs principes actifs (Langeveld *et al.*, 2013).

Le synergisme entre les huiles essentielles et les antibiotiques est une interaction positive créée quand l'association des deux agents provoque un effet inhibiteur supérieur à la somme de leurs effets individuels. En effet, les huiles essentielles peuvent sensibiliser la bactérie à un antibiotique précédemment inefficace (Aiyegoro et Okoh, 2009). D'autres études ont montré que certains composés de plantes peuvent inhiber efficacement les pompes à efflux impliqués

dans les mécanismes de résistance aux antibiotiques. Cela pourrait conduire à la restauration de la sensibilité aux antibiotiques et de réduire leurs doses (Fadli et *al.*, 2012).

L'association des huiles essentielles aux antibiotiques peut être employée pour augmenter le spectre antimicrobien, empêcher l'apparition des mutants résistants, réduire et minimiser les effets secondaires de l'antibiotique (Fadli et *al.*, 2012 ; Lv et *al.*, 2011), ce qui pourrait être une alternative à la monothérapie pour des cas présentant des infections envahissantes difficiles à traiter, comme ceux dues aux espèces multirésistantes (Aiyegoro et Okoh, 2009).

L'étude de l'activité antioxydante nous a permis de déduire que les huiles essentielles de l'origan et du thym ont été plus efficace pour piéger les radicaux libres DPPH que celle de la cannelle.

Selon les données de la littérature, les HEs composées majoritairement de phénols montrent la meilleure action antioxydante. Les groupements fonctionnels présents dans les composés phénoliques en général peuvent céder facilement un électron ou un proton pour neutraliser les radicaux libres. La forte activité antioxydante d'origan est donc liée à sa forte teneur en phénol (Bouhdid et *al.*, 2009).

Selon d'autres études les huiles de cannelle, de piment, de laurier, de thym et d'origan, se sont présentées comme des agents ayant un fort pouvoir antioxydant (Mantle et *al.*, 1998 ; Karioti et *al.*, 2006).

L'optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles était réalisée pour la *Cinnamomum cassia* et l'*Origanum compactum*, Elle a démontré que pour améliorer l'activité antibactérienne de ces HEs, il faudrait travailler dans l'obscurité (sans lumière) et avec l'huile de *Cinnamomum cassia* diluée dans DMSO, ainsi qu'il faudrait diminuer la température (10°C) et augmenter l'humidité (70%).

Dans l'étude de l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur *Escherichia coli* in vivo, nous avons développé un protocole expérimental pour étudier et suivre l'effet de ces deux huiles essentielles sur des poulets de 26 jours pendant une durée de 5 jours. Les analyses microbiologiques de la matière fécale et des tissus affectés (foie, rate et cœur) des poulets ont montré que les deux huiles essentielles ont des résultats importants sur cette bactérie pathogène, ainsi qu'ils ont montré une activité antibactérienne très active sur *Escherichia coli*. L'activité antibactérienne de l'huile essentielle semble inclure une altération de la membrane bactérienne qui se produit lorsque cette substance passe à travers la paroi cellulaire et la

membrane cytoplasmique, et perturbe la structure de leurs différentes couches de polysaccharides, des acides gras et des phospholipides (Masoodi et *al.*, 2007).

En général, les activités antimicrobiennes ont été expliquées principalement par C10 et C15 avec des terpènes des cycles aromatiques et des groupes hydroxyle phénoliques capables de former des liaisons covalente avec les sites actifs de la cible enzymes, bien que d'autres terpènes actifs, ainsi que des alcools, des aldéhydes et des esters contribuent à l'activité antimicrobienne des huiles essentielles (Belletti et *al.*, 2004). D'autre part, les énantiomères d'un -pinène, âpinene, limonène et linalol ont une forte activité antibactérienne (Magiatis et *al.*, 1999; Filipowicz et *al.*, 2003 ; Koji et *al.*, 2004).

## Conclusion générale et Recommandations

Les huiles essentielles peuvent se révéler très utiles en pratique thérapeutique quotidienne, nous avons montré qu'une HE est capable d'exercer une activité antibactérienne et antioxydante, et peut être incluse dans un programme thérapeutique contre diverses maladies animales, qu'elles soient seules ou en association avec un antibiotique. Les HEs ont d'autres atouts si elles ne sont pas bactéricides ou si elles sont utilisées à des doses sub-inhibitrices, comme le ralentissement du métabolisme ou l'inhibition de certaines fonctions physiologiques des micro-organismes (facteurs de virulence, production de toxines, mobilité, biofilm, réplication) réduisant ainsi la pathogénicité de la bactérie qui sera identifiée et éliminée plus facilement par le système immunitaire.

L'objectif scientifique du présent travail a été la caractérisation des élevages avicoles traditionnels de la région de Rabat-Salé-Kénitra à partir d'une enquête qui porte sur les caractéristiques des élevages (état socio-économique de l'éleveur, mode d'élevage, la composition de la basse-cour, les espèces aviaires, l'infrastructure, la commercialisation, l'alimentation, les maladies, le taux de mortalité et les traitements utilisés), ensuite l'évaluation de l'activité des trois huiles essentielles de trois plantes aromatiques et médicinales et qui sont *Cinnamum cassia*, *Origanum compactum* et *Thymus vulgaris* choisies sur la base de leurs usages en médecine traditionnelle au Maroc, et mettre en évidence leurs propriétés biologiques antibactériennes et antioxydantes, dans un premier temps, nous nous sommes intéressés à l'évaluation de la sensibilité des souches d'*E. coli* et de *salmonelles* aviaires aux principaux antibiotiques utilisés en aviculture, puis à l'analyse chromatographique de la composition des trois HEs, dans un second temps, nous avons procédé à l'évaluation *in-vitro* des activités antibactériennes de ces HEs seules ou en associations avec des antibiotiques, ainsi qu'à l'étude de l'effet antioxydant de ces HEs. L'étude a porté également sur l'optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des HEs par la méthode des plans d'expériences. Enfin, l'étude de l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur l'*Escherichia coli* In Vivo.

Au terme de ce travail, les conclusions suivantes peuvent être retenues :

Economiquement, cet élevage est efficient, eu égard aux investissements engagés et revenus générés, quoique le manque à gagner est énorme. A titre indicatif, le taux élevé des maladies infectieuses (38%). Les raisons seraient les conditions d'hygiène (63,10% des éleveurs ne

pratiquent aucun lavage du poulailler). Aussi, les mortalités sont importantes, le taux médian est de 10%.

Afin de permettre aux élevages traditionnels de jouer pleinement leur rôle pour la promotion de la femme rurale, il serait nécessaire d'entreprendre un certain nombre d'actions au niveau des modes d'élevage, de l'habitat, de l'alimentation et de la conduite sanitaire (vaccination des oiseaux de basse-cour).

### **De point de vue chimique ;**

L'huile essentielle de *Cinnamomum cassia*, est constituée de 4 composants dominés par le cinnamaldéhyde (69,15%) le l'acide méthoxycinnamique (21,19%).

L'huile essentielle de l'*Origanum compactum* est composée de 10 éléments dominés par le Carvacrol (35,17%), le  $\gamma$ -terpinène (20,09%), le Thymol (17,55%) et le o-cymène (13,67%).

L'huile essentielle de *Thymus vulgaris*, contient 9 composés, le o-Cymene représente (33,62 %), le thymol (23,26 %) et le  $\gamma$ -terpinène (19,45 %).

### **Sur le plan pharmacodynamique :**

- L'huile essentielle de l'origan et son composant majoritaire, le carvacrol, l'huile essentielle de thym et son composant majoritaire, le o-Cymene et, surtout, l'huile essentielle de la canelle et, son composant majoritaire, le cinnamaldéhyde, sont actifs *in vitro* contre les souches de *E.coli* et les souches de *salmonelles*.
- La concentration minimale inhibitrice (CMI) la plus faible a été obtenue avec le cinnamaldéhyde (0,031% (v/v)) *vis-à-vis* de *E. coli*, (0,05% (v/v)) *vis-à-vis* *S.enteritidis* et de (0,04% (v/v)) *vis-à-vis* de *S.gallinarum*, comparée à celles du carvacrol (0,0625%, 0,014% et 0,01% (v/v)) respectivement pour les trois souches bactériennes.
- La comparaison des CMI et des CMB, indique que les HE et les principes actifs sont bactéricides sur les souches employées.
- Les associations de l'HE de la canelle et de son composant principal, le cinnamaldéhyde, avec les 2 antibiotiques (Oxytétracycline et TMP-sulfamide) étaient toutes synergiques, cependant un effet antagoniste a été obtenu en combinant l'HE de l'origan et le carvacrol avec le TMP-sulfamide.
- Les huiles essentielles étudiées ont un pouvoir antioxydant puissant notamment l'huile essentielle du Thym avec une CI50 de 0,007 $\mu$ l/ml ;

- Le criblage des facteurs influençant l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Cinnamum cassia* et d'*Origanum compactum*, a montré que la lumière, le type d'huile, l'humidité, la dilution et la température sont les facteurs à grande influence sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles.
- Pour améliorer l'activité antibactérienne des huiles essentielles il faut : Travailler en absence de la lumière (obscurité) ; Travailler avec l'huile de *Cinnamum cassia* diluée dans DMSO ; Diminuer la température (10°C) ; Augmenter l'humidité (70%).
- L'étude de l'effet des huiles essentielles de la cannelle et de l'origan sur *Escherichia coli* in vivo a montré que les deux huiles essentielles (cannelle et origan) ont montré une activité antibactérienne très efficace sur cette bactérie.

De l'ensemble des résultats obtenus, il ressort que les huiles essentielles testées, présentent "in vitro" comme "in vivo", une activité inhibitrice très importante sur les deux agents pathogènes *E.coli* et *Salmonella*. Cette activité trouve probablement son origine dans la nature de la composition chimique des substances testées.

Cependant, la valeur des huiles essentielles tient à l'intégralité de ses composants et non seulement à ses éléments majoritaires. Ces résultats nous permettraient d'avancer que les plantes aromatiques et médicinales utilisées peuvent être utilisés par ailleurs, comme moyens alternatifs, à l'utilisation chimique dans le traitement des colibacillooses et salmonelloses.

A l'issue de ces activités antibactériennes des huiles essentielles des trois plantes aromatiques et médicinales étudiées, nous projetons comme perspectives, leur application dans l'industrie Pharmaceutiques et il serait d'une grande importance de :

- Déterminer l'effet combiné des différentes huiles essentielles testées ;
- Etude de l'innocuité de ces produits par la mesure de la toxicité (aiguë, subaiguë et chronique) chez le poulet et en utilisant plusieurs protocoles posologiques ;
- Effectuer des essais dans des conditions semi-commerciales, en utilisant les huiles essentielles ayant un effet antibactérien plus efficace ;
- Enrichir notre collection en plantes aromatiques et médicinales à action antibactérienne prouvée ;
- Réaliser une domestication de ces PAM afin de protéger la biodiversité et rapprocher le produit biologique de l'utilisateur ;
- Réaliser une étude économique pour évaluer le coût de l'utilisation des huiles essentielles dans la lutte alternative ;

- Etablir des formulations commerciales à base de substances naturelles non néfaste pour la santé humaine et pour l'environnement.

# **Références bibliographiques**

**Aamili N., 2017.** Investigations bactériologiques, sérologiques et moléculaires pour l'identification des souches de *Salmonella spp* chez le poulet au Maroc. Thèse de doctorat vétérinaire, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Maroc. p : 91.

**Abdellaoui N., 2001.** Contribution à l'étude du parasitisme interne chez le poulet beldi. Thèse Dr Vétérinaire, IAV Hassan II, Maroc.

**Abdennbi E. H., 2006.** Antibactériens en médecine vétérinaire. Édition : Actes, Institut agronomique et vétérinaire Hassan II, Maroc.

**Adams R.P., 2001.** Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy. Allured Publishing Corp, 4<sup>th</sup> Edition, p:803.

**Agbédé, G.B., Téguia A. & Manjeli Y., 1995.** Enquête sur l'élevage traditionnel des volailles au Cameroun. *Tropicultura*, vol. 13 (1), p : 22-24.

**Agenor F., 1973.** Les étapes de développement de la production avicole marocaine, Hommes, Terres et Eaux, vol. 8, p : 89-116.

**Aggad H. Y., Ammar A., Hammoudi A & Kihal M., 2010.** Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* isolated from Chickens with Colibacillosis in western Algeria. *Global Vétérinaria*, vol. 4(3), pp : 303-306. Available on: [http://www.idosi.org/gv/gv4\(3\)10/17.pdf](http://www.idosi.org/gv/gv4(3)10/17.pdf)

**Ahlers C., 1999.** Maladies et contraintes de productivité dans les systèmes d'élevage avicoles traditionnels au nord du Malawi. *INFPD, newsletter*, vol. 9 n° 2, pp : 20-22.

**Aidi A., 2013.** Aviculture traditionnelle dans la province d'Ifrane.

<http://www.agri-mag.com/2017/08/aviculture-traditionnelle-dans-la-province-difrane/>

**Aini L., 1999.** Diseases in rural family chickens in south-east Asia. INFPD/FAO. Electronic conference on family Poultry.

**Aiyegoro OA. & Okoh AI., 2009.** Use of bioactive plant products in combination with standard antibiotics: Implications in antimicrobial chemotherapy. *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 3(13), pp : 1147-1152.

**Ajdar E., Eila N. & Yadi, J., 2016.** The Effect of Prebiotics and Isoleucine Addition to the Finisher Diet of Broilers on Their Performance and some Blood Parameters. *Iranian journal of applied animal science*, vol. 6(1), pp : 181-185.

**Akil A., 1971.** De l'aviculture au Maroc : son avenir. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, France.

**Aklilu C., Almekinders J. M., Udo H. M. J. & Van der Zijpp A. J., 2007.** Village poultry consumption and marketing in relation to gender, religious festivals and market access, *Trop. Animal Health Prod*, vol. 39, p :165–177.

**Amajoud N., Skalli senhaji N., Bouchrif I., Karraouan B., El maadoudi M., Abrini J., 2015.** La résistance des souches de salmonella isolées à partir des denrées alimentaires dans la ville de Tétouan. Société Marocaine de Microbiologie Médicale-SMAMM. La 6ème édition de ses Journées Scientifiques, sous le thème « Les Bactéries Multirésistantes », le 3 et 4 avril 2015. <http://smamm.ma/6emes-journees-scientifiques-2015/>

**Amara A., 1996.** Données épidémiologiques et épizootiologiques sur les colibacilloses aviaires au Maroc. *Maghreb Vétérinaire*, 8 (32).

**Arfaoui T., 2000.** L'aviculture traditionnelle : Caractéristiques, contraintes et voies d'amélioration, cas de la région de Khénifra ; Mémoire de 3ieme Cycle Agronomie, Option: Productions Animales, I.A.V. Hassan II, Maroc.

**Arpino P., Prévôt A., Serpinet J., Tranchant J., Vergnol A. & Witier P., 1995.** Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse.4<sup>ème</sup> édition, p : 699.

**Arrêté du ministre de l'agriculture, du développement rural et des pêches maritimes n°2129-05 du 13 kaada 1426 (15 décembre 2005)** fixant les distances minimales à respecter entre une ferme d'élevage avicole et une autre, ou entre une ferme d'élevage avicole et un couvoir ou entre deux couvoirs.

**Atifi B., 2001.** Contribution à l'étude des dominantes pathologiques de l'aviculture villageoise au Moyen Atlas (cas de la région de Khénifra). Thèse Dr Vétérinaire, IAV Hassan II, Maroc.

**Attou A., 2011.** Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent, Magister en biologie, Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre et de l'univers, Algérie, p. 21.

**Avlessi F., Dangou J., Wotto V., Alitonou G.A. Sohounhloue D. & Menut C., 2004.** Propriétés antioxydantes de l'huile essentielle des feuilles de *Clausena anisata* (Wild) Hook. *Comptes Rendus Chimie*, vol. 7(10-11), pp : 1057-1061.

**Avril J., Dabernath, Denis F. & Menteil H., 1992.** Bactériologie Clinique. Ellipses 2<sup>ème</sup> édition, pp : 160-166.

**Ayssiwede S.B., Deng A., Houinato M. R. B., Chrysostome C. A. A. M. & Missohou A., 2011.** Elevage des poulets traditionnels ou indigènes au Sénégal et en Afrique Subsaharienne : état des lieux et contraintes. *Ann. Méd. Vét*, vol. 157, pp : 103-119.

- Baba F., Bousseough A., Oppermann A.G., Ouakili M. & Thienel M., 1991.** Amélioration de l'élevage traditionnel des poules pondeuses. Rapport de suivi du Projet Oued Srou, période : Septembre 1990 - Mai 1991, p : 49.
- Baba S., 2006.** Influenza aviaire et aviculture familiale au Nigeria : potentialités pour une propagation rapide et une présence continue de la maladie, Rapport de R&D, Bulletin RIDAF 16 : N° 1.
- Bakkali F., Averbek S., Averbek D. & Idaomar M., 2008.** Biological effects of essential oils -A review-. *Food & Chemical Toxicology*, vol. 46, pp : 446-475.
- Baret R.H., 2007.** Les antibiotiques peptidiques d'origine animale. Thèse de l'école vétérinaire de Lyon, France. p : 63.
- Barkok A., 2007.** Structure et Importance des Secteurs Avicoles Commercial et Traditionnel au Maroc. Revue du secteur avicole, FAO.
- Barrow P., 1994.** Serological diagnosis of *Salmonella serotype Enteritidis* infections in poultry by ELISA and other tests. *International journal of Food Microbiology*, vol. 21(1-2), pp : 55-68.
- Baudrey F., Debauche P. & Baudoux D., 2004.** Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française. Édition : Amyris ,Tome 3 : Arts Vétérinaire , Section : Bovins, p : 8.
- Belkadi, M., 1968.** De l'aviculture au Maroc : Traditions, aspects actuels et perspectives. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, France.
- Belkamel A., Bammi J., Belkamel A. & Douira A., 2013.** Etude de la composition chimique de l'huile essentielle d'une endémique Ibéro-marocaine : *Origanum compactum* (Benth.). *Journal of Animal & Plant Sciences*, vol. 19(1), pp : 2880-2887.
- Bellakhdar J., 1997.** Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc : la situation actuelle, les produits, les sources du savoir, enquête ethno-pharmacologique de terrain réalisée de 1969 à 1992. Thèse de Doctorat en science de vie , Tome :1, pp:463-465.
- Bell J. G., Fotzo T. M., Amara A. & Agbede G., 2000.** Dynamique de la volaille villageoise dans la région de Dschang, Cameroun. In Sonaiya, E.B. (ed) 2000. Issues in family poultry development research. Proceedings of International Workshop. December 9-13, 1997. M'Bour, Senegal, p : 308.
- Benabdeljelil K. & Bordas A., 2005.** Prise en compte des préférences des éleveurs pour la caractérisation des populations locales de poulets au Maroc. Sixièmes Journées de la Recherche Avicole, St Malo, 30 et 31 mars 2005.
- Benabid A., 2000.** Flore et écosystèmes du Maroc. Évaluation et préservation de la biodiversité. Édition : Ibis, Presse Paris, p. 360.

- Ben-Hammou F., Skali S.N., Idaomar M. & Abrini J., 2011.** The antimicrobial effect of *Origanum compactum* essential oil nisin and their combination against *Escherichia coli* in tryptic soy broth (TSB) and in sheep natural sausage casings during storage at 25 and 7 °C. *African Journal of Biotechnology*, vol. 10 (71), pp : 15998-16005.
- Benkeblia, N., 2004.** Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Alliumcepa*) and garlic (*Allium sativum*). *LWT - Food Science and Technology*, vol. 37(2), pp : 263-268.
- Bergeron N., 2009.** Caractérisation phénotypique et génotypique d'isolats de Salmonella Typhimurium provenant de porcs sains ou septicémiques. Thèse de doctorat d'université de Montréal, p : 8.
- Bergey D.H., Krieg N.R. & Holt, G.H., 1984.** Bergey's manual of systematic bacteriology. Edition: Williams & Wilkins, vol. 1, pp : 408-420.
- Berradi T., Karraouan B., Charafeddine O., Bouchrif B. & Abouchoaib N., 2018.** Résistance aux fluoroquinolones des Salmonella Kentucky isolées de produits alimentaires d'origine animale (Casablanca, Maroc). *Médecine et Maladies Infectieuses*. doi:10.1016/j.medmal.2018.07.002
- Bett H. K., Bett R. C., Peters K. J., Kahi A. K. & Bokelmann W., 2012.** Linking utilisation and conservation of indigenous chicken genetic resources to value chains. *Journal of Animal Science Advances*, vol. 2 (1), p : 33-51.
- Beutin L, 1999.** *Escherichia Coli* as a Pathogen in Dogs and Cats. *Veterinary Research*, vol. 30 (1-2), pp : 285-298.
- Bilgrami KS., Sinha KK., & Sinha AK., 1992.** Inhibition of aflatoxin production and growth of *Aspergillus flavus* by eugenol, onion, and garlic extracts. *Indian Journal of Medical Research*, vol. 96, pp : 171-175.
- Blanco JE., Mora MA. & Blanco J., 1997.** Prevalence of bacterial resistance to quinolones and other antimicrobials among avian *Escherichia Coli* stains isolated from septicemic and healthy chickens in Spain. *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 35(8), pp : 2184-2185.
- Bonhomme B.R., 2003.** Etude de la contamination des milieux internes de l'œuf par Salmonella sérotype enteritidis. Thèse de Doctorat vétérinaire. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, p : 110.
- Bouguerra A., 2012.** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de foeniculum vulgare mill. En vue de son utilisation comme conservateur alimentaire,

Magister en Sciences Alimentaires, Université Mentouri Constantine, Institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires (I.N.A.T.A.A.), Algérie.

**Bouhdide S., 2006.** Thymus Essential oil : Chemical Composition and in Vitro Antioxidant and Antibacterial Activities. Biochimie, *Substances Naturelles et environnement*, Congrès International de Biochimie, Agadir, 09-12 Mai 2006.

**Bouhdid S., 2009.** Activités antimicrobienne et antioxydante des huiles essentielles. Application biotechnologique pour l'amélioration de la qualité des boyaux naturels. Thèse pour l'obtention du doctorat en sciences. Université Abdelmalek Essaadi. Faculté des Sciences de Tétouan. Maroc.

**Bouhdid S., Abrini J., Zhiri A., Espuny M.J. & Manresa A., 2009.** Investigation of functional and morphological changes in *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* cells induced by *Origanum compactum* essential oil. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 106, pp : 1558-1568.

**Bourgeois C.M., Mescle J.F. & Zucca J., 1996.** Microbiologie alimentaire Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité d'aliments, Édition : Lavoisier / Tec & Doc, pp : 272-289.

**Bousquet-Mélou A. & Toutain P.L., 2012.** Impact du schéma posologique sur la résistance. Bulletin des GTV, vol. 64, pp : 29-31.

**Bouzoubaa K., Mouahid M., Elhouadfi M., Amara A., Jaouzi T. & Bell J., 1989.** Les dominantes pathologiques en aviculture au Maroc. *Mag. Vet.*, Vol. 4 n°20, p : 15-18.

**Brudere C., 1992.** La thérapeutique aviaire. Manuel de pathologie aviaire. Édition : Jeanne Brugere-Picoux et Amer Silim, pp : 365-367.

**Brugere-Picoux J., Bouzouiaia M., Vaillancourt J., Shivaprasad H. & Venne D., 2015.** Manuel de Pathologie aviaire. Édition : AFAS, Paris.

**Bruneton J., 2009.** Pharmacognosie : Phytochimie, Plantes médicinales, 4<sup>ème</sup> édition. Édition : Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p : 519.

**Brutsaert, B., 2009.** Acides organiques et acides gras à chaîne moyenne. 9<sup>ème</sup> journée des productions porcines et avicoles, pp : 54-55.

**Burt S., 2004.** Essential oils : their antibacterial properties and potential applications in foods- a review. *International Journal of Food Microbiology*, vol. 94(3), pp : 223-253.

**Bulletin d'Information Technologique Industrie Agroalimentaire, BIT-IAA N°23 –** Année 2012, Institut Marocain de l'Information Scientifique et Technique - IMIST,

- Buneton J., 1999.** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes Médicinales, 1999, pp : 484-496.
- Association Française de Normalisation,** recueil de normes française "huile essentielle, Afnor" 1986.
- Burnichon N. & Texier A., 2003.** DES bactériologie – Semestre été 2003, L'Antibiogramme : La Détermination Des Sensibilités Aux Antibiotiques.

*e*

- Café M.B., Rinaldi F.P. & Morais H.R., 2012.** Biochemical blood parameters of broilers at different ages under thermoneutral environment. World's Poultry Science Journal, Supplement 1, Expanded Abstract - Poster Presentation - Chicken Breeder and Broiler Production. WPC2012 - Salvador - Bahia - Brazil • 5 - 9 August – 2012.
- Camart-Périé A., 2006.** *Salmonella*, salmonelloses bovines : état des lieux, épidémiologie en France, Thèse de doctorat vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, pp : 122.
- Candan F., Unlu M., Tepe B., Daferera D., Polissiou M., Sokemen A. & Akpulat H.A., 2003.** Antioxydant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achilla millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, vol. 87, pp : 215-220.
- Carroll P., La Regione R.M., Sayers A.R. & Woodward M.J., 2004.** The O-antigen of *S. enterica* serotype Enteritidis PT4 : A significant factor in gastro-intestinal colonisation of young but not newly hatched chicks. *Veterinary Microbiology*, vol. 102, pp : 73-85.
- Carson C.F., Mee B.J., & Riley T.V., 2002.** Mechanism of action of *Melaleuca alternifolia* oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lysis, leakage and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, vol. 46, pp : 1914-1920.
- Cazzola C. & Doublet C., 2015.** Mise au point d'une technique de séparation et de quantification des composés présents dans une huile essentielle. Projet de l'Institut National des Sciences Appliquées de Rouen (INSA), p : 14.
- Chang K.S, Tak J.H., Kim S.I., Lee W.J. & Ahn Y.J., 2006.** Repellency of *Cinnamomum cassia* bark compounds and cream containing cassia oil to *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) under laboratory and indoor conditions. *Pest Management Science*, vol. 62(11), pp : 1032-1038.
- Chang S.T., Chen P.F., Wang S.Y. & Wu H.H., 2001.** Antimite activity of essential oils and their constituents from *Taiwania cryptomerioides*. *Journal of Medical Entomology*, vol. 38(3), pp : 455-457.
- Chattellet M.C., 2007.** Modalité d'utilisation des antibiotiques en élevage bovin : Enquête en ANJOU. Thèse de Doctorat Vétérinaire, Ecole vétérinaire Alfort, p : 48.

- Chavéron H., 1999.** Introduction à la toxicologie nutritionnelle. Édition : Tec & Doc, Lavoisier, Paris.
- Chevalier, 2012.** L'usage des Substances Antimicrobiennes en Production Animale : Position des Experts et des Gouvernements. Institut national de santé publique du Québec, p : 19
- Choi S.H., Lee J.E., Park S.J., Choi S., Lee S., Jeong J.Y., Kim M.N., Woo J.H. & Kim Y.S., 2008.** Emergence of Antibiotic Resistance during Therapy for Infections Caused by Enterobacteriaceae Producing AmpC-Lactamase: Implications for Antibiotic Use. *Antimicrobial Agents & Chemotherapy*, vol. 52(3), pp : 995-1000.
- Choi J., Lee K.T., Ka H., Jung W.T., Jung H.J. & Park H.J., 2001.** Constituents of the essential oil of the *Cinnamomum cassia* stem bark and the biological properties. *Archives of Pharmacal Research*, vol. 24(5), pp : 418-423.
- Clark M.A., Jepson M.A., Simmons N.L. & Hirst B.H., 1994.** Preferential interaction of *Salmonella Typhimurium* with mouse Peyer's patch M cells. *Research in Microbiology*, vol. 145, pp : 543-552.
- Cohen D., 2013.** Les huiles essentielles à l'officine : dangers pour la femme enceinte et le nouveau-né, thèse pour l'obtention du titre de docteur en pharmacie, Université Joseph Fourier, Faculté de Pharmacie de Grenoble, pp : 6-7.
- Cosentino, S., Tuberoso, C.I., Pisano, B., Satta, M., Mascia, V., Arzedi, E., & Palmas, F., 1999.** In-vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian Thymus* essential oils. *Letters in Applied Microbiology*, vol. 29, pp : 130-135.
- Couderc V., 2001.** Toxicité des huiles essentielles. Thèse de Doctorat vétérinaire, Ecole vétérinaire de Toulouse, p : 19.
- Cox S.D., Mann C.M., Markham J.L., Bell H.C., Gustafson J.E., Warmington J.R. & Wyllie S.G., 2000.** The mode of antimicrobial action of the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *Journal of Applied Microbiology*, vol. 88(1), pp : 170-175.
- Craig W. & Andes D., 1996.** Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics in otitis media *Pediatrics of Infection Disease*, vol. 15(3), pp : 255-259.
- Croteau R., Kutshan T.M. & Lewis N.G., 2000.** Natural products (secondary metabolites). *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of plant Physiologists, Chapter: 24, p : 1252.
- Cummings J.H. & Kong, S.C., 2004.** Probiotics, prebiotics and antibiotics in inflammatory bowel disease crossroads of microbes, epithelium and immune systems. *Novartis Foundation Symposium*, vol. 263, pp : 99-114.

**Dafereraa D.J., Ziogash B.N. and Polissiou M.G., 2003.** The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*. *Crop Protection Journal*, vol. 22, pp : 39-44.

**David J., 2009.** Attribution des cas de salmonelloses humaines aux différentes filières de production animale en France. Adaptabilité et robustesse du modèle bayésien d'attribution par typage microbiologique. Thèse de Doctorat, Ecole nationale supérieure d'agronomie de rennes, p : 15.

**De Azeredo G. A., Stamford T. L. M., Nunes P. C., Gomes Neto N. J., De Oliveira M. E. G., & De Souza E. L., 2011.** Combined application of essential oils from *Origanum vulgare* L. & *Rosmarinus officinalis* L. to inhibit bacteria and autochthonous microflora associated with minimally processed vegetables. *Food Research International*, vol. 44(5), pp : 1541-1548.

**Delpech, P., 1993.** Quels projets de recherches intégrées pour l'aviculture villageoise, In : Séminaire sur l'épidémiologie et l'économie de la production avicole villageoise, Rabat, Maroc, pp : 73-75.

**Diagne A., 2012.** Evaluation d'un transfert de paquet technique en aviculture traditionnelle et son impact sur la génération de revenus des femmes de Sibassor (Kaolack). EISMV-Dakar. Thèse de Dr vétérinaire, 97 pages.

**Di Pasqua R., Betts G., Hoskins N., Edwards M., Ercolini D. & Mauriello G., 2007.** Membrane Toxicity of Antimicrobial compounds from Essential Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 55(12), pp : 4863-4870.

**Dieng A., Gueye E.F., Mahougou-Mouele N.M. & Buldgen A., 1998.** Effets de la ration et de l'espèce avicole sur la consommation alimentaire et la digestibilité des nutriments au Sénégal. *Bulletin RADIF*, vol. 8, pp : 5-7.

**Djitie F.K., Megueni C., Tegui1 A. & Bitom D.L., 2015.** Enquête socioéconomique et technique sur l'aviculture familiale dans la région de l'Adamaoua, Cameroun. *Livestock Research for Rural Development*, vol. 27 (2), pp : 5-12.

**Domadia P., Swarup S., Bhunia A., Sivaraman J. & Dasgupta D., 2007.** Inhibition of bacterial cell division protein FtsZ by cinnamaldehyde. *Biochemical Pharmacology*, vol. 74(6), pp : 831-840.

**Dorman H.J. & Deans SG., 2000.** Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 88, pp : 308-316.

**Duguid J.P., Anderson E.S., Alfredsson G.A., Barker R.M. & Old D.C., 1975.** A new biotyping scheme for *Salmonella typhimurium* and its phylogenetic significance. *Journal of Medical Microbiology*, vol. 8, pp : 149-166.

**Duval J. & Soussy C.J., 1990.** « Antibiothérapie ». Édition : Masson, Paris.

## E

**Echerkaoui K., 2001.** Contribution à l'étude de l'aviculture traditionnelle dans la Région de Khénifra (Cas d'Agoudim). Mémoire de 3ème Cycle Agronomie, Option: Productions Animales, I.A.V. Hassan II, Rabat, Maroc.

**EFSA, 2014.** Rapport de l'EFSA et de l'ECDC. (<https://www.efsa.europa.eu/fr/press/news/140325>).

**EFSA/ECDC, 2016.** Rapport sur la résistance aux antimicrobiens dans les bactéries zoonotiques. ([https://securite-alimentaire.public.lu/fr/point\\_focal/Publications-EFSA/publications/2016/02/Publication-EFSA.html](https://securite-alimentaire.public.lu/fr/point_focal/Publications-EFSA/publications/2016/02/Publication-EFSA.html))

**EFSA, 2019.** La résistance aux antimicrobiens. (<https://www.efsa.europa.eu/fr/press/news/190226>)

**Ela A., el-Shaer NS. & Ghanem NB., 1996.** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. *Die Pharmazie*, vol. 51(12), pp : 993-995.

**Elared O., Amara A., Faid M., Alaoui MA. & Tahri H., 2001.** Antibiorésistance des souches de *Salmonella enteritidis* isolées dans la zone Rabat-Casablanca à partir de l'œuf de consommation, de l'aliment et des fientes de poules pondeuses. Actes de l'Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II, vol. 21(3), pp : 147-150.

**El Asri M., 2013.** Cours sur les plans d'optimisation et plans de mélange, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté Des Sciences Et Techniques Fès, Maroc.

**Elfadil A.et al., 1996.** Description of cellulitis lesions and associations between cellulitis and other categories of condemnation. *Avian Dis*, vol. 40, pp : 690- 698. Available on : [http://www.jstor.org/stable/1592282?seq=1#page\\_scan\\_tab\\_contents](http://www.jstor.org/stable/1592282?seq=1#page_scan_tab_contents)

**El Houadfi M., 1992.** Rapport sur la production avicole et problèmes liés aux élevages traditionnels au Maroc. In : Séminaire sur l'épidémiologie et l'économie de la production avicole villageoise, Rabat, Maroc, pp. 161-170.

**El Kalamouni C., 2010.** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, thèse du doctorat, Discipline ou spécialité : Sciences des Agroressources, Université de Toulouse, l'institut National Polytechnique De Toulouse, p : 70.

**Ekue F. N., Poné K.D., Mafeni M.J., Nfi A.N. & Njoya J., 2002.** Characteristics parameters of family poultry production in Africa (FAO/IAEA Co-ordinated Research Programme IAEA edt), pp : 15-25.

**El-Yuguda A. D., Baba S. S., Ibrahim U. I. & Brisibe F., 2009.** Maladie de newcastle et maladie de gumboro chez les poulets villageois dans l'Etat de Borno (Nigeria). *Bulletin RIDAF*, vol. 18 (1/2). [www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/infpd/home.html](http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/infpd/home.html)

## 7

**Fadli M., Saad A., Sayadi S., Chevalier J., Mezrioui N., Pages J.M. & Hassani L., 2012.** Antibacterial activity of *Thymus Maroccanus* and *Thymus Broussonetii* essential oils against nosocomial infection bacteria and their synergistic potential with antibiotics, *Phytomedicine*, vol. 19, pp : 464-471.

**Faucon M., 2015.** Traité d'aromathérapie scientifique et médicale, fondements et aide à la prescription. Édition : Sang De La Terre Médial, Paris.

**Fédération Interprofessionnelle du Secteur Avicole (FISA), 2007.** Données statistiques sur l'aviculture au Maroc. Site web : [www.fisa.org.ma](http://www.fisa.org.ma).

**Fédération Interprofessionnelle du Secteur Avicole (FISA), 2016.** Données statistiques sur l'aviculture au Maroc. Site web : [www.fisa.org.ma](http://www.fisa.org.ma).

**Fenaroli G., 1995.** Fenaroli's Handbook of flavor ingredient. Edition : CRC Press.

**Fennane M., Ibn Tattou M., Ouyahya A. & El Oualidi J., 2007.** Flore Pratique du Maroc : Manuel de détermination des plantes vasculaires du Maroc. Édition : Institut Scientifique Servoce, Rabat.

**Fillatre Y., 2011.** Produits phytosanitaires : Développement d'une méthode d'analyse multirésidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem, Thèse de Doctorat en Chimie Analytique, Université d'Angers, pp : 16-17.

**Finlay B.B. & Falkow S., 1988.** Virulence factors associated with *Salmonella* species. *Microbiology Science*, vol. 5, pp : 324-328.

**Finlay B.B. & Brumell J.H., 2000.** *Salmonella* interactions with host cells: in vitro to in vivo, *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 355, pp : 623-631.

**Fontaine M. & Cadoré J.L. , 1995.** Vade-mecum du vétérinaire. Édition : Vigot, Paris.

**Fotsa J. C., PonéKamdem D., Manjeli Y. & NgouNgoupayou J. D., 2007.** The State of Cameroon Rural Chickens: Production and development perspectives for poverty alleviation. *Ghanaian Journal of Animal Science*, vol. 23, pp : 175-180.

**Foughalii Y., 2005.** Contribution à l'étude des pathologies dominantes et des paramètres de production et de reproduction chez les ovins au niveau de la Commune Rurale d'Ait Ichou (Cercled'Oulme). Thèse Doct. Vét., IAV Hassan II, Maroc.

**Franchomme P. & Péroël D., 2001.** L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Édition : Robert Jollois, Paris.



**Gahring L.C., Heffron F., Finlay B.B. & Falkow S., 1990.** Invasion and replication of *Salmonella Typhimurium* in animal cells, *Infection & Immunity*, vol. 58, pp : 443-448.

**Gargouri Y., Ghamgui H., Miled N., Karra-chaâbouni M., 2007.** Immobilization studies and biochemical properties of free and immobilized *Rhizopus oryzae* lipase onto CaCO<sub>3</sub>: A comparative study. *Biochemical Engineering Journal*, vol. 37, pp : 34-41.

**Geng S.L., Cui Z.X., Huang X.C., Chen Y.F., Xu D., & Xiong P., 2011.** Variations in essential oil yield and composition during *Cinnamomum cassia* bark growth. *Industrial Crops & Products*, vol. 33, pp : 248-252.

**Germann G. & Germann P., 2014.** Plantes d'aromathérapie. Édition : Delachaux et Niestlé Paris.

**Gibson G.R., Probert M.H., Loo V.J., Rastall A.R. & Roberfroid B.M., 2004.** Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutrition Research Reviews*, vol. 17, pp : 259-275.

**Gill A.O. & Holley R.A., 2004.** Mechanisms of bactericidal action of cinnamaldehyde against *Listeria monocytogenes* and of eugenol against *L. monocytogenes* and *Lactobacillus sakei*. *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 70(10), pp: 5750-5755.

**Gledel J., 1996.** Le genre *Salmonella* In : Bourgeois. Microbiologie alimentaire. Édition : Tec & Doc, Lavoisier, tome : 1, pp : 61-77.

**Goetz P. et al., 2012.** Phytothérapie anti-infectieuse, *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) : thym. Edition : Springer-Verlag France, Paris.

**Goromela E. H., Kwakkel R. P., Verstegen M. A. W. & Katule A. M., (2006).** Strategies to optimize the use of scavengable feed resource base by smallholders in traditional production systems in Africa: A review. *African Journal of Agricultural Research*, vol. 1, pp : 91-100.

**Goupy J., 2006.** Les plans d'expériences. *Revue MODULAD*, Vol. 34, pp : 74-116.

**Grimont P. A. D., & Weill F. X., 2007.** Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. Institut Pasteur & WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*, p: 3

**Grimont P.A.D., Grimont F. & Bouvet P.J.M., 2000.** Précis de Bactériologie clinique. Édition: ESKA, pp: 1 137-1156.

**Guèye E.F., 1998b.** Village egg and fowl meat production in Africa, *World's Poultry Science Journal*, Vol. 54 (1), pp : 73 - 86.

**Guillot J., Lafont J. & Chaslus-dancla E., 1983.** Antibiothérapie en médecine vétérinaire et antibiorésistance en pathologie animale. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, vol. 159, pp : 581-589.

**Guillot JF., 1989.** Apparition et évolution de La résistance bactérienne aux antibiotiques. *Annales de Recherche Vétérinaire*, vol. 20, pp : 3-16.

**Guinoiseau E., 2010.** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action, Thèse pour l'obtention du grade de Docteur, Mention : Biochimie - Biologie moléculaire, Université De Corse-Pasquale Paoli, Ecole Doctorale Environnement et Societe UMR CNRS 6134 SPE, Faculté des Sciences et Techniques.



**Halawani E., 2009.** Antibacterial Activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and Their Interaction with Some Antibiotics. *Advances in Biological Research*, vol. 3 (5-6), pp : 148-152.

**Hammer K.A., Carson C.F. & Riley T.V., 1999.** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 86(6), pp : 985-990.

**Hanif M.A., Al-Maskari M.Y., Al-Maskari A., Al-Shukaili A., Al-Maskari A.Y. & Al-Sabahi J.N., 2011.** Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of unexplored Omani basil. *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 5(5), pp : 751-757.

**Helander I.M., 1998.** Characterization of the Action of Selected Essential Oil Components on Gram-Negative Bacteria, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 46(9), pp : 3590-3595.

**Hellal Z., 2011.** Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. Application sur la sardine (*Sardina pilchardus*), Magister en biologie, Université Mouloud Mammeri de tizi-ouzou, Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, Tizi-Ouzou, Algérie, p : 4

**Hidalgo H., 2003.** Dépôt chimique en phase vapeur de couches minces d'alumine dans une

post-décharge micro-onde, Thèse de doctorat en Chimie, Chimie Physique, Spécialité Procédés et Céramiques, Université de Limoges, septembre 2003.

**Hoffmann E., Charette J. & Stroobant V., 1999.** Spectrométrie de masse, 2eme édition, librairie Dunod, Paris.

**Horst P., 1991.** Native fowl as a reservoir for genomes and major genes with direct and indirect effects on the adaptability and their potential for tropically orientated breeding plans. A review, Vol. 33, pp : 63-79.

**Huang DF., Xu JG., Liua JX, Zhang H. & HuQP., 2014.** Chemical Constituents, Antibacterial Activity and Mechanism of Action of the Essential Oil from Cinnamomum cassia Bark against Four Food-Related Bacteria1. *Microbiology*, vol. 83(4), pp : 357-365.

9

**Inyoue S., Goi H., Miyouchi K., Ogihara M. & Iwanami I., 1983.** Inhibitory effect of volatil components on the proliferation of bacteria. *Bokin.Bobai*, vol. 11, pp : 609-615.

**Iranshahi M., 2012.** A review of volatile sulfur-containing compounds from terrestrial plants: biosynthesis, distribution and analytical methods. *Journal of Essential Oil Research*, vol. 24(4), pp : 393-434.

9

**Jaafari A., Ait Mouse H. & Rakib E.M., 2007.** Chemical composition and antitumor activity of different wild varieties of Moroccan thyme. *Revista Brasileira de Farmacognosia Braz J Pharmacognosy*, vol. 17(4), pp : 477-91.

**Jaouzi T., Amara A. & Mouahid M., 2004.** Évolution de l'antibiorésistance de souches d'Escherichia Coli isolées des cas cliniques de la colibacillose du poulet de chair dans la région de Rabat-Salé-Témara : 1985-2003. La 4<sup>ème</sup> journée scientifique de l'Association Marocaine de Pathologie Aviaire, 17 Janvier 2004.

**Jaouzi T, Elomari N., Tmiri N. et Kichou F., 2002.** Health and management constraints of family poultry development in Morocco. In : Characteristics and Parameters of Family Poultry Production in Africa. Results of FAO/IAEA Coordinated Research Programme. IAEA, pp : 73-85.

**Johandiez E. & Maire R., 1932.** Catalogue des plantes du Maroc. Tome troisième. Dicotylédones et Supplément aux volumes I et II.

**Johnson J., Russo M. & Thomas A., 2000.** Proposal for a New Inclusive Designation for Extraintestinal Pathogenic Isolates of Escherichia Coli: ExPEC, *The Journal of Infectious Diseases*, vol. 181(5), pp : 1753–1754.



**Kalemba D. & Kunicka A., 2003.** Antibacterial and antifungal properties of essential oils, *Curr Med Chem*, vol. 10, pp : 813-829.

**Kaloustian J., Chevalier J., Mikail C., et al., 2008.** Étude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, vol. 6(3), pp : 160–4.

**Karari 2001,** contribution à l'étude de l'aviculture traditionnelle dans la région de khénifra (cas d'Agoudim) mémoire de 3<sup>ème</sup> cycle agronomie, option Productions Animales, I.A.V. Hassan II, Rabat, Maroc.

**Karioti A., Vrahimi-Hadjilouca T., Droushiotis D., Rancic A., Hadjipavlou-Litina D. & Skaltsa H., 2006.** Analysis of the essential oil of *Origanum dubium* growing wild in Cyprus. Investigation of its antioxidant capacity and antimicrobial activity. *Planta Medica*, vol. 72, pp : 1330-1334.

**Kavanaugh NL. & Ribbeck K., 2012.** Selected antimicrobial essential oils eradicate *Pseudomonas spp.* and *Staphylococcus aureus* biofilms, *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 78(11), pp : 4057-4061.

**Khan A. G., 1994.** ICAR Ad hoc Project, J.N. Agriculture University, Jabalpur M.P., India.

**Khribch J., 2013.** Contribution à l'étude des contraintes au développement de l'élevage avicole traditionnel au niveau de la Commune Rurale d'Ait Ichou : Cas des maladies infectieuses. Thèse Doct. Vét., IAV Hassan II, Maroc.

**Kim Ho , Park Sw. & Park Hd., 2004.** Inactivation of Escherichia coli O157:H7 by cinnamic aldehyde purified from *Cinnamomum cassia* shoot. *Food Microbiology*, vol. 21(1), pp : 105-110.

**Kitalyi, A.J., 1997.** Village chicken production Systems in developing countries: what does the future hold?, *World Animal Review*, vol. 89 (2), pp : 48-53.

**Kohlert C., Schindler G., Marz R.W., Abel G., Brinkhaus B., Derendorf H., 2002.** Systemic availability and pharmacokinetics of thymol in humans. *The Journal of Clinical Pharmacology*, vol. 42, pp : 731-737.

**Kordali S., Cakir A., Ozer H., Cakmakci R., Kesdek M. & Mete E., 2008.** Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum*

acutidens and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology*, vol. 99(18), pp : 8788-8795.

**Kugonza D.R., Kyarisiima C.C. & Iisa A., 2008.** Indigenous chicken flocks of Eastern Uganda: I. Productivity, management and strategies for better performance. *Livestock Research for Rural Development*, 20, Article #137. Retrieved July 23, 2011, from <http://www.lrrd.org/lrrd20/9/kugo20137.htm>

**Kyung-Woo, L., 2004.** Essential Oils in Broiler Nutrition. Thèse de Doctorat, Université d'Utrecht. Pays-Bas.



**Labre P., 2012.** Phytothérapie et aromathérapie chez les ruminants et le cheval, Tome 2. Édition : Femenvet Thônes.

**Lahlou M., 2004.** Methods to Study the Phytochemistry and Bioactivity of essential oils. *Phytother. Res*, vol. 18, pp : 435-448.

**Lahsissene H., Kahouadji A., Tijane M. & Hseini S., 2009.** Catalogue des plantes médicinales utilisées dans la région de Zaër (Maroc occidental). *Revue Botanique Lejeunia*, n° :186.

**Laib I., 2011.** Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis* sur les moisissures des légumes secs, Magister en Sciences Alimentaires, Université Mentouri Constantine, institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies argo-alimentaires (I.N.A.T.A.A), Algérie, p : 24.

**Lamamra M., 2010.** Contribution à l'étude de la composition chimique et de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Tinguarra sicula* (L.) Parl. et de *Filipendula hexapetala* Gibb, Magister biologie et Physiologie Végétale, Université Ferhat Abbas-Setif, Faculté des Sciences, p. 35.

**Lamaty G., Jirovetz L., Karawya M., 1997.** Chemical composition and antibacterial activities of the essential oils of *Lippia chevalieri* and *Lippia multiflora* from Burkina Faso. *Journal of chemistry of naturel compound*, vol. 15, p: 429.

**Lambert R.J., Skandamis P., Coote P. & Nychas G J., 2001.** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oils, thymol and carvacrol. *Journal of applied Microbiology*, vol. 91(3), pp : 453-462.

- Lamien-Meda A., C.E. Lamien, M.M.Y. Compaore, R.N.T. Meda & M. Kiendrebeogo., 2008.** Polyphenol content and antioxidant activity of fourteen wild edible fruits from Burkina Faso. *Molecules*, vol. 13(3), pp : 581-594.
- Lamure A.,** Méthodologie des plans d'expériences, plans factoriels complets.  
<file:///C:/Users/LENOVO/Downloads/METHODOLOGIE%20DES%20PLANS%20D%20EXPERIENCES.pdf>
- Langeveld W., Burt S. & Veldhuizen E., 2013.** Synergy between essential oil components and antibiotics: A review. *Critical Reviews in Microbiology*, vol. 40(1), pp : 76-94.
- Langridge G.C., Wain J. & Nair S., 2005.** Invasive Salmonellosis in Humans. *EcoSalPlus*, vol. 5(1), pp : 1-14.
- Lawrence Brian M., 2009.** A preliminary report on the world production of some selected essential oils and countries, *Perfumer & flavorist*, vol. 34, pp : 39-40.
- Lee S.H., Chang K.S., Su M.S., Huang Y.S. & Jang H.D., 2007.** Effects of some Chinese medicinal plant extracts on five different fungi. *Food Control*, vol. 18(12), pp. 1547–1554.
- Le Minor L. & Veron M., 1989.** Bactériologie médicale. Les entérobactéries : *Salmonella*. Médecine- Sciences Flammarion, pp : 411-427.
- Letebrhan G., Aberra M., Sandip B. & Gebremedhn B., 2015.** Characterization of village chicken production system under traditional management in Gantaafeshum district of Eastern Tigray, Ethiopia, *Livestock Research for Rural Development*, vol. 27 (9).  
<http://www.lrrd.org/lrrd27/9/gebr27179.html>
- Levin L. & Forchiassin F., 2005.** “Viale, Ligninolytic enzyme production and dye decolorization by *Trametes trogii*: application of the Plackett–Burman experimental design to evaluate nutritional requirements“, *Process Biochemistry*, vol. 40 , pp : 1381–1387.
- Lin C., Wu S., Chang C. & Lg L., 2003.** Antioxidant Activity of *Cinnamomum cassia*. *Phytotherapy Research*, vol. 17(7), pp : 726–730.
- Lis-Balchin M., Buchbauer G., Hirtenlehner T. & Resch M., 1998.** Antimicrobial Activity of Pelargonium essential oils added to a quiche filling as a model food system. *Letters of Applied Microbiology*, vol. 27, pp : 207-210.
- Louvet F. & Delplanque L., 2006.** “Design of experiments : the French touch / Les plans d'expériences : une approche pragmatique et illustrée”, témoignage de l'association Expérimentique, 2006.

**Lv F., Liang H., Yuan Q. & Li C., 2011.** In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Research International*, vol. 44, pp : 3057-3064.

**Lucchesi M., 2005.** Extraction sans Solvant Assistée par Micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles, Thèse de Doctorat en Sciences, Discipline : Chimie, Université de la Réunion, Faculté des Sciences et Technologies, p : 17.

**Lundstedt T., Seifert E., Abramo L., Thelin B. , Nystrom A., Pettersen J. & Bergman R., 1998.** Experimental design and optimization. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, vol. 42, pp : 3-40.

### M

**Mack S., Hoffmann D. & Otte J., 2005.** The contribution of poultry to rural development, *World's Poultry Science Journal*, vol. 61, pp : 7-14.

**Madigan M. & Martinko J., 2007.** Biologie des micro-organismes. Édition : Pearson, pp : 731-735, 790-792, 943, 947, 948.

**Mahammi F. Z., Bachir S., Gaouar S.B.S., Tabet-Aoul N., Tixier-Boichard M. & Saïdi-Mehtari N., 2014.** Caractéristiques morpho-biométriques et systèmes d'élevage des poules locales en Algérie occidentale (Oranie), *CahAgric*, vol. 23, n°6.

**Mahmoudi N., Yakhlef H. & Thewis A., 2015.** Caractérisation technico-socio professionnelle des exploitations avicoles en zone steppique (Wilaya de M'sila, Algérie), *CahAgric*, vol. 24, n° 3.

**Maho A., Mbeurnodji L., Ndobale B., 1997.** Dominantes pathologiques aviaires à N'Djaména : étude de quinze fermes, *Revue Elev. Méd. vét. Pays trop*, vol.50 (4), pp : 277-280. Available on: [http://remvt.cirad.fr/revue/notice\\_fr.php?dk=401161](http://remvt.cirad.fr/revue/notice_fr.php?dk=401161)

**Maillard R., 2002.** Antibiothérapie respiratoire. *La Dépêche Vétérinaire*, vol. 80, pp : 15-17.

**Mallea M., Soler M., Anfosso F. & Charpin J., 1979.** Activité antifongique d'essences aromatiques. *Pathologie Biologie*, vol : 27, pp : 597-602.

**Manohar V., Ingram C., Gray J., Talpur NA., Echard BW., Bagchi D. & Preuss HG., 2001.** Antifungal activities of Origanum oil against *Candida albicans*. *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 228(1-2), pp: 117-117

**Mantle D., Anderton J., Falkous G., Barnes M., Jones P. & Perry E., 1998.** Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils. *Comparative Biochemistry and Physiology*, vol. 121, pp : 385-391.

- Martel J.L., 1996.** Critères de choix d'un antibiotique : épidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes chez l'animal. *Épidémiologie en Santé Animale*, vol. 65, pp : 107-120.
- Mathieu D., Nony J., Phan-Thau-Luu R. & Beal A., 2017.** 'Génération de Matrices d'Expérience en Fonction des Objectifs et Traitement des Réponses Expérimentales', Nemrod, Marseille, France, www.nemrodw.com, Version 2017.
- Meena M.R. & Sethi V., 1994.** Antimicrobial activity of the essential oils from spices. *Journal of Food Science & Technology*, vol. 31, pp. 68-70.
- Mighri H., Hajlaoui H., Akrouf A., Najjaa H. & Neffati M., 2010.** Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *C.R. chimie*, vol. 13, pp : 380-386.
- Millemann Y., 1998.** Le pouvoir pathogène des salmonelles : facteurs de virulence et modèles d'étude. *Veterinary Research, BioMed Central*, vol. 29, pp : 385-407.
- Miranda C. D. & Zemelman R., 2002.** Bacterial resistance to Oxytetracycline in Chilean salmon farming. *Aquaculture*, vol. 212, pp : 31– 47.
- Mogenet L. & Fedida D., 1998.** Rational antibiotherapy in poultry farming. Edition : CEVA.
- Mohammedi Z., 2006.** Etude de pouvoir antibactérien et antioxidant des huiles essentielles et flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen, Mgister en biologie, Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, Faculté des sciences, p : 7.
- Moldão-Martins M., Bernardo-Gil M.G., Beirao-da-Costa M.L. & Rouzet M., 1999.** Seasonal variation in yield and composition of *Thymus zygis* L. subsp. *Sylvestris* essential oil. *Flav Fragr J*, vol.14, pp : 177–82.
- Moreira M. R., Ponce A., del Valle C. E. & Roura S. I., 2005.** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT- Food Science and Technology*, vol. 38(5), pp : 565-570.
- Moula N., Detiffe N., Farnir F., Antoine-Moussiaux N. & Leroy P., 2012.** Aviculture familiale au Bas-Congo, République Démocratique du Congo (RDC). *Livestock Research for Rural Development*. Vol. 24, Article # 74. Retrieved November 13, 2014, from <http://www.lrrd.org/lrrd24/5/moul24074.htm>
- Mugumaarhahama Y., Ayagirwe R. B. B., Mutwedu V. B., Sadiki J. M., Baenyi P., Mushagalusa A. C. & Bisimwa E. B., 2016.** Caractérisation des systèmes de production de poule locale dans deux zones agro-écologiques du Sud-Kivu (République Démocratique du Congo), *Livestock Research for Rural Development*, vol. 28 (1). <http://www.lrrd28/1/mugu28007.html.lrrd.org/>

## **n**

**Nassik S., El Rhaffouli H., Rahmatallah N., Lahlou Amine I. & El Houadfi M., 2011.** Résultats de la surveillance et du suivi l'antibiorésistance des bactéries isolées chez le poulet dans la région de Rabat-Salé. Proceeding colloque international de l'antibiorésistance à Meknès, Mai 2011.

**Nakamura K. et al., 1992.** Escherichia coli multiplication and lesions in the respiratory tract of chickens inoculated with infectious bronchitis virus and/or Escherichia coli. *Avian Dis*, vol. 36, pp : 881-890. Available on : <http://europemc.org/abstract/MED/1336661>

**Nerio L. S., Olivero-Verbel J. & Stashenko E., 2010.** Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, vol.101(1), pp : 372-378.

**Ndegwa J. M. & Kimani C. W., 1996.** In: Proceedings of the 5th Kenya Agricultural Research Institute (KARI) Scientific Conference, (KARI, Nairobi).

**Ngoupayou J.D., 1989.** Country report on small-holder rural poultry production in Cameroon. In: CTA Seminar Proceedings, Volume 2, Smallholder Rural Poultry Production, Thessaloniki, Greece, pp : 39-47.

**Nikaido H., 2003.** Molecular Basis of Bacterial Outer Membrane Permeability Revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, vol. 67, pp : 593-656.

**Nsajigwa A.M., 1999.** Productivité et niveau nutritionnel des poulets locaux dans les conditions d'exploitation Villageoise. *INFPD Newsletter*, vol. 9 n°. 2, avril-june 1999.

**Ntezurubanza L., 2000.** Les huiles essentielles du Rwanda. Édition : LASEVE-UQAC.

## **o**

**Ouedraogo B., 2010.** Diagnostic de l'élevage avicole dans le sahel Burkinabè. Rapport de synthèse, INERA- Ouagadougou. p : 89.

**Ouedraogo B., 2015.** Caractéristiques de l'aviculture villageoise et influence des techniques d'amélioration sur ses performances zootechniques dans la province du Sourou, région Nord-Ouest Burkinabè, *Int. J. Biol. Chem. Sci*, vol. 9, pp : 1528-1543. <http://ajol.info/index.php/ijbcs>

**Oussalah M., Caillet S., Saucier L. & Lacroix M., 2007.** Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *E. coli O157:H7*, *Salmonella Typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*. *Food Control*, vol. 18(5), pp : 414-420.

## **p**

**Patrick AD., Grimont D. & Weil FX., 2007.** Formules antigéniques des sérovars de *Salmonella*. Centre Collaborateur OMS de Référence et de Recherche sur les Salmonella ,9<sup>ème</sup> édition.

**Pavelková A., Kačániová M., Horská E., Rovná K., Hleba L. & Petrová J., 2014.** The effect of vacuum packaging, EDTA, oregano and thyme oils on the microbiological quality of chicken's breast. *Anaerobe*, vol. 29, pp : 128-33.

**Peters M.M.C.G. & Caldwell J., 1994.** Studies on trans-cinnamaldehyde. 1. The influence of dose size and sex on its disposition in the rat and mouse. *Food and Chemical Toxicology*, vol. 32(10), pp : 869-876.

**Peshkova A., 2015.** Intérêt de l'aromathérapie dans la lutte contre la résistance bactérienne aux antibiotiques : Application dans les pathologies courante à l'officine. Thèse de doctorat en Pharmacie, Université Claude Bernard, Lyon.

**Pharmacopée Européenne, 2002.** Conseil de l'Europe, 4<sup>ème</sup> édition.

**Pharmacopée européenne, 2008.** Conseil de l'Europe, 6<sup>ème</sup> édition.

**Poirier J., 1993.** Analyse de la variance et de la régression. Plans d'expérience. Techniques de l'ingénieur, Traité Mesures et contrôle, R260, pp : 1-23.

**Ponce A. G., Fritz R., Del Valle C. E. & Roura S. I., 2003.** Antimicrobial activity of essential oils on native microbial population of organic Swiss chard. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technology*, vol. 36(7), pp : 679-684.

**Pozzatti P., Loreto ES. , Lopes PG., Athayde ML., Santurio JM. & Alves SH, 2010.** Comparison of the susceptibilities of clinical isolates of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to essential oils. *Mycoses*, vol. 53(1), pp : 12-15.

**Pousga B., 2009.** Synthèse des travaux de recherche en aviculture au Burkina Faso : Rapport de recherche No 4. Réseau International pour le Développement de l'Aviculture Familiale, vol. 18(1/2), pp : 28 -35.

## R

**Raach-Moujahed A., Moujahed N. & Haddad B., 2011.** Local poultry populations in Tunisia: Present and alternatives. A review. *Livestock Research for Rural Development*, vol. 23, Article #96. Retrieved July 23, 2011, from <http://www.lrrd.org/lrrd23/4/raac23096.htm>

**Rabier F., 2007.** Modélisation par la méthode des plans d'expériences du comportement dynamique d'un module IGBT utilisé en traction ferroviaire, Thèse de doctorat Génie Mécanique, Institut National Polytechnique de Toulouse, Ecole Doctorale Matériaux –

Structure–Mécanique, N° d'ordre : 2509.

**Rahmatallah N., Nassik S., El Rhaffouli H., Lahlou A. & El Houadfi M., 2013.** Antibiorésistance d'Escherichia coli d'Origine Aviaire : situation actuelle et Evolution. 1ère journée scientifique de l'AMPA (association Marocaine de pathologie aviaire)

**Rahmatallah N., El Rhaffouli H., Nassik S., Lahlou Amine I. & El Houadfi M., 2015.** Antibiorésistance d'Escherichia coli d'origine aviaire : présence de souches multirésistantes dans la région de rabat-sale-zemour-zaer. *L'espace Vétérinaire*, vol. 5(2), pp : 6-7.

**Raju M. & Devegowda G., 2000.** *British Poultry Science*, vol. 41, pp : 640–650

**Resapath., 2010.** Données du réseau d'épidémiologie de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales en France. Available on : <https://www.resapath.anses.fr/>

**Ravindran P.N., Nirmal Babu K. & Shylaja M., 2004.** Cinnamon and Cassia, The genus Cinnamomum. Edition: CRC PRESS, New York.

**Reddy C., 1997.** Support for rural poultry. *Poultry international*, March 1997. pp38-44.

**Remmal A., Tantaoui Elaraki A., Bouchikhi T., Rhayour K. & Ettayebi M., 1993.** Improved method for the determination of antimicrobial activity of essential oils in Agar medium. *Journal of Essential Oil. Research*, vol. 5(2), pp : 179-184.

**Revue du secteur avicole 2008.** <http://www.avicultureaumaroc.com/secteur%20avicole%20FAO.pdf>

**Rhayour K., 2002.** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur Escherichia coli, Bacillus subtilis et sur Mycobacterium phlei et Mycobacterium fortuitum, Thèse du Doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, Faculté des Sciences Dhar Mehraz-Fès, Maroc.

**Richard H., 1992.** Les arômes alimentaires. Édition : Tec et Doc Lavoisier, pp : 2-3.

**Richard H., Benjlali B., Banquour N. & Baritoux O. 1985.** Étude de diverses huiles essentielles de thym du Maroc. *Lebensm-Wiss Technol*, vol. 18, pp : 105–110

**Rolland Y., 2004.** Antioxydants naturels végétaux. *OCL*, vol. 11(6), pp : 419-424.

**Rombi M., 1991.** 100 Plantes médicinales : composition, mode d'action et intérêt thérapeutique. Édition : Romart. Nice.

**Rota M.C., Herrera A., Martínez R.M., Sotomayor J.A. & Jordán M.J., 2008.** Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis* and *Thymus hyemalis* essential oils. *Food Control*, vol. 19(7), pp : 681–687.

**Roulier G., 1992.** Les huiles essentielles pour votre santé. Traité pratique d'aromathérapie : propriétés et indications thérapeutiques des essences de plantes. Édition : Dangles, Paris.

**Rui-song P., Feng Z., Bao-ping J. & Jing X., 2009.** Evaluation of Combined Antibacterial Effects of Eugenol, Cinnamaldehyde, Thymol, and Carvacrol against E. coli with an Improved Method. *Journal of Food Science*, vol. 74(7), pp : 379-383.

**Rusenova N. & Parvanov P., 2009.** Antimicrobial activities of twelve essential oils against microorganisms of veterinary importance. *Trakia Journal of Science*, vol. 7(1), pp : 37-43.

## S

**Sanders P., 2005.** L'antibiorésistance En Médecine Vétérinaire : Enjeux de Santé Publique et de Santé Animale. *Bulletin de l'Académie vétérinaire de France*, vol. 158(2), pp : 139-143.

**Sanders P., 2010.** Résistance aux antibiotiques chez les bactéries d'origine animale : actions en cours dans le secteur vétérinaire. *MEDECINE/SCIENCES*, vol. 26, pp : 930-935.

**Sandrine K., 2004.** Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt, faculté de des Sciences et Techniques, Thèse N° 39.

**Sathe B.S., 1996.** Planning and implementation of poultry projects in developing countries. XX World's Poultry Congress New Delhi, sep, pp : 23-30.

**Satrani B., Farah A. & Fechtal M., 2001.** Composition chimique et activité antimicrobienne des huiles essentielles de Saturja calamintha et Saturja alpina du Maroc. *Annales des falsifications et de l'expertise chimique et toxicologique*, vol. 94 (956), pp : 241-250.

**Scaria J., Palaniappan R., Chiu D., Ann Phan J., Ponnala L., McDonough P., Grohon Y., Porwollik S., McClelland M., Chiou C., Chu C. & Chang YF., 2008.** Microarray for 43 molecular typing of Salmonella enterica serovars, *Molecular and Cellular Probes*, vol. 22(4), pp : 238-243.

**Schwartz R., Davis R. & Hilton T.J., 1992.** Effect of temporary cements on the bond strength of resin cement. *American Journal of Dentistry*, vol. 5(3), pp : 147-150.

**Scott G., 2009.** Antibiotic resistance. *Medicine*, vol. 37(10), pp : 551-556.

**Sharma R.K., 2007.** Rôle et pertinence de l'aviculture familiale rurale dans les pays en voie de développement. *Aviculture Familiale*, vol. 17 (1&2), pp : 35-41

**Sell C.S., 2006.** The Chemistry of Fragrance. From performer to Consumer. 2nd Edition. The Royal Society of Chemistry. Cambridge. 2006, p : 329.

**Singh R., Shushni M. A. M. & Belkheir A., 2011.** Antibacterial and antioxidant activities of Mentha piperita L. *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 8(3), pp : 322-328.

**Smallfield B., 2001.** Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research*, vol. 45, p: 4.

**Soković M., Marin P.D., rkić D. & Van Griensven L., 2007.** Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of ten aromatic plants against human pathogenic bacteria. *Food*, vol. 1(1), pp : 1-7.

**Sonaiya E.B. & Swan S.E.J., 2004.** Production en aviculture familiale. Manuel FAO de Production et Santé Animales. Un Manuel Technique. Ed. FAO : Rome.

**Sonaiya E.B., 1990.** Rural poultry in Africa. Proceedings of an international workshop, Awolwo University, Ile-Ife, Nigeria.

**Sonaiya E.B., Branckaert R.D.S. & Guèye E.F., 1999.** Research and Development options for family poultry. First INFPD/FAO Electronic Conference on Family Poultry, the Scope and Effect of family Poultry Research and development.

**Spink WW., 1962.** Endotoxin shock. *Annales of Internal Medecine*, vol. 57(4), pp : 538-552.

**Sraïri M. T., 2011.** Le développement de l'élevage au Maroc : succès relatifs et dépendance alimentaire. Courrier de l'environnement de l'INRA n° 60, mai 2011.

**Stoltz R., 2008.** Les résidus d'antibiotiques dans les denrées d'origine animale : Evaluation et maîtrise de ce danger. Thèse de doctorat vétérinaire. Université Claude Bernard, Lyon, p : 18.

**Stordeur P. & Mainil J., 2002.** La colibacillose aviaire, *Ann. Méd. Vét*, vol. 146, pp : 11-18. Available on : [http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2002\\_146\\_1\\_02.pdf](http://www.facmv.ulg.ac.be/amv/articles/2002_146_1_02.pdf)

**Sugisawa H., 1981.** Sample preparation : Isolation and Concentration. Flavor Research recent Advances, éd. par R. Teranishi, R.A Flath, H. Sugisawa New York : Marcel Dekker inc., 1981, pp : 11-15.

**Szalo M., Taminiou B. & Mainil J., 2006.** Le Lipopolysaccharide d'*Escherichia Coli* : Structure, Biosynthèse et Réelles". *Annales de Médecine Vétérinaire*, vol. 150 (2), pp : 108-124.

## 7

**Tajkarimi M.M., Ibrahim S.A. & Cliver D.O., 2010.** Antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Control*, vol. 21(9), pp : 1199-1218

**Tao L., Huang J. & Mai H., 2004.** A comparison of the constituents of essential oils from *Cinnamomum cassia* extracted by supercritical fluid extraction and steam distillation. *The Journal of Analysis*, vol. 23(4), pp: 65–67.

**Téleu Ngandeu E. & Ngatchou A., 2006.** Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Projet OSRO/GLO/MUL, 1.

**Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M. & Polissiou M., 2005.** Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). *Food Chemistry*, vol. 90(3), pp : 333-340.

**Thiennel M., 1989.** Le rôle des femmes dans le petit élevage et leurs travaux ménagers. Etude de base de Projet Oued Srou, MARA-GTZ, Appendice N° 7, p : 71.

**Tinsson W., 2010.** 'Plans d'Expérience : Constructions et Analyses Statistiques, Mathématiques et Applications'. Edition : Springer, ISBN : 978-3-642-11471- 7, 2010.

**Tmiri N., 2000.** Contraintes zootechniques et sanitaires de développement de poulet villageois. Thèse de Doctorat Vétérinaire, I.A.V. Hassan II, Rabat, Maroc.

**Toroglu S., 2011.** In-vitro antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. *Journal of Environmental Biology*, vol. 32 (1), pp : 23-29.

**Toutain P., 2012.** Des vieux antibiotiques ou des antibiotiques innovants pour la médecine vétérinaire. *Bulletin des GTV*, vol. 64, pp : 38-42.

**Trouillas P., Calliste C.A., Allais D.P., Simon A., Marfak A., delage C. & Duroux J.L., 2003.** Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of 16 plant extracts used in the Limousin countryside as herbal tea. *Food and chemistry*, vol. 3, pp : 399-407.

u

**Ultee A., Bennik MHJ. & Moezelaar R., 2002.** The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. *Applied Environmental Microbiology*, vol. 68(4), pp: 1561-1568.

**Unlu M., Ergene E., Unlu G., Zeytinoglu H. & Vural N., 2010.** Composition, antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity of essential oil from *Cinnamomum zeylanicum* blume (Lauraceae). *Food Chemistry & Toxicology*, vol. 48(11), pp : 3274-3280.

v

**Valnet J., 1974.** Phytothérapie et aromathérapie : nouvelles observations. *Plantes médicinales et phytothérapie*, vol. 8, pp : 229-236.

**Van D.B. & Lemli.,1980.** Chemical Investigation of the Essential Oil of *Origanum compactum*, *Planta Medica*, vol. 38(3), pp : 264-266.

**Vargas I., Sanz I. & Prima-Yufero E., 1999.** Antimicrobial and Antioxidant compounds in the nonvolatile fraction of expressed range essential oil. *Journal of Food protection*, vol. 62(8), pp : 929-932.

**Varma J.K., Greene K.D, Ovitt J, Barrett T.J, Medalla F &, Angulo F.J., 2005.** Hospitalization and antimicrobial resistance in *Salmonella* outbreaks, 1984-2002. *Emerging infectious diseases*, vol.11, pp : 943-946.

W

**Wan J., Wilcock A. & Coventry M. J., 1998.** The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Applied Microbiology*, vol. 84(2), pp : 152-158.

**Wang L., Wang Z.M., Li T.C., Zhou X., Ding L. & Zhang H.Q., 2008.** Rapid extraction and analysis of essential oil from *Cinnamomum cassia*. *Chemical Journal of Chinese universities*, vol. 24(3), pp : 275-280.

**Weber B (2009).** Capacité antioxydante totale, antioxydants et marqueurs du stress oxydatif. Laboratoire de Junglinster, Luxembourg, p : 3.

**Wiegand I., Hilpert K. & Hancock R.E.W., 2008.** Agar and broth microdilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nature Protocols*, vol. 3, pp : 163-175.

Y

**Yongfei H., Yang X., Jing L., N.L., Fei L., Jun W., Ivan Y. C.L., Na W., Bart C.W., George F.G., Yulan L. & Baoli Z., 2016.** The Bacterial Mobile Resistome Transfer Network Connecting the Animal and Human Microbiomes. *Appl Environ Microbiol*, Vol.82(22), pp : 6672–6681.

Z

**Zhiri A. & Baudoux D., 2005.** Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies. Édition Inspir Development. Luxembourg, p :8

**Ziani Z., 1992.** Contribution à l'étude de l'antibiorésistance d'*Escherichia coli* d'origine aviaire au Maroc. Thèse de Doctorat vétérinaire, IAV Hassan II, Rabat, Maroc.

## Webographie

**AFFSA, 2006.** Usages vétérinaires des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine.

<https://www.actu-environnement.com/media/pdf/news-28769-usage-veterinaire-antibio.pdf>.

(Consulté le 05 Mai 2017)

**ANTIBIOVET** ;<http://www.antibiovet.fr/index.html>. (Consulté le 05 Mai 2017).

**ANSES, 2016.** Evaluation des demandes d'autorisation de mise sur le marché de médicaments vétérinaires à base de plantes.

<https://www.anses.fr/fr/system/files/MV2014SA0081Ra.pdf>.

**CASFM, 2015.** Comité de l'antibiogramme de la Société française de Microbiologie.

Recommandations 2015.

[http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM\\_EUCAST\\_V1\\_2015.pdf](http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM_EUCAST_V1_2015.pdf).

(Consulté le 14 Mai 2017).

**Euzeby J.P., 2004.** Dictionnaire de bactériologie vétérinaire.

<http://www.bacterio.cict.fr/bacdico/bacteriogene/lipopolysaccharide.html>. (Consulté le 14

Mai 2017)

**Fellah trade**,manuel des bonnes pratiques de collecte de l'origan « *Origanum compactum* »

URL : [http://www.fellah-trade.com/ressources/pdf/MBPC\\_Origan\\_Francais.pdf](http://www.fellah-trade.com/ressources/pdf/MBPC_Origan_Francais.pdf). (Consulté

le 20 Mai 2017

**Lucas F.,2017.**L'eau vecteur de médication:Solubilité des spécialités, impact de la qualité de l'eau.CEVA santé animale.

URL : [https://efi-sciences eau.zoopole.com/pdf/PM01\\_FLU\\_solubilité%20spécialités.pdf](https://efi-sciences eau.zoopole.com/pdf/PM01_FLU_solubilité%20spécialités.pdf).

(Consulté le 22 Mai 2017).

**Le Point vétérinaire.**

[https://www.lepointveterinaire.fr/upload/media/fiches\\_pense\\_bete/Poulet\\_de\\_chair.pdf](https://www.lepointveterinaire.fr/upload/media/fiches_pense_bete/Poulet_de_chair.pdf).

(Consulté le 12 juillet 2017).

# **Annexes**

# Annexe 1

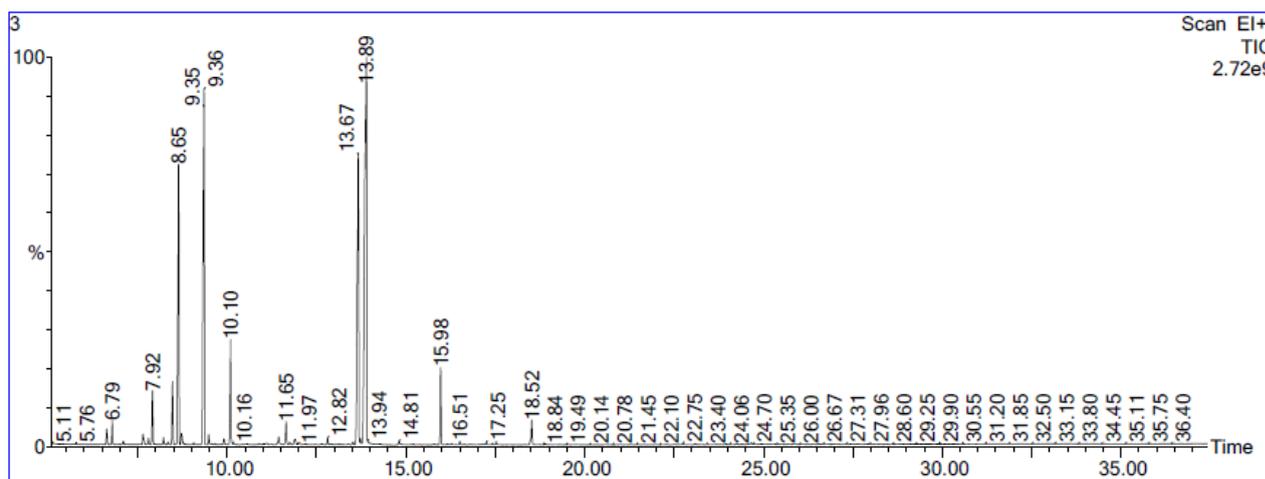
## Qualitative Report

File: C:\TurboMass\INRA.PRO\Data\Origan.raw  
 Acquired: 06-Mai-18 03:44:29 PM  
 Description:  
 GC/MS Method: GC: huiles\_essentielles.mth MS: huiles\_essentielles.EXP  
 Sample ID: Origan

Printed: 06-Mai-18 05:55 PM

Page 1 of 1

Vial Number: 4



#	RT	Scan	Height	Area	Area %	Norm %
1	6.792	406	169,262,752	4,361,061.5	0.848	2.41
2	7.922	677	374,045,536	10,041,096.0	1.953	5.55
3	8.476	810	440,811,456	11,656,395.0	2.267	6.44
4	8.647	851	1,955,246,848	70,289,560.0	13.669	38.86
5	9.360	1022	2,460,918,272	103,304,488.0	20.089	57.11
6	10.102	1200	733,443,648	21,318,942.0	4.146	11.79
7	13.675	2057	1,995,922,816	90,263,552.0	17.553	49.90
8	13.896	2110	2,699,234,304	180,873,376.0	35.173	100.00
9	15.976	2609	540,084,864	16,000,228.0	3.111	8.85
10	18.519	3219	173,693,728	6,133,234.0	1.193	3.39

### Inst() ACQUISITION PARAMETERS

Oven: Initial temp 50°C for 2 min, ramp 8.1°C/min to 280°C, hold 7 min, InjAuto=300°C, Volume=0 µL, Split=20:1, Carrier

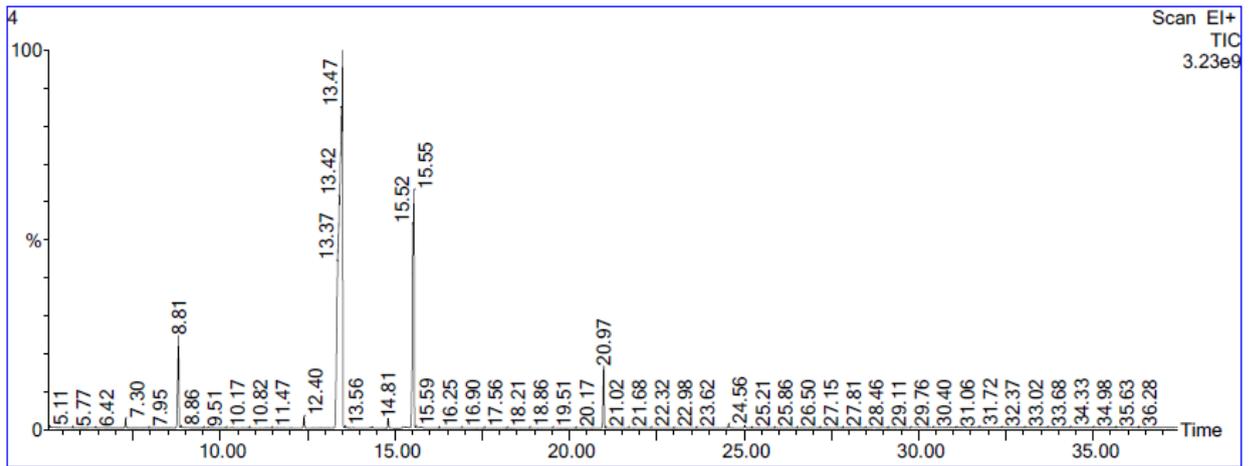
Gas=He, Solvent Delay=5.00 min, Transfer Temp=290°C, Source Temp=250°C, Scan: 10 to 600Da, Column 30.0m x 250µm

# Annexe 2

## Qualitative Report

File : C:\TurboMass\INRA.PRO\Data\cannelle.raw  
 Acquired: 06-Mai-18 04:35:06 PM  
 Description :  
 GC/MS Method : GC : huiles\_essentielles.mth MS : huiles\_essentielles.EXP  
 Sample ID : cannelle

Printed : 08-Mai-18 05:55 PM  
 Page 1 of 1  
 Vial Number : 5



#	RT	Scan	Height	Area	Area %	Norm %
1	8.814	891	789,361,920	31,182,420.0	6.137	8.88
2	13.508	2017	3,182,378,752	351,304,352.0	69.146	100.00
3	15.550	2507	2,024,356,864	107,649,040.0	21.188	30.64
4	20.974	3808	531,066,560	17,929,078.0	3.529	5.10

### Inst() ACQUISITION PARAMETERS

Oven: Initial temp 50°C for 2 min, ramp 8.1°C/min to 280°C, hold 7 min, InjAauto=300°C, Volume=0 µL,  
 Split=20:1, Carrier  
 Gas=He, Solvent Delay=5.00 min, Transfer Temp=290°C, Source Temp=250°C, Scan: 10 to 600Da, Column 30.0m x  
 250µm

## Annexe 3

### Qualitative Report

File: C:\TurboMass\INRA.PRO\Data\2.raw

Acquired: 06-Dec-17 02:53:37 PM

Printed: 07-Dec-17 01:55 PM

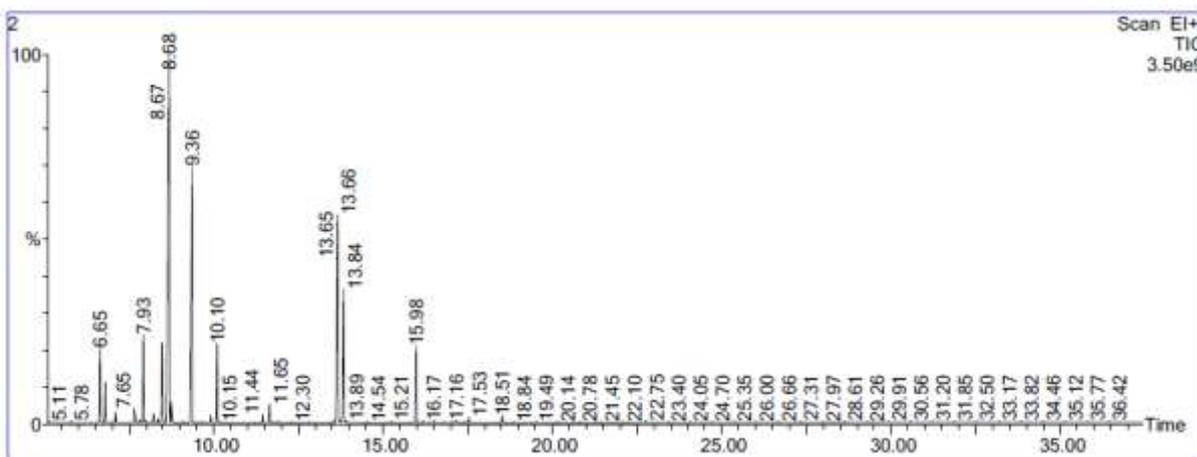
Description:

GC/MS Method: GC: huiles\_essentielles.mth MS: huiles\_essentielles.EXP

Page 1 of 1

Sample ID: Thym

Vial Number: 3



#	RT	Scan	Height	Area	Area %	Norm %
1	6.646	371	717,692,544	19,988,300.0	3.873	11.52
2	6.796	407	385,275,680	9,900,252.0	1.918	5.71
3	7.926	678	841,601,216	22,724,928.0	4.403	13.10
4	8.480	811	760,379,840	25,303,808.0	4.903	14.59
5	8.684	860	3,451,939,072	173,491,040.0	33.615	100.00
6	9.360	1022	2,403,113,216	100,390,008.0	19.451	57.86
7	10.102	1200	753,494,848	21,908,458.0	4.245	12.63
8	13.658	2053	1,943,348,608	77,349,480.0	14.987	44.58
9	13.841	2097	1,249,299,072	42,676,316.0	8.269	24.60
10	15.976	2609	735,384,896	22,381,778.0	4.337	12.90

#### Inst() ACQUISITION PARAMETERS

Oven: Initial temp 50°C for 2 min, ramp 8.1°C/min to 280°C, hold 7 min, InjAuto=300°C, Volume=0 µL, Split=20:1, Carrier Gas=He, Solvent Delay=5.00 min, Transfer Temp=290°C, Source Temp=250°C, Scan: 10 to 600Da, Column 30.0m x 250µm

## Annexe 4

### ❖ Résultats de l'enquête



Photo 1 : Elevage au sol



Photo 2 : Exemples de bâtiment pour volailles



Photo 3 : Le Rouge (gauche)

Hjarlouad (milieu)

Nouarloul (droite)



Photo 4 : Poule avec sa couvée recevant une ration à base de son (gauche) et récipient utilisé comme abreuvoir (droite)

❖ Résultats de l'Antibiogramme



Photo 5 : Antibiogramme des souches de *Salmonelle* et d'*E. coli*

❖ Résultats de l'aromatogramme des deux huiles essentielles de l'origan et de la cannelle sur *E. coli* et *Salmonelle*

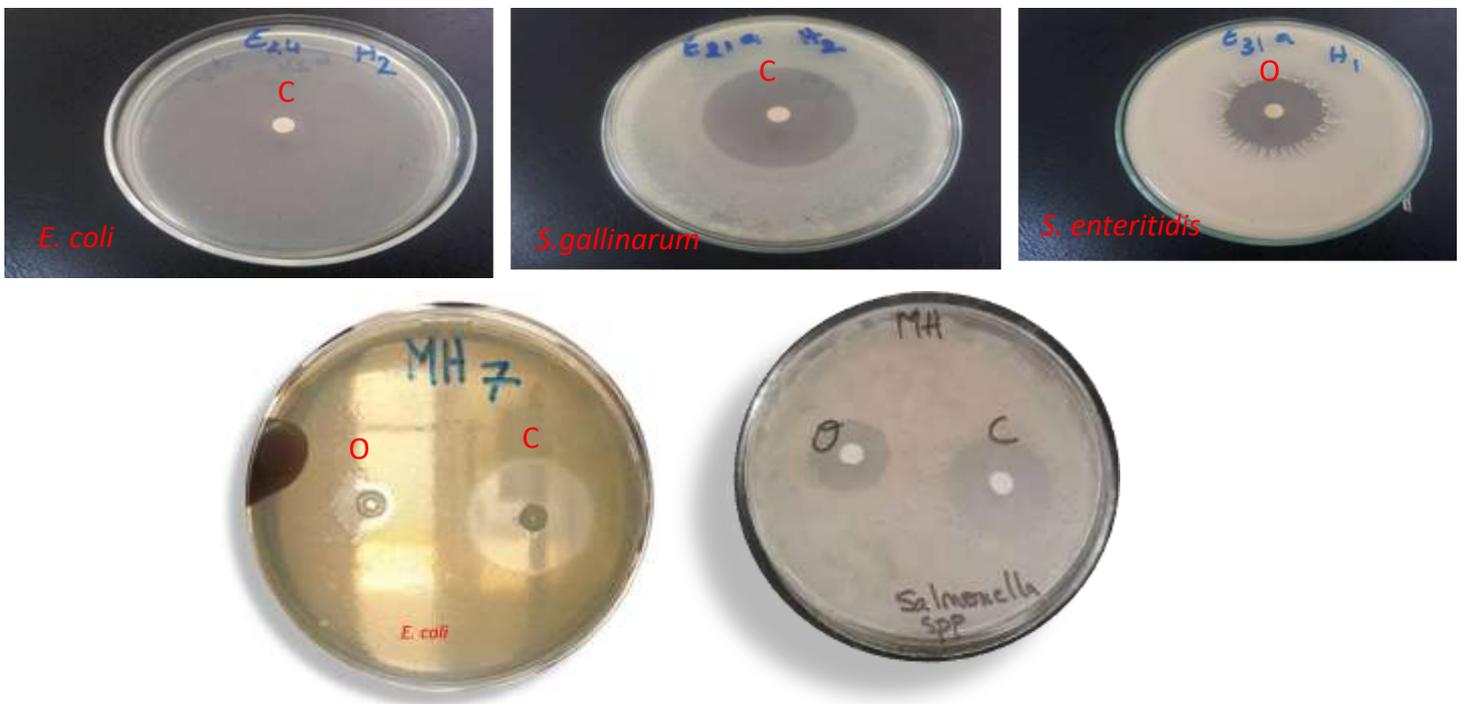


Photo 6 : Aromatogramme des souches de *Salmonelle* et d'*E. coli*

❖ Résultats du criblage et optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles de l'origan et de la cannelle

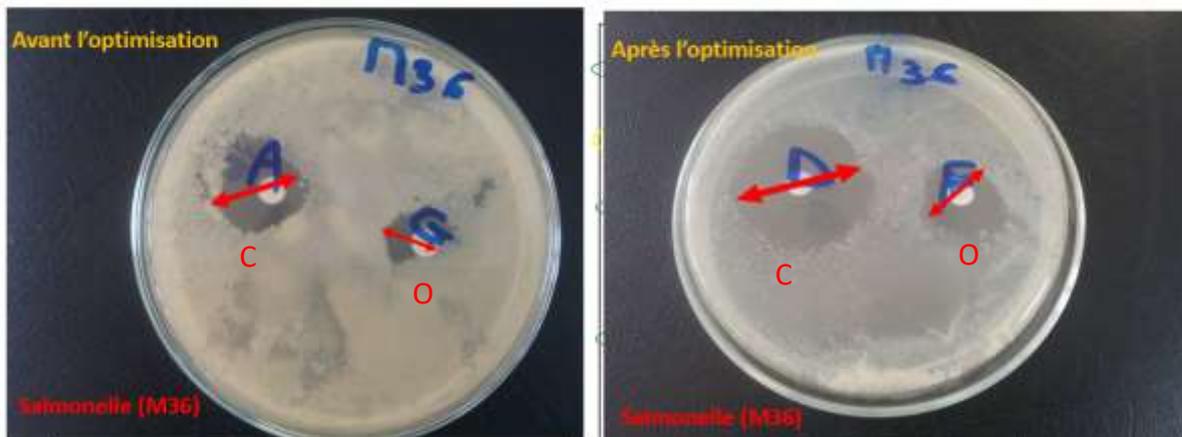


Photo 7 : Criblage et optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles de l'origan et de la cannelle la souche de *Salmonelle*

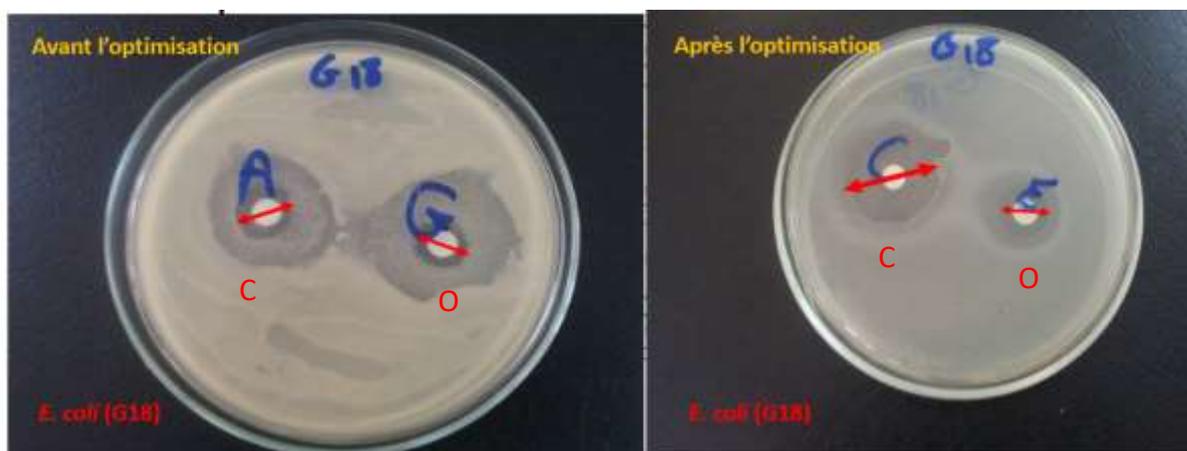


Photo 8 : Criblage et optimisation des facteurs influençant l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles de l'origan et de la cannelle la souche d'*E. coli*