RÉSUMÉ

de la thèse de doctorat intitulée :

IDENTIFICATION DES PRINCIPES PHYTOTHÉRAPEUTIQUES COMME ALTERNATIVE À L'ANTIBIOTHÉRAPIE EN PATHOLOGIE BOVINE

Doctorant : CĂȘARU (MICH) Cristina
Coordinateur scientifique: Prof. Univ. DANEȘ Doina

MOTS-CLÉS : phytothérapie, mammite, bovins, huiles essentielles, résistance aux antibiotiques

La résistance des micro-organismes aux antibiotiques étant devenue un véritable problème, le monde médical est contraint de trouver des solutions alternatives pour réduire l'ampleur de ce phénomène. Une autre raison de la nécessité de trouver des alternatives aux antibiotiques et antiparasitaires traditionnels est l'agriculture biologique, un phénomène qui a pris de l'ampleur ces derniers temps.

Pour atteindre les objectifs de ce travail, les éléments suivants ont été pris en compte :

Objectif 1: étudier la prévalence de la mammite dans une exploitation bovine et l'impact économique de ces maladies sur une période de 8 mois.

Objectif 2: identifier les plantes médicinales les plus fréquemment utilisées par les éleveurs de bétail du sud-est de la Roumanie dans le traitement de différentes maladies bovines.

Objectif 3: Évaluer l'efficacité, à la fois *in vitro* et *in vivo*, de certaines préparations phytothérapeutiques contre certains agents bactériens incriminés dans l'étiologie de la mammite chez les vaches laitières.

La thèse de doctorat est structurée selon les règles en deux sections : étude bibliographique et recherche personnelle. La première partie de la thèse traite des questions de phytothérapie, des maladies courantes rencontrées dans les exploitations laitières et de leur impact économique au niveau de l'exploitation, de la résistance aux antibiotiques et des approches non conventionnelles qui peuvent être utilisées comme alternative à l'antibiothérapie, en particulier pour la mammite.

La deuxième partie de la thèse comprend les résultats des recherches personnelles. Il s'agit d'enquêtes menées dans une exploitation bovine pour déterminer l'impact économique direct de la mammite clinique, d'enquêtes sur le terrain pour identifier les plantes utilisées dans la médecine traditionnelle pour traiter les affections du bétail, suivies d'études *in vitro* et *in vivo* pour déterminer l'efficacité des huiles essentielles de thym (*Thymus serpyllum*), de clou de girofle (*Eugenia caryophyllus*), de menthe poivrée (*Mentha piperita*) et de cannelle (*Cinamum verum*) dans le traitement de la mammite.

Une recherche visant à déterminer la prévalence de la mammite clinique chez les vaches laitières et son impact économique a été menée sur une période de 8 mois dans une ferme du sud-est de la Roumanie, avec un troupeau de 520 têtes de vaches laitières, de race Holstein-Friesian, au cours de la période 2015-2016. Dans 100% des cas, une thérapie antibiotique a été utilisée pour traiter la mammite, les antimicrobiens les plus couramment utilisés étant : la céphalexine, l'enrofloxacin, l'oxytétracycline et la marbofloxacin. L'analyse des coûts dans l'exploitation étudiée, pour les 8 mois, s'élève à 47 €/tête de vache nourrie, le coût étant exclusivement dû au coût de la thérapie médicamenteuse et aux pertes de lait pendant la période de traitement. Si l'on additionne les pertes indirectes, les coûts dépassent de loin les rapports de la littérature.

Afin d'identifier les herbes médicinales que les agriculteurs de la région des Basses-Carpates utilisent pour soigner les animaux, des recherches ont été menées dans 25 villages de 8 communes (Bisoca, Gura Teghii, Mânzălești, Lopătari, Bătrâni, Posești, Jitia et Vintileasca) dans les départements de Buzău, Prahova et Vrancea. 237 entretiens ont été enregistrés et les affections suivantes ont été mentionnées dans les questions: maladies respiratoires, ectoparasites, endoparasites, météorisme aigu, mastite, plaies mammaires superficielles, papillomatose mammaire, pododermatite et diarrhée. Le plus souvent, les informations factuelles ont été obtenues auprès de personnes âgées de plus de 60 ans (la plupart étant des éleveurs

pratiquant ou ayant pratiqué une agriculture de subsistance). Pour les personnes de moins de 40 ans, la présence d'un vétérinaire est nécessaire pour la plupart des maladies animales, la diarrhée étant la seule affection parfois traitée par phytothérapie.

Des informations ont été obtenues sur 135 remèdes d'origine végétale, minérale ou animale, utilisés dans le traitement de 15 maladies des ruminants, et 56 plantes de 34 familles utilisées dans la médecine vétérinaire traditionnelle locale ont été identifiées. Ces remèdes sont souvent combinés entre eux, de l'alcool traditionnel (brandy), de l'huile de tournesol ou du vinaigre sont ajoutés et diverses recettes empiriques sont développées.

Les plantes les plus fréquentes dans la zone étudiée sont les suivantes l'acacia (*Robinia pseudoacacia*) utilisé pour traiter la diarrhée, l'indigestion ou pour son effet anthelminthique, avec 115 mentions (48%), suivi de l'absinthe (*Artemisia absinthium*) avec 114 mentions, utilisée dans la plupart des affections étudiées (diarrhée, indigestion, plaies cutanées et affections du pied, comme antiparasitaire interne et externe) et de l'églantier (*Sempervivum tectorium*) mentionné 102 fois, utilisé pour traiter les mastites et les tympanites. Treize plantes ont été identifiées pour le traitement de la mammite, dont quatre ont été trouvées dans toutes les zones étudiées. La momie des forêts ou épilobe noir (*Lathraea squamaria*) est la plante la plus appréciée et la plus vantée par les petits paysans, à laquelle on attribue des pouvoirs miraculeux. Ils se rendaient dans les montagnes au printemps pour la récolter, et elle était utilisée exclusivement pour traiter les oreillons. Prendre 2 à 3 rhizomes crus ou séchés pendant 3 à 4 jours. Il n'y a pas de données dans la littérature confirmant l'efficacité de la plante, mais on ne peut pas douter de son activité, même s'il n'y a pas de support scientifique. *Hylotelephium spectabile* et *Hylotelephium telephium* sont deux autres plantes identifiées que les gens utilisent fréquemment pour traiter la mastite.

La recherche sur l'efficacité *in vitro* des huiles essentielles sur la flore bactérienne impliquée dans la mammite chez les bovins a comporté plusieurs étapes. Dans un premier temps, les souches bactériennes ont été isolées, identifiées et conservées à partir de 16 échantillons de lait provenant de vaches laitières atteintes de mastite clinique, sur la base de caractères culturels, morphologiques et biochimiques, à l'aide des galeries Api 20 NE, Api 20 E, Api 20 Strep et ID 32 Staph. Dix souches bactériennes (*Escherichia coli* 2 souches, *Lactococcus lactis ssp. cremoris*, *Listeria spp*, *Pasteurella multocida*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus spp*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus epidermitis*, *Staphylococcus aureus*) ont été sélectionnées pour lesquelles des antibiogrammes ont été réalisés par la méthode diffusimétrique. Les résultats reflètent la tendance à la hausse de la résistance aux antibiotiques, 90 % des souches présentant une résistance multiple aux antibiotiques testés, 60 % étant résistantes à au moins 5 antibiotiques et 30 % à 7 antibiotiques ou plus. Pour les mêmes souches, des aromatochromogrammes ont également été réalisés pour les huiles essentielles de *Cinnamomum zeylanicum*, *Mentha piperita* Franco-Mitcham, *Syzygium aromaticum*, *Thymus serpyllum*, pures, à différentes concentrations ou en mélange. L'efficacité antibactérienne des huiles porteuses de noix de coco et de pépins de raisin a été testée et n'a pas montré d'activité antibactérienne contre les souches étudiées. L'huile essentielle de menthe poivrée a été la seule huile pour laquelle une résistance a été enregistrée pour trois souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus epidermitis*). Les 10 isolats bactériens testés se sont révélés sensibles à l'action de l'huile essentielle de cannelle jusqu'à une dilution de 1/10, qui a eu l'effet antibactérien le plus fort des huiles testées. L'huile de clou de girofle a montré une efficacité antibactérienne jusqu'à une dilution de 1/10 pour *P. multocida*, jusqu'à une dilution de 1/4 pour une souche de *E. coli*, *Lactococcus lactis*, *S. xylosus*, *S. spp.* et *S. intermedius* et jusqu'à une dilution de 1/2 pour la deuxième souche de *E. coli*, *Listeria spp.*, *S. epidermidis* et *S. aureus*. L'huile de thym a été efficace jusqu'à une dilution de 1/10 pour *Lactococcus lactis* et *Pasteurella multocida*, jusqu'à une dilution de 1/4 pour les deux souches de *E. coli*, *Listeria spp*, *Staphylococcus spp*, *Staphylococcus intermedius* et pour *Staphylococcus aureus*, restant efficace jusqu'à une dilution de 1/2 pour *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus epidermidis*. Le mélange à parts égales des quatre huiles essentielles entières a montré un effet antibactérien sur les 10 souches bactériennes testées.

L'étape suivante de la recherche a consisté à développer un produit pharmaceutique à base d'huiles essentielles de thym, de clou de girofle, de cannelle et de menthe poivrée utilisées à parts égales à une concentration de 0,5 %, l'huile de noix de coco et l'huile de pépins de raisin ayant été utilisées comme huiles porteuses. Après avoir testé les caractéristiques physiques et microbiologiques de ce produit, des tests dermatologiques ont été effectués sur la surface cutanée de la glande mammaire de deux vaches laitières. L'application topique du produit n'a pas entraîné de changements dans l'état général de l'animal ni de changements locaux au site d'administration.

Après cette étape, des tests *in vivo* ont été effectués. Soixante-quatre vaches en lactation provenant de fermes traditionnelles de la commune de Bisoca, comté de Buzău, ont été identifiées pour lesquelles la mammite subclinique a été déterminée à l'aide du California Mastitis Test (CMT). 26 animaux positifs ont été identifiés et confirmés ultérieurement en laboratoire par la détermination du nombre de cellules somatiques à l'aide du Soma Count 150. Selon la réglementation européenne fixant des règles spécifiques d'hygiène pour les denrées alimentaires d'origine animale, le nombre de cellules somatiques par millilitre de lait ne doit pas dépasser 400 000 cellules et le nombre total de germes mesuré à 30°C doit être inférieur à 100 000. Le nombre élevé de cellules somatiques dans le lait est un indicateur majeur de mammite chronique ou subclinique. Les animaux ayant un score CMT de 3 ont été exclus du test (3 individus), un protocole de traitement classique a été recommandé, les autres animaux ont été mis en lot, ainsi le groupe de contrôle était composé de 9 animaux et les 14 autres animaux constituaient le groupe de travail. Deux exploitations ont été identifiées où tous les résultats CMT étaient négatifs, ce qui peut également être associé à une très bonne hygiène de l'abri, les animaux étaient des demi-sang de Maramures Brown, la production laitière des animaux était de 13-14l/animal/jour, et l'alimentation était complétée par du foin de luzerne et des concentrés. En revanche, 6 exploitations ont été identifiées où l'incidence d'une éventuelle mammite subclinique était supérieure ou égale à 50 %. Sur l'ensemble des animaux testés, 40,62 % se sont révélés positifs au CMT. Chez ces bovins, le produit fabriqué a été administré en massant délicatement toute la surface de la glande mammaire, y compris les mamelons, deux fois par jour pendant 5 jours.

La numération des cellules somatiques (CCS) et la numération totale des germes (NTG) ont été déterminées respectivement le 5e, le 14e et le 21e jour après le début du traitement pour les quartiers du sein dans lesquels la valeur de la CCS dépassait 200 000 cellules/ml au départ. Le 14e jour, on a constaté une réduction du NTG de 52,38 % par rapport à la valeur de référence dans le groupe traité, alors qu'aucun changement significatif de ce paramètre n'a été observé dans le groupe témoin. Par rapport au groupe témoin, toutes les valeurs CCS ont montré une diminution pour le groupe auquel le produit testé a été appliqué.

Même si les résultats sont satisfaisants et que le produit peut être utilisé dans le traitement de la mammite subclinique, d'autres études sur la rétention des huiles essentielles dans les tissus et le lait sont nécessaires afin de ne pas altérer la qualité et le goût du lait et de ne pas nuire au processus de fabrication des produits laitiers et de leurs dérivés.