

Où en est la recherche scientifique sur l'utilisation des huiles essentielles chez les animaux d'élevage ?



Laurence Guilloteau, BOA, INRA Nouzilly

Céline Hilpipre, coordinatrice DU Aromathérapie Vétérinaire Strasbourg

Anne Poutaraud, LAE, INRA Colmar



Pourquoi utiliser les HE en élevage?

- En complément ou en alternative aux anti-microbiens
- Optimiser les performances zootechniques
 - surtout chez les monogastriques (volaille, porc)
- Utiliser la polyvalence des HE (ANTI)
 - anti-infectieuse (bactéries, virus, parasites)
 - mais pas que : anti-inflammatoire, antalgique, etc...
- Autre approche : prévention des problèmes de santé (PRO)
 - gestion du stress, stress oxydant cellulaire, système digestif, immunité, état général
 - interaction avec le microbiote

Des usages basés sur quelles études?

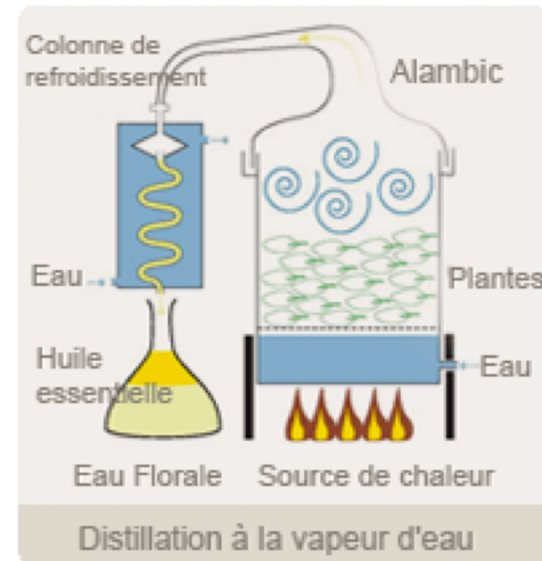
- Comment les HE sont-elles étudiées au laboratoire?
- Quelles pistes creuser?
- De nouvelles approches expérimentales?

Une Huile essentielle (HE), c'est quoi?



- Fraction odorante volatile extraite des végétaux (plantes aromatiques)
- Concentré de composés organiques volatils (COVs)
- Métabolites secondaires : adaptation de la plante à son environnement
- Associés aux fonctions de défenses : agressions physiques (soleil) et biologiques (stress abiotique et biotique)
- Fonctions de communication et d'information entre les plantes

- Extraction par distillation à la vapeur
- Différentes parties de la plante :
racine, bois, feuille, fleur, semence
- Les COVs se condensent en 2 phases
Phase insoluble = HE
Phase soluble = hydrolat ou eau florale
- ≠ Essence des agrumes :
Zestes de citron, orange, etc...
Extraction par pression à froid

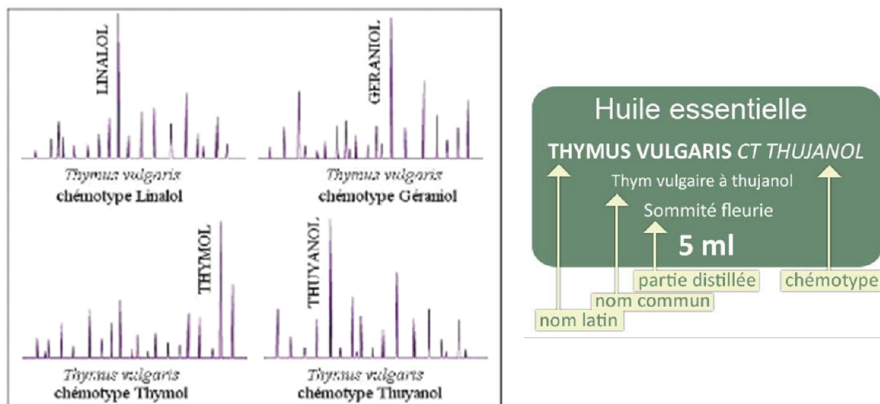


Une Huile essentielle (HE), c'est quoi?



- Composition complexe de nombreuses molécules
- Composition biochimique dépendante de la plante, de son vécu, de son environnement, de la qualité de l'extraction = un totum
- Important de connaître la composition des HE = garantie de qualité
- Chémotype : profil botanique et chimique (analyse par chromatographie en phase gazeuse et spectrométrie de masse)
ex: thym à thymol, thym à carvacrol ou thym à thujanol en fonction de l'écosystème → fonctions différentes

Nécessité de contrôles rigoureux et d'un étiquetage précis !



Une Huile essentielle (HE), c'est quoi?



Composition moléculaire : différentes familles associées à des propriétés

Deux grandes catégories :

Terpènes

Phenylpropanoïdes

Monoterpènes

Sesquiterpènes

Monoterpénols

Sesquiterpénols

Phénols

Cétones

Aldéhydes terpéniques

Aldéhydes aromatiques

Ethers

Oxydes

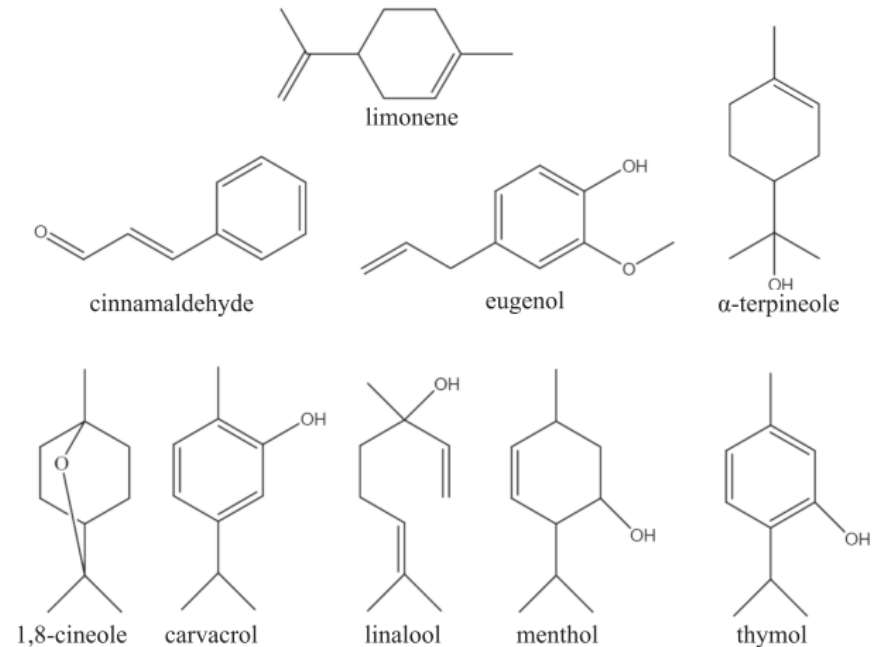


Figure 1. Chemical structure of some major components of essential oils

Adaszynska-Skwirzynska & Szczerbinska, 2017

Activités « ANTI » des HE

○ ANTI-infectieuse

- bactéries
- virus
- fungus
- parasite

Plusieurs revues (effets surtout in vitro)

Bakkali et al, 2008. Biological effects of essentials oils – A review

Brenes & Roura, 2010. Essential oils in poultry nutrition: main effects and modes of action

*Franz et al, 2010. Essential oils and aromatic plants in animal feeding
- a European perspective. A review*

Adaszynska-Skwirzynska, 2017. Use of essential oils in broiler chicken production– A review

Omonijo et al, 2017. Essential oils as alternatives to antibiotics in swine production

Activité anti-bactérienne des HE

- Effets variables sur les bactéries Gram + et Gram -

Figure 1. Schematic of the envelopes of Gram-positive (on the right) and Gram-negative bacteria (on the left).

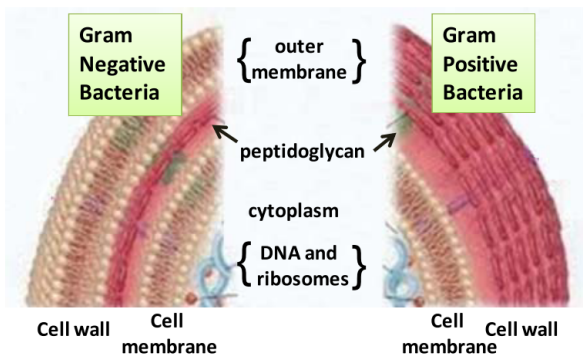
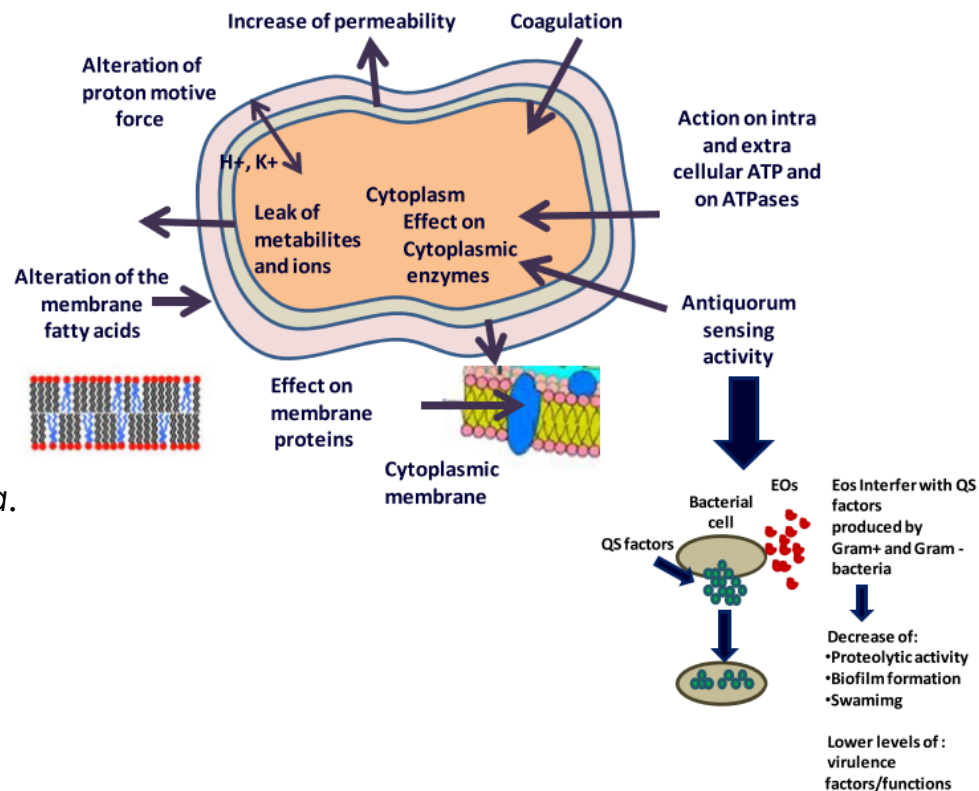


Figure 2. Mechanism of action and target sites of the essential oils on microbial cells.



Nazzaro et al. 2013.

Effect of Essential Oils on Pathogenic Bacteria.

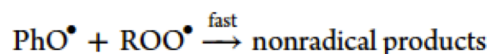
Activités « ANTI » des HE

○ ANTI- oxydante

Capacité à réduire ou retarder
L'oxydation de matériel oxydable
(lipides, protéines, carbohydrates)

Réaction avec les espèces réactives à l'oxygène

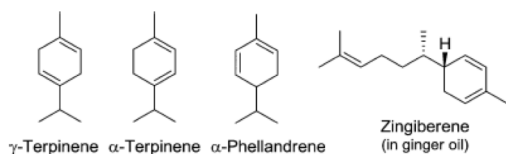
Les phénols



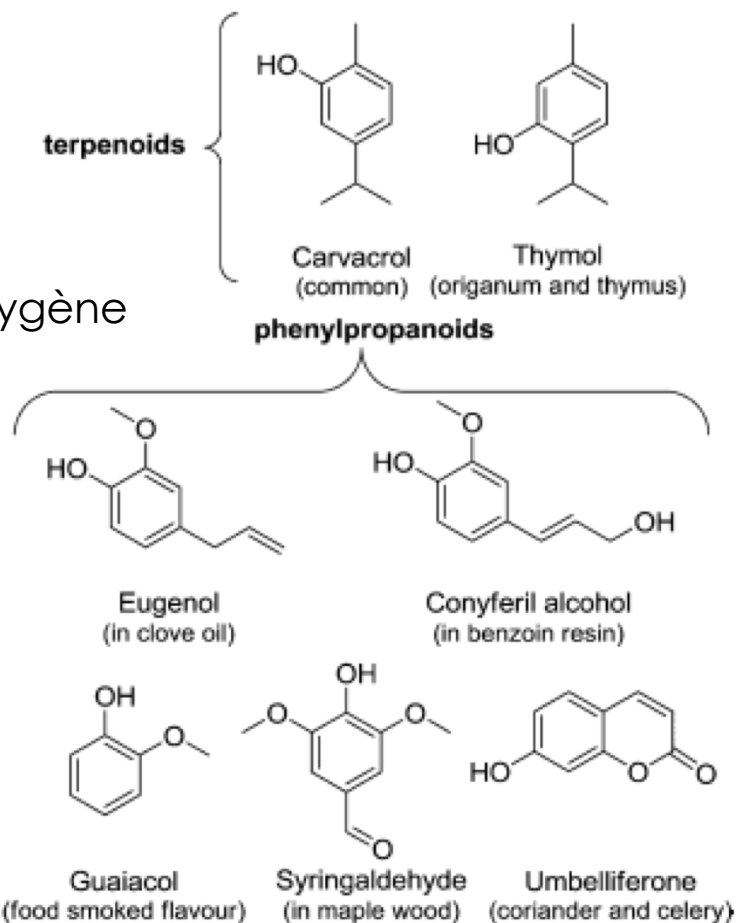
(HE thym, organ, giroflier)

α-pinène

mono- et sesquiterpènes
avec **cyclohexadiène**
(HE arbre à thé, eucalyptus)



Scheme 2. Some Common Phenolic EO Components



Amorati et al, 2013. Antioxidant activity of essential oils

Activités « ANTI » des HE

○ ANTI- inflammatoire

phenylpropanoïdes (cinnamaldehyde, eugenol, safrole, etc...)

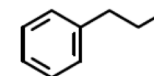
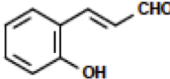
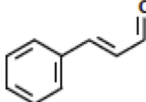


Table 1. Essential oil phenylpropanoids with anti-inflammatory activity.

Compound	Experimental protocol	Anti-inflammatory activity and/or mechanism	Animal/cell line tested	Reference
2'-hydroxycinnamaldehyde (2-propenal, 3-(2-hydroxyphenyl)-cinnamaldehyde) 	LPS-induced NO Production	Inhibitory of NO production	RAW 264.7 macrophage	[13]
	NF-κB-luciferase activity and NF-κB DNA binding activity	Suppression of luciferase activity		
	LPS-induced NF-κB activation and degradation of IκB	Inhibition of the production of nitrate, COX-2 and TNF-α		
Cinnamaldehyde [(2E)-3-phenylprop-2-enal] 	10 day-treatment (mixed on food)	Suppression of NF-κB activation	Fischer 344 rat	[14]
		Inactivation of IKK		
		Upregulation of IκBα and IκBβ		
		Inhibition of ERK and p38MAPK pathway		
	LPS-activated macrophage	Inhibition of NO and PGE ₂ production	RAW 264.7 macrophage	[15]
	LPS- or LTA-stimulated macrophage	Inhibition of IL-1β and TNF-α	Murine J774A-1 macrophage	[16]
		Suppression of pro-IL-1β production	Murine J774A-1 macrophage	
		Reduced release of ROS		
		Inhibition of phosphorylation of ERK 1/2 and JNK 1/2		
	OVA-sensitization	Increased IL-2, IL-4 and IL-10 production	Balb/c mice	[17]
Cytokine-induced monocyte/human endothelial cell interaction	Suppression of VCAM-1 and ICAM-1	Human endothelial cell	[18]	
	Suppression of NF-κB			
LPS-activated BV2 microglia	Inhibition of NO production	BV2 microglia	[19]	
	Decreases the expression of IL-1β, IL-6, and TNF-α			
	Reduced mRNA levels of iNOS			
LPS-activated macrophage	Inhibition of NF-κB and IRF3 activation	RAW 264.7 macrophage	[20]	

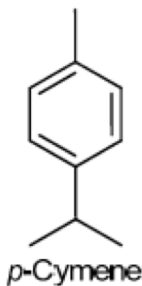
De Cassia da Silveira e Sa et al, 2014. A review on anti-inflammatory activity of phenylpropanoids found in essential oils

Activités « ANTI » des HE

○ ANTI-douleur

p-Cymene, α,β -Epoxy-carvone, carvacrol, linalol, eugenol, menthol, citronellal, etc..

Table 1. Essential oils constituents with antinociceptive activity.

Compound	Experimental Protocol	Antinociceptive Activity and/or Mechanism	Animal Tested and/or Cell Line	Reference
 <i>p</i>-Cymene	Formalin, capsaicin and glutamate-induced orofacial nociception	Decreased rubbing behavior	Male Swiss mice	[19]
	Acetic acid-induced writhing, formalin and hot plate tests CG-induced inflammation	Reduced writhes, and liking time Increased latency time of liking and jumping behavior Reduced leukocyte migration	Male Swiss mice	[20]
	Tail flick test CG, TNF- α , PGE2 and dopamine-induced hypernociception CG-induced pleurisy LPS-induced NO secretion Fos protein immunofluorescence	Increased latency time response Decreased mechanical hypernociception Reduced leukocyte and neutrophils migration and TNF- α level Reduced NO production Increased c-Fos immunoreaction	Male Swiss mice Macrophage Periaqueductal grey neurons	[25]
	Acetic acid-induced writhing and formalin tests	Reduced writhes, and liking time	Male Swiss mice	[31]

De Cassia da Silveira e Sa et al, 2017. Analgesic-like activity of essential oil constituents: an update

Activités « Pro » des HE

- **Immunomodulatrice** Pas de revue

Souvent réduite à étudier l'amplification de la réponse adaptative (anticorps)

Une étude plus précise :

HE estragon (estragole, methyl-eugenol) : ↑ anticorps anti-GR mouton, **anti-inflammatoire** (↓ cytokines pro-inflammatoires, ↓ NO et RO des macrophages) (Abtahi Froushani et al, 2016)

- **Digestive et respiratoire** (Adaszynska-Skwirzynska, 2017)

Stimule les sécrétions salivaire et gastrique

Stimule la production d'enzymes digestives

HE riches en eucalyptol ou 1,8 cineole (HE eucalyptus), menthol (HE menthe) ou thymol et carvacrol (HE thym) : expectorante et antispasmodique

1,8 cineole : action mucolytique plutôt par ses propriétés anti-oxydante et anti-inflammatoire (Juergens, 2014)

Activités « Pro » des HE

○ Olfaction et Système Nerveux Autonome (rongeurs)

COVs : molécules odorantes, diffusent par leur petite taille

HE lavande : effets anxiolytiques impliquent le système sérotoninergique (Takahashi et al, 2014)

↓ système sympathique ↑ nerf vague gastrique
≠ Pamplemousse (Nagai et al, 2014)

Rose : ↑ système parasympathique
(Igarashi et al, 2014)

Mélange HE lavande/sauge sclarée/santal/orange douce, 45 min, 10j (rat)

→ Signatures métaboliques
dans le cerveau et les urines après stress
Différences atténuées après inhalation des HE

(Wu et al, 2012)

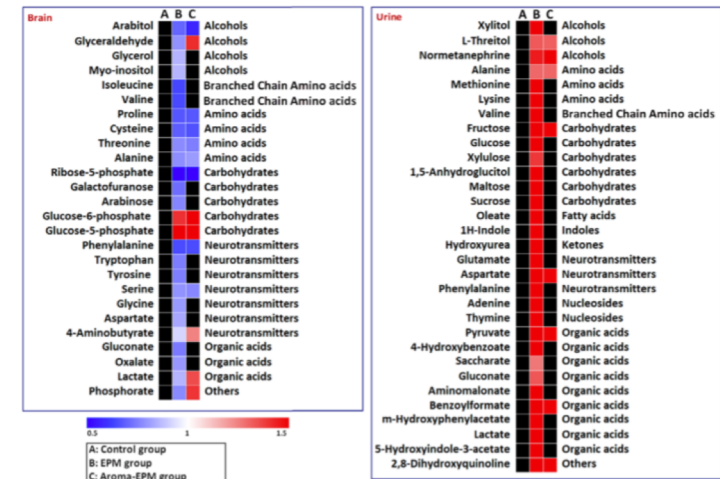
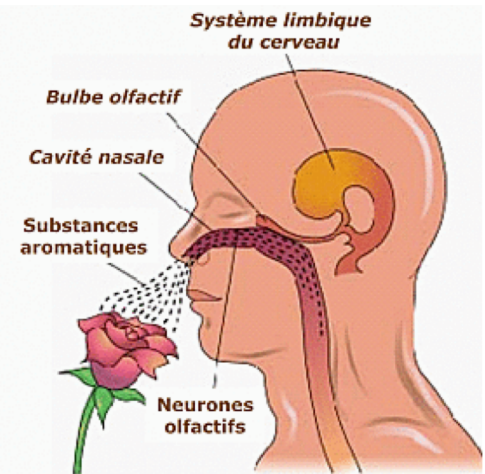


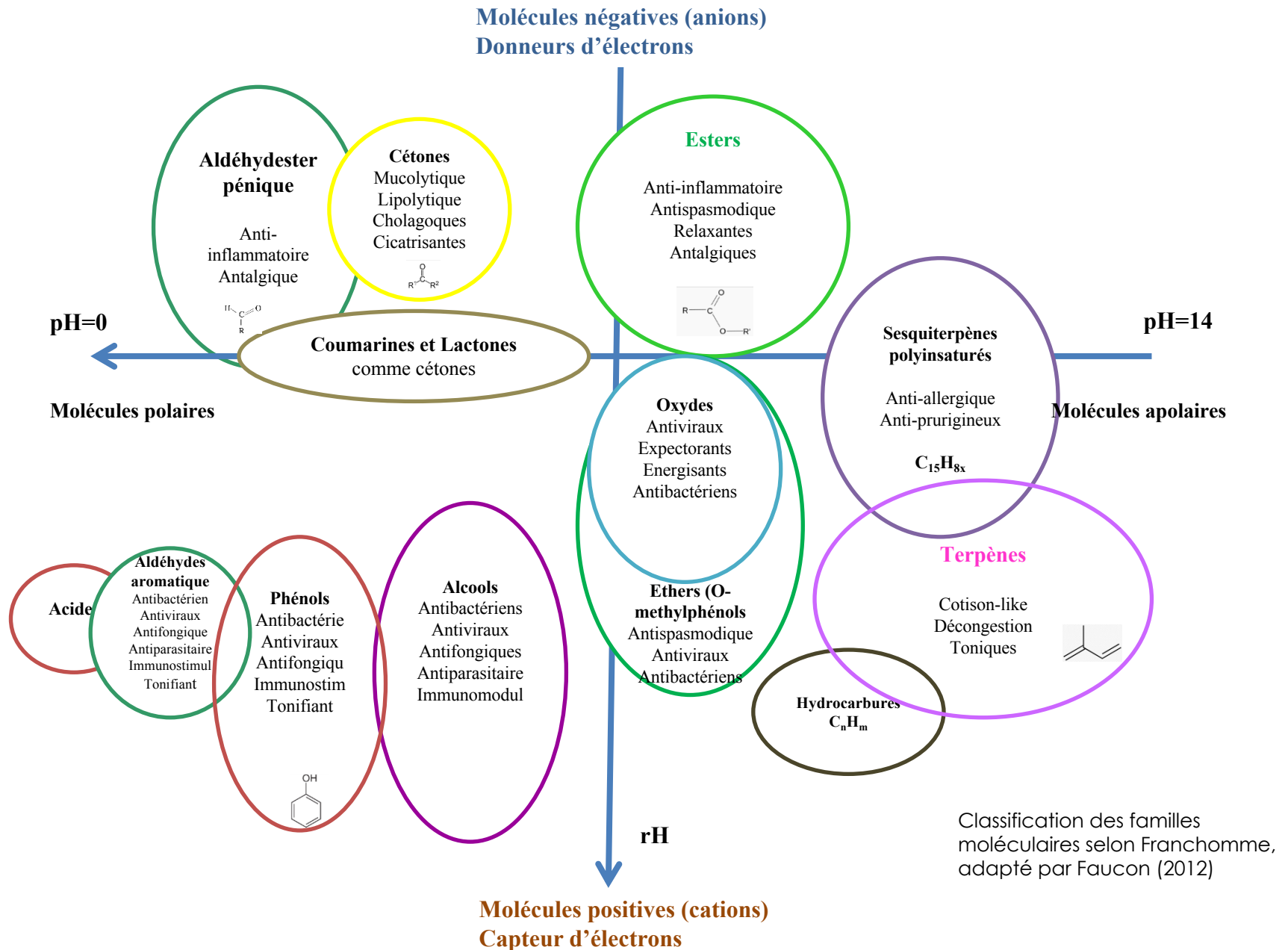
Figure 4. Heatmaps show changes in metabolites compared to controls at EPM group, aroma-EPM group. Shades of red and blue represent fold increase and fold decrease of a metabolite, respectively, in EPM group or aroma-EPM group relative to control group (see color scale). doi:10.1371/journal.pone.0044830.g004

Pas d'étude chez les animaux d'élevage

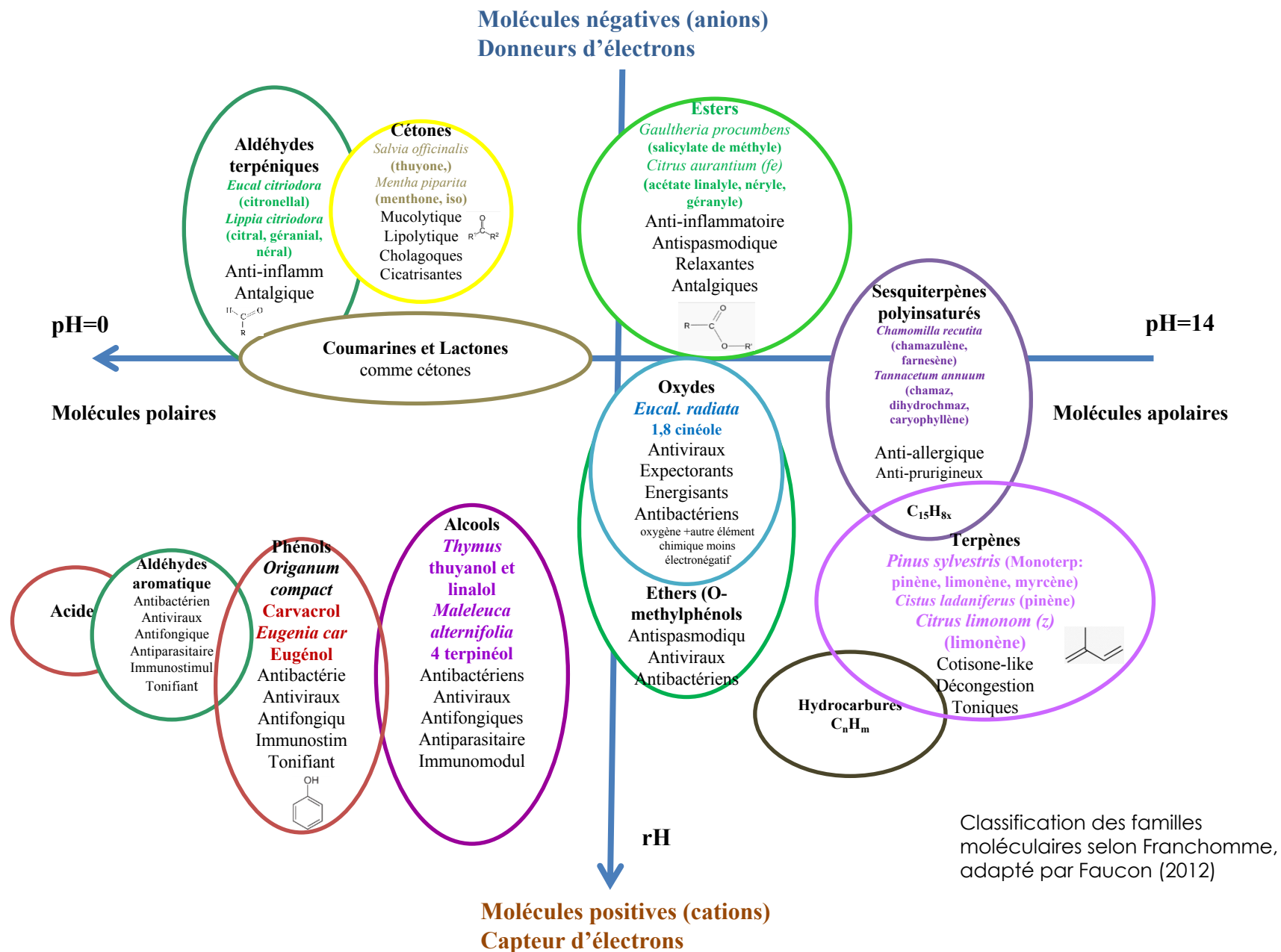
Mode d'action des HE: une autre vision plus globale et intégrative

- **Totum** : « le tout est plus que la somme des parties »
L'action de l'HE est différente de celle des principes actifs isolés
- Utilisation des **effets synergiques** des principes actifs
Expériences cliniques Ex. Lavande (L. officinalis) : monoterpenol (linalol) anti-infectieux et neurotonique, esters antispasmodiques et calmants
- **Actions pluridirectionnelles** sur un terrain :
Volet symptomatique : se substituer à la réactivité adaptative de l'organisme
Volet drainage : soutenir les fonctions d'élimination
Volet endobiogénique : rééquilibrer les dysfonctionnements physiologiques à l'origine du symptôme
- Notion de ternaire aromatique : **Matière – Energie – Information**
L'aromathérapie exactement, Franchomme, 2001
Matière = composition chimique
Energie = charges électriques : excès ou manque d'électrons
Information = fraction volatile intégrée par olfaction

Mode d'action des HE



Mode d'action des HE



Utilisation des HE

- **Différents modes d'application**

Externe : cutané, olfaction, diffusion, bain

Interne : nasale, orale, anale, vaginale

- **Posologie**

Fonction de la voie d'application

Dilutions? dans une huile (hydrophobe) ou dans une base émulsionnante

Fonction des objectifs : zootechniques, préventifs, thérapeutiques?

- **Formule :**

Composants des HE (thymol, carvacrol, linalol, etc..)

Une seule HE

Mélange d'HE

Association HE et autres composés (acides organiques)

- **Précautions :**

Une HE est très concentrée en principes actifs

Certains PA peuvent être agressifs :

dermocaustiques (phénols)

photosensibilisants (essences d'agrumes)

neurotoxiques (cétones)

activités hormone-like (cortison-like, oestrogen-like)

sur des terrains à risque (cancer, allergie)



Utilisation des HE

- Effets synergiques/antagonistes des molécules :

Table 4

Ranking of anthelmintic activity based on LC_{50} of quaternary mixtures of essential oils obtained by egg hatch assay. Combination index (CI) categories: strong synergy (CI < 0.1); synergy (CI 0.1 – 0.9); additive (CI 0.9–1.1), antagonism (CI 1.10–10) and strong antagonism (CI > 10).

Quaternary compositions (1 : 1 : 1 : 1)	LC_{50} (fiducial limit)	CI	description
Anethole + Carvone	0.020	1.69	Synergy
+ Cinnamaldehyde + Carvone	(0.019–0.021)		
Cinnamaldehyde + Carvacrol	0.028	2.37	Antagonism
+ Cinnamaldehyde + Carvone	(0.027–0.029)		
Cinnamaldehyde + Carvacrol	0.045	5.84	Antagonism
+ Anethole + Carvone	(0.043–0.048)		

Table 5

Ranking of anthelmintic activity based on LC_{50} of ternary combinations of essential oils obtained by egg hatch assay. Combination index (CI) categories: strong synergy (CI < 0.1); synergy (CI 0.1 – 0.9); additive (CI 0.9–1.1), antagonism (CI 1.10–10) and strong antagonism (CI > 10).

Ternary composition (1:1:1)	LC_{50} (mg/mL)	CI	description
Cinamaldehyde + Carvacrol	0.037(0.03–0.045)	1.77	Antagonism
+ Anethole			
Cinamaldehyde + Carvone	0.050 (0.039–0.064)	0.92	Additive
+ Carvacrol			
Anethole + Carvone	0.205 (0.180–0.232)	10.74	Strong antagonism
+ Carvacrol			



Actions des molécules majeures et aussi interaction avec toutes les autres molécules même en faible concentration

*Katiki, L M et al. 2017
Synergistic Interaction of Ten Essential Oils against Haemonchus contortus in Vitro*

HE étudiées chez les animaux d'élevage

- ✓ Palatabilité et digestibilité de l'aliment
- ✓ Performances zootechniques
- ✓ Effets antimicrobiens
- ✓ Effets sur le stress oxydant
- ✓ Effets sur l'inflammation, l'immunité
- ✓ Effets sur le microbiote digestif

Franz et al, 2010. Essential Oils and Aromatic Plants in Animal Feeding - a European Perspective. A Review

HE étudiées chez les animaux d'élevage : volaille

○ Performances

Table 2
Effect of EO on production performance in poultry (adapted from Windisch et al., 2008).

		Treatment effect, % difference from control					
		Dietary dose (g/kg)	Feed intake	BW	ADG	Feed conversion ratio	Reference
BROILERS							
Plant extracts							
Oregano	0.15	-6			-2	-4	Basmacioglu et al. (2004)
Oregano	0.3	-3			+1	-2	Basmacioglu et al. (2004)
Rosemary	0.15	0			-1	-1	Basmacioglu et al. (2004)
Rosemary	0.3	-2			+1	-4	Basmacioglu et al. (2004)
Thymol	0.1	+1			+1	-1	Lee et al. (2003)
Cinnamon	0.1	-2			-3	0	Lee et al. (2003)
Thymol	0.2	-5			-3	-3	Lee et al. (2003)
Carvacrol	0.2	+2			+2	-1	Lee et al. (2003)
EO blend	0.024	-4	0			-4	Cabuk et al. (2006)
EO blend	0.048	-5	0			-6	Cabuk et al. (2006)
Plant extracts	0.2		-2	0	-2		Hernandez et al. (2004)
Plant extracts	5.0		+2	+3	-4		Hernandez et al. (2004)
Plant extracts	0.5	0	-2	-2	+2		Botsoglou et al. (2004)
Plant extracts	1.0	+2	-1	0	+2		Botsoglou et al. (2004)
EO blend	0.075	-7			-3	-4	Basmacioglu et al. (2004)
EO blend	0.15	-7			-1	-1	Basmacioglu et al. (2004)
EO blend	0.036	+3	-8			-5	Alcicek et al. (2004)
EO blend	0.048	+2	-8			-4	Alcicek et al. (2004)
Plant extracts	0.1	+1			+1	0	Lee et al. (2003)
EO blend	0.024	-2	0			-2	Alcicek et al. (2004)
EO blend	0.048	0	+14			-12	Alcicek et al. (2004)
EO blend	0.072	-2	+8			-9	Alcicek et al. (2004)
Spices							
Oregano	5.0	+5			+7	-2	Florou-Paneri et al. (2006)
Thyme	1.0	+1	+2			-1	Sarica et al. (2005)
Garlic	1.0	-5	-5			0	Sarica et al. (2005)
TURKEYS							
Spices							
Oregano	1.25	-5	+2				Bampidis et al. (2005)
Oregano	2.5	-6	+1				Bampidis et al. (2005)
Oregano	3.75	-9	+1				Bampidis et al. (2005)
QUAIL							
Eos							
Thyme	0.06	0			+6		Denli et al. (2004)
Black seed	0.06	+1			+2		Denli et al. (2004)
Spices							
Coriander	5.0	+3			+1	+1	Güler et al. (2005)
Coriander	10.0	+3			+5	-1	Güler et al. (2005)
Coriander	20.0	+4			+8	-4	Güler et al. (2005)
Coriander	40.0	+5			+4	+1	Güler et al. (2005)

HE thym, origan, romarin
les plus étudiées
Alleman et al, 2013

Brenes & Roura, 2010

○ Infection à Salmonella

Mélange carvacrol/thymol/eucalyptol/lemon : effet + sur perf mais pas effet sur excrétion (Alali, 2013)

Mélange cinnamaldehyde/thymol + acide butyrique : diminution excrétion caecale (Cerisuelo, 2014)

HE étudiées chez les animaux d'élevage : volaille

- **Infection à Campylobacter** (Meunier et al, 2015 - Review)

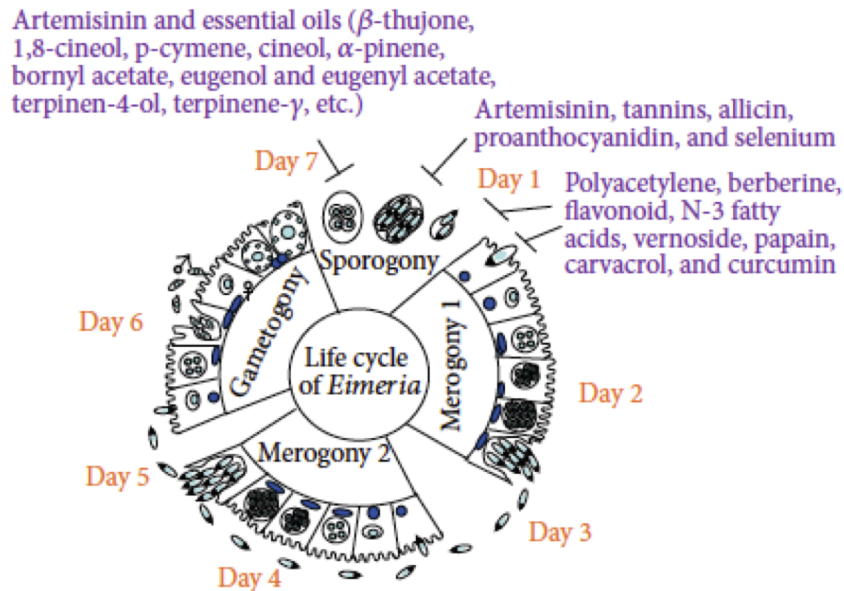
Effets in vitro prometteurs (trans-cinnamaldehyde, allicin, thymol- β -D-glucopyranoside)

Effets non confirmés in vivo

- **Coccidiose** (Bozkurt, 2013 ; Muthamilselvan, 2016 - Review)

effet antiparasitaire : polyphenols (carvacrol, thymol)

HE Origan, romarin, anredera, noni, hibiscus, girofle, arbre à thé, orange douce, thym



mais effet sans doute en interaction avec les autres composants des HE

HE étudiées chez les animaux d'élevage : volaille

- **Coccidiose** (Bozkurt et al, 2013 ; Muthamilselvan et al, 2016 - Reviews)
activité anti-oxydante (protection des tissus) : carvacrol, thymol, 1,8 cineol
limite la perte de sang dans les fèces

activité pro-oxydante sur le parasite : artemisin (A. annua)

activités multiples et synergiques des composés d'une HE?

Ex : efficacité meilleure si association d'HE (origan/laurier/lavande) en faible doses (75 mg/kg) que d'HE origan (300 - 600 mg/kg) ou carvacrol (1250 mg/kg) et thymol (2500 mg/kg)

- **Activité anti-oxydante** et stress à la chaleur : HE gingembre

Table 5 Effect of ginger herb and its essential oil on antioxidant parameters and malondialdehyde in the erythrocytes, serum and liver of broilers raised under heat stress¹

Item	Control	VE 100	H 7.5	H 15	EO 75	EO150	SEM	P
Erythrocytes								
Glutathione Peroxidase, U/mg Hb	35	36.6	36.9	36	34.5	34.8	0.63	0.87
Superoxide dismutase, U/mg Hb	1,414	1,398	1,268	1,243	1,270	1,210	27.80	0.16
Catalase, K/mg Hb	0.7	0.4	0.9	0.6	0.7	0.7	0.08	0.63
Serum								
Total antioxidant capacity, mmol/L	0.8 ^b	1.0 ^a	1.0 ^a	1.0 ^a	0.9 ^a	1.0 ^a	0.02	0.01
Malondialdehyde, nmol/mL	3.2 ^a	2.5 ^{bc}	2.2 ^{cd}	2.1 ^d	2.7 ^b	2.6 ^{bc}	0.08	0.05
Liver								
Glutathione Peroxidase, U/mg protein	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	-	0.76
Superoxide dismutase, U/mg protein	3.6 ^b	4.0 ^{ab}	3.7 ^b	4.0 ^{ab}	4.3 ^{ab}	4.8 ^a	0.12	0.05
Catalase, K/mg protein	0.3	0.3	0.3	0.2	0.4	0.3	0.03	0.71
Malondialdehyde, nmol/mL protein	5.3 ^a	4.4 ^{ab}	3.3 ^{bc}	2.2 ^c	2.3 ^c	2.5 ^c	0.30	0.01

Habibi et al. [33].

¹Values are the mean of 4 replicates. Control = Basal diet without supplementation; VE 100 = Basal diet plus 100 mg/kg vitamin E; H 7.5 or H 15 = Basal diet plus 7.5 or 15 g/kg of ginger root powder; EO 75 or EO 150 = Basal diet plus 75 or 150 mg/kg of ginger essential oil.

^{a-d}Means in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

Habibi et al, 2014

HE étudiées chez les animaux d'élevage : volaille

- **Immunité**

Souvent incluse avec d'autres paramètres (performances, physiologie digestive)

HE thym (500mg/kg) : ↑ **IgA** (Placha et al, 2014)

HE eucalyptus et menthe (0.25 ml/L eau) : ↑ **réponse anticorps** et ↑ **réponse cellulaire** après vaccination H5N2 (Awaad et al, 2010)

Inclusion d'HE dans les **protocoles de vaccination** contre la bronchite infectieuse, la maladie de Newcastle et de Gumboro : ↑ réponse anticorps (Barbour et al, 2011 ; Faramarzi et al, 2013)

Interaction des HE avec le microbiote intestinal : le poulet

Table 5. Effects of essential oils and their components on the microflora in broiler chicken

Essential oils	Dose (mg kg ⁻¹) or (% v v ⁻¹)*	Segment of intestine	Microflora	Effect on the microflora (%)	References
Garlic (<i>Allium sativum</i>)	0.1*	ileum	<i>Escherichia coli</i> <i>Lactobacillus</i> spp.	-26.8 + 21	Rahimi et al., 2011
Thyme (<i>Thymus vulgaris</i>)	0.1*	ileum	<i>Escherichia coli</i> <i>Lactobacillus</i> spp.	-38 +31.6	Rahimi et al., 2011
Mint (<i>Mentha pulegium</i>)	0.25*	jejunum	<i>Escherichia coli</i> <i>Lactobacillus</i> spp.	-34.9 + 57.4	Erhan et al., 2012
Rosemary (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	1.0	cecum	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella</i> spp. <i>Staphylococci</i> <i>Coccidia</i>	-32.7 -100 -14.6 -100	Tollba, 2010
Blend: oregano, anise, citrus (Biomim*)	125	ileum	Coliforms <i>Salmonella</i> <i>Enterococci</i> <i>Lactobacillus</i> spp.	-0.9 -1.1 -2.6 -2.3	Hong et al., 2012
Garlic (<i>Allium sativum</i>)	300	ileum	Coliforms <i>Clostridium</i> spp. <i>Streptococcus</i> <i>Lactobacillus</i> spp.	-10.7 -1.2 -3.2 + 7.0	Kirkpinar et al., 2011
Oregano (<i>Origanum vulgare</i>)	300	ileum	Coliforms <i>Clostridium</i> spp. <i>Streptococcus</i> <i>Lactobacillus</i> spp.	-22.7 -13.5 -4.0 +9.2	Kirkpinar et al., 2011
Myrtle (<i>Myrtus communis</i>)	300	cecum	<i>Escherichia coli</i> <i>Lactobacillus</i> spp.	-38.5 +29.6	Ghazanfari et al., 2014
Oregano (<i>Origanum vulgare</i>)	300	cecum	<i>Escherichia coli</i> <i>Lactobacillus</i> spp.	-11.0 -2.0	Roofchae et al., 2011
Oregano (<i>Origanum vulgare</i>)	600	cecum	<i>Escherichia coli</i> <i>Lactobacillus</i> spp.	-10.3 0	Roofchae et al., 2011
Blend: oregano, anise, citrus (Biomim*)	1000	cecum	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Enterococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Clostridium</i> <i>Lactobacillus</i> spp.	-7.7 -16.7 -16.9 -4.4 -1.6 -3.9	Vukić-Vranješ et al., 2013

HE et performances chez **le poulet** :
modification écologique de la flore
bactérienne intestinale ?

Etudes limitées à quelques populations microbiennes :

E. coli, *Lactobacillus*, *Salmonella*,
Staphylococcus, *Streptococcus*,
Enterococcus, *Clostridium*

HE étudiées chez les animaux d'élevage : porc

○ Nutrition et performances

Table 3. Effect of aromatic herbs and essential oils as feed additives on the performance in piglets

Feed additive	Dietary dose (g/kg)	Treatment effects (% difference to untreated control)				References
		Feed intake	Body weight	Daily weight gain	Feed conversion rate*	
<i>Essential oils</i>						
Caraway	0.1	−9/−2	−/0	−7/−	−3/−2	Schöne <i>et al.</i> ^[20,21]
Cinnamon	0.1	+5	+2		+3	Gollnisch <i>et al.</i> ^[18]
Cinnamon	0.1	−5	0		−5	Wald <i>et al.</i> ^[22]
Clove	(5 ml)	−5		0	−5	Tartrakoon <i>et al.</i> ^[23]
Clove	0.1	+1	0		+3	Gollnisch <i>et al.</i> ^[18]
Clove	0.1	+3	+7		−4	Wald <i>et al.</i> ^[22]
Essential oil blend	0.04	+4		+6	−2	Kroismayr <i>et al.</i> ^[24]
Essential oil blend	0.1	+3		0	+3	Gollnisch <i>et al.</i> ^[18]
Fennel	0.1	+3/+3	−/+6	+4/−	−2/−3	Schöne <i>et al.</i> ^[20,21]
Lemongrass	(5 ml)	−3		+2	−5	Tartrakoon <i>et al.</i> ^[23]
Lemongrass	0.1	−2	+2		−4	Wald <i>et al.</i> ^[22]
Oregano	0.1	+3	+2		0	Gollnisch <i>et al.</i> ^[18]
Oregano	0.1	0	+5		−5	Wald <i>et al.</i> ^[22]
Oregano	0.5	−3	+7		−9	Günther and Bossow ^[25]
Oregano	0.5	+12	+23		−9	Kyriakis <i>et al.</i> ^[13]
Peppermint	(5 ml)	−4		−3	−2	Tartrakoon <i>et al.</i> ^[23]
Peppermint	0.1	−9	−3		−7	Wald <i>et al.</i> ^[22]
Pimento	0.1	−8	−4		−5	Wald <i>et al.</i> ^[22]

Franz *et al.*, 2010

Voir aussi Zeng *et al.*, 2015

HE étudiées chez les animaux d'élevage : porc

- **Immunité et activité antioxydante**

- Mélange HE (cinnamaldehyde, thymol) dans l'aliment chez des porcelets (28j) :
↑ albumine, ↑ IgA, ↑ IgG, ↑ activité anti-oxydante (Zeng et al, 2015)

- Carvacrol et thymol (1:1, 100mg/kg) : ↓ stress oxydant au sevrage (↑ TNF- α)
(Wei et al, 2017)

HE origan chez les truies en fin de gestation (Tan et al, 2015)

↓ stress oxydant

↑ Lactobacillus ↓ E. coli ↓ Enterococcus

↑ performances des porcelets

Interaction des HE avec le microbiote intestinal : le porc

Peu d'études

Table 3 Effects of essential oils and aromatic plants on the microflora in swine and poultry

Feed additive	Dose, g/kg	Species	Measured responses	References
Herbal extracts	7,500	Weaned pigs	Reduced <i>coliform</i> bacteria counts in fecal; less diverse of microbiota in ileal digesta base on PCR-DGGE	Namkung et al. [7]
EO blend	50-150	Weaned pigs	Increased <i>Lactobacillus</i> and decreased <i>E. coli</i> counts in feces	Li et al. [16]
EO blend	1,000	Weaned pigs	Increased <i>Lactobacillus</i> counts	Zhang et al. [17]
Chinese medicinal herbs	1,000/3,000	Weaned pigs	Increased <i>Lactobacilli</i> counts in ileum and decreased <i>Coliform</i> counts in colon	Huang et al. [18]
EO blend	100	Weaned pigs	Reduced <i>E. coli</i> and total aerobic bacteria in the rectum; increased <i>Lactobacilli</i> to <i>E. coli</i> ratio in colon	Li et al. [19]
Phytogenic additive	50-150	Weaned pigs	Microbial counts in feces (aerobes, gram negatives, anaerobes and lactobacilli) didn't change	Muhl and Liebert [48]

Zeng et al, 2015

Une étude avec une HE :

HE baies roses : ↑ *Lactobacillus*, ↓ diarrhée à dose élevée (1.5g/kg aliment)

Cairo et al, 2017

HE étudiées chez les animaux d'élevage : ruminants (bovin)

- **Digestion et fermentation ruminales**

- Concilier efficacité digestive et fermentation du rumen
- Beaucoup d'études : résultats différents selon les HE, les doses (mg au g/l rumen in vitro ou mg au g/j in vivo), le pH du rumen
- Beaucoup de variables à maîtriser, études souvent sur du rumen in vitro
- Etude in vivo : animaux fistulés ?

Cobellis et al, 2016. *Critical evaluation of essential oils as rumen modifiers in ruminant nutrition: A review*

- **Mammites**

- Peu d'études
- HE clou girofle et cannelle : inhibition de production de biofilms par *Staphylococcus aureus* isolés dans du lait (Budri et al, 2016)
- HE menthe poivrée et limonène : efficacité antimicrobienne et limite de biofilms par *Streptococcus uberis* (Montironi et al, 2016)
- HE sauge en intramammaire (1ml dans DMSO, 2x/j, 3j) chez des brebis en mammites subcliniques : ↓ nombre de cellules (24h, 48h), ↑ acides gras et lactose. Pas d'effet sur formule et paramètres sanguins (Alekish et al, 2017)

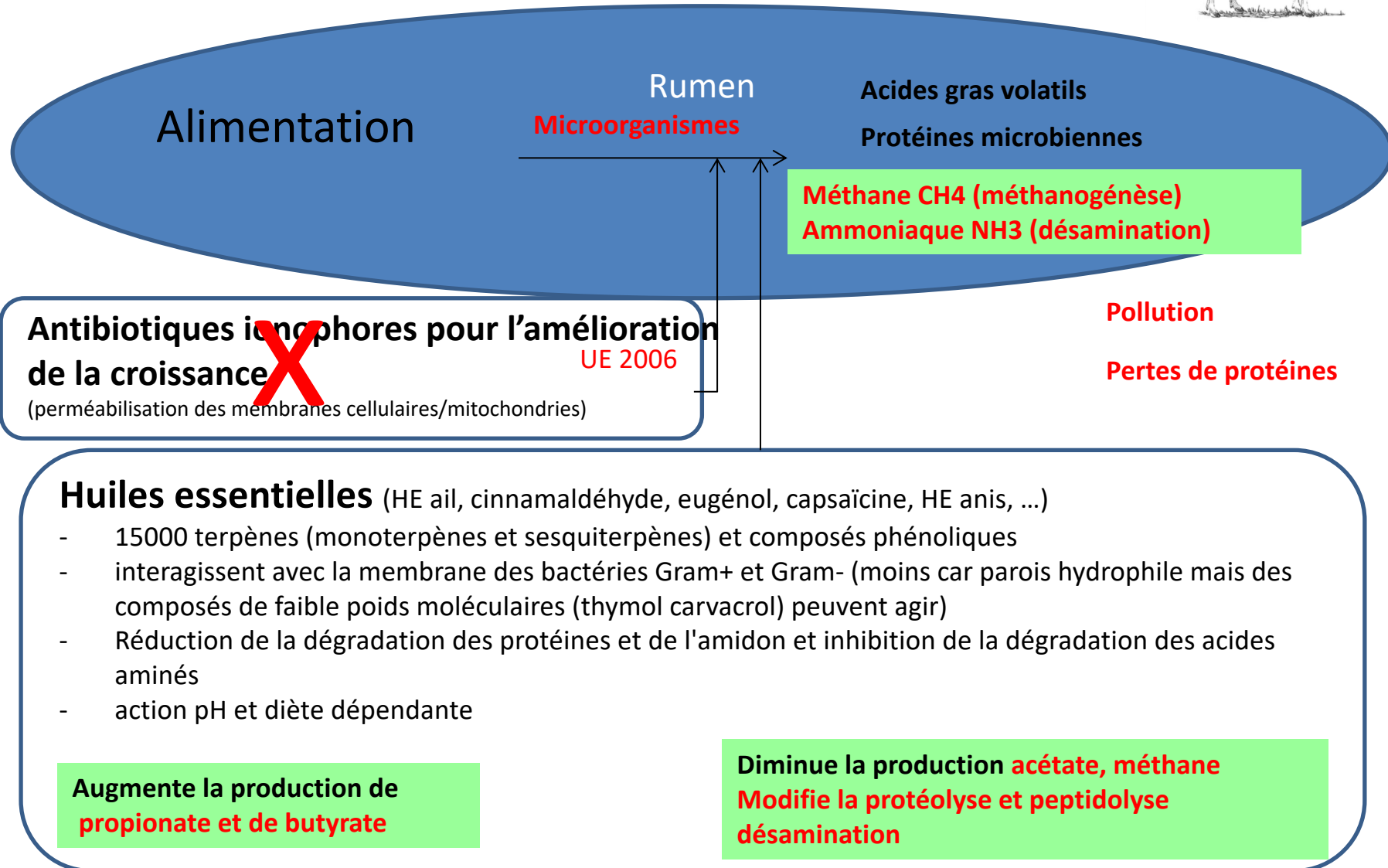
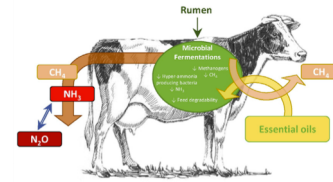
- **Parasitisme (*Haemonchus contortus*)**

- HE *Eucalyptus staigeriana* : efficacité in vitro et in vivo chez la chèvre (Macedo et al, 2010)

- **Reproduction**

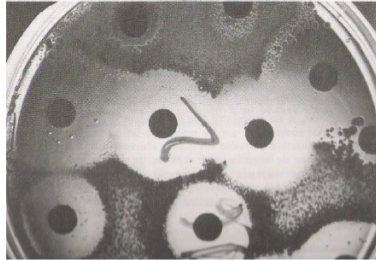
- HE romarin chez des brebis gestantes (600 mg/kg): ↑ acides gras dans le colostrum ↓ mortalité des agneaux (Smeti et al, 2015)

Interaction des HE avec le rumen



Comment sont étudiées les HE chez les animaux d'élevage?

- **Activité anti-bactérienne in vitro : aromatoigramme**



Attention : test de plusieurs HE/boîte
→ surestimation des effets (Gram +)

Exemple d'aromatoigramme HE de thym /Staphylocoques dorés

- **Activité anti-parasitaire in vitro :**

HE thym (thymol) : efficacité sur l'éclosion des œufs, du développement et la mobilité des larves d'*Haemonchus contortus* (Ferreira et al, 2016)

HE poivre Sishuan (Qi et al, 2015), HE arbre à thé (Grando et al, 2016)

- **Activité anti-bactérienne in vitro sur des pathogènes mélangés avec une flore fécale**

thymol et geraniol (100 ppm) :

actif sur *C. difficile* sans affecter le microbiote humain (Thapa, 2015)

HE arbre à thé, myrte citronnée, manuka : actif sur *C. jejuni* en culture

Terpinen-4-ol (0.05%) : actif sur *C. jejuni* en mélange dans contenu caecal sans affecter le microbiote (Kurekci, 2013)

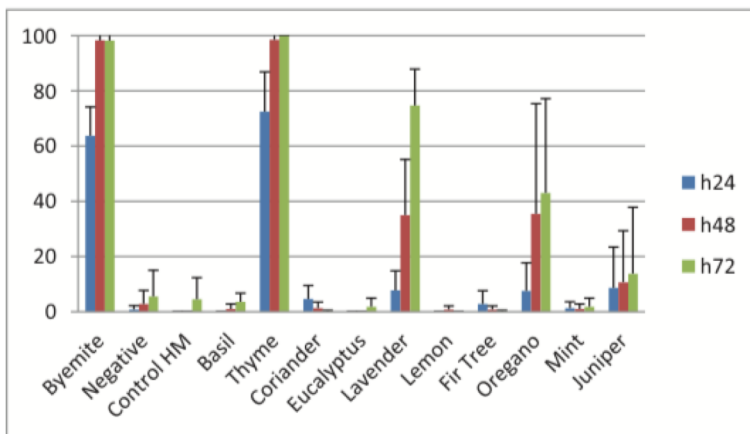
- **Etude du microbiote : PCR ciblée ou séquençage 16S**

Comment sont étudiées les HE chez les animaux d'élevage?

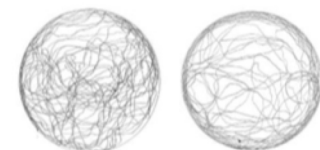
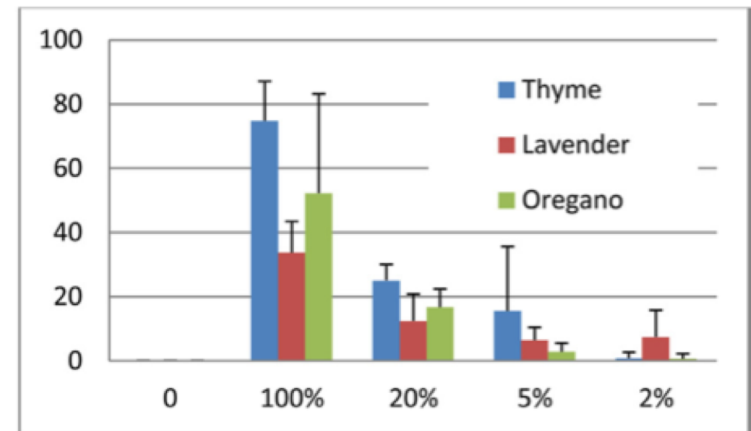
- **Activité toxique et répulsive in vitro vis-à-vis des poux (*D. gallinae*, poulet)**

Bioessai : HE sur filtre dans pipette pasteur fermée

Mortalité (%)

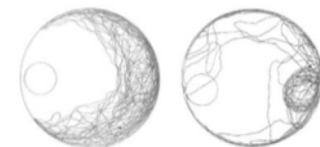


Surface évitée (%)



Negative Control

Oil Control



Lavender

Lemon

Comment sont étudiées les HE chez les animaux d'élevage?

- **In vivo**

Le plus souvent : dans l'aliment

Quelques études dans l'eau de boisson (volaille)

- **Automédication animale**

Capacité de l'animal à consommer, entre autres, des plantes en situation de stress ou de maladie, pour retrouver un état d'homéostasie

Huffman, 2003; de Roode et al, 2013; Danbury et al, 2000

➡ Renforcer la robustesse pendant la période de démarrage du poussin

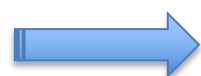


Limiter l'impact immédiat des expériences négatives

et les impacts à plus long terme : performances, bien-être, santé, mortalité



Statut sanitaire mieux maîtrisé et moindre utilisation des antimicrobiens



capacité des poussins à consommer spontanément des HE ?

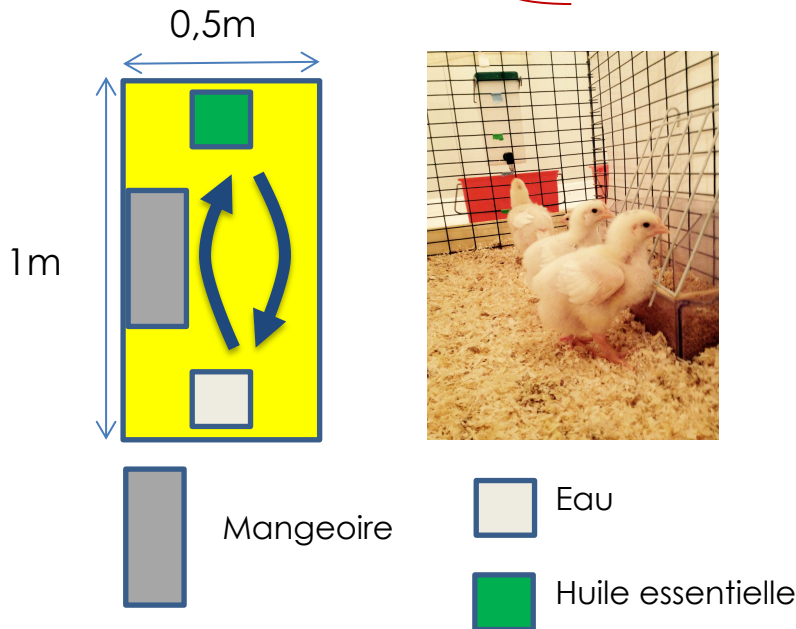




Les poussins sont-ils capables de consommer une HE en fonction de leur expérience post-natale?

MEE-R = 24h
post éclosion

- SANS eau, SANS aliment dans les boîtes de transport
- Alternance températures ambiante basse (21°C) et élevée (32°C)
- Agitation intermittente



8 lots de poussins :

Témoin	Eau
MEE-R	Eau
Témoin	Eau + HE cardamome
MEE-R	Eau + HE cardamome
Témoin	Eau + HE- marjolaine à coquille
MEE-R	Eau + HE- marjolaine à coquille
Témoin	Eau + HE verveine citronnée
MEE-R	Eau + HE verveine citronnée

Accès aux HE : J1 à J13

Rotation des abreuvoirs

4 poussins par parquet

6 parquets par lot

Marjolaine à coquille CT Thujanol, *Origanum majorana*

Cardamome, *Elettaria cardamomum*

Verveine citronnée, *Lippia citriodora*

Utilisation 10 mg/L eau



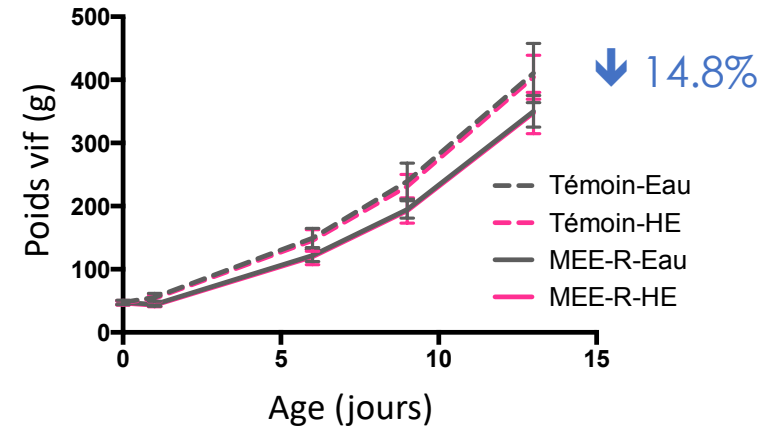
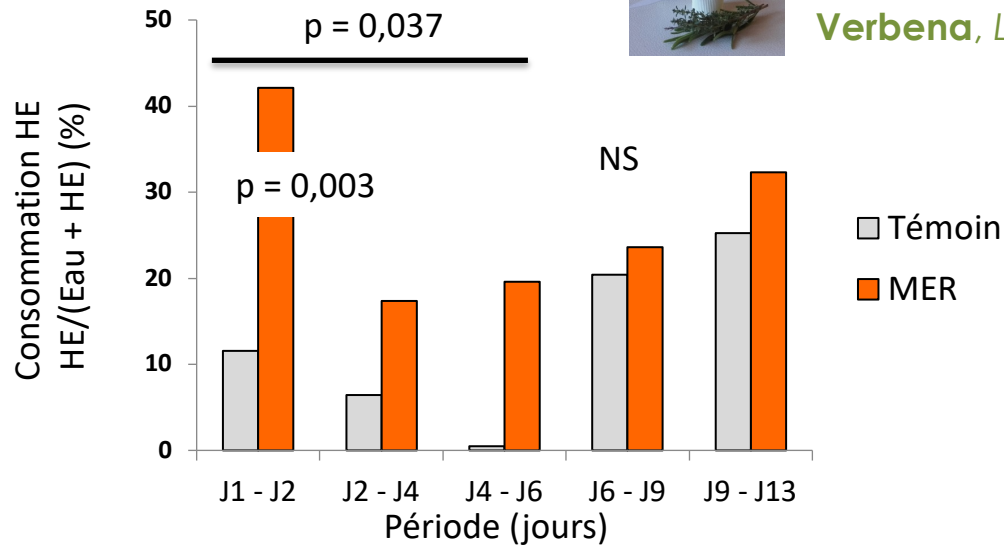
WHELP

Guilloteau et al, non publié

Consommation d'une HE et croissance



Marjoram *CT Thujanol*, *Origanum majorana*
Cardamom, *Elettaria cardamomum*
Verbena, *Lippia citriodora*

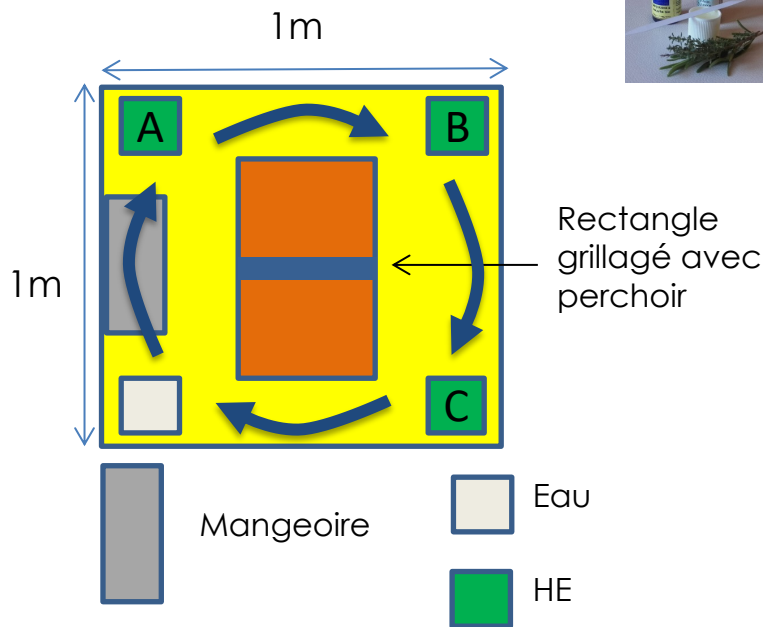


- Les poussins des lots MEE-R consomment plus d'HE que les lots Témoins pendant 6j quelle que soit l'HE surtout le jour suivant la MEE-R
- HE consommée J1-J6/g poussin = 6 – 8 μ g
- La MEE-R diminue significativement le poids vif des poussins
- La consommation d'HE n'a pas corrigé la perte de poids vif

Consommation des 3 HE et effets dans le temps



Marjoram *CT Thujanol*, *Origanum majorana*
Cardamom, *Elettaria cardamomum*
Verbena, *Lippia citriodora*



Accès aux HE : J1 à J12

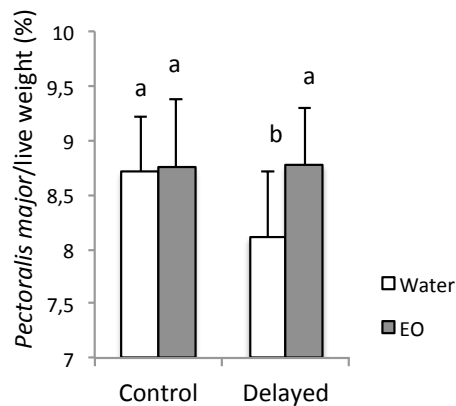
Rotation des abreuvoirs

J13 à J33 : phase de croissance

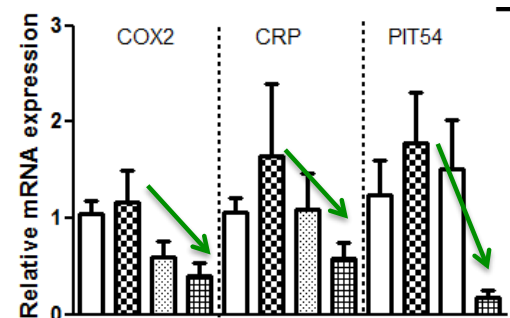
→ Performance

→ Transcriptome

→ J34



Inflammation (males)



WHELP

Guilloteau et al, non publié

Comment sont étudiées les HE chez les animaux d'élevage?

Analyses des effets

- Ciblées sur une fonction :

Performances

Activité anti-infectieuse

Activité anti-oxydante

Activité anti-inflammatoire

Activité immunomodulatrice

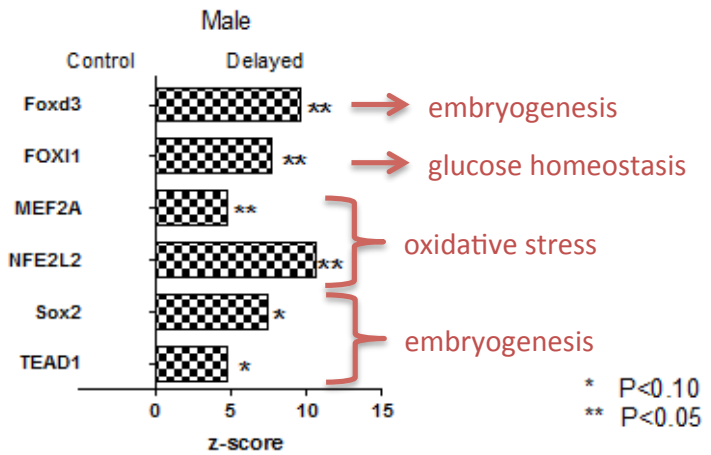
Action sur le microbiote

- Analyses sur plusieurs fonctions
- Analyses intégrées à développer

Approche intégrée de l'évaluation de la santé et du bien-être

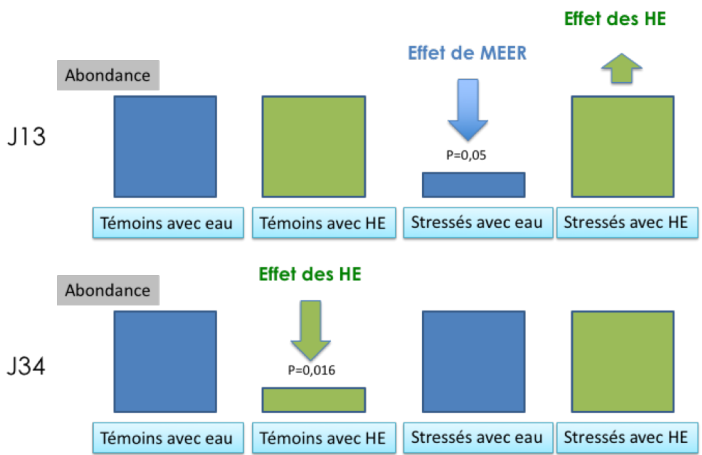
Transcriptome

Mâles: plus affectés (poulet, mouton), sang

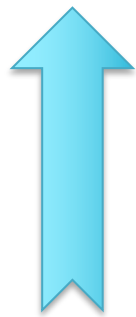


Microbiote

Caecca poulet

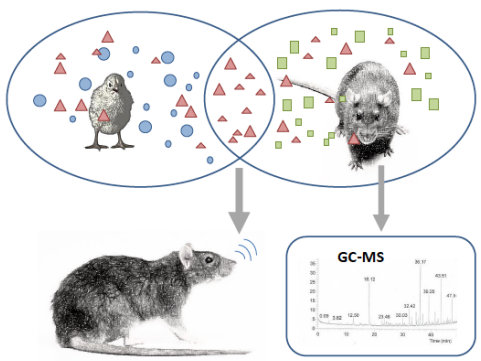


Détection de signatures de déséquilibres



Signature odorante

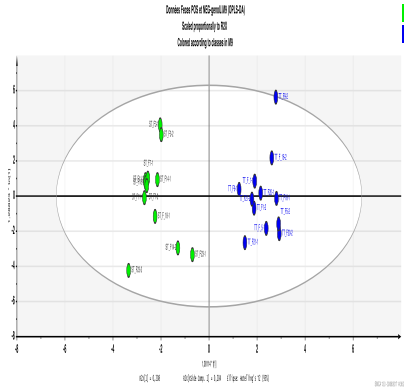
Odeurs de stress (fèces)



Bombail et al, 2017

Metabolomique

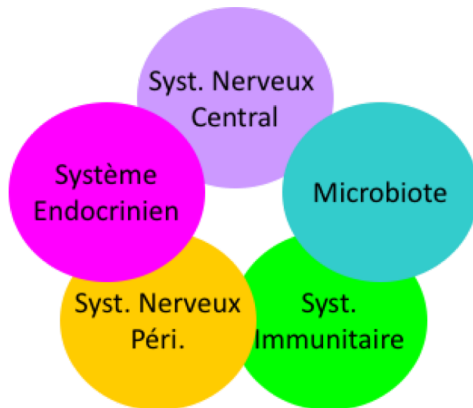
27 métabolites discriminants entre les poussins témoins et stressés (J13)



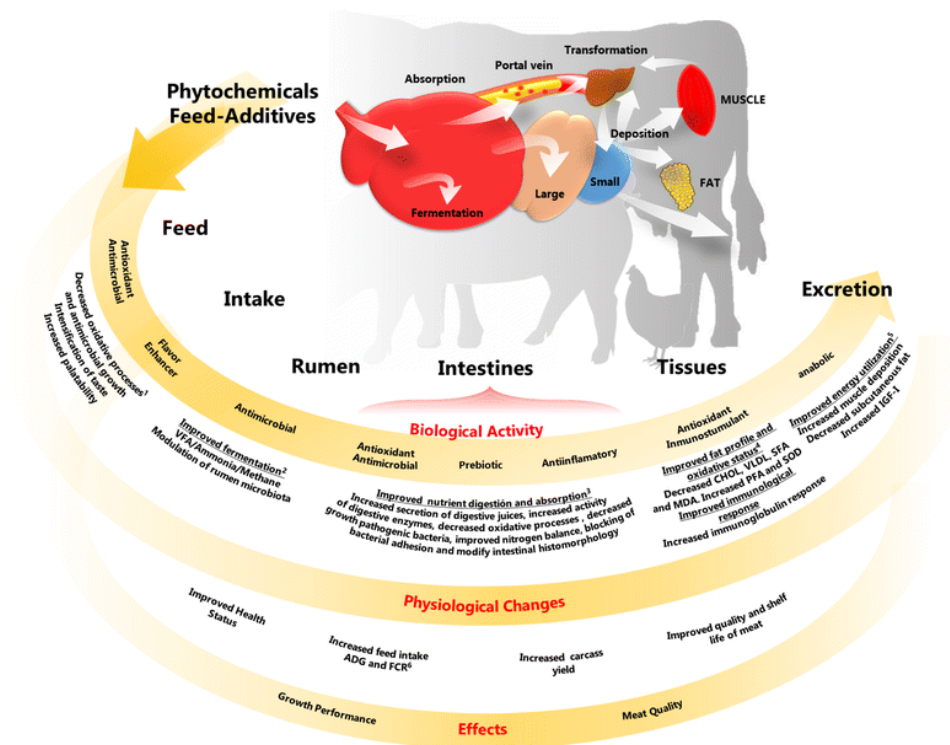
Changer de regard sur la gestion d'un problème de santé?

Ex : Infection bactérienne

- Retrouver un équilibre microbien
- Retrouver une diversité microbienne
- Retrouver un terrain (hôte) équilibré

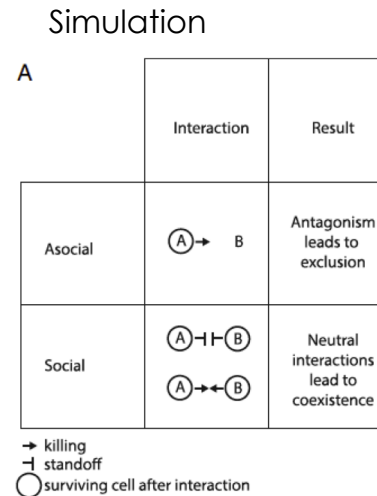
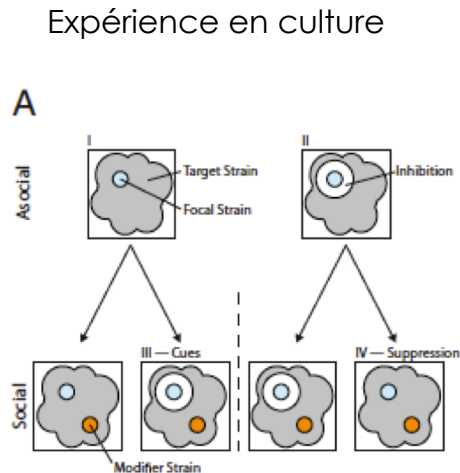


le plus des HE :
Polyvalence



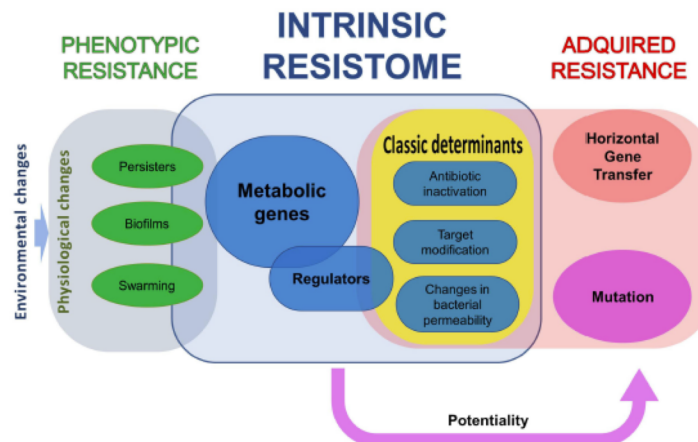
Intégrer la vie sociale des bactéries

- Antibiotiques : signaux qui coordonnent les interactions sociales coopératives entre des bactéries existantes → maintenance d'une diversité microbiologique



Abrudan et al, 2015

- Resistome intrinsèque des bactéries pathogènes



Olivares et al, 2013

Les HE : quels risques? Comment les évaluer?

Approche toxicologique des HE

Céline Hilpipre, coordinatrice DU Aromathérapie Vétérinaire Strasbourg