



Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 10874

To cite this version :

Zbik, Marion. *Castration du porcelet : évaluation de l'efficacité analgésique per-opératoire de l'huile essentielle Mentha arvensis (menthe des champs) par l'analyse des vocalisations*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2013, 80 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: staff-oatao@inp-toulouse.fr.

CASTRATION DU PORCELET : EVALUATION DE L'EFFICACITE ANALGESIQUE PER- OPERATOIRE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE *MENTHA ARVENSIS* (MENTHE DES CHAMPS) PAR L'ANALYSE DES VOCALISATIONS

THESE
pour obtenir le grade de
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

par

ZBIK Marion

Née, le 2 juillet 1988 à Vénissieux (69)

Directeur de thèse : M. Guy-Pierre MARTINEAU

JURY

PRESIDENT :

Mme Virginie WOISARD

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURS :

M. Guy-Pierre MARTINEAU

Mme Agnès WARET-SZKUTA

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

MEMBRE INVITE :

M. Pascal GAILLARD

Maître de Conférences à l'Université Toulouse II

**Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt
ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE**

Directeur : M. A. MILON

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

PROFESSEURS 1^o CLASSE

- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*

PROFESSEURS 2^o CLASSE

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

PROFESSEURS CERTIFIÉS DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*
Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*
Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*
Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS

- M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*
Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*

ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS

- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*
M. **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

REMERCIEMENTS

A notre Présidente du jury,

Madame le Professeur Virginie WOISARD,

Professeur des universités

Praticien hospitalier

Unité de la voix et de la déglutition

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury de thèse,

Hommages respectueux.

A notre jury de thèse,

Monsieur le Professeur Guy Pierre MARTINEAU

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour

Qui nous a confié ce travail et nous a guidé dans son élaboration,

Pour m'avoir permis de traiter un sujet qui me tenait à cœur, pour votre soutien et votre réactivité,

Que vous trouviez ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.

Madame le Docteur Agnès WARET-SZKUTA

Assistance d'enseignement et de recherche à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Production et pathologie porcine

Qui nous a fait l'honneur de faire partie de notre jury de thèse,

Pour votre implication dans ce projet, votre aide et votre présence,

Sincères remerciements.

Monsieur le Docteur Pascal GAILLARD

Maître de conférences à l'Université Toulouse II

Psycho-acoustique

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse,

Pour votre aide précieuse durant la réalisation de ce travail, votre soutien et la découverte d'un domaine qui m'était inconnu,

Sincères remerciements.

A **Guilhem Poudevigne**, CC au service de porcine en 2012-2013, pour avoir pris ce projet en cours de route, pour son soutien et son aide précieuse.

Au **GAEC de Calvignac**, et notamment à la chef d'élevage **Béatrice Castagnet**, pour avoir accepté de participer à ce projet, et pour m'avoir accueillie et aidé lors de la réalisation des expériences.

Au **Comptoir des Plantes Médicinales**, et notamment à **Eden Flore** et **Emilie Diacono**, pour avoir accepté de participer à ce projet, pour être resté malgré les changements de programme, et pour nous avoir fourni les huiles essentielles nécessaires à la réalisation des expériences. Merci à Emilie d'avoir été là le jour J.

A ma famille,

A mes parents, Pour votre amour et votre soutien inconditionnel, pour les valeurs que vous nous avez enseignées et les conneries que vous nous avez laissé faire, pour être aussi géniaux, pour avoir fait de moi ce que je suis, et m'avoir guidé tout le long du chemin. Je vous aime.

A ma maman, Pour ton amour, pour notre complicité, pour la liberté que tu me laisses tout en veillant sur moi, pour tout ce que tu nous donnes, pour la passion que tu sais mettre dans ta vie.

A mon papa, Pour ton amour pudique, pour tes grandes épaules sur lesquelles je sais que je peux me reposer, pour ton humour que tu m'as transmis, pour ta générosité, aussi grande que ton cœur.

A Maxou, mon p'tit frère, dont je suis si fière : A nos engueulades, nos cris et nos rires, à nos différences et nos ressemblances, à ton génie, à ta soif de vivre, à ton humour, qui nous a si souvent redonné le sourire, à ta douceur, que tu caches si bien. Je serais toujours là.

A mes grands parents,

A mon papi et ma mamie, qui nous ont quittés, je pense à vous.

A mon pépé : vétérinaire, c'est un peu médecin, je crois que tu aurais été fier.

A ma mémé, pour ta présence depuis toujours, pour toutes ces vacances à la rivière, pour m'avoir appris l'orthographe et les tables de multiplication, pour les châtaignes au lait, pour m'avoir permis de partir au Costa Rica, pour ta bienveillance et ton amour pudique. Je t'aime.

A mes oncles et tantes,

A Patrick et Nadine, parce que j'adore ces apéros dinatoires à refaire le monde avec vous.

A Sylvie, pour tout ce que je tiens de toi, apparemment.

A Yves et Domino, A Josie

Aux cousins : Nathalie, Sylvain, Mickael, Jérôme et Tom

A mes amis de longue date,

A Leelo, ma lutine, pour cette amitié si belle et si précieuse, pour tout ce qu'on partage malgré nos différences.

A Flo, pour être un peu comme un grand frère pour moi depuis tout ce temps, lo sables.

A Antoine, pour ta présence de près ou de loin depuis si longtemps, à nos mails, nos bagarres, nos idées loufoques, nos ingrédients étranges, nos grands débats sur la vie.

A Antho, pour ces fous rires, ces pitreries, ces fiestas encore à venir.

A Crabounet, pour les soirées à Saou, les pépitos et les cours de philo.

A Max

A la grande famille des vétos,

Pour ne pas trop pleurer j'ai préféré les anecdotes aux déclarations d'amour. Mais vous savez que je vous aime. #coeurcoeur

Aux filles

A Jeannou, mon binôme : A nos virées au Touch, à tes jeux de mots, aux ateliers collage, aux dessins de sang, à ce sauvetage du Gala, à ton air de méchante et ton caractère de gentille, à la grovine, à la charcuteries, à toutes ces choses dites en si peu de mots, à notre amitié.

A Moulée, mon alcoolyte de boum, amie de la première heure : A nos fous rires, à tes regards démunis devant ma maladresse, à ton baized, à notre deuxième maison : la rambarde du Cercle, aux « juste une bière », aux vomis licorne, aux concours de loches, à Freud, à ton grand cœur ... BKLG

A Alma, ma Sunshine : A toutes ces pauses thés/bière qui s'éternisent, à ta blondeur, à ta poésie, à l'immuno, à ton « nanana », à tes petits rires, à tes fringues de roots et ta nouvelle féminité, aux coups de pieds au cul, à Aurillac, à nos discussions animées, à ta présence.

A Cracker's, Belinette coeurcoeur : A ton rire, à ton sens de l'exagération, aux minions, à notre appétit de bonhomme « le gras c'est le goût », à notre trinôme de A4, à la danse l'oasis, à ta geek attitude, à ton foie en carton.

A Anna, notre rayon de soleil : A ta spontanéité, à tes grands écarts, aux films de filles, à tes cocktails, à ton accent, à ton corps en mousse, à tes bonnes adresses (au poil !), aux boumettes de vieilles, aux traquenards, à ta chambre en bordel (tout pareil !), à ton honnêteté.

A Léa, ma voisine, ma co-chèvre : A tes décors de gâteaux, à ton sourire capricieux, à ta niak, à ces discussions qui s'éternisent sur le pas de la porte, aux suçons, à ton âme de cœur d'artichaut, à notre gîte et notre troupeau de biquettes.

A Marine, petite maman : A la piscine, à tes bons petits plats, à ta maniaquerie, au lâcher prise, à Cabrel, à ta doudoune de boum, au papotage, au potinage.

A Diane, ma femme : A ces soirées révisions-bonbons (merciiii pour tous ces rattrapages que tu m'as évité!), au Costa Rica, aux lunettes de boum, aux bon plans, à Ikea.

A Manon, TPM : A nos « petites » pauses qui durent toute l'après-midi, aux discussions qui ne s'arrêtent plus, à tes grands yeux et ta petite taille, au we ski et ton emplâtre dans la neige.

A Kunif : Aux voyages dans la Golf, à nos fous rires et nos confidences, à ta naïveté, à la lorraine, au shnaps (« vive la mariée ! »), à ta saoulté précoce, aux brunchs.

A Dongus : Aux virées en ville, à tous les shooters offerts parce que tu connais tout Toulouse, aux débats philosophiques agités, aux Subway du midi, à ta gestuelle d'italienne.

A Vi : A Champo, au volley (même si j'ai fait qu'un an^^), à ta douceur, au permis de conduire.

A Sophie : A Scoudette la poufiasse, à la bovine en A3, aux apéros chez toi et Kévin.

A Amande : A ta danse de boum désarticulée, à ton sourire.

A Ragotte : Aux sorties shopping, au Charolais (avec bien des sorties j'espère).

A Flo : A ton calme apparent, à ta modestie.

A Julie : Au théâtre, aux repas du mercredi, aux rêves d'ailleurs, à une écorchée vive qui a trouvé son équilibre, au chien le plus peureux de l'ENVT.

A Vicky : A ces quelques boums où on t'a perdu, à Drudru, à ta bouille d'enfant, au marathon des Harry Potter.

Aux copromos

A notre équipe de patrons de bar,

A Carlito : Aux midis au cercle, aux hydrolyses, aux pauses clopes, à la bière des patrons, aux toasts fromage-bacon-œuf, aux schtroumpfs, à ton pantalon léopard et ta danse de chagasse, à ta barbe rousse, à tes gants-mitaines, à la confiance.

A Bla : Aux photos grimaces, au bougonnage, à la cuisine, à tes photos qui saisissent l'instant.

A Caroule : A ta technique infaillible pour récupérer des fûts, à ton calme, à une belle équipe.

A Alexis, le cinquième patron de bar, et le président : A Colette, à la coopé, aux pauses bières-clopes, aux hydrolyses, à ces craquages.

A tous les autres,

A Marco, el guapo : Aux confidences de boum, aux bières belges, aux repas de gros canard-patates, à la moto, à ta peur de l'avion, à tes yaourts de filles, aux sms qui redonnent le sourire.

A la Bouille et la Stabu : **Muhlach** (à ton côté toujours plus, aux calbottes, à ton grand cœur mon petit), **Hugues** (au moment cornéen), **Lecroq, Filou** (le CC quoi !), **Rou, Loïc, Bulot** (à la salsa, à ton côté papa), **Arnold** (à mon lavabo), **Gus** (à la Spi), **Lili** (à ton humour), **Clem**.

Aux grovins : **Doui** (à ces moments au service, aux dossiers bleux, groin groin), **Fagot, Gaubi, Thibaud, Alex, Jojo, Tiff, Val, Anne-Lise, Bibil, Francis, Dusart**, pour l'aliquotage, les V3, les BDCDM et les p'tits dèj du vendredi.

A mes voisines pipelettes : **Amélie** et **Isa**, à ces instants au pas de la porte.

A PE, Katy (à ces discussions au détour d'un virage), **Soai, Clambert** (aux organisations de l'extrême, à tes chaussures de boum), **Marion, Aude, Paul** et **Franck** (aux discussions de l'improbable... b***), **Arilla, Marlène, Mattias, Maud**.

A ceux qui nous ont quittés

A Colette, pour avoir guidé toutes ces Amicales, pour les moments potins, pour sa mémoire incroyable.

A Lulu, que l'on a trop peu connu.

A tous les vétos qui ont participé à ma formation

Aux Cliniques vétérinaires de la Rivière (à Plaisance), du Bocage (à Vallon en Sully), de l'Ecluse (à Vire), et des Charmilles à Secondigny ; pour m'avoir formée et supportée en stage.

A la Clinique vétérinaire de Magellan, pour m'offrir mon premier « vrai boulot ».

SOMMAIRE

SOMMAIRE	13
TABLE DES ILLUSTRATIONS	15
TABLE DES TABLEAUX	15
TABLE DES ABREVIATIONS	16
TABLE DES ANNEXES	16
INTRODUCTION	17
PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	19
1.1. L'huile essentielle de menthe des champs : un analgésique local ?	20
1.1.1. Présentation de l'aromathérapie	20
1.1.1.1. Définition	20
1.1.1.2. Historique	21
1.1.2. Présentation des huiles essentielles	21
1.1.2.1. Procédés d'extraction	21
1.1.2.2. Composition chimique des huiles essentielles	23
1.1.2.3. Législation des huiles essentielles	26
1.1.2.4. Propriétés pharmacologiques et toxicité des huiles essentielles	26
1.1.2.4.1. <i>Propriétés pharmacologiques</i>	26
1.1.2.4.2. <i>Toxicité</i>	28
1.1.2.5. Galénique	29
1.1.3. L'huile essentielle de menthe des champs : synthèse bibliographique	31
1.1.3.1. L'huile essentielle de menthe des champs	31
1.1.3.1.1. <i>Description</i>	31
1.1.3.1.2. <i>Etude bibliographique</i>	32
1.1.3.2. Le menthol	32
1.1.3.2.1. <i>Description</i>	32
1.1.3.2.2. <i>Etude bibliographique</i>	33
1.2. Les vocalises des porcelets : un moyen d'objectiver la douleur	38
1.2.1. Quelques notions de phonétique acoustique	38
1.2.1.1. Définitions et formation des sons	38
1.2.1.1.1. <i>Définitions</i>	38
1.2.1.1.2. <i>Les éléments de la phonation</i>	39
1.2.1.2. Paramètres d'un son	40
1.2.1.3. Représentation d'un son : spectre et sonagramme	42
1.2.2. Structure des vocalises des porcelets	44
1.2.3. Modifications des vocalises liées à la douleur	47

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE	51
2.1. Matériels et méthodes	52
2.1.1. Objectifs de l'étude.....	52
2.1.2. Cadre de l'étude	52
2.1.3. Protocole expérimental.....	52
2.1.3.1. Organisation.....	52
2.1.3.2. Protocole d'évaluation de l'effet analgésique de l'huile essentielle de menthe des champs	53
2.1.3.2.1. <i>Les animaux</i>	53
2.1.3.2.2. <i>Les traitements</i>	53
2.1.3.2.3. <i>Les mesures</i>	54
2.1.4. Traitement des données recueillies	54
2.1.4.1. Critères d'exclusion et d'inclusion	54
2.1.4.2. Mesures	54
2.2. Résultats	57
2.2.1. Résultats bruts.....	57
2.2.2. Statistiques.....	58
2.3. Discussion	58
2.3.1. Protocole.....	58
2.3.2. L'huile essentielle de menthe des champs	59
2.3.2.1. A quelle posologie est-elle la plus efficace ?	59
2.3.2.2. Sur quelles voies de la douleur intervient-elle ?	61
2.3.3. L'utilisation des vocalisations comme moyen d'objectiver la douleur	62
2.3.3.1. Subjectivité de l'interprétation.....	62
2.3.3.2. Autres paramètres à tester en parallèle.....	63
CONCLUSION	65
BIBLIOGRAPHIE	67
ANNEXES	74

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Modélisation d'un alambic.....	22
Figure 2 : Menthe des champs	31
Figure 3 : Structure du menthol	32
Figure 4 : Structure des canaux TRPM8 et modulation par des cascades intracellulaires	34
Figure 5 : Résumé des interactions biochimiques du menthol et de ses conséquences physiologiques	37
Figure 6 : Courbe sinusoïdale représentant un son.....	38
Figure 7 : Formation d'un son par l'appareil phonatoire humain	40
Figure 8 : Représentation d'un son simple et de ses paramètres	41
Figure 9 : Construction d'un son complexe de fréquence fondamentale 110 Hz.....	42
Figure 10 : Signal original, spectres et sonagrammes.....	43
Figure 11 : Modification des harmoniques et des formants (Praat®) en utilisant le son produit par plusieurs voyelles A, E, I et O.....	44
Figure 12 : « Sream » (cris), « squeal » (couinements) et « grunt » (grognement) sur Praat®	45
Figure 13 : Scream (cri) sur Praat®	46
Figure 14 : Squeal (couinement) sur Praat®	46
Figure 15 : 2 grunts (grognements) sur Praat®	46
Figure 16 : Enregistrement complet d'un des porcelets sur Praat®	55
Figure 17 : Détail d'un enregistrement sur Praat®	56
Figure 18 : Répartition des 3 types de vocalises dans les deux lots de porcelets	57

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Répartition des 3 types de vocalises dans les deux lots.....	57
Tableau 2 : Analyse de la variance.....	58
Tableau 3 : Comparaison de posologies et de voies d'administration de l'huile essentielle de menthe ou du menthol.....	60

TABLE DES ABREVIATIONS

HE = huile essentielle

HEF = "higher frequency of highest energy"

TRPM8 = Transient Receptor Potential cation channel subfamily M8

IMAOV = Institut des Médecines Alternatives et Osthéopathie Vétérinaire

AVETAO = Formation vétérinaire en acupuncture et osthéopathie

TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des familles biochimiques et de leurs principales propriétés.....	74
Annexe 2 : Analyse chromatographique de l'huile essentielle de menthe des champs.....	75
Annexe 3 : Protocole expérimental	76
Annexe 4 : Différents enregistrements sur Praat®	79

INTRODUCTION

Les porcelets mâles sont castrés afin d'éviter le risque d'apparition d'odeurs désagréables dans la viande. Cette castration peut être légalement effectuée sans analgésie ni anesthésie lorsque les porcelets ont moins de 7 jours (Directive 2001/93/EC de l'Union Européenne).

Cependant, la castration chirurgicale cause une douleur importante aux porcelets. Plusieurs méthodes ont montré leur efficacité (Prunier et al., 2001 ; Courboulay et al., 2010 et 2012 ; Hanson et al., 2011) pour lutter contre la douleur : soit une anesthésie locale pour lutter contre la douleur per-opératoire, soit une analgésie préemptive (à base d'AINS) pour lutter contre la douleur inflammatoire post-opératoire.

La plupart de ces techniques ont un coût non négligeable (de 0,23 à 0,35 euros par porcelet pour une anesthésie locale et de 0,15 à 0,17 euros par porcelet pour une analgésie de type AINS) et augmentent significativement la durée de la castration (de 40 à 50% pour l'anesthésie locale, et de 20 à 30% pour l'analgésie type AINS) (Courboulay, space 2009).

Pour l'instant, l'analgésie est utilisée pour couvrir la douleur post-opératoire, mais a des effets très limités sur la douleur lors de la castration (Courboulay, 2012).

En parallèle de cet intérêt grandissant de la société pour le bien être animal, nous voyons se développer des « nouvelles médecines », qui après s'être fait leur place dans la médecine humaine, ont trouvé des adeptes en médecine vétérinaire (Broadfoot et al., 2009). Peu de données chiffrées sont disponibles en médecine vétérinaire, mais cette évolution est visible notamment au travers de l'augmentation du nombre d'ouvrages consacrés à ce sujet, et de la création de structures dédiées à la formation des vétérinaires (IMAOV, AVETAO). En effet, de plus en plus de propriétaires d'animaux de compagnie sont demandeurs et cette évolution est aussi constatée dans les élevages, avec notamment les élevages biologiques, dont le nombre est en augmentation, malgré un cahier des charges strict (l'agriculture biologique concerne désormais 3,8% de la SAU française contre 2% en 2007 selon le Ministère de l'Agriculture, et en région Midi-Pyrénées le nombre de têtes en élevage biologique a augmenté de 50% en 5 ans (de 40 000 à 65 000 bêtes)).

Nous avons choisi dans cette étude de mettre en parallèle ces deux points, en se tournant vers l'aromathérapie. Ainsi, l'objet du présent projet est d'évaluer l'efficacité analgésique per opératoire de l'huile essentielle de menthe des champs en application topique avant la castration. L'outil choisi pour objectiver la douleur est l'étude des vocalises des porcelets pendant leur castration.

Dans une première partie, nous aborderons les bases de l'aromathérapie, en nous concentrons plus particulièrement sur l'huile essentielle de menthe des champs et ses propriétés. Dans cette partie nous aborderons aussi les bases de l'acoustique, et l'intérêt des vocalises des porcelets comme moyen d'objectiver la douleur.

Dans une deuxième partie, nous rapporterons le travail expérimental effectué, avant de discuter les modes d'action de l'huile essentielle de menthe des champs et l'utilisation des vocalises comme moyen d'objectiver la douleur.

PREMIERE PARTIE : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. L'huile essentielle de menthe des champs : un analgésique local ?

1.1.1. Présentation de l'aromathérapie

Plusieurs ouvrages ont été utilisés pour réaliser cette partie :

AFSSAPS (2008). Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles

BAUDOUX D. (2011). L'aromathérapie, se soigner par les huiles essentielles. Amyris. 255 p. ISBN 978-2-9303-5361-6

BAUDRY F., DEBAUCHE P., BAUDOUX D. (2004). Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'école française, Volume 3 : Vétérinaire, Bovins. L'aromathérapie professionnellement. 314 p. ISBN 2-919905-26-0

BERIGAUD B. (2002). B.-A. BA Aromathérapie. Pardès. 127 p. ISBN 2-86717-296-2

DEBAUCHE P. (2008). Guide pratique d'Aromathérapie chez l'animal de compagnie. 174 p. ISBN 2-919905-39-2

FRANCHOMME P., JOLLOIS R., PENOEL D. (2001). L'aromathérapie exactement. Roger Jollois. 490 p. ISBN 2-87819-001-7

GROSMOND G. (2001). L'aromathérapie. Bulletin des GTV, Hors série Agriculture biologique, 146-148

1.1.1.1. Définition

L'aromathérapie se définit comme l'usage des huiles essentielles à des fins thérapeutiques. C'est une méthode naturelle qui repose sur l'activité des molécules biochimiques des huiles essentielles.

Selon la pharmacopée européenne, une huile essentielle est : « un produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de sa phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition. »

1.1.1.2. Historique

On retrouve des traces historiques de l'utilisation des huiles essentielles dans plusieurs civilisations : en Inde (médecine ayurvédique), en Chine, en Egypte (notamment lors des embaumements), dans la Grèce antique (Hippocrate), au Moyen Orient (mise au point du procédé alchimique de distillation vers l'an 1000), et jusqu'au Moyen-âge (au XV^{ème} siècle, les apothicaires s'appellent les « aromateri »). Cette médecine tombe ensuite dans l'oubli, jusqu'au XX^{ème} siècle.

Le terme « Aromathérapie » a été utilisée pour la première fois par le chimiste français René-Maurice Gattefossé en 1928, il signifie littéralement « thérapie par les substances aromatiques et volatiles ».

Dans le domaine vétérinaire, les premières traces importantes d'utilisation d'extraits concentrés de plantes remontent au XVIII^{ème} siècle, par les vétérinaires de l'Ecole de cavalerie française (Gasparin, 1817). Depuis, cette médecine « alternative » se développe (il existe de plus en plus de spécialités à base d'huiles essentielles chez différents laboratoires : Vetoquinol, Greenpex, Alizes gestion, Loen, LDCA ; DMV 2013) : en élevage, suite notamment aux restrictions de plus en plus nombreuses et à l'émergence de l'agriculture biologique ; et pour les animaux de compagnie, suite à l'intérêt croissant des propriétaires pour les thérapies naturelles, pour eux (OMS, 16 mai 2002) et leurs animaux.

De nombreuses études ont été menées démontrant l'efficacité des huiles essentielles dans plusieurs domaines (Duraffourd, Franchomme, Baudoux...). Mais même si l'utilisation de l'aromathérapie est en expansion, le frein principal à son développement est l'absence de législation et, de ce fait, la mauvaise utilisation qui en est parfois faite (les huiles essentielles ont une toxicité non négligeable si elles sont mal employées).

1.1.2. Présentation des huiles essentielles

1.1.2.1. Procédés d'extraction

Parmi les très nombreuses espèces végétales, moins de 10% sont qualifiées d'aromatiques, c'est-à-dire qui contiennent des structures glandulaires et/ou des systèmes de production et d'excrétion d'essences aromatiques volatiles.

- *Entrainement à la vapeur d'eau, ou distillation*

Cette méthode consiste à faire passer au travers d'un matériel végétal aromatique de la vapeur d'eau sous très faible pression. La vapeur d'eau fait éclater les poches aromatiques des plantes et fait entrer les molécules aromatiques en phase gazeuse ; celles-ci sont alors entraînées par le flux de vapeur d'eau vers la seconde partie de l'alambic, où la vapeur aromatique va être condensée lors de son passage dans un serpentin baignant dans de l'eau froide. La condensation sépare naturellement l'eau et l'huile essentielle, qui ne sont pas miscibles à l'état liquide. L'huile essentielle, moins dense que l'eau, se récolte dans le surnageant.

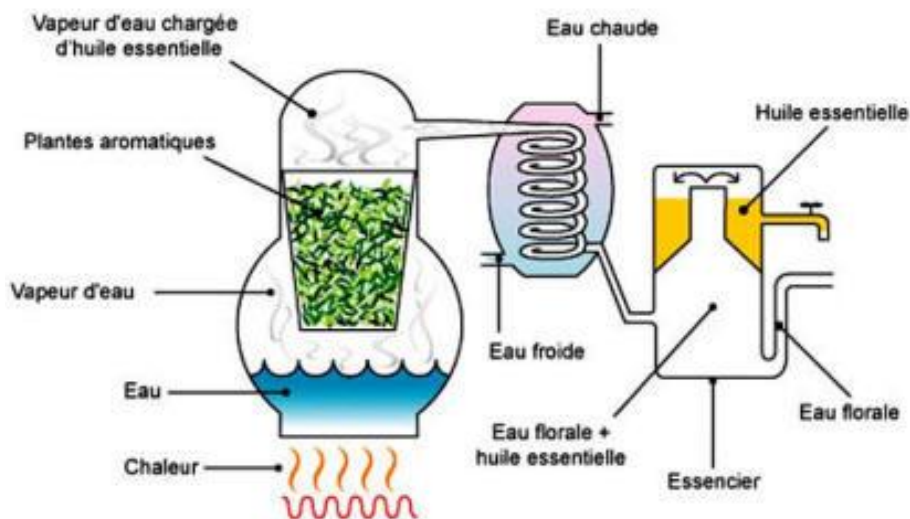


Figure 1 : Modélisation d'un alambic

Source : union-nature.com

- *Expression à froid*

Cette méthode ne concerne que les fruits de *Citrus* (Rutacées). La méthode consiste à faire éclater les poches à essences contenues dans le zeste frais du fruit. Après éclaircissement, on obtient un liquide homogène que l'on appelle essence (il n'y a pas de modification de la structure biochimique lors du procédé d'extraction).

Les huiles essentielles sont donc des molécules pures, sans adjuvants.

1.1.2.2. Composition chimique des huiles essentielles

- *Composition complexe*

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes et variables de plusieurs molécules qui appartiennent à différentes familles chimiques. Selon les molécules présentes en plus grande proportion, et la famille biochimique de ces molécules, les propriétés principales des huiles essentielles sont différentes. [Annexe 1 : tableau récapitulatif]

Voici les principales familles avec les molécules les plus fréquentes, et leurs propriétés principales :

- **Les monoterpènes** (limonène, myrcène, paracymène)

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures produits par de nombreuses plantes, en particulier les conifères. Ce sont les composants majeurs de la résine et de l'essence de térébenthine produite à partir de résine. Leur squelette de carbone est constitué d'unités d'isoprène reliées linéairement. C'est ce que l'on appelle la règle de l'isoprène. Ces squelettes peuvent être arrangés de façon linéaire ou bien former des cycles.

Les principales propriétés des monoterpènes sont : décongestionnant respiratoire, lymphotonique, expectorant et « cortisone-like ». Ce sont des molécules dermocaustiques et néphrotoxiques pour les animaux souffrant d'insuffisance rénale.

- **Les sesquiterpènes** (chamazulène, germacrène D, farnésène)

Ces molécules sont rares et les huiles qui les contiennent trouvent de larges applications dans les pathologies allergiques et inflammatoires, étant donné leurs propriétés anti-inflammatoires, calmantes et parfois antiprurigineuses. Elles ne sont pas toxiques à dose physiologique.

- **Les alcools terpéniques** (linalol, menthol, thujanol)

En chimie organique, un alcool est un composé organique dont l'un des carbones (celui-ci étant tétraédrique) est lié à un groupe hydroxyle (-OH).

Les alcools terpéniques (les plus communs dans les HE) sont de bons anti-infectieux, sans toxicité à dose physiologique.

- **Les esters** (acétate de néryle, acétate de terpényle, acétate d'eugényle)

Les esters ont deux chaînes carbonées séparées par un atome d'oxygène. Ils ont souvent des odeurs caractéristiques.

Ces molécules ont d'importantes propriétés spasmolytiques, neurotropes, musculotropes et anti-inflammatoires, et ne sont pas toxiques aux doses thérapeutiques.

- **Les aldéhydes terpéniques** (néral, géraniol)

Les aldéhydes font partie de la famille des composés carbonylés, dont l'un des atomes de carbone primaire de la chaîne carbonée porte un groupement carbonyle. Ils sont utilisés en parfumerie. Les aldéhydes peuvent être terpéniques, ou aromatiques.

Les aldéhydes terpéniques sont de bons anti-inflammatoires et sédatifs. Leur aspect irritant pour la peau et les muqueuses amène à les utiliser dilués dans de l'huile végétale.

- **Les oxydes terpéniques** (1,8 cinéole, ascaridole)

On définit un oxyde comme un composé chimique constitué d'oxygène avec un autre élément chimique moins électronégatif.

Leurs propriétés antibactériennes, antivirales, décongestionnants respiratoires et expectorantes expliquent leur utilisation importante pour lutter contre les infections respiratoires. Le plus répandu est le 1,8 cinéole.

- **Les cétones** (thujone, menthone, pinocarvone)

Une cétone est un composé organique, faisant partie de la famille des composés carbonylés, dont l'un des carbones secondaires porte un groupement carbonyle.

Ces molécules sont intéressantes pour leurs propriétés mucolytiques, antifongiques, antiparasitaires et antivirales, malgré une toxicité relative qui doit amener à les utiliser avec précaution.

- **Les phénols** (thymol, eugénol, carvacrol)

Ce sont des composés aromatiques portant un groupe hydroxyle directement lié à un carbone du cycle aromatique.

Ce sont d'excellents anti-infectieux, qui sont employés sur de courtes périodes et à de faibles doses en raison de leur action irritante sur les muqueuses et la peau (pas d'administration cutanée).

- **Les lactones** (achillone, costunolide)

Une lactone est un hétérocycle oxygéné, provenant de la cyclisation (ou lactonisation) d'hydroxy-acides. Ces molécules sont présentes dans plus de 120 produits alimentaires (fruits, légumes, produits laitiers, viandes...).

Elles ont des propriétés mucolytiques, antifongiques, antiparasitaires, cholérétiques et hépatostimulantes. Leur neurotoxicité est relative en raison de leur très faible pourcentage dans les huiles essentielles.

- **Les coumarines** (limettine, herniarine)

Ces composés possèdent des hydroxyles phénoliques qui peuvent être méthylés ou être engagés dans des liaisons hétérosides. Plus d'un millier de coumarines naturelles ont été décrites. Elles sont très largement distribuées dans le règne végétal.

Ce sont de très puissants sédatifs et anticoagulants, qui sont présents en faible quantité dans les huiles essentielles.

- *Composition variable*

Trois facteurs principaux sont à l'origine de cette variabilité :

- L'espèce botanique
 - La partie de la plante distillée
 - Le chémotype
- } Critère botanique
- } Critère analytique

Le chémotype permet de définir la (les) molécule(s) biochimiquement active(s) sur un certain nombre de maladies cliniquement étudiées. Une même plante aromatique, botaniquement définie, synthétise une essence qui sera biochimiquement différente selon le biotope dans laquelle elle se développe (ensoleillement, altitude, nature du sol, conditions climatiques ...).

Prenons pour exemple l'huile essentielle de thym vulgaire (*Thymus vulgaris*), qui compte plusieurs chémotypes (CT) :

Thymus vulgaris CT thujanol : son huile essentielle aux propriétés anti-infectieuses a, de plus, une action régénératrice des cellules hépatiques. Très sûre d'emploi.

Thymus vulgaris CT thymol : fortement antibactérienne, son huile essentielle est aussi caustique pour la peau et hépatotoxique à doses élevées et prolongées.

Ainsi, l'étiquette d'une huile essentielle doit comporter les informations suivantes : le nom commun, le nom latin (dénomination botanique scientifique), la partie de la plante, le chémotype s'il y a lieu, et la mention HECT (huile essentielle chémotypée, c'est-à-dire botaniquement et chimiquement définie).

1.1.2.3. Législation des huiles essentielles

- *Vente*

D'après le Code de la Santé Publique (Décret n° 2007-1198), et à l'exception de quelques unes (voir liste ci-dessous) toutes les huiles essentielles sont en vente libre. La vente est réservée aux pharmaciens pour les huiles suivantes : grande absinthe (*Artemisia absinthium*), petite absinthe (*A. pontica*), armoise commune (*A. vulgaris*), armoise blanche (*A. herba alba*), armoise arborescente (*A. arborescens*), chénopode vermifuge (*Chenopodium ambrosioides* et *C. anthelminticum*), hysopie (*Hyssopus officinalis*), moutarde jonciforme (*Brassica juncea*), rue (*Ruta graveolens*), sabine (*Juniperus sabina*), sassafras (*Sassafras albidum*), sauge officinale (*Salvia officinalis*), tanaïs (*Tanacetum vulgare*), thuya du Canada alias cèdre blanc (*Thuja occidentalis*) et cèdre de Corée (*T. Koraenensis*), dits "cèdre feuille", thuya (*T. plicata*).

- *Contrôle*

Actuellement, les huiles essentielles en vente libre ne font l'objet d'aucun contrôle officiel, mais certaines huiles essentielles font l'objet de monographies de la Pharmacopée, qui permet un contrôle strict de leur qualité (dosage de l'huile et de ses composants, chromatographie, pic de réfraction...).

De plus, la décision DG n°2013-242 de l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament) datant du 14 août 2013 stipule la mise en place d'un comité français de la Pharmacopée « plantes médicinales et huiles essentielles », chargé notamment de participer à l'élaboration des monographies, en détaillant précisément les méthodes de contrôle.

1.1.2.4. Propriétés pharmacologiques et toxicité des huiles essentielles

1.1.2.4.1. Propriétés pharmacologiques

Les propriétés des huiles essentielles ont déjà été citées lors de l'énumération des différentes familles de molécules. On peut les résumer comme suit :

- Propriétés anti-infectieuses et immunostimulantes

Les propriétés antibactériennes des HE sont les plus étudiées, notamment avec la mise au point des aromagrammes (l'équivalent d'un antibiogramme pour tester l'efficacité antibactérienne des huiles essentielles). Les familles de molécules les plus puissantes sont les phénols, puis les monoterpénols, et les aldéhydes terpéniques. (Solorzano-Santos et al., 2012).

Les HE ont aussi des propriétés antifongiques, antivirales (Astani et al., 2010), antiseptiques et antiparasitaires.

- Propriétés anti-inflammatoires (Cassia da Silveira et al., 2013), antiallergiques et antihistaminiques (aldéhydes terpéniques)

- Propriétés anti-catarrhales

Citons notamment des propriétés expectorantes (1,8-cinéole), mucolytiques (cétones) et lipolytiques (certaines cétones)

- Propriétés neurotropes

Les phénols méthyls-éthers ont d'importantes propriétés antispasmodiques (Blanco et al., 2013). Certains esters semblent présenter des propriétés anti-arythmiques, même si peu d'études sont disponibles à ce sujet.

Concernant les propriétés antalgiques, analgésiques et anesthésiantes, de nombreux principes aromatiques sont indiqués : l'eugénol est connu pour traiter les algies dentaires, le menthol quand à lui est beaucoup utilisé lors d'algies céphaliques, et son effet « réfrigérant » semble aussi très efficace pour calmer la douleur due à un choc. Citons de plus les aldéhydes aromatiques, les phénols terpéniques et les monoterpènes (Guimarães et al., 2013 ; De Sousa, 2011).

- Propriétés endocrinorégulatrices

Parmi celles-ci, citons des propriétés « oestrogen-like » (Hu et al., 2007), « cortison-like », anti-surréaliennes, stimulantes thyroïdiennes et anti-thyroïdiennes (sesquiterpénols).

- Propriétés vasculotropes et hématotropes

Cette catégorie regroupe de nombreuses propriétés : décongestionnant veineux (sesquiterpènes), hypotensives (citrals, coumarines), hypertensives (phénols, menthol), hémostatiques, anticoagulants (coumarines), « vitamine P-like » (essence de citron), phlébotoniques et lymphotoniques (sesquiterpénols et diterpénols).

- Propriétés digestives

Certaines molécules présentent des propriétés eupeptiques (le cuminal et l'anéthole stimulent les glandes digestives) et cholagogues (menthone, carvone), hépatostimulantes (menthol, thujanol 4).

- Propriétés toniques et stimulantes

Citons notamment les phénols, les alcools et les terpènes.

- Propriétés litholytiques

Ceci concerne principalement les aldéhydes terpéniques.

- Propriétés cicatrisantes

Les cétones possèdent un pouvoir cicatrisant accélérant la réparation cellulaire (Woolard et al., 2007).

- Autres propriétés

De nombreuses autres propriétés sont décrites au sein de chaque monographie.

Ainsi certaines huiles essentielles auraient des propriétés anti-cancéreuses, qui découleraient d'autres propriétés (antioxydant, anti-mutagénique, immunomodulante...) (Bhalla et al., 2012 ; Bakkali et al., 2008). De plus, leur utilisation est très intéressante en thérapie adjuvant lors d'un traitement anti-cancéreux (Boehm et al., 2012).

1.1.2.4.2. Toxicité

Cet aspect des huiles essentielles est d'autant plus important que la pratique croissante de l'aromathérapie ainsi que la connotation « produit naturel » attaché à ces produits peut conduire à une utilisation abusive (et donc dangereuse).

N'oublions pas que toute substance thérapeutiquement active est potentiellement toxique, tout dépend de la dose, unitaire ou journalière, de la voie d'administration, de l'état du patient, de la personne à qui on administre cette substance....

- Photosensibilisation

L'application cutanée d'essences et d'huiles essentielles contenant des furo- et pyrocoumarines provoque chez l'homme, sous exposition solaire, des réactions érythémateuses. L'absorption orale

de ces mêmes substances peut également provoquer cet effet secondaire mais à un degré moindre. Toutes les essences de zestes de *Citrus* augmentent le risque de photosensibilisation.

- Dermocausticité

Les huiles essentielles riches en phénols, aldéhydes aromatiques et terpéniques sont irritantes pour la peau et surtout pour les muqueuses : leur application par voie cutanée doit toujours se faire en dilution dans une huile végétale (maximum 20%).

- Allergies

Les lactones sesquiterpéniques, l'aldéhyde cinnamique, les phénylpropanoïdes et les hydroperoxydes sont les principales molécules responsables de phénomènes allergiques.

Dans tous les cas, une huile essentielle ne doit pas être utilisée quotidiennement sur de longues périodes, sous peine de voir se développer une réaction d'intolérance.

- Néphrotoxicité

L'absorption orale d'huiles essentielles riches en monoterpènes sur de longues durées peut enflammer et détériorer les néphrons.

- Hépatotoxicité

Une certaine toxicité hépatique se manifeste avec les huiles essentielles à phénols sur de longues périodes et à doses élevées : leur emploi et donc préconisé soit sur une durée prolongée (6 mois) à des doses faibles, soit sur une durée courte (15 jours) à des doses élevées.

- Neurotoxicité et action abortive

Ces toxicités concernent surtout les cétones, qui sont des molécules très intéressantes sur le plan thérapeutique, mais qui doivent être manipulées avec une grande délicatesse et une parfaite connaissance de leurs effets.

1.1.2.5. Galénique

- **La voie orale**

C'est la voie la plus utilisée en médecine humaine.

Il est contre-indiqué d'administrer des huiles essentielles pures par voie orale à des animaux (fragilité des muqueuses). On peut ainsi les administrer par voie orale des manières suivantes :

- Diluées dans des huiles végétales (5 à 25%) : les HE sont solubles dans les huiles végétales, et celles-ci tamponnent très bien l'agressivité occasionnelle de certaines molécules.
- Dans du miel : l'avantage de celui-ci, en plus de tamponner, est d'augmenter ainsi l'appétence.
- Dans des gélules : l'avantage d'incorporer des HE dans des capsules de gélatine est d'en atténuer fortement le goût et l'odeur, et de faciliter l'administration.

- **La voie cutanée**

Les huiles essentielles sont lipophiles et pénètrent facilement les différentes couches de l'épiderme et du derme, avant de diffuser dans la microcirculation périphérique puis la circulation générale.

L'application cutanée a donc une action locale, mais aussi systémique.

On peut les appliquer pures, pour celles ne présentant pas d'effets dermocaustiques, ou diluées (dans de l'huile végétale, du gel ou des crèmes).

- **Diffusion d'huiles essentielles**

La voie aérienne est très intéressante en élevage industriel, notamment pour les pathologies respiratoires.

Ainsi, l'utilisation d'huiles essentielles semble être une méthode avec un important potentiel thérapeutique. L'état actuel des connaissances doit toute fois amener à les utiliser avec prudence, afin de maximiser leur intérêt thérapeutique, tout en minimisant leur possible toxicité.

Concernant notre étude, nous recherchons une huile essentielle aux propriétés analgésiques, sur le conseil d'un vétérinaire aromathérapeute, nous nous orientons vers l'huile essentielle de menthe des champs.

1.1.3. L'huile essentielle de menthe des champs : synthèse bibliographique

1.1.3.1. L'huile essentielle de menthe des champs

1.1.3.1.1. Description

La menthe des champs (*Mentha arvensis*) est une espèce de menthe qui appartient à la famille des Lamiacées. C'est une plante herbacée à forte odeur aromatique, de 10 à 60 cm, avec des fleurs verticillées situées à l'aisselle des feuilles. Les feuilles sont ovales, pointues et dentées. Cette plante vivace fleurit de juillet à septembre et elle est observée dans les fossés, les marécages et les prairies humides.



Figure 2 : Menthe des champs

L'huile essentielle de menthe des champs est obtenue à partir de la distillation de la partie aérienne de la plante. Cette huile est constituée en majorité de (-)-menthol (molécule de la famille des monoterpénols, 30-40%) et de (-)-menthone (molécule de la famille des monoterpénones, 10-15%) [Annexe 2 : Analyse chromatographique de l'huile essentielle de menthe des champs utilisée dans l'expérience].

1.1.3.1.2. Etude bibliographique

Peu d'études concernant les propriétés analgésiques de l'huile essentielle de menthe des champs sont disponibles. Toutefois, cette huile est proche de celle de la menthe poivrée (*Mentha piperata*), laquelle a été étudiée, notamment dans le traitement des maux de tête.

Une première étude (Göbel et al., 1995), faisant intervenir 32 patients sains, lors d'une expérience en double aveugle, contrôlée par un placebo, a conclu à un effet analgésique significatif du mélange huile essentielle de menthe poivrée – éthanol par voie locale (application cutanée au niveau des tempes et du front).

Une deuxième étude (Göbel et al., 1996) évalue l'efficacité du même mélange (HE de menthe poivrée et éthanol), dans une expérience en double aveugle, contrôlée par un placebo et faisant intervenir 41 patients sains (164 maux de têtes). Cette étude évalue aussi l'efficacité de l'acétaminophène et conclut à la même efficacité analgésique entre 1g d'acétaminophène par voie orale et une solution d'éthanol à 10% d'huile essentielle de menthe poivrée par voie locale.

Les propriétés des huiles essentielles découlant directement des molécules qui les composent, il semble important de s'intéresser à ces molécules indépendamment, malgré les possibles effets synergiques entre les différentes molécules. Concernant l'HE de menthe des champs, le principal composant est le menthol.

1.1.3.2. Le menthol

1.1.3.2.1. Description

Le menthol ($C_{10}H_{20}O$) est un monoterpénol. L'isomère présent dans l'HE de menthe des champs, qui est l'isomère actif, est le (-)- menthol, ou 5-méthyl-2-(1-méthyléthyl)-cyclohexan-1-ol ou (1R,2S,5R)-2-isopropyl-5-méthylcyclohexanol.

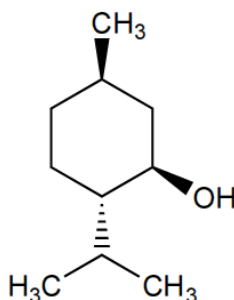


Figure 3 : Structure du (-)- Menthol

Le menthol est une molécule liposoluble, qui traverse donc facilement la peau. Chez les humains, le menthol est métabolisé dans le foie par le système enzymatique des cytochromes P450 : il subit des hydroxylations et des oxydations, avant d'être conjugué avec un glucuronide, afin de circuler vers les reins et d'être excrété par voie urinaire.

1.1.3.2.2. Etude bibliographique

Le menthol est connu depuis longtemps pour son effet « rafraichissant », expliquant son utilisation dans des chewing-gums, bonbons, dentifrices etc. Plusieurs études sont consacrées à ses propriétés biochimiques : comment provoque-t-il cet « effet froid » ? Par quel mécanisme ? A-t-il des propriétés analgésiques ? Si oui sur quelles voies de la douleur intervient-il ?

- Blocage des canaux à calcium

La sensation de froid et de chaud est déterminée par l'activité des thermorécepteurs. Il a été montré que la concentration de calcium autour des thermorécepteurs modifie la perception de la température (Schäfer et al., 1982). En effet, c'est la circulation des ions Ca^{2+} à travers la membrane cellulaire des thermorécepteurs qui détermine la polarisation de la cellule et la création de potentiels d'action. La sortie de cations Ca^{2+} du thermorécepteur à froid entraîne l'hyperpolarisation de celui-ci et inhibe la création de potentiels d'action, ce qui provoque la sensation de froid (Eccles, 1994). Le menthol exercerait son « effet froid » en interférant avec le mouvement des ions calcium à travers la membrane intercellulaire. Cet effet est suggéré par une étude, qui a montré qu'une injection intraveineuse de menthol en faible concentration entraînait la dépolarisation de la membrane des thermorécepteurs, en inhibant l'efflux d'ions calcium de la cellule (Schäfer et al., 1986).

- Activation des canaux TRPM8, détecteurs des stimuli du froid dans les neurones sensitifs

Les canaux TRPM8 (Transient Receptor Potential Mélastatin-8) sont des canaux à cations (calcium et sodium) activés par des températures faibles (en dessous de 25°C), et qui entraînent ainsi la dépolarisation des cellules nerveuses et la création de potentiels d'action, responsables de la sensation de froid (Macpherson et al., 2006 ; Farco et al., 2013).

Ces protéines sont activées par des températures basses, mais aussi par des molécules chimiques, dont le menthol.

Les canaux TRPM8 sont présents dans les thermorécepteurs et possiblement les nocicepteurs, mais aussi dans des tissus non sensoriels, comme le foie et la prostate. Leur expression est modifiée lors de blessures nerveuses et dans des états inflammatoires chroniques (Babes et al., 2011).

Ainsi, des applications cutanée de menthol sur un site douloureux produit la même sensation que l'application cutanée de glace pilée, ainsi que le même effet sur la diminution du débit sanguin artériel (Topp et al., 2011).

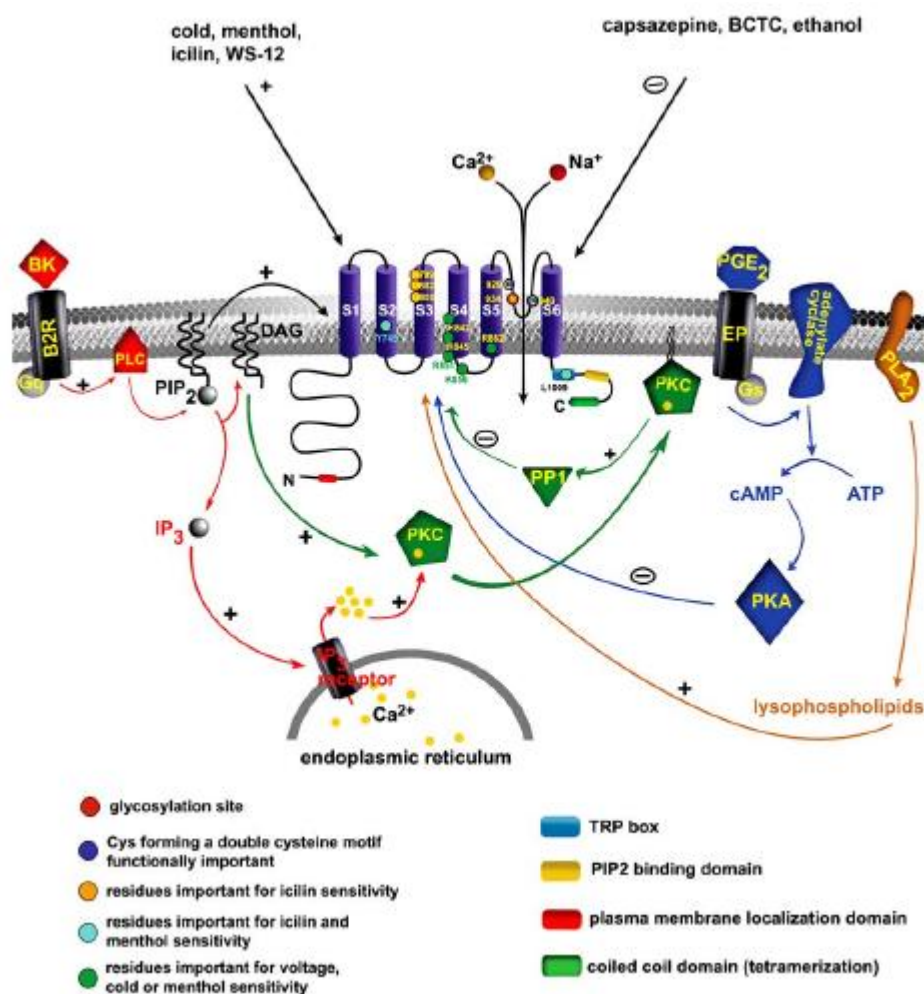


Figure 4 : Structure des canaux TRPM8 et modulation par des cascades intracellulaires

Source : Babes et al., 2011

- Effet analgésique

L'effet « rafraichissant » du menthol étant admis, et son mode d'action étant exploré, on peut se demander si cet effet « froid » suffit à produire un effet analgésique.

Une équipe de chercheurs (Galeotti et al., 2002) étudie l'effet anti-nociceptif du menthol sur des souris soumises à un stimulus douloureux thermique, et chimique. La nociception est une fonction défensive, d'alarme. C'est l'ensemble des phénomènes permettant l'intégration au niveau du système nerveux central d'un stimulus douloureux via l'activation des nocicepteurs (récepteurs à la douleur) cutanés, musculaires et articulaires. Le transport de l'information sensorielle par les nerfs se fait de la périphérie (lieu du ressenti de la douleur) jusqu'à l'encéphale. Il faut que la stimulation dépasse un certain seuil pour qu'il y ait un déclenchement d'une réponse électrique, c'est la théorie du "gate control". Dans cette étude le stimulus douloureux thermique est modélisé par le test du « plat chaud » : une dose croissante de menthol a été administrée aux souris (quantité égale, concentration différente) par voie orale, et leur temps de réaction pour se soustraire au plat chaud a été mesuré. Il en découle que le menthol augmente significativement le seuil de douleur (auquel les souris se soustraient lors de stimulus douloureux), d'une manière dose-dépendante.

Le stimulus douloureux chimique est quant à lui modélisé par une injection intra-péritonéale d'acide acétique. De la même façon le menthol, administré dans ce cas en intracérébral, a montré un effet anti-nociceptif significatif. Cette deuxième expérience a aussi permis de montrer l'activité analgésique centrale du menthol (même efficacité après administration par voie orale ou en intracérébral).

Pour confirmer l'action analgésique du menthol au niveau central, une autre étude (Pan et al., 2012) a évalué les effets de celui-ci sur l'hyperalgie thermique provoquée par l'injection d'adjuvant incomplet de Freund dans les coussinets de souris. Les résultats révèlent que le menthol administré en intracérébral réduit significativement la douleur à la fois dans les membres latéral et controlatéral, démontrant un effet analgésique sur les douleurs inflammatoires, et une action au niveau du système nerveux central.

- Blocage des canaux à sodium

Les canaux sodium voltage-dépendants sont cruciaux pour la phase initiale du potentiel d'action des cellules excitables, et l'inactivation de ces canaux est un des premiers mécanismes impliqués dans les effets d'un analgésique local (Butterworth and Strichartz, 1990).

Une étude (Gaudioso et al., 2012) montre que le menthol agit aussi sur les canaux sodium voltage-dépendant dans les cellules nerveuses, agissant dans ce cas directement sur les voies nociceptives. Le menthol agit préférentiellement sur des canaux inactivés (Gaudioso et al., 2012 ; Pan et al., 2012), et il agit sur ces canaux au niveau périphérique et central (neurones de la moelle épinière).

Nous avons vu précédemment que le menthol était un activateur des canaux TRPM8, canaux spécifiques des thermorécepteurs à sodium et calcium, mais certaines études ont montré que le menthol agissait aussi sur des canaux à sodium et calcium indépendamment des canaux TRPM8 (Gaudioso et al., 2012 ; Kawasaki et al., 2013).

- Autre cibles biologiques

Lors de l'investigation de l'effet du menthol suite à une injection intra-péritonéale d'acide acétique, il a été montré que la naloxone (antagoniste opioïde non sélectif) et le nor-NBI (κ -antagoniste sélectif) sont des antagonistes du menthol : leur présence inhibe l'effet analgésique du menthol. Ainsi, le menthol induit une analgésie en activant le système central κ -opioïde (Galeotti et al., 2002).

Deux autres études ont montré que le menthol activait également les récepteurs GABA_A, canaux chlorures ionotropes (Zhang et al., 2008 ; Pan et al., 2012).

Cependant, une étude récente (Liu et al., 2013) a montré que, chez des souris TRPM8 délétées, le menthol ne produisait plus aucun effet analgésique, ce qui laisserait supposer que son action sur ses autres cibles (canaux à sodium et calcium, récepteurs opioïdes et récepteurs GABA_A notamment) dépendrait directement de son interaction avec les canaux TRPM8, ou que ces cibles entreraient en jeu seulement dans des situations particulières.

Conclusion :

Ainsi, le menthol, principal composant de l'huile essentielle de menthe des champs, a montré avoir des propriétés analgésiques, aidant à lutter contre les douleurs aiguës, neuropathiques et inflammatoires.

Cette molécule liposoluble, qui traverse donc facilement la peau, a montré son efficacité en application cutanée, intracérébrale ou intra-péritonéale.

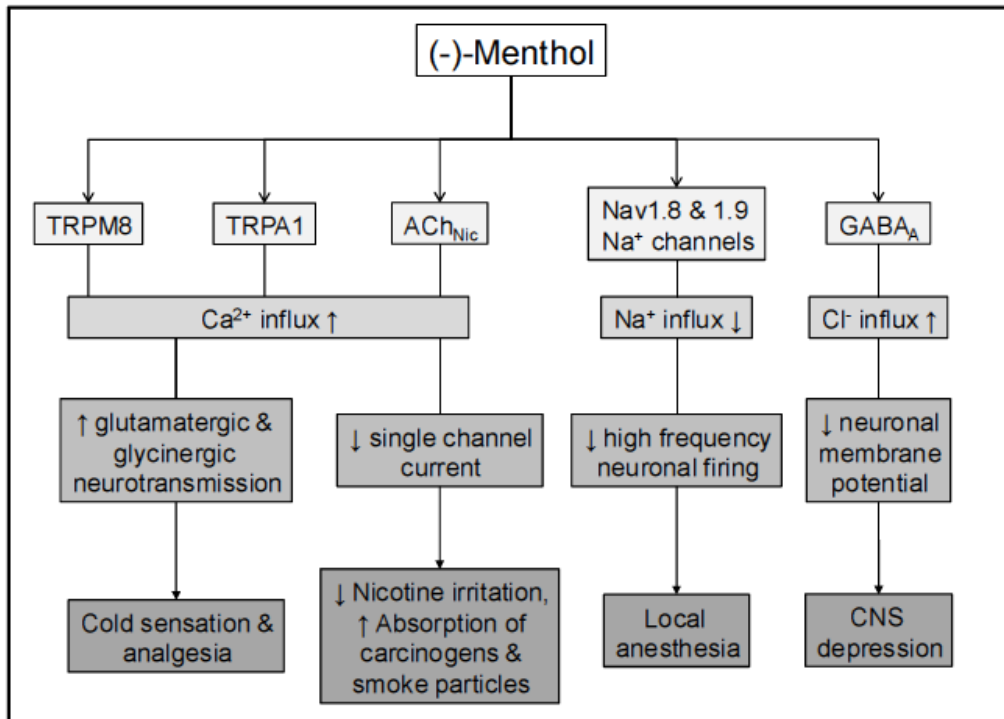


Figure 5 : Résumé des interactions biochimiques du menthol et de ses conséquences physiologiques

Source : Farco et al, 2013

1.2. Les vocalises des porcelets : un moyen d'objectiver la douleur

1.2.1. Quelques notions de phonétique acoustique

Les notions développées proviennent des cours de Pascal Gaillard, professeur de psycho acoustique à l'Université du Mirail, Toulouse et de plusieurs sites consultés sur le web

- Université de Lausanne. Cours de phonétique [en ligne]. Disponible sur : <http://www.unil.ch/ling/page12585.html> . Consulté le 02/08/2013.
- Université Laval. Phonétique [en ligne]. Disponible sur : http://www.ciral.ulaval.ca/phonetique/connaissances/phonetic_generale/acoustique. Consulté le 02/08/2013
- Université Lumière Lyon 2. Phonétique acoustique [en ligne]. Disponible sur : www.cyberphon.ish-lyon.cnrs.fr. Consulté le 02/08/2013
- Simon Fraser University, Canada. Phonétique en français [en ligne]. Disponible sur : http://www.sfu.ca/fren270/phonetique/page3_1.html#start . Consulté le 05/05/2013
- Université de Montréal. Cours de Claude Gabriel [en ligne]. Disponible sur : www.claudegabriel.be . Consulté le 05/08/2013

1.2.1.1. Définitions et formation des sons

1.2.1.1.1. Définitions

Les sons correspondent à un phénomène physique : l'onde sonore. Une onde est une perturbation qui se propage dans un milieu élastique. La source sonore entraîne des variations de pression du milieu (dans notre cas, de l'air), qui sont perçues par notre oreille. Lors de ces perturbations, les particules d'air sont en mouvement et oscillent autour de leur position d'équilibre. Un son simple est donc représenté par une courbe sinusoïdale.

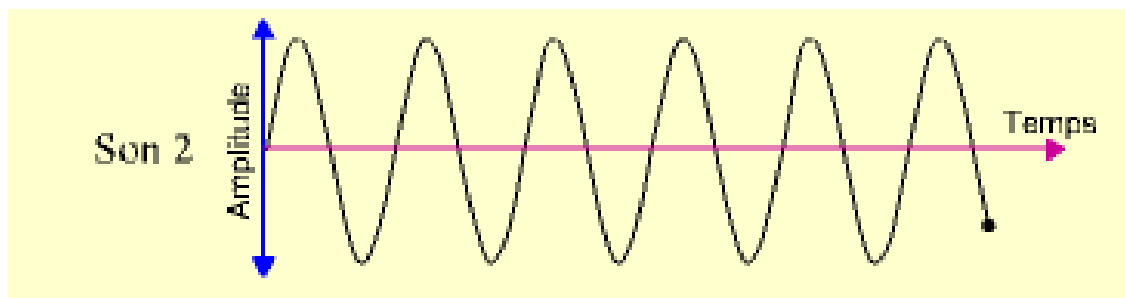


Figure 6 : Courbe sinusoïdale représentant un son

Source : Université Lumière Lyon 2

1.2.1.1.2. Les éléments de la phonation

D'un point de vue fonctionnel, l'appareil phonatoire humain ou animal peut se décomposer en deux systèmes : une source de son, elle-même composée d'une soufflerie et d'un vibreur, et un résonateur.

- La soufflerie

La soufflerie produit le déplacement d'air et apporte de l'énergie au système.

Celle-ci correspond à l'appareil respiratoire : le diaphragme, les poumons et la trachée.

- Le vibreur (ou exciteur)

Le vibreur produit une onde périodique. Il correspond au larynx, composé notamment des cordes vocales, qui vibrent et produisent ainsi un son. L'onde source produite par la vibration des cordes vocales est une onde périodique, avec une fréquence fondamentale et des harmoniques.

- Le résonateur

Le résonateur propage et déforme le son.

Dans l'appareil phonatoire humain ou animal, il y en a plusieurs : le pharynx, la cavité buccale et les cavités nasales.

Le spectre du son émis par les cordes vocales est modifié par la forme et le volume des résonateurs, qui agissent comme un filtre : certaines fréquences sont amplifiées, et d'autres sont atténuées.

En résumé :

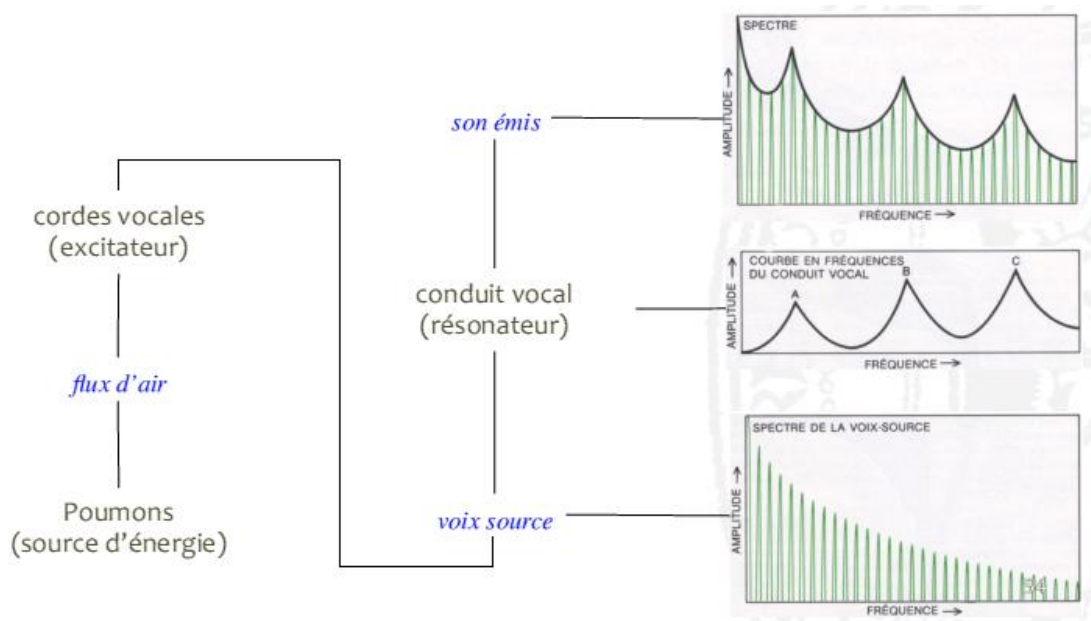


Figure 7 : Formation d'un son par l'appareil phonatoire humain

Source : Pascal Gaillard « Notion d'acoustique, voix et phonation »

1.2.1.2. Paramètres d'un son

Un son est défini par trois paramètres : la durée, l'intensité et la fréquence.

- La durée (et le rythme des séquences)

La sensation de durée d'un son est due à l'étalement du mouvement oscillatoire dans le temps.

- L'intensité

L'intensité, ou amplitude, correspond à la distance parcourue (ou à la pression exercée) par le déplacement des molécules d'air par rapport à une position de repos.

L'intensité est en rapport complexe avec la sensation d'intensité sonore, ou de force : globalement, plus le mouvement est ample, plus le son perçu est intense (fort).

Elle se mesure en décibels (dB), qui est une unité de mesure relative. Le décibel (dB) est une unité de grandeur sans dimension définie comme 10 fois le logarithme décimal du rapport entre deux puissances, celle de la grandeur mesurée et une valeur de référence fixée par une norme.

- La fréquence

La fréquence correspond au nombre de cycles effectués par la vibration par seconde. C'est l'inverse de la période, qui correspond à la durée d'un cycle.

La fréquence définit la sensation de hauteur d'un son : plus le mouvement est rapide (fréquence élevée), plus le son est perçu aigu, et inversement plus il est lent (fréquence faible), plus le son est perçu grave.

Elle se mesure en Hertz (nombres de cycles par seconde). Le domaine de l'audible est assez variable d'un individu à l'autre, mais se situe globalement entre 50 et 16 000 Hz pour l'oreille humaine.

Cette définition correspond à un son simple (ou pur), représenté par une courbe sinusoïdale.

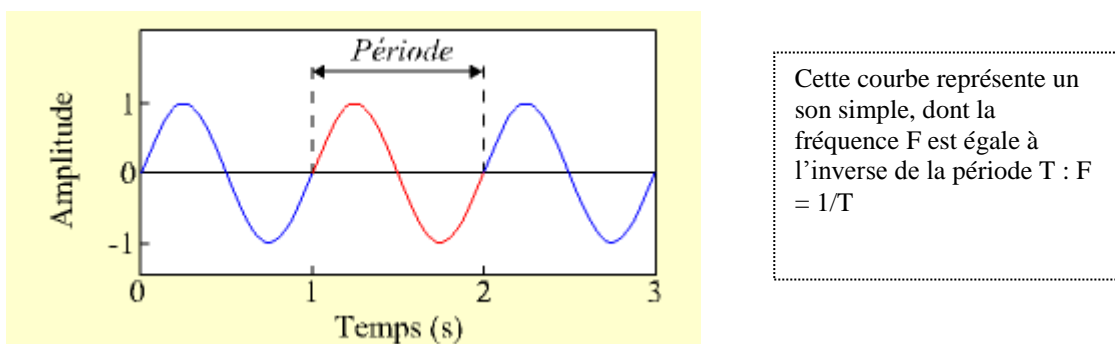


Figure 8 : Représentation d'un son simple et de ses paramètres

Source : Université Lumière Lyon 2

Les sons que nous étudions, produits par les porcelets, sont des sons complexes : ils sont formés par la superposition de plusieurs sons simples (et ont donc plusieurs fréquences).

D'après le théorème de Fourier, un son complexe de fréquence fondamentale F (la plus basse fréquence) peut être décomposé entre une somme de sinusoïdes dont les fréquences respectives sont toutes des multiples de la fréquence F. Ces fréquences sont appelés harmoniques.

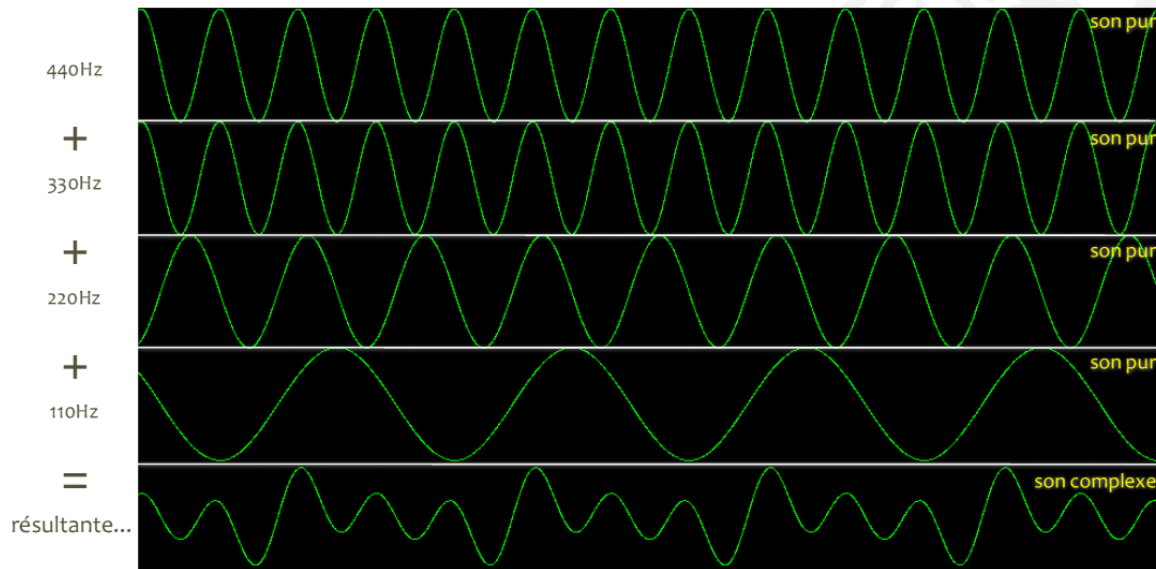


Figure 9 : Construction d'un son complexe de fréquence fondamentale 110 Hz

Source : Université Lumière Lyon 2

De plus, comme on l'a vu précédemment, les résonateurs modifient le spectre de fréquence produit par le larynx, et certaines bandes de fréquences sont d'avantage représentées : dans le cas de la parole humaine, on appelle cela les formants (<http://fr.wikipedia.org/wiki/Formant>).

La totalité des sons produits par un humain ou un animal via la vibration des cordes vocales possède une fréquence fondamentale : ce sont des sons tonals. Mais certains sons ne proviennent pas de l'excitateur : l'air est expulsé par les poumons, les cordes vocales ne vibrent pas, ou vibrent de manière aléatoire et le son est modifié par les résonateurs : ce sont les sons non tonals.

1.2.1.3. Représentation d'un son : spectre et sonagramme

Un son se caractérise par l'intensité des différentes fréquences présentes dans le signal à chaque instant. Il faudrait donc le représenter en 3 dimensions.

Dans la Figure 8, on peut lire de haut en bas plusieurs représentations du signal :

- En haut, c'est la forme d'onde. Elle représente le signal avec l'intensité en fonction du temps.
- En dessous, le spectre représente, à un instant t , l'intensité en fonction de la fréquence : c'est l'analyse spectrale issue d'une transformée de Fourier. Elle renseigne sur le contenu spectral d'un moment du signal.

- En bas, le sonagramme, quand à lui, correspond à la somme des spectres : il représente les trois dimensions du son : le temps (axe X), la fréquence (axe Y) et l'intensité (axe Z, en niveau de gris). Plus l'image est foncée, plus l'intensité est élevée.

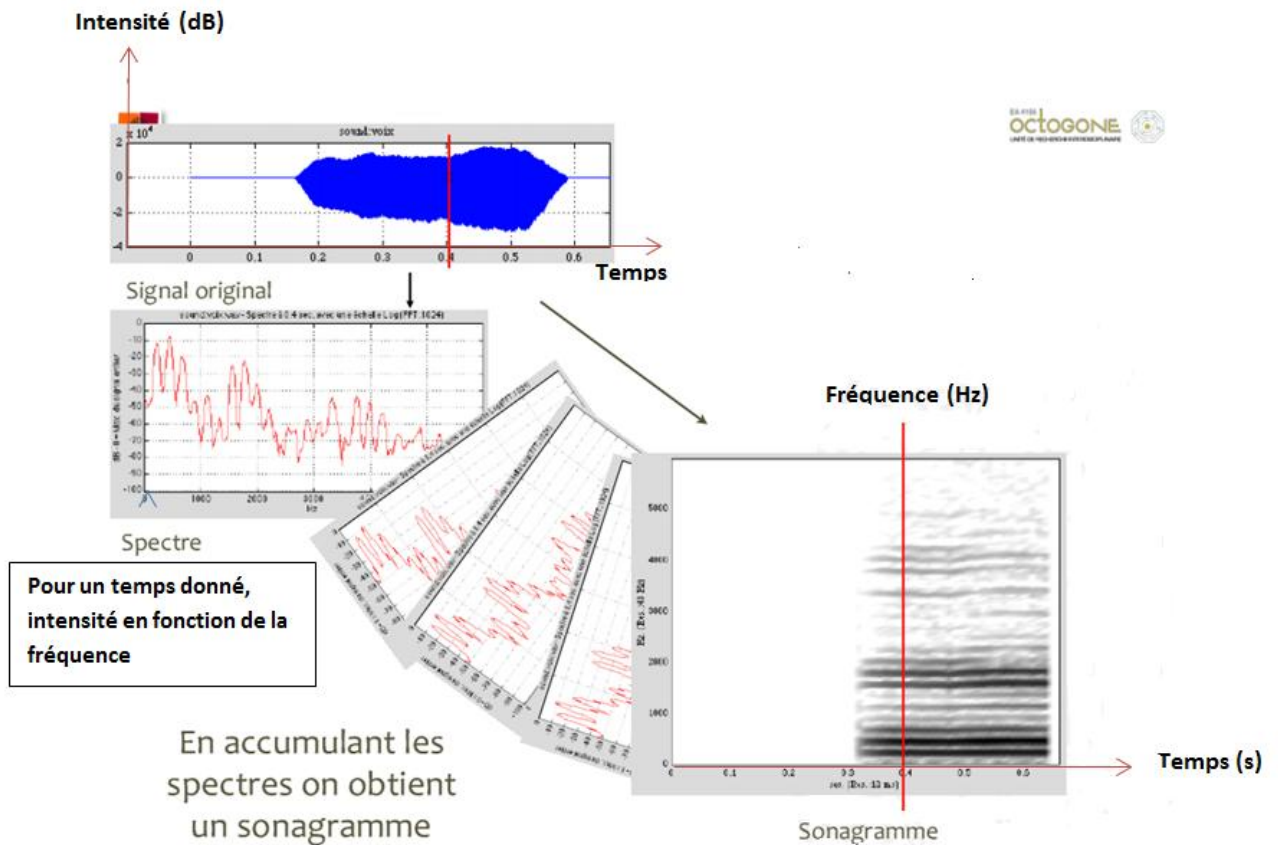


Figure 10 : Signal original, spectres et sonagramme

Source : Pascal Gaillard

C'est sur le sonagramme que l'on peut facilement observer l'évolution de la fréquence fondamentale, des harmoniques et des formants : la fréquence fondamentale représente la plus basse fréquence du spectre : visuellement, c'est une bande fine foncée (gris noirâtre) en bas du sonagramme. Les harmoniques sont aussi représentés par des bandes fines foncées, à égale distance les unes des autres (distance égale à la fréquence fondamentale), puisque ce sont tous des multiples de la fréquence fondamentale.

Les formants, quant à eux, sont des bandes de fréquences sélectionnées par les résonateurs : c'est-à-dire que parmi tous les harmoniques, certains sont visibles (les formants), et d'autres non. Ils se visualisent sur le sonagramme par des bandes, plus ou moins épaisses.

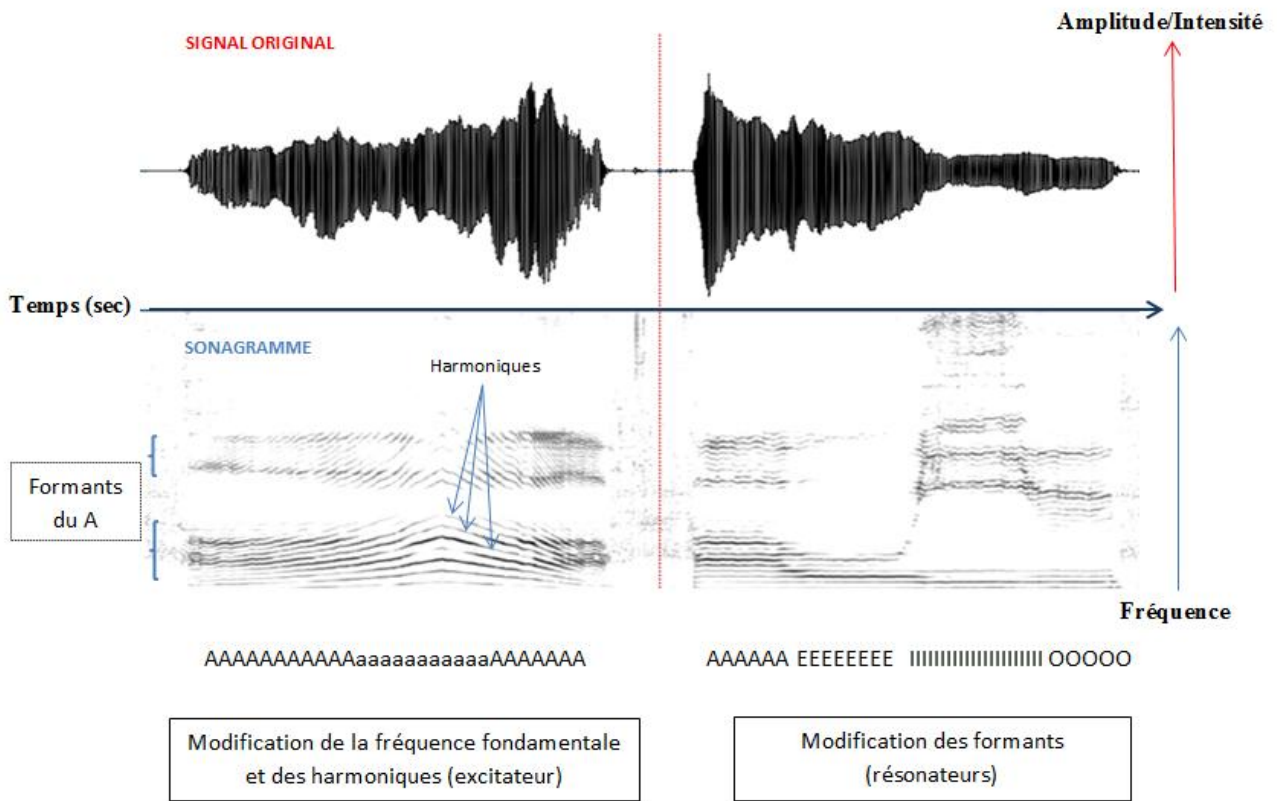


Figure 11 : Modification des harmoniques et des formants (logiciel Praat®) en utilisant le son produit par plusieurs voyelles, A, E, I, et O

1.2.2. Structure des vocalises des porcelets

Une étude de Jensen et Algiers, 1984, analyse la structure des vocalises des porcelets. L'hypothèse formulée est que la forme des vocalises est discrète et non continue, et que ces signaux sont spécifiques. Une trentaine de porcelets en lactation sont enregistrés entre leur deuxième et leur quatrième jour de vie. Chaque spectrogramme est étudié selon 5 critères : la durée, la fréquence de base (c'est-à-dire la fréquence fondamentale si le son est tonal, et la fréquence moyenne si le son est non tonal), l'évolution positive de la fréquence fondamentale (différence entre la première et la plus élevée), l'évolution négative de la fréquence fondamentale (différence entre la plus élevée et la dernière) et la présence ou non de formants.

D'après ces critères et les relations entre eux, les vocalises des porcelets peuvent être séparées en 5 classes :

- « Croaking » (croassement) : sons tonals, courts et pauvres en formants ;

- « Deep grunt » (grognement grave) : sons non tonals, courts, riches en formants, avec des fréquences fondamentales faibles ;
- « High grunt » (grognement aigu) : sons non tonals, courts, riches en formants, avec des fréquences fondamentales plus élevées (supérieures à 1kHz) ;
- « Scream » (cris) : sons tonals, longs, avec une importante évolution positive de fréquence fondamentale ;
- « Squeal » (couinement) : sons tonals, longs, avec une évolution positive de fréquence fondamentale plus modérée.

Depuis, ces 5 classes ont été regroupées en trois lors de l'étude des vocalises et de la douleur (Marx et al., 2003 ; Von Borell et al., 2009) :

- Les « grunts » ou grognements : sons non tonals (pas de fréquence fondamentale : répartition irrégulière de l'intensité), d'intensité basse ;
- Les « squeals » ou couinements : sons tonals (harmoniques visibles), peu déformés par les résonateurs, d'intensité supérieure ;
- Les « screams » ou cris : sons tonals déformés par les résonateurs (harmoniques et formants), ce sont ceux de plus forte intensité.

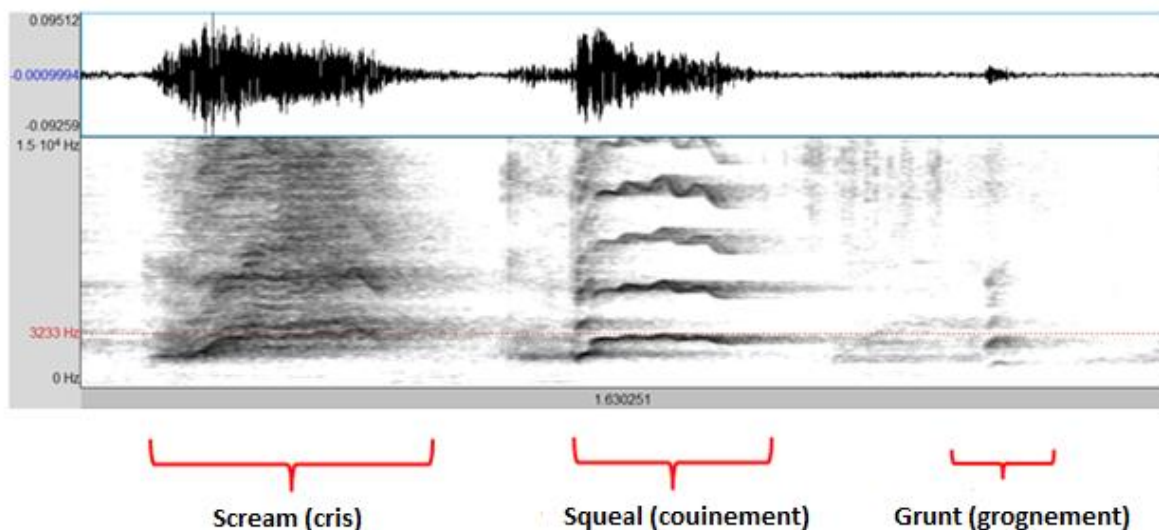


Figure 12 : « Scream » (cris), « squeal » (couinements) et « grunt » (grognements) sur Praat®

Observons plus en détails le spectrogramme :

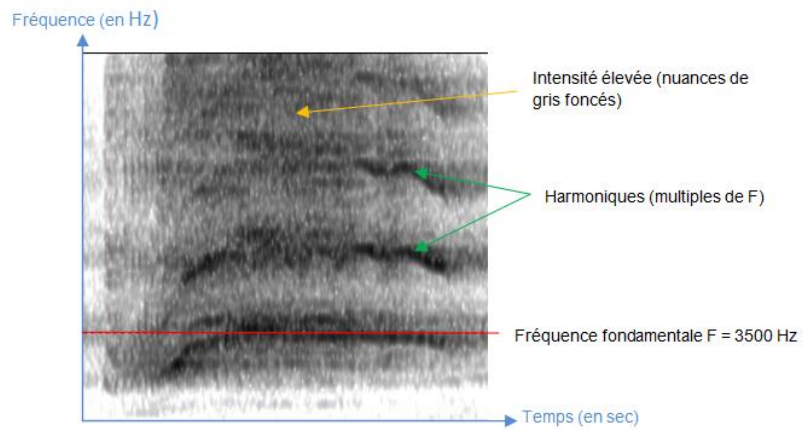


Figure 13 : Scream (cris) sur Praat®

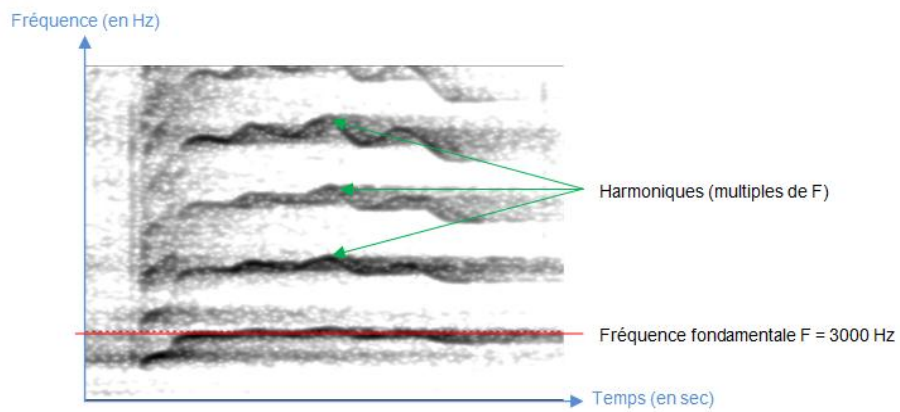


Figure 14 : Squeal (couinement) sur Praat®



Figure 15 : 2 grunts (grognements) sur Praat®

1.2.3. Modifications des vocalises liées à la douleur

- Durée

Les sons produits par les porcelets peuvent paraître continus lorsqu'ils sont écoutés brièvement, mais ce sont en fait des enchainements de sons distincts, que l'on nomme ici vocalises, et qui durent chacune au maximum quelques secondes.

Ce paramètre a été étudié dans plusieurs études : Weary et al. (1998) ont comparé la durée des vocalises entre des porcelets castrés et des porcelets contenus mais non castrés, et n'ont pas démontré de différence significative.

En 2002, Prunier et al. ont montré que, chez des porcelets castrés comparés à des porcelets subissant une simulation de castration, la durée des sons de haute fréquence (supérieurs à 1000 Hz) était significativement plus élevée. Cette conclusion est confirmée par d'autres études (Marx et al., 2003 ; Puppe et al, 2005 ; Von Borell et al., 2009), et ce concernant toutes les vocalises.

- Intensité

Ce paramètre a été utilisé dans plusieurs études afin d'objectiver la douleur des porcelets lors de la castration ou de la coupe de la queue (Courboulay et al., 2010 et 2012 ; Hansson et al., 2011). Dans les deux études, la douleur entraînait des vocalises d'intensité supérieure.

Cependant, pour comparer l'intensité de deux sons, il faut se placer dans des conditions identiques : même outil de captation (microphone), même paramétrage, même environnement, même source et même distance à cette source. Dans une situation naturelle, il est peu probable d'avoir des conditions optimales pour prendre en compte l'intensité. En effet, la source étant un animal (même si il est contenu la gueule n'est jamais immobile) et le lieu étant un élevage, avec une ambiance sonore variable, ce paramètre est difficile à étudier. C'est pourquoi nous avons choisi de ne pas l'utiliser, ne pouvant pas reproduire des conditions standardisées pour chaque porcelet.

- Fréquence

Ce paramètre a été un des premiers étudiés (White and al., 1995 ; Weary and al., 1998) : le paramètre exact mesuré est le pic de fréquence, ou fréquence de plus haute intensité (« higher frequency of highest energy », HEF), c'est-à-dire la fréquence du spectre pour laquelle l'intensité est la plus élevée.

La première étude compare les HEF de deux groupes de porcelets pendant la castration selon l'âge des porcelets : pour chaque classe d'âge, la moitié des porcelets reçoit une injection de lidocaïne avant la castration et l'autre moitié est castrée sans analgésie. La comparaison des résultats entre les deux groupes montre que les HEF des porcelets castrés sans analgésie sont significativement plus élevées que les HEF des porcelets castrés avec analgésie ; ce qui tendrait à démontrer que la douleur entraîne une modification des vocalises des porcelets, et notamment des HEF.

La deuxième étude compare les pics de fréquences de deux groupes de porcelets : un groupe est castré et le deuxième est contenu comme pour une castration, mais non castré (simulation de castration). Ici, la première étape consiste à représenter toutes les vocalises selon leur pic de fréquence (nombre de vocalises en fonction de la fréquence). La première observation est que la répartition est bimodale : on observe un pic autour de 100-600 Hz et un autre autour de 3000-4000 Hz. Les auteurs ont donc choisi de classer les vocalises selon leur pic de fréquence avec une séparation choisie à 1000 Hz (fréquence entre les deux pics où le nombre de vocalises est faible) : ainsi les sons avec un pic de fréquence inférieur à 1000 Hz sont qualifiés de sons basse fréquence, et ceux avec un pic de fréquence supérieur à 1000 Hz sont qualifiés de sons haute fréquence. Avec cette dichotomie, les auteurs ont montré que les porcelets castrés produisaient significativement plus de sons haute fréquence que les porcelets non castrés mais contenus. Ainsi, cette modification du spectre pourrait donc être reliée à la douleur.

Cette dichotomie a été utilisée dans d'autres études pour montrer l'efficacité d'un produit anesthésique ou définir le moment de la castration le plus douloureux (Taylor et Weary , 2000 ; Prunier et al., 2002).

Cependant, des études un peu plus récentes ne révèlent pas de différence significative dans la quantité de sons haute fréquences liés à la douleur (Marx et al., 2003 ; Puppe et al., 2005). Ainsi, d'après les auteurs, la différence du nombre de vocalises haute-fréquence entre les porcelets castrés et les non castrés n'est pas due à l'augmentation de ces vocalises durant la castration, mais à une diminution de ces vocalises après la contention chez les porcelets non castrés (cette différence serait donc due au stress, et non à la douleur).

- Utilisation de STREMODO

STREMODO (STREss MOonitor and DOcumentation unit) est un système d'analyse acoustique permettant de distinguer des vocalises dues au stress (« stress-calls ») par les modifications des caractéristiques du son et notamment des formants. Il a été mis au point par une équipe de chercheurs allemands (Schön et al., 2001).

L'hypothèse selon laquelle la répartition des formants est modifiée lors d'un stress intense se base sur des études montrant leur intérêt dans d'autres espèces animales (Fitch and Hauser, 1995 ; Reby et al., 2003), et sur la nature même des formants : étant dus à la forme des résonateurs, on peut supposer qu'un stress ou une douleur qui provoque des tensions modifierait la forme du pharynx et des cavités buccales et nasales, ce qui aurait des conséquences sur la répartition des formants sur le spectre (Puppe et al., 2005).

Le système d'analyse STREMODO est composé d'une analyse LPC du spectre sonore (Linear Predicting Code permettant de prévoir la position des formants) et d'un réseau de neurones entraîné (c'est-à-dire un modèle de calcul informatique inspiré des neurones humains, qui a la capacité d'apprendre et de se perfectionner, dans ce cas il a été entraîné pour reconnaître des cris de stress des porcelets).

Ce logiciel a été mis au point pour évaluer le bien être des porcs en temps réel lors de différentes étapes de l'élevage (alimentation, transport, etc...). Il est construit à partir de 12 coefficients LPC (correspondants aux 6 premiers formants) et, grâce à un réseau de neurones qui a été entraîné pour reconnaître exclusivement les vocalises de stress des porcs sans se préoccuper de l'ambiance sonore, des sons humains, ni des vocalises des porcs non liés au stress.

Certaines études ont évalué l'efficacité de ce logiciel pour objectiver la douleur des porcelets. Il a été montré notamment qu'au cours de la castration STREMODO identifiait significativement plus de « stress-calls » lors de la période chirurgicale en comparaison des périodes « avant » et « après » l'intervention (Puppe et al., 2005).

- Structure des vocalises

Les précédents paramètres d'analyse, même si certains semblent avoir fait leurs preuves, passent cependant à côté d'un critère important qui est la structure de base des vocalises des porcelets. En effet, il a été montré que les vocalises des porcelets pouvaient être classées à plus de 94% (Marx et al., 2003) dans une des trois classes (« grunts », « squeals » and « creams ») avec un niveau de confiance de 95% (les sons non classés étaient des transitions d'un type à l'autre). Il semble intéressant d'analyser les signaux sonores en prenant en compte ces trois classes.

Cette même étude a comparé l'occurrence de ces trois types de vocalises entre des porcelets castrés avec analgésie, sans analgésie et des porcelets subissant une simulation de castration. Les conclusions sont que les porcelets castrés sans analgésie (donc souffrant de douleur) produisent significativement plus de cris (« screams ») que les autres porcelets. Une autre étude de la même équipe confirme ces résultats (Von Borell et al., 2009).

DEUXIEME PARTIE : ETUDE EXPERIMENTALE

2.1. Matériels et méthodes

2.1.1. Objectifs de l'étude

Cette étude a pour but de tester l'effet analgésique de l'huile essentielle de menthe des champs lors de la castration des porcelets. L'objectivation de la douleur des porcelets se fait par l'analyse des vocalises, enregistrées lors de la castration.

2.1.2. Cadre de l'étude

Les manipulations ont été réalisées au GAEC de Calvignac de St-Vincent d'Autejac (82). C'est un élevage naisseur-engraisseur, avec un effectif de 350 truies, réparties en 7 bandes. Les manipulations se sont déroulées dans 2 des 4 salles de maternité. Les maternités sont équipées chacune de 20 cases de mise-bas, dans lesquelles les truies sont bloquées. Le sol est constitué de caillebotis.

Dans cet élevage, tous les soins sont réalisés à la naissance : injection de fer, caudectomie et époinçage des dents. La castration est habituellement réalisée à ce moment-là, suivant la méthode classique avec incision scrotale de chaque testicule à l'aide d'un bistouri, extrusion manuelle des testicules avec élongation du cordon spermatique, puis désinfection rapide avec de la Chlorhexidine® diluée.

2.1.3. Protocole expérimental

2.1.3.1. Organisation

Les manipulations se sont déroulées le lundi 29 avril 2013 sur une bande.

Les porcelets sont nés la semaine précédente, du jeudi au samedi. Seuls les porcelets nés le jeudi et le vendredi ont été incorporés dans l'étude pour des raisons d'homogénéité d'âge. A la naissance, la chef d'élevage a réalisé les soins. Les mâles n'ont pas été castrés et ont été bouclés.

Le samedi, une fois tous les porcelets de l'étude nés et bouclés, la chef d'élevage nous a fait parvenir le nombre total de mâles (n=255). A chaque porcelet a alors été attribué aléatoirement un traitement (témoin ou huile essentielle) à l'aide d'une randomisation par bloc de deux (les deux groupes étant ainsi chacun représentés dans toutes les portées).

Les castrations ont eu lieu dans le couloir entre les maternités, entre 9h30 et 13h00, afin d'avoir une ambiance sonore plus calme. [Annexe 3 : Protocole de l'étude]

2.1.3.2. Protocole d'évaluation de l'effet analgésique de l'huile essentielle de menthe des champs

2.1.3.2.1. Les animaux

Parmi les 255 mâles nés le jeudi et le vendredi, seuls 218 ont participé à l'étude. 38 porcelets ont été éliminés du protocole, soit qu'ils n'étaient plus en vie ($n = 20$), soit suspects d'avoir une hernie ($n= 14$) soit suspects d'être monorchides ($n= 4$).

Les porcelets étaient donc âgés de 3 à 4 jours et les 2 groupes étant représentés au sein de chaque portée afin de s'acquitter du biais dû à la variabilité inter-portée.

2.1.3.2.2. Les traitements

Une grille de randomisation affectait chaque porcelet à un traitement en particulier. L'étude fût ainsi réalisée en aveugle afin de limiter les biais d'interprétation.

Les traitements étaient au nombre de deux :

- Huile essentielle de menthe des champs (*Mentha arvensis*) : 1mL sur le scrotum à l'aide d'une seringue gradué (groupe Huile essentielle HE)
- Témoin : huile de tournesol : 1 mL sur le scrotum à l'aide d'une seringue graduée (Groupe témoin T).

Les traitements étaient appliqués 5 à 15 minutes avant la castration, par deux opérateurs (1 opérateur par traitement à chaque portée, avec échange des opérateurs entre 2 portées). Après le traitement les porcelets étaient disposés dans deux caisses différentes selon le traitement reçu (pour éviter les contacts) et emmenés 1 à 1 dans le couloir pour la castration.

Les castrations ont toutes été réalisées par le même opérateur, pour supprimer un éventuel biais lié à la technique de castration. De plus, pour diminuer le biais lié à l'odeur de l'huile essentielle, cette même HE était régulièrement appliquée sous les narines de l'opérateur réalisant les castrations.

Après la castration chaque porcelet était remplacé avec la truie d'origine.

2.1.3.2.3. Les mesures

Les vocalisations de chaque porcelet castré étaient enregistrées (enregistreur numérique EDIROL R-09HR). Le microphone était placé à environ 1 mètre de la gueule du porcelet. Un opérateur (toujours le même), démarrait l'enregistrement au moment de la contention, quelques secondes avant la première incision, et terminait l'enregistrement juste après la désinfection du scrotum.

2.1.4. Traitement des données recueillies

Les enregistrements de tous les porcelets ont ensuite été analysés grâce à un programme de traitements des informations sonores (Praat®) qui permet notamment de visualiser le sonagramme (spectre de fréquences sonores).

2.1.4.1. Critères d'exclusion et d'inclusion

Seuls les enregistrements sur lesquels on observait une modification du signal et du sonagramme ont été conservés pour l'analyse. En effet, un porcelet crie facilement, même en l'absence de douleur, lorsqu'il se trouve dans une situation stressante. L'objectif de cette étude étant d'évaluer la douleur, seuls nous intéressaient les porcelets dont le sonagramme était modifié au cours de l'enregistrement (l'enregistrement commençant quelques secondes avant la castration). Au final, 218 porcelets ont été enregistrés, et 102 enregistrements ont été analysés. Les 116 enregistrements non analysés ont été écartés car soit le porcelet ne vocalisait pas ou très peu, soit il n'y avait aucune modification des vocalisations durant toute la durée de l'enregistrement, soit l'enregistrement était trop long (d'où des difficultés d'interprétation et d'homogénéité des enregistrements), soit on observait trop de bruits parasites.

2.1.4.2. Mesures

Les 102 enregistrements sélectionnés ont été analysés à l'aide de Praat® en aveugle, c'est-à-dire sans savoir si le porcelet avait été traité ou non.

Pour chaque porcelet, l'enregistrement était d'abord écouté, pour reconnaître à l'oreille ce qui pouvait l'être. Ensuite, le sonagramme était analysé afin d'identifier chaque vocalise et de pouvoir la classer dans une des trois catégories : scream (cris), squeal (couinement) ou grunt (grognement). Les enregistrements étant de durée homogène (entre 18 et 26 secondes), les vocalises étaient comptabilisées sur la durée totale de l'enregistrement et non pas rapportées à une unité de temps.

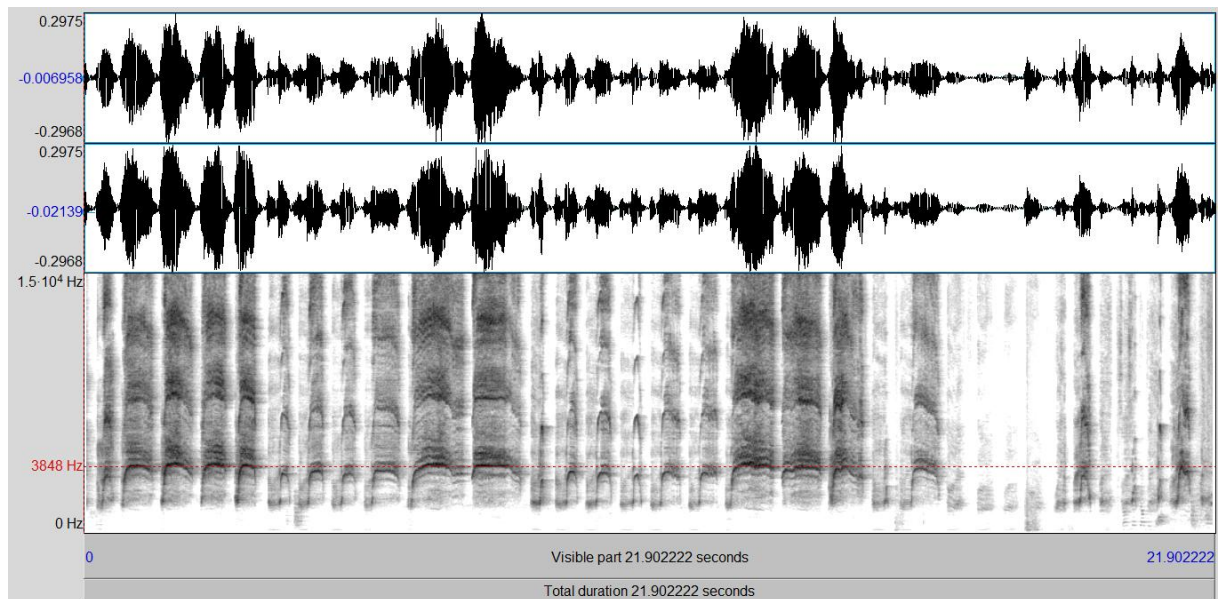


Figure 16 : Enregistrement complet d'un des porcelets sur Praat®

Lors de l'analyse des enregistrements, on commence par comparer l'écoute au visuel : un curseur se déplace sur l'écran pour voir à quoi ce que l'on écoute correspond (quel moment du graphique).

Puis, on observe le graphique d'abord dans son ensemble (Figure 16), avant de faire des zooms pour mieux distinguer les vocalises une à une, et ainsi pouvoir les classer.

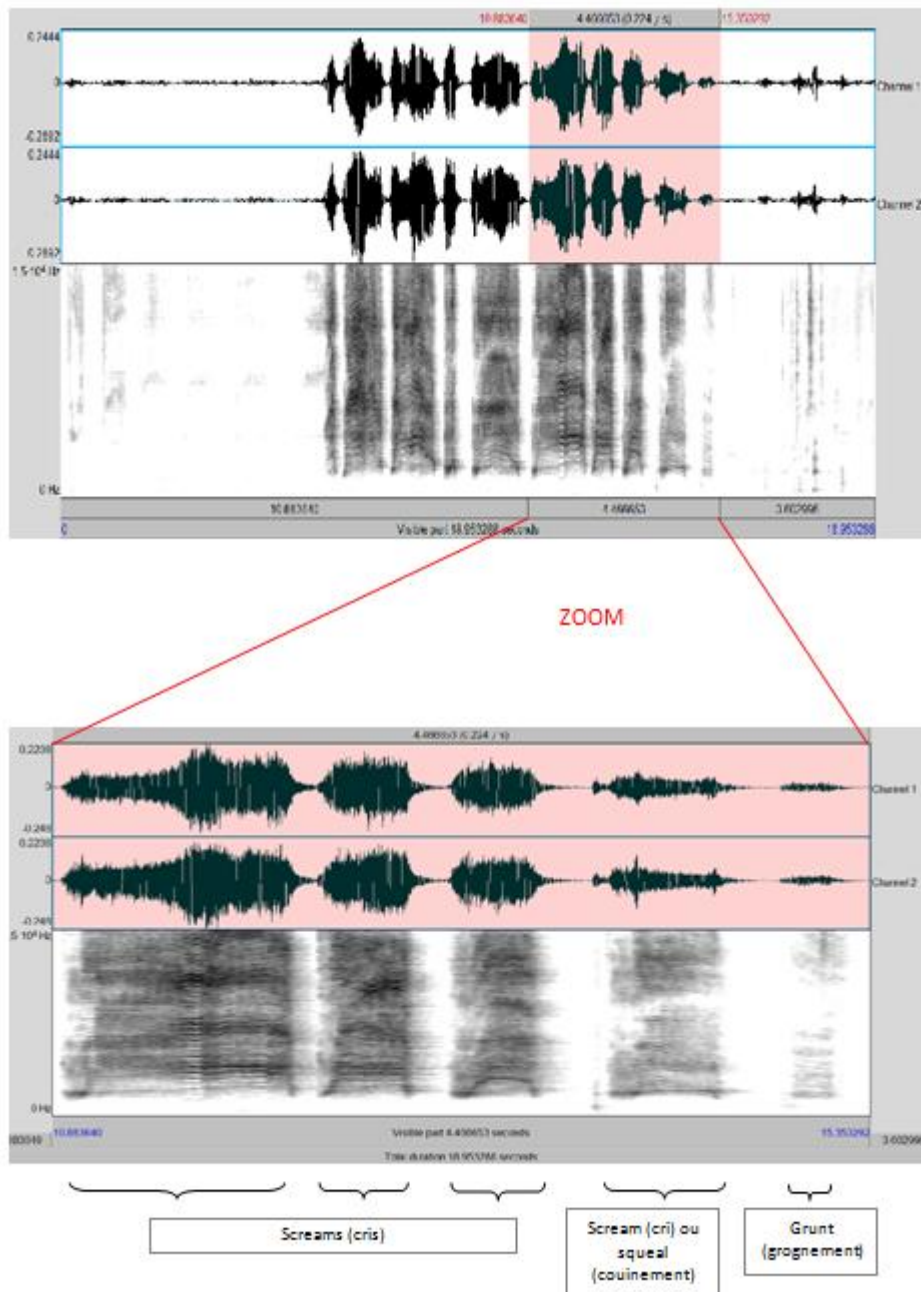


Figure 17 : Détail d'un enregistrement sur Praat®

Après avoir classé toutes les vocalises, chaque porcelet était relié à son traitement, afin d'évaluer une éventuelle différence entre les deux traitements. Au total les 102 enregistrements analysés étaient constitués par 53 porcelets appartenant au lot témoin et 49 porcelets appartenant au lot traité avec l'huile essentielle.

2.2. Résultats

2.2.1. Résultats bruts

Au total, sur les 102 enregistrements, on compte 1249 cris, 296 couinements et 556 grognements, soit une moyenne de 20 vocalises par porcelet.

Lorsqu'on compare les deux lots, on remarque qu'on a environ le même nombre de vocalises : 1034 pour le lot T, soit environ 19,5 vocalises par porcelet ; et 1037 pour le lot HE, soit environ 21,2 vocalises par porcelet.

Par contre, si on sépare les 3 types différents, on compte :

- Pour le lot témoin : 661 cris (63,9%), 143 couinements (13,9%) et 230 grognements (22,2%)
- Pour le lot traité : 558 cris (53,8%), 153 couinements (14,8%) et 326 grognements (31,4%)

	Cris	Couinements	Grognements	Total
Lot témoin	661	143	230	1034
Lot traité HE	558	153	326	1037

Tableau 1 : Répartitions des trois types de vocalises dans les deux lots

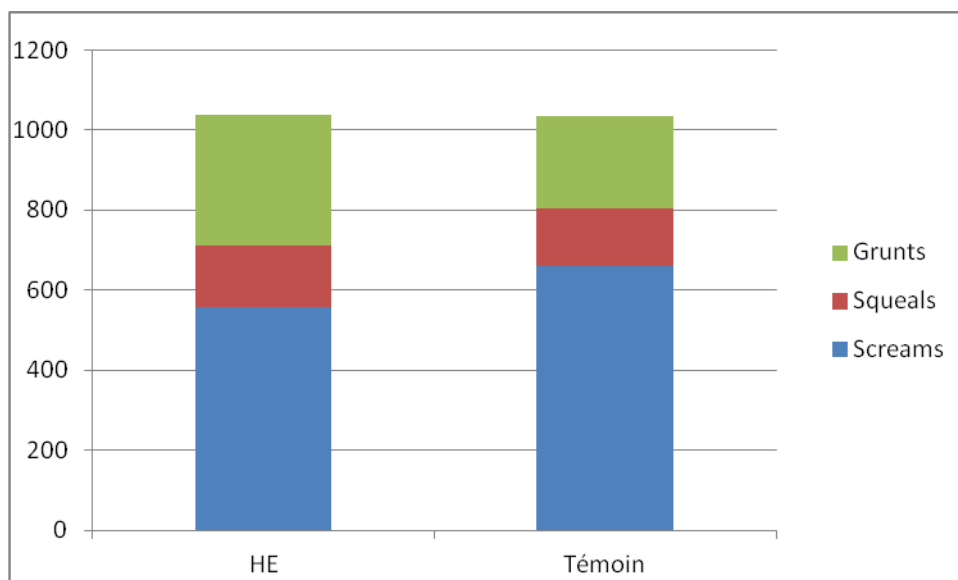


Figure 18 : Répartition des 3 types de vocalises dans les deux lots de porcelet

2.2.2. Statistiques

Les résultats ont été traités grâce à une analyse de la variance à 3 facteurs : individu (IND), traitement (TRT) et type de cri (TYPE). Nous avons utilisé un modèle partiellement hiérarchique, le facteur individu étant niché dans le facteur traitement. Les données ont été stabilisées grâce à l'utilisation du logarithme, et la formule suivant a été utilisée :

$$F = \mu + TRT + IND \{TRT\} + TYPE + TRT*TYPE + \varepsilon$$

On en conclut que la différence entre les porcelets traités et non traités n'est pas significative ($p = 0,536$). L'administration locale d'huile essentielle de menthe des champs en période pré-opératoire ne produit pas d'effet analgésique en per-opératoire.

Sources de la variance	Somme des carrés des écarts	Degré de liberté	Variance	F	p-value
TRT	0,214	1	0,214	0,384	0,536
TYPE	120,206	2	60,103	108,109	0,0001
TRT*TYPE	1,273	2	0,636	1,145	0,32
IND(TRT)	53,279	100	0,533	0,958	0,589

Tableau 2 : Analyse de la variance

2.3. Discussion

2.3.1. Protocole

Afin de discuter des limites des expériences réalisées, il semble important de s'intéresser d'abord au protocole, afin de voir ce qui aurait pu être modifié ou amélioré.

Premièrement, il aurait été intéressant de pouvoir faire le parallèle entre l'analyse acoustique et le déroulement précis de la castration. Dans notre étude, l'enregistrement était déclenché au moment de la contention, quelques secondes avant la première incision, et terminé au moment de l'application de chlorexidine diluée. L'acte chirurgical étant très rapide, il est difficile de savoir à quel moment précis ont eu lieu les incisions, et le retrait des testicules. Dans l'idéal, il aurait fallu filmer les castrations en parallèle, ou prendre des notes, afin de pouvoir relier chaque vocalise avec un moment précis : contention seule, acte chirurgical etc. En effet, il a été montré que le moment le plus

douloureux de la castration était l'extrusion du cordon spermatique (Taylor and Weary, 2000). Il faudrait donc pouvoir concentrer l'analyse sur ce moment là uniquement.

Deuxièmement, le protocole réalisé influe de manière non négligeable sur le stress des porcelets et donc sur leurs vocalisations. En effet, les porcelets sont sortis de leur portée, manipulés lors de l'administration du traitement et attendent entre 5 et 15 minutes après cette manipulation dans une caisse avant d'être sortis dans le couloir pour être castrés. La séparation des porcelets et le temps d'attente était ici inévitable mais, dans la mesure où tous les porcelets ont reçu le même traitement, traités et non traités, on peut supposer que cela n'influe pas sur les résultats de l'expérience. Il serait néanmoins intéressant de mesurer et d'analyser les vocalises des porcelets lors de ces moments de stress important, à l'aide du logiciel STREMODO® par exemple.

2.3.2. L'huile essentielle de menthe des champs

2.3.2.1. A quelle posologie est-elle la plus efficace ?

La quantité d'huile essentielle administrée et le délai entre l'administration et la castration ont été choisis selon les conseils d'un vétérinaire aromathérapeute.

Cependant, les différents articles traitant de l'utilisation du menthol en tant qu'analgésique donnent des informations différentes. Selon l'expérience de Galeotti et al. (2002), le pic d'efficacité du menthol intervient 30 minutes après son administration. Dans cette étude, le menthol était administré par voie orale à des souris avant de leur faire subir le « test du plat chaud ». Une autre étude (Pan et al., 2012), évalue l'efficacité de l'administration de menthol par voie intra-péritonéale pour diminuer l'hyperalgie provoquée par une administration d'adjuvant incomplet de Freund dans un coussinet. Là encore, l'effet analgésique atteint son maximum dans un délai de 30 minutes après administration.

Même si les voies d'administration sont différentes, il semblerait intéressant de tester l'effet analgésique du menthol en administration cutanée après un délai de 30 minutes. Cependant, une étude évaluant l'efficacité de l'huile essentielle de menthe poivrée en application locale sur les maux de tête conclue à un effet analgésique dès 15 minutes (Göbel et al., 1996). Une autre étude (Liu et al., 2013) met en évidence l'effet analgésique d'une solution de menthol administrée par voie cutanée 5 minutes avant le test du plat chaud. Ainsi, la fenêtre des délais entre administration et castration utilisée dans notre étude semble être adaptée pour une application par voie cutanée, sur le site de la douleur.

Concernant la quantité d'huile essentielle à administrer, on trouve différentes informations.

Référence	Espèce cible	Test	Concentration	Voie d'administration
Göbel et al, 1995 et 1996	Humains	Maux de tête	Solution à 10% d'HE de menthe poivrée (dans de l'éthanol)	Cutanée
Galeotti et al, 2002	Souris	Plat chaud (stimulus thermique)	10 mL/kg menthol	Intra-péritonéal
Galeotti et al, 2002	Souris	Constriction abdominales (injection d'acide acétique)	5 µL/ souris menthol	Intracérébral
Gaudioso et al, 2012	Souris, neurones de la corne dorsale	Inhibition des canaux Na + I _{Nav1.8}	1 mmol/L menthol	Locale
Pan et al, 2012	Souris	Injection d'adjuvant de Freund dans le coussinet (hyperalgie)	100 mg/kg menthol	Intra-péritonéal
Liu et al, 2013	Souris	Plat chaud	10 mg/kg menthol	Orale
			Solution à 30% de menthol	Cutanée (coussinets)
Liu et al, 2013	Souris	Constriction abdominale (injection d'acide acétique)	20 mg/kg menthol	Intra-péritonéal

Tableau 3 : Comparaison de posologies et de voie d'administration de l'huile essentielle de menthe ou du menthol

Il semblerait d'après ces études que la dose de menthol nécessaire à produire un effet analgésique soit relativement faible. L'huile essentielle de menthe des champs utilisée dans notre étude contient 33% de menthol. Il s'avère que la concentration en menthol est pratiquement 10 fois

supérieure à celle utilisée dans l'expérience de Göbel pour laquelle la solution utilisée était à 10% d'huile essentielle, ce qui correspondait à une concentration de 3 à 4M en menthol. Dès lors, pour comparer nos résultats avec cette étude, il aurait fallu diluer notre préparation dans une huile végétale. Une étude (Klein et al, 2010) évalue l'effet de la concentration de menthol sur la perception du chaud et du froid. Pour ce faire, après avoir appliqué du menthol à différentes concentrations sur les coussinets de souris, les auteurs ont évalué le temps passé sur des plaques à différentes températures (les souris étant habituées à une température autour de 30°C). La sensation de chaleur semble exacerbée pour les souris ayant reçu localement des concentrations de menthol élevées (10 et 40 ; en effet, elles passent moins de temps sur des plaques à 30°C et plus de temps sur des plaques à 20°C. Inversement, pour des concentrations faibles (0,1 et 1%), le temps passé sur des plaques à 30°C est fortement augmenté. Les auteurs concluent que le menthol a un effet biphasique, avec une hypersensibilité au froid pour des concentrations faibles, et une hyposensibilité au froid pour des concentrations élevées. Cette hypersensibilité au froid à des concentrations faibles semble en accord avec les études citées précédemment. En effet, un des mécanismes de l'effet analgésique du menthol est l'effet froid qu'il produit (soulageant ainsi des douleurs inflammatoires), cette sensation de froid étant déjà présente sans stimulus thermique. Elle peut alors être exacerbée lors d'une intervention conjointe des 2 stimuli (menthol et températures basses).

A des concentrations faibles (autour de 1%), l'application locale de menthol provoque une sensation de froid, avec un effet analgésique, tandis qu'autour de 30% la sensation de froid commence à devenir désagréable (Wasner et al. 2004). A des concentrations supérieures, au-delà de 40%, il semble même que l'application locale de menthol produise une sensation de chaleur (Hattem et al., 2006). Ainsi le menthol semble être un bon analgésique à des concentrations faibles (Gaudioso et al., 2012). Il serait donc intéressant de tester plusieurs posologies afin de déterminer si l'effet recherché est présent à de plus faibles concentrations. Pour ce faire, trois concentrations pourraient être testées (1, 5 et 10%), donc de l'huile essentielle de menthe des champs à 3, 15 et 30% diluée dans de l'huile végétale.

2.3.2.2. Sur quelles voies de la douleur intervient-elle ?

Le menthol a été beaucoup testé pour ses propriétés analgésiques sur des douleurs déjà existantes (maux de tête) ou sur des douleurs provoquées (test du plat chaud). Il a donc été testé sur des douleurs provoquées par un stimulus thermique ou chimique.

Dans notre cas, on administre localement de l'HE de menthe des champs avant une douleur chirurgicale, douleur provoquée par l'altération brutale de tissus sains. A notre connaissance, le

menthol n'a jamais été testé auparavant pour une analgésie « chirurgicale ». On peut donc se demander s'il agit sur les voies de la douleur intervenant lors de la castration.

Son action analgésique n'est associée à aucun stimulus en particulier (Pan et al., 2012). De plus, le menthol intervient à plusieurs étapes de la douleur nociceptive (contrairement aux douleurs neuropathique et psychogène, dans la douleur nociceptive le stimulus douloureux est causé par la stimulation de récepteurs, puis il est transmis par les voies de la douleur jusqu'au cortex cérébral). Le menthol agit sur les thermorécepteurs, la première étape de transmission du signal nerveux, mais aussi sur les fibres nociceptives C et A, responsables de l'acheminement du message, et enfin sur des cibles situées dans la corne postérieure de la moelle, où a lieu l'intégration corticale (Babes et al., 2011 ; Pan et al., 2012). Ainsi, le menthol agit sur le système nerveux périphérique et central. La castration entraînant une douleur nociceptive, tous les mécanismes d'action du menthol démontrés au travers des différentes études précédemment citées devraient être valables pour la castration aussi.

2.3.3. L'utilisation des vocalisations comme moyen d'objectiver la douleur

2.3.3.1. Subjectivité de l'interprétation

Concernant l'exploitation des données, nous avons choisi d'utiliser la classification des vocalises en trois types. Nous nous sommes appuyés sur des études récentes qui montrent que la répartition des vocalises est significativement modifiée lors de la castration. Cependant, dans ces études la classification était faite grâce à une fonction résultant de 11 paramètres pour des enregistrements calibrés (Marx et al., 2003) à 13 paramètres pour des enregistrements non calibrés (Von Borell et al., 2009). Lors de la classification visuelle des sonagrammes (ou spectrogrammes) (Von Borell et al., 2009), deux opérateurs classent les vocalises une par une, et indépendamment l'un de l'autre. Seules les vocalises classées dans le même type par les deux opérateurs sont ensuite analysées grâce à une fonction. La démarche de « tri » utilisée dans notre étude est différente : dans notre cas nous ne fonctionnons pas par vocalise mais par enregistrement : l'enregistrement est conservé ou éliminé de l'analyse dans son intégralité, alors que dans l'étude Von Borell et al., les vocalises semblent considérées indépendamment les unes des autres.

De plus, dans notre étude, un seul opérateur a assigné chaque vocalise à un des trois types. De surcroît, cet opérateur n'était pas entraîné. Cet effet « entraînement » est important puisque la différenciation entre cris et couinements n'est pas toujours évidente. Il faut donc émettre l'hypothèse d'un biais d'interprétation [Annexe 4 : Différents enregistrements sur Praat®].

Si la répartition des vocalises se fait visuellement (spectrogramme), il serait intéressant qu'au moins deux opérateurs participent. Les études ayant montré une bonne corrélation avec l'utilisation d'une fonction discriminante, il serait aussi intéressant d'analyser informatiquement chaque vocalise, ce qui entraînerait un gain de temps non négligeable et une précision plus importante.

Le logiciel STREMOD0 est un autre outil utilisé pour évaluer le bien être des porcs dans différentes situations. Il s'est révélé être très utile, autant par son aspect pratique (analyse en temps réel) que par le fait qu'il est « éduqué » et donc devient de plus en plus précis.

2.3.3.2. Autres paramètres à tester en parallèle

D'autres paramètres sonores ont été étudiés (notamment la pureté des sons et leur caractère aléatoire), montrant leur intérêt dans leur utilisation pour l'objectivation de la douleur. Ils n'ont pas été cités précédemment car ce ne sont pas les plus étudiés, et ils n'avaient pas été envisagés en premier lieu ; mais il serait peut être intéressant de tester ces paramètres en parallèle de ce qui a déjà été fait. En effet, en utilisant un seul paramètre pour analyser les vocalises des porcelets, nous avons à la fois réduit le nombre de moyens et augmenté l'incertitude.

Lors de douleur, d'autres propriétés des vocalises des porcelets sont modifiées et notamment la variabilité des sons. En effet, lors de la castration, la pureté des sons produits par les porcelets est plus importante et leur caractère aléatoire (ou entropie) est diminuée (Puppe et al., 2005). Ces modifications pourraient être la conséquence d'un impact indirect sur les mécanismes physiologiques de la production sonore dans l'appareil vocal des porcelets, qui entraînent une diminution de la variabilité des vocalises causée par la douleur. Il semblerait en effet que les zones du cerveau responsables de l'intégration des émotions et des sensations influent directement la production sonore (Manteuffel et al., 2004).

Il semblerait donc intéressant d'étudier ces paramètres.

CONCLUSION

La douleur lors de la castration des porcelets est une problématique actuelle, d'une part parce qu'elle est incluse dans une problématique plus générale qui est celle du bien être animal, et d'autre part car l'industrie porcine est en pleine évolution (révision des normes en élevage, diminution de l'utilisation des antibiotiques, crise économique...). Philosophiquement, nous sommes dans une phase où l'utilitarisme (Peter Singer, 2013) est dominant. L'utilitarisme évalue une action (la castration dans notre cas) uniquement en fonction de ses conséquences (la douleur), ce qui le distingue notamment de nombreuses morales de type déontologiques, comme par exemple le kantisme pour lesquelles la morale doit être évaluée indépendamment de ses conséquences. Et même si les objectifs actuels visent une interdiction de la castration pour 2018, et que d'autres alternatives se développent (immunocastration, élevage de mâles entiers), il semble intéressant de chercher des alternatives peu coûteuses et pratiques d'utilisation afin d'atténuer la douleur expérimentée par les porcelets lors de la castration.

Le présent projet avait pour but d'évaluer l'efficacité analgésique de l'huile essentielle de menthe des champs en application topique. Cependant l'étude réalisée n'a pas permis de démontrer l'efficacité analgésique de cette huile essentielle lors de la castration.

Pour autant, les recherches bibliographiques préalables à la réalisation de cette expérimentation ont permis de mettre en avant un nombre croissant d'études concernant l'utilisation de l'aromathérapie en élevage porcin. Certaines études semblent prometteuses, notamment dans le domaine de l'immunité et des maladies infectieuses.

Ainsi, dans un contexte réduisant considérablement l'utilisation des antibiotiques en médecine porcine, il serait intéressant de se pencher plus en détail sur cette alternative, afin d'évaluer sa possible efficacité.

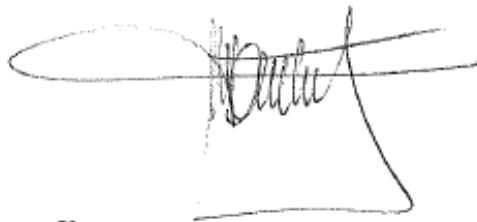
De plus, ce projet a permis d'étudier une méthode relativement récente d'évaluation de la douleur et du bien être animal : l'analyse des vocalises. Cette méthode demande des compétences en acoustique peu classique pour un vétérinaire, mais après un temps d'apprentissage et avec du matériel adéquat, elle semble particulièrement adaptée et adaptable à l'évaluation du bien être animal dans différentes conditions.

AGREMENT SCIENTIFIQUE

En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire

Je soussigné, **MARTINEAU Guy-Pierre**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **ZBIK Marion** intitulée « *Castration du porcelet : évaluation de l'efficacité analgésique per-opératoire de l'huile essentielle de Mentha arvensis (Menthe des Champs) par l'analyse des vocalisations* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 25 octobre 2013
Professeur **Guy-Pierre MARTINEAU**
Enseignant chercheur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :
Le Directeur de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Toulouse
Professeur **Alain MILON**



Vu :
Le Président du jury :
Professeure **WOISARD Virginie**



Vu et autorisation de l'impression :
Le Président de l'Université
Paul Sabatier
Professeur **Bertrand MONTHUBERT**



Président de l'Université Paul Sabatier
par délégation
Le vice-président du CEVU


Arnaud LE PADELLEC

Mlle ZBIK Marion
a été admis(e) sur concours en : 2008
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 21/06/2012
a validé son année d'approfondissement le : 27/06/2013
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

BIBLIOGRAPHIE

1. ABENA, A.A., DIATEWA, M., GAKOSSO, G., GBEASSOR, M., HONDI-ASSAH, Th. and OUAMBA, J.M., 2003, Analgesic, antipyretic and anti-inflammatory effects of essential oil of *Lippia multiflora*. *Fitoterapia*. April 2003. Vol. 74, no. 3, p. 231–236.
2. ARAÚJO, Demétrius A. M., SILVA, Darizy F., JOCA, Humberto C., LEAL-CARDOSO, José H. and CRUZ, Jader S., 2013, Menthol: Biological Effects and Toxicity. In : *Natural Products* [online]. Berlin, Heidelberg : Springer Berlin Heidelberg. p. 3989–3999.
3. ARRIGONI-BLANK, M.F., ANTONIOLLI, A.R., CAETANO, L.C., CAMPOS, D.A., BLANK, A.F. and ALVES, P.B., 2008, Antinociceptive activity of the volatile oils of *Hyptis pectinata* L. Poit. (Lamiaceae) genotypes. *Phytomedicine*. 15 May 2008. Vol. 15, no. 5, p. 334–339.
4. ASTANI, A., REICHLING, J. and SCHNITZLER, P., 2010, Comparative study on the antiviral activity of selected monoterpenes derived from essential oils. *Phytotherapy Research*. 2010. Vol. 24, no. 5, p. 673–679.
5. BABES, Alexandru, CRISTIAN CIOBANU, Alexandru, NEACSU, Cristian and BABES, Ramona-Madalina, 2011, TRPM8, a Sensor for Mild Cooling in Mammalian Sensory Nerve Endings. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 1 January 2011. Vol. 12, no. 1, p. 78–88.
6. BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D. and IDAOMAR, M., 2008a, Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. February 2008. Vol. 46, no. 2, p. 446–475.
7. BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D. and IDAOMAR, M., 2008b, Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. February 2008. Vol. 46, no. 2, p. 446–475.
8. BAUDOUX, Dominique, 2011, *L'aromathérapie, Se soigner par les huiles essentielles*. Amyris.
9. BAUDRY, Francine, DEBAUCHE, Pascal and BAUDOUX, Dominique, 2004, *Les cahiers pratiques d'aromathérapie selon l'École française*. L'aromathérapie professionnelle. ISBN 2-919905-26-0.
10. BÉRIGAUD, Bernard, 2002, *B.A. -BA Aromathérapie*. Pardès.
11. BHALLA, Yashika, GUPTA, Vinay Kumar and JAITAK, Vikas, 2013, Anticancer activity of essential oils: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2013.
12. BLANCO, Marcos A., COLAREDA, Germán A., VAN BAREN, Catalina, BANDONI, Arnaldo L., RINGUELET, Jorge and CONSOLINI, Alicia E., 2013, Antispasmodic effects and composition of the essential oils from two South American chemotypes of *Lippia alba*. *Journal of Ethnopharmacology*. 7 October 2013. Vol. 149, no. 3, p. 803–809.
13. BOEHM, Katja, BÜSSING, Arndt and OSTERMANN, Thomas, 2012, Aromatherapy as an adjuvant treatment in cancer care--a descriptive systematic review. *African journal of*

traditional, complementary, and alternative medicines: AJTCAM / African Networks on Ethnomedicines. 2012. Vol. 9, no. 4, p. 503–518.

14. BROADFOOT, Paula Jo, PALMQUIST, Richard E., JOHNSTON, Karen, WEN, Jiu Jia and FOUGERE, Barbara, 2009, *Integrating Complementary Medicine into Veterinary Practice*. John Wiley & Sons.

15. BUTTERWORTH, J F, 4th and STRICHARTZ, G R, 1990, Molecular mechanisms of local anesthesia: a review. *Anesthesiology*. April 1990. Vol. 72, no. 4, p. 711–734.

16. CHAIEB, Kamel, HAJLAOUI, Hafedh, ZMANTAR, Tarek, KAHLA-NAKBI, Amel Ben, ROUABHIA, Mahmoud, MAHDOUANI, Kacem and BAKHROUF, Amina, 2007, The chemical composition and biological activity of clove essential oil, *Eugenia caryophyllata* (*Syzigium aromaticum* L. Myrtaceae): a short review. *Phytotherapy Research*. 2007. Vol. 21, no. 6, p. 501–506.

17. COURBOULAY, Valérie, HÉMONIC, Anne, GADONNA, Marie and PRUNIER, Armelle, 2012, Castration avec anesthésie locale ou traitement anti-inflammatoire : quel impact sur la douleur des porcelets et quelles conséquences sur le travail en élevage. *Journées Recherche Porcine*. 2012.

18. COURBOULAY, Valérie, 2009, *Les alternatives à la pratique habituelle de la castration des porcs*. 2009. IFIP.

19. COURBOULAY, Valérie, 2012, Comment limiter la douleur liée à la castration? 2012. Vol. 1, no. 5, p. 38–40.

20. DE CÁSSIA DA SILVEIRA E SÁ, Rita, ANDRADE, Luciana and DE SOUSA, Damião, 2013, A Review on Anti-Inflammatory Activity of Monoterpenes. *Molecules*. 18 January 2013. Vol. 18, no. 1, p. 1227–1254.

21. DE GASPARIN, Adrien, 1817, *Manuel d'art vétérinaire à l'usage des officiers de cavalerie, des agriculteurs et des artistes vétérinaires*. Paschoud.

DE SOUSA, Albertina Antonielly Sydney, SOARES, Pedro Marcos Gomes, DE ALMEIDA, Arisa Nara Saldanha, MAIA, Alana Rufino, DE SOUZA, Emmanuel Prata and ASSREUY, Ana Maria Sampaio, 2010, Antispasmodic effect of *Mentha piperita* essential oil on tracheal smooth muscle of rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 20 July 2010. Vol. 130, no. 2, p. 433–436.

22. DE SOUSA, Damião Pergentino, 2011, Analgesic-like Activity of Essential Oils Constituents. *Molecules*. 7 March 2011. Vol. 16, no. 12, p. 2233–2252.

23. DÜPJAN, Sandra, SCHÖN, Peter-Christian, PUPPE, Birger, TUCHSCHERER, Armin and MANTEUFFEL, Gerhard, 2008, Differential vocal responses to physical and mental stressors in domestic pigs (*Sus scrofa*). *Applied Animal Behaviour Science*. November 2008. Vol. 114, no. 1–2, p. 105–115.

24. DURAFFOURD, Christian, 1983, *Cahiers de phytothérapie clinique*. Elsevier Masson.

25. ECCLES, R, 1994, Menthol and related cooling compounds. *The Journal of pharmacy and pharmacology*. August 1994. Vol. 46, no. 8, p. 618–630.

26. FARCO A., Joseph and GRUNDMANN, Oliver, 2013, Menthol – Pharmacology of an Important Naturally Medicinal “Cool.” *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2013. Vol. 13, no. 1, p. 124–131.
27. FITCH, W. Tecumseh and HAUSER, Marc D., 1995, Vocal production in nonhuman primates: Acoustics, physiology, and functional constraints on “honest” advertisement. *American Journal of Primatology*. 1995. Vol. 37, no. 3, p. 191–219.
28. FITZGERALD, M. and BEGGS, S., 2001, Book Review: The Neurobiology of Pain: Developmental Aspects. *The Neuroscientist*. 1 June 2001. Vol. 7, no. 3, p. 246–257.
29. GALEOTTI, Nicoletta, DI CESARE MANNELLI, Lorenzo, MAZZANTI, Gabriela, BARTOLINI, Alessandro and GHELARDINI, Carla, 2002, Menthol: a natural analgesic compound. *Neuroscience Letters*. 12 April 2002. Vol. 322, no. 3, p. 145–148.
30. GATTEFOSSÉ, René Maurice, 1937, *Aromathérapie*. Girardot.
31. GAUDIOSO, Christelle, HAO, Jizhe, MARTIN-EAUCLAIRE, Marie-France, GABRIAC, Mélanie and DELMAS, Patrick, 2012, Menthol pain relief through cumulative inactivation of voltage-gated sodium channels. *PAIN*. February 2012. Vol. 153, no. 2, p. 473–484.
32. GÖBEL, H, FRESENIUS, J, HEINZE, A, DWORSCHAK, M and SOYKA, D, 1996, [Effectiveness of Oleum menthae piperitae and paracetamol in therapy of headache of the tension type]. *Der Nervenarzt*. August 1996. Vol. 67, no. 8, p. 672–681.
33. GÖBEL, H, SCHMIDT, G, DWORSCHAK, M, STOLZE, H and HEUSS, D, 1995, Essential plant oils and headache mechanisms. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*. October 1995. Vol. 2, no. 2, p. 93–102.
34. GROSMOND, Gilles, 2001, Bulletin des GTV Hors série, L’aromathérapie. 2001. P. 146–148.
35. GUILHON, Carolina C., RAYMUNDO, Larissa J.R.P., ALVIANO, Daniela S., BLANK, Arie F., ARRIGONI-BLANK, Maria F., MATHEUS, Maria Eline, CAVALCANTI, Sócrates C.H., ALVIANO, Celuta S. and FERNANDES, Patrícia D., 2011, Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities and the mechanism of the action of *Lippia gracilis* essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 17 May 2011. Vol. 135, no. 2, p. 406–413.
36. GUIMARÃES, Adriana G, QUINTANS, Jullyana S S and QUINTANS, Lucindo J, Jr, 2013, Monoterpenes with analgesic activity--a systematic review. *Phytotherapy research: PTR*. January 2013. Vol. 27, no. 1, p. 1–15.
37. HAJHASHEMI, Valiollah, GHANNADI, Alireza and PEZESHKIAN, Sayed Karim, 2002, Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Satureja hortensis* L. extracts and essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*. October 2002. Vol. 82, no. 2–3, p. 83–87.
38. HALDER, Sumita, MEHTA, Ashish K., MEDIRATTA, Pramod K. and SHARMA, Krishna K., 2012, Acute effect of essential oil of *Eugenia caryophyllata* on cognition and pain in mice. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 28 March 2012. Vol. 385, no. 6, p. 587–593.

39. HANSSON, Monica, LUNDEHEIM, Nils, NYMAN, Görel and JOHANSSON, Gunnar, 2011, Effect of local anaesthesia and/or analgesia on pain responses induced by piglet castration. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 2011. Vol. 53, no. 1, p. 34.
40. HATEM, Samar, ATTAL, Nadine, WILLER, Jean-Claude and BOUHASSIRA, Didier, 2006, Psychophysical study of the effects of topical application of menthol in healthy volunteers. *PAIN*. May 2006. Vol. 122, no. 1–2, p. 190–196.
41. HAY, Magali, VULIN, Adeline, GÉNIN, Stéphanie, SALES, Patrick and PRUNIER, Armelle, 2003, Assessment of pain induced by castration in piglets: behavioral and physiological responses over the subsequent 5 days. *Applied Animal Behaviour Science*. July 2003. Vol. 82, no. 3, p. 201–218.
42. HU, Yuan, HOU, Ting-Ting, XIN, Hai-Liang, ZHANG, Qiao-Yan, ZHENG, Han-Chen, RAHMAN, Khalid and QIN, Lu-Ping, 2007, Estrogen-like activity of volatile components from *Vitex rotundifolia* L. *The Indian journal of medical research*. July 2007. Vol. 126, no. 1, p. 68–72.
43. JENSEN, Per and ALGERS, Bo, 1984, An ethogram of piglet vocalizations during suckling. 1984. Vol. 11, p. 237–248.
44. KAWASAKI, Hiroki, MIZUTA, Kotaro, FUJITA, Tsugumi and KUMAMOTO, Eiichi, 2013, Inhibition by menthol and its related chemicals of compound action potentials in frog sciatic nerves. *Life Sciences*. 14 March 2013. Vol. 92, no. 6–7, p. 359–367.
45. KLEIN, Amanda H., SAWYER, Carolyn M., CARSTENS, Mirela Iodi, TSAGARELI, Merab G., TSIKLARI, Nana and CARSTENS, E., 2010, Topical application of l-menthol induces heat analgesia, mechanical allodynia, and a biphasic effect on cold sensitivity in rats. *Behavioural Brain Research*. 15 October 2010. Vol. 212, no. 2, p. 179–186.
46. KNOWLTON, Wendy M, PALKAR, Radhika, LIPPOLDT, Erika K, MCCOY, Daniel D, BALUCH, Farhan, CHEN, Jessica and MCKEMY, David D, 2013, A sensory-labeled line for cold: TRPM8-expressing sensory neurons define the cellular basis for cold, cold pain, and cooling-mediated analgesia. *The Journal of neuroscience: the official journal of the Society for Neuroscience*. 13 February 2013. Vol. 33, no. 7, p. 2837–2848.
47. LEIDIG, Martin S., HERTRAMPF, Barbara, FAILING, Klaus, SCHUMANN, Anselm and REINER, Gerald, 2009, Pain and discomfort in male piglets during surgical castration with and without local anaesthesia as determined by vocalisation and defence behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*. January 2009. Vol. 116, no. 2-4, p. 174–178.
48. LIU, Boyi, FAN, Lu, BALAKRISHNA, Shrilatha, SUI, Aiwei, MORRIS, John B. and JORDT, Sven-Eric, 2013, TRPM8 is the principal mediator of menthol-induced analgesia of acute and inflammatory pain. *PAIN*. 2013.
49. LLAMAS MOYA, Sara, BOYLE, Laura A., LYNCH, Patrick Brendan and ARKINS, Sean, 2008, Effect of surgical castration on the behavioural and acute phase responses of 5-day-old piglets. *Applied Animal Behaviour Science*. May 2008. Vol. 111, no. 1-2, p. 133–145.
50. MACPHERSON, Lindsey J., HWANG, Sun Wook, MIYAMOTO, Takashi, DUBIN, Adrienne E., PATAPOUTIAN, Ardem and STORY, Gina M., 2006, More than cool:

Promiscuous relationships of menthol and other sensory compounds. *Molecular and Cellular Neuroscience*. August 2006. Vol. 32, no. 4, p. 335–343.

51. MANTEUFFEL, Gerhard, PUPPE, Birger and SCHÖN, Peter C, 2004, Vocalization of farm animals as a measure of welfare. *Applied Animal Behaviour Science*. September 2004. Vol. 88, no. 1–2, p. 163–182.

52. MARCHANT-FORDE, J. N., LAY, D. C., MCMUNN, K. A., CHENG, H. W., PAJOR, E. A. and MARCHANT-FORDE, R. M., 2009, Postnatal piglet husbandry practices and well-being: The effects of alternative techniques delivered separately. *Journal of Animal Science*. 4 January 2009. Vol. 87, no. 4, p. 1479–1492.

53. MARX, G., HORN, T., THIELEBEIN, J., KNUBEL, B. and VON BORELL, E., 2003, Analysis of pain-related vocalization in young pigs. *Journal of Sound and Vibration*. September 2003. Vol. 266, no. 3, p. 687–698.

54. MENDES, S.S., BOMFIM, R.R., JESUS, H.C.R., ALVES, P.B., BLANK, A.F., ESTEVAM, C.S., ANTONIOLLI, A.R. and THOMAZZI, S.M., 2010, Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of the essential oil of *Lippia gracilis* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*. 16 June 2010. Vol. 129, no. 3, p. 391–397.

55. PAN, Rong, TIAN, Yuzhen, GAO, Ruby, LI, Haitao, ZHAO, Xianguo, BARRETT, James E and HU, Huijuan, 2012, Central mechanisms of menthol-induced analgesia. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. December 2012. Vol. 343, no. 3, p. 661–672.

56. PINHEIRO, B.G., SILVA, A.S.B., SOUZA, G.E.P., FIGUEIREDO, J.G., CUNHA, F.Q., LAHLOU, S., DA SILVA, J.K.R., MAIA, J.G.S. and SOUSA, P.J.C., 2011, Chemical composition, antinociceptive and anti-inflammatory effects in rodents of the essential oil of *Peperomia serpens* (Sw.) Loud. *Journal of Ethnopharmacology*. 18 November 2011. Vol. 138, no. 2, p. 479–486.

57. PRUNIER, A., MOUNIER, L., LE NEINDRE, P., LETERRIER, C., MORMÈDE, P., PAULMIER, V., PRUNET, P., TERLOUW, C. and GUATTEO, R., 2013, Identifying and monitoring pain in farm animals: a review. *animal*. 2013. Vol. 7, no. 06, p. 998–1010..

58. PRUNIER, Armelle, BATAILLE, Gaëlle, MEUNIER-SALAÜN, Marie-Christine, BREGEON, Aline and RUGRAFF, 2001, Conséquences comportementales, zootechniques et physiologiques de la caudectomie réalisée avec ou sans “insensibilisation” locale chez le porcelet. *Journées Recherche Porcine*. 2001. p. 313–318.

59. PRUNIER, Armelle, HAY, Magali and SERVIÈRE, Jacques, 2002, Evaluation et prévention de la douleur induite par les interventions de convenue chez le porcelet. *Journées Recherche Porcine*. 2002. p. 257–268.

60. PUPPE, Birger, SCHÖN, Peter C., TUCHSCHERER, Armin and MANTEUFFEL, Gerhard, 2005, Castration-induced vocalisation in domestic piglets, *Sus scrofa*: Complex and specific alterations of the vocal quality. *Applied Animal Behaviour Science*. November 2005. Vol. 95, no. 1–2, p. 67–78.

61. RAYMUNDO, Larissa J.R.P., GUILHON, Carolina C., ALVIANO, Daniela S., MATHEUS, Maria Eline, ANTONIOLLI, Angelo R., CAVALCANTI, Sócrates C.H., ALVES, Pérciles B., ALVIANO, Celuta S. and FERNANDES, Patrícia D., 2011,

Characterisation of the anti-inflammatory and antinociceptive activities of the *Hyptis pectinata* (L.) Poit essential oil. *Journal of Ethnopharmacology*. 12 April 2011. Vol. 134, no. 3, p. 725–732.

62. SCHÄFER, K, BRAUN, H A and HENSEL, H, 1982, Static and dynamic activity of cold receptors at various calcium levels. *Journal of neurophysiology*. June 1982. Vol. 47, no. 6, p. 1017–1028.

63. SCHÄFER, K, BRAUN, H A and ISENBERG, C, 1986, Effect of menthol on cold receptor activity. Analysis of receptor processes. *The Journal of general physiology*. December 1986. Vol. 88, no. 6, p. 757–776.

64. SCHÖN, P C, PUPPE, B and MANTEUFFEL, G, 2001, Linear prediction coding analysis and self-organizing feature map as tools to classify stress calls of domestic pigs (*Sus scrofa*). *The Journal of the Acoustical Society of America*. September 2001. Vol. 110, no. 3 Pt 1, p. 1425–1431.

65. SILVA, Jeane, ABEBE, Worku, SOUSA, S.M, DUARTE, V.G, MACHADO, M.I.L and MATOS, F.J.A, 2003, Analgesic and anti-inflammatory effects of essential oils of *Eucalyptus*. *Journal of Ethnopharmacology*. December 2003. Vol. 89, no. 2–3, p. 277–283.

66. SINGER, Peter, [no date], Des droits de l’homme pour... les animaux? *nouvelobs.com* [online]. [Accessed 28 October 2013]. Available from: <http://bibliobs.nouvelobs.com/essais/20130730.OBS1536/des-droits-de-l-homme-pour-les-animaux.html>

67. SOLÓRZANO-SANTOS, Fortino and MIRANDA-NOVALES, Maria Guadalupe, 2012, Essential oils from aromatic herbs as antimicrobial agents. *Current Opinion in Biotechnology*. April 2012. Vol. 23, no. 2, p. 136–141.

68. SUTHERLAND, M A, DAVIS, B L, BROOKS, T A and MCGLONE, J J, 2010, Physiology and behavior of pigs before and after castration: effects of two topical anesthetics. *Animal: an international journal of animal bioscience*. December 2010. Vol. 4, no. 12, p. 2071–2079.

69. TAKAISHI, Masayuki, FUJITA, Fumitaka, UCHIDA, Kunitoshi, YAMAMOTO, Satoshi, SAWADA SHIMIZU, Maki, HATAI UOTSU, Chihiro, SHIMIZU, Mayumi and TOMINAGA, Makoto, 2012, 1,8-cineole, a TRPM8 agonist, is a novel natural antagonist of human TRPA1. *Molecular pain*. 2012. Vol. 8, p. 86.

70. TAYLOR, Allison A, WEARY, Daniel M, LESSARD, Martin and BRAITHWAITE, Leah, 2001, Behavioural responses of piglets to castration: the effect of piglet age. *Applied Animal Behaviour Science*. July 2001. Vol. 73, no. 1, p. 35–43.

71. TAYLOR, Allison A and WEARY, Daniel M, 2000, Vocal responses of piglets to castration: identifying procedural sources of pain. *Applied Animal Behaviour Science*. November 2000. Vol. 70, no. 1, p. 17–26.

72. TOPP, Robert, WINCHESTER, Lee J, SCHILERO, Jessica and JACKS, Dean, 2011, Effect of topical menthol on ipsilateral and contralateral superficial blood flow following a bout of maximum voluntary muscle contraction. *International journal of sports physical therapy*. June 2011. Vol. 6, no. 2, p. 83–91.
73. VON BORELL, E, BAUMGARTNER, J, GIERSING, M, JÄGGIN, N, PRUNIER, A, TUYTTENS, F A M and EDWARDS, S A, 2009, Animal welfare implications of surgical castration and its alternatives in pigs. *Animal: an international journal of animal bioscience*. November 2009. Vol. 3, no. 11, p. 1488–1496
74. WASNER, Gunnar, SCHATTSCHEIDER, Jörn, BINDER, Andreas and BARON, Ralf, 2004, Topical menthol—a human model for cold pain by activation and sensitization of C nociceptors. *Brain*. 5 January 2004. Vol. 127, no. 5, p. 1159–1171.
75. WEARY, Daniel M, BRAITHWAITE, Leah A and FRASER, David, 1998, Vocal response to pain in piglets. *Applied Animal Behaviour Science*. March 1998. Vol. 56, no. 2-4, p. 161–172.
76. WHITE, R. G., DESHAZER, J. A., TRESSLER, C. J., BORCHER, G. M., DAVEY, S., WANINGE, A., PARKHURST, A. M., MILANUK, M. J. and CLEMENS, E. T., 1995, Vocalization and physiological response of pigs during castration with or without a local anesthetic. *Journal of Animal Science*. 2 January 1995. Vol. 73, no. 2, p. 381–386.
77. WOOLLARD, A C, TATHAM, K C and BARKER, S, 2007, The influence of essential oils on the process of wound healing: a review of the current evidence. *Journal of wound care*. June 2007. Vol. 16, no. 6, p. 255–257.
78. ZHANG, Xiao-Bing, JIANG, Peng, GONG, Neng, HU, Xiao-Ling, FEI, Da, XIONG, Zhi-Qi, XU, Lin and XU, Tian-Le, 2008, A-Type GABA Receptor as a Central Target of TRPM8 Agonist Menthol. *PLoS ONE* [online]. 13 October 2008. Vol. 3, no. 10. [A
79. AFSSAPS, 2008, *Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles*. May 2008.
80. *Dictionnaire des médicaments vétérinaires*, 2005.
81. *Pharmacopée européenne : Huiles essentielles*, 2008.

ANNEXE 1 : TABLEAU RECAPUTILATIF

Familles biochimiques et propriétés principales

	Phénols	Aldéhydes terpéniques	Cétones	Oxydes	Monoterpénols	Monoter-pènes	Sesquiter -pènes	Esters	Lactones	Coumarines
Antalgique		XX						XXX		
Antiallergique	XXXX	XX		XX	XXX		XX			
Antibactérienne										XXXX
Anticoagulante										
Antifongique	XXX	XXX		XX	XXX				XXX	
Antiinflammatoire		XXXX					XXXX	XXX		
Antiparasitaire	XXXX		XXXX		X				XXX	XX
Antiseptique atmosphérique						XX				
Antispasmodique								XXX		
Antivirale	XXX	XXX	XXXX	XXX	XXX	XX				
Calmante, sédative		XXX					XXX	XXX		XXXX
Cholagogue, cholérétique			XXX						XXXX	
Cicatrisante			XX							
Cortisone like						XXX				
Décongestionnante respiratoire				XX		XX				
Décongestionnante veineuse							XXX			
Desclérosante			XXXX							
Digestive		XXX				XX				
Expectorante				XXX		XXX			XXXX	
Hormone like						XXX				
Hypotensive		XX					XX	XXX		XX
Immuno-modulante				XXX	XXX					
Immuno-stimulante	XXX									
Lipolytique			XXXX							
Lympho-phlébotonique						XXX				
Mucolytique			XXXX	XX					XXXX	
Tonique générale	XXX									
Tonique nerveuse				XXX	XXX					
Toxicité et précautions	Dermo - caustique, hépatotox	Irritantes cutané	Neurotox , abortives			Irritantes cutané, néphrotox				Photosensibi -lisantes

ANNEXE 2 : ANALYSE CHROMATOGRAPHIQUE DE L'HE DE MENTHE DES CHAMPS

COMPTOIR DES PLANTES MEDICINALES
45, ROUTE DU MONT GARGAN
19370 CHAMBERET

Fait à Grasse le : 09.07.2013

PRINCIPAUX CONSTITUANTS

PRODUIT : MENTHE ARVENSIS INDES H.E. – LOT.15931

COMPOSANTS	POURCENTAGES (%)
ALPHA PINENE	3.20
BETA PINENE	3.37
MYRCENE	1.15
LIMONENE	5.65
MENTHONE	19.33
ISO MENTHONE	8.87
MENTHOL	33.50
NEO MENTHOL	5.65
ACETATE MENTHYLE	7.72
PIPERITONE	1.26
PULEGONE	2.70
CARYOPHYLLENE BETA	1.48

ANNEXE 3 : PROTOCOLE

Analgésie préemptive du porcelet avant castration : étude de l'efficacité de l'huile essentielle de menthe des champs :

L'huile essentielle de menthe des champs a-t-elle un effet analgésique en per opératoire?

Protocole de l'étude

Matériel :

Etude contrôlée, randomisée et conduite en aveugle.

a) Animaux

- Environ 200 porcelets de 3 à 5 jours, sur une bande, identifiés par boucle, tous les groupes étant représentés sous chaque truie

b) Traitements

- o Huile essentielle de Menthe des champs (*Mentha arvensis*), par le laboratoire Comptoir des Plantes Médicinales
- o Témoin : huile de tournesol
- o Seringues de 1 mL
- o Feutre de couleur pour marquer les porcelets

c) Castration

- o Chariot de transport
- o 4 petites caisses
- o 2 grandes caisses
- o Matériel de castration : scalpel, chlorexidine diluée

d) Enregistrement

- o Enregistreur numérique EDIROL R-09HR

Opérateurs :

- Opérateur n°1 : Supervision et gestion du timing
- Opérateur n°2 : Répartition des traitements et prise en note de l'heure d'administration du traitement
- Opérateur n°3 : Application du traitement : lot témoin/HE
- Opérateur n°4 : Application du traitement : HE/ lot témoin
- Opérateurs n° 5,6 et 7 : Transport des porcelets
- Opérateur n°8 : Castration
- Opérateur n°9 : Enregistrement des vocalises
- Opérateur n° 10 : Prise en note du n° du porcelet et de l'heure de castration

Lieu :

GAEC de Calvignac, St Vincent d'Autejac, Tarn et Garonne

Choix de l'évaluation de la douleur :

On choisit d'analyser les spectres de fréquence des vocalises

Déroulement :

- Naissance des porcelets du jeudi au vendredi, quelques heures après la naissance, les soins sont réalisés par la chef d'élevage : coupe de la queue, limage des dents, injection de fer, injection d'antibiotique et bouclage des mâles.

- Randomisation
 - A la naissance, bouclage des porcelets lors des soins, réalisée par la chef d'élevage Béatrice : les numéros se suivent au sein d'une portée.
 - Randomisation, afin de répartir aléatoirement les porcelets en 2 groupes (les deux groupes étant présents au sein d'une portée), en tenant compte d'équilibrer les âges.

- Application des traitements :
 - Lundi matin, début de l'administration des traitements : un lot témoin (lot T) (application d'eau) et un lot traité avec de l'huile essentielle de menthe des champs (lot HE) : administration locale 5 à 10 avant le début de la castration (Opérateurs n°3 et 4), de 0,5 mL par testicule, soit 1 mL par porcelet.
 - Les porcelets sont sortis de leur case un par un et l'opérateur n°2 attribue à chacun un traitement (il a la liste de randomisation), les opérateurs 3 et 4 appliquent les traitements et mettent les porcelets dans deux caisses séparées : une pour le lot T, et une pour le lot HE.

L'opérateur n°2 note sur la fiche de randomisation l'heure d'administration des traitements.
 - Les traitements sont réalisés dans l'ordre des cases d'une même salle, et pour chaque case, pendant que les porcelets de la case anté- précédente se font castrer (traitement de la case n°3 pendant la castration des porcelets de la case n°1 etc).



- Transport : Les opérateurs 5 et 6 emmènent les porcelets un à un dans le couloir (caisse T pour opérateur 5 et caisse HE pour opérateur 6), où se tient l'opérateur n°8.

- Castrations :
 - Les castrations se font dans le couloir : 5 à 10 minutes après le traitement, les caisses des porcelets sont dans la maternité et on les emmène un à un dans le couloir pour réaliser la castration (opérateurs n° 5 et 6).
 - Début des castrations (Opérateur n°8) : l'opérateur qui castre les porcelets ne sait pas quels traitements ils ont reçu (expérience en double aveugle) : l'opérateur 5 lui passe les porcelets dans l'ordre des boucles, mais l'opérateur n°8 est de dos et ne voit pas de quelle caisse ils viennent.

 - L'opérateur n°10 note les numéros des porcelets et l'heure de la castration.
 - Technique de castration : incision du scrotum au-dessus de chacun des testicules à l'aide d'un scalpel, extrusion manuelle des testicules avec élongation du cordon spermatique puis désinfection rapide locale avec de la Chlorhexidine diluée.
 - Pendant la castration l'opérateur n°9 enregistre les vocalises : il démarre l'enregistrement quand lors de la contention : il approche le micro à environ 1m du porcelet (pour éviter la saturation). La distance entre le micro et le porcelet, et la direction du micro doivent toujours être sensiblement les mêmes.

 - A la fin de chaque castration, l'opérateur n° 8 dit le nom du porcelet, et juste après l'opérateur n°9 termine l'enregistrement.
 - A la fin de chaque castration, l'opérateur n°7 ramène les porcelets un à un dans leur portée.

- Quand toute une portée a été castrée, les opérateurs 5 et 6 ramènent les caisses vides devant la prochaine portée qui doit être castrée, (ne pas mélanger les caisses T et les caisses HE).

ANNEXE 4 : DIFFERENTS ENREGISTREMENTS SUR PRAAT®

