

Activités antimicrobiennes d'huiles essentielles de trois *Cymbopogon* sp. africains vis-à-vis de germes pathogènes d'animaux de compagnie

KOKA K.^{(1)*}, SANDA K.⁽¹⁾, RAYNAUD C.⁽²⁾, NENONENE Y. A.⁽¹⁾, MILLET J.⁽³⁾, CHAUMONT J.P.⁽³⁾

- ⁽¹⁾ Unité de Recherche sur les Matériaux et les Agroressources, Ecole Supérieure d'Agronomie, Université de Lomé, BP. 20131, Lomé Togo.
- ⁽²⁾ Laboratoire de Chimie agro-industrielle, Arômes et Métrologie sensorielle, UMR 1010, INP-ENSIACET, 118, route de Narbonne, 31077 Toulouse Cedex, France.
- ⁽³⁾ Equipe des Sciences Séparatives et Biopharmaceutiques (2SB) Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de Franche-Comté, Place Saint-Jacques, 25030 Besançon, France.

Correspondance : Dr. KOKA ; Email : kkoba@hotmail.com

RESUME : Des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* L., *Cymbopogon nardus* L. et *Cymbopogon schoenanthus* L. ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM) pour la détermination de leur composition chimique et l'identification de leur chimiotype. Leur pouvoir antimicrobien a été étudié *in vitro* sur sept souches fongiques et sept souches bactériennes responsables d'infections mixtes chez le chien et le chat.

Toutes les souches bactériennes testées se sont révélées insensibles aux huiles essentielles étudiées.

En revanche *Cymbopogon citratus* L. (chimiotype à citral) et *Cymbopogon nardus* L. (chimiotype à citronellal/géraniol) ont montré une activité fongistatique très valable avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) allant de 75 à 200 µg.ml⁻¹ que l'on pourrait exploiter à des fins vétérinaires.

1. INTRODUCTION

Les chiens et chats, porteurs d'un pelage fourni, hébergent généralement une microflore fongique kératinophile assez variée (Caretta *et al.*, 1989 ; Carlotti et Bensignor, 1999). La pathogénicité des germes varie suivant les espèces et l'état de santé de l'animal. Ce dernier, bien souvent, se comporte en « porteur sain ». Il n'en demeure pas moins agent de contamination vis-à-vis des autres animaux, et qui plus est, de l'homme (Kirk, 1977 ; Carlotti et Bensignor, 1999).

Les rares études africaines sur les microflores kératinophiles portent plutôt sur les phanères des oiseaux (Efuntoyé, 2001). Connaissant l'importance de teignes en Afrique (Bouden-Mansour *et al.*, 1997 ; Vandemeulebroucke *et al.*, 1999), on peut supposer les animaux domestiques très contaminés et réservoirs

d'espèces zoophiles transmissibles à l'homme.

Plus précisément, chiens et chats sont ainsi victimes de mycoses mixtes où les champignons sont associés à des bactéries pathogènes ; c'est le cas des otites externes, affections rebelles, souvent qualifiées de chroniques ou récurrentes (Jacobson, 2002). L'anatomie du conduit auditif ne peut que favoriser la rémanence de germes pathogènes. Le cerumen constitue un nutriment utile au (*Malassezia*) qui est une levure lipophile (Jacobson, 2002 ; Ziolkowska et Novariewicz, 2004).

Candida sp. (Ochiai *et al.*, 2000), *Cryptococcus* sp. (Ferrer *et al.*, 1993), *Aspergillus fumigatus* (Mortellaro *et al.*, 1989) constituent des parasites occasionnels mais souvent dangereux des animaux de compagnie.

Certaines bactéries pathogènes résistent aux antibiotiques c'est le cas de nombreux staphylocoques d'origine

animale (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*) (Lloyd *et al.*, 1996 ; Guérin-Fauble et Brun, 1999 ; Werckenthin *et al.*, 2001 ; Prescott *et al.*, 2002) et un traitement local par aromathérapie peut, dans certains cas, être proposé à titre de substitution ou de complément.

Ces considérations nous ont amené à envisager des possibilités d'utilisation d'huiles essentielles pour traiter, à prix modique, des infections diverses faisant intervenir des agents fongiques et bactériens.

Trois chimiotypes de *Cymbopogon* sp. africains, déjà connus pour leurs propriétés antifongiques vis-à-vis de champignons pathogènes de l'homme (Onawumi *et al.*, 1984 ; Gary *et al.*, 1997) ont été soumis à des tests, *in vitro*, sur des champignons et bactéries potentiellement pathogènes des chiens et des chats.

2. MATERIEL ET METHODES

Extraction des huiles essentielles

Les biomasses utilisées pour l'extraction des huiles essentielles sont composées de parties aériennes de *Cymbopogon citratus* L. (DC), *C. nardus* L., Rendle et de *C. schoenanthus* L., cultivés à la Station d'Expérimentation Agropédagogique de l'Ecole Supérieure d'Agronomie de l'Université de Lomé, Togo. Les spécimens de voucher sont déposés à l'Herbarium de la Faculté des Sciences de l'Université de Lomé. Ces biomasses sont séchées pendant sept jours sous abri à la température ambiante du laboratoire (25 - 28°C). L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par entraînement à la vapeur d'eau dans un dispositif de type Clevenger selon la technique décrite par Simard et collaborateurs (1988). Les huiles essentielles ainsi obtenues sont conservées à 4°C dans des tubes sous abri de la lumière jusqu'à leur usage.

Analyse chimique des échantillons

Les huiles essentielles ont été analysées sur un chromatographe de type Hewlett Packard 5890 SERIES II équipé d'une colonne capillaire BPX-5 (longueur : 30 m, et de 0,25 mm de diamètre intérieur, l'épaisseur du film est de 0,25 mm) couplé à un spectromètre de masse (SM) de type Hewlett Packard 5971 SERIES avec un détecteur à impact d'électrons, 70 eV, Scanning 20-350 uma.

Les conditions analytiques sont les suivantes : température de l'injecteur : 280°C ; température du détecteur : 300°C ; température du four : 50°C (1 min), 50 à 150°C (3°C/min) et de 150°C à 250°C (5°C/min) et en isotherme (250°C) pendant 5 min.

Le gaz vecteur est l'hélium avec un débit de 1,5 ml/min et les gaz auxiliaires sont l'hydrogène et l'air dépourvu de toute impureté organique. Pour toutes les analyses, on injecte manuellement 0,2 µl d'échantillon d'huile essentielle pure. Chaque échantillon d'huile essentielle est injecté trois fois de même que la solution de calibration interne contenant un mélange de n-alcanes.

Identification des constituants

Les différents constituants des huiles essentielles ont été identifiés par comparaison de leurs spectres de masse avec ceux des composés des bases de

Tableau I : Composition chimique centésimale des huiles essentielles des trois espèces de *Cymbopogon* sp.

IK*	Composés identifiés	<i>Cymbopogon</i>	<i>Cymbopogon</i>	<i>Cymbopogon</i>
		<i>citratus</i>	<i>nardus</i>	<i>schoenanthus</i>
Pourcentages relatifs (%)				
1144	Cis hydrate de pinène			0,53
1123	Tr hydrate de pinène			0,28
991	Myrcène	10,65		
1002	Carène-2			16,48
1029	Limonène		1,39	2,29
1070	Cis hydrate de sabinène	0,27		
1153	Citronellal		30,54	
1189	α-Terpinéol	0,85	0,27	0,56
1226	Citronellol	0,27	7,65	
1238	Néral	31,36	0,42	
1253	Géranol	5,47	23,93	
1267	Géranial	43,15	0,74	
1381	Acétate de géranyle	01,22	3,48	
1253	Pipéritone			68,00
1338	β-Elémène		2,09	0,82
1425	β-Caryophyllène			1,10
1443	α-Farnésène		0,17	0,09
1457	Tr-β-Farnésène		0,33	0,20
1485	Germacrène D		1,28	
1500	Bicyclogermacrène		0,19	
1523	σ-Cadinène		1,18	0,18
1550	Elémol		12,04	
1583	Oxyde de caryophyllène			0,20
1651	β-Eudesmol		0,15	0,79
1654	α-Eudesmol + g-Eudesmol		0,26	0,33
1658	α-Tiglate de citronellyle		1,12	0,96
	Total %	93,57	96,30	98,43

* IK : Indice de Kovats sur la colonne BPX-5

données Willet et Nist 98 du spectromètre de masse CPG/SM et ceux de base de données spectrales Adams.

L'identification des molécules a été confirmée par comparaison de leurs indices de rétention avec ceux connus dans la littérature (Adams, 2001). Les indices de rétention des composés ont été calculés grâce aux temps de rétention d'une série n-alcanes avec une interpolation linéaire.

Souches microbiennes testées

14 souches microbiennes ont été testées in vitro (7 champignons et 7 bactéries) (tableau II). Elles ont été isolées à partir de prélèvements d'origine hospitalière ou de cabinets vétérinaires approvisionnant un laboratoire pharmaceutique.

Souches fongiques

Microsporum canis est un dermatophyte très fréquemment rencontré sur la robe des animaux de compagnie (Caretta *et al.*, 1989 ; Godfrey, 2000).

Microsporum gypsum est un parasite occasionnel du chien (Carlotti et Bensignor, 1999), de même que *Trichophyton mentagrophytes* var. *mentagrophytes*.

Aspergillus fumigatus est parfois localisé dans les cavités nasales et les sinus des chiens (Mortellaro *et al.*, 1989 ; Burbidge *et al.*, 1997).

Candida albicans est un parasite systémique opportuniste du chien (Ochiai *et al.*, 2000).

Malassezia pachydermatis est une levure en partie responsable des otites externes et de diverses dermatoses et

infections buccales du chien ou du chat (Pinter et Noble, 1998 ; Bond *et al.*, 2000 ; Werckenthin *et al.*, 2001).

Cryptococcus neoformans est une levure très répandue potentiellement pathogène chez le chat (Berry *et al.*, 1990 ; Ferrer *et al.*, 1993).

Souches bactériennes

Staphylococcus intermedius semble être le germe le plus fréquemment souvent impliqué dans les otites canines et félines (Cole *et al.*, 1998 ; Werckenthin *et al.*, 2001).

Le rôle des *Pseudomonas* a lui aussi été clairement décrit (Foster et DeBoer, 1998).

Tests antimicrobiens

Tests antifongiques

Les champignons ont été cultivés sur milieu de Sabouraud solide et ensemencés :

- avec un disque d'environ 2 mm découpé dans un tapis mycélien de pré-culture, disposé au centre de la boîte de Pétri, face supérieure contre le nouveau milieu de culture pour les dermatophytes ;
- par nappage de la surface du milieu gélosé, d'une suspension de 10-5 conidies/ml pour *Aspergillus fumigatus* ou de blastospores aux mêmes concentrations pour les levures.

Les durées et températures d'incubation varient suivant les espèces : 24 h à 37°C pour *Candida albicans* et *Aspergillus*, 48 h à 37°C pour *Cryptococcus*, 8 jours à 24°C pour les dermatophytes.

Tests antibactériens

Les huiles essentielles ont été diluées dans une quantité minimale d'alcool éthylique à 95 %, 1/10 v/v, à laquelle on ajoute une solution aqueuse à 1 % v/v de Tween 80®, en vue d'obtenir un mélange homogène. Celui-ci est incorporé dans la gélose en cours de refroidissement afin d'obtenir des dilutions de 50 µg.ml⁻¹ à 500 µg.ml⁻¹. Le multiensemencement de Steers permet des inoculations automatiques des boîtes de gélose nutritive de Columbia 3 Agar avec des suspensions de 10⁵ germes/ml. Les durées et températures d'incubation ont été de 24 h à 37°C.

Tous les essais, aussi bien fongiques que bactériens, ont été répétés trois fois. Des témoins avec ou sans alcool éthylique ont été réalisés. Dans tous

Tableau II : Spectre antimicrobien des huiles essentielles de trois espèces du genre *Cymbopogon*

Souches microbiennes	** Activité antimicrobienne (CMI µl.ml ⁻¹)							
	***Cc	Cn	Cs	Citral	Ctnal	Ctnol	Gnol	Pipé
Souches fongiques								
Dermatophytes								
<i>Trichophyton mentagrophytes (B)</i>	100	150	>500	100	300	100	200	>500
<i>Microsporum canis (B)</i>	100	200	>500	150	300	100	200	>500
<i>Microsporum gypseum (B)</i>	200	500	>500	150	300	150	200	>500
Levures pathogènes								
<i>Candida albicans (B)</i>	100	>500	>500	100	>500	150	100	>500
<i>Cryptococcus neoformans (B)</i>	100	500	>500	100	>500	100	100	>500
<i>Malassezia pachydermatis V5502</i>	75	150	400	100	150	200	200	>500
Champignons filamenteux								
<i>Aspergillus fumigatus (B)</i>	100	200	>500	100	>500	150	200	>500
Souches bactériennes								
<i>Pseudomonas aeruginosa V5667</i>	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Pseudomonas aeruginosa V5791</i>	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Pseudomonas aeruginosa V5803</i>	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Pseudomonas cepacia V6108</i>	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Staphylococcus intermedius IP81.60</i>	500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Staphylococcus intermedius V 6146</i>	500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500
<i>Staphylococcus intermedius V6148</i>	500	>500	>500	>500	>500	>500	>500	>500

** Interprétation des tests de sensibilité en aromathérapie

CMI < 50 µl.ml⁻¹: excellent pouvoir inhibiteur

50 µl.ml⁻¹< CMI < 250 µl.ml⁻¹: pouvoir inhibiteur intéressant

250 µl.ml⁻¹< CMI < 500 µl.ml⁻¹: faible pouvoir inhibiteur

CMI > 500 µl.ml⁻¹: pouvoir inhibiteur médiocre ou nulle

*** Cc : *Cymbopogon citratus* ; Cn : *Cymbopogon nardus* ; Cs : *Cymbopogon schoenanthus* ; Ctnal : *Citronellal* ; Ctnol : *Citronellol* ; Gnol : *géraniol* ; Pipé : *pipéritone* ; B : *CHU Besançon et Angers* ; V : *Laboratoires Vétérinaires, France* ; IP : *Institut Pasteur, Paris*.

les cas, les CMI (concentrations minimales inhibitrices) ont été exprimées en µg.ml⁻¹. Elles correspondent à une croissance nulle pour la durée d'incubation adaptée à chaque espèce.

3. RESULTATS

Les résultats de l'analyse chimique des huiles essentielles sont consignés dans le tableau I. La composition chimique des huiles essentielles et leur variation ont été étudiées (Koumaglo *et al.*, 1996 ; Dugo *et al.*, 1998 ; Pino et Rosado, 2000).

L'échantillon de *C. citratus* étudié ici est riche en néral/géranial, ensemble souvent dénommé: citral. L'huile essentielle de *C. nardus* renferme principalement un autre aldéhyde : le citronellal, accompagné de géranol et d'élémol. L'huile de *C. schoenanthus* est très riche en pipéritone.

Les résultats de l'activité antifongique et antibactérienne des 3 cymbopogons

sont donnés dans le tableau II.

4. DISCUSSION ET CONCLUSION

Les propriétés antimicrobiennes de l'huile essentielle de *Cymbopogon citratus* sont connues (Onawumi *et al.*, 1984 ; Chaumont *et al.*, 2001 ; Koba *et al.*, 2003). D'une manière générale, à l'image de ses constituants principaux aldéhydiques, cette huile de *C. citratus* présente une activité très valable, pratiquement identique à celle du citral, sur les souches fongiques souvent impliquées dans les affections dermatophytiques des chiens et des chats et, en particulier *Microsporum canis* qui, selon Kirk (1977), serait responsable de 70 % des cas cliniques de mycoses chez le chien et de plus de 98 % chez le chat. Elle inhibe aussi fortement (à 75 µg.ml⁻¹) la croissance de *Malassezia pachydermatis*, levure lipophile incriminée dans les otites canines. *Staphylococcus intermedius*, retrouvé très fréquemment dans les

oreilles de chiens souffrant de ces affections, est lui aussi sensible à cette huile essentielle. Seuls les *Pseudomonas*, comme bien souvent en aromathérapie, se montrent très résistants.

Tout comme l'huile essentielle de *C. citratus*, celle de *C. nardus* présente une activité acceptable, *in vitro*, sur l'ensemble des souches fongiques testées, exceptions faites de *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* et *Microsporium gypseum*. De plus, cette huile se révèle pratiquement sans effet, *in vitro*, sur les souches bactériennes étudiées.

On peut supposer que l'activité inhibitrice des huiles essentielles de *C. citratus* et de *C. nardus* est due, pour la première à une forte concentration en aldéhydes monoterpéniques (néral, géraniol, citronellal) et pour la seconde aux alcools de nature chimique voisine (citronellol et géraniol). D'ailleurs, tous ces composés sont bien connus pour leurs propriétés anti-infectieuses (Onawumi *et al.*, 1984 ; Leichtnam, 1996 ; Schaneberg *et al.*, 2002). Il faut noter, enfin, que l'huile essentielle de *C. citratus* serait légèrement plus performante que le citral.

A l'inverse, le faible pouvoir inhibiteur de l'huile de *Cymbopogon schoenanthus* pourrait s'expliquer par l'absence des composés cités ci-dessus. Ils sont remplacés par une forte concentration en pipéritone, cétone, considérée déjà comme peu active (Koba *et al.*, 2003). Les huiles essentielles des deux chimiotypes décrits ici de *Cymbopogon citratus* et de *Cymbopogon nardus* peuvent être proposées comme matières actives dans des formulations contre les infections mycosiques animales, en particulier pour des affections superficielles (teignes), mais aussi pour des levures profondes, plus rares, mais aussi plus graves.

Enfin, les affections nasales ou auriculaires pourraient aussi être traitées, à titre de complément d'une antibiothérapie par ces deux huiles essentielles qui, en Afrique Noire, pourraient être produites et exploitées sur place et dans des conditions économiques très avantageuses. Déjà, d'ailleurs, l'huile essentielle de *C. schoenanthus*, peu performante au niveau antimicrobien, est largement utilisée dans l'élevage traditionnel des volailles sur le continent africain, pour ses propriétés répulsives vis-à-vis d'ectoparasites comme les tiques et les poux des animaux domestiques.

En conclusion, cette étude a confirmé les propriétés antimicrobiennes, *in vitro*, des aldéhydes et de certains alcools monoterpéniques à travers la réelle efficacité des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* et de *Cymbopogon nardus*. Les chimiotypes de ces deux espèces envisagés ici pourraient trouver une application possible dans le traitement des différentes mycoses animales évoquées présentement.

Bien sûr ces résultats obtenus *in vitro* ne constituent qu'une première étape de recherche de produits antimicrobiens nouveaux et naturels à proposer en médecine vétérinaire. Des essais complémentaires devant pouvoir confirmer les performances mises en évidence. Connaissant la toxicité de certaines huiles essentielles des essais devant être complétés par des tests de toxicité primaire cutanée et des tests d'allergénicité.

REMERCIEMENTS

Nous présentons nos remerciements à l'Agence Universitaire de la Francophonie (AUF) pour le financement de ces travaux.

ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OILS FROM TREE AFRICAN CYMBOPOGON AGAINST MICROORGANISMS PATHOGENIC IN PETS

SUMMARY

Essential oils of *Cymbopogon citratus* L., *Cymbopogon nardus* L. and *Cymbopogon schoenanthus* L. were analyzed by gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS) for their chemical composition and chemotypes. Their antimicrobial activity was studied *in vitro* on seven fungal strains and seven bacterial strains responsible for dogs and cats mixed infections. All bacterial strains tested appeared to be insensitive to the essential oils studied. On the other hand *Cymbopogon citratus* L. (citral chemotype) and *Cymbopogon nardus* L. (citronellal/geraniol chemotype) showed very good fungistatic activity with minimum inhibitory concentrations (MIC) between 75 and 200 µg.ml⁻¹. These oils could have potential applications in veterinary medicine.

REFERENCES

- ADAMS R.P. Identification of essential oil components by gaz chromatography : quadrupole mass spectroscopy. Allured Pub. Corp. : Carol Stream, 2001, 456 p.
- BOND R., LAMPORT A.I., LLOYD D.H. Colonisation status of *Malassezia pachydermatis* on the hair and in the hair follicle of healthy beagle dogs. *Res. Vet. Sci.*, 2000, **68**, 291-293.
- BOUDEN-MANSOUR R., BELHADJ S., IDIR L., BOUATTOR A., KILANI M., CHAKER E. Prévalence et agents étiologiques des teignes animales dans la région de Tunis. *J. Mycol. Méd.*, 1997, **7**, 145-148.
- BERRY W.L., VAN RENSBURG I.B., HENTON M.M. Systemic Cryptococcosis in a cat. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 1990, **61**, 71-76.
- BURBIDGE H.M., CLARK W.T., READ R., LABUC R., DAVEY T., BROOME C. Canine nasal Aspergillosis : results of treatment using clotrimazole as a topical agent. *Aust. Vet. Pract.*, 1997, **27**, 79-83.
- CARETTA G., MANCIANTI F., AJELLO F. Dermatophytes and keratinophilic fungi in cats and dogs. *Mycoses*, 1989, **32**, 620-626.

- CARLOTTI N., BENSIGNOR E. Dermatophytosis due to *Microsporium versicolor* or *Microsporium gypsum* in dogs. *Vet. Dermatol.*, 1999, **10**, 17-27.
- CHAUMONT J.P., MANDIN D., SANDA K., KOKA K., DE SOUZA C. Activités antimicrobiennes de cinq huiles essentielles de lamiacées togolaises vis-à-vis de germes représentatifs de la microflore cutanée. *Acta Bot. Gall.*, 2001, **148**, 93-101.
- COLE L., KWOCZKA K., KOWALSKI J., HILLIER A. Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 1998, **212**, 534-538.
- DUGO G., MONDELLO L., PREVITI P., BEGUM J., YUSUF M., CHOWDHURY J.U. Studies on the essential oil bearing plants of Bangladesh. Part IV. Composition of the leaf oils of three *Cymbopogon* species. *J. Essent. Oil Res.*, 1998, **10**, 301-306.
- EFUNTOYE M. Occurrence of keratinophilic fungi and dermatophytes on domestic birds in Nigeria. *Mycopathologia*, 2001, **153**, 83-89.
- FERRER L., RAMOS J. A., BONAVIA R., CABANES J., PUMAROLA M. Cryptococcosis in two cats seropositive for feline immunodeficiency virus. *Vet. Rec.*, 1993, **128**, 393-398.
- FOSTER A., DEBOER D. The role of *Pseudomonas* in canine ear disease. *Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.*, 1998, **20**, 909-919.
- GARY R.-P. Correlation between chemical composition and antimicrobial activity. VI. Activity of some African essential oils. *J. Essent. Oil Res.*, 1997, **9**, 67-75.
- GODFREY D. *Microsporium canis* associated with otitis externa in a Persian cat. *Vet. Rec.*, 2000, **147**, 50-51.
- GUERIN-FAUBLÉE V., BRUN Y. La résistance aux antibiotiques chez les staphylocoques d'origine animale. *Rev. Méd. Vét.*, 1999, **150**, 299-312.
- JACOBSON L.S. Diagnosis and medical treatment of otitis externa in dog and cat. *J. S. Afr. Vet. Assoc.*, 2002, **73**, 162-170.
- KIRK C.W. Dermatophyte infections. In : Kirk R.W. (Ed.), *Current Veterinary Therapy : small animal practice*. 6th edition. Saunders : Philadelphia, 1997, 558-568.
- KOKA K., SANDA K., RAYNAUD C., MANDIN D., MILLET J., CHAUMONT J.P. Activité antimicrobienne des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* L. (DC) Stapf., *C. nardus* L. Rendle et *C. schoenanthus* L. Spreng. *J. Mycol. Méd.*, 2003, **13**, 175-185.
- KOUMAGLO K., DOTSE K., AKPAGANA K., GARNEAU F.X., GAGNON H., JEAN I.F., MOUDACHIROU M., ADDAE-MENSAH I. Analyse des huiles essentielles de deux plantes aromatiques du Togo. *Riv. Ital. EPPOS*, 1996, **7**, 680-691.
- LEICHTNAM I. *Eucalyptus citriodora* et *Cymbopogon winterianus* : deux plantes exotiques à citronellal (thèse de doctorat en pharmacie). Université de Franche-Comté : Besançon, 1996, 177 p.
- LLOYD D.H., LAMPORT A.I., FEENEY C. Sensitivity to antibiotics amongst cutaneous and mucosal isolates of canine pathogenic staphylococci in the UK, 1980-96. *Vet. Dermatol.*, 1996, **7**, 171-175.
- MORTELLARO C.M., FRANCA P. DELLA, CARETTA G. *Aspergillus fumigatus*, a causative agent of infection of the frontal sinuses and nasal chambers of the dog. *Mycoses*, 1989, **32**, 327-335.
- OCHIAI K., VALENTINE A., ALTSCHUL M. Intestinal candidiasis in a dog. *Vet. Rec.*, 2000, **146**, 228-229.
- ONAWUMI G.O., YSAK W.A., OGUIANA E.O. Antibacterial constituents in the essential oil of *Cymbopogon citratus*. *J. Ethnopharmacol.*, 1984, **12**, 279-286.
- PINO J. A., ROSADO A. Chemical composition of Essential Oil of *Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf. from Cuba. *J. Essent. Oil Res.*, 2000, **12**, 301-302.
- PINTER L., NOBLE W.C. Stomatitis, pharyngitis and tonsillitis caused by *Malassezia pachydermatis* in a dog. *Vet. Dermatol.*, 1998, **9**, 257-261.
- PRESCOTT J.F., BRAD HANNA W.J., REID-SMITH R., DROST K. Antimicrobial drug use and resistance in dogs. *Can. Vet. J.*, 2002, **43**, 107-116.
- SCHANEBERG B.T., KHAN I.A. Comparison of extractions methods for marker compounds in essential oil of lemon grass by GC. *J. Agric. Food Chem.*, 2002, **50**, 1345-1349.
- SIMARD S., HACHEY J.M., COLIN G.J. The variation of the essential oil composition with the extraction process, the case of *Thuja occidentalis* L and *Abies balsamea* L. *J. Mill Wood Techn.*, 1988, **8**, 561-573.
- VANDEMEULEBROUCKE B.T., MOUNKASSA B., DELOYE J., JOUSSERAND P., POUJADE F., PETITHORY J.C. Teignes du cuir chevelu en milieu scolaire rural au Mali. *J. Mycol. Méd.*, 1999, **92**, 11-13.
- WERCKENTHIN C., CARDOSO M., MARTEL J.L., SCHWARZ S. Antimicrobial resistance in *Staphylococci* from animals, with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus* and canine *Staphylococcus intermedius*. *Vet. Res.*, 2001, **32**, 341-362.
- ZIOLKOWSKA G., NOWAKIEWICZ A. Występowanie grzybów z rodzaju *Malassezia* w zewnętrznym kanale słuchowym u psów. *Medycyna Wet.*, 2004, **60**, 310-313