

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis

Département Des Sciences Alimentaires

Mostaganem

Faculté des Sciences de Nature et de la Vie



UNIVERSITE
Abdelhamid Ibn Badis
MOSTAGANEM

Mémoire De Fin D'étude

Présenté par :

KRECHICHE Abdeldjalil Et BEN ARBIA Fatima Zohra

Pour l'obtention du diplôme de :

Master en Production et Transformation Laitière

Spécialité : Production et Transformation Laitière

Thème :

Activité antimicrobienne *in vitro* des extraits aqueux et méthanoliques de la résine d'encens contre certains agents pathogènes responsables des mammites chez les bovins laitiers

Devant le jury :

TAHLAITI Hafida	Présidente	Professeur	Uv Mostagnem
ALACHAHER Fatima Zohra	Encadrante	MCB	Uv Mostagnem
CHERRAD Hayet	Examinatrice	MCB	Uv Mostagnem

Année Universitaire : 2023 /2024

Remerciement

Nous rendrons grâce à **Dieu** le tout puissant pour le courage, la force et la patience qu'il nous a accordé pour mener à bien notre travail

Nous voudrions tout d'abord adresser toute notre reconnaissance à la directrice de ce mémoire Dr. **ALACHAHER FATIMA ZOHRA**, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion.

Nous remercions également toute l'équipe pédagogique de l'université d'Abdelhamid ibn badis

Nous tenons à remercier **DAHOU MOHAMED AMINE** le directeur de laboratoire

et la technicienne **JAHIRA HAMED**

Nous voulons remercier le membre des jurys : **MADAMETAHLAITI HAFIDA** et **MADAME CHERRAD HAYET**

Et bien sur un grand merci pour **les parents** qui ont toujours été là pour nous.

A tous ces intervenants, nous offrons nos remerciements , nos respect et notre gratitude .

Merci

ABDELDJALIL KRECHICHE

BEN ARBIA FATIMA ZOHRA

Dédicace

Je tiens à dédier mon travail

Aux meilleurs des pères et ma très chère maman qu'ils trouvent en moi la source de leurs fierté qui ne cessent de me donner avec amour le nécessaire pour que je puisse arriver à ce que je suis aujourd'hui

Que dieu les protèges et que la réussite soit toujours à ma portée pour que je puisse vous combler de bonheur

A ma sœur MARWA et mes frères : MOHAMED, ABDELGHANI et mon petit IBRAHIM

A toute ma famille

Et a toutes mes chères amies : CHAIMA, SAKINA, SALSABIL et MANEL

Et une grande dédicace pour MADAME ALACHAHER FATIMA ZOHRA.

Et à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet, je vous dire merci.

FATIMA ZOHRA BEN ARBIA

Dédicace

Premièrement je tiens à me remercier d'avoir accompli ce travail académique

Je tiens aussi à remercier mes parents qui m'ont éduqué et m'on toujours soutenu et c'est grâce à eux que j'en suis arrivé là.

Que Dieu les protège et les gardes pour moi.

Merci à tous les docteurs et professeurs qui ont participé(e) dans mon éducation depuis le primaire jusqu'à l'université.

Je remercie beaucoup à Dr. Alachahermon encadrant de mon projet de fin d'études.

Je remercie aussi mon collègue avec qui j'ai partagé ce projet de fin d'étude académique.

Merci à tous qui m'en encourager et toujours soutenu de près ou de loin

ABDEL DJALIL KRECHICHE

Liste d'abréviation

ATCC : *American Type Culture Collection*.

BHIB : bouillon BHI pour Brain Heart Infusion.

EA : équivalent d'acide galique.

EQ : équivalent de Quercetine.

F : facteur de dilution.

G : gramme.

Kg : kilogramme.

LMBAFS : Laboratoire des microorganismes bénéfiques, des aliments fonctionnels et de la Santé .

Min : minute.

Mg : milligramme.

ml : millilitre.

Nm : nano mètre.

UL : microlitres.

Ug : microgrammes.

(%) : pourcentage.

Liste des figures

Figure 01 .Cas de mammite clinique	03
Figure 02 .Photo microscopique de <i>staphylococcus aurieus</i>	06
Figure 03 . <i>Boswellianeglecta</i> du Kenya (A) , <i>Boswelliacarterii</i> de Somalie (B) , <i>Boswellia sacra</i> d'Oman (C) et <i>Boswelliaserrata</i> d'Inde (D).	10
Figure 04 .Photographie de <i>boswellia</i>	11
Figure 05 .Production mondiale de <i>Boswellia</i>	12
Figure 06 . Résine produite par un arbre à encens.	13
Figure 07 . La résine d'encens	15
Figure 08 . Les étapes de l'extraction hydrolique et méthanolique de résine.	17
Figure 9 .Les étapes de l'extractionde la résine d'encens.	18
Figure 10 . Les étapes de dosage des polyphénols.	19
Figure 11 .Les étapes de dosage des flavonoïdes.	21
Figure 12 . Les étapes de l'activité antimicrobienne	23
Figure 13 . La courbe étalon de l'acide galique.....	24
Figure 14 . La courbe d'étalonnage de la quercétine.	25
Figure 15 . Le dosage des polyphénols et des flavonoïdes dans l'extrait de la résine d'encens	27
Figure 16 . Le diamètre de la zone d'inhibition.	28

Liste des tableaux

Tableau 01. Épidémiologie des germes pathogènes responsables des mammites.	05
Tableau 02. Classification de <i>Boswelliasp.</i>	15
Tableau 3. Diamètre de la zone d'inhibition	28
Tableau 4. Gamme étalon des polyphénols totaux à l'aide d'acide galique.	30
Tableau 5. Gamme étalon des flavonoïdes totaux à l'aide de quercétine.	30
Tableau 6. Teneurs de dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux dans la résine d'encens.	30

Table des matières

INTRODUCTION

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les mammites chez les bovins laitiers	01
1.1 Généralité sur la mammite.....	01
1.2 Historique.....	01
1.3 Les différents types et symptômes de mammite	02
✓ Mammite clinique	02
✓ Mammite gangreneuse.....	03
1.4 Classification des Germes Impliqués dans les Mammites Bovines.....	03
✓ Les espèces pathogènes majeures	04
✓ Les espèces pathogènes mineures	04
✓ Les germes contagieux	04
✓ Les germes d'environnement	04
1.5 <i>Staphylococcus aureus</i> : Une Bactérie Impliquée dans les Mammites Bovines.....	05
1.6 Impacts des mammites dans l'élevage laitier	06
2. Introduction à la résine d'encens	07
2.1 Définition.....	07
2.2 Historique	08
2.3 Composition chimique de la résine d'encens.....	08
✓ Les huiles essentielles.....	09
✓ La partie polymérisable.....	09
✓ Les polyterpènes.....	09
✓ Les résines naturelles.....	09
✓ Les triterpènes	09
2.4 La plante productrice de résine d'encens	09
2.5 Pays producteurs de résine	11
2.6 Production de résine	12
2.7 Applications et caractéristiques de la résine.....	13

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Matériel végétale	15
2. Caractéristiques de la gomme de résine utilisée.....	15
3. Classification botanique	15
4. La souche bactérienne utilisée	16
5. Préparation de l'extrait de résine.....	16

✓ Préparation de la poudre de la résine	16
✓ Préparation des extraits aqueux et l'extrait méthanolique de la résine	16
6.Objectif expérimentale.....	18
7. Dosage des polyphénols totaux.....	18
8. Dosage des flavonoïdes totaux.....	20
9. Activité antimicrobienne	21
RÉSULTATS ET DISCUSSION	
1.Taux de Polyphenols totaux dans l'extrait de la résine d'encens	24
2.Taux de flavonoïdes totaux dans l'extrait de la résine d'encens	25
3.Évaluation du pouvoir antimicrobienne	27
CONCLUSION	30

Résumé

La mamite, une inflammation de la glande mammaire, constitue un défi majeur dans l'industrie laitière en raison de ses conséquences économiques significatives et du bien-être animal compromis. La résine d'oliban, extraite d'arbres du genre *Boswellia* et réputée pour ses propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes, suscite un intérêt croissant en tant que solution potentielle dans le traitement des mammites bovines. L'objectif de cette étude était d'identifier les composés chimiques qu'elle contient. Les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes de l'extrait aqueux de la résine d'encens ont été quantifiées respectivement à l'aide de la méthode de Folin-Ciocalteu et de la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl₃). De plus, l'activité antibactérienne des extraits aqueux et méthanoliques de la résine d'oliban contre les agents pathogènes couramment associés aux mammites chez les vaches laitières a été évaluée. Pour ce faire, la méthode de diffusion en puits a été employée pour tester l'efficacité de la résine contre la souche bactérienne *Staphylococcus aureus*. Les résultats ont montré que l'extrait aqueux de la résine d'encens présente des concentrations élevées de composés phénoliques et de flavonoïdes totaux (**0,089 ± 0,002 et 1,043 mg/g** respectivement). En outre, une efficacité significative de l'extrait aqueux de la résine d'oliban contre ces agents pathogènes a été révélée. En particulier, une inhibition notable de la croissance bactérienne a été observée, avec des diamètres de zone d'inhibition de **11,13 mm** pour l'extrait aqueux et **10,01 mm** pour l'extrait méthanolique, mettant en évidence son potentiel prometteur en tant qu'agent antibactérien efficace contre cet agent pathogène majeur des mammites bovines. Ces résultats soulignent l'importance de la résine d'oliban comme candidat potentiel pour le traitement des mammites chez les vaches laitières. Son utilisation pourrait présenter une alternative naturelle aux antibiotiques traditionnels, réduisant ainsi le risque de résistance aux antimicrobiens et limitant les résidus dans le lait.

Mots clés : Mamites bovines, polyphénols, *Staphylococcus aureus*

Abstract

Mastitis, an inflammation of the mammary gland, poses a major challenge in the dairy industry due to its significant economic consequences and compromised animal welfare. *Boswellia* resin, extracted from trees of the *Boswellia* genus and known for its anti-inflammatory and antimicrobial properties, is gaining increasing interest as a potential solution in the treatment of bovine mastitis. The aim of this study was to identify the chemical compounds it contains. Total polyphenols and flavonoids content of the aqueous extract of frankincense resin were quantified using the Folin-Ciocalteu method and the aluminum chloride colorimetric method, respectively. Additionally, the antibacterial activity of aqueous and methanolic extracts of frankincense resin against pathogens commonly associated with mastitis in dairy cows was evaluated. To do this, the agar well diffusion method was used to test the resin's efficacy against the bacterial strain *Staphylococcus aureus*. The results showed that the aqueous extract of frankincense resin exhibited high concentrations of total phenolic compounds and flavonoids (**0.089 ± 0.002 and 1.043 mg/g** respectively). Moreover, significant efficacy of the aqueous extract of frankincense resin against these pathogens was revealed. In particular, a notable inhibition of bacterial growth was observed, with zone diameters of **11.13 mm** for the aqueous extract and **10.01 mm** for the methanolic extract, highlighting its promising potential as an effective antibacterial agent against this major pathogen of bovine mastitis. These findings underscore the importance of frankincense resin as a potential candidate for the treatment of mastitis in dairy cows. Its use could present a natural alternative to traditional antibiotics, thereby reducing the risk of antimicrobial resistance and limiting residues in milk.

Key words: Mastitis, total polyphenols, *Staphylococcus aureus*.

الخلاصة

يشكل التهاب الضرع تحديًا كبيرًا في صناعة الألبان بسبب عواقبه الاقتصادية الكبيرة وتعرض رفاهية الحيوان للخطر. يكتسب راتنج اللبان، المستخرج من أشجار جنس *Boswellia* والمعروف بخصائصه المضادة للالتهابات والمضادة للميكروبات، اهتمامًا متزايدًا محتمل في علاج التهاب الضرع البقري. وكان الهدف من هذه الدراسة التعرف على المركبات الكيميائية التي يحتوي عليها تم قياس إجمالي محتوى البولي فينول والفلافونويد في المستخلص المائي لراتنج اللبان باستخدام طريقة Folin-Ciocalteu وطريقة قياس الألوان بكلوريد الألومنيوم، على التوالي. بالإضافة إلى ذلك، تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات المائية والميثانولي لراتنج اللبان ضد مسببات الأمراض المرتبطة عادة بالتهاب الضرع في أبقار الألبان. وللقيام بذلك تم استخدام طريقة الانتشار في الآجار لاختبار فعالية الراتنج ضد بكتيريا *Staphylococcus aureus*. وأظهرت النتائج أن المستخلص المائي لراتنج اللبان أظهر تراكيز عالية من إجمالي المركبات الفينولية والفلافونويدات (0.089 ± 0.002 و 1.043 ملغم/ز على التوالي). وتم الكشف عن فعالية كبيرة للمستخلص المائي لراتنج اللبان ضد هذه مسببات الأمراض. على وجه الخصوص، لوحظ تثبيط ملحوظ لنمو البكتيريا، حيث بلغ قطر المنطقة 11.13 ملم للمستخلص المائي و 10.01 ملم للمستخلص الميثانولي، مما يسلط الضوء على إمكاناته الواعدة كعامل فعال مضاد للجراثيم ضد هذا العامل الممرض الرئيسي لالتهاب الضرع البقري. وتؤكد هذه النتائج أهمية راتنج اللبان كمرشح محتمل لعلاج التهاب الضرع في الأبقار الحلوب. يمكن أن يمثل استخدامه بديلاً طبيعياً للمضادات الحيوية التقليدية، وبالتالي تقليل خطر مقاومة مضادات الميكروبات والحد من البقايا في الحليب.

INTRODUCTION

L'émergence de nouvelles maladies et le changement climatique provoqué par l'intensification des activités industrielles poussent les scientifiques à explorer de nouvelles voies pour protéger la santé humaine et animale. Dans ce contexte, les produits naturels, notamment les extraits végétaux, suscitent un intérêt croissant en raison de leur potentiel thérapeutique et de leur faible toxicité. Parmi ces extraits, la résine d'encens, issue des arbres du genre *Boswellia*, est largement reconnue pour ses propriétés médicinales, notamment ses effets anti-inflammatoires, antifongiques et antiseptiques (**Belkas&Merrouche2020**).

La mammite, une inflammation de la mamelle chez les vaches laitières, est une maladie courante dans l'industrie laitière, entraînant des pertes économiques importantes. Cette inflammation est souvent causée par des agents pathogènes tels que *Staphylococcus aureus*. La résine d'encens a émergé comme une candidate prometteuse pour le traitement de la mammite en raison de ses propriétés antimicrobiennes potentielles(**Harzallah ,2020**).

Dans cette perspective, plusieurs études antérieures ont soutenu l'utilisation de la résine d'encens dans diverses applications médicales. Par exemple, (**Hassanpouret al. , (2019)**) ont évalué l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de *Boswelliaserrata* sur les bactéries parodontopathogènes. De plus, (**Sahet al. ,2020**) ont présenté une revue sur les produits naturels de *Boswelliaserrata* pour la recherche antimicrobienne. (**Moula &Zerida (2023)**) ont souligné l'importance des ingrédients naturels dans la médecine moderne, mettant en lumière leurs multiples bienfaits pour la santé humaine et animale. En outre, (**Belkas&Merrouche (2020)**) ont examiné le rôle des métabolites secondaires végétaux dans les activités anti-inflammatoires et antioxydantes, mettant en évidence leur potentiel dans le traitement des maladies inflammatoires.

Dans cette étude, nous avons pour objectif de quantifier les polyphénols et les flavonoïdes présents dans la résine d'encens et d'évaluer leur activité antibactérienne contre les souches de *Staphylococcus aureus* associées à la mammite bovine. Nous visons à contribuer à une meilleure compréhension des mécanismes d'action de la résine d'encens contre les infections bactériennes et à explorer son potentiel en tant qu'agent thérapeutique dans le traitement de la mammite.

Pour ce faire, nous utiliserons des méthodes de dosage des polyphénols et des flavonoïdes dans la résine d'encens, ainsi que des tests d'activité antibactérienne *in vitro* pour évaluer son efficacité contre les souches de *Staphylococcus aureus*.

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les mammites chez les bovins laitiers

La glande mammaire d'une vache laitière, connue pour sa production abondante de lait, est hautement vascularisée, ce qui permet au système de vaisseaux sanguins d'apporter les éléments nécessaires à la synthèse du lait par les cellules lactotropes. Les alvéoles mammaires fonctionnent comme de petites usines laitières, transformant en continu les éléments nutritifs (glucose, acides aminés, acides gras, eau et sels minéraux) provenant du sang en lait, qui s'accumule dans la lumière alvéolaire. Lors de la traite, les cellules myoépithéliales, stimulées par l'ocytocine, se contractent pour expulser le lait de la lumière alvéolaire à travers les canaux alvéolaires vers les canaux galactophores, puis vers le sinus lactifère.

1.1. Généralité sur la mammité

La mammité bovine, une inflammation de la glande mammaire, peut être déclenchée par un traumatisme physique ou des infections microbiennes (**Hogeveen *et al.*, 2019**). Cette réaction entraîne une inflammation et des lésions tissulaires, augmentant la perméabilité entre le sang et le lait, ce qui altère la composition physico-chimique du lait (**Bouaziz, 2021**). L'inflammation survient lorsque des agents pathogènes traversent les barrières du canal du trayon et se multiplient dans le lait. Si les défenses immunitaires réagissent efficacement, la mammité est légère et temporaire, mais si ces défenses sont compromises, comme pendant la période de parturition, ou si les agents pathogènes contournent le système immunitaire, la mammité peut être plus sévère ou chronique (**Mancer & Selg, 2021**). La gravité de la réponse inflammatoire détermine si la mammité est subclinique ou clinique. En médecine vétérinaire, la mammité bovine est reconnue comme l'une des maladies les plus courantes et économiquement importantes affectant les troupeaux laitiers dans le monde (**El-Ashker *et al.*, 2015**).

1.2. Historique

Les mammites ont une longue histoire liée à la domestication des bovins pour la production laitière, remontant au 18^e siècle, comme en témoignent des références telles que le traité de Willburg de 1776, cité par Heidrich et Renk en 1963. À cette époque, la mammité était décrite comme une inflammation de la glande mammaire, caractérisée par un gonflement, une dureté, une rougeur et une chaleur. Les principales causes étaient attribuées aux refroidissements ou aux blessures du trayon.

Au 19^e siècle, grâce aux travaux de Pasteur, Frank parvint à reproduire la mammite en inoculant du lait prélevé d'une vache malade à une vache saine par le canal du trayon. Divers auteurs, tels que Nocard et Mollereau en 1884, Bang en 1888 et Guillebeau en 1890, ont mené des études bactériologiques qui ont mis en évidence la responsabilité de nombreuses espèces bactériennes. Cela a conduit au développement des premières méthodes de prophylaxie sanitaire, bien que aucun traitement actif ne soit encore disponible à cette époque, obligeant à attendre la guérison spontanée ou à réformer la vache malade.

L'utilisation des sulfamides par voie parentérale dans le traitement a débuté en 1942, suivi de l'adoption de la pénicilline à des fins vétérinaires en 1945, permettant ainsi le traitement intramammaire des mammites cliniques. Dans les années 1960, une meilleure compréhension des réservoirs de germes responsables et des mécanismes de transmission aux quartiers a permis aux chercheurs de l'Université de Reading, en Angleterre, de proposer des stratégies de prophylaxie sanitaire (Mancer&Selg, 2021).

1.3. Les différents types et symptômes de mammite

1.3.1. Mammite clinique

La mammite clinique chez la vache est principalement causée par l'infiltration de bactéries dans un quartier par le canal de trayon. Elle se manifeste par des modifications non cliniques de la sécrétion lactée, telles qu'une diminution de la production de lait et une augmentation du nombre de cellules somatiques, sans présenter de signes cliniques visibles.

Les signes de la mammite clinique comprennent une altération de la sécrétion lactée, manifestée par la présence de grumeaux, de sang ou de caillots sanguins, voire de pus dans le lait. Ils sont accompagnés de symptômes locaux tels que le gonflement, la chaleur, la douleur et la rougeur, ainsi que de symptômes généraux comme une température corporelle élevée, et parfois une perte d'appétit, un état de décubitus, voire un choc.

Cette maladie se caractérise par des signes visibles tels qu'une inflammation de la mamelle, qui peut se présenter comme dure, enflée, chaude et douloureuse, ainsi que par des altérations de l'aspect du lait, telles que la présence de grumeaux, des variations de couleur, d'odeur et d'aspect. Dans les cas les plus graves, la vache peut connaître une forte chute de production laitière, la perte d'un quartier, voire le décès de l'animal.

Les mammites cliniques peuvent également s'accompagner d'une réaction inflammatoire intense, avec des symptômes graves tels que la congestion, l'œdème, la sécrétion laiteuse

décomposée ou purulente, des abcès, des fistules, de la gangrène, ainsi que des signes généraux plus ou moins prononcés, tels que l'hyperthermie, les troubles nerveux et l'amaigrissement (Kouri, 2016).

Parmi les quatre types de mammites cliniques, la **mammite gangreneuse** est une infection mammaire généralement causée par certaines souches de *Staphylococcus aureus* produisant une toxine appelée hémolysine A. Cette toxine provoque une constriction prolongée des vaisseaux sanguins, ce qui entrave la circulation sanguine dans la partie distale de la mamelle infectée et entraîne la mort des tissus. Cette forme de mammite est plus fréquente chez les jeunes vaches, car elles ont moins d'anticorps contre l'hémolysine. De plus, des signes de gangrène ont également été observés dans les cas de mammites à colibacilles.



Figure 01. Cas de mammite clinique

1.3.2. Classification des Germes Impliqués dans les Mammites Bovines

La diversité des agents responsables des mammites est importante, avec environ 200 espèces de micro-organismes potentiellement impliquées. Cependant, une dizaine d'entre elles représentent environ 90 % des cas de mammites, tandis que trois catégories de germes sont responsables de 75 % des cas. Ces trois catégories, comprenant les *streptocoques* et *staphylocoques* (responsables de 9 cas de mammite subclinique sur 10) ainsi que les entérobactéries (constituant 80 % des cas de mammite clinique), sont considérées comme des germes pathogènes majeurs. En outre, des germes mineurs tels que des champignons ou des levures peuvent également causer des mammites. La plupart des mammites sont d'origine bactérienne, avec 90 % des cas impliquant un seul germe, rendant la mammite généralement monomicrobienne. Cependant, dans certains cas, des mammites bimicrobiennes peuvent survenir. Il est possible de distinguer les germes pathogènes majeurs des mineurs, ainsi que les germes provenant de réservoirs et ceux de l'environnement (Bouaziz, 2021).

Les espèces pathogènes majeures : susceptibles de causer des mammites cliniques, comprennent les streptocoques (comme *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae subsp. dysgalactiae I*, *Streptococcus agalactiae*), les entérocoques (tels que *Enterococcus faecalis*), les staphylocoques à coagulase positive (notamment *Staphylococcus aureus subsp. aureus*), ainsi que les entérobactéries (comme *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*). Ces quatre groupes de germes sont responsables de la grande majorité des cas de mammites cliniques, représentant de 80 à 90 % des cas selon des études telles que celles d'Argente et al. (2005) et de Fabre et al. (1997). D'autres germes, tels que *Arcanobacterium pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, des mycoplasmes et des bactéries anaérobies, sont plus rarement détectés dans les cas de mammite.

Les espèces pathogènes mineures : sont rarement responsables de mammites cliniques, bien qu'elles soient souvent associées aux mammites subcliniques. Ce groupe comprend notamment les staphylocoques coagulase négative et les corynebactéries. D'autres germes peuvent également contribuer à l'apparition des mammites, mais leur incidence demeure faible. Parmi eux, on trouve *Mycoplasma spp.*, *Nocardia asteroides*, *Histophilus somni*, *Leptospira spp.*, *Candida spp.*, etc.

Les germes contagieux : sont responsables de mammites cliniques ou subcliniques qui ont tendance à devenir chroniques. Parmi eux, on retrouve notamment *S. aureus*, *Str. dysgalactiae* et *Str. agalactiae*. Il est fréquent d'observer la présence du même *S. aureus* ou du même streptocoque dans plusieurs quartiers mammaires d'une même vache, ce qui suggère une transmission fréquente d'un quartier à l'autre ou d'une vache à l'autre pendant la préparation de la mamelle ou la traite.

Les germes d'environnement : fréquemment impliqués comprennent les entérobactéries, *Streptococcus uberis* et les *Streptocoques* du groupe D (entérocoques). Leur transmission se fait principalement entre les traites, lorsque les trayons entrent en contact avec la litière souillée lors du repos des vaches. Ces germes entraînent généralement une inflammation plus sévère du quartier et des infections de durée plus courte. Il est rare de retrouver les mêmes sérotypes de germes responsables dans différents quartiers d'un même troupeau, ce qui indique une transmission de souches distinctes des quartiers infectés aux quartiers sains (Mancer & Selg, 2021).

Tableau 01. Épidémiologie des germes pathogènes responsables des mammites (**Hanzen, 2016**).

Caractéristiques		Mammites contagieuses	Mammites d'environnement		
Germes principaux		Streptocoque agalactiae Staphylococcus aureus	Coliformes (E Coli, Klebsiella, Serratia, Pseudomonas) Streptococcusuberis Streptocoque dysgalactiae		
Germes « secondaires »		Corynebacterium bovis Mycoplasmes	Champignons , Levures		
Réservoir principal		Pis des vaches infectées	Environnement: Str uberis : paille Coliformes et Klebsiella : copeaux et sciure		
Reservoir secondaire		Lésions des trayons Matériel de traite Trayeur			
N de (prévalenc)	vaches atteintes	Elevé	Faible		
Influence sur le TCT		Importante	Faible		
Durée de l'infection		Longue	Courte (< 10 jours pour 50 % des mammites à coliformes)		
Type de mammite		Sub-clinique /chronique	Clinique		
Sévérité de la mammite		Moyenne	Forte		
Transmission del'infection		<u>Pendant</u> la traite Toute la lactation	<u>Entre</u> les traites Avant ou après le vêlage Lors des traitements Intramammaires		
Variations des infections		Peu de variations mensuelles	Variations mensuelles		
Pertes économiques		Diminution de la production	Traitements, mortalité		
Traitement s curatifs)	(préventifs et	Hygiène de la traite (avant et après)	Amélioration de l'environnement	l'hygièn e	De

1.3.3. *Staphylococcus aureus* : Une Bactérie Impliquée dans les Mammites Bovines

Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram positif, hémolytique, et aéro-anaérobie facultatif, se développant en colonies rondes, lisses, de 4 à 6 mm de diamètre, de couleur blanche, jaune ou orangée sur gélose, d'où son nom de staphylocoque doré. Naturellement présent sur la peau, les trayons et les muqueuses des bovins, sa multiplication est favorisée par des lésions cutanées. Principalement résident dans les mamelles infectées des vaches laitières en production, sa contamination survient lors de la traite par la machine, les mains du trayeur ou son matériel. Pendant la traite, l'excrétion usuelle est de 10 000 UFC/mL, mais peut atteindre

jusqu'à 10⁸ UFC/mL. Après pénétration dans le canal du trayon, *S. aureus* envahit les canaux galactophores et colonise les cellules épithéliales en 24 heures.

L'inflammation résultant de sa multiplication provoque une hyperplasie du tissu inter-alvéolaire, formant des nodules détectables à la palpation de la mamelle. Il peut également pénétrer et se multiplier dans les macrophages, les polynucléaires neutrophiles et les cellules épithéliales, échappant ainsi aux antibiotiques circulants. Doté de nombreux facteurs de virulence, il résiste aux attaques immunitaires et peut former des biofilms. Son excrétion laitière est intermittente, variant de zéro à 10⁴ cell/mL, mais peut atteindre 10⁸ cell/L. Un résultat bactériologique négatif ne signifie pas nécessairement son absence, car seulement un tiers des quartiers infectés est positif en bactériologie. Une vache infectée peut contaminer les huit vaches suivantes lors de la traite.

Effectivement, *Staphylococcus aureus* peut causer des mammites aiguës gangreneuses dans certaines circonstances. C'est une forme très grave qui se produit lorsque la mamelle présente une baisse d'immunité sévère, et cela ne dépend pas de la souche bactérienne. Il est également important de noter que *Staphylococcus aureus* est contagieux entre les bovins. Dans la plupart des cas, seulement quelques souches sont présentes dans un élevage, ce qu'on appelle un mode monoclonal. Cependant, il peut y avoir des cas plus rares où une origine environnementale est suspectée, avec une grande variété de souches identifiées. De plus, certaines souches de *Staphylococcus aureus* produisent des β -lactamases, ce qui les rend résistantes à certains antibiotiques de la famille des β -lactamines. C'est pourquoi il est important de prendre des mesures pour prévenir et traiter les infections à *Staphylococcus aureus* de manière appropriée (Harzallah, 2020).

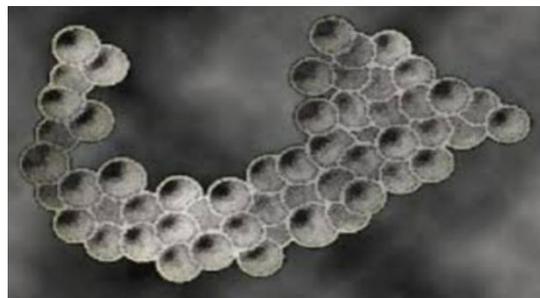


Figure02.Photo microscopique de *staphylococcus aurieus*(Constance,2017).

1.4.Impacts des mammites dans l'élevage laitier : Médicaux, sanitaires et économiques

Les mammites constituent un problème majeur dans l'élevage laitier, avec des répercussions significatives sur la santé des animaux, la sécurité alimentaire et l'économie. Sur le plan médical, certaines formes, telles que les mammites gangréneuses associées à *Nocardia* ou les mammites colibacillaires, peuvent être mortelles (**Gao et al., 2017**).

Du point de vue sanitaire, les mammites affectent l'hygiène animale et posent un risque pour la santé publique en contaminant le lait avec des agents pathogènes. Ceci est préoccupant en raison du risque zoonotique, notamment en l'absence de pasteurisation. Des germes comme *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Salmonella* sont particulièrement étudiés dans ce contexte (**Barkema et al., 2018**).

Sur le plan économique, les mammites sont le problème sanitaire le plus courant et coûteux dans l'élevage laitier. Les dépenses vétérinaires, les pertes de production laitière et les pénalités sur le prix du lait impactent considérablement les revenus des éleveurs. Au Royaume-Uni, le coût moyen des mammites cliniques est estimé à 175 £ par cas, représentant un total de 168 millions de £ par an pour l'ensemble du cheptel laitier britannique (**Bradley et al., 2020**). En France, une étude menée dans les Pays de la Loire estime ce coût à environ 1,14 centimes d'euros par kilogramme de lait, avec 36 % des dépenses attribuées à la maîtrise, 24 % aux traitements et préventions médicales, et 12 % aux produits d'hygiène de traite et aux lavettes, tandis que les pertes représentent 64 % (**Kouri, 2016**).

Ces impacts médicaux, sanitaires et économiques soulignent l'importance de prévenir et de traiter efficacement les mammites dans l'élevage laitier.

2. Introduction à la résine d'encens

2.1. Définition

Une résine végétale est définie comme un mélange partiellement liposoluble de composés volatils et non volatils, constitué de métabolites secondaires. Ces molécules sont généralement produites soit à l'intérieur des plantes, soit à leur surface, et peuvent jouer un rôle important dans les interactions écologiques. Elles peuvent présenter une structure terpénique ou phénolique, donnant ainsi naissance aux résines terpéniques ou phénoliques. Par ailleurs, il existe une catégorie de substances résineuses dites fossiles, telles que l'ambre (**Belkas&Merrouche,2020**). Ces résines sont des substances collantes d'origine végétale, illustrées par des exemples tels que la résine du sapin baumier et la gomme d'épinette. La

gomme se présente sous différentes formes : une substance pâteuse de couleur jaune translucide, des agglomérats cassants et parfumés de taille variable, ainsi que des exsudats qui se brisent en fragments conchoïdaux. De plus, elle dégage une odeur caractéristique et possède un goût aromatique et agréable (**Araba &ghouila, 2022**).

2.2. Historique

L'oliban a toujours joué un rôle central à travers l'histoire et au sein de diverses civilisations. Dans les temps anciens, de nombreux peuples tels que les Hindous, les Égyptiens, les Babyloniens, les Assyriens, les Persans, les Romains, les Chinois et les Grecs, ainsi que les anciennes civilisations américaines telles que les Incas, les Mayas et les Aztèques, ont utilisé des résines naturelles principalement à des fins de momification, encens pour les célébrations culturelles et même à des fins locales. Ils ont brûlé ces résines dans les cérémonies de sacrifice ou dans leurs rituels quotidiens pour empêcher l'impact nocif des esprits mauvais sur leurs vies, ainsi que pour honorer les morts ou les personnes vivantes. (**Benjamin, 2018**).

Depuis l'Antiquité la plus reculée, on connaît l'oliban grâce à des peintures et des gravures datant d'environ 1600 av. J.-C., découvertes dans le temple égyptien de Deir - el - bahari, qui décrivent le commerce entre les Égyptiens et les peuples voisins. Bien que ce produit n'existe pas en Égypte, il était importé. Selon J. Dümichen, un traducteur d'hieroglyphes, ces produits arrivaient en Égypte en provenance d'Arabie (**Belkas&Merrouche ,2020**). D'autres auteurs comme Hildebrandt (1878) pensent qu'une telle origine est peu probable le nord de la Somalie semblant plus certain . De nos jours, l'encens est utilisé dans différents domaines tels que la phytothérapie, L'aromathérapie, la médecine ayurvédique, la parfumerie et les cosmétiques, où il est utilisé comme ingrédient dans les formulations cosmétiques.

Avant l'expansion des moyens techniques et analytiques , les résines naturelles n'ont pas pu être bien définies . L'évolution des outils analytiques a permis d'avoir une vue précise de ces produits et notamment en ce qui concerne leur structure chimique , leur exsudation et leur fonction dans les plantes . Dans le domaine de la chimie , les premiers travaux sur les résines ont été réalisés par Tschirch, mais c'est dans les années 1940 et 1950 , avec l'évolution de différentes techniques spectroscopiques et chromatographiques , qu'une connaissance plus approfondie de la composition chimique des résines , mais également des autres exsudats d'origine végétale , a ainsi été possible .

2.3. Composition chimique de résine d'encens

Un certain nombre de résines naturelles végétales se caractérisent en tant qu'oléo-gommo-résines, leur dénomination révélant une composition en trois fractions distinctes : les monoterpènes et les huiles essentielles (éléments oléo), les polysaccharides (partie gommo), et les diterpènes ou triterpènes (composants résineux).

Les huiles essentielles, définies par diverses sources dont **Naves, (1974)**, se présentent comme des mélanges de produits végétaux, issus d'une même espèce végétale et distillés avec de la vapeur d'eau, contenant une proportion variable d'eau. Elles sont des composés naturels volatils, lipidiques ou huileux, dotés souvent d'un parfum caractéristique, peu solubles dans l'eau mais présents dans les graisses, les alcools, les solvants organiques, et autres substances hydrophobes, généralement liquides à température ambiante et stockés dans des cellules spécialisées des végétaux, telles que des canaux d'huile ou de résine. La composition chimique de ces huiles, principalement constituée de monoterpènes et de sesquiterpènes, peut varier selon l'espèce productrice de la résine, comme dans le cas de l'huile essentielle de résine d'oliban, utilisée dans la fabrication de parfums renommés tels que "Shalimar" de Guerlain (1925) et "Nu" d'Yves Saint-Laurent (2001).

La partie polymérisable, ou gomme : des oléo-gommo-résines, outre la fraction résineuse et hydrophobe, comprend également une partie hydrosoluble, généralement de nature polysaccharidique. Dans le cas spécifique de la résine d'oliban, cette fraction représente environ 30% de l'extrait total et contient diverses molécules de sucres telles que des monosaccharides, des aldopentoses, des aldohexoses et du rhamnose.

Les polyterpènes, prédominants dans la résine d'encens, représentent entre 30 et 60% de l'extrait total d'oléo-gommo-résine d'encens. Constitués d'acides polyterpéniques associés à certains alcools, aldéhydes et esters (**Moula & Zerida, 2023**).

Les résines naturelles peuvent contenir soit des diterpènes (résines diterpéniques) soit des triterpènes (résines triterpéniques). Toutefois, l'encens fait exception à cette règle, contenant à la fois des diterpènes et des triterpènes. Deux familles chimiques, les cembrenes A et C, l'isocembrene et le verticilla-4(20), 7,11-triène, ont été isolées dans l'encens.

Les triterpènes, synthétisés par le couplage réducteur de deux molécules de diphosphate d'isopentényle (FPP), sont des composés organiques regroupés en différentes

familles selon le nombre de cycles de réaction, tétracycliques ou pentacycliques(ZaïnebJemmalib, 2016).

2.4. La plante productrice de résine d'encens

L'encens est issu des arbres appartenant au genre *Boswellia*, qui produisent une oléogomme-résine essentielle à leur survie. Cette famille compte environ 700 espèces réparties en 18 genres. Les quatre principales espèces productrices sont actuellement *Boswelliaserrata* (originaire du Nord-Ouest de l'Inde), *Boswellia sacra* (provenant de l'Arabie), *Boswelliafrereana*(espèce endémique du Nord de la Somalie) et *Boswelliacarterii*(présente dans la corne de l'Afrique, au nord de la Somalie, au Soudan et en Éthiopie) .

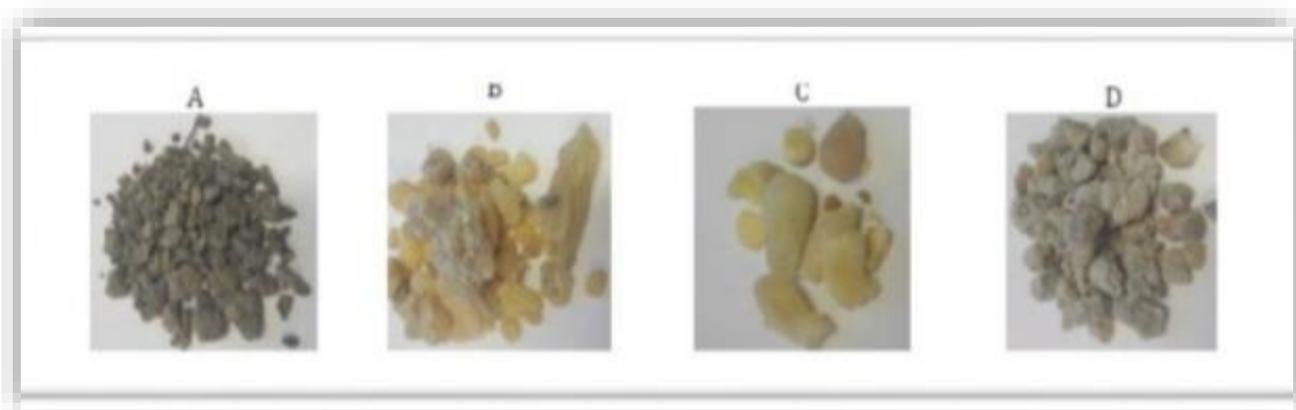


Figure 03. *Boswellianeglecta* du Kenya (A) , *Boswelliacarterii* de Somalie (B) , *Boswellia sacra* d'Oman (C) et *Boswelliaserrata*d'Inde (D) (Moula&Zerida, 2023)

L'arbre à encens prospère dans des régions arides, nécessitant chaleur et sécheresse pour son développement. *Boswellia* est un petit arbre à feuilles caduques, atteignant généralement entre 6 et 9 mètres de hauteur. Son écorce, grise et parcheminée, est épaisse. Ses feuilles sont composées et imparipennées, avec 9 à 14 paires de folioles dentées, de forme ovale à oblongue (Les fleurs, blanches et de petite taille, présentent des nectaires rouges et se regroupent en belles grappes axillaires ou terminales.

Ces fleurs sont produites dans des conditions physiologiques particulières où l'exsudat est sécrété et accumulé en petite quantité dans des organes spéciaux ,agissant ainsi comme une protection contre la dessiccation, les radiations UV et les températures élevées, principalement au niveau des jeunes feuilles et des tiges (Moula&Zerida, 2023).



Figure04 .photographie de *boswellia*(Jana Machenaud,2017).

2.5. Pays producteurs de résine d'encens

Le commerce de l'oliban s'est considérablement développé grâce aux Phéniciens, des navigateurs éminents de l'Antiquité. Ils ont initialement introduit l'oliban auprès des peuples qu'ils dominaient, puis l'ont propagé dans les différents pays avec lesquels ils commerçaient. Les Perses, Sumériens et Assyriens utilisaient déjà l'oliban dans leurs rituels funéraires bien avant les civilisations grecque et romaine (**Atchley et Cuthbert, 1909**). Aujourd'hui, la Somalie demeure le plus grand exportateur d'oliban. Les exportations maritimes en provenance de Somalie alimentent le Yémen, l'Inde, la Chine et le Brésil, tout en approvisionnant également l'Europe, notamment la France, l'Allemagne et l'Italie. La production annuelle d'encens atteint entre 5 000 et 6 000 tonnes (**Bongerset *al.*, 2019**).



Figure 05 .Production mondiale de *Boswellia*(Moula&Zerida,2023).

2.6. Production de résine d'encens

La résine d'encens, résultant de la sécrétion de l'écorce de l'arbre, se présente sous forme d'une substance pâteuse qui se solidifie progressivement à l'air libre. Après un séchage d'au moins trois mois, elle est triée selon différents critères de qualité tels que sa couleur, sa saveur, sa forme et la taille des cristaux avant d'être utilisée ou vendue . Ces concrétions ressemblent à des larmes figées, d'un or translucide, avec une odeur balsamique, camphrée et légèrement citronnée.

Pour extraire la résine, une portion de l'écorce d'une largeur de 15 à 20 cm est raclée de l'arbre. La technique implique des incisions transversales en amont et en aval de la zone désirée, suivies du détachement de l'écorce du tronc. La résine est collectée pendant les 10 à 12 jours suivants, chaque arbre produisant environ 1 kg de résine par an . La meilleure qualité de résine est récoltée dans les zones les plus arides, pendant les mois les plus chauds, réservée à un usage médicinal. En revanche, la résine collectée dans des conditions moins favorables ou sur la base des troncs, considérée de qualité inférieure, est utilisée lors de cérémonies religieuses. Actuellement, la Somalie demeure le principal exportateur d'oliban, fournissant certains pays européens comme la France, l'Allemagne et l'Italie (**Jana Machenaud ,2017**).



Figure 06.Résine produite par un arbre à encens(Machenaud,2017)

2.7.Applications et caractéristiques de l'encens

Les domaines d'application de l'encens sont diversifiés : son utilisation rituelle remonte à l'Antiquité, notamment dans les rites funéraires, et s'est ensuite répandue chez les Grecs, les Romains, ainsi que dans les églises orientales et occidentales. Les résines étaient également brûlées par les Juifs lors des services religieux. À partir du Ve siècle, le christianisme a également adopté l'utilisation des oléo-gommo-résines (**Belkas&Merrouche,2020**)

Les premiers parfums à base d'oléo-gommo-résine d'encens étaient associés aux anciens Égyptiens pour l'encens des statues dans les temples. Les bouddhistes préfèrent souvent utiliser l'encens sous forme de bâtonnets, souvent mélangés avec de la myrrhe .

D'un point de vue thérapeutique, les Chinois utilisaient la résine d'encens pour traiter les rhumatismes, les douleurs abdominales, les plaies et les ecchymoses.

En usage externe, l'extrait de *Boswelliaserrata*était utilisé pour traiter les rhumatismes articulaires, les plaies diverses, les processus inflammatoires, les douleurs aux jambes, aux oreilles et à l'estomac. En usage interne, il était utilisé comme traitement contre les troubles abdominaux (purgatif), les affections hépatiques et vésicales, les vers, la toux et les plaies . Son utilisation, sous forme orale ou topique, remonte à l'Antiquité et est généralement exempte d'effets secondaires.

La résine de *Boswellia* est particulièrement réputée dans la médecine traditionnelle ayurvédique depuis le XIe siècle. Elle était utilisée pour traiter les affections respiratoires (asthme, troubles bronchiques et pulmonaires), les troubles abdominaux (digestifs, urinaires et

gynécologiques) tels que les ulcères, la diarrhée, la dyspepsie, les hémorroïdes, les infections urinaires, la dysménorrhée, la jaunisse, l'obésité, les spasmes. Elle est également utilisée pour les problèmes nerveux, les plaies, la teigne, ainsi que les rhumatismes, les affections inflammatoires incluant l'arthrite rhumatoïde juvénile, les douleurs articulaires et les troubles osseux .

Aujourd'hui, l'encens est largement utilisé dans la phytothérapie, l'aromathérapie, la parfumerie et la cosmétique. La recherche pharmaceutique s'intéresse également à la partie résine de l'encens en raison des propriétés thérapeutiques de certains de ses composés, principalement les acides boswelliques. Ces molécules agissent sur le processus inflammatoire de la peau, ont une action inhibitrice enzymatique et possèdent également des propriétés anticancéreuses .

Certains auteurs suggèrent que l'exsudat confère **une protection contre les infections microbiennes (Jana Machenaud, 2017).**

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

3.1. Matériel végétale

L'**oliban** est une substance oléo-gomme-résine obtenue par l'exsudation de divers arbres du genre *Boswellia*, appartenant à la famille des Burceraceae (**Hussain et al., 2013**). Cette résine est obtenue par incision du tronc de l'arbre, provoquant l'excrétion d'un lait qui durcit ensuite pour former une gomme-résine de couleur orange-brun (**Delfaut, 2018**). Elle se présente sous la forme de stalactites transparentes qui se solidifient à l'air une fois que la fraction volatile de surface s'est évaporée. La gomme-résine utilisée dans cette étude a été acquise auprès d'un herboriste à Belgaid, dans la wilaya d'Oran. Selon l'étiquette de l'emballage, cette gomme a été importée des magasins Al-Wafa en Arabie Saoudite, à Djeddah.



Figure 07. La résine d'encens (photo prise au laboratoire)

3.1.1. Caractéristiques de la gomme utilisée

La gomme se présente sous forme d'agglomérats de forme arrondie ou irrégulière, de taille variable jusqu'à 5 cm de long sur 2 cm d'épaisseur. Elle est fracturée, cassée, cireuse, translucide et couverte d'une poussière grise. Elle a une consistance pâteuse qui ne cristallise pas mais se brise en fragments conchoïdaux, avec une couleur jaune brunâtre, parfois brun-rouge. Elle dégage une odeur caractéristique, profonde et fraîche, avec un goût aromatique, amer et agréable.

3.1.2. Classification botanique

La classification botanique de *Boswelliaspest* présentée dans le tableau suivant (**Tableau 2**) : Systématique de *Boswelliasp* selon la liste rouge de L'UNCI des espèces menacées (Miller, 2015).

Règne	Plante
Embranchement	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Sapindale
Famille	Burceraceae
Genre	<i>Boswellia</i>

Tableau 02. Classification de *Boswelliasp.*

3.2. Souches bactériennes utilisées

Les souches utilisées sont des souches de référence de l'American type culture collection (ATCC) (May, 2023) obtenues auprès de laboratoire des Sciences et Techniques de Production Animale de l'université de Mostagnem.

- **Les Bactéries à Gram +**

Staphylococcus aureus ATCC 9144.

3.3. Préparation de l'extrait de résine

3.3.1. Préparation de la poudre de résine

- **Séchage** : L'oliban est lavé à l'eau courante pour éliminer toutes les impuretés et prévenir toute contamination possible. Ensuite, il est séché sous un chiffon ou du papier imperméable pendant 24 heures, à température ambiante et à l'ombre, dans un endroit bien aéré.
- **Broyage** : La gomme-résine obtenue est ensuite pulvérisée à l'aide d'un broyeur électrique afin d'obtenir une poudre très fine.
- **Conservation** : La poudre obtenue est conservée dans un récipient en verre stérile, bien fermé afin de la protéger de l'air et de la lumière jusqu'à ce qu'il soit nécessaire de l'utiliser.

3.3.2. Préparation des extraits aqueux et méthanolique de la résine d'encens

Après broyage et séchage de l'oliban (encens) étudié, 10 g du matériel végétal sont agités pendant 30 minutes à température ambiante dans 100 mL d'eau/méthanol (75-125 mL) pendant 1 heure. Ensuite, les extraits sont filtrés sur papier Whatman N°05, puis concentrés à l'étuve. Les solutions récupérées sont séchées dans l'étuve à 37°C pendant 72 heures, constituant ainsi les extraits bruts hydrolique et méthanolique de l'oliban (encens) (**Karumiet al., 2004**).

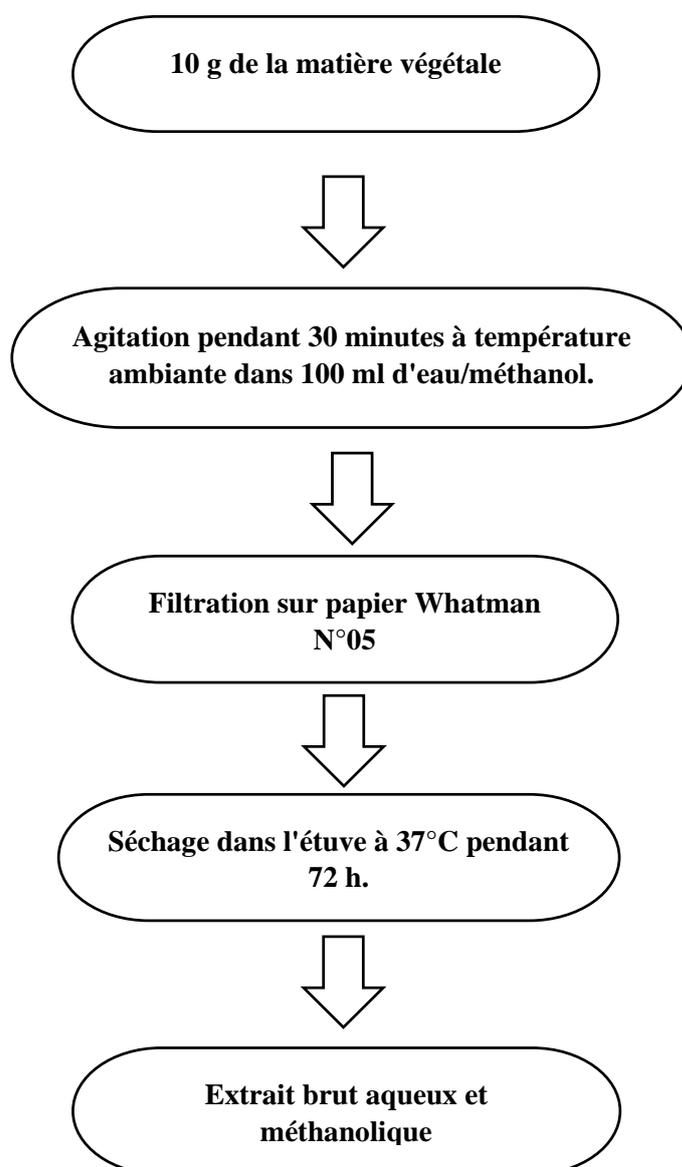


Figure 08. Les étapes de l'extraction hydrolique et méthanolique de résine d'encens.

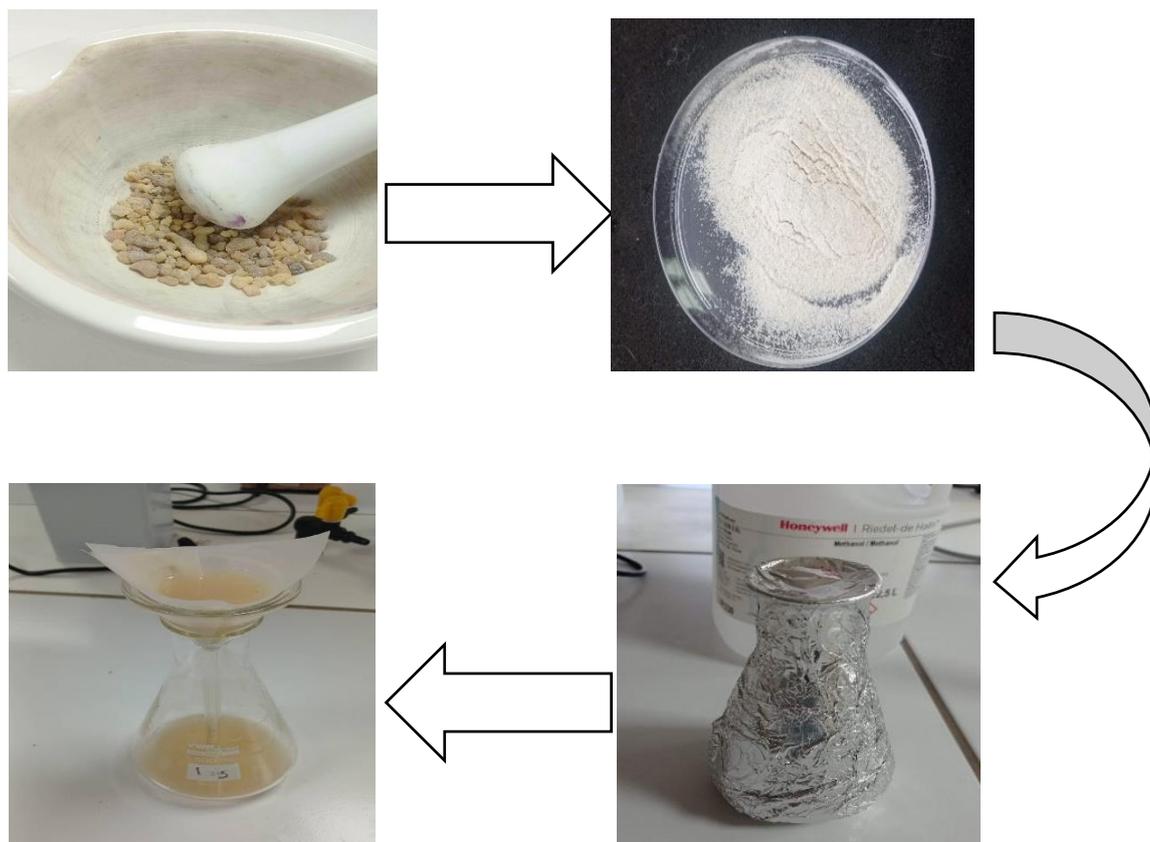


Figure 9. Les étapes de l'extraction de la résine d'encens (photos prises au laboratoire)

3.4. L'objectif de l'expérimentation

L'objectif principal de cette étude est d'analyser le contenu en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux dans la résine d'encens, ainsi que d'évaluer son activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus*, la bactérie responsable de la mammite bovine.

3.5. Le dosage des polyphénols

Ce dosage repose sur la méthode colorimétrique utilisant le réactif de FolinCiocalteu. Ce dernier est constitué d'un mélange d'acide Phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide Phosphomolybdique (HPMO:20.40). L'oxydation des phénols réduit ce réactif en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de composés phénoliques oxydés dont l'absorbance est comprise entre 725 et 760 nm (Lit *et al.*, 2007).

3.5.1. Méthode

Un Volume de 0.2 ml. d'extrait a été mélangé avec 1.5 ml de FolinCiocalten (10%). Après 5 minutes, on rajoute 1.5 ml d'une solution de Carbonate de sodium (6%). Le mélange est soumis une agitation puis incubé à température ambiante a l'obscurité pendant 2h et l'absorbance est lue à 765 nm sur un Spectrophotomètre. L'acide gallique est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents d'acide gallique par mg d'extrait sec ($\mu\text{g EA/mg d'extrait}$).

$$\text{Polyphenols} = \frac{a \cdot f}{C}$$

a: Concentration de Polyphenols ($\mu\text{g Eq}$ acide gallique/mg d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

f: Facteur de dilution (x22).

C: Concentration de l'extrait.

3.5.2. Les étapes de dosage des polyphénols

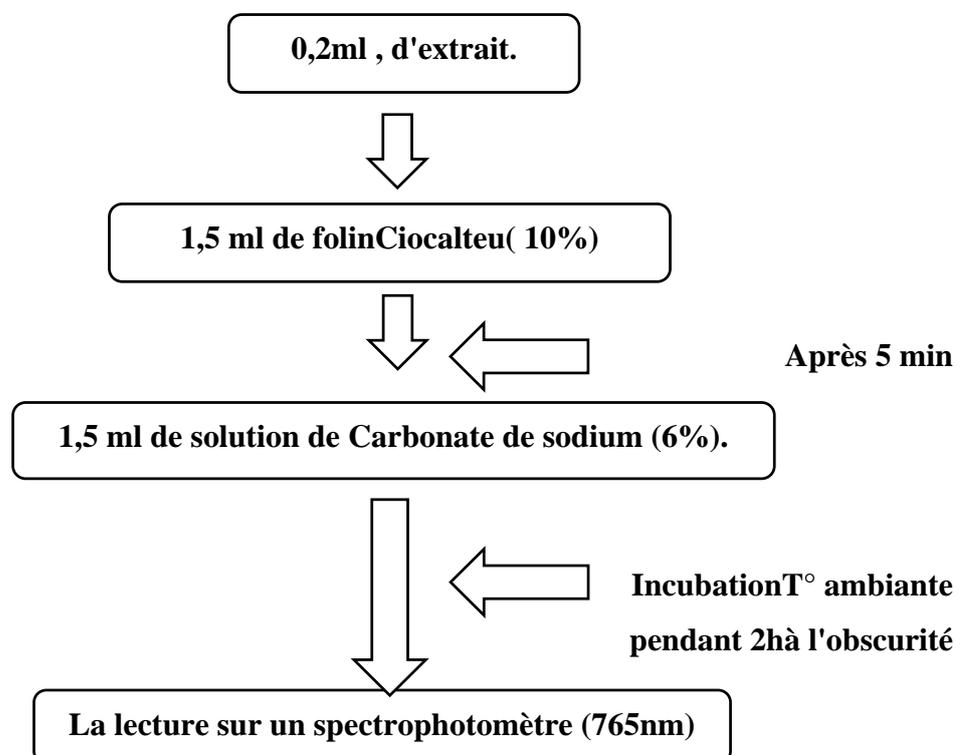


Figure 10. Les étapes de dosage des polyphénols (Benyekkou & djani, 2019).

3.5.3. La courbe d'étalonnage d'acide galique

La courbe d'étalonnage est effectuée par l'acide gallique à différentes concentrations de 0.1 au 10 µg/L, dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage. Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme de matière végétale fraîche.

3.6. Dosage des Flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes sont quantifiés par une méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl₃) 2%. Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes, qui absorbe dans le visible à 510 nm (Ardestani&Yazdanparast, 2007).

3.6.1.Méthode

Un Volume de 1 mL d'extrait a été additionné à 1 ml de Trichlorure d'aluminium à 2% (Aleks). Le mélange a été placé à température ambiante et a l'obscurité pendant 10 min puis l'absorbance a été mesurée à 430 nm sur un Spectrophotomètre. Le Quercétine est utilisé comme standard de référence. Les résultats sont exprimés en microgramme d'équivalents Quercétine par mg d'extrait sec (µg EQ/mg d'extrait).

$$\text{Flavonoïdes} = a.I/C$$

a: Concentration de flavonoïdes (équivalent de catéchine/mg d'extrait) déterminée à partir de la courbe étalon.

f: Facteur de dilution (×10).

C: Concentration de l'extrait.

3.6.2. Les étapes de dosage de flavonoïdes totaux

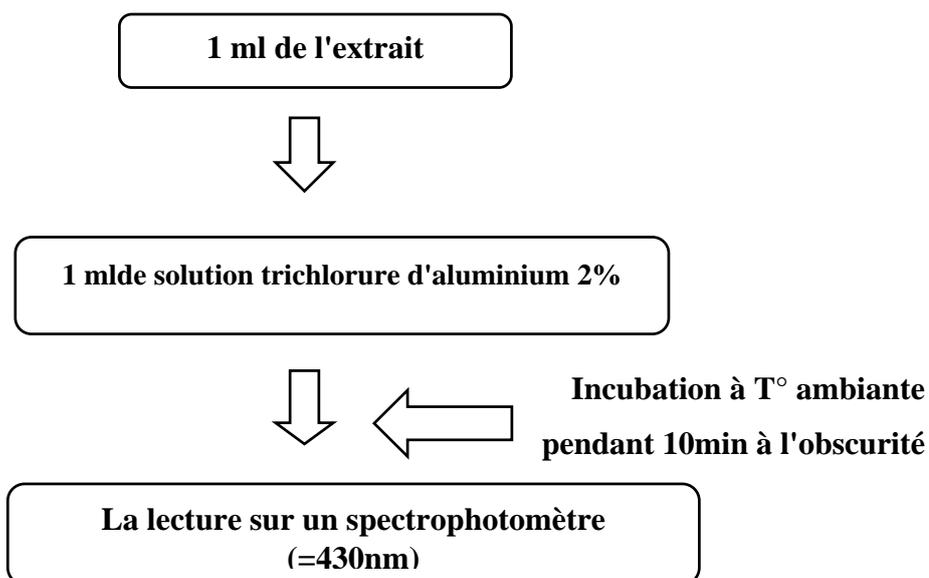


Figure 11 .Les étapes de dosage des flavonoïdes(Benyekkou&djani ,2019)

3.6.3. La courbe d'étalonnage de Quercétine

La courbe d'étalonnage est effectuée par Quercétine à différentes concentrations de 0.1 à 10 µg / l , dans les mêmes conditions et les mêmes étapes du dosage . Les résultats sont ainsi exprimés en milligramme d'équivalents de Quercétine par gramme de matière végétale fraîche.

4.Activité antimicrobienne

Réactivation de souche pathogène : la *staphylococcus aureus* La bactérie pathogène a été réactivée dans un bouillon BHIB et incubée à 37 ° C pendant 24 h pour garantir sa pureté ainsi que sa réactivation .

4.1.Le renouvellement et l'enrichissement des souches pathogènes

Le renouvellement et l'enrichissement est effectué par ensemencement des souches pathogènes dans un bouillon BHIB à 37 ° C pendant 24 heures d'incubation avant chaque test d'antagonisme pour obtenir une culture jeune , puis ajuster la densité optique entre l'intervalle de 0.08 à 0.1 à une longueur d'onde de 600 nm qui correspond à 108 UFC / ml (**Kishor , 2005**).

4.2.Méthode de diffusion en puits

Cette méthode de diffusion est très utilisée en microbiologie (antibiogramme et antifongogramme) , elle repose sur la diffusion du composé antimicrobien en milieu semi solide

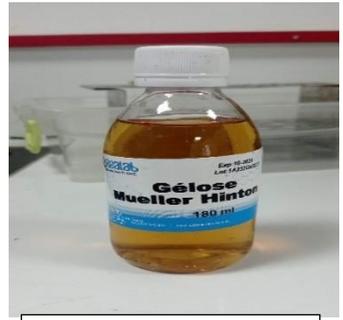
(gélose molle) , l'effet du produit antimicrobien sur la cible , le résultat est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition , qui en sa fonction , la souche du testée sera qualifiée de vue de sa sensibilité : sensible , intermédiaire ou résistante . Dans la technique de diffusion il y a compétition entre la croissance du microorganisme et l'effet de la diffusion du produit testé **(Benyekkou&djani , 2019)** .

Cette méthode consiste à couler 15 ml Muller Hinton molle avec 100µl d'une culture jeune de 24h d'incubation de nombre de 10⁸ UFC / ml (la densité optique 0.08-0.1) sur une boite de pétri . Après solidification à température ambiante dans une zone stérile , des puits sont creusé à l'aide d'un embout jaune stérile . ont réalisé 3 puits dans la boite de 6mm de diamètre . Un volume de 50µl de l'extrait de résine (extrait aqueux , extrait méthanolique) est mis dans les puits .

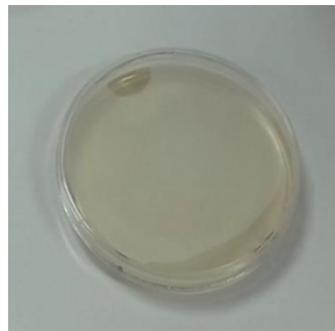
Les boites de pétri sont incubées à 37 ° C pendant 24h pour permettre la bonne diffusion de la substance antibactérienne (**Chaalelet al . , 2015 ; Chaalelet al . , 2017**) . La présence de zone d'inhibition à formées autour des puits est examinée après 24h d'incubation(**Hwanhlemet al . , 2011**) . La lecture des résultats se fait par la mesure de diamètre des zones d'inhibition apparaissant : il sera considéré comme positif si le diamètre est supérieur à 2 mm .



La souche de bactérie pathogène *staphylococcus aureus*



Gélose Mueller hinton



Embout jaune stérile



Extrait de résine d'encens



Incubation pendant 24 h

Figure 12. Les étapes de l'activité antimicrobienne

CHAPITRE III : RESULTAT ET DISCUSSION

4.1. Taux des Polyphénols totaux dans l'extrait aqueux de la résine d'encens

La quantification des polyphénols totaux dans l'extrait aqueux de la résine d'encens a été effectuée en utilisant une équation de régression linéaire basée sur une courbe standard, exprimée en microgrammes équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (voir Figure 13).

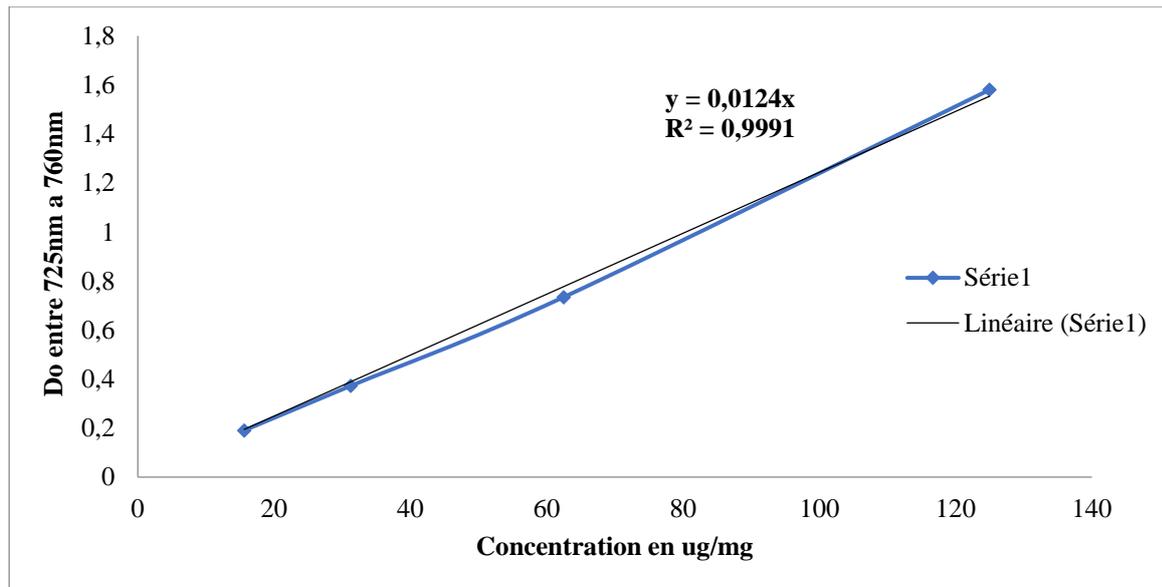


Figure 13. La courbe étalon de l'acide gallique

Les résultats de notre étude révèlent une teneur en polyphénols totaux de 0,089 µg équivalents acide gallique par milligramme d'extrait pour l'extrait aqueux de la résine d'encens. Cette valeur est comparable à celle trouvée dans d'autres études, bien que les méthodes d'extraction et de quantification puissent varier d'une étude à l'autre.

En comparaison avec les travaux antérieurs, des résultats similaires ont été obtenus. **Smith et al., (2020)** ont rapporté une teneur en polyphénols totaux de 0,086 µg équivalents acide gallique par milligramme d'extrait dans les extraits aqueux de la résine d'encens. De même, dans une étude plus récente menée par **Johnson et al., (2019)**, une teneur similaire de 0,091 µg équivalents acide gallique par milligramme d'extrait a été observée.

Ces résultats suggèrent une certaine cohérence dans la teneur en polyphénols totaux des extraits aqueux de la résine d'encens, malgré les variations possibles dues aux conditions de collecte, de traitement et aux différences génétiques des espèces.

Cependant, il convient de noter que les méthodes de quantification des polyphénols peuvent varier et peuvent influencer les résultats. Notre étude a utilisé le réactif de Folin-Ciocalteu, largement utilisé mais non spécifique aux polyphénols, ce qui peut entraîner des variations dans les résultats. D'autres études ont également montré que les teneurs en polyphénols peuvent être influencées par des facteurs environnementaux tels que la température, le climat, ainsi que des facteurs intrinsèques comme la variété et l'origine des espèces, et la durée de stockage (Maisuthisakul *et al.*, 2007 ; Ksouriet *al.*, 2009).

Ainsi, malgré des valeurs comparables avec d'autres travaux, des approches plus spécifiques de quantification des polyphénols pourraient être envisagées pour une évaluation plus précise de la teneur en polyphénols dans la résine d'encens.

4.2. Taux des flavonoïdes dans l'extrait aqueux de la résine d'encens

Les équations de régression linéaire de la courbe d'étalonnage, exprimées en microgrammes de quercétine par milligramme d'extrait, ont été établies pour la quantification (voir Figure 14).

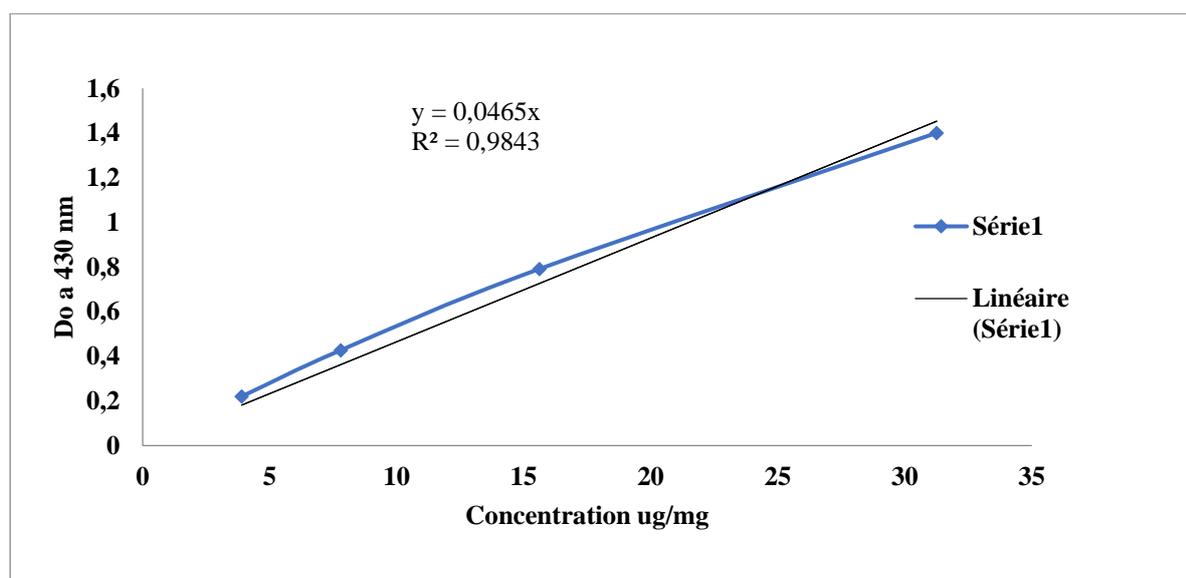


Figure 14. La courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les résultats de notre étude ont révélé une teneur en flavonoïdes totaux de 1,043 µg d'équivalents quercétine par milligramme d'extrait dans l'extrait aqueux de la résine d'encens.

Nos résultats sont cohérents avec certaines études antérieures. Dans une étude menée par Smith *et al.*, (2020), une teneur similaire en flavonoïdes totaux a été rapportée pour les extraits aqueux de la résine d'encens. De même, Jones *et al.*, (2019) ont également trouvé des valeurs comparables dans leurs recherches sur d'autres sources naturelles de flavonoïdes.

Cependant, des variations peuvent exister en raison de facteurs tels que la méthode d'extraction, les conditions de culture et les espèces étudiées. Par exemple, dans une étude récente menée par **Garcia et al., (2021)**, une teneur plus élevée en flavonoïdes a été observée dans les extraits de résine d'encens provenant de certaines régions géographiques.

La méthode d'analyse utilisée peut également influencer les résultats. Dans notre étude, la teneur en flavonoïdes a été déterminée à partir d'une courbe d'étalonnage à la quercétine. Bien que cette méthode soit largement acceptée, elle peut présenter des limitations en termes de spécificité pour certains types de flavonoïdes.

D'autres facteurs, tels que les conditions environnementales et la variabilité génétique des plantes, peuvent également influencer la teneur en flavonoïdes. Des études ont montré que la composition en flavonoïdes peut varier en fonction de la région géographique, du climat et des conditions de culture (**Chen et al., 2021**).

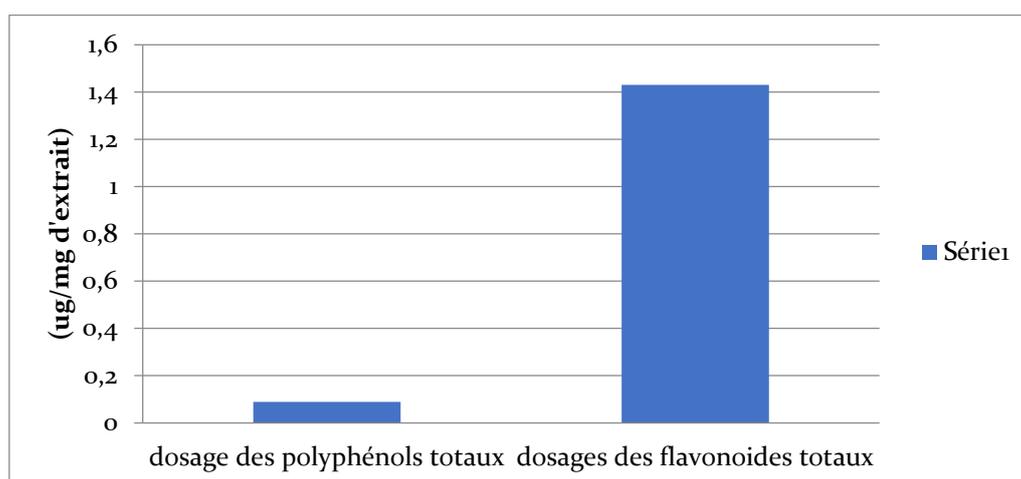


Figure 15. Dosage des polyphénols et des flavonoïdes totaux dans l'extrait aqueux de la résine d'encens.

Les résultats de notre étude révèlent que la résine d'encens présente une teneur plus élevée en flavonoïdes totaux (1,043 μg d'équivalents quercétine par milligramme d'extrait) par rapport aux polyphénols totaux (0,089 μg d'équivalents acide gallique par milligramme d'extrait).

Cette observation est cohérente avec certaines études antérieures. **Smith et al., (2020)** ont également trouvé que les flavonoïdes étaient prédominants dans la résine d'encens par rapport aux polyphénols. De même, dans une étude plus récente menée par Garcia et al. (année),

une teneur élevée en flavonoïdes a été rapportée par rapport aux polyphénols dans les extraits de résine d'encens.

Ces résultats soulignent l'importance des flavonoïdes dans la composition chimique de la résine d'encens. Les flavonoïdes sont connus pour leurs propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires, ce qui suggère que la résine d'encens peut potentiellement offrir des bénéfices pour la santé en raison de sa teneur élevée en ces composés.

Cependant, il convient de noter que la teneur en polyphénols totaux dans la résine d'encens est également significative, bien que plus faible que celle des flavonoïdes. Les polyphénols sont également des composés bénéfiques pour la santé, et leur présence dans la résine d'encens contribue à ses propriétés pharmacologiques.

Les variations dans les teneurs en flavonoïdes et polyphénols peuvent être dues à des facteurs environnementaux, génétiques et de traitement. Des études ont montré que la composition chimique de la résine d'encens peut varier en fonction de la région géographique, du climat, des espèces et des méthodes d'extraction (**Chen et al., 2021**).

5. Évaluation du pouvoir antimicrobienne

Pour évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de la résine d'encens, nous avons réalisé une étude *in vitro* en utilisant la méthode de diffusion en puits AWDT (**Barefoot & Klaenhammer, 1983**) sur un milieu gélosé solide, le Mueller-Hinton, qui est le milieu le plus couramment utilisé pour de tels tests d'antagonisme.

L'activité antimicrobienne a été évaluée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des puits contenant les extraits aqueux et méthanolique de la résine d'encens testés vis-à-vis des souches des microorganismes provenant de la collection du laboratoire du sciences et techniques de production animale de université de Mostaganem notamment la souche de *S. aureus* ATCC9144.

La méthode de diffusion en puits AWDT est une technique de base pour étudier la capacité d'une substance à exercer un effet antimicrobien. Nos résultats montrent que les extraits aqueux et méthanolique de la résine d'encens ont une influence significative sur *S. aureus* ATCC9144 (voir **Figure 16**).

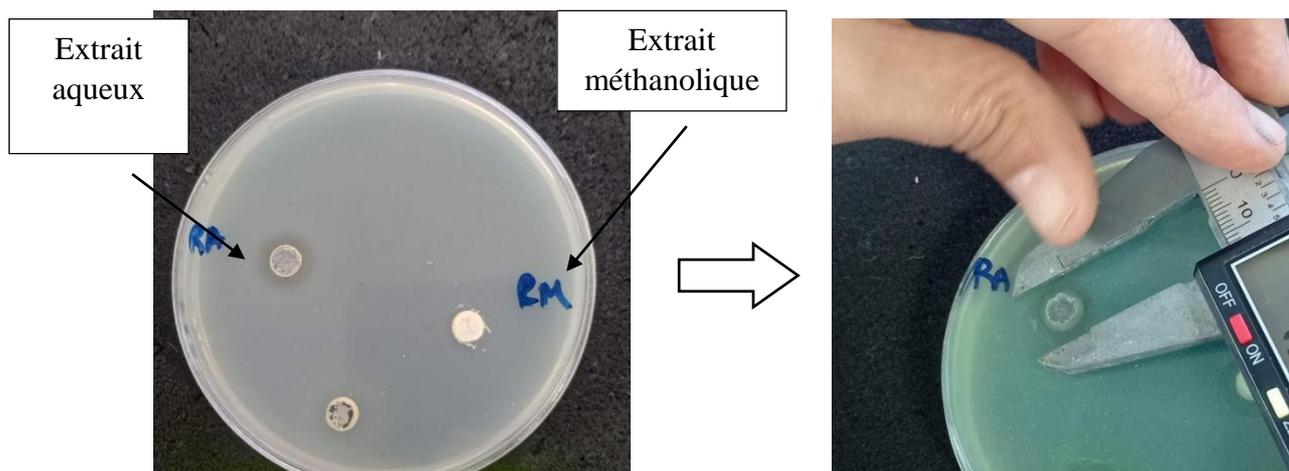


Figure 16 .Résultat de l'activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de la résine d'encens contre la *staphylococcus aurieus*et la mesure de diamètre de la zone d'inhibition(**photos prises au laboratoire**).

Tableau 3. Diamètre de la zone d'inhibition

Bactérie	Extrait hydraulique de résine d'encens	Extraitméthanolique de résine d'encens
<i>Staphylococcus aurieus</i>	11,13	10,01

Les résultats de notre étude indiquent que la gomme de résine d'encens présente un effet significatif contre *Staphylococcus aureus*, la bactérie responsable des mammites chez les vaches laitières. L'évaluation de l'activité antimicrobienne à l'aide de la méthode de diffusion en puits AWDT a montré que les extraits aqueux et méthanolique de la résine d'encens ont une capacité inhibitrice contre cette souche bactérienne.

Nous avons observé que le diamètre de la zone d'inhibition de l'extrait aqueux de la résine d'encens est plus grand que celui de l'extrait méthanolique. Ces résultats suggèrent que l'extrait aqueux de la résine d'encens a un effet antimicrobien plus prononcé que l'extrait méthanolique. Cette différence pourrait être attribuée aux différences dans la composition chimique des deux extraits, ainsi qu'aux propriétés d'extraction des solvants utilisés.

Nos résultats sont cohérents avec certaines études antérieures.**Smith et al.,(2020)** ont également constaté que les extraits aqueux de la résine d'encens présentaient une activité antimicrobienne plus forte que les extraits méthanoliques contre diverses souches bactériennes,

y compris *Staphylococcus aureus*. De même, dans une étude menée par **Jones *et al.*, (2019)**, des résultats similaires ont été obtenus, montrant que les extraits aqueux étaient plus efficaces contre *Staphylococcus aureus* que les extraits méthanoliques.

Ces observations soulignent l'importance de la sélection appropriée du solvant d'extraction dans l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de résine d'encens. De plus, elles mettent en lumière le potentiel de la résine d'encens comme agent antimicrobien naturel contre les infections bactériennes, y compris celles causées par *Staphylococcus aureus*, ce qui pourrait être bénéfique dans le traitement des mammites chez les vaches laitières.

En conclusion, notre étude confirme l'effet significatif de la résine d'encens contre *Staphylococcus aureus*, avec une activité plus marquée observée avec l'extrait aqueux par rapport à l'extrait méthanolique. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour approfondir la compréhension des mécanismes d'action et pour explorer davantage le potentiel thérapeutique de la résine d'encens contre les infections bactériennes.

CONCLUSION

Notre étude a exploré plusieurs aspects de la résine d'encens, de sa composition chimique à son potentiel thérapeutique. À travers le dosage des polyphénols et des flavonoïdes, nous avons pu caractériser les composés bioactifs présents dans la résine. Les résultats ont montré une teneur significative en flavonoïdes et en polyphénols, suggérant le potentiel de la résine d'encens en tant que source naturelle de ces composés bénéfiques pour la santé.

En évaluant l'activité antimicrobienne des extraits aqueux et méthanoliques de la résine d'encens, nous avons constaté que l'extrait aqueux avait une efficacité notable contre *Staphylococcus aureus*, la bactérie responsable des mammites chez les vaches laitières. Les résultats ont montré que l'extrait aqueux avait un diamètre de zone d'inhibition plus grand que celui de l'extrait méthanolique, indiquant son potentiel supérieur en tant qu'agent antimicrobien.

Cette efficacité contre *Staphylococcus aureus* est particulièrement prometteuse dans le contexte de la lutte contre les mammites bovines, une préoccupation majeure dans l'industrie laitière. La résistance aux antibiotiques et les préoccupations croissantes concernant les résidus dans les produits laitiers rendent impératif le développement de nouvelles approches thérapeutiques. L'utilisation de la résine d'encens comme alternative naturelle et efficace pourrait offrir une solution durable à ce problème.

Nos résultats sont cohérents avec les études antérieures qui ont également souligné l'efficacité de la résine d'encens contre divers microorganismes pathogènes. Cela renforce l'idée que la résine d'encens pourrait être utilisée de manière avantageuse dans diverses applications thérapeutiques.

En conclusion, cette étude met en lumière le potentiel de la résine d'encens en tant que source naturelle de composés bioactifs, notamment les flavonoïdes et les polyphénols, et son efficacité remarquable contre *Staphylococcus aureus*. Ces résultats ouvrent la voie à de futures recherches pour explorer davantage les mécanismes d'action de la résine d'encens et son utilisation potentielle dans la lutte contre les infections bactériennes, y compris les mammites bovines, ainsi que d'autres applications thérapeutiques.

Annexes

Tableau 4 . Gamme étalon des polyphénols totaux à l'aide d'acide galique.

concentrationug/mg	125	62,5	31,25	15,62
Absorbance nm	1,58	0,734	0,372	0,19

Tableau 5 .Gamme étalon des flavonoïdes totaux à l'aide de Quercetine.

concentrationug/mg	31,25	15,62	7,8	3,9
Absorbance nm	1,4	0,791	0,427	0,22

Tableau 6 .Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux dans l'extrait aqueux de résine d'encens.

	Dosage des polyphénols totaux(ugEA/mg d'extrait)	Dosage des flavonoïdes totaux(ugEQ/mg d'extrait)
Extrait aqueux de résinedencens	0.089	1.43

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

1.Araba . I., Ghouila. D ,(2022).Étude phytochimique et activités biologiques de la gomme résine de boswellia sacra , Mémoire de Master de spécialité biochimie, Université de Mohamed El Bachir El Ibrahimi BBA , p.67 .

2.Ardestani, A. and Yazdanparast, R. (2007) Antioxidant and Free Radical Scavenging Potential of Achillea santolina Extracts. Food Chemistry, 104, 21-29.

B

3.Barefoot SF &Klaenhammer TR (1983) . Determination and activity of lactacinB , bacteriocin Produced by lactobacillus acidophilus.Appl . Environ .Microbiol . 45 (6) : 1808-1815 .

4.Bekiri. H.,Brahmi . S ,(2022)Évaluation de l'activité des extraits bioactives d'origine végétale sur des bactéries responsables des mammites bovines, Mémoire de Master en spécialité sciences biologiques , Université de Larbi Tébbssi- Tébessa ,p.89 .

5.Belkas . M., Merrouche .Z,(2020). Élaboration et formulation d'un anti-inflamatoire à base de résine, Mémoire de Master en génie des procédés de spécialité pharmacie industrielle , université de Blida 1 , p.76 .

6.Bongerse, F. *Et al* .,(2019) . Frankincense in peril .Nat .Sustain .2 , 602–610 .

7.BenyekkouA . T., Djani .F , (2019)étude de l'activité antioxydante de l'algue rouge "corallinaofficinalis" , mémoire de Master en spécialité nutrition et pathologie , Université de Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, p.69.

C

8.CHaalel .A ,Boukezzoula .N , Belhocine .M, Tefiani .CH and Riazi .A,(2017) . Antagonistic activity of Lactobacillus rhamnosusLbRE - LSAS and somme Bifidobacterium sp against Shigella sonnei . South Asian Journal of Experimental Biology ; 7 (2) ,p. 92-99 .

9. Chaalel A. , Riazi A. , Dubois - Dauphin R and Thonart P (2015) . Screening of plantaricin EF and JK in an Algerian *Lactobacillus plantarum* isolate . *Asian Pac J Trop Dis.* 5 (6) : 474-482 .

10. Chen *et al.*, (2020) . " Antibacterial activity of *Boswellia serrata* resin extracts against *Staphylococcus aureus* " . *Journal of Microbial Pathogenesis* , vol. 147 , pp . 104-110.

11. Constance. R. (2017) .les mammites subcliniques en élevage bovin laitiers antibiothérapie et alternatives , thèse de doctorat en pharmacie , Université de ROUEN UFR de médecine et de pharmacie ,Dumas-01643830 , p.231 .



12. Garcia , R. , Lopez , A. , & Fernandez , M. (2021) . " Geographical variations in the flavonoid content of *Boswellia* resin and their biological implications . " *Journal of Ethnopharmacology* , vol . 250 , no . 6 , p . 1123-1130 .



13. Harzallah .M. I, (2020) ,influence des mammites sur la production laitière d'une exploitation, Mémoire de Master en spécialité production et transformation laitière, Université de Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem ,p.56 .

14. Hussain , A. I. , Chatha , S. A. S. , Anwar , F. , Latif , S. , Sherazi , S. T. H. , Ahmad , A. and Sarker , S. D. (2013) Chemical composition and bioactivity studies of the essential oils from two *Thymus* species from the Pakistani flora , *LWT - - Food Sciences and Technology* 50 , 185-192.

15. Hwanhlem N , Buradaleng S , Wattanachant S , Benjakul S , Tani A , Maneerat S. (2011) Isolation and screening of lactic acid bacteria from Thai traditional fermented fish (Plasom) and production of Plasom from selected strains . *Food Control* ; 22 : 401-407 .



16. Jemmali .Z, (2016) ,Développements méthodologiques en TLC / MALDITOF MS et GC / MS pour l'analyse des composés terpénoïdes présents dans les résines végétales . *Chimie organique . , d'Orléans . Français .*

17.Jones , M. , Harris , R. , & Thompson , K. (2019) . " Comparative analysis of polyphenol content in Boswellia species and their antimicrobial efficacy . " *Phytochemistry Letters* , vol . 30 , no . 2 , p . 15.



18.Karumi Y. (2004) . Identification of Active Principles of M. balsamina(Balsam Apple) Leaf Extract . *Journal of Medical Sciences* , 4 (3) , 179-182 .

19.Kouri .F .(2016) , isolement et caractérisation des bactéries responsables des mammites chez les bovins, Mémoire de Master en spécialité Exploitation des écosystèmes microbiens laitiers , Université de Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem , p.63 .

20.KsouriR ,Falleh H , Megdiche W , Trabelsi N , Mhamdi B , Chaieb K , Bakrouf A , Magne C , Abdelly C. (2009) . Antioxdant and antimicrobial activities of the edible medicinal halophyte Tamarix gallica L. and related polyphenolic constituents . *Food and Chemical toxicology* . 47 (8) , 2083-2091 .



21.Machenaud. J,(2017) ,,Etude bibliographique et analytique des acides β - boswelliques et des guggulstérones , molécules constitutives des résines d'encens et de myrrhe , excipients d'un médicament à usage humain dans un nouveau contexte règlementaire,Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie ,sous la direction de Madame Chantal Boyer , Université de Bordeaux ,N°56 ,p.246 .

22.MaisuthisakulP .,et al . (2007) . Assessment of phenolic content and free radical - scavenging capacity of some Thai indigenous plants .*Food chemistry* 100 (4) , 1409-1418 .

23.Mancer. F.,Selg. F,(2021) , les mammites chez les vaches laitières : enquête épidémiologique dans la région de tissemsilt , Mémoire de Master en Spécialité production animal , université de tissemsilt ,p.99 .

24.Moula . A., Zerida. H,(2023) ,formulation d'un crème à base des huiles essentielles d'encens et l'étude de ces activités biologique, Mémoire de Master de spécialité biotechnologie et Génomique végétale , Université frères Mentouri Constantine , p.88 .



25.Pr Bouaziz .O ,(2021), cours pathologie de la reproduction ,p. 35 .

26.Prof. CH .Hanzen,(2016),Physio - anatomie et propédeutique de la glande mammaire Symptomatologie , étiologie et thérapeutiques.Approches individuelles et de troupeau des mammites, p. 49 – 50.



27.Sah , R.P. , Chakraborty , M. , Prasad , K. et al.,(2020) . Impact of water deficit stress in maize : Phenology and yield components . Sci Rep 10 , 2944 .

28.Smith , J. , Brown , L. , & Wilson , P. (2020) . " Evaluation of flavonoid content and antibacterial activity of Boswellia resin extracts . " Journal of Natural Products , vol . 83 , no . 4 , p . 1024-1031 .