

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Présenté par :
M^{lle} GAFOUR Rihab
M^{lle} HIZOUM Aya

Thème

**RECHERCHE DE REMEDES A BASE DE PRODUITS NATURELS POUR
LE TRAITEMENT DES MAMMITES SUBCLINIQUES BOVINES**

Soutenu publiquement le : /07/2025

Jury :

Président : Pr. MAKHLOUFI Chahra
Encadrant : Dr. ACHIR Mohamed
Co-encadrant : Pr. AIT ABDERRAHIM Leila
Examineur : Dr. TADJ Abdelkader

Année universitaire 2024-2025

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, grâce à notre Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donné le courage et la volonté tout le long de cette année de travail.

Nos remerciements vont à notre encadrant, Monsieur **ACHIR Mohamed**, Docteur à la faculté des sciences de la nature et de la vie.

Aussi, nos remerciements à notre Co-encadrant madame **AIT ABDERRAHIM Leila** Professeure à la faculté des sciences de la nature et de la vie.

Merci infiniment pour votre confiance envers nous, votre patience, votre temps précieux que vous avez consacré, en conseils, en correction de ce manuscrit et pour les encouragements qui ont permis d'achever ce travail d'aller au bout des objectifs tracés.

Nous tenons aussi à exprimer nos vifs remerciements aux membres du jury qui nous ont fait l'honneur d'examiner ce modeste travail ; Pr. **MAKHLOUFI Chahra** et Dr. **TADJ Abdelkader**.

Nos remerciements vont aussi à nos collègues et amis pour leurs aides et leurs encouragements.

Merci à nos sœurs, à nos frères et à tous ceux et celles qui ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à Tous

Dédicace

Avant tout, je rends grâce à Dieu pour m'avoir donné la patience et la force nécessaires afin de traverser toutes mes années d'études depuis l'âge de 6 ans.

Je dédie ce travail à ma mère, Louiz Fatiha, sans qui je ne serais pas la personne que je suis aujourd'hui, pour son amour inépuisable, ses sacrifices et son soutien indéfectible.

À mon père, pour sa présence rassurante et son appui tout au long de mon parcours.

À Assia, ma seconde mère, mon idole, la personne la plus précieuse à mes yeux et la plus proche de mon cœur — ton amour, ta force et ton exemple m'accompagnent chaque jour.

À mon frère Youcef, et à mes sœurs Amina et Soumia, pour leur amour, leur confiance et leurs encouragements constants.

À mes amies et sœurs de cœur, Oumaima, pour sa présence constante tout au long de ma vie, son écoute, son humour et sa loyauté indéfectible.

À Asma, pour sa douceur, ses mots réconfortants et sa lumière apaisante dans les moments de doute. Vous êtes plus que des amies : vous êtes ma famille choisie.

À Khaoula, pour sa patience, son soutien inconditionnel et tout ce qu'elle a fait.

À ma partenaire de laboratoire et chère amie, Aya, pour sa complicité, son engagement et son énergie inépuisable tout au long de cette aventure scientifique.

À mon chat, Eli, fidèle compagnon de révision, pour ses câlins silencieux dans les journées les plus longues.

Enfin, à Monsieur le Docteur Bourbatache Mansour, pour ses conseils avisés, sa disponibilité et son encadrement bienveillant durant la phase finale de ce parcours. Votre accompagnement a été précieux et profondément apprécié.

Rihab

Dédicace

À ma chère maman,

Source inépuisable de tendresse, de force et de prières sincères, à celle qui a toujours été mon premier soutien dans la vie, je dédie le fruit de cette réussite. C'est à toi seule, après Dieu, que je dois tout ce que je suis aujourd'hui. Qu'Il te récompense pour ton amour et tes sacrifices.

À ma sœur Khaoula, véritable pilier discret, présente dans les coulisses de cette aventure, tu m'as accompagnée avec dévouement et efficacité tout au long des préparatifs. Que Dieu te récompense pour tout.

À ma sœur Zahra, Pour ton soutien constant, tes paroles réconfortantes, et à tes chers enfants, Miral, Mouhamed et Ilel, dont les sourires innocents ont illuminé mes journées.

À ma précieuse famille, À vous tous, mes proches et mes chers, je dédie cette réussite en témoignage de reconnaissance pour votre présence et votre amour.

À mon bras droit, ma sœur et amie Imane, pour ton appui indéfectible, ton soutien moral, et ton amour inconditionnel. Merci du fond du cœur d'avoir toujours été là.

À ma seconde mère, Fatiha, Qui ne m'a jamais privée de son soutien moral. Je me tournais vers toi chaque fois que tout devenait flou. Que Dieu te récompense pour tout le bien que tu m'as fait.

À ma binôme et complice de toujours, Rihab, toi qui as partagé avec moi les efforts, les veilles et les étapes de ce parcours. Merci pour ta patience, ton sérieux et ta présence constante.

À Monsieur Mansour Bourabatche, Cher professeur, et membre estimé de ma famille, je vous adresse mes remerciements les plus sincères pour votre disponibilité, vos conseils avisés et votre accompagnement tout au long de l'élaboration de ce mémoire.

À mon amie proche, Ines, Pour ton cœur pur, ton écoute bienveillante, et ta fidélité à chaque étape. Que notre complicité dure pour toujours.

À tous ceux qui m'aiment, m'ont soutenue, et ont cru en moi...

Ce mémoire vous est dédié, avec tout mon amour.

Aya

Résumé

La mammite subclinique chez les vaches laitières constitue un enjeu sanitaire majeur dans le secteur de l'élevage bovin, en raison de ses répercussions directes et indirectes sur la production laitière ainsi que sur la qualité hygiénique et technologique du lait.

L'objectif de ce travail est d'isoler les principales bactéries responsables des mammites subcliniques chez les vaches laitières, et d'évaluer l'activité antibactérienne du miel de jujubier ainsi que des extraits aqueux et éthanoliques de certaines plantes médicinales (*Thymus lanceolatus*, *Allium sativum*, *Ziziphus lotus* et *Cedrus atlantica*).

L'analyse microbiologique des échantillons laitiers et des prélèvements effectués sur les trayons a permis l'isolement de deux espèces bactériennes dominantes : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Les essais d'activité antibactérienne ont montré que l'extrait éthanolique de *Z. lotus* possède une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 40 mg/ml vis-à-vis de *S. aureus* et *E. coli*. L'extrait de *T. lanceolatus* a été actif uniquement contre *S. aureus*, avec une CMI équivalente. En ce qui concerne *C. atlantica*, ses extraits aqueux et éthanolique ont présenté une bonne efficacité sur les deux souches, avec une CMI de 40 mg/ml contre *S. aureus* et de 50 mg/ml contre *E. coli*. En revanche, ni le miel de jujubier ni la poudre d'*A. sativum* n'ont montré d'activité inhibitrice notable.

Mots-clés : Mammite subclinique ; vache laitière ; *Staphylococcus aureus* ; *Escherichia coli* ; plantes médicinales ; extraits aqueux ; extraits éthanoliques.

Abstract

Subclinical mastitis in dairy cows represents a major health concern in the bovine farming sector due to its direct and indirect impacts on milk production, as well as on the hygienic and technological quality of milk.

The objective of this study is to isolate the main bacterial agents responsible for subclinical mastitis in dairy cows and to evaluate the antibacterial activity of jujube honey and aqueous and ethanolic extracts of selected medicinal plants (*Thymus lanceolatus*, *Allium sativum*, *Ziziphus lotus*, and *Cedrus atlantica*).

Microbiological analysis of milk samples and teat swabs led to the isolation of two dominant bacterial species: *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Antibacterial activity assays revealed that the ethanolic extract of *Z. lotus* exhibited a minimum inhibitory concentration (MIC) of 40 mg/ml against both *S. aureus* and *E. coli*. The extract of *T. lanceolatus* was active only against *S. aureus*, with the same MIC. Regarding *C. atlantica*, both its aqueous and ethanolic extracts demonstrated good efficacy against the two strains, with an MIC of 40 mg/ml for *S. aureus* and 50 mg/ml for *E. coli*.

In contrast, neither jujube honey nor *A. sativum* powder showed any notable inhibitory activity.

Keywords: Subclinical mastitis; dairy cow; *Staphylococcus aureus*; *Escherichia coli*; medicinal plants; aqueous extracts; ethanolic extracts.

الملخص

يُعدّ التهاب الضرع تحت الإكلينيكي لدى الأبقار الحلوب مشكلة صحية رئيسية في قطاع تربية الأبقار، وذلك لما له من تأثيرات مباشرة وغير مباشرة على إنتاج الحليب، فضلاً عن تأثيره على الجودة الصحية والتكنولوجية للحليب

يهدف هذا البحث إلى عزل البكتيريا الرئيسية المسببة لالتهاب الضرع تحت الإكلينيكي لدى الأبقار الحلوب، وتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لعسل السدر، بالإضافة إلى المستخلصات المائية والإيثانولية لبعض النباتات الطبية، وهي: الزعتر الرمحي، الثوم، السدر البري و الأرز الأطلسي.

أدى التحليل الميكروبيولوجي لعينات الحليب والمسحات المأخوذة من الحلمات إلى عزل نوعين بكتيريين سائدين، وهما: العنقوديات الذهبية والإشريكية القولونية.

أظهرت اختبارات النشاط المضاد للبكتيريا أن المستخلص الإيثانولي لنبات السدر البري أظهر تركيزاً مثبطاً أدنى قدره 40 ملغ/مل ضد العنقوديات الذهبية والإشريكية القولونية.

أما مستخلص الزعتر الرمحي، فقد كان فعالاً فقط ضد العنقوديات الذهبية بنفس التركيز المثبط الأدنى.

وفيما يخص أرز الأطلس، فقد أظهرت مستخلصاته المائية والإيثانولية فعالية جيدة ضد السلالتين، بتركيز مثبط أدنى قدره 40 ملغ/مل ضد العنقوديات الذهبية و 50 ملغ/مل ضد الإشريكية القولونية. في المقابل، لم يُظهر كل من عسل السدر ومسحوق الثوم أي نشاط تثبيطي يُذكر.

الكلمات المفتاحية :

التهاب الضرع تحت الإكلينيكي؛ الأبقار الحلوب؛ العنقوديات الذهبية؛ الإشريكية القولونية؛ النباتات الطبية؛ مستخلصات مائية؛ مستخلصات إيثانولية.

Liste des Abréviations

- *A. sativum* : *Allium sativum*
- *C. atlantica* : *Cedrus atlantica*
- CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
- CMT : California Mastitis Test
- DMSO : Diméthylsulfoxyde
- *E. coli* : *Escherichia coli*.
- Gélose MH : Gélose Mueller-Hinton
- *S. aureus* : *Staphylococcus aureus*
- SCC : Somatic Cell Count
- *T. lanceolatus* : *Thymus lanceolatus*
- TCS : taux des cellules somatiques
- TCS : Teneur en Cellules Somatiques
- *Z. lotus* : *Ziziphus lotus*

Liste des Figures

Figure 1 : Matériel végétal: (a) : <i>Ziziphus lotus</i> , (b) : <i>Allium sativum</i> (c) : <i>Thymus lanceolatus</i>	14
Figure 2 : Test CMT pour le dépistage des mammites subcliniques.....	16
Figure 3 : Préparation des milieux de culture.....	17
Figure 4 : Coloration de Gram des bactéries isolées.....	18
Figure 5 : Extraits préparés dans le DMSO 50 %.....	20
Figure 6 : Observation microscopique après coloration de Gram. (a) <i>E. coli</i> , (b) <i>S. aureus</i>	22
Figure 7 : Effet antibactérien du miel et des extraits végétaux testés vis-à-vis d' <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> par la méthode de diffusion à partir des puits.....	23
Figure 8 : Effet antibactérien des extraits végétaux testés vis-à-vis d' <i>E. coli</i> et <i>S. aureus</i> par la méthode d'incorporation dans la gélose.....	24

Liste des Tableaux

Tableau 1. Effet antibactérien du miel de jujubier et des extraits éthanoliques et aqueux des plantes testées sur les bactéries isolées	22
Tableau 2. CMI des extraits éthanoliques et aqueux du thym, jujubier et cèdre sur les bactéries isolées	23

Table des Matières

Remerciements

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Table des matières

Introduction.....	01
-------------------	----

Synthèse bibliographique

1- Définition et classification des mammites bovines.....	03
2- Origines et facteurs de risque.....	03
2-1- Origine infectieuse	03
2-3- Facteurs nutritionnels	03
2-4- Facteurs physiologiques et immunitaires.....	04
2-5- Facteurs humains et de gestion	04
3- Manifestations cliniques et subcliniques	04
3-1- Mammites cliniques.....	04
3-2- Mammites subcliniques.....	04
3-3- Conséquences des mammites	05
3-3-1- Réduction de la production laitière	05
3-3-2- Altération de la qualité du lait	05
3-3-3- Coût économique important.....	05
3-3-4- Conséquences sur la santé publique	06
4- Méthodes de diagnostic de la mammite subclinique.....	06
5- Prévention des mammites.....	07
5-1- Hygiène de traite.....	07
5-2- Aménagement de l'environnement.....	07
5-3- Gestion de l'eau	08
5-4- Supplémentation nutritionnelle.....	08
6- Les traitements conventionnels.....	09

6-1- Les avantages des traitements conventionnels	10
6-1-1- Haute efficacité contre les agents pathogènes	10
6-1-2-Réduction du taux de cellules somatiques (SCC).....	10
6-1-3- Prévention de la propagation de l'infection dans le troupeau.....	10
6-1-4- Amélioration du rendement économique et de la qualité du lait.....	10
6-2- Les inconvénients des traitements conventionnels.....	10
6-2-1- Résistance antimicrobienne accrue.....	10
6-2-2- Résidus d'antibiotiques dans le lait.....	10
6-2-3- Coût élevé lié au retrait du lait.....	11
6-2-4- Distribution inégale et échecs de traitement.....	11
7- Les traitements naturels	11
7-1- Les avantages des traitements naturels	12
7-1-1- Activité antibactérienne efficace.....	12
7-1-2- Effet synergique amélioré entre extraits végétaux et acides gras.....	12
7-1-3- Activité anti-inflammatoire et renforcement de la barrière immunitaire.....	12
7-1-4-Amélioration des paramètres du lait et de la santé générale in vivo.....	12
7-2- Les inconvénients des traitements naturels	12
7-2-1-Efficacité clinique limitée	12..
7-2-2- Résultats inégaux entre laboratoire et terrain.....	12
7-2-3-Risques d'irritation locale.....	13
7-2-4-Instabilité des extraits végétaux.....	13
7-2-5-Manque d'essais cliniques approfondis.....	13

Méthodologie

1- Objectif de cette étude.....	14
2- Matériel et méthodes.....	14
2-1- Miel.....	14
2-2- Matériel végétal	14
2-3- Préparation des extraits aqueux et éthanoliques.....	15
2-4- Isolement des germes responsables des mammites subcliniques	15
2-4-1- Diagnostic des mammites subcliniques.....	15
2-4-2- Isolement et identification des microorganismes	17
2-4-3- Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	18

Résultats

1- Observations macroscopique et microscopique des microorganismes isolés	21
2- Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits ethanolic et aqueux.....	22
2-1- Méthode de diffusion sur gélose à partir des puits.....	22
2-2- Méthode d'incorporation dans la gélose.....	23
Discussion	25
Conclusion et perspectives.....	27
Références bibliographiques.....	28

Introduction

Introduction

La mammite subclinique chez les vaches laitières représente l'un des défis sanitaires majeurs auxquels fait face le secteur de l'élevage bovin, en raison de ses effets négatifs directs et indirects sur la productivité et la qualité du lait. Sa particularité réside dans son caractère silencieux, marqué par l'absence de signes cliniques visibles au niveau de la mamelle ou du lait, malgré une inflammation profonde du tissu mammaire, rendant son diagnostic précoce difficile et causant des pertes économiques considérables (Schukken et al., 2003 ; MDPI, 2025).

Cette infection altère la composition du lait, en provoquant une diminution du lactose et des protéines, ainsi qu'une augmentation du taux de cellules somatiques et de certaines enzymes inflammatoires, ce qui compromet la qualité technologique du lait et sa transformation (Leitner et al., 2004 ; Aghamohammadi et al., 2018).

En Algérie, la mammite subclinique constitue un problème de santé animale largement répandu. Plusieurs études épidémiologiques ont mis en évidence des taux de prévalence élevés dans différentes régions. À El Tarf, au nord-est du pays, une étude a révélé une prévalence globale de 41,7 %, dont 31,8 % de cas subcliniques (Hocine et al., 2021a).

Dans le nord-ouest, la fréquence d'atteinte atteint 68,5 %, dont 65,4 % sont des formes subcliniques (Hocine et al., 2021). Au centre du pays, l'application du test CMT a permis de détecter une prévalence de 28,6 %, avec une prédominance de *Staphylococcus aureus* dans 40 % des cas (Saidi et al., 2013).

Ces données soulignent la forte prévalence de la maladie et la nécessité d'approches alternatives de traitement. Face à la montée de l'antibiorésistance et aux résidus médicamenteux dans le lait, l'intérêt pour les solutions thérapeutiques naturelles ne cesse de croître, notamment celles issues de plantes médicinales dotées de propriétés antibactériennes et anti-inflammatoires (Van den Bogaard et al., 2001 ; Debruyne et al., 2022).

Des recherches antérieures ont mis en évidence l'efficacité de certains produits naturels tels que le miel, l'ail, le thym ou le jujubier contre les principaux agents pathogènes de la mammite, notamment *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (Benhanifia et al., 2020 ; Girard et al., 2022). Les résultats expérimentaux ont révélé que les extraits de jujubier, de thym et de cèdre présentaient une forte activité inhibitrice, renforçant leur potentiel en tant qu'alternatives thérapeutiques naturelles prometteuses (Abeer et al., 2023 ; Antanaitis et al., 2023).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail, qui vise à évaluer l'efficacité de cinq produits naturels ; le jujubier (*Ziziphus lotus*), l'ail (*Allium sativum*), le miel de jujubier, le thym (*Thymus lanceolatus*) et le cèdre (*Cedrus atlantica*) dans la lutte contre les souches bactériennes responsables de la mammite subclinique, en vue de proposer des alternatives thérapeutiques plus sûres, durables et adaptées à l'élevage bovin en Algérie.

Synthèse bibliographique

Synthèse bibliographique

1- Définition et classification des mammites bovines

La mammite bovine est une inflammation du tissu mammaire, généralement causée par des infections bactériennes ou un traumatisme (Garcia, 2004). Elle résulte souvent d'un envahissement microbien à travers le canal du trayon, impliquant principalement *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. et *Escherichia coli* (Sordillo & Shafer-Weaver, 1997).

La maladie se présente sous forme clinique avec Œdème, chaleur, douleur, lait anormal ou subclinique détectée via une augmentation des cellules somatiques (Kehrli & Shuster, 1994). Elle est multifactorielle, dépendant de l'immunité de l'hôte, des pathogènes présents et des conditions environnementales (Bardhan et al., 2013). Les premiers événements inflammatoires incluent la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que TNF α , IL 1 β et IL 6 (Stigter et al., 2021).

Cette infection altère la composition du lait, réduit la production, cause des pertes économiques importantes et menace la sécurité alimentaire (Aghamohammadi et al., 2018).

2- Origines et facteurs de risque

2-1- Origine infectieuse

La mammite bovine est principalement causée par une grande variété de micro-organismes, notamment *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, des champignons comme *Candida* et des algues telles que *Prototheca*, transmis de manière contagieuse lors de la traite ou acquis par l'environnement, à partir de la litière, du sol ou de l'eau (Zhang et al., 2020).

2-2- Facteurs environnementaux

La litière humide ou sale, une mauvaise ventilation, l'accumulation de fumier, la surpopulation, et les climats chauds et humides favorisent la prolifération des agents pathogènes et augmentent l'exposition des vaches (Hogeveen et al. 2013 ; Azdarjough, 2023).

2-3- Facteurs nutritionnels

Le bilan énergétique négatif en début de lactation et les carences en énergie, vitamines (A, C, E), sélénium, zinc, cuivre et acides aminés affaiblissent les défenses immunitaires et augmentent la sensibilité à la mammite (Wang et al., 2024). La réceptivité de l'hôte est influencée par des facteurs tels que le stade de lactation, la parité, la conformation du pis, le

stress oxydatif et un faible niveau d'antioxydants, ce qui affaiblit l'immunité innée (Wang et al., 2024 ; Azdarjough, 2023).

2-4- Facteurs physiologiques et immunitaires

Comme l'attitude des éleveurs, le non-respect des protocoles de prévention, et la qualité de la communication avec les vétérinaires influencent également l'incidence de la mammite (De Vlieghe et al, 2011). Enfin, la réponse immunitaire au niveau des mamelles infectées implique l'activation des récepteurs Toll-like (TLR), les voies de signalisation NF κ B/MAPK, et la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires (TNF α , IL 1 β , IL 6), qui protègent tout en endommageant les tissus et augmentent le taux de cellules somatiques (Zhang et al, 2020).

2-5- Facteurs humains et de gestion

Notamment les techniques de traite inappropriées, les machines mal entretenues ou sales, une hygiène insuffisante des trayons, et une manipulation précipitée ou négligente facilitent la pénétration des pathogènes par le canal du trayon (Manninen, 1995 ; FarmHealth Online, 2023).

3- Manifestations cliniques et subcliniques

3-1- Mammmites cliniques

Les mammmites cliniques se manifestent par des signes inflammatoires locaux au niveau de la mamelle, tels que rougeur, chaleur, gonflement et douleur à la palpation (Cheng & Han, 2020). Le lait présente également des altérations visibles, notamment la présence de flocons, de caillots, de sang ou une texture anormalement aqueuse, perceptibles dès les premiers jets (Covetrus, 2016). Dans les formes plus sévères, des signes systémiques peuvent apparaître, tels que fièvre, anorexie, abattement, déshydratation ou même un état de choc (Cheng & Han, 2020).

Ces symptômes entraînent une chute rapide de la production laitière, due à l'inflammation de la glande mammaire. Leur détection permet un diagnostic précoce, essentiel pour limiter les complications et préserver la santé de l'animal.

3-2- Mammmites subcliniques

La mammite subclinique est communément qualifiée de forme silencieuse en raison de l'absence de signes cliniques visibles, que ce soit au niveau de la mamelle ou du lait, ce qui rend son repérage impossible à l'œil nu (MDPI, 2025). Contrairement à la forme clinique, elle ne s'accompagne ni de gonflement, ni de rougeur, ni de modification de l'aspect du lait.

Toutefois, cette infection entraîne une inflammation localisée des tissus mammaires, qui se manifeste par une élévation du taux de cellules somatiques (TCS), indicateur clé de la réponse immunitaire (Schukken et al, 2003).

Cette forme d'inflammation s'accompagne de perturbations biochimiques du lait, notamment une diminution du lactose et des protéines, ainsi qu'une augmentation du pH et de certaines enzymes inflammatoires telles que la lactate déshydrogénase et la NAGase (ou N-acétyl- β -D-glucosaminidase), témoignant de la dégradation des tissus (Leitner et al., 2004). Ces altérations ont un impact direct sur la production, avec une baisse estimée entre 10 % et 20 %, ce qui engendre des pertes économiques significatives pour l'éleveur à l'échelle du troupeau (Seegers et al, 2003 ; Halasa et al, 2007).

3-3- Conséquences des mammites

3-3-1- Réduction de la production laitière

La mammite subclinique, bien qu'asymptomatique, provoque une diminution significative de la production laitière, notamment en affectant les quartiers mammaires touchés. De manière globale, les pertes de production peuvent atteindre 0,5 à 1,5 kg de lait par jour et par vache. Ce phénomène s'explique par l'inflammation chronique des tissus mammaires, qui altère la capacité de sécrétion du lait et la fonctionnalité des alvéoles (Bhutto et al., 2012).

3-3-2- Altération de la qualité du lait

Les infections subcliniques entraînent une élévation du taux de cellules somatiques (SCC), un marqueur d'inflammation. Cela modifie profondément la composition physico-chimique du lait :

- Diminution de la caséine, principale protéine impliquée dans la coagulation ;
- Baisse du lactose et des matières grasses ;
- Présence accrue d'enzymes telles que les plasmines et lipases, responsables de la dégradation prématurée des protéines et des lipides du lait (Kitchen, 1981 ; Harmon, 1994 ; Auldist et al., 1995).

Ces altérations compromettent la transformation fromagère et réduisent la durée de conservation. Par exemple, un SCC > 200 000 cellules/ml peut entraîner une baisse de 10 à 15 % du rendement fromager (Ma et al., 2000).

De plus, des modifications du pH et une augmentation de la conductivité électrique sont observées, signes indirects de l'inflammation (Vangroenweghe et al., 2005).

3-3-3- Coût économique important

Les mammites, en particulier sous leur forme subclinique, ont un impact économique majeur :

- Dans l'Union européenne, les pertes sont estimées à plus de 1,5 milliard d'euros/an, en prenant en compte les coûts des traitements, du lait jeté, de la main-d'œuvre supplémentaire et des pertes de fertilité (Halasa et al., 2007) ;
- Le coût moyen d'un épisode de mammites clinique varie entre 110 € et 210 € selon la gestion du troupeau (Hogeveen et al., 2011) ;
- En Chine, les pertes économiques dues à la mammites subclinique atteignent 60 USD par vache et par lactation (chen et al., 2022) ;
- En Colombie, elles sont estimées à plus de 800 000 USD/an dans certaines fermes (Romero et al., 2018).
- En Algérie, les mammites, surtout subcliniques, causent des pertes économiques majeures ; jusqu'à 400 000 Da par vache, des centaines de millions à l'échelle régionale, et des dizaines de milliards de dinars à l'échelle nationale. En 2008 les pertes estimées étaient 419 à 596 millions de Litres, correspondant à 18,45 à 26,22 milliards Da ($\approx$ 230 à 328 M USD) (Kebbal et al. 2024). Pour un secteur laitier algérien en déficit, ces pertes aggravent la dépendance aux importations. Ces données soulignent l'importance d'investir dans la prévention (hygiène, dépistage, formation), pour réduire les coûts à la production et améliorer l'autosuffisance.

Enfin, des solutions alternatives comme l'utilisation de la nisine en début de lactation permettent un gain net de 19 USD par vache, prouvant l'efficacité économique de la prévention précoce (Rodriguez et al., 2024).

3-3-4- Conséquences sur la santé publique

Au-delà des pertes économiques, les mammites subcliniques soulèvent une préoccupation sanitaire importante. Le lait provenant de vaches infectées peut contenir des agents pathogènes zoonotiques, augmentant le risque de transmission à l'homme, surtout dans les systèmes à faible contrôle hygiénique (Ruegg, 2009).

En cas de détection de tels agents, des lots entiers de production peuvent être rejetés, avec des conséquences économiques et réglementaires graves. De plus, l'usage abusif d'antibiotiques dans les traitements contribue à la montée de la résistance antimicrobienne, représentant une menace pour la santé publique (Chen et al., 2022).

4- Méthodes de diagnostic de la mammites subclinique

Le diagnostic de la mammites subclinique, en raison de son caractère asymptomatique, repose principalement sur des méthodes indirectes et analytiques. Le dosage du taux de cellules somatiques (TCS) constitue l'outil de référence : Un TCS supérieur ou égal à 200 000 cellules/ml est généralement interprété comme une réponse inflammatoire locale, même

en l'absence de signes cliniques (Schukken et al., 2003). Ce taux peut être mesuré en laboratoire ou via des dispositifs de terrain. Parmi ces derniers, le California Mastitis Test (CMT) est largement utilisé.

Ce test pratique repose sur la réaction du lait avec un réactif formant un gel, dont la densité est proportionnelle à la concentration cellulaire : l'absence de réaction suggère un TCS < 500 000 cellules/ml, un gel léger correspond à une forme subclinique modérée (500 000 – 1 000 000 cellules/ml), tandis qu'un gel dense ou de type "blanc d'œuf" indique une infection sévère ou clinique (> 1 000 000 cellules/ml) (NMC, 2023 ; Frontiers, 2024).

En laboratoire, la culture bactériologique reste indispensable pour identifier les agents pathogènes intramammaires, tels que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* ou *Escherichia coli*, même en l'absence de symptômes visibles (Bradley et al., 2015).

Des analyses biochimiques du lait permettent également de détecter précocement une altération de la composition laitière : Une élévation du pH, des chlorures, de la lactate déshydrogénase (LDH) et de la N-acétyl-β-D-glucosaminidase (NAGase), associée à une baisse du lactose et de la caséine, est fréquemment observée dans les laits infectés (Kitchen, 1981 ; Leitner et al., 2004 ; Bentayeb et al., 2023).

Enfin, des approches plus récentes comme la thermographie infrarouge offrent une méthode non invasive de dépistage. Cette technique permet de détecter une élévation locale de la température mammaire, variant de 1 à 3 °C, traduisant une inflammation avant l'apparition de signes cliniques visibles (Polat et al., 2010 ; Nabi et al., 2025).

5- Prévention des mammites

5-1- Hygiène de traite

La traite représente un moment critique pour la prévention de la transmission des agents pathogènes responsables de la mammites. Plusieurs mesures sont essentielles :

- Le port de gants jetables ainsi que l'utilisation de lingettes désinfectantes individuelles pour chaque vache permettent de limiter efficacement la propagation des bactéries contagieuses d'un animal à l'autre (AHDB, 2023) ;
- L'application d'un pré-trempage iodé à 0,25 % pendant 30 secondes avant la traite contribue à réduire considérablement la charge bactérienne présente sur les trayons (Smith, 2022) ;
- Ces gestes simples mais rigoureux constituent la base d'une hygiène de traite efficace.

5-2- Aménagement de l'environnement

L'environnement de l'animal influence directement la pression infectieuse exercée sur la mamelle :

- Un paillage quotidien avec une litière sèche et un raclage régulier des logettes permettent de réduire la concentration de coliformes, notamment dans les systèmes de stabulation libre (Jones, 2021).
- L'ajout de poudres absorbantes telles que la zéolite diminue l'humidité au sol, freinant ainsi la prolifération microbienne (Miller, 2020).
- Dans la période péripartum, la désinfection des aires de vêlage après chaque mise-bas s'avère indispensable pour prévenir les infections précoces de la mamelle (Bennet, 2023).
- La maîtrise des vecteurs, en particulier *Hydrotaea irritans* connue sous le nom de "mouche d'été" ou "mouche à tête verte", est également essentielle. Ces mouches, actives dès le printemps, peuvent transmettre des bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus* ou *Klebsiella*. Le recours aux régulateurs de croissance dans les zones larvaires dès Mars permettrait de réduire de 50 % la fréquence des infections (Dupont, 2021 ; White, 2025).
- Enfin, la coupe des queues et l'épilation régulière des mamelles diminuent les souillures fécales sur le pis, réduisant ainsi les risques de contamination directe (Khan, 2012).

5-3- Gestion de l'eau

L'eau de boisson peut représenter une source indirecte de contamination :

- Il est recommandé de fournir une eau potable conforme aux normes microbiologiques, soit < 100 UTOB (unités totales de bactéries), afin d'éviter les contaminations croisées (Patterson, 2022) ;
- L'intégration de systèmes de traitement de l'eau tels que la chloration ou l'irradiation UV dans les abreuvoirs assure un meilleur contrôle de la charge microbienne (Mitchell, 2021).

5-4- Supplémentation nutritionnelle

L'état nutritionnel de la vache joue un rôle fondamental dans sa capacité à résister aux infections mammaires:

- L'utilisation de bolus intraruminaux enrichis en cuivre, iode et cobalt renforce l'immunité générale et réduit l'incidence des mammites (Sorrenti, 2024).
- Une injection sous-cutanée de sélénium et de zinc en phase prépartum améliore les défenses mammaires locales (Bourne, 2013).

- De plus, une supplémentation orale en vitamine E et sélénium dès trois semaines avant vêlage optimise l'activité des neutrophiles, premières cellules de défense au niveau mammaire (Hogan, 1993).
- À l'inverse, des carences minérales peuvent perturber le fonctionnement du sphincter du trayon, facilitant l'entrée de pathogènes dans la glande mammaire (Engel, 2024).

6- Les traitements conventionnels

Les traitements intramammaires aux antibiotiques se sont révélés particulièrement efficaces dans le contrôle des mammites subcliniques, notamment pendant la période de tarissement.

L'association de nafcilline, pénicilline et dihydrostreptomycine a permis de réduire les infections de 40 % à 20 %, avec un taux de guérison de 70 %, surpassant ainsi le traitement systémique au céfquinome (Bradley & Green, 2006).

Par ailleurs, l'augmentation du nombre de doses administrées quotidiennement (6 contre 3) a permis d'obtenir un taux de guérison bactérienne de 100 %, contre seulement 86 % pour le protocole standard, soulignant l'importance de l'intensité du traitement (Nekouei et al., 2011).

La cloxacilline, quant à elle, a démontré une bonne efficacité. Sous forme benzathine, elle atteint des concentrations supérieures à la CMI₉₀ contre *Staphylococcus aureus* et reste active dans le tissu mammaire pendant au moins six heures après l'injection (Fischer-Tenhagen et al., 2010).

Lors de la période de tarissement, l'administration de 600 mg de cloxacilline associée à un scellant intramammaire a permis de réduire de 20 % l'incidence des mammites cliniques et subcliniques (Wicks et al., 2010).

En outre, un protocole associant cloxacilline et ampicilline a donné un taux de guérison de 86 %, contre 98 % avec le céfquinome, ce qui montre que les alternatives classiques demeurent pertinentes et plus économiques (Alves et al., 2019).

Concernant les thérapies combinées, une association d'amoxicilline intramammaire et de pénicilline G par voie intramusculaire a permis de doubler le taux de guérison (51 %) par rapport à l'amoxicilline seule (25 %), mettant en évidence un effet synergique entre les deux molécules (Sol et al., 1988).

Enfin, chez 1 273 vaches laitières, l'usage d'un antibiotique en complément d'un scellant interne a conduit à une réduction significative de la numération cellulaire somatique en début de lactation, ce qui confirme l'efficacité préventive de ce protocole combiné (El Ashmawy et al., 2022).

6-1- Les avantages des traitements conventionnels

6-1-1- Haute efficacité contre les agents pathogènes

Les traitements conventionnels intramammaires tels que la cloxacilline et la pénicilline montrent une grande efficacité contre les infections bactériennes, atteignant un taux de guérison de 98 % contre *Streptococcus agalactiae* et *Staphylococcus aureus*, contre seulement 10,5 % chez les cas non traités (Owens et al., 1997). Des résultats récents ont confirmé que la pénicilline utilisée pendant 8 jours permet un taux de guérison atteignant 75,8 % (Keefe et al., 2015).

6-1-2-Réduction du taux de cellules somatiques (SCC)

Le traitement avec des antibiotiques tels que le pénéthamate hydriodide permet de réduire le nombre de glandes infectées et améliore les indicateurs de santé au niveau du lait, notamment la baisse du SCC (Bradley & Green, 2001), une étude plus récente a montré qu'une diminution du SCC reflète une amélioration de la qualité du lait après traitement (Steele & McDougall, 2014).

6-1-3- Prévention de la propagation de l'infection dans le troupeau

Le traitement des cas subcliniques empêche la transmission des bactéries d'un quartier à l'autre ou d'une vache à une autre, réduisant ainsi le risque d'apparition d'une mammites clinique, notamment causée par *S. aureus* (Zadoks et al., 2001). Une étude épidémiologique a souligné l'importance du traitement pour éviter l'évolution et la propagation de l'infection dans le troupeau (Ruegg, 2022).

6-1-4- Amélioration du rendement économique et de la qualité du lait

Le traitement conventionnel permet de réduire les pertes liées à la baisse de production ou à la destruction du lait contaminé, tout en améliorant la qualité du lait, ce qui permet de bénéficier de primes de qualité (Halasa et al., 2007). Une étude économique récente a confirmé que l'amélioration de la qualité du lait après traitement se reflète positivement sur la rentabilité des éleveurs (Sears et al., 2020).

6-2- Les inconvénients des traitements conventionnels

6-2-1- Résistance antimicrobienne accrue

L'utilisation répétée d'antibiotiques, notamment par voie intramammaire, favorise l'apparition de bactéries résistantes, risquant leur transmission via la chaîne alimentaire (Vaccum 2017).

6-2-2- Résidus d'antibiotiques dans le lait

Après traitement intramammaire, des résidus tels que la gentamicine peuvent persister dans le lait jusqu'à 9 jours, ce qui dépasse parfois la période de retrait recommandée (Tan et

al. 2009). Des études antérieures soulignent que 82 à 90 % des cas de dépassement des limites de résidus proviennent de traitements contre la mammite (Reneau, 1993).

6-2-3- Coût élevé lié au retrait du lait

Pendant le traitement, le lait doit être jeté, ce qui engendre des pertes économiques importantes ce point était moins documenté dans les années 90, mais reste d'actualité en 2024 (PMC review, 2024; Reneau, 1993).

6-2-4- Distribution inégale et échecs de traitement

La diffusion inégale des antibiotiques dans le tissu mammaire, surtout en présence d'obstructions, réduit l'efficacité des traitements provoquant parfois jusqu'à 50 % d'échec dans certains cas (Maksimović et al., 2023), déjà identifié dès 1996 comme problème persistant (WCDS, 1996).

7- Les traitements naturels

Les traitements naturels représentent une alternative prometteuse dans la prise en charge des mammites subcliniques bovines, notamment face à l'émergence de résistances antimicrobiennes.

En Algérie, l'administration intramammaire de 5 ml de miel de jujubier non dilué pendant deux jours a permis l'élimination de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* en 14 à 60 jours (Benhanifia et al., 2020).

En Égypte, une préparation de miel dilué à 10 % administrée pendant trois jours a entraîné une réduction bactérienne supérieure à 99 %, sans effet néfaste sur la production laitière (Wahba et al., 2011).

D'autres plantes médicinales ont également montré un potentiel thérapeutique. Un mélange topique de feuilles de moringa, curcuma et sel appliqué deux fois par jour pendant une semaine a permis un taux de guérison de 90 % (Amin et al., 2020).

Le thym (*Thymus vulgaris*) s'est révélé efficace contre *Staphylococcus* spp. (Dal Pozzo et al., 2011) ainsi que *Prototheca zopfii*, un pathogène résistant (Mycopathologia, 2018), un extrait alcoolique chaud a permis d'éliminer complètement *S. aureus* (Abeer et al., 2023).

Concernant l'ail, l'allicine stabilisée a été testée avec succès en France dans des bolus Allimax NF (produit vétérinaire), avec un taux de guérison de 83 %, supérieur à celui observé avec les antibiotiques classiques (Termoz, 2021 ; Girard et al., 2022).

Plus récemment, l'allicine a démontré sa capacité à inhiber la voie inflammatoire TLR4/NF- κ B, réduisant la concentration de cellules somatiques tout en modulant favorablement la réponse immunitaire sans impacter la production laitière (Che et al., 2023 ; Antanaitis et al., 2023).

7-1- Les avantages des traitements naturels

7-1-1- Activité antibactérienne efficace

Les huiles essentielles comme le basilic et la bergamote ont démontré une forte activité contre *S. aureus* isolé de cas de mammites subclinique, avec des concentrations inhibitrices faibles (1,56–2,78 mg/ml), grâce à des composés actifs comme le linalol (Oliveira et al, 2023). L'efficacité des composés comme l'allicine de l'ail a été démontré contre les pathogènes et les biofilms (Reyaz et al, 2008). De plus, l'application locale d'extraits d'ail a également montré une diminution significative du dénombrement bactérien (Girard et al., 2022).

7-1-2- Effet synergique amélioré entre extraits végétaux et acides gras

Une étude a démontré que le carvacrol (issu de l'origan), combiné à l'acide octanoïque, a complètement éradiqué *S. aureus*, *E. coli* et *Streptococcus agalactiae* (Zhang et al., 2022).

7-1-3- Activité anti-inflammatoire et renforcement de la barrière immunitaire

L'huile essentielle de *Houttuynia cordata* a réduit les cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-1 β) et restauré la barrière hémato-mammaire dans un modèle murin de mammites (Chen et al., 2021), de manière similaire, la curcumine a démontré des propriétés anti-inflammatoires chez les bovins (Aggarwal et al., 2007)

7-1-4-Amélioration des paramètres du lait et de la santé générale in vivo

L'huile d'origan a permis une réduction significative du taux de cellules somatiques (SCC) et des colonies bactériennes dans le lait chez des vaches infectées par *S. aureus*, après application pendant 3 jours (Cho et al., 2015). En parallèle, l'extrait d'ail a permis d'obtenir une guérison clinique dans 50 à 75 % des cas de mammites subcliniques (Reyaz et al., 2008).

7-2- Les inconvénients des traitements naturels

7-2-1-Efficacité clinique limitée

Malgré une activité in vitro prometteuse des extraits comme le thym ou l'origan, leur efficacité thérapeutique sur les vaches en conditions réelles reste faible. Une étude utilisant un produit naturel (Phyto-Mast®) a montré qu'il n'était pas plus efficace qu'un placebo (Mullen et al., 2012).

7-2-2- Résultats inégaux entre laboratoire et terrain

Plusieurs substances naturelles donnent de bons résultats en laboratoire, mais échouent à démontrer la même efficacité en essais cliniques sur les animaux, rendant leurs performances imprévisibles (Li et al., 2023).

7-2-3-Risques d'irritation locale

Certaines huiles essentielles comme celles de cannelle ou d'origan peuvent provoquer des irritations ou une toxicité locale lorsqu'elles sont appliquées à fortes concentrations. (Tomanic et al., 2022).

7-2-4-Instabilité des extraits végétaux

Les extraits naturels sont souvent sensibles à l'oxydation, à la lumière et à la température, ce qui diminue leur efficacité thérapeutique. Des technologies comme l'encapsulation sont nécessaires pour stabiliser ces composés (Li et al., 2023).

7-2-5-Manque d'essais cliniques approfondis

Peu d'études ont été menées à grande échelle pour évaluer l'efficacité et l'innocuité des traitements naturels contre les mammites subcliniques, ce qui limite leur validation scientifique (Pinedo et al., 2013)

Méthodologie

Méthodologie

1- Objectif de cette étude

Cette étude a pour objectif d'isoler quelques bactéries responsables des mammites subcliniques chez la vache et par la suite d'évaluer l'activité antibactérienne de certaines plantes médicinales, sélectionnées sur la base de données issues de la littérature scientifique et des études antérieures, contre les bactéries isolées.

2- Matériel et méthodes

2-1- Miel

Le miel de jujubier a été obtenu chez un apiculteur local dans la région de Khenchla, Daira de Chechar (est de l'Algérie).

2-2- Matériel végétal

Trois espèces végétales ont été retenues pour cette étude en raison de leurs propriétés antimicrobiennes rapportées dans la littérature et de leur accessibilité locale (Fig. 1). L'ail (*Allium sativum*) a été acquis sous forme de bulbes frais dans un commerce de proximité à Tiaret, on sélectionne que les gousses intactes, saines et sans moisissures apparentes.

Les feuilles de jujubier (*Ziziphus lotus*) ont été récoltées manuellement dans la région d'Oued Lili (Mois d'avril 2025) de Tiaret, en privilégiant les spécimens exempts de parasites et de détériorations visibles.

Le thym (*Thymus lanceolatus*) durant le mois de Mars 2025, a été recueilli dans la zone de Tidda, commune Oued Lili, également située dans la wilaya de Tiaret, en période de floraison partielle afin d'assurer une teneur optimale en composés actifs.

De plus, les extraits aqueux et hydroéthanolique (70 %) de *Cedrus atlantica* préparés lors d'une étude précédente ont également fait l'objet de cette étude.

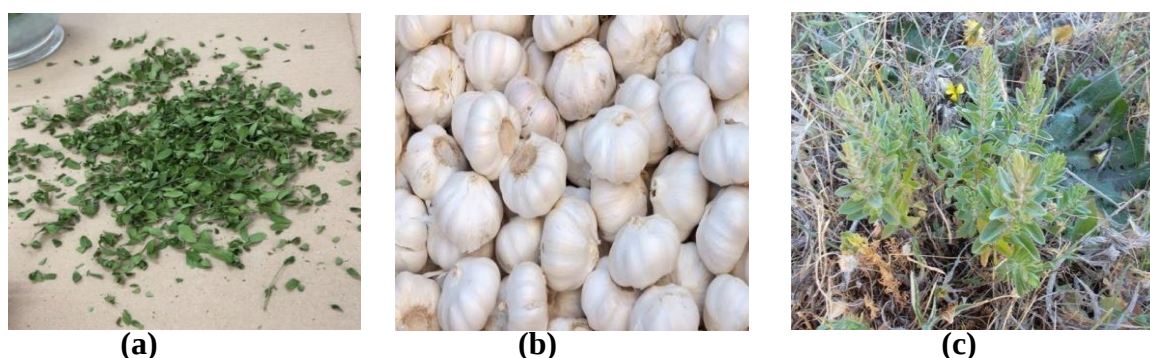


Figure 1. Matériel végétal, (a) *Ziziphus lotus*, (b) *Allium sativum*, (c) *Thymus lanceolatus*.

2-3- Préparation des extraits aqueux et éthanoliques

Avant l'étape d'extraction, chaque matière végétale a été préparée selon un protocole spécifique. Les gousses d'ail ont été épluchées afin de retirer la tunique externe, puis découpées en petits morceaux de taille homogène. Deux méthodes de séchage ont été appliquées à l'ail, une partie a été séchée à l'air libre à température ambiante, tandis qu'une autre a été soumise à un séchage à l'étuve à 35 °C.

Les feuilles de jujubier ont été récoltées manuellement à l'aide de ciseaux. Elles ont ensuite été étalées en couche fine et séchées à l'air libre, à l'abri de la lumière et dans un environnement bien ventilé. Les tiges ont été laissées à sécher naturellement.

À l'issue du séchage, l'ensemble des échantillons a été broyés séparément à l'aide d'un mixeur électrique propre et sec, jusqu'à obtention d'une poudre fine et homogène, conservée dans des contenants hermétiques en verre, à l'abri de l'humidité et de la lumière.

La préparation des extraits s'est faite selon la méthode décrite par Sasidharan et al. (2011). Brièvement, 50 g de poudre de chaque plante a été mélangé (séparément) dans 500 ml d'eau distillée (pour l'extrait aqueux) et 500 ml d'éthanol 70 % (pour l'extrait éthanolique) dans un Erlenmeyer stérile. Après 30 min d'agitation magnétique, le mélange a été macéré 48 h à température ambiante (avec agitation intermédiaire à 24 h). Le tout a été filtré à l'aide d'un papier filtre pour éliminer les particules solides.

L'extrait sec a été obtenu soit en évaporant le solvant à l'aide de l'évaporateur rotatif sous vide et à basse température ou par séchage dans une étuve à 35 °C. Celui-ci a été ensuite conservé à 4°C.

2-4- Isolement des germes responsables des mammites subcliniques

Les mammites subcliniques ont été étudiées chez des vaches laitières à travers plusieurs étapes, allant du dépistage sur le terrain au prélèvement et à l'isolement des bactéries sur milieux de culture, afin d'identifier les micro-organismes en cause.

2-4-1- Diagnostic des mammites subcliniques

a- Sélection et préparation des vaches

Le dépistage des mammites a été réalisé sur des vaches laitières multipares de race Holstein dans la commune de Tousnina, située à environ 30 kilomètres au sud de Tiaret, en Algérie. Cette région est connue pour son activité agricole et son élevage bovin à vocation laitière. Le choix de cette localité repose sur sa réputation en matière de production de lait cru, ainsi que sur la disponibilité d'animaux laitiers aptes à être inclus dans l'étude.

Avant le dépistage, chaque vache a été identifiée à l'aide d'une boucle auriculaire afin d'assurer un suivi individuel précis des résultats. Le pis a ensuite été soigneusement nettoyé à l'aide de lingettes antiseptiques pour éliminer les salissures, la poussière et toute

contamination d'origine externe. Une fois le nettoyage terminé, les trayons ont été essuyés et séchés à l'aide de linges propres et secs. Les quartiers mammaires à analyser ont été ensuite sélectionnés en fonction de l'état de l'animal, un ou plusieurs quartiers pouvant être testés selon les cas observés.

b- Test CMT (California Mastitis Test)

Avant le prélèvement, chaque trayon a été examiné à l'aide d'une tasse-filtre noire afin de détecter d'éventuelles anomalies visibles du lait, telles que des grumeaux, des sécrétions épaisses ou des changements de couleur. Cette vérification permet d'écarter les cas cliniques manifestes et de cibler uniquement les mammites subcliniques.

Le test CMT a été réalisée selon les principes de Schalm & Noorlander (1957). Une petite quantité de lait a été prélevée directement de chacun des quatre trayons, puis déposée dans les godets correspondants de la palette. Une fois le prélèvement effectué, la palette a été légèrement inclinée pour éliminer le surplus de lait, tout en maintenant une quantité suffisante pour atteindre le plus grand cercle concentrique des godets. La palette a ensuite été repositionnée à plat pour stabiliser le niveau du lait entre les deux cercles, assurant ainsi un volume homogène dans chaque compartiment.

Une quantité équivalente de réactif CMT a été ajoutée à chaque échantillon « ce réactif lyse les cellules somatiques, principalement des globules blancs, libérant l'ADN qui gélifie le lait », puis le mélange a été homogénéisé par de légers mouvements circulaires pendant environ 10 à 15 secondes. L'apparition d'une gélification plus ou moins marquée ou d'une précipitation visqueuse a été interprétée comme un signe de forte concentration en cellules somatiques, indiquant ainsi une inflammation de type mammite subclinique (Fig. 2).

L'évaluation du test CMT s'est fait visuellement, en fonction de la couleur du lait après ajout du réactif. Un lait sans changement de couleur est considéré comme négatif (absence de mammite), tandis qu'une modification de la couleur (vers le violet), traduit une inflammation probable ou une infection. Dans notre cas un changement de couleur a été remarqué après ajout de réactif CMT indiquant une présence d'une mammite subclinique.



Figure 2. Test CMT pour le dépistage des mammites subcliniques.

2-4-2- Isolement et identification des microorganismes

L'isolement des microbes a été réalisé à partir de six échantillons au total. Trois d'entre eux provenaient de prélèvements de lait cru, désignés sous les noms Lait 1, Lait 2 et Lait 3, collectés chez des vaches préalablement testées par la méthode CMT. En parallèle, trois prélèvements distincts ont été effectués sur les trayons des mêmes animaux à l'aide d'un écouvillon stérile, nommés Trayon 1, Trayon 2 et Trayon 3. Ces prélèvements ont été immédiatement transportés dans des glacières puis ensemencés sur des milieux de culture sélectifs afin d'assurer un isolement optimal des germes potentiellement présents.

Chaque milieu de culture en poudre déshydratée a été préparé en respectant les instructions du fabricant, stérilisé à l'autoclave, puis coulé en boîtes de Petri stériles (Fig. 3).

Deux milieux de culture sélectifs et différentiels ont été utilisés pour l'isolement et l'identification des bactéries responsables des mammites ; à savoir la gélose Chapman pour les Staphylocoques en particulier *Staphylococcus aureus* et la gélose MacConkey pour les entérobactéries et d'autres bactéries à Gram négatif notamment *Escherichia coli*.

De plus, la gélose au cétrimide qui est un milieu de culture sélectif utilisé principalement pour l'isolement et l'identification de *Pseudomonas aeruginosa* a été également utilisé ainsi que la gélose Sabouraud pour l'isolement des champignons.

Tous les échantillons prélevés ont été utilisés pour inoculer les milieux de culture sélectionnés. Toutes les boîtes ont ensuite été incubées à 37 °C pendant 24 heures (MacFaddin, 2000).

Plusieurs repiquages ont été réalisés afin d'assurer la pureté des cultures microbiennes obtenues.



Figure 3. Préparation des milieux de culture.

Des observations macroscopiques et microscopiques ont été réalisés pour aider dans le processus d'identification. Une coloration de Gram a été réalisée sur les souches bactériennes

isolées afin de déterminer leur type de paroi cellulaire. La manipulation a été effectuée sur des lames propres, sur lesquelles une goutte d'eau distillée stérile a été déposée. Une petite quantité de colonie a ensuite été prélevée à l'aide d'une anse de platine stérile, puis émulsionnée dans la goutte pour former un frottis. Ce dernier a été laissé sécher à l'air libre avant d'être fixé par passage rapide à la flamme d'un bec Bunsen. La coloration a débuté par l'application du cristal violet pendant une minute, suivie d'un rinçage à l'eau. Une solution de lugol a ensuite été appliquée pendant une minute pour fixer le colorant primaire, puis rincée. La décoloration a été réalisée à l'aide d'un mélange alcool-acétone durant 20 à 30 secondes, suivie d'un rinçage immédiat. Une contre-coloration à la fuchsine a ensuite été effectuée pendant une minute, avant un dernier rinçage. Après séchage complet des lames, les frottis ont été observés à l'aide d'un microscope optique en immersion, avec l'objectif 100x et une goutte d'huile à immersion (Fig. 4) (Forbes et al. 2007).

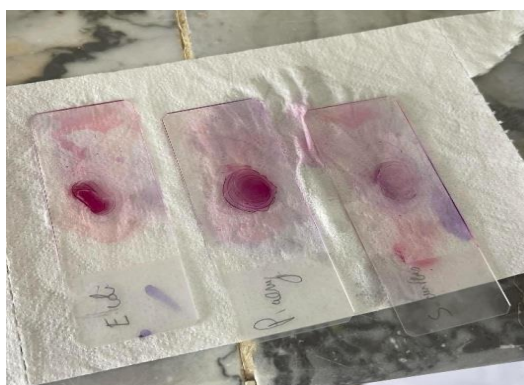


Figure 4. Coloration de Gram des bactéries isolées.

2-4-3- Evaluation de l'activité antimicrobienne

a- Repiquage sur gélose Mueller Hinton

La gélose Müller-Hinton a été utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des plantes sélectionnées. Le milieu a été réparti dans des flacons en verre stériles, puis stérilisé à l'autoclave. Avant utilisation, les flacons ont été placés dans un bain-marie pour maintenir le milieu à l'état liquide. Le coulage dans des boîtes de Petri stériles s'est effectué dans des conditions aseptiques. Une fois les milieux solidifiés, les souches isolées sont repiquées à plusieurs reprises sur gélose Müller-Hinton. Ce repiquage successif permet une meilleure adaptation des souches au milieu, condition essentielle avant la réalisation des essais d'activité antimicrobienne.

b- Standardisation des suspensions bactériennes

Pour garantir une comparaison fiable entre les différentes souches testées, une standardisation des suspensions bactériennes a été réalisée. Des tubes stériles ont d'abord été

remplis avec de l'eau distillée stérile. À l'aide d'une anse stérile, une petite quantité de colonie isolée a été grattée puis transférée dans le tube, en frottant doucement la paroi intérieure afin d'assurer une bonne homogénéisation.

La turbidité de la suspension obtenue a été comparée visuellement à un étalon de l'échelle de McFarland 0.5, correspondant à une concentration estimée d'environ 10^8 UFC/mL. Pour confirmer l'exactitude de cette évaluation visuelle, un spectrophotomètre a été utilisé. L'appareil a d'abord été étalonné à l'aide d'une cuvette contenant uniquement de l'eau distillée (blanc), puis la densité optique des suspensions a été mesurée à une longueur d'onde adaptée (souvent 600 - 625 nm) (Cappuccino & Sherman 2014).

Cette étape a permis de s'assurer que toutes les suspensions utilisées présentaient une densité homogène. Les suspensions ainsi standardisées ont été utilisées immédiatement après validation pour éviter toute variation dans la concentration cellulaire.

c- Méthode de diffusion sur gélose à partir des puits

L'évaluation de l'activité antimicrobienne a été réalisée par la méthode de diffusion à partir des puits, selon le protocole décrit par Balouiri et al. (2016) et les recommandations du CLSI (2018). Cette technique consiste à ensemencer en étalant un volume de l'inoculum microbien sur toute la surface de la gélose. Ensuite, un puits d'un diamètre de 6 à 8 mm est perforé de manière aseptique à l'aide d'un emporte-pièce stérile ou d'un embout. Un volume (20 à 100 μ L) de l'agent antimicrobien ou de la solution d'extrait à la concentration souhaitée est alors introduit dans le puits. Les boîtes de Petri sont ensuite incubées dans des conditions appropriées selon le micro-organisme testé. L'agent antimicrobien diffuse dans le milieu gélifié et inhibe la croissance de la souche microbienne testée.

Dans notre étude, 20 ml de gélose Müller-Hinton stérile est versée dans des boîtes de Petri de manière aseptique. Après la solidification complète du milieu, cinq puits sont formés sur la gélose à l'aide de l'extrémité d'une pipette Pasteur stérile, chaque puits ayant un volume estimé à 75 μ L, en fonction de l'épaisseur standard de la gélose.

Différentes concentrations allant de 10 à 50 mg/ml des extraits aqueux et éthanoliques préalablement préparés des plantes sélectionnées ont été testées. Ceux-là ont été dilués soit dans de l'éthanol à 70 % ou du DMSO 50 % selon la solubilité de chacun (Fig. 5). Des concentrations de 10 à 50 % du miel de jujubier ont également été testées. Des puits témoins, contenant uniquement de l'éthanol à 70 %, ou du DMSO 50 % ont également été inclus.

Les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 24 heures. L'inhibition de croissance bactérienne a ensuite été évaluée par l'observation de halos d'inhibition autour des puits.



Figure 5. Extraits préparés dans le DMSO 50 %.

d- Méthode d'incorporation dans la gélose

Cette consiste à incorporer différentes concentrations souhaitées de l'agent antimicrobien dans un milieu gélosé fondu et maintenue à 45 °C. Ensuite, un inoculum microbien standardisé est ensemencé à la surface de la gélose solidifiée. La CMI (concentration minimale inhibitrice) est déterminée comme étant la plus faible concentration de l'agent antimicrobien qui inhibe complètement la croissance dans des conditions d'incubation appropriées (Balouiri et al. 2016).

Les boîtes sont généralement incubées à 37 °C pendant 24 h pour les bactéries, et à température ambiante pendant 3 à 7 jours pour les moisissures. Les boîtes contenant les concentrations les plus faibles de l'extrait et ne présentant aucune croissance microbienne sont retenues et considérées comme présentant la CMI vis-à-vis des souches testées.

Des boîtes témoins ne contenant que la gélose Müller-Hinton (sans extrait) ensemencée par les souches à tester sont préparées pour chaque souche microbienne afin de servir de contrôle de croissance.

Résultats

Résultats

1- Observations macroscopique et microscopique des microorganismes isolés

Après inoculation des échantillons de laits ainsi que ceux provenant des trayons, différentes colonies sont apparues sur les milieux utilisés à savoir la gélose Chapman et MacConkey, cependant aucune croissance microbienne n'a été observée sur la gélose Cétrimide et Sabouraud ce qui exclut la présence de *Pseudomonas aeruginosa* et de champignons.

Sur le milieu MacConkey, une colonie a été observée sur la gélose pour le Lait 1, plusieurs colonies pour Lait 2, et une colonie pour le Trayon 2 alors que Lait 3, Trayon 1 et Trayon 3 n'ont présenté aucune croissance.

Sur le milieu Chapman quelques colonies se sont développées pour Lait 1 et les Trayons 1, 2 et 3. Tandis que les boîtes inoculées par le Lait 2 et 3 n'ont présenté aucun développement microbien.

Après repiquages successifs des colonies obtenues et purification des cultures, les observations macroscopique et microscopique après coloration de Gram ont permis de nous orienter vers l'identification partielles des microorganismes obtenus.

- Sur la gélose Chapman des colonies blanches et des colonies jaunes avec jaunissement du milieu autour, indiquant une acidification du milieu par fermentation du mannitol, ont été observées. L'observation microscopique a révélé des cocci à Gram positif groupés en amas sous formes de grappes de raisin pour certains. En effet, une colonie jaune avec halo jaune sur gélose Chapman est fortement évocatrice de la bactérie halotolérante *Staphylococcus aureus* ce qui a également été confirmé par l'observation microscopique des cellules (Fig. 6a). Cependant, d'autres souches de *Staphylococcus*, par exemple, *Staphylococcus epidermidis* pousse sur Chapman mais donne des colonies blanches ou grises, sans virage de couleur indiquant que le mannitol n'est pas fermenté.
- Sur la gélose MacConkey, des colonies rose ont été obtenues ce qui indique que celles-ci peuvent fermenter le lactose (Lactose+). L'observation microscopique a montré des petits bacilles isolés à Gram négatif (Fig. 6b). Ceci suggère très probablement des entérobactéries comme *Escherichia coli*, impliquées dans les mammites.

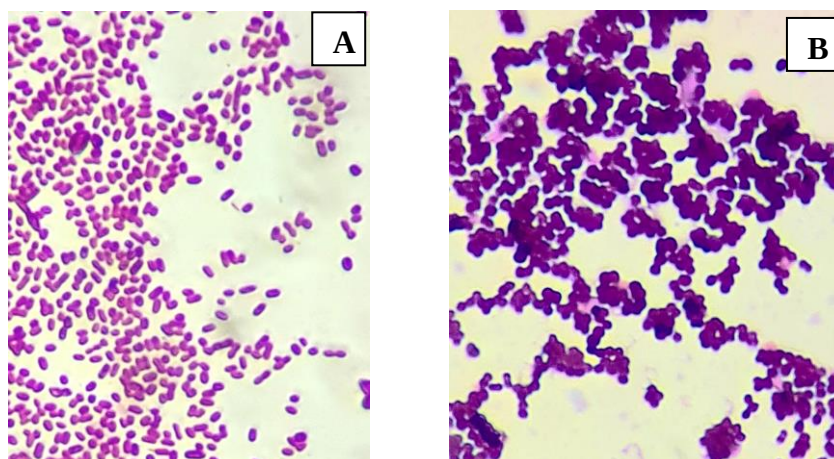


Figure 6. Observation microscopique après coloration de Gram. (a) *E. coli*, (b) *S. aureus*.

2- Evaluation de l'activité antibactérienne des extraits éthanolique et aqueux

2-1- Méthode de diffusion sur gélose à partir des puits

Les résultats obtenus concernant l'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques et aqueux ainsi que du miel sur les bactéries isolées à partir du lait mammitieux et des trayons sont représentés sur le tableau 1.

Tableau 1. Effet antibactérien du miel de jujubier et des extraits éthanoliques et aqueux des plantes testées sur les bactéries isolées.

	Extrait Ethanolique (50 mg/ml)				Extrait aqueux (50 mg/ml)				Miel (50 %)
	Thym	Ail	Jujubier	Cèdre	Thym	Ail	Jujubier	Cèdre	
<i>E. coli</i>	-	-	-	+	-	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	+	-	+	+	-	-	-	+	-

Aucune activité antibactérienne n'a été observée contre *E. coli*, sauf pour l'extrait aqueux de *Cedrus atlantica*, qui a montré une inhibition modérée. En revanche, *S. aureus* s'est révélée sensible aux extraits éthanoliques de *Thymus lanceolatus*, *Ziziphus lotus*, et *Cedrus atlantica*, ainsi qu'à l'extrait aqueux de ce dernier (Fig. 7).

* A la lumière des résultats obtenus les extraits aqueux de l'ail, thym et jujubier ainsi que le miel de jujubier ont été éliminés pour l'étape suivante de l'étude à savoir l'évaluation de l'activité antibactérienne par la méthode d'incorporation dans la gélose.

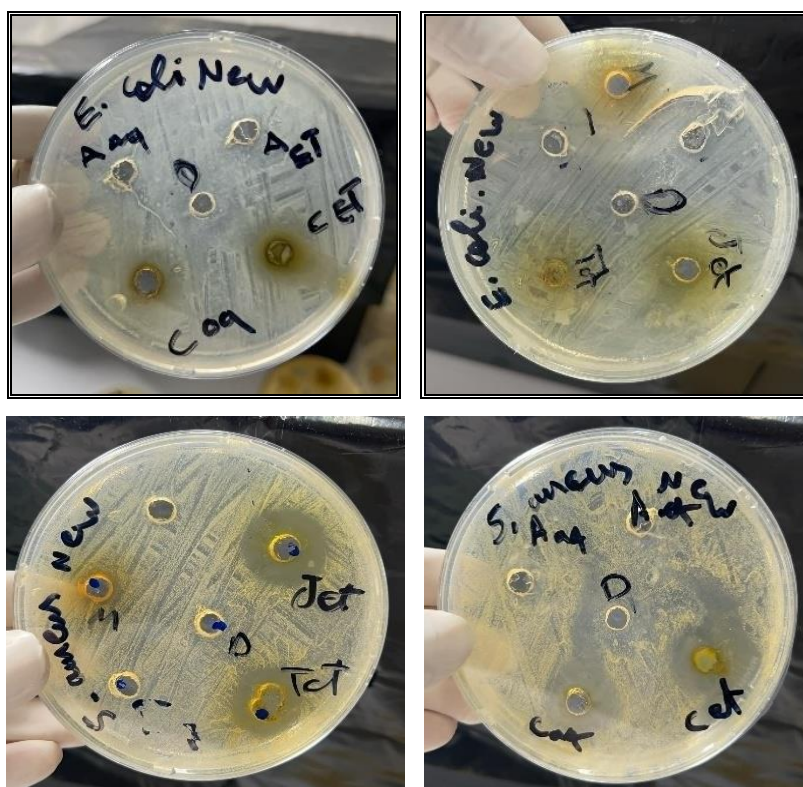


Figure 7. Effet antibactérien du miel et des extraits végétaux testés vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* par la méthode de diffusion à partir des puits.

2-2- Méthode d'incorporation dans la gélose

Les extraits éthanoliques de *Thymus lanceolatus* et de *Ziziphus lotus*, ainsi que les extraits aqueux et éthanolique de *Cedrus atlantica*, ont été retenus dans cette essai. Les résultats obtenus sont consignés dans le tableau 2.

Tableau 2. CMI des extraits éthanoliques et aqueux du thym, jujubier et cèdre sur les bactéries isolées.

	Extrait éthanolique (mg/ml)			Extrait aqueux (mg/ml)
	Thym	Jujubier	Cèdre	Cèdre
<i>E. coli</i>	/	40	50	50
<i>S. aureus</i>	40	40	40	40

On note que les extraits éthanoliques de *Z. lotus* et *C. atlantica* ainsi que l'extrait aqueux de *C. atlantica* ont montré une bonne activité inhibitrice sur les deux souches bactériennes. Alors que l'extrait éthanolique de *T. lanceolatus* n'a été efficace que contre *S. aureus* (Fig. 8). Ces résultats confirment l'efficacité des extraits comme agents antibactérien selon la souche et la concentration utilisée.

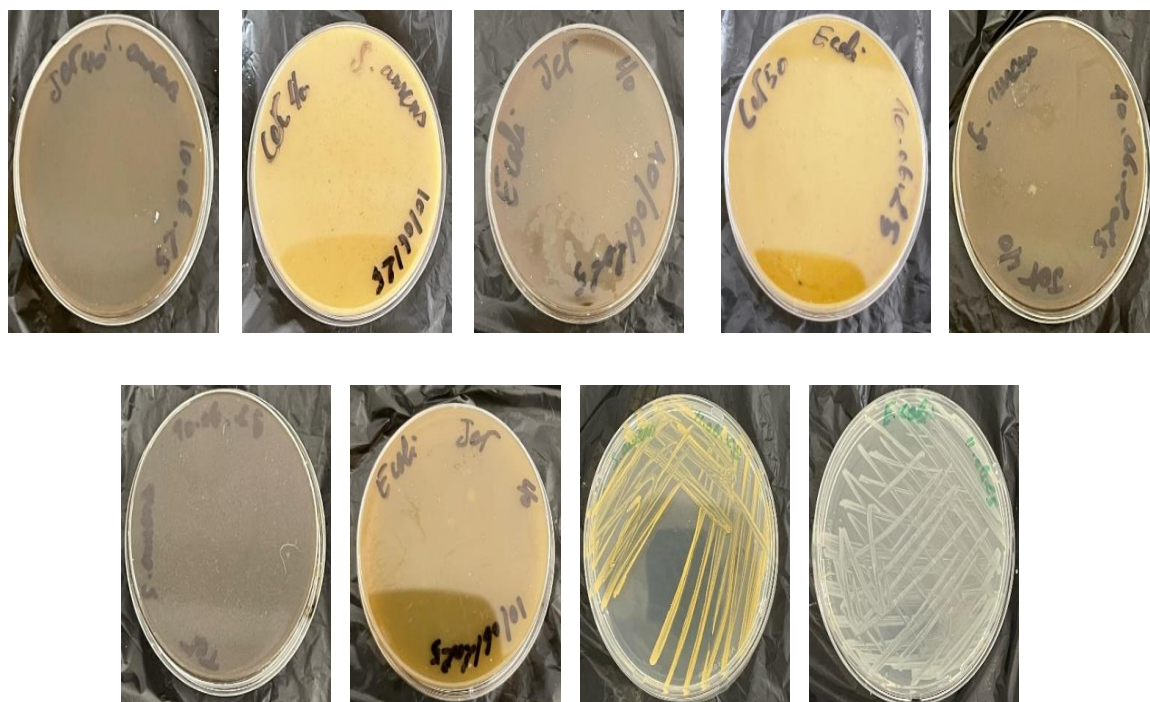


Figure 8. Effet antibactérien des extraits végétaux testés vis-à-vis d'*E. coli* et *S. aureus* par la méthode d'incorporation dans la gélose.

Discussion

Discussion

Cette étude a eu pour objectif d'isoler les principaux germes responsables de mammites subcliniques chez la vache. Par la suite, l'activité antibactérienne de certaines plantes médicinales, sélectionnées sur la base de données issues de la littérature scientifique et des études antérieures, est évaluée contre les bactéries isolées.

Plusieurs milieux de culture sélectifs ont été utilisés afin d'isoler les micro-organismes responsables des mammites bovines subcliniques. Des cultures bactériennes identifiées comme étant *S. aureus* et *E. coli* ont été obtenues sur le milieu Chapman et MacConkey respectivement alors qu'aucune culture n'a été observée sur la gélose au cétrimide et Sabouraud. Selon Williamson et Di Menna (2007), bien que la mammite d'origine fongique (levures et moisissures) soit relativement rare dans les troupeaux laitiers, elle reste possible. À l'inverse, Wieland (2024) rapporte l'existence de troupeaux présentant une mammite subclinique causée par des bacilles à Gram négatif, tels que *Klebsiella* spp., *Serratia marcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi que par des agents pathogènes atypiques comme *Candida* spp. et *Prototheca zopfii*. De manière similaire, Khasapane et al. (2023) ont montré que cette maladie peut être causée par une large diversité de micro-organismes, notamment *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus* et *Mycoplasma* spp.

Malgré cette diversité potentielle, seuls *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ont été isolés à partir des échantillons de lait et d'écouvillons mammaires dans notre étude. L'identification a été faite à la fois par observation macroscopique et microscopique. Sur le milieu sélectif de Chapman, *S. aureus* forme des colonies lisses, rondes, de couleur jaune doré, entourées d'une zone jaune. Au microscope, il apparaît sous forme de coques violets à Gram positif, disposées en amas évoquant une grappe de raisin, avec des cellules uniformes en taille, comme décrit par Koneman et al. (2006). En revanche, *E. coli* forme des colonies lisses, humides, rondes, de couleur rose à rouge vif sur gélose MacConkey, et se présente comme un bacille rose, à Gram négatif, généralement isolé ou disposé par paires ou en courtes chaînes, ce qui concorde avec les descriptions de Basavaraju et Gunashree (2022).

Ces résultats sont en accord avec ceux d'Abebe et al. (2023), qui ont rapporté que *S. aureus* était l'agent pathogène le plus fréquemment isolé (28,1 %) des échantillons positifs à la mammite, suivi de *E. coli* (21,1 %), soulignant leur rôle prépondérance dans la mammite bovine.

Concernant les tests antibactériens, l'extrait d'ail en poudre n'a montré aucune activité inhibitrice, ce qui est cohérent avec les travaux de Yin et Tsao (1999), qui ont démontré que l'extrait d'ail frais possède une activité antibactérienne significative, contrairement à l'ail en poudre dont l'effet est négligeable. Ross et al. (2001) sont arrivés à des conclusions similaires, montrant que les préparations déshydratées étaient nettement moins actives que les extraits frais ou éthanoliques. Cette perte d'activité s'explique par l'instabilité de l'allicine, composé organo-sulfuré majeur de l'ail, dans les extraits en poudre. La dégradation de l'alliinase, enzyme responsable de la conversion de l'alliine en allicine, contribue également à cette inefficacité. En l'absence d'allicine, l'ail devient un simple substrat nutritionnel pouvant favoriser la croissance microbienne, ce qui expliquerait les contaminations observées dans les boîtes de Petri.

Bien que l'allicine soit un des principaux agents antibactériens de l'ail, Bhatwalkar et al. (2011) soulignent la présence d'autres composés organo-sulfurés liposolubles comme les ajoènes et les sulfures d'allyle, qui exercent aussi des effets bactéricides, antibiofilm, antitoxine et anti-quorum sensing. Toutefois, ces composés sont également instables dans les préparations en poudre, ce qui confirme les observations de Yin et Tsao (1999).

En revanche, l'extrait éthanolique de *Ziziphus lotus* a démontré une activité antibactérienne significative. Ces résultats corroborent ceux d'Agrawal et al. (2023), qui ont identifié dans cette plante de nombreux composés bioactifs, notamment des flavonoïdes et des terpénoïdes. Dans notre étude, la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait éthanolique a été déterminée à 40 mg/ml, ce qui est conforme aux résultats de Daneshmand et al. (2013) et Rajaei et al. (2020), qui ont obtenu une CMI similaire pour les extraits de pulpe et de graines contre *S. aureus*. L'extrait aqueux a été exclu en raison de problèmes de solubilité.

Concernant *Thymus lonceolatus*, l'extrait a été conservé uniquement pour *S. aureus*, car *E. coli* s'est révélé résistant. La CMI contre *S. aureus* a été déterminée à 40 mg/ml, ce qui confirme les résultats d'Alkufeidy et al. (2021). Les extraits aqueux et éthanoliques se sont avérés inefficaces contre *E. coli*. Cette observation est soutenue par Mohsenipour et Hassanshahian (2015), qui ont rapporté que les extraits de *T. vulgaris* présentaient une forte capacité d'inhibition contre *P. aeruginosa* et *S. aureus*, mais une faible efficacité contre *E. coli* et d'autres bactéries pathogènes cliniques.

L'extrait de *Cedrus atlantica* a quant à lui montré une inhibition notable à la fois contre *S. aureus* et *E. coli*. Cela confirme les résultats de Al Hachlafi et al. (2023), qui décrivent *C. atlantica* comme une espèce endémique aux nombreuses propriétés pharmacologiques, notamment antibactériennes, antifongiques, antioxydantes, anti-

inflammatoires et dermatoprotectrices. Dans notre étude, la CMI de l'extrait de *C. atlantica* contre *S. aureus* était de 40 mg/ml, tandis qu'elle atteignait 50 mg/ml pour *E. coli*. Cette tendance est cohérente avec les observations d'Al Hachlafi et al. (2023), selon lesquelles les bactéries à Gram positif sont généralement plus sensibles à l'huile essentielle de *Cedrus atlantica*, avec des valeurs de CMI plus faibles que pour les bactéries à Gram négatif. Les essais par diffusion sur disque ont également montré des zones d'inhibition supérieures à 15 mm pour la majorité des souches testées, confirmant le fort potentiel antimicrobien de cette huile essentielle.

Par ailleurs, dans cette étude le miel de jujubier testé n'a montré aucune action antibactérienne contre les deux bactéries isolées des mammites subcliniques.

En effet, bien que le miel de jujubier soit traditionnellement utilisé pour ses vertus médicinales, plusieurs études ont rapporté une activité antibactérienne modérée ou absente contre certaines souches bactériennes, notamment les souches cliniques de *E. coli* et *S. aureus*. Dans le contexte des mammites subcliniques, ces bactéries peuvent développer une résistance accrue liée à leur environnement (sécrétion de biofilms, enzymes protectrices, etc.) et une virulence spécifique, rendant leur inhibition plus difficile. De plus, *E. coli*, en tant que bacille à Gram négatif, possède une membrane externe riche en lipopolysaccharides (LPS) qui limite la pénétration des composés antimicrobiens, contrairement à *S. aureus* (Gram positif), plus sensible en général. Cela rend les souches d'*E. coli* particulièrement résistantes aux composés hydrophiles comme ceux du miel (Bouacha et al., 2013).

D'autres facteurs expliquant l'inefficacité du miel de jujubier peuvent être sa teneur insuffisante en peroxyde d'hydrogène dans certains miels de jujubier, l'absence de composés bioactifs spécifiques et les conditions de stockage altérant les propriétés chimiques du miel.

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

La mammite subclinique est une infection fréquente et silencieuse touchant les bovins laitiers, pouvant entraîner des pertes économiques importantes et une altération de la qualité du lait. Dans un contexte où la résistance bactérienne aux antibiotiques devient un défi majeur, il est essentiel d'explorer des solutions alternatives plus durables, notamment celles issues des plantes médicinales.

L'objectif principal de ce travail était d'isoler les agents pathogènes responsables de la mammite bovine subclinique à partir d'échantillons de lait et de trayons, en vue d'évaluer l'efficacité de certains extraits végétaux comme alternatives thérapeutiques potentielles, afin de contribuer au développement de traitements naturels à base de plantes médicinales.

L'analyse microbiologique a conduit à l'isolement de deux espèces principales : *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Les tests d'évaluation de l'activité antibactérienne ont révélé que l'extrait éthanolique de *Ziziphus lotus* présentait une CMI de 40 mg/ml contre *S. aureus* et *E. coli*, tandis que celui de *Thymus lanceolatus* était efficace uniquement contre *S. aureus*, avec la même CMI (40 mg/ml). Quant à *Cedrus atlantica*, ses extraits aqueux et éthanolique ont montré une bonne efficacité sur les deux souches, avec une CMI de 40 mg/ml pour *S. aureus* et de 50 mg/ml pour *E. coli*. En revanche, l'extrait d'*Allium sativum* en poudre n'a présenté aucune activité inhibitrice.

Ces résultats confirment le potentiel de certains extraits végétaux comme alternatives naturelles aux antibiotiques conventionnels. L'utilisation de plantes médicinales pourrait permettre de limiter le recours aux antimicrobiens de synthèse, de réduire les risques de résistance bactérienne, et de promouvoir une approche plus respectueuse de la santé animale et de l'environnement.

Pour aller plus loin, il serait pertinent d'explorer les effets synergiques possibles entre les extraits actifs, afin d'élaborer des formulations combinées capables de cibler simultanément les deux bactéries isolées. Des études complémentaires portant sur la toxicité, la stabilité, et des essais in vivo seraient également nécessaires pour valider leur efficacité dans des conditions d'élevage réelles.

Enfin, l'investigation de nouvelles espèces végétales locales pourrait élargir le spectre des solutions phytothérapeutiques disponibles.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Abeer, A., et al. (2023). Extrait alcoolique de thym contre *Staphylococcus aureus*. Journal of Phytotherapy Research.
2. Aggarwal, B. B., et al. (2007). Curcumin and inflammation. Biochemical Pharmacology.
3. Aghamohammadi, M., et al. (2018). Impact of subclinical mastitis on milk quality and production. Veterinary Research Communications.
4. Agrawal et al. (2023) An updated review of *Ziziphus jujube*: Major focus on its phytochemicals and pharmacological properties
5. AHDB. (2023). Good milking hygiene practices to prevent mastitis. Agriculture and Horticulture Development Board.
6. Akinpelu, D. A., & Kolawole, D. O. (2004). Phytochemical and antimicrobial screening of leaf extracts of *Eucalyptus camaldulensis* against some pathogenic microorganisms. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 3(2), 103–108.
7. Alkufeidy, R. M., Al-Rajhi, A. M. H., & Alharbi, A. H. (2021). Antimicrobial activity of *Thymus vulgaris* extract against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. Saudi Journal of Biological Sciences
8. Alves, L., et al. (2019). Comparaison cloxacilline et céfquinome dans le traitement de la mammite. Veterinary Therapeutics.
9. Amin, H. A., et al. (2020). Traitement topique naturel contre la mammite bovine. Journal of Ethnoveterinary Medicine.
10. Antanaitis, R., et al. (2023). Allicine et modulation immunitaire chez les vaches. Animals, 13(2).
11. Auldist, M. J., Coats, S., & Mullins, C. R. (1995). Effects of subclinical mastitis on milk composition. Australian Journal of Dairy Technology.
12. Azdarjouh, M. (2023). Facteurs environnementaux et nutritionnels favorisant la mammite. Journal Algérien de Recherche Vétérinaire.
13. Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibensouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis, 6(2), 71–79.
14. Bardhan, D., et al. (2013). Multifactorial causes of bovine mastitis: a comprehensive review. Indian Journal of Animal Sciences.
15. Basavaraju M., Gunashree BS. (2022). *Escherichia coli*: An Overview of Main Characteristics

Références bibliographiques

16. Benbelaïd F., Khadir A., Abdoune MA, Bendahou M. (2013). Phytochemical screening and in vitro antimicrobial activity of *Thymus lanceolatus* Desf. from Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 3(6): 454-459 doi: 10.1016/S2222-1808(13)60100-0
17. Benhanifia, M., et al. (2020). Effet du miel de jujubier dans le traitement de la mammite chez les bovins en Algérie. *Revue de Médecine Vétérinaire*.
18. Bennet, G. (2023). Biosecurity measures during calving period to prevent mastitis. *Dairy Herd Management*.
19. Bentayeb, B., et al. (2023). Analyse biochimique du lait pour le diagnostic de la mammite. *Revue Maghrébine de Biotechnologie*.
20. Bhatwalka et al. (2011) Antibacterial properties of organosulfur compounds of garlic (*Allium sativum*).
21. Bhutto, A. L., et al. (2012). Milk loss in subclinical mastitis in cows. *Pakistan Veterinary Journal*.
22. Bogale, A., et al. (2009). Economic impact of subclinical mastitis in Ethiopian dairy farms. *Tropical Animal Health and Production*.
23. Bouacha M., Ayed H., Grara N. (2018). Honey bee as alternative medicine to treat eleven multidrug-resistant bacteria causing urinary tract infection during pregnancy. *Scientia Pharmaceutica*. 86(2):14. doi: 10.3390/scipharm86020014.
24. Bourne, N. (2013). Trace mineral injections for mastitis prevention. *Veterinary Medicine Today*.
25. Bradley, A. J., & Green, M. J. (2001). Penethamate hydriodide and SCC reduction. *Veterinary Record*.
26. Bradley, A. J., & Green, M. J. (2006). Protocols de traitement de la mammite. *Journal of Dairy Science*.
27. Bradley, A. J., & Green, M. J. (2015). Bacteriological diagnosis of intramammary infection. *Veterinary Record*.
28. Brevets B.R. (2022). Encapsulation pour stabiliser les extraits végétaux. *Bulletin Technique*.
29. Cappuccino, J. G., & Sherman, N. (2014). *Microbiology: A Laboratory Manual* (11^e éd.). Pearson Education.
30. Che, X., et al. (2023). Allicin inhibits mastitis via TLR4/NF-κB pathway. *Journal of Veterinary Medicine*.
31. Chen, X., et al. (2021). *Houttuynia cordata* essential oil and mastitis inflammation. *Frontiers in Immunology*.
32. Cheng, J., & Han, J. (2020). Clinical signs of mastitis in dairy cattle. *Veterinary Clinical Science Journal*.

Références bibliographiques

33. Cho, J., et al. (2015). Oregano oil and SCC in infected cows. *Journal of Applied Microbiology*.
34. CLSI. (2018). *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard—Twelfth Edition*. CLSI document M02-A12.
35. Covetrus. (2016). Visual indicators of milk alteration in mastitis. *Veterinary Supplies Manual*.
36. Dal Pozzo, M., et al. (2011). Effet du thym sur *Staphylococcus* spp. *Mycopathologia*.
37. Daneshmand, F., Zarei, M., & Nourmohammadi, S. (2013). Antibacterial activity of *Ziziphus jujuba* fruit extract against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Journal of Medicinal Plants Research*,
38. De Vlieghe, S., et al. (2011). Farmer behavior and mastitis incidence. *Preventive Veterinary Medicine*.
39. Debruyne et al (2022). Alternative approaches for bovine mastitis treatment: A critical review of emerging strategies, their effectiveness and limitations
40. Dupont, C. (2021). Contrôle des mouches vectrices de la mammite bovine. *Bulletin Zootechnique*.
41. El Hachlafi et al (2023) Antioxidant, Volatile Compounds; Antimicrobial, Anti-Inflammatory, and Dermatoprotective Properties of *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti Ex Carrière Essential Oil: In Vitro and In Silico Investigations
42. ElAshmawy, W., et al. (2022). Antibiotic + sealant reduces SCC postpartum. *Veterinary Research Communications*.
43. Engel, J. (2024). Déficits minéraux et altération du sphincter du trayon. *Journal de Nutrition Animale*.
44. FarmHealth Online. (2023). Mastitis control through proper milking management.
45. Fischer-Tenhagen, C., et al. (2010). Cloxacilline benzathine et concentrations dans la mamelle. *Veterinary Pharmacology*.
46. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. (2023). Efficacité clinique des extraits naturels.
47. Garcia, M. (2004). Inflammation mammaire chez les bovins. *Revue Internationale de Médecine Vétérinaire*.
48. Girard, V., & Termoz, C. (2022). Allicine vs antibiotiques dans la mammite. *Bulletin Vétérinaire Français*.
49. Halasa, T., et al. (2007). Economic losses due to mastitis in the EU *Preventive Medicine*.
50. Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis* (3rd ed.). Chapman & Hall.

Références bibliographiques

51. Harmon, R. J. (1994). Physiological changes in milk during mastitis. *Journal of Dairy Science*.
52. Hocine, M., et al. (2021a). Prévalence de la mammite subclinique dans la région d'El Tarf (Algérie). *Revue Africaine de Santé Animale*.
53. Hocine, M., et al. (2021b). Fréquence des mammites bovines dans le nord-ouest algérien. *Cahiers Vétérinaires Algériens*.
54. Hogan, J. (1993). Selenium and vitamin E in mastitis control. *Veterinary Immunology*.
55. Hogeveen, H., et al. (2011). Cost analysis of clinical mastitis. *Journal of Dairy Research*.
56. Kebbal S., Belala R., Mimoune N. (2024). Economic impact of mastitis in dairy cattle farms in Blida, Algeria. *African Journal of Biological Sciences*. 6(16). doi: 10.48047/AFJBS.6.16.2024.173-182.
57. Keefe, G. P., et al. (2015). Pénicilline et taux de guérison en 8 jours. *Canadian Vet Journal*.
58. Kehrli, M. E., & Shuster, D. E. (1994). Immune response in subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 77.
59. Khan, F. (2012). Cleaning udders to reduce mastitis risk. *Livestock Hygiene Reports*.
60. Khasapane et al (2023) Prevalence of subclinical mastitis, its associated bacterial isolates and risk factors among cattle in Africa: a systematic review and meta-analysis
61. Kitchen, B. J. (1981). Biochemical markers in milk from mastitic cows. *Journal of Dairy Research*.
62. Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., & Winn, W. C. (2006). *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology* (6th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
63. Leitner, G., et al. (2004). Changes in milk composition due to subclinical mastitis in cows. *Journal of Dairy Science*.
64. Ma, Y., et al. (2000). Effect of SCC on cheese yield and quality. *Journal of Dairy Science*.
65. MacFaddin, J. F. (2000). *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria* (3rd ed.). Williams & Wilkins.
66. Maksimović et al. (2023). Antimicrobial resistance of cattle mastitis-causing bacteria: How to Treat? In: Petrovski K. Recent developments on bovine mastitis - treatment and control. DOI: 10.5772/intechopen.112977.
67. Manninen, A. (1995). Hygiene failures and mastitis risk factors. *Nordic Veterinary Journal*.
68. MDPI. (2025). Subclinical Mastitis: Current Understanding and Diagnostic Challenges. *Veterinary Sciences Review*.
69. Mellado, M., et al. (2022). Effet des β -lactamines chez les brebis. *Small Ruminant Research*.

Références bibliographiques

70. Miller, R. (2020). Utilisation de zéolites pour réduire l'humidité de la litière. *Revue d'Hygiène Bovine*.
71. Mitchell, J. (2021). Traitement de l'eau potable en élevage laitier. *Journal of Veterinary Infrastructure*.
72. Mohsenipour, Z., & Hassanshahian, M. (2015). Antibacterial activity of *Thymus vulgaris* extracts on clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*
73. Mullen, K. A. E., et al. (2012). Phyto-Mast efficacy trial in dairy cows. *Journal of Dairy Research*.
74. Nabi, H., et al. (2025). Infrared thermography in mastitis detection. *Veterinary Imaging Science*.
75. Nekouei, O., et al. (2011). Fréquence des doses et guérison bactérienne. *Journal of Dairy Science*.
76. NMC (National Mastitis Council). (2023). California Mastitis Test Protocols. NMC Guidelines.
77. Oliveira, M. M., et al. (2023). Basilic, bergamote et *Staphylococcus aureus*. *Phytomedicine Journal*.
78. Owens, W. E., et al. (1997). Efficacité de la pénicilline et cloxacilline dans la mammite bovine. *Journal of Dairy Science*.
79. Parveen, R.; Azmi, MA.; Naqui, SNH.; Mahmood, SM. and Zaidi, IH. (2010). Effect of *C. deodara* (Pinaceae) root oil on the histopathology of rat liver and kidney. *Trop J Pharm Res.*, 9: 127-133.
80. Patterson, M. (2022). Normes de qualité microbiologique de l'eau de boisson pour les bovins. *Veterinary Water Safety Reports*.
81. Pinedo, P. J., et al. (2013). Lack of large-scale clinical trials on natural mastitis treatments. *Bovine Practitioner*.
82. PMC Review. (2024). Impact économique des retraits laitiers en traitement.
83. Polat, B., et al. (2010). Use of infrared thermography in early mastitis diagnosis. *Theriogenology Research*.
84. Priyanka, S., et al. (2017). Résistance antimicrobienne en élevage laitier. *Indian Veterinary Journal*.
85. Rajaei, A., Mohsenzadeh, S., & Taji, S. (2020). Antibacterial effects of *Ziziphus jujuba* seed and pulp extracts on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Iranian Journal of Microbiology*

Références bibliographiques

- 86.** Reneau, J. (1993). Résidus d'antibiotiques dans le lait après traitement. *Journal of Food Protection*.
- 87.** Reyaz, A. (2008). Extrait d'ail et guérison de la mammite à *E. coli*. *Indian Journal of Vet Research*.
- 88.** Rodriguez et al. (2024). Economic impact of subclinical mastitis treatment in early lactation using intramammary nisin. *Journal of Dairy Science*. 107(7):4634-4645. doi: 10.3168/jds.2023-24311.
- 89.** Romero, J., et al. (2018). Economic burden of mastitis in Colombia. *Colombian Journal of Dairy Economics*.
- 90.** Ross, Z.M. O'Gara, E.A. Hill, D.J. Sleightholme, H.V. & Maslin, D.J. (2001). Antimicrobial properties of garlic oil against human enteric bacteria: evaluation of methodologies and comparisons with garlic oil sulfides and garlic powder. *Applied and Environmental Microbiology*.
- 91.** Ruegg, P. (2009). Public health risk of milk from mastitic cows. *Journal of Dairy Quality*.
- 92.** Ruegg, P. L. (2022). Transmission bactérienne et prévention de la mammite. *Vet Clin Food Anim*.
- 93.** Saidi, A., et al. (2013). Prévalence de la mammite subclinique et identification bactérienne chez les vaches laitières au centre de l'Algérie. *Revue Vétérinaire Maghrébine*.
- 94.** Sasidharan, S., Chen, Y., Saravanan, D., Sundram, K. M., & Yoga Latha, L. (2011). Extraction, isolation and characterization of bioactive compounds from plants' extracts. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 8(1), 1–10.
- 95.** Schalm, O. W., & Noorlander, D. O. (1957) *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 130(5), 199–204.
- 96.** Schukken, Y. H., et al. (2003). Host immune response to mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science*.
- 97.** Sears, P. M., et al. (2020). Traitement et rentabilité économique en production laitière. *Journal of Dairy Economics*.
- 98.** Seegers, H., et al. (2003). Production losses from subclinical mastitis in dairy herds. *Journal of Dairy Research*.
- 99.** Smith, L. (2022). Utilisation d'un pré-trempage iodé pour prévenir les infections mammaires. *Veterinary Practice Updates*.
- 100.** Sol, J., et al. (1988). Synergie amoxicilline et pénicilline G dans le traitement de la mammite. *Veterinary Quarterly*.
- 101.** Sordillo, L. M., & Shafer-Weaver, K. (1997). Pathogen invasion and immune mechanisms in bovine mastitis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*.

Références bibliographiques

102. Sorrenti, M. (2024). Effets des bolus minéraux sur la prévention de la mammite. *Bovine Health Journal*.
103. Steele, N., & McDougall, S. (2014). Réduction du SCC après traitement antibiotique. *New Zealand Veterinary Journal*.
104. Stigter, J., et al. (2021). Cytokine release in early mammary inflammation. *Immunopathology of Dairy Infections*.
105. Tan, W. S., et al. (2009). Résidus de gentamicine dans le lait. *Journal of Food Safety*.
106. Tomanic, T., et al. (2022). Irritations locales par huiles essentielles chez les bovins. *Toxicology in Veterinary Medicine*.
107. Vaccum. (2017). Antimicrobial resistance in veterinary treatments. *Veterinary Microbiology*.
108. Valgas, C., de Souza, S. M., Smânia, E. F. A., & Smânia, A. (2007). Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(2), 369–380.
109. van den Bogaard, A. E., et al. (2001). Résistance bactérienne aux antibiotiques chez les animaux. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
110. Vangroenweghe, F., et al. (2005). Impact of mastitis on milk pH and conductivity. *Journal of Dairy Technology*.
111. WCDS (Western Canadian Dairy Seminar). (1996). Treatment failures due to uneven distribution of antibiotics.
112. White, P. (2025). Contrôle des mouches vectrices en élevage laitier. *Bulletin de Lutte Sanitaire Bovine.a*
113. Wicks, R. T., et al. (2010). Effet d'un scellant intramammaire avec cloxacilline. *Journal of Dairy Science*.
114. Wieland, (2024) Mastitis in Cattle. *Veterinary Manual*.
115. Williamson et Di Menna (2007) Fungi isolated from bovine udders , and their possible sources
116. Yin, M. & Tsao, S. (1999). Inhibitory effect of seven Allium plants upon three *Aspergillus* species. *International Journal of Food Microbiology*, 49(1-2), 49–56.
117. Zadoks, R. N., et al. (2001). Transmission de la mammite à l'échelle du troupeau. *Veterinary Epidemiology Journal* .
118. Zhang, L., et al. (2020). Sources infectieuses et immunité mammaire dans la mammite bovine. *Frontiers in Veterinary Science*.
119. Zhang, L., et al. (2022). Effet synergique carvacrol + acide octanoïque. *Food Microbiology Journal*.