



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

UNIVERSITE ABOUBAKR BELKAÏD – TLEMCEM
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la
Terre et de l'Univers



Département d'agronomie

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER en Sécurité Agro-
Alimentaire et Assurance Qualité

Le thème :

L'effet de *Cymbopogon winterianus* et *Artemisia herba-alba* sur les
Staphylococcus aureus résistants à la méthicilline

Présenté par :

Ghazal naima

Soutenu le : 17/06/2026, devant le jury composé de :

Grade

Présidente :	BOUMEDIENE KARIMA	MCB
Examinatrice :	BEY FAYZA	MAA
Encadrante :	DIDOUH NASSIMA	MCA

Année universitaire : 2025 – 2026

Remerciements

Nous remercions avant tout Dieu le tout-puissant qui nous a aidé à être ce qui nous sommes
aujourd'hui

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à mon encadreur **Mme Didouh Nassima**, pour son accompagnement précieux tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Je la remercie pour sa disponibilité, ses conseils avisés, ses orientations scientifiques pertinentes ainsi que pour sa patience et son soutien constant. Ses remarques constructives et son expertise ont grandement contribué à l'amélioration de ce travail et à l'enrichissement de mes connaissances.

Merci à laboratoire **LAMAABE** pour avoir mis à ma disposition les moyennes nécessaires à la réalisation de ce travail, ainsi qu'aux personnes que j'y ai rencontrées, pour leur accueil chaleureux et leur aide précieuse

Un grand merci pour les **membres de jury** pour avoir accepté de présider les jurys de ce mémoire

Je remercie également tous les **enseignants** et intervenants rencontrés durant mon cursus pour la richesse de leur enseignement et leur engagement. Grace à eux, j'ai pu élargir mes connaissances et forger un esprit critique

Enfin je remercie tous ceux qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce mémoire

Dédicaces

*Tout au début, nous tenons à remercier le bon **DIEU** de nous avoir donné du courage et de la patience afin de réaliser ce mémoire qui nous dédions*

*À mes deux piliers, **Maman et Papa**. Merci pour votre amour inconditionnel, vos conseils précieux et tous les sacrifices faits pour mon bonheur. Cette réussite est la vôtre autant que la mienne. Je vous aime infiniment.*

*À ma petite sœur **Israa** , qui a toujours cru en moi, même quand la route semblait longue et difficile. Merci pour ton amour, et tes encouragements et je souhaite pour toi la réussite dans la baccalauréat.*

*À mon cher **mari**,*

Je dédie ce mémoire à celui qui a toujours été à mes côtés avec amour, patience et soutien. Merci pour tes encouragements constants, ta compréhension dans les moments difficiles et la confiance que tu as toujours placée en moi.

A toutes nos familles paternelles et maternelles.

...Merci

Table des matières

TITRE	N°
Remerciement	I
Dédicaces	II
Sommaire	III
Liste des tableaux	V
Liste des figures	VI
Liste des Abréviation	VII
Résumé	IX
Abstract	X
ملخص	XI
Introduction générale	
I. Synthèse bibliographique	01
I.1 Introduction	04
I.2. Classification.	04
I.2.1. Habitat	04
I.2.2. Morphologie	04
I.2.3 Pathogénicité	04
I.3. Définition des biofilms	05
I.4. Processus de formation du biofilm	06
I.4.1. L'adhésion	06
I.4.2. L'agrégation	07
I.4.3. La maturation	07
I.4.4. La dispersion	07
I.5. Mécanisme de formation du biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i>	09
I.5.1. Mécanisme dépendant de l'adhésion intercellulaire	09
I.5.2. Mécanisme dépendant des protéines	10
I.5.3. Mécanismes dépendant de L'ADN extracellulaire (ADNe)	12
I.6. La résistance des biofilms aux antibiotiques	14
I.7. Les biofilms dans le secteur agroalimentaire	14

I.8. Généralité sur les huiles essentielles	15
I.8.1.L'huile essentielle <i>Cymbopogon wintrianus</i>	15
I.8.2.L'huile essentielle <i>Artemisia herba alba</i>	16
Matériel et méthodes	
II.1. L'origine des souches bactériennes	18
II.2. Revivification et vérification de la pureté des souches	18
II. 2.1. Revivification et enrichissement	18
II.2.2. Isolement sélectif	18
II. 2.3. Purification finale	19
II.3. L'activité antimicrobienne	19
II.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	10
II.4.1.Préparation de l'agent antimicrobienne	20
II.4.2.Procédure de micro dilution	20
II.4.3.Incubation et lecture des résultats	20
Résultats et discussion	
III.1 Revivification des souches	22
III.2 L'activité antimicrobienne	22
III.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice	25
Conclusion	29
References	31
Annexes	43

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification de <i>Staphylococcus aureus</i>	17
Tableau 2 : Résultat de l'activité antibactérienne par la technique des disques	40
Tableau 3 : Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	43

Liste des figures

Figure 1 : Processus de formation du biofilm de <i>S. aureus</i>	23
Figure 2 : Structure de l'adhésine intercellulaire polysaccharidique (PIA)	24
Figure 3 : Codage génétique et biosynthèse du PIA	25
Figure 4 : Les étapes de l'activité antibactérienne (méthode des disques)	34
Figure 5 : Résultat de la revivification des souches	37

Liste des abréviations

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADNe : Acide Désoxyribonucléique extracellulaire

AMP : peptides antimicrobiens

Bap: biofilm-associated protein

CAN : Collagen Adhesin

CFH: Complement Factor H

Clf : Clumping factor

CWP : protéine ancrée à la paroi cellulaire

DLL: dock, lock, and latch

DO : Densité Optique

ECM : matrice extracellulaire

EPS : Substances Polymériques Extracellulaires

FnbA: fibronectin-binding protein A

FnBPs : Protéines liant la fibronectine

Agr : Accessory gene regulator

SarA : Staphylococcal accessory regulator A

Embp: Extracellular matrix-binding protein

Bhp : Biofilm-associated homologue

EPS : Extracellular polymeric substances

ica-dependent :Intracellular adhesin-dependent

MEC : Matrice ExtraCellulaire

MRSA : Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*

MSCRAMM : composants de la surface microbienne reconnaissant les molécules de la matrice adhésive

PIA : adhésion intercellulaire aux polysaccharides

PNAG : poly-N-acétylglucosamine

PSM : modulins phénol solubles

QS : Quorum Sensing

RAM : Résistance aux Antimicrobiens

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

SARM : *S. aureus* résistant à la méthicilline Sdr : Serine-aspartate repeat

SpA : La protéine staphylococcique A

UDP : Uridine Diphosphate

PHBV : Poly (3-hydroxybutyrate-co-3 hydroxyvalérate)

μL : microlitre

HE: huile essentielle

Résumé

La propagation des bactéries multirésistantes, en particulier le *Staphylococcus aureus*, représente un défi majeur pour la santé publique. Ces micro-organismes sont capables de former des biofilms, qui sont des communautés bactériennes structurées dans lesquelles les cellules sont intégrées au sein d'une matrice extracellulaire leur assurant protection et stabilité. Dans notre étude, nous avons évalué l'activité antimicrobienne de deux huiles essentielles, *Cymbopogon winterianus* et *Artemisia herba-alba*, par l'utilisation des deux techniques la diffusion sur disque et la concentration minimale inhibitrice (CMI) contre quatre souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthycéline : M40, M33, M38 et N17. L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cymbopogon winterianus* a montré une inhibition complète contre toutes les souches testées. L'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* a présenté des zones d'inhibition allant de 28,33 à 35,66 mm pour les souches N17 et M33, ainsi qu'une inhibition complète contre les souches M38 et M40. La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle de *Cymbopogon winterianus* a été déterminée pour les différentes souches testées, avec des valeurs variant entre 0,0000093 à 0.000035 µl/ml et entre 0,0000076 à 0.01623333 µl/ml pour l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*. De plus, sa capacité à inhiber la formation de biofilms ouvre des perspectives intéressantes pour le développement de traitements alternatifs ou complémentaires contre les infections chroniques qui y sont associées.

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, *Cymbopogon winterianus*, *Artemisia herba-alba*, CMI.

Absract

The spread of multidrug-resistant bacteria, particularly *Staphylococcus aureus*, poses a major challenge to public health. These microorganisms are capable of forming biofilms, which are structured bacterial communities in which cells are embedded within an extracellular matrix that provides them with protection and stability. In our study, we evaluated the antimicrobial activity of two essential oils, *Cymbopogon winterianus* and *Artemisia herba-alba*, using two techniques: disc diffusion and minimum inhibitory concentration (MIC) against four methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains: M40, M33, M38 and N17. The antimicrobial activity of *Cymbopogon winterianus* essential oil showed complete inhibition against all the strains tested. The essential oil of *Artemisia herba-alba* exhibited inhibition zones ranging from 28.33 to 35.66 mm for strains N17 and M33, as well as complete inhibition against strains M38 and M40. The minimum inhibitory concentration (MIC) of *Cymbopogon winterianus* essential oil was determined for the various strains tested, with values ranging from 0.0000093 to 0.000035 µl/ml and from 0.0000076 to 0.01623333 µl/ml for *Artemisia herba-alba* essential oil. Furthermore, its ability to inhibit biofilm formation opens up interesting prospects for the development of alternative or complementary treatments against the chronic infections associated with them.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Cymbopogon winterianus* and *Artemisia herba alba*, MIC.

ملخص

يمثل انتشار البكتيريا متعددة المقاومة، ولا سيما المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين، تحديًا كبيرًا للصحة العامة. تتميز هذه البكتيريا بقدرتها على تكوين الأغشية الحيوية، وهي مجتمعات بكتيرية منظمة تتجمع فيها الخلايا داخل مصفوفة خارج خلوية توفر لها في هذه الدراسة، قمنا بتقييم النشاط المضاد للميكروبات لزيوتين. الحماية والاستقرار، مما يزيد من مقاومتها للعوامل المضادة للميكروبات (MIC)، عطرابين، هما زيت الشيح وزيت عشبة الليمون (السيترونيا)، باستخدام تقنيتي الانتشار بالأقراص وتحديد التركيز المثبط الأدنى أظهرت النتائج أن زيت N17 و M38 و M33 و M40، وذلك ضد أربع سلالات من المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين عشبة الليمون (السيترونيا) يتمتع بنشاط مضاد للبكتيريا، حيث حقق تثبيطًا كاملاً لجميع السلالات المختبرة. كما أظهر زيت الشيح فعالية ، مع تسجيل تثبيط كامل للسلالتين M33 و N17 ملحوظة، إذ تراوحت أقطار مناطق التثبيط بين 28,33 و 35,66 مم بالنسبة للسلالتين لزيت عشبة الليمون (السيترونيا)، حيث تراوحت بين 0,0000093 (MIC) كما تم تحديد قيم التركيز المثبط الأدنى M38 و M40. لزيت الشيح بين 0,0000076 و 0,01623333 ميكرو لتر/مل، مما يؤكد فعالية MIC و 0,000035 ميكرو لتر/مل، في حين تراوحت قيم علاوة على ذلك، فإن قدرة الزيوتين العطريين على تثبيط تكوين الأغشية الحيوية تفتح كلا الزيوتين ضد السلالات البكتيرية المدروسة آفاقًا واعدة لتطوير علاجات بديلة أو تكميلية لمكافحة الالتهابات المزمنة المرتبطة بهذه البنى البكتيرية المقاومة، والحد من انتشار السلالات متعددة المقاومة للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: المكورات العنقودية الذهبية، CMI، زيت الشيح وزيت عشبة الليمون (السيترونيا)

Introduction générale

La plupart des micro-organismes ne se trouvent pas sous forme planctonique dans l'environnement naturel. Ils sont le plus souvent entourés d'une matrice extracellulaire polymérique qu'ils sécrètent eux-mêmes ; cet état d'existence chez les micro-organismes est appelé biofilm (**Yao et al.,2022**).

Ces microorganismes ont une incidence considérable sur de nombreux aspects de notre vie quotidienne. Ils provoquent directement des infections suppuratives chez l'homme et adhèrent aux dispositifs médicaux. Elles sont donc étroitement associées aux infections nosocomiales, à la parodontite, aux lésions chroniques, aux infections musculo-squelettiques (ostéomyélite), à l'endocardite valvulaire native et même au dysfonctionnement des dispositifs médicaux (**Di Domenico et al.,2022**).De plus, les biofilms constituent le mode de croissance dominant des agents pathogènes d'origine alimentaire.

Staphylococcus aureus peut facilement former un biofilm qui renforce la résistance aux médicaments, ce qui entraîne des infections potentiellement mortelles touchant différents organes. La formation du biofilm est le résultat d'une série d'événements , notamment l'adhésion bactérienne, l'agrégation, la maturation du biofilm et la dispersion, qui sont contrôlés par de multiples systèmes de régulation. L'augmentation rapide des résultats de la recherche et du développement sur les produits naturels ciblant la formation et/ou la régulation du biofilm de *S. aureus* a conduit à une application émergente de produits phytochimiques actifs (**Xiying et al., 2024**). L'objectif de notre étude est l'évaluation de l'effet des deux huiles essentielles de *Cymbopogon winterianus* (Citronelle java) et *Artemisia herba-alba* (armoise blanche) sur les souches de *staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline isolées du milieu hospitalier.

A ce que l'utilisation des HE comme agent anti-bactérien est efficace contre les souches de *Staphylococcus aureus* ?

Le document est organisé en trois parties.Dans la première partie relative à la synthèse bibliographique sur le biofilm de *Staphylococcus aureus* et les huiles essentielles.La deuxième partie est consacrée à la description de la méthodologie et la dernière partie est consacrée aux résultats et discussions.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Biofilm de *Staphylococcus aureus*

I.1. Introduction :

Les études successives de Louis Pasteur, Alexander Ogston et Friedrich Rosenbach de 1878 à 1884 ont permis la description précise de l'un des responsables majeurs d'infections humaines et animales, *Staphylococcus aureus* (le staphylocoque).

Le staphylocoque a probablement été isolé et cultivé la première fois par Louis Pasteur en 1878 qui l'avait isolé de l'eau de la Seine mais également du pus de furoncle et d'ostéomyélite sous le nom de Vibrion pyogénique (196). En 1880, Louis Pasteur lors d'une communication devant l'Académie des sciences sur le thème « De l'extension de la théorie des germes à l'étiologie de quelques maladies communes », rapportait plusieurs expériences portant sur des pus de furoncles de plusieurs patients dans lesquels il retrouvait constamment « un organisme unique, formé de petits points sphériques réunis par couples de deux grains, rarement de quatre, mais fréquemment associés en amas » (166). De cette étude, il concluait « il paraît certain que tout furoncle renferme un parasite microscopique aérobie et que c'est à lui que sont dues l'inflammation locale et la formation du pus qui en est la conséquence ». Pasteur rapportait également que le 14 février 1880, il s'était rendu à l'hôpital Sainte-Eugénie à la demande du Dr Lannelongue qui opérait une petite fille d'une douzaine d'années atteinte d'ostéomyélite au niveau du genou. Dans le prélèvement de pus, Pasteur avait retrouvé la même bactérie que dans le cas des furoncles.

(Jean *et al.*, 2024).

Le *Staphylococcus aureus* est un cocci à Gram positif, une bactérie aérobie-anaérobie facultative qui est à la fois un organisme commensal et un agent pathogène opportuniste, capable de provoquer un large éventail de maladies chez l'homme (Getaneh *et al.*, 2021).

La pathogénicité de *S. aureus* est principalement attribuée à ses nombreux facteurs de virulence, qui lui permettent d'adhérer aux tissus de l'hôte, d'échapper aux réponses immunitaires et d'endommager les cellules de l'hôte (Cheung *et al.*, 2021).

I.2. Classification :

Selon le manuel de Bergey (2007), le genre est représenté par son espèce type, *Staphylococcus aureus*:

Tableau 1: Classification de *Staphylococcus aureus*

Domaine	Bactéria
Phylum	Fermicute
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Staphylococcaceae
Genre	Staphylococcus
Espèce	<i>aureus</i>

I.2.1. Habitat

Chez l'humain, on peut retrouver *Staphylococcus aureus* au niveau du nez, des aisselles ou en encore dans le système gastro-intestinal. Le nez est la principale région anatomique colonisée chez l'humain (**Wertheim et al, 2005**).

I.2.2. Morphologie

Staphylococcus aureus apparait sous forme de coques à Gram positif de 0.5 à 1.0 μm de diamètre, associés par paires, en chainettes de 3 à 5 coques, ou en amas irréguliers en grappes de raisins. Il est immobile et non sporulé (**Federighi et al, 2005**).

I.2.3. Pathogénicité

Le staphylocoque doré est une bactérie qui peut causer diverses maladies par des moyens suppuratifs ou non suppuratifs (à médiation toxique). *Staphylococcus aureus* est une cause fréquente d'infections de la peau et de la structure de la peau ainsi que des infections ostéo-articulaires dans la population pédiatrique. Il est également identifié dans les cas de septicémie, d'endocardite infectieuse, de pneumonie, d'infections oculaires et d'infections du système nerveux central (**Devlynne et al, 2018**).

La bactérie *S. aureus* peut survivre dans les aliments et même adhérer aux surfaces des équipements de transformation des aliments, comme l'acier inoxydable, le verre et le plastique, où elle forme des biofilms

(Sullivan *et al.*,2020). Les biofilms sont constitués d'une structure en réseau dense d'EPS autocrines autoproduites (Xu *et al.*,2019). Par rapport aux bactéries planctoniques, les cellules formant des biofilms sont plus résistantes à l'élimination. Le biofilm est devenu un problème dans diverses industries alimentaires, telles que la production de bière, la transformation du poisson et la production de porc (Wagner *et al.*,2020 ; Ghosh *et al.*,2021). Par conséquent, la réduction des risques posés par les biofilms est devenue un objectif important pour l'industrie alimentaire.

I.3. Définition des biofilms

Le biofilm est une communauté bactérienne organisée, caractérisée par une matrice extracellulaire (MEC) tridimensionnelle. Cette matrice est formée par l'adhérence des colonies bactériennes et la sécrétion de substances polymères extracellulaires (EPS) — telles que des polysaccharides, des acides nucléiques et des protéines — produites par les bactéries au cours de leur croissance (Karygianni *et al.*, 2020). Le SARM est l'un des principaux agents pathogènes à l'origine d'infections chroniques, principalement en raison de sa capacité à former des biofilms. Selon certaines études, les biofilms seraient responsables de près de 80 % de toutes les infections humaines ; l'une de leurs caractéristiques les plus importantes est leur forte résistance aux antibiotiques, aux défenses immunitaires de l'hôte, aux désinfectants et au stress environnemental. (Silva, V. *et al.*,2020). Ensuite, C'est pourquoi il a été suggéré que la prévention de la formation de biofilms est préférable à leur destruction et à leur élimination. D'autres auteurs ont également constaté l'incapacité des composés antimicrobiens à éliminer les dépôts de biofilms (Oliveira, *et al.*,2021).*Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) est un pathogène opportuniste particulièrement répandu dans le milieu hospitalier. Il possède la capacité de se fixer et de persister aussi bien sur les tissus de l'hôte que sur les dispositifs médicaux implantés. Cette colonisation peut entraîner un large spectre d'infections, allant des atteintes de la peau et des tissus mous aux pathologies plus sévères telles que les ostéomyélites, les endocardites, les pneumonies ou les bactériémies (Vestby *et al.*, 2020). Ces infections s'avèrent cliniquement difficiles à traiter en raison de la formation d'un biofilm, qui accroît considérablement la tolérance et la résistance de *S. aureus* aux agents antibactériens (Lee *et al.*, 2020). De plus, la structure particulière du biofilm et ses mécanismes d'adaptation lui confèrent une protection contre les agents antimicrobiens, ce qui en fait un facteur majeur de la résistance aux antimicrobiens. Des éléments essentiels tels que la densité cellulaire bactérienne, la communication par quorum sensing et les adaptations génétiques, comme l'activation des pompes d'efflux et les mutations, contribuent à sa résilience, rendant ainsi les efforts thérapeutiques plus difficiles

(Dantuluri *et al.*, 2022). Le biofilm agit comme une barrière pour créer un environnement interne stable propice à l'activité des cellules bactériennes et protège ces dernières contre des conditions défavorables, notamment les températures extrêmes, les restrictions nutritionnelles, la déshydratation et même les agents antibactériens (Guo *et al.*, 2022).

I.4. Processus de formation de biofilms

La formation d'un biofilm chez *S. aureus* est un processus par étapes, hautement coordonné, qui transforme des cellules planctoniques libres en une communauté multicellulaire structurée. Ce processus peut être divisé en plusieurs phases : fixation initiale, prolifération et accumulation, maturation et dispersion (Peng *et al.*, 2022, Bhattacharya M *et al.*, 2024).

I.4.1. L'adhérence :

Au cours de la phase d'adhésion, les cellules planctoniques de *S. aureus* ont recours à divers facteurs et mécanismes de régulation, tels que l'expression de protéines ancrées à la paroi cellulaire (CWP), d'adhésines et d'eDNA, pour favoriser la fixation à l'hôte (Schilcher *et al.*, 2020). Les MSCRAMM sont des adhésines spécialisées qui se lient à plusieurs composants de la matrice extracellulaire (MEC), notamment le fibrinogène, la fibronectine et le collagène, jouant ainsi un rôle central dans les premières phases de l'infection et la formation de biofilms (Bhattacharya *et al.*, 2014).

La structure et la fonction des MSCRAMM ont fait l'objet de nombreuses études, qui ont mis en évidence leur importance dans le cycle de vie bactérien et les interactions hôte-pathogène. Chaque MSCRAMM se caractérise par sa capacité à se lier à des composants spécifiques de la MEC, facilitant ainsi l'adhésion bactérienne et permettant à *S. aureus* d'échapper aux réponses immunitaires de l'hôte (González-García *et al.*, 2022).

Ces composants favorisent l'adhésion des bactéries aux tissus naturels et aux surfaces des biomatériaux. En outre, les appendices bactériens, tels que les flagelles, les cils et les pili, permettent une adhésion plus permanente des bactéries aux surfaces (Beaussart *et al.*, 2020).

I.4.2. L'agrégation

Après leur fixation, les cellules de *S. aureus* prolifèrent à la surface et passent à une phase d'agrégation caractérisée par une adhésion intercellulaire et la formation de microcolonies. Cette étape peut être régie par différentes stratégies matricielles. Dans de nombreuses souches, l'adhésine intercellulaire

polysaccharidique/poly-N-acétylglucosamine (PIA/PNAG), synthétisée par le locus de l'adhésine intracellulaire ADBC (icaADBC), joue un rôle central dans la promotion de la cohésion cellulaire, de l'accumulation et de la protection contre les défenses de l'hôte (**Guo et al., 2022**).

Tout aussi important, les biofilms staphylococciques modulent profondément les réponses immunitaires de l'hôte. Les communautés présentes dans les biofilms limitent l'exposition des bactéries aux phagocytes et aux anticorps et peuvent modifier l'expression des toxines et d'autres facteurs de virulence de manière à entraver leur élimination efficace (**Brandquist ND et al., 2022**).

I.4.3. Maturation

Un aspect crucial de la maturation du biofilm réside dans le développement de canaux aquatiques qui fonctionnent à la manière d'un système circulatoire. Ces canaux assurent un transport efficace des nutriments et l'élimination des déchets, garantissant ainsi la viabilité des cellules situées dans les zones internes. Ils contribuent également à la résilience du biofilm en maintenant un environnement harmonieux au sein de la structure (**Bottura et al., 2021 ; Azulay et al., 2022**). Tout au long du processus de maturation, un biofilm ne se contente pas de croître en taille, il forme une structure tridimensionnelle complexe et sophistiquée. La disposition de cette structure est méticuleusement organisée, maximisant l'efficacité du biofilm dans l'utilisation des ressources et sa protection contre les dangers extérieurs. L'organisation spatiale à l'intérieur du biofilm permet une allocation efficace des ressources et confère un avantage tactique dans la défense contre les substances chimiques antagonistes, telles que les antibiotiques ou les réactions immunologiques (**Wang et al., 2019**).

I.4.4. La dispersion

Une fois les microcolonies formées, le biofilm bactérien continue à s'épaissir et à se disperser sous l'influence de régulations génétiques spécifiques ou de facteurs externes. Le processus de dispersion peut comporter plusieurs étapes, notamment la production d'exoenzymes et de surfactants pour dégrader l'EPS (**Lister et al., 2014**) et des changements physiologiques qui préparent les cellules aux conditions extérieures au biofilm (**Boles et al., 2011**).

Un élément crucial de la dispersion réside dans la diminution de la production d'EPS. À mesure que la synthèse de ces substances chimiques structurales et protectrices diminue, la matrice du biofilm s'affaiblit et les bactéries produisent des enzymes spécialisées qui favorisent sa dégradation. Cela favorise la séparation des cellules du biofilm (**Rumbaugh et al., 2020**). Par exemple, il a été démontré que l'enzyme Dispersion B (DspB) facilite la dégradation de la poly-N-acétylglucosamine (PNAG), un polysaccharide important présent dans les biofilms produits par différentes bactéries formant des biofilms

(Breslawec *et al.*, 2022). Chez de nombreuses bactéries Gram-positives, telles que *S. aureus*, la dispersion du biofilm est régulée par le système Agr QS, qui surveille la densité cellulaire bactérienne. Lorsqu'un seuil spécifique de population bactérienne est atteint, le système Agr déclenche la synthèse de modulines solubles dans le phénol (PSM). Ces peptides amphipathiques de petite taille présentent des propriétés cytotoxiques et facilitent la désintégration de la matrice du biofilm, favorisant ainsi la libération des bactéries du biofilm dans le milieu environnant (Peng *et al.*, 2022).(Yamazaki *et al.*, 2022).

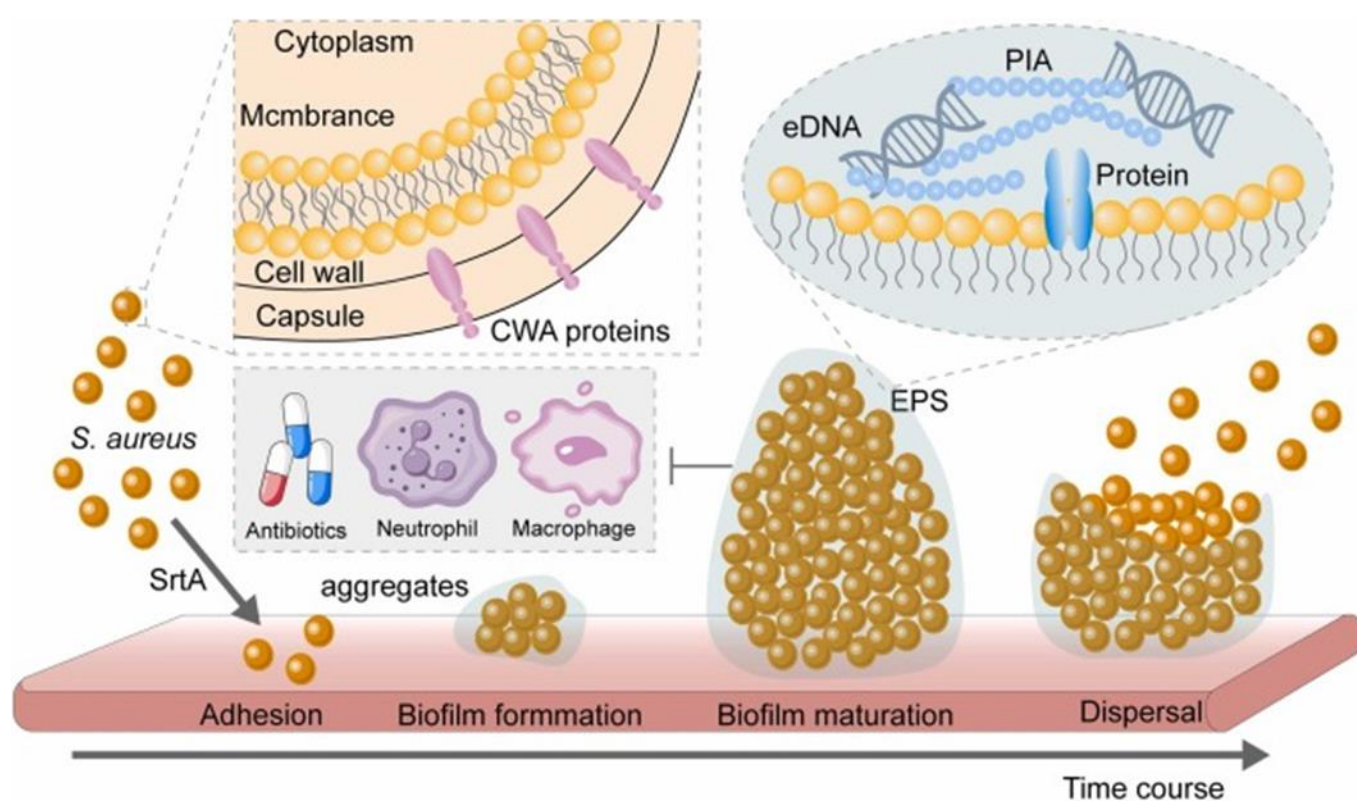


Figure. 1. Processus de formation du biofilm de *S. aureus*. Fixation et adhérence initiales, au cours desquelles des cellules isolées ou de petits agrégats adhèrent à des surfaces biotiques ou abiotiques ; agrégation, caractérisée par la division cellulaire, la prolifération et la production d'EPS ; structuration et maturation du biofilm, au cours desquelles les micro-organismes coexistent et entrent en interactions polymicrobiennes au sein d'une matrice complexe de biofilm ; et dispersion du biofilm, au cours de laquelle les cellules se détachent du biofilm mature et reviennent à un état planctonique. Abréviations : EPS, substances polymères extracellulaires ; eDNA, ADN extracellulaire ; PIA, adhésine intercellulaire polysaccharidique ; protéines CWA, protéines ancrées à la paroi cellulaire ; SrtA, sortase A (Dali Wang. 2025)

I. 5. Mécanisme de formation du biofilm

I.5.1. Mécanisme dépendant de l'adhésion intercellulaire par les polysaccharides (PIA).

Une fois que *S. aureus* a réussi à adhérer à une surface, les biofilms subissent une évolution structurelle et fonctionnelle importante par le biais de la division cellulaire, de la prolifération et de la production de

substances extracellulaires (EPS). Cette transition entre la fixation initiale et la maturation du biofilm est cruciale pour la stabilité et la résilience à long terme du biofilm, permettant à la communauté bactérienne de résister aux stress environnementaux, y compris les attaques du système immunitaire et les traitements antibiotiques (**Nguyen et al., 2020**). Un composant clé de la matrice des EPS est le PIA, également connu sous le nom de PNAG Le PIA (**Hao et al., 2021**) codé par l'opéron *icaADBC*, joue un rôle central dans le maintien de l'intégrité structurelle des biofilms en favorisant l'adhésion intercellulaire. À mesure que les cellules bactériennes prolifèrent, le PIA agit comme une « colle » moléculaire, liant les cellules entre elles et garantissant que le biofilm reste cohésif et stable au fil du temps (**Hernández et al., 2023 ; Azzam et al., 2024**)

La production de PIA est une caractéristique déterminante de la maturation du biofilm de *S. aureus*. (**Mirzaei et al., 2021**). En tant que polysaccharide, la PIA relie les cellules bactériennes individuelles au sein du biofilm, formant des agrégats denses résistants aux forces externes (**Peng et al., 2022**). Cette adhésion intercellulaire est essentielle à la création d'une structure tridimensionnelle stable du biofilm, caractéristique des biofilms matures. Le PIA renforce non seulement la cohésion physique entre les cellules bactériennes, mais améliore également la capacité des biofilms à résister aux défenses de l'hôte (**Nasser et al., 2022**). La matrice d'EPS, riche en PIA, agit comme une barrière protectrice qui limite la pénétration des cellules immunitaires et des agents antimicrobiens (**Piras et al., 2022**) rendant la communauté bactérienne au sein du biofilm moins accessible aux réponses immunitaires, telles que la phagocytose par les neutrophiles et les macrophages (**Qi et al., 2022**). De plus, le PIA réduit l'efficacité des antibiotiques en limitant leur pénétration dans les biofilms, ce qui permet aux cellules de *S. aureus* de survivre même en présence de traitements antimicrobiens (**Silva et al., 2021**).

Le rôle de la PIA va au-delà du simple soutien structurel. En intégrant les cellules bactériennes dans la matrice protectrice d'EPS, la PIA aide à protéger les biofilms de la détection par le système immunitaire. (**Lamret et al., 2021**). Les cellules immunitaires, telles que les neutrophiles, ont du mal à atteindre les cellules bactériennes enfouies profondément dans le biofilm en raison de la capacité de la PIA à bloquer ou à ralentir l'accès du système immunitaire (**Schwartbeck et al., 2024**). Cette évasion immunitaire permet à *S. aureus* de persister pendant de longues périodes, conduisant souvent à des infections chroniques difficiles à éradiquer (**Mu et al., 2020**). De plus, la PIA contribue à la résistance du biofilm face aux stress environnementaux, tels que les fluctuations des niveaux de nutriments et les forces mécaniques (**Spiegel et al., 2022**). Le biofilm peut continuer à se développer même dans des conditions de limitation des nutriments, car la matrice EPS, stabilisée par la PIA, favorise la rétention des nutriments essentiels tout en empêchant les substances nocives d'atteindre les cellules bactériennes.

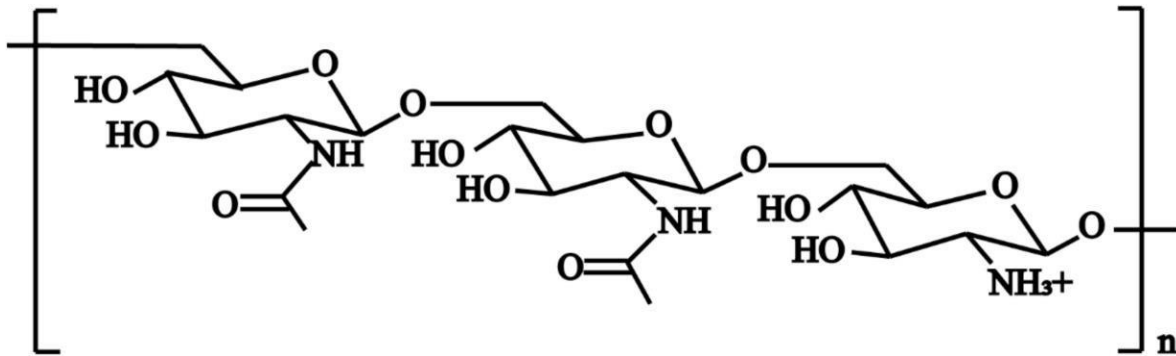


Figure.2. Structure de l'adhésine intercellulaire polysaccharidique (PIA). La PIA est un homoglycane bêta-linéaire composé de résidus N-acétylglucosamine liés à 1,6, dont 15 à 20 % sont désacétylés et donc chargés positivement (Nguyen *et al.*, 2020).

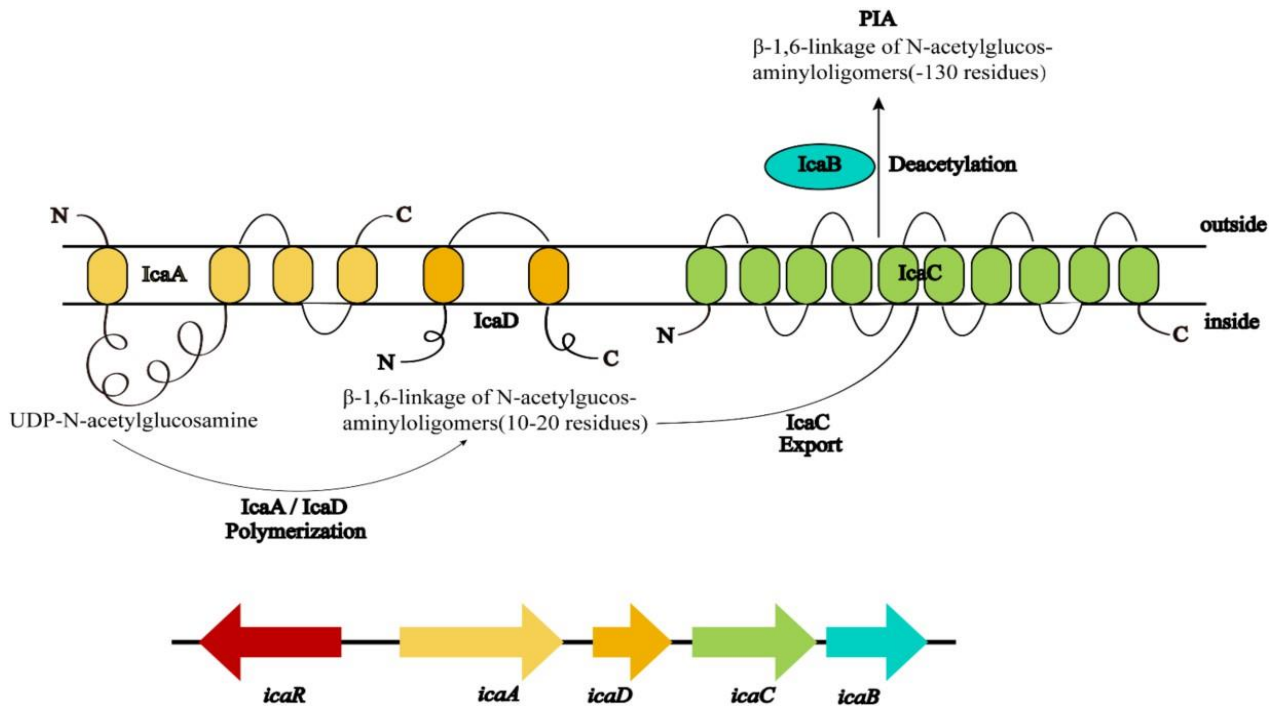


Figure.3. Codage génétique et biosynthèse du PIA. Le PIA est synthétisé à partir du produit de l'opéron *icaADBC*. IcaA et IcaD sont deux protéines membranaires qui polymérisent la N-acétylglucosamine à partir du précurseur activé UDP-N- acétylglucosamine monomères. Cette chaîne peut être exportée par la protéine membranaire IcaC. L'IcaB est une acétylase attachée à la surface externe des bactéries. En désacétylant des résidus, IcaB introduit une charge positive dans la molécule PIA initialement neutre (Nguyen *et al.*, 2020)

I.5.2. Mécanismes dépendants des protéines

La phase d'accumulation implique une adhésion intercellulaire et la formation de microcolonies par des voies à la fois dépendantes et indépendantes de l'*ica*. Dans la voie canonique, l'opéron *icaADBC* dirige la synthèse de PIA/PNAG, un polymère cationique qui relie les cellules voisines, forme des agrégats

tridimensionnels denses et confère une résistance à la phagocytose et aux antibiotiques. Parallèlement, de nombreux isolats cliniques s'appuient principalement sur des matrices protéiques et riches en ADN extracellulaire. La protéine Bap, une fois traitée par protéolyse, s'auto-associe via ses répétitions B pour favoriser une agrégation cellulaire étroite ; Embp et Bhp contribuent également à l'accumulation en formant des connexions fibrillaires étendues au sein de la communauté bactérienne (**Zeng et al., 2025**).

Toutes les souches de *S. aureus* porteuses du gène *bap* présentent une forte adhérence et une grande capacité de formation de biofilm, ce qui indique qu'il existe une forte corrélation entre la présence de cette protéine et la capacité de formation de biofilm sur une surface abiotique. La région N-terminale de la Bap est libérée dans la MEC et s'assemble en fibres amyloïdes pour faciliter la construction des biofilms de *S. aureus* (**Taglialegna et al., 2016**). Au cours de la phase d'adhésion, les cellules planctoniques rencontrent des surfaces biotiques ou abiotiques souvent pré-recouvertes de protéines de la matrice extracellulaire de l'hôte, telles que le fibrinogène, la fibronectine, le collagène et la laminine. Une combinaison d'adhésines ancrées à la paroi cellulaire, principalement des composants de surface microbiens reconnaissant les molécules de la matrice adhésive (MSCRAMM), assure ce contact initial stable. Les adhésines clés comprennent les protéines de liaison à la fibronectine (FnBPA et FnBPB), les protéines à répétitions sérine-aspartate (SdrC, SdrD, SdrE), les facteurs d'agrégation (ClfA et ClfB), la protéine de liaison au fibrinogène et les protéines de surface de *S. aureus* (Sas) telles que SasC et SasG, qui, ensemble, favorisent l'adhésion aux tissus de l'hôte et aux biomatériaux conditionnés (**Peng et al., 2022, Bhattacharya M et al., 2024**).

Les protéines liant la fibronectine sont des glycoprotéines à domaine multistucturel (440 KDa), Elles sont présentes dans presque tous les tissus, organes et fluides biologiques et jouent un rôle important dans l'adhésion et la migration cellulaires (**Pietrocola et al., 2022**).

I.5.3. Mécanisme dépendant de l'ADN extracellulaire (eDNA)

Les réponses immunitaires de l'hôte influencent également l'architecture et la persistance du biofilm. L'attaque des neutrophiles et le burst oxydatif peuvent déclencher l'autolyse bactérienne et la libération d'ADN exogène (eDNA), qui s'intègre alors à la matrice et renforce la stabilité structurelle (**Gou et al.,**

2022 ; Foster *et al.*, 2020 ;Bhattacharya *et al.*, 2020). En raison de la charge négative du polymère d'ADN, l'ADNe peut participer à la phase d'adhésion précoce et à la phase de maturation des biofilms en tant que polymère électrostatique et jouer une fonction structurelle de base dans l'intégrité structurelle des biofilms (Campoccia *et al.*, 2021). Son mécanisme consiste à relier le PIA et les protéines liées au biofilm ainsi que d'autres composants du biofilm afin de stabiliser la structure du biofilm (Payne *et al.*,2016 ; Blakeman *et al.*, 2019). L'accumulation d'ADNe dans le biofilm et le site d'infection peut acidifier l'environnement local et favoriser le phénotype de résistance aux antibiotiques (Wilton *et al.*, 2016).

Ce réseau complexe et souvent imbriqué permet à *S. aureus* de passer avec souplesse d'une matrice dominée par la PIA à une matrice dominée par les protéines/l'ADN exogène, de modifier la contribution relative des adhésines et des enzymes de dégradation, et d'adapter le phénotype de son biofilm à des niches d'hôtes distinctes. Il est important de noter que les programmes de régulation *in vivo* peuvent différer considérablement de ceux observés dans les milieux de laboratoire, et que les interactions entre les régulateurs globaux restent mal comprises, ce qui met en évidence d'importantes lacunes dans les connaissances actuelles (Peng Q *et al.*,2022).

À mesure que les biofilms mûrissent, *S. epidermidis* développe une architecture hétérogène et stratifiée, dotée de canaux d'eau qui permettent l'échange de nutriments et de déchets. La contribution relative de la PIA, des protéines et de l'ADN environnemental (eDNA) à la matrice varie considérablement selon les souches et les environnements. Dans les milieux de laboratoire riches en nutriments et dépourvus de facteurs de l'hôte, de nombreux isolats ont besoin de PIA pour former des biofilms compacts et solidement fixés. En revanche, dans des milieux « humanisés » contenant du plasma ou du sérum, *S. epidermidis* peut former des biofilms abondants et faiblement fixés ainsi que des agrégats en suspension, même en l'absence de PIA et d'Embp, ce qui indique que les protéines de l'hôte incorporées peuvent remplacer les polysaccharides et les adhésines autoproduits en tant que charpentes structurelles. Ces agrégats en suspension atteignent rapidement des tailles qui entravent la phagocytose et présentent une tolérance aux antibiotiques comparable à celle des biofilms

classiques fixés à la surface (Skovdal SM *et al.*,2021).

I.6. La résistance des biofilms aux antibiotiques :

Les bactéries présentes dans les biofilms survivent mieux dans des environnements défavorables et présentent une résistance innée aux antibiotiques, aux désinfectants et aux mécanismes de défense de l'hôte (**Melchior et al., 2006**). Cette résistance antimicrobienne élevée peut être attribuée à un microenvironnement chimique modifié, à la formation de spores, la réduction du taux de croissance, l'inactivation des antibiotiques par la matrice extracellulaire et l'apparition d'un transfert horizontal de gènes (**Flemming et al., 2023**). En outre, le biofilm joue un rôle important dans la cicatrisation inefficace des plaies et contribue à la persistance des plaies chroniques (**Goswami et al., 2023**). Ainsi, la production de biofilms peut avoir un impact significatif sur la maladie, la production de biofilm peut avoir un impact significatif sur la progression de la maladie et les résultats du traitement et peut contribuer à la prolifération de la résistance aux antimicrobiens (**Ou et al., 2020**). L'escalade de la résistance aux antimicrobiens (RAM) est marquée par l'émergence et la propagation mondiale de nouveaux mécanismes de résistance. Avec la diminution de l'efficacité des antibiotiques, les infections spécifiques deviennent de plus en plus difficiles, et dans certains cas, impossibles à traiter. Les préoccupations de santé publique augmentent donc avec le défi croissant de la RAM (**Naranjo- Lucena et al., 2023**)

I.7. Les biofilms dans le secteur agroalimentaire (IAA)

Les biofilms microbiens sont composés de diverses bactéries entourées de leurs exopolysaccharides et généralement attachées à des surfaces biotiques et abiotiques, ce qui entraîne des intoxications alimentaires accompagnées de diarrhées, de vomissements, d'entérites, de maux d'estomac et de maux de tête chez l'homme (**Galiè et al., 2018**) . (**Jung et al., 2020**). La présence de biofilms dans les environnements de transformation des aliments, les surfaces en contact avec les aliments, les équipements de transformation tels que l'acier inoxydable, le caoutchouc, le plastique et le téflon, ainsi que les produits finis, augmente le risque de détérioration, réduit la durée de conservation et accroît les risques d'épidémies de maladies infectieuses associées aux aliments (**Mose et al., 2021**). La recherche de moyens efficaces pour contrôler les microbes et leurs biofilms nécessite encore des efforts supplémentaires (**Srey et al., 2013**).

I.8. Généralité sur les huiles essentielles :

Les huiles essentielles (HE), composés volatils d'origine végétale riches en constituants bioactifs tels que les terpènes, les composés phénoliques et les aldéhydes, se sont révélées être des candidats prometteurs. Leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes sont bien documentées ; cependant, leur potentiel en tant qu'agents antigénotoxiques capables d'atténuer les dommages causés à l'ADN par les contaminants d'origine alimentaire reste peu exploré dans le contexte de la conservation des aliments (**Bibow et al., 2024**).

Habituellement, la cible des composés actifs présents dans l'extrait végétal est la membrane cellulaire des bactéries. Effectivement, des études ont démontré que les composants actifs avaient la capacité d'attaquer la paroi cellulaire et la membrane cellulaire, ce qui détruit leur barrière de perméabilité et provoquant la libération de constituants intracellulaires comme le ribose et le glutamate de sodium. Cela entraîne la libération de composants intracellulaires tels que le ribose et le glutamate monosodique. De plus, ils perturbent le déplacement des électrons, l'assimilation des nutriments, la production de protéines et d'acides nucléiques ainsi que l'activité enzymatique, ce qui entraîne une inhibition de la croissance bactérienne (**Alharbi et al., 2021**).

Les huiles essentielles (HE) semblent présenter une grande polyvalence et se composent d'une variété de substances biologiques actives volatiles et organiques qui sont également utilisées comme substituts de choix dans les secteurs bactériologique, fongologique et alimentaire. De nombreux chercheurs ont mené des études approfondies sur les propriétés antibactériennes des huiles essentielles et de leurs composants respectifs. Si plusieurs travaux pionniers ont par le passé expliqué le mode d'action de certains composés, une compréhension approfondie de la plupart des substances et de leurs mécanismes moléculaires fait encore défaut. En particulier, les caractéristiques de bioactivité des HE ont été évaluées en fonction de leurs principaux composants. Ces composants ont été couramment utilisés dans des applications bactéricides, fongicides, médicinales et antioxydantes (**Tianyu et al., 2022**).

I.8.1 L'huile essentielle *Cymbopogon winterianus* :

Cymbopogon winterianus, communément appelé « citronnelle », est une plante herbacée tropicale aromatique et médicinale importante. L'huile essentielle de *C. winterianus* (EOCw) est largement utilisée et joue un rôle important dans l'amélioration de la santé humaine en

raison de son potentiel en tant que composant bioactif. La présente étude visait à identifier les composants de l'huile essentielle de *C. winterianus*, ainsi que sa cytotoxicité sur les cellules mammifères, in vitro. L'EOC w contenait principalement du géraniol (42,13 %), du citronellal (17,31 %) et du citronellol (16,91 %). L'huile essentielle n'a présenté une cytotoxicité significative sur les fibroblastes de mammifères qu'à des concentrations supérieures à 250 µg /ml. De plus, d'après les résultats de *C. winterianus* s'est révélé efficace en présentant des valeurs cliniquement significatives et une faible toxicité, ce qui en fait un indicateur très apprécié (**Pedro et al., 2022**).

I.8.2 L'huile essentielle *Artemisia herba-alba* :

La famille des Astéracées compte parmi ses membres le petit arbuste vivace *Artemisia herba-alba*, plus communément appelé « armoise blanche ». Cette plante est largement répandue dans la région méditerranéenne, qui englobe certaines parties de l'Afrique du Nord, du Moyen-Orient et de l'Espagne. Elle prospère dans les climats chauds et secs et se distingue par ses racines robustes et son feuillage verdoyant aux reflets argentés. *A. herba-alba* est utilisée depuis longtemps en phytothérapie en raison de ses nombreuses propriétés bioactives, notamment sa capacité à réduire l'inflammation, à lutter contre le cancer et à faire baisser la glycémie. Les tisanes et les huiles essentielles issues de ses extraits sont utilisées depuis longtemps dans le traitement de diverses affections, notamment les infections, les troubles gastro-intestinaux et l'hypertension. D'après des analyses phytochimiques, les bienfaits thérapeutiques d'*A. herba-alba* seraient dus à sa forte concentration en composés polyphénoliques, notamment des flavonoïdes, des acides phénoliques et des huiles essentielles. Des études ont montré qu'elle permettait de réduire efficacement la glycémie et les réactions inflammatoires, et qu'elle possédait une forte activité antibactérienne contre de nombreuses infections, y compris celles causées par des bactéries résistantes (**Fares et al., 2025**).

Matériel et méthodes

I.1. L'origine des souches bactériennes :

L'étude a porté sur quatre isolats de *S. aureus* résistants à la méthicilline (MRSA). Tous les isolats proviennent d'une collection d'isolats de Staphylocoques (**Achek et al., 2020**).

Les isolats ont été prélevés sur différents échantillons (écouvillon nasal humain, échantillons à partir du matériel). Les souches d'origine nasal ont été isolées à partir d'écouvillons nasaux prélevés sur des personnes travaillant dans des fermes d'élevage ou en contact étroit avec des animaux, telles que des ouvriers et des vétérinaires. Tous les prélèvements ont été effectués dans la région de Médéa et d'Ain Defla .

Les souches bactériennes ont été identifiées à l'aide de la spectrométrie de masse par désorption/ionisation laser assistée par matrice (MALDI-TOF MS), selon la procédure décrite précédemment (**Bizzini et Greub, 2010**).

II.2. Revivification et vérification de la pureté des souches :

L'étude a porté sur quatre souches bactériennes lyophilisées destinées à un usage expérimental. Le protocole a été conduit selon les étapes suivantes :

II.2.1. Revivification et enrichissement

Une culture des souches lyophilisées dans un bouillon BHIB (Brain Heart Infusion Broth) a été réalisée. Les cultures ont été incubées à 37°C pendant 72 heures afin de permettre une récupération optimale des cellules bactériennes.

II.2. 3. Isolement sélectif

Les souches ont étéensemencées sur le milieu sélectif Chapman (Mannitol Salt Agar) et incubées de nouveau à 37°C pendant 72 heures. Ce milieu permet une première différenciation des *Staphylocoques*.

II.2.4. Purification finale

Afin de garantir l'obtention de cultures pures, des repiquages successifs ont été effectués sur gélose Chapman avec une incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures. Le processus de purification a été jugé complet lors de l'obtention de colonies isolées présentant une morphologie strictement identique (taille, forme et coloration).

II.3. L'activité antimicrobienne :

L'activité antimicrobienne de *Cymbopogon winterianus* et *Artemisia herba alba* a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque de papier filtre (**Valková et al., 2021**). Brièvement, quatre souches de *S. aureus* ont été cultivées dans le BHIB à 37°C pendant 24h et la gélose Mueller- Hinton (MHA) a été inoculée avec une suspension microbienne des souches testées à 0,5 McFarland (Fluka, Suisse).

Les disques de papier filtre (6 mm) ont ensuite été imprégnés de 10 µL de *Cymbopogon winterianus* et *Artemisia herba-alba*. Les bactéries ont été incubées en aérobiose pendant 24 h à 37°C. Les diamètres des zones d'inhibition en mm ; la distance du diamètre entier a été prise en compte) ont été mesurés immédiatement après l'incubation à l'aide d'un double décimètre et l'intensité de l'activité antimicrobienne a été exprimée comme suit : Activité antimicrobienne faible (5-10 mm) ; Activité antimicrobienne modérée (5-10 mm) ; Activité antimicrobienne très forte (zone > 15 mm) (**Valková et al., 2021**).

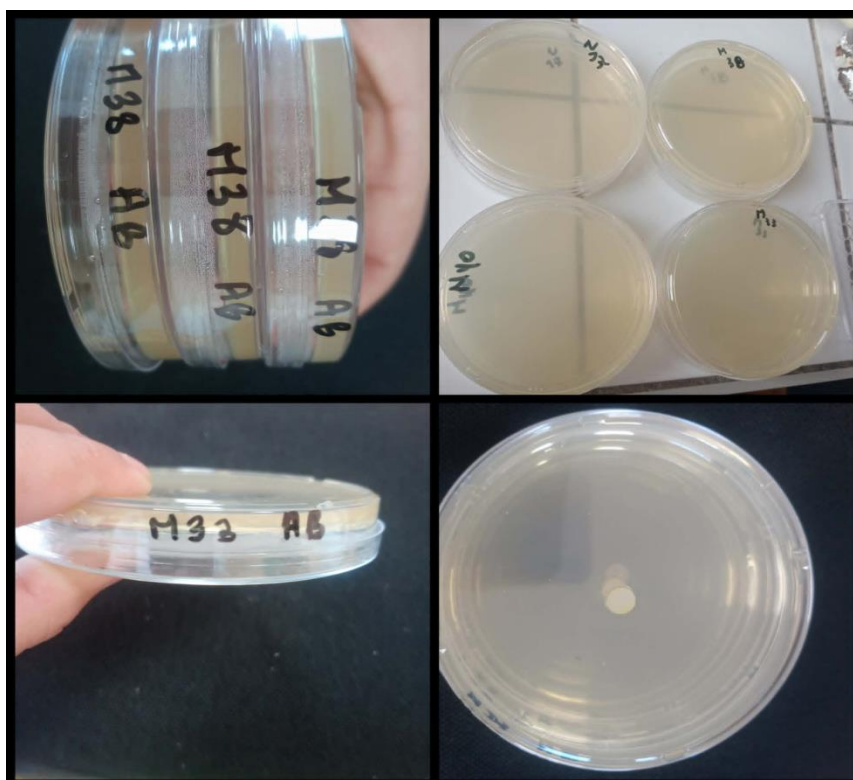


Figure 04 : Les étapes de l'activité antibactérienne méthode des disques

II.4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des huiles essentielles (OE) de *Cymbopogon winterianus* et *Artemisia herba-alba* a été déterminée par la méthode de microdilution en milieu liquide, conformément aux directives du *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2017)*. L'essai a été réalisé dans des plaques de microtitration à 96 puits.

II.4.1. Préparation de l'agent antimicrobien

La solution mère d'huile essentielle a été préparée dans du **bouillon BHIB** (Liofilchem, Italie) et solubilisée à l'aide de **diméthylsulfoxyde (DMSO) à 1 % (v/v)**.

Parallèlement, un inoculum bactérien a été calibré afin d'obtenir une concentration finale de **10⁶ UFC/mL** dans chaque puits, garantissant ainsi une densité cellulaire standardisée pour l'essai.

II.4.2. Procédure de micro dilution

Le protocole de dilution en cascade a été effectué comme suit : chaque puits de la plaque a préalablement reçu **100 µL de bouillon BHIB**. Dans le premier puits, **100 µL de l'huile essentielle** ont été ajoutés, réalisant ainsi une dilution initiale au 1/2. Des transferts successifs de **100 µL** ont ensuite été opérés de puits en puits pour obtenir une gamme de dilutions géométriques de raison 2 (1/4, 1/8, etc.). Enfin, **100 µL de l'inoculum bactérien** ont été ajoutés dans chaque puits, portant le volume final à **200 µL**.

II.4.3. Incubation et lecture des résultats

Les plaques ont été scellées hermétiquement pour éviter l'évaporation et incubées à **37 °C** pendant 24 heures en conditions aérobies.

- **Contrôles** : Un contrôle de croissance a été réalisé en utilisant du DMSO à 1 % sans huile essentielle pour vérifier l'absence de toxicité du solvant sur les souches testées.
- **Lecture** : La CMI a été définie par une **évaluation visuelle** comme la concentration la plus faible d'huile essentielle capable d'inhiber totalement toute croissance bactérienne visible (absence de turbidité) par rapport aux puits témoins.

Résultats et discussion

III.1. Revivification des souches :

L'identification du genre *Staphylococcus* s'appuie sur la diversité des caractères cultureux observés. Pour l'espèce *S. aureus*, on note après une incubation de 24h à 37°C des colonies de 1 à 2 mm, circulaires et à bords lisses. Elles se distinguent par leur pigmentation et la présence fréquente d'une auréole jaune périphérique.

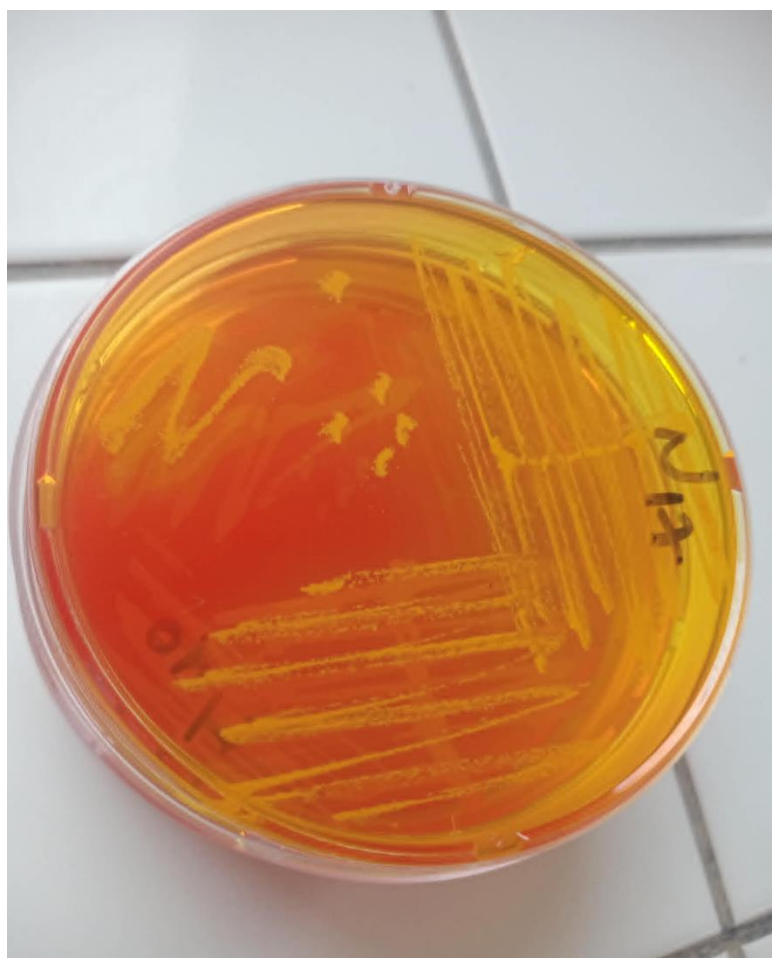


Figure 05 : Résultat de la revivification des souches

III.2 L'activité antimicrobienne :

L'évaluation de l'activité antibactérienne de *Cymbopogon winterianus* et *Artemisia herba-alba* contre *S. aureus* a été réalisée par la méthode des disques. L'efficacité a été déterminée par la mesure des zones d'inhibition obtenues *in vitro*.

Tableau 2 : Résultats de l'activité antibactérienne par la technique des disques

Souches	<i>Cymbopogon winterianus</i>	<i>Artemisia herba-alba</i>
<i>S. aureus</i> N17	Inibition totale	28.33 ±2.88
<i>S. aureus</i> M33	Inibition totale	35.66 ±4.04
<i>S. aureus</i> M38	Inibition totale	Inibition totale
<i>S. aureus</i> M40	Inibition totale	Inibition totale

L'activité antimicrobienne observée s'est révélée élevée vis-à-vis des deux souches **N17** et **M33**, qui a maintenu une croissance bactérienne avec l'huile essentielle *Artemisia herba-alba*. De plus, une inhibition totale a été observée pour les souches **M40** et **M38**. Pour l'huile essentielle *Cymbopogon winterianus* une inhibition totale de toutes les souches (M33, M38, N17, et M40)

L'étude de l'activité antimicrobienne par aromatogramme a montré que l'huile essentielle d'*Artemisia Herba alba* exerce une forte activité contre les trois souches étudiées : *S. aureus* ATCC 6538, *S. aureus* isolé d'une plaie cutanée et *S. aureus* isolé d'un prélèvement urinaire, avec des zones d'inhibition de 9 mm, 26 mm et 14 mm respectivement.

La méthode de diffusion sur disque a montré que *A,arba-alba* présente une activité antibactérienne hétérogène contre la bactérie testée *S. aureus* (17,2 ± 0,5 mm) (**Abdelaziz et al., 2021**) contrairement dans notre étude la zone d'inhibition est plus élevée qui varie entre 28.33 ±2.88 mm à 35.66 ±4.04 mm pour la souche N17 pour la souche M33 respectivement.

L'approche de diffusion sur milieu gélosé a permis d'établir les diamètres des zones d'inhibition. La technique de diffusion en milieu gélosé a révélé que l'association de divers extraits d'*Artemisia arba alba* (*Armoise blanche*) et de *Zingiber officinale* (*Gingembre*) présente une action antibactérienne notable contre le *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres d'inhibition comprises entre de 6 mm, 10 mm et 9 mm pour les trois concentrations testées(**Aoues et al., 2023**). Contrairement à notre étude sur l'huile essentielle d'*Artemisia*

herba alba a donné des diamètres (28 mm et 35 mm) supérieure, tandis que *Cymbopogon winterianus* a affiché une inhibition totale.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de deux extraits de *Rosmarinus officinalis* vers *Staphylococcus aureus* ont démontré une inhibition de la prolifération de *Staphylococcus aureus*, mesurée respectivement de 23,75 mm à 16,75 mm. *Staphylococcus aureus* a montré une sensibilité face aux extraits méthanoliques de *Rosmarinus officinalis* des deux écotypes, avec des zones d'inhibition respectives de 15,5 mm et 13,25 mm. Ils ont noté que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* présente une activité antimicrobienne supérieure à celle de l'extrait méthanolique (**Mouas et al., 2017**). D'après les analyses comparatives de notre recherche, on peut remarquer que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* possède une activité antibactérienne appréciable, cependant elle est moins performante que le *Cymbopogon* (inhibition totale) et moins efficace que *l'Artemisia* (28,33 mm–33,66 mm).

L'efficacité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* Asso contre les souches de *staphylococcus* a été examinée par diffusion des disques sur milieu gélosé. Les conclusions ont affiché des valeurs notables avec des zones d'inhibition variant de 15mm à 21mm (**Bedjadj et al., 2025**). Au contraire de nos résultats, qui sont nettement plus élevés que ceux mentionnés (28 mm-35 mm), cela suggère une activité antibactérienne plus importante de l'huile essentielle examinée.

L'étude de Meddar et ses collaborateurs (2024) sur trois huiles essentielles issues de la famille des Myrtacées et du genre *Eucalyptus* ont été étudiées pour leur potentiel antibactérien contre le *Staphylococcus aureus*, ainsi que leur propriété insecticide contre le nuisible des produits stockés, le *Tribolium castaneum*. Les essais antibactériens effectués via la technique de diffusion par disques sur boîte de Petri ont démontré que les huiles essentielles d'*Eucalyptus maidenii*, d'*Eucalyptus globulus* et d'*Eucalyptus polybractea* exercent une action contre *S. aureus*, avec des zones d'inhibition mesurant entre 18 mm à 26 mm (**Meddar et al., 2024**). Pour ce qui est de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba*, elle présente des zones d'inhibition plus importantes (28 mm à 35 mm), tandis que celle de *Cymbopogon* montre une inhibition complète.

L'étude l'activité antimicrobienne des films de PHBV intégrés avec l'huile essentielle de clou de girofle varie en fonction des souches testées. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 se distingue parmi ces souches par sa sensibilité supérieure, avec des zones d'inhibition pouvant

Résultats et discussion

aller jusqu'à 15mm(Belarbi *et al.*, 2022). Toutefois, par rapport à d'autres huiles essentielles, cette activité reste inférieure. Effectivement, l'huile essentielle d'*Artemisia* révèle des zones d'inhibition considérablement plus larges, variant de 28 à 35 mm, alors que l'huile essentielle de *Cymbopogon* provoque une élimination complète de la croissance microbienne. Les données indiquent que, même si l'huile essentielle de clou de girofle donne au PHBV une activité antimicrobienne contre la souche du *staphylococcus*, son efficacité est inférieure à celle des huiles essentielles d'*Artemisia* et de *Cymbopogon*, qui ont un potentiel antimicrobien plus fort.

III.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Le tableau ci-dessous présente les valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) obtenues pour quatres souches bactériennes testées contre *Cymbopogon winterianus* et *Artemisia herba-alba* .

Tableau 3 : Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Souches	<i>Cymbopogon winterianus</i> µl/mL	<i>Artemisia herba-alba</i> µl/mL
<i>S. aureus</i> N17	0,0000093 ±0,000002	0,0012533 ±0.00042
<i>S. aureus</i> M38	0,000035 ±0,0000020	0,0010633 ±0.00075
<i>S. aureus</i> M33	0,0000093 ±0,000000294	0,0000076 ±0.00000029
<i>S. aureus</i> M40	0,000011 ± 2,0748E-21	0,1623333 ±0.05

Cymbopogon winterianus (Citronnelle de Java) : Cette huile présente des valeurs de CMI extrêmement basses, allant de 0,0000093 à 0,000035µl/ml. Elle montre une efficacité sur toutes les souches testées par rapport au *Artemisia herba-alba* (Armoise blanche) qui présente

des valeurs de CMI sont généralement plus grandes que celles du *Cymbopogon* (allant de 0,0000076 à 0,162µl/ml)

Dans la majorité des souches, *Cymbopogon winterianus* est nettement plus efficace qu'*Artemisia herba-alba*. La souche M40 : C'est ici que la différence est la plus flagrante. Le *Cymbopogon* inhibe la souche à 0,000011µl/ml, tandis qu'il faut une concentration plus élevée (0,162µl/ml) pour l'*Artemisia*. La souche M38 : Pour cette souche, l'*Artemisia herba-alba* a une valeur de CMI qui égale 0,0000076µl/ml, par contre le *Cymbopogon* (0,0000093µl/ml).

Contrairement à nos résultats une étude sur la citronnelle a présenté des valeurs de CMI de l'ordre de 0,25 mg/ml . Dans le cas du citral, les concentrations minimales qui ont inhibé la croissance des staphylocoques et les ont tués étaient respectivement de 0,5 mg/mL et 1 mg/mL (**Bartłomiej Piasecki et al., 2021**).

Les huiles essentielles *Cymbopogon citratus*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Cymbopogon nardus* ont montré une activité supérieure à celle de la chlorhexidine, *C. nardus* supérieure à celle du *Listerine*, *C. citratus* supérieure à celle de la nystatine, et *Melaleuca alternifolia* supérieure à celle du *fluconazole* et de la nystatine. Cependant, la chlorhexidine s'est révélée plus efficace que *Lippia sidoides* et *Salvia officinalis*, l'hypochlorite de sodium plus efficace que *L. sidoides*, la nystatine plus efficace que *Zingiber officinale*, et l'*amphotéricine B* plus efficace qu' *Eucalyptus globulus* et *M. alternifolia* ces résultats sont en corcorcordance avec nos résultats qu'on a obtenu (**Joao et al., 2024**).

Pilar et ses collaborateurs (2026) ont étudié la composition chimique et le potentiel antimicrobien de l'huile essentielle de *Cymbopogon martini* et de l'un de ses principaux composants, le géraniol, à l'encontre de *Staphylococcus aureus* issu d'isolats cliniques et de sources commerciales. L'effet sur les bactéries en suspension a été évalué en déterminant les valeurs de CMI et de CMB. L'huile essentielle a présenté des valeurs de CMI et de CMB plus faibles (CMI : 300–350 µg/ml ; CMB : 400 µg/ml–450 µg/ml) que le géraniol pur (CMI : 500 µg/ml ; CMB : 550–600 µg/ml. Les résultats ont montré une inhibition de près de 100 % de la formation de biofilm pour toutes les concentrations testées (500 µg/ml à 1 000 µg/ml).

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*

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* (**Gafour et al., 2025**). Les huiles essentielles de *Cymbopogon winterianus* et *Artemisia herba-alba* démontrent une activité antibactérienne bien plus forte que les extraits de *Ziziphus lotus*, *Tetraclinis articulata* et *Cedrus atlantica*, comme l'indiquent leurs concentrations minimales inhibitrices inférieures .

L'analyse de la concentration minimale inhibitrice (CMI) révèle que dès que la concentration de 5% d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est atteinte, aucune croissance observable n'a été notée sur le milieu avec *S. aureus* (**Lattab et al, 2024**). Les souches de *Staphylococcus aureus* ont montré une sensibilité à l'huile de *Origanum sp* à des concentrations de 5 µl/ml puis que les souches de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* ont présenté le même degré de sensibilité vis-à-vis de l'huile de *Mentha spicata* avec des CMIs à des concentrations de 10 µl/ml(**Adda et al, 2024**).Par contre, notre recherche indique que les huiles essentielles *Cymbopogon* présente une concentration minimale inhibitrice allant de 0,0000093 à 0,000035 µl/ml ,tandis que l'*Artemisia* donné des concentration variant entre 0,0000076 à 0,162 µl/ml.

Dans le cas d'*Eucalyptus globulus*, les résultats ont montré que cette huile est efficace à des concentration de 5µl/ml (**Adda et al, 2024**).En comparons, le *Cymbopogon winterianus* est l'huile la plus efficace contre *Staphylococcus aureus*, suivie par *Artemisia herba-alba*. D'autre part, la menthe verte (*Mentha spicata*), l'origan (*Origanum sp.*) et *Eucalyptus globulus* ont une concentration minimale inhibitrice supérieure à celles obtenues dans notre étude.

Selon **Haddouch et al, (2020)**, *Mentha spicata* s'est montrée très efficace contre les bactéries gram positif comme *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* et *Listeria monocytogenes* ce qui est en corcordance avec les résultats de nos huiles utilisés.

Les résultats montrent que l'HE de *Thymus fontanesii* exerce une activité d'inhibition sur toutes les souches testées. Cette activité se caractérise par l'absence de croissance bactérienne aux dilutions variant de 1/100 à 1/400, avec une CMI de 1,25 µl/ml pour les deux souches d'*E.coli* (isolé et ATCC). Selon **Baitich et al. (2019)**, les Staphylocoques ont montré une plus grande sensibilité à l'HE de *T. fontanesii*, avec des valeurs de CMI plus basses (0,625 µl/ml pour la souche clinique et 0,312 µl/ml pour la souche de référence). Comparativement aux huiles essentielles de *Cymbopogon*, dont les concentrations minimales inhibitrices (CMI) oscillent entre 0,0000093 et 0,000035 µl/ml, et à celle d'*Artemisia herba-alba* (armoise blanche), qui affiche des valeurs variant de 0,0000076 à 0,162 µl/ml, l'huile essentielle de *T.*

fontanesii démontre une action antibactérienne inférieure par rapport à aux huiles utilisés dans notre étude. En effet, des CMI plus basses indiquent une plus grande efficacité inhibitrice.

Les résultats de Baitich et al. (2019) sont différents de ceux obtenus par **Abdellah et al, (2018)** qui ont étudié l'effet de l'HE de *T. fontanesii* par la méthode d'incorporation en milieu gélosé et ont rapporté des CMI de 3,44 et 5,26 µl/ ml sur trois souches de référence de *S.aureus* et une CMI de 5,26 µl/ ml sur la même souche d' *E.coli* ATCC 25922.

L'activité de l'HE du *Thymus fontanesii* testée par la méthode de dilution en milieu solide par **Haddouchi et al, (2009)** a démontré des valeurs de CMI de 368.76 µg/ml pour *E. coli* et de 460.95 µg/ml pour *S. aureus*. Ces valeurs sont supérieures à celles que nous avons obtenues.

Conclusion

Conclusion générale

Staphylococcus aureus est un pathogène redoutable qui a su développer des résistances à chaque nouvel antibiotique introduit depuis un demi-siècle. La plasticité de son génome lui confère la capacité de s'adapter à toutes les conditions environnementales, et notamment d'acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques et de développer des mécanismes de régulation pour s'adapter à des concentrations croissantes d'antibiotiques. Dans le cadre de notre recherche, nous avons recours à une alternative naturelle : les huiles essentielles .Afin de limiter les infections à staphylocoques et protéger la santé publique .

L'étude de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion sur disque montre que l'huile essentielle *Cymbopogon winterianus* présente une activité très élevée par rapport ,au l'autre huile *Artemisia herba-alba* .La détermination de la concentration minimale inhibitrice par la microtitration a démontré que l'huile essentielle *Cymbopogon winterianus* et globalement supérieure à celle de *Artemisia herba-alba* contre les souches de *Staphylococcus aureus* étudiée.

Pour conclure , Notre étude met en lumière le rôle potentiel de certaines plantes médicinales dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques. Elle ouvre la voie à des recherches plus approfondies, incluant l'extraction et l'analyse des principes actifs, l'exploration de leurs modes d'action. Dans le cadre de la crise des antibiotiques, ces solutions naturelles pourraient s'inscrire dans une stratégie pour contrôler les infections.

Les références

A

Abdelaziz Ed-Dra, Fouzia Rhazi Filali, Vittorio Lo Presti, Badre Zekkori, Luca Nalbone, Eman Ramdane Elsharkawy, Amar Bentayeb, Filippo Giarratana. Team of Microbiology and Health, Laboratory of Chemistry-Biology Applied to the Environment, Department of Biology, Faculty of Sciences, Moulay Ismail University. BP. 11201 Zitoune Meknes, Morocco

Abdellah, F., Boukraa, L., Hammoudi, S. M., Kolayli, S., Sahin, H., Can, Z., Benaraba, R. (2018). Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential oils of Some Algerian and Turkish Medicinal Plants. *Journal of Apitherapy and Nature/Apiterapi ve Doga Dergisi*, 1(2), 8-19

Adda Nadjat, Bouguessa Maroua, Chachoua Nesrine. (2022). Evaluation de l'Activité Antibactérienne de Quelques Huiles Essentielles vis-à-vis de Quelques Souches Pathogènes. Mémoire de Master, Université Ibn Khaldoun–Tiaret, Algérie.

Alharbi, S., Alrazgan, M., Alrashed, A., Alnomasi, T., Almojel, R., Alharbi, R., ... & Almojil, M. (2021). Automatic speech recognition: Systematic literature review. *Ieee Access*, 9, 131858-131876

Aoues Karima, Moussaoui youssra, Benabdi Soumeiya .(2023). Effet antibactérien et antifongique d'extraits d'*Artemisia* (*Artemisia herba alba*) et du Gingembre (*Zingiber officinale*) *Agropastoralis Scientia Journal* v.0:001-072

Azzam, A., R.M. Shawky, T.S. El-Mahdy. (2024). Sub-inhibitory concentrations of ceftriaxone induce morphological alterations and PIA-independent biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. 55(1): p. 297-308

Alves de Lima e Silva, A., Viana, A. S., Silva, P. M., de Matos Nogueira, E., Salgado, L. T., Tomazetto de Carvalho, R., & Geraldo da Silva Filho, R. (2021). Diclofenac May Induce PIA-Independent Biofilm Formation in *Staphylococcus aureus* Strains. *International Journal of Microbiology*, 8823775.

B

Baitich Ikram, Henni Fafa Amira, Rabehi Rania. (2019). Étude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de thym et de lavande. Mémoire de Master, Université Ibn Khaldoun–Tiaret,Algérie

Beaussart, A.; Feuillie, C.; El-Kirat-Chatel,S.(2020).The microbial adhesive arsenal deciphered by atomic force microscopy. *Nanoscale*.12, 23885–23896. [CrossRef] [PubMed]

Bedjadj Hamida, Faiza Bahoura.(2025). Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles des plantes utilisées en médecine traditionnelle .Mémoire de Master. Faculté de Science de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre-Université de Ghardaïa, Algérie.

Belarbi Hayat, Akkoussa Leila Nihad Fadhila BARKAT .(2022). Activité antimicrobienne du Poly (3-hydroxybutyrate-co-3 hydroxyvalérate)(PHBV) incorporé de l'huile essentielle de clou de girofle , Mémoire de Master, Université Ibn Khaldoun–Tiaret,Algérie.

Bergy's.M (2007), of systematic Bacteriology 2 nd Edition.

Bhattacharya, M., Scherr, T. D., Lister, J., Kielian, T.,&Horswill, A. R. (2025). Extracellular adherence proteins reduce matrix porosity and enhance *Staphylococcus aureus* biofilm survival during prosthetic joint infection. *Infection and Immunity*, 93(4), e00086-25.

Bhattacharya M, Horswill AR.(2024). The role of human extracellular matrix proteins in defining *Staphylococcus aureus* biofilm infections. *FEMS Microbiology Reviews*. .48(1):fuae002. DOI: 10.1093/femsre/fuae002

Blakeman, J. T., Morales-García, A. L., Mukherjee, J., Gori, K., Hayward, A. S., Lant, N. J., & Geoghegan, M. (2019). Extracellular DNA provides structural integrity to a *Micrococcus luteus* biofilm. *Langmuir*, 35(19), 6468-6475.

Boles, BR, et Horswill, AR (2011). Désassemblage du biofilm staphylococcique. *Tendances en microbiologie* , 19 (9), 449-455

Brandquist ND, Kielian T.(2025).Immune dysfunction during *S. aureus* biofilm-associated implant infections: Opportunities for novel therapeutic strategies. *Npj Biofilms and Microbiomes*.11(1):144. DOI: 10.1038/s41522-025-00782-y

Breslawec Alexandra P, Shaochi Wang, Kathleen N Monahan, Lucas L Barry, Myles B Poulin.(2022) .The endoglycosidase activity of Dispersin B is mediated through electrostatic interactions with cationic poly- β -(1 $\rightarrow$ 6)-N-acetylglucosamine. FEBS Journal.

C

Campoccia, D., Montanaro, L., & Arciola, C. R. (2021). Extracellular DNA (eDNA). A major ubiquitous element of the bacterial biofilm architecture. International journal of molecular sciences, 22(16), 9100

Cheung , G.Y.C.; Bae, J.S., Otto, M. (2021). Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. Virulence, 12, 547-569.

D

Dali Wang , Li Wang , Quan Liu a b , Yicheng Zhao . Virulence factors in biofilm formation and therapeutic strategies for *Staphylococcus aureus*: A review Author links open overlay panel. June 2025, Pages 188-202. <https://doi.org/10.1016/j.azn.2024.11.003>

Dantuluri Veerabhadra Raju, Aberam Nagarajan, Soumya Pandit, Moupriya Nag, Dibyajit Lahiri, Vijay Upadhye.(2022).Effect of bacterial quorum sensing and mechanism of antimicrobial resistance. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology 43, 102409.

Devlynne S.O (2018), *Staphylococcus aureus* pediatrics in Review vol 39 No.6.

Di Domenico EG, Oliva A, Guembe M. (2022).The current knowledge on the pathogenesis of tissue and medical device-related biofilm infections. Microorganisms.

F

Federighi.M (2005), Bactériologie alimentaire 2ème édition. Page 28.

Flemming, H. C., van Hullebusch, E. D., Neu, T. R., Nielsen, P. H., Seviour, T., Stoodley, P., ...&Wuertz, S. (2023). The biofilm matrix: multitasking in a shared space. *Nature Reviews Microbiology*, 21(2), 70-86

Foster TJ. Surface proteins of *Staphylococcus epidermidis*. *Frontiers in Microbiology*. 2020;11:1829. DOI:10.3389/fmicb.2020.01829

G

Gafour Rihab, Hizoum Aya.(2025). Recherche de remedes a base de prouduit naturelle pour le traitement des mammites subcliniques bovines. Mémoire de Master, Université Ibn Khaldoun–Tiaret,Algérie.

Galiè S, García-Gutiérrez C, Miguélez EM, Villar CJ, Lombó F. (2018).Biofilms in the food industry: Health aspects and control methods. *Front Microbiol* 9: 1-18. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00898>

Getaneh, A. L. E. M. Tigabu, A. ,(2021). *Staphylococcus aureus*, ESKAPE Bacteria Challenging Current Health Care and Community Settings: a Literature Review. *Clinical Laboratory*, 67(7).

Ghosh, S.; Sarkar, T.; Chakraborty, R. Formation and development of biofilm an alarming concern in food safety perspectives. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 2021, 38, 102210. [CrossRef] Giedraitienė, A., Vitkauskienė, A., Naginienė, R.,&Pavilonis, A. (2011). Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina*, 47(3), 19.

González-García, S.; Hamdan-Partida, A.; Valdez-Alarcón, J.J.; Bustos-Hamdan, A.; Bustos-Martínez, J.; González-García, S.; Hamdan-Partida, A.; Valdez-Alarcón, J.J.; Bustos-Hamdan, A.; Bustos-Martínez, J.(2022).Main Factors of *Staphylococcus aureus* Associated with the Interaction to the Cells for Their Colonization and Persistence. In *Staphylococcal Infections—Recent Advances and Perspectives*; IntechOpen: London, UK.

Goswami, A. G., Basu, S., Banerjee, T., & Shukla, V. K. (2023). Biofilm and wound healing: From bench to bedside. *European journal of medical research*, 28(1), 157.

Guo, H., Tong, Y., Cheng, J., Abbas, Z., Li, Z., Wang, J., ... & Zhang, R. (2022). Bio film and small colony variants—an update on *Staphylococcus aureus* strategies toward drug resistance. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1241.

H

Haddouchi, F., Lazouni, H. A., Meziane, A., Benmansour, A. (2009). Etude physicochimique et microbiologique de l'huile essentielle de *Thymus Fontanessi* Boiss&Reut. *Afrique science : Revue internationale des sciences et technologie*. 5 (2), 246-259

Hadouch.D et Nourine.N et Begacem.Ch .(2020), Etude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Mentha spicata* de la région d'Ain Defla, mémoire de fin d'étude université Djilali Bounaama Khemis Miliana.

Hao, Z., et al., Deletion of SarX decreases biofilm formation of *Staphylococcus aureus* in a polysaccharide intercellular adhesin (PIA)-dependent manner by downregulating spa. 2021

Hernández-Cuellar, E., et al., (2023) Differences in biofilm formation by methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains. 11(4): p. 160
<https://doi.10.1016/j.foodcont.2020.107229>

J

Jean Freney , Frédéric Laurent : La découverte des staphylocoques Une brève histoire de la Microbiologie 2024 Chapitre VI. 1880

Jung T, Jung Y, Ahn J.(2020).Continuous, rapid concentration of foodborne bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes*) using magnetophoresis-based microfluidic device.*Food Control*.114: 107229.

K

Karygianni, L., Ren, Z., Koo, H., & Thurnheer, T. (2020). Biofilm matrixome: extracellular components in structured microbial communities. *Trends in microbiology*, 28(8), 668-681

L

Lamret, F., Varin-Simon, J., Velard, F., Terryn, C., Mongaret, C., Colin, M., ...&Reffuveille, F. (2021). *Staphylococcus aureus* strain-dependent biofilm formation in bone-like environment. *Frontiers in Microbiology*, 12, 714994.

Lattab Aicha, Khouatemiani Adnane Adel, Tounsi Imen, Boudiaf Aouda, Harizi Nada, Djida Mouna.(2024). Évaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* .Mémoire de Master. Université de Abdelhamid ibn Badis Mostaganem, Algérie.

Lee, J., Zilm, PS, & Kidd, SP (2020). Nouveaux modèles de recherche pour le développement de variants de petites colonies (VPC) de *Staphylococcus aureus* : copathogénèse et taux de croissance. *Frontiers in Microbiology* , 11 , 321

Lister, J.L.; Horswill, A.R.(2014).*Staphylococcus aureus* biofilms: Recent developments in biofilm dispersal. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*

M

Melchior MB, H Vaarkamp, J Fink-Gremmels.(2006).*The Veterinary Journal* 171 (3), 398-407.

Meddar Rayane, Faouzi Nougat .(2024). Extraction de trois huiles essentielles du genre *Eucalyptus* : estimation de leur effet sur deux pathogènes de l'homme et sur un ravageur des denrées stockées (*Tribolium castaneum*). Mémoire de Master, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou, Algérie.

Mirzaei, B., Babaei, R., & Valinejad, S. (2021). *Staphylococcal vaccine antigens related to biofilm formation. Human Vaccines&Immunotherapeutics*, 17(1), 293-303.

Moser C, Jensen PS, Thomsen K. (2021). Immune responses to *Pseudomonas aeruginosa* biofilm infection, *Front. Immunol.* 12: 625579. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00898>

Mouas (2017), Evaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis*, *Revue agrobiologia* 7(1) :363-370.

Mu, Y. Q., Xie, T. T., Zeng, H., Chen, W., Wan, C. X., & Zhang, L. L. (2020). Streptomyces-derived actinomycin D inhibits biofilm formation via downregulating *ica* locus and decreasing production of PIA in *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of applied microbiology*, 128(4), 1201-1207.

N

Naranjo-Lucena, A., et Slowey, R. (2023). Revue invitée : Résistance aux antimicrobiens chez les agents pathogènes de la mammite bovine : analyse des déterminants génétiques et de la prévalence de la résistance dans les pays européens. *Journal of Dairy Science* , 106 (1), 123

Nasser, A., Dallal, M. M., Jahanbakhshi, S., Azimi, T., & Nikouei, L. (2022). *Staphylococcus aureus*: biofilm formation and strategies against it. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 23(5), 664-678.

Nguyen, H. T., Nguyen, T. H., & Otto, M. (2020). The staphylococcal exopolysaccharide PIA– Biosynthesis and role in biofilm formation, colonization, and infection. *Computational and structural biotechnology journal*, 18, 3324-3334

O

Oliveira, D.; Borges, A.; Ruiz, R.M.; Negrín, Z.R.; Distinto, S.; Borges, F.; Simões, M. 2-(2-Methyl-2-nitrovinyl)furan but Not Furvina Interfere with *Staphylococcus aureus* Agr Quorum-Sensing System and Potentiate the Action of Fusidic Acid against Biofilms. *Int. J. Mol. Sci.* 2021, 22, 613

Ou, C., Shang, D., Yang, J., Chen, B., Chang, J., Jin, F., & Shi, C. (2020). Prévalence des isolats de *Staphylococcus aureus* multirésistants aux antibiotiques et à forte capacité de formation de biofilm dans les aliments d'origine animale à Shanghai. *Food Control* , 112 , 107106.

P

Payne, D.E.; Boles, B.R. (2016).Emerging interactions between matrix components during biofilm development. *Curr . Genet.* 62,137–141.

Pedro Silvino Pereira, Carlos Vinicius Barros Oliveira, Ana Josicleide Maia. Maria Celeste *Molecules* 27 (9), 2753, 2022

Peng, Q., Tang, X., Dong, W., Sun, N., & Yuan, W. (2022). A review of biofilm formation of *Staphylococcus aureus* and its regulation mechanism. *Antibiotics*, 12(1), 12.

Pietrocola, G., Campoccia, D., Motta, C., Montanaro, L., Arciola, CR, et Speziale, P. (2022). Colonisation et infection des dispositifs médicaux à demeure par *Staphylococcus aureus*, en particulier les implants orthopédiques. *Revue internationale des sciences moléculaires* , 23 (11), 5958.

Pilar Cebollada, Inés Reigada, Elena Alvarado, Candela Gerediaga. Maarit Ylätalo.(2026). *Cristina Industrial Crops and Products* 239, 122479.

Piras, C., Di Ciccio, P. A., Soggiu, A., Greco, V., Tilocca, B., Costanzo, N., ... & Roncada, P. (2021). *S. aureus* biofilm protein expression linked to antimicrobial resistance: A proteomic study. *Animals*, 11(4), 966.

Q

Qi, M., Liu, Q., Liu, Y., Yan, H., Zhang, Y., & Yuan, Y. (2022). *Staphylococcus aureus* biofilm inhibition by high voltage prick electrostatic field (HVPEF) and the mechanism investigation. *International Journal of Food Microbiology*, 362, 109499.

R

Rumbaugh Kendra P, Karin Sauer.(2020). Biofilm dispersion. *Nature Reviews Microbiology* 18 (10), 571-586.

S

Schilcher K, Horswill AR. Staphylococcal biofilm development: Structure, regulation, and treatment strategies. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2020;84(3):00026–19. DOI: 10.1128/mmbr.00026-19

Schwartbeck, B., Rumpf, C. H., Hait, R. J., Janssen, T., Deiwick, S., Schwierzeck, V., ... & Kahl, B. C. (2024). Various mutations in *icaR*, the repressor of the *icaADBC* locus, occur in mucoid *Staphylococcus aureus* isolates recovered from the airways of people with cystic fibrosis. *Microbes and Infection*, 26(4), 105306.

Silva, V.; de Sousa, T.; Gómez, P.; Sabença, C.; Vieira-Pinto, M.; Capita, R.; Alonso-Calleja, C.; Torres, C.; Capelo, J.L.; Igrejas, G.(2020). Livestock-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Purulent Subcutaneous Lesions of Farm Rabbits. *Foods*, 9, 439

Skovdal, S. M., Hansen, L. K., Ivarsen, D. M., Zeng, G., Büttner, H., Rohde, H., ... & Meyer, R. L. (2021). Host factors abolish the need for polysaccharides and extracellular matrix-binding protein in *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation. *Journal of Medical Microbiology*, 70(3), 001287.

Spiegel, C., S.J.M. Steixner, D.C. Coraça-Huber.(2022). Antibiofilm activity of omega-3 fatty acids and its influence on the expression of biofilm formation genes on *Staphylococcus aureus*. 11(7): p. 932

Srey S, Jahid IK, Ha SD.(2024). Biofilm formation in food industries: A food safety concern. *Food Control*. 2013; 31:572-585. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2012.12.001> Aleksandra Bibow, Wiesław Oleszek *Antibiotics* 13 (12), 1168.

Sullivan, D.J.; Azlin-Hasim, S.; Cruz-Romero, M.; Cummins, E.; Kerry, J.P.; Morris, M.A. (2020).Antimicrobial effect of benzoic and sorbic acid salts and nano-solubilisates against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas fluorescens* and chicken microbiota biofilms. *Food Control* , 107, 106786.

T

Taglialegna, A., Navarro, S., Ventura, S., Garnett, JA, Matthews, S., Penades, JR, ... & Valle, J. (2016). Les protéines Bap staphylococciques construisent des matrices de biofilms amyloïdes en réponse aux signaux environnementaux. *PLoS pathogens* , 12 (6), e1005711.

Tianyu Hou, Siva Sankar Sana, Huizhen Li, Yun Xing, Anima Nanda, Vasudeva Reddy Netala, Zhijun Zhang.(2022). *Food Bioscience* 47, 101716.

V

Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L. (2020). Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. *Antibiotics*, 9(2), 59.

W

Wagner, E.M.; Pracser, N.; Thalguter, S.; Fischel, K.; Rammer, N.; Pospisilova, L.; Alispahic, M.; Wagner, M.; Rychli, K.(2020). Identification of biofilm hotspots in a meat processing environment: Detection of spoilage bacteria in multi-species biofilms. *Int. J. Food Microbiol.* 328, 108668. [CrossRef]

Wertheim.H.F (2005), The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections.*lancet infectious diseases*, 5(12) : pages 751-762.

Wilton, M.; Charron-Mazenod, L.; Moore, R.; Lewenza, S. (2016). Extracellular DNA Acidifies Biofilms and Induces Aminoglycoside Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*60, 544–553. [CrossRef]

Wang L.H. , X. Zhao, Management and practice in prevention and control of multidrug-resistant organism in medical institutions in China, *Chinese Nurs. Manag.* 19 (2019) 1135-1138. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1672-1756.2019.08.004>.

X

Xiying Wu X, Huan Wang H, Juan Xiong J, Guo-Xun Yang GX, Jin-Feng Hu JF, Quangang Zhu Q, Zhongjian Chen Z, 2024: Staphylococcus aureus biofilm: Formulation, regulatory, and emerging natural products-derived therapeutics. *Biofilm*, 7, 2590-2075.

Xu, Z.; Xie, J.; Soteyome, T.; Peters, B.M.; Shirliff, M.E.; Liu, J.; Harro, J.M. Polymicrobial interaction and biofilms between *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*: An underestimated concern in food safety. *Curr. Opin. Food Sci.* 2019, 26, 57–64. [CrossRef]

Y

Yamazaki, Y.; Ito, T.; Tamai, M.; Nakagawa, S.; Nakamura, Y. (2024).The role of *Staphylococcus aureus* quorum sensing in cutaneous and systemic infections. *Inflamm. Regen.*

Yao S, Hao L, Zhou R, Jin Y, Huang J, Wu C. (2022).Multispecies biofilms in fermentation: biofilm formation, microbial interactions, and communication. *Compr Rev Food Sci Food Saf.*

Z

Zeng, T., Wang, Y., Zhu, Q., Xi, H., Liu, M. F., Liu, P., ... & Dai, Q. (2025). Sub-inhibitory concentrations of fosfomycin enhance *Staphylococcus aureus* biofilm formation by a sarA-dependent mechanism. *Microbiology Spectrum*, 13(9), e01521-25

.

Les annexes

Gélose Mueller- Hinton

- Infusion de Viande de Bœuf 300ml
- Peptone de Caséine 17.5g
- Amidon de Maïs 1.5g
- Agar 17g
- PH 7.5

Gélose Chapman:

- Peptone : 10 g.
- Extrait de bœuf : 1 g.
- Chlorure de sodium : 75 g.
- D-mannitol : 10 g.
- Rouge de phénol : 25 mg.
- Agar : 15 g.

Bouillon BHI :

- beef heart (infusion from 250g), 5 g/L.
- calf brains (infusion from 200g), 12.5 g/L.
- disodium hydrogen phosphate, 2.5 g/L.
- D (+) -glucose, 2 g/L.
- Peptone, 10 g/L.
- Sodium chloride, 5 g/L.