



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
**UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID – TLEMCEM**  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE, ET DES SCIENCES DE LA TERRE  
ET DE L'UNIVERS  
**DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**  
Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement  
« LAMAABE »



MÉMOIRE

Présenté par

MSAIF Marwa et ZIANI Amira Manel

*En vue de l'obtention du*

***Diplôme de MASTER***

***En Microbiologie et contrôle de qualité***

*Thème*

**Effet antibactérien et anti biofilm de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii* sur des souches de staphylocoques d'origine hospitalière**

*Soutenue, devant le jury composé de :*

<b><i>Présidente</i></b>	<b><i>HASSAINE.H</i></b>	<b><i>Professeur</i></b>	<b><i>Université de Tlemcen</i></b>
<b><i>Encadrante</i></b>	<b><i>KARA TERKI.I</i></b>	<b><i>MCA</i></b>	<b><i>Université de Tlemcen</i></b>
<b><i>Examinatrice</i></b>	<b><i>BELLIFA. S</i></b>	<b><i>MCA</i></b>	<b><i>Université de Tlemcen</i></b>

**Année universitaire 2024/2025**

## REMERCIEMENT

À notre présidente de jury,

Madame Hassaine H., Professeure à l'Université de Tlemcen

Nous avons eu l'immense privilège de découvrir votre rigueur scientifique, votre intégrité professionnelle et vos grandes qualités humaines.

Votre exigence, votre sens du devoir et votre engagement constant nous ont profondément marqués et inspirés.

Recevez ici l'expression de notre haute considération et de notre sincère admiration. Ce travail nous offre l'opportunité de vous témoigner notre profonde reconnaissance.

À notre directrice de mémoire,

Madame Kara Terki I., Maître de conférences A

Nous vous remercions très chaleureusement de nous avoir confié ce travail riche et stimulant, ainsi que pour l'accompagnement bienveillant dont vous avez fait preuve à chaque étape de sa réalisation.

Malgré vos multiples engagements, vous avez su nous accorder temps, écoute et conseils avec une générosité remarquable. Votre patience, votre encouragement constant et votre disponibilité méritent toute notre admiration.

Nous vous exprimons ici notre plus sincère gratitude, doublée d'un profond respect.

À notre examinatrice,

Madame Bellifa S., Maître de conférences A

Nous vous remercions très sincèrement d'avoir accepté, avec tant de bienveillance, de faire partie du jury de ce mémoire.

Votre présence nous honore et donne à ce travail une valeur supplémentaire.

Veillez recevoir, Madame, ce mémoire en témoignage de notre profonde

Reconnaissance et de notre respect le plus sincère



## DEDICACE

Avant toute chose, je rends d'abord grâce à Dieu Tout-Puissant, le Très-Haut, Maître de toute science et de toute sagesse, pour Sa guidance infinie, et pour la force qu'Il m'a donnée d'aller jusqu'au bout de ce parcours.

### À ma mère

Femme au cœur immense, pilier de ma vie et première source de mon inspiration. À toi qui m'as porté dans ton ventre, puis dans ton cœur, sans relâche, chaque jour, chaque nuit, dans le silence ou dans les larmes, dans l'ombre ou dans la lumière. Tu as été la première à croire en moi, même quand moi-même j'en doutais. Tu as sacrifié ton temps, ton énergie, parfois même ton propre bien-être, pour m'offrir les conditions d'un avenir que tu as toujours rêvé plus beau pour moi.

Ce mémoire, chaque ligne, chaque effort, chaque victoire – tout t'est dédié. Car sans toi, rien de tout cela n'aurait été possible. Je te dois bien plus que des mots. Je te dois l'élan de toute une vie.

### À mon père

Homme de principes et de discrétion, dont le soutien, souvent silencieux mais profondément sincère, m'a accompagné tout au long de ce parcours. Tes efforts constants et ton amour pudique ont forgé en moi la rigueur, l'endurance et le respect de l'engagement.

### À mon frère Mohammed et ma sœur Sara

Chacun à leur manière, ont su être à mes côtés, m'écouter, me comprendre et m'encourager. Votre présence dans ma vie est une richesse inestimable, et je vous porte dans chaque réussite.

À toute ma famille, proche ou éloignée, pour leur amour constant, leurs encouragements et leur fierté silencieuse mais si précieuse. Vous êtes les racines profondes qui m'ont ancré et permis d'élever mes rêves plus haut.

À mes amis, qui ont toujours su trouver les mots justes, me faire rire au bon moment, m'écouter sans juger, et croire en moi même quand je n'y croyais plus.

Sans oublier **Amira Manel**, Mon binôme de mémoire mais surtout ma sœur de cœur. Merci pour les nuits blanches, les fous rires, les doutes partagés et les victoires célébrées ensemble. Tu es bien plus qu'une partenaire de travail : tu es un pilier de cette aventure et une personne précieuse dans ma vie.

Ce mémoire est le fruit d'un effort collectif invisible, mais profondément ancré dans l'amour et le soutien que j'ai reçu. Il vous appartient autant qu'à moi.

**MARWA**

## **DEDICACE**

**Allah (سبحانه وتعالى),**

Le Très-Haut, Le Clément, Le Sage.

Louange à Toi, Seigneur des mondes, pour chaque souffle, chaque force donnée et chaque porte ouverte.

C'est par Ta volonté que j'ai pu avancer, endurer et espérer.

**À mes parents,**

Merci pour votre amour sans limites, pour vos sacrifices, pour votre patience inépuisable et pour avoir toujours cru en moi même quand moi-même je doutais.

Vous m'avez appris à persévérer, à rêver grand sans jamais oublier d'où je viens. Ce mémoire est autant le vôtre que le mien car chaque page porte l'empreinte de votre tendresse, de vos encouragements et de votre force.

**À mes grands-parents,**

Partis trop tôt mais présents à chaque étape dans mon cœur et qui vivent encore en moi. Votre bienveillance, votre sagesse et vos sourires restent gravés dans ma mémoire. Que ce travail soit un hommage à vos valeurs, à votre sagesse et à l'amour que vous m'avez transmis.

**À toute ma famille,**

Merci d'être mon refuge, ma zone de confort, toujours là dans l'ombre avec toute la bienveillance et l'amour, merci d'avoir toujours été là, dans les hauts comme dans les bas, pour m'encourager et me rappeler que je ne suis jamais seule.

**À mes copines,**

Celles qui ont su m'entourer de douceur quand tout devenait trop lourd,

Celles dont la présence, les rires et les mots ont été des bouffées d'air dans ce long voyage. Merci d'avoir su rendre le quotidien plus tendre, les épreuves moins rudes, et les instants de joie inoubliables, votre amitié est mon lien le plus précieux.

**A mon binôme,**

Ma sœur de cœur et mon alliée.

Cette aventure on l'a traversée ensemble, avec nos doutes, nos fous rires et notre complicité. Merci d'avoir toujours été là comme personne d'autre n'aurait pu l'être.

**Et enfin à moi-même,**

Pour ne pas avoir abandonné.

Pour avoir tenu bon malgré la fatigue, les doutes et les épreuves.

Je me rends hommage, humblement, pour cette volonté et ce courage. Parce qu'aujourd'hui, je peux me dire : j'y suis arrivée, j'ai avancé, j'ai grandi et je me regarde avec fierté.

***AMIRA MANEL***

## ملخص

تُعدّ المكورات العنقودية مكونات طبيعية للفلورا الميكروبية الجلدية والمخاطية، لكنها مسؤولة عن التهابات يصعب علاجها بسبب قدرتها على تكوين البيوفيلم، مما يقلل من فعالية العلاجات ويساهم في تكرار العدوى. في مواجهة هذه المشكلة، تحظى الزيوت الأساسية باهتمام متزايد حاليًا باعتبارها بدائل طبيعية واعدة.

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والمضاد لتكوين البيوفيلم لزيوتين أساسيتين طبيعيتين مستخلصتين من نباتات طبية: *Thymus fontanesii* و *Lavandula stoechas*. تم إجراء مجموعة من الاختبارات على سلالات مختلفة من المكورات العنقودية لقياس تثبيط النمو البكتيري، وتحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC)، وتقييم قدرة هذه الزيوت على منع تكوين البيوفيلم في المختبر.

أظهرت النتائج أن كلتا الزيوتين تمتلكان نشاطاً مضاداً للميكروبات ملحوظاً مع أقطار تثبيط تتراوح بين 18 مم و 38 مم، وتأثيرات كبيرة على تكوين البيوفيلم العنقودي. وتؤكد هذه البيانات على الإمكانات الواعدة لزيوت *Thymus fontanesii* و *Lavandula stoechas* كبدايل طبيعية في مكافحة العدوى البكتيرية المقاومة، خاصة في البيئات الاستشفائية.

الكلمات المفتاحية

المكورات العنقودية – المقاومة – البيوفيلم – التأثير المضاد للبكتيريا – التأثير المضاد للبيوفيلم – الزيوت الأساسية – *Lavandula stoechas* – *Thymus fontanesii*

## Abstract

Staphylococci, which are normal components of the skin and mucosal microflora, are responsible for infections that are difficult to treat due to their ability to form biofilms, which reduce treatment efficacy and promote recurrence. In response to this issue, essential oils are currently attracting increasing interest as promising natural alternatives. The main objective of this study is to evaluate the antibacterial and anti-biofilm activity of two natural essential oils derived from medicinal plants : *Thymus fontanesii* and *Lavandula stoechas*. A series of tests were conducted on different staphylococcal strains to measure bacterial growth inhibition, determine the minimum inhibitory concentration (MIC), and assess the ability of these oils to prevent biofilm formation in vitro. The results obtained showed that both oils exhibited notable antimicrobial activity, with inhibition zones ranging from 18 mm to 38 mm, and had a significant effect on staphylococcal biofilm formation. These findings highlight the potential of *Thymus fontanesii* and *Lavandula stoechas* essential oils as natural alternatives in combating resistant bacterial infections, particularly in hospital settings.

Key words : Staphylococci – Resistance – Biofilm – Antibacterial effect – Antibiofilm effect – Essential oils – *Lavandula stoechas* – *Thymus fontanesii*

## Résumé

Les staphylocoques constituant normaux de la microflore cutanée et muqueuse sont responsables d'infections difficiles à traiter en raison de leur capacité à former des biofilms, rendant les traitements moins efficaces et favorisant les récurrences. Face à cette problématique, les huiles essentielles suscitent aujourd'hui un intérêt croissant en tant qu'alternatives naturelles prometteuses.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne et anti biofilm de deux huiles essentielles naturelles, issues de plantes médicinales : *Thymus fontanesii* et *Lavandula stoechas*. Un ensemble de tests a été réalisés sur différentes souches staphylococciques afin de mesurer l'inhibition de la croissance bactérienne, la concentration minimale inhibitrice (CMI), et évaluer la capacité de ces huiles à réduire la formation de biofilms in vitro.

Les résultats obtenus ont montré que les deux huiles possèdent une activité antimicrobienne notable avec des diamètres de 18 mm à 38 mm, et des effets significatifs sur la formation des biofilms staphylococciques. Ces données mettent en évidence le potentiel des huiles essentielles *Thymus fontanesii* et *Lavandula stoechas* comme alternatives naturelles dans la lutte contre les infections bactériennes résistantes, notamment dans les environnements hospitaliers.

Mots clés : Staphylocoques – Résistance – Biofilm – Effet antibactérien – Effet antibiofilm – Huiles essentielles – *Lavandula stoechas* – *Thymus fontanesii*

# Table des matières

REMERCIEMENT .....	
DEDICACE.....	
ملخص.....	
Abstract .....	
Résumé .....	
Liste des tableaux .....	
Liste des abréviations .....	
Introduction .....	<u>1</u>
Synthèse bibliographique .....	2
<b>CHAPITRE 01 : LES STAPHYLOCOQUES .....</b>	<b>3</b>
1. Historique .....	3
2. Définition et généralités .....	3
2.1. Caractères morphologiques .....	3
2.2. Caractères biochimiques .....	4
2.3. Habitat.....	4
3. Facteurs de virulence.....	4
4. La résistance aux antibiotiques.....	7
5. Les infections causées par des staphylocoques .....	10
<b>CHAPITRE 02 : LES BIOFILMS CHEZ LES STAPHYLOCOQUES .....</b>	<b>12</b>
1. Historique .....	12
2. Définition d'un biofilm .....	12
3. Structure d'un biofilm.....	12
4. Les étapes de formation d'un biofilm chez les staphylocoques.....	13
4.1. L'adhésion initiale .....	13
4.2. Accumulation et maturation précoce.....	13
4.3. Maturation .....	13
4.4. Détachement / Dispersion .....	14
5. Les effets délétères d'un biofilm.....	14
6. Stratégies de lutte contre les biofilms staphylococciques .....	15
<b>CHAPITRE 03 : LES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES (PAM) .....</b>	<b>17</b>
1. <i>Thymus fontanesii</i> .....	17
1.1. Nomenclature .....	18

1.2.	Taxonomie .....	18
1.3.	Description botanique .....	18
1.4.	Huile essentielle du thym.....	19
1.5.	Propriétés.....	19
2.	<i>Lavandula stoechas</i> .....	20
	20	
2.1.	Nomenclature .....	20
2.2.	Taxonomie .....	21
2.3.	Description botanique .....	21
2.4.	Huile essentielle du lavande .....	21
2.5.	Propriétés.....	22
<b>Partie Expérimentale Matériel et méthodes</b> .....		24
1.	Lieu et durée de l'étude .....	25
2.	Revivification des souches bactériennes .....	25
3.	Identification des souches bactériennes .....	25
3.1	Identification microscopique .....	25
3.2	Identification biochimique .....	25
3.2.1	Test de catalase .....	25
3.2.2	Test de coagulase .....	26
4.	Conservation des souches bactérienne .....	26
5.	Etude de l'activité antimicrobienne de <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Thymus fontanesii</i> sur les souches planctoniques par méthode de diffusion sur milieu gélosé (Méthode des puits).....	26
6.	Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur microplaques 96 puits	27
7.	Evaluation de la formation de biofilm in vitro par la technique TCP et RCA .....	28
7.1	La méthode en microplaque 96 puits (TCP) .....	28
7.2	La méthode de rouge Congo RCA.....	28
8.	Etude de l'activité antibiofilm de <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Thymus fontanesii</i> par la technique TCP .....	29
<b>Résultats et discussions</b> .....		30
1.	Résultats de la revivification et l'identification .....	31
2.	Résultats de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles extraites de <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Thymus fontanesii</i> .....	32

3. Résultats de la détermination des concentrations minimales inhibitrices CMI de <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Thymus fontanesii</i> .....	37
4. Résultats de l'évaluation de la formation du biofilm par la technique TCP et RCA .....	40
5. Etude de l'effet des HEs extraites de <i>Lavandula stoechas</i> et <i>Thymus fontanesii</i> sur le biofilm préformé.....	43
Conclusion.....	46
Références Bibliographiques.....	49

## Liste des figures

## Liste des tableaux

TABLEAU 1:LES DIFFERENTS FACTEURS DE VIRULENCE CHEZ LES STAPHYLOCOQUES.....	5
TABLEAU 2:PRINCIPAUX ATB ET MECANISMES DE RESISTANCE DES STAPHYLOCOQUES .....	8
TABLEAU 3:RESULTATS DU TEST DE SENSIBILITE DES SOUCHES STAPHYLOCOCIQUES A LES HES DE LAVANDULA STOECHAS ET THYMUS FONTANESII ET CATEGORIE D'INHIBITION	33
TABLEAU 4:LES RESULTATS DE LA CMI DE LAVANDULA STOECHAS L ET THYMUS FONTANESII .....	38
TABLEAU 5 : COMPARAISON DES VALEURS DE DO AVANT ET APRES L'AJOUT DES HES .....	44

## Liste des abréviations

- agr : Système régulateur accessoire contrôlant l'expression des gènes de virulence (quorum sensing)
- AMPs : Peptides antimicrobiens
- ATB : Antibiotique
- BHIB : Bouillon cœur-cerveau (BrainHeart Infusion Broth)
- ClfA, ClfB : Facteurs d'agglutination A et B, facilitant l'adhésion au fibrinogène
- CMI : Concentration minimale inhibitrice
- Cna : Protéine de liaison au collagène
- CRA : Congo Red Agar (milieu de détection du biofilm)
- DNase : Désoxyribonucléase
- dfrA, dfrG : Gènes de dihydrofolate réductase résistante au triméthoprim
- DO : Densité optique
- eDNA : ADN extracellulaire
- ELISA : Dosage immuno-enzymatique (Enzyme-LinkedImmunoSorbentAssay)
- erm : Gène de méthylase responsable de la résistance MLSB
- ETA, ETB : Toxines exfoliatives de type A et B
- FnBPs : Protéines de liaison à la fibronectine
- gyrA, grlA : Gènes cibles des fluoroquinolones (ADN gyrase et topoisomérase IV)
- HE : Huile essentielle
- IgG : Immunoglobuline G
- ISO : Infection du site opératoire
- L. stoechas : Lavandulastoechas
- mecA : Gène codant une PLP2a conférant une résistance aux bêta-lactamines
- MLSB : Macrolides, lincosamides, streptogramines B
- MRSA : Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline
- MSCRAMMs : Composants microbiens de surface reconnaissant les molécules de la matrice adhésive
- MSSA : Staphylococcus aureus sensible à la méthicilline
- msrA : Gène codant une pompe d'efflux
- OMS : Organisation mondiale de la santé

- PIA / PNAG : Adhésine intercellulaire polysaccharidique / Poly-N-acétylglucosamine
- PAM : Plantes aromatiques et médicinales
- PLP : Protéine liant la pénicilline
- PSM : Modulines solubles dans le phénol
- PVL : Leucocidine de Panton-Valentine
- SCCmec : Cassette chromosomique staphylococcique
- SCN : Staphylocoques à coagulase négative
- SCP : Staphylocoques à coagulase positive
- SEA à SEE : Entérotoxines staphylococciques de types A à E
- SpA : Protéine A staphylococcique
- SXT : Sulfaméthoxazole + Triméthoprime
- T. fontanesii : Thymus fontanesii
- TCP : Méthode de microtitration sur plaque (Tissue Culture Plate)
- tetK, tetL : Gènes d'efflux pour les tétracyclines
- tetM, tetO : Gènes de protection ribosomale contre les tétracyclines
- TM : Tube Method
- TSST-1 : Toxine du syndrome de choc toxique de type 1
- UFC : Unité formant colonie
- ul : Microlitre
- VRSA : Staphylococcus aureus résistant à la vancomycine
- WTA : Acides teichoïques muraux

---

# Introduction

---

Depuis plusieurs siècles, la lutte contre les infections bactériennes représente un défi crucial en santé humaine et animale, surtout à cause de l'augmentation continue des résistances aux antibiotiques. Ce phénomène considéré par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) comme un danger global pour la santé publique compromet l'efficacité des traitements antimicrobiens classiques et nécessite une quête proactive de nouvelles approches thérapeutiques (OMS, 2017). Parmi les bactéries impliquées dans ces infections difficiles à éradiquer, les staphylocoques occupent une place prépondérante. Ces micro-organismes Gram positives, ubiquitaire, sont à l'origine de diverses maladies allant des infections cutanées simples à d'autres plus graves comme l'endocardite ou la septicémie (Tong *et al.*, 2015). Leur capacité à former des biofilms sur les surfaces biotiques et abiotiques, constitue un obstacle majeur au traitement. En effet, cette organisation structurée accorde aux bactéries une résistance renforcée aux agents antimicrobiens ainsi qu'au système immunitaire de l'hôte (Otto, 2008).

Face à ce défi, la communauté scientifique se tourne de plus en plus vers les produits d'origine naturelle, et notamment les huiles essentielles (HE), pour leurs propriétés biologiques prometteuses. Issues de plantes aromatiques, les HEs sont des mélanges complexes de composés volatils dotés d'activités antimicrobiennes, antifongiques et anti-inflammatoires démontrées (Bakkali *et al.*, 2008). Les huiles essentielles de thym (*Thymus fontanesii*) et de lavande (*Lavandula stoechas*) sont particulièrement remarquées pour leur efficacité contre différents pathogènes, notamment des souches multirésistantes (Božović *et al.*, 2015 ; Soković *et al.*, 2010).

Dans ce contexte, ce travail de recherche s'inscrit dans une approche novatrice visant à explorer le potentiel des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* et de *Lavandula stoechas* dans la lutte contre les staphylocoques, en particulier en évaluant leur activité antimicrobienne, déterminer les concentrations minimales inhibitrice (CMI) et leur capacité à inhiber la formation de biofilms.

Une telle étude permettrait non seulement de mieux comprendre les mécanismes d'action de ces extraits naturels, mais également d'envisager leur intégration potentielle dans des stratégies alternatives ou complémentaires aux antibiotiques conventionnels.

---

# Synthèse bibliographique

---

## CHAPITRE 01 : LES STAPHYLOCOQUES

### 1. Historique

En 1878, **Louis Pasteur (1822-1895)**, en collaboration avec Émile Roux et Charles Chamberland, étudiait les germes responsables de diverses maladies. Lors de ses observations au microscope du pus provenant de furoncles et d'ostéomyélites, il remarqua des structures en "amas de grains", qu'il nomma staphylocoques (**Karthik, 2008**). Deux ans plus tard, en 1880, **Alexander Ogston (1844-1929)**, un médecin écossais, fut le premier à isoler les staphylocoques à partir d'abcès et d'autres lésions cutanées. Il réussit à les cultiver in vitro et démontra leur implication dans les processus inflammatoires et suppuratifs. En 1881, il décrivit la première espèce connue : *Staphylococcus aureus*, ou staphylocoque doré, nommé ainsi en raison de la teinte dorée de ses colonies en culture.

Par la suite, une autre variété, produisant des colonies non colorées, fut naturellement désignée sous le nom de staphylocoque blanc (**Kock et al., 2009**). En 1953, une souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la pénicilline fut isolée pour la première fois au Canada. Elle était responsable de diverses infections cutanées, de pneumonies infantiles et de septicémies. L'introduction de la méticilline dans les années 1960 permit de maîtriser cette épidémie. Toutefois, la résistance à cet antibiotique apparut rapidement. Dès 1961, des cas de souches résistantes à la méticilline furent signalés au Royaume-Uni. À partir des années 1970, les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) devinrent l'une des principales causes d'infections nosocomiales, avec une propagation à l'échelle mondiale (**Cleef et al., 2010**).

### 2. Définition et généralités

#### 2.1. Caractères morphologiques

Les staphylocoques sont des bactéries de forme sphérique, à Gram positif, mesurant généralement entre 0,5 et 1,5  $\mu\text{m}$  de diamètre. Elles se caractérisent par un regroupement en amas irréguliers, formant des structures évoquant des grappes de raisin, bien que des formes isolées, en paires ou en chaînes courtes puissent également être observées (**Idrees et al., 2021**). Ces bactéries sont généralement immobiles, non sporulées et certaines souches peuvent être encapsulées, conférant une protection contre la phagocytose. La paroi cellulaire des staphylocoques est riche en peptidoglycane, avec des acides téichoïques intégrés, jouant un rôle

dans l'adhésion aux surfaces et la régulation de la croissance cellulaire (**Samanta & Bandyopadhyay, 2020**). Ce sont des organismes aéro-anaérobies facultatifs, capables de se reproduire dans un environnement normal entre 10 et 42 °C, avec une température optimale à 37 °C et un pH variant de 7,4 à 7,6.

## 2.2. Caractères biochimiques

Les staphylocoques sont des bactéries capables de produire l'enzyme catalase, une caractéristique biochimique essentielle dans leur identification, leur classification repose principalement sur la production d'une coagulase (**Bourgeois et al., 1988**). On distingue les *Staphylococcus aureus* qui se caractérisent par la production d'un pigment caroténoïde doré, la présence d'une protéine A de paroi et par leur capacité à produire une coagulase. Les autres espèces sont désignées sous le nom de staphylocoques à coagulase négative (SCN) (**Mee-Marquet et al., 2004**), ils se caractérisent à leur tour par une faible virulence et une capacité à former des biofilms sur les surfaces inertes (**Otto,2009**), par leur rôle fréquent dans les infections associées aux dispositifs médicaux comme les cathéters et les prothèses, et par leur appartenance à la flore commensale de la peau et des muqueuses (**Becker et al.,2014**).

## 2.3. Habitat

Les staphylocoques colonisent la peau humaine de manière variée selon les zones du corps, avec une prédilection pour les régions humides comme les narines, les aisselles ou les plis inguinaux. Chaque espèce possède ses habitats préférentiels : par exemple, *S. capitis* se retrouve surtout sur le cuir chevelu, *S. aureus* dans les narines, et *S. epidermidis* est ubiquitaire. Cette diversité rend le diagnostic difficile, car il est parfois complexe de distinguer les bactéries commensales des agents pathogènes (**Kloos et al, 1994**).

## 3. Facteurs de virulence

Les staphylocoques possèdent un ensemble de facteurs de virulence complexes qui leur confèrent la capacité d'adhérer aux tissus corporels, d'échapper à la réponse immunitaire de l'organisme, de détruire les cellules de l'hôte et de se propager. Dans *S. aureus*, ces facteurs comprennent des protéines d'adhésion qui aident à la colonisation des tissus, une capsule polysaccharidique et une protéine A qui inhibent la phagocytose, ainsi que divers types de toxines telles que : les toxines exfoliatives (syndrome de la peau ébouillantée), les entérotoxines

(intoxication alimentaire), et le leucocidine Panton-Valentine (infections cutanées et pulmonaires sévères). Plus, d'autres toxines comprennent la coagulase, l'hyaluronidase, les lipases et les DNases qui facilitent la propagation invasive dans les tissus par contre les *S. epidermidis*, il utilise la formation de biofilms et l'adhésion aux surfaces pour garantir la colonisation de l'hôte, tout en réduisant la production de toxines (Ryan *et al.*, 2004).

Les principaux facteurs de virulence des staphylocoques sont résumés dans le tableau 01.

**Tableau 1: les différents facteurs de virulence chez les staphylocoques**

Type	Facteur de virulence	Fonctions	Référence
<b>Toxines</b>	Hémolysines ( $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$ )	Lyse des érythrocytes, leucocytes et autres cellules ; $\alpha$ -hémol.ysine forme des pores membranaires.	Berube <i>et al.</i> , 2013
	Leucocidine de Panton-Valentine (PVL)	Destruction des leucocytes ; Associée aux infections nécrosantes	Alonzo <i>et al.</i> , 2014
	Entérotoxines (SEA à SEE)	Thermostables, résistantes à la digestion, responsables d'intoxications alimentaires.	Argudin <i>et al.</i> , 2010
	Toxine du syndrome de choc toxique (TSST-1)	Superantigène, stimulation massive des lymphocytes T.	Argudin <i>et al.</i> , 2010
	Exfoliatines (ETA, ETB)	Protéases sérine spécifiques qui clivent la desmogléine-1, une protéine de cohésion des kératinocytes, causant le	Amagai, 2001

		syndrome de la peau ébouillantée (SSSS).	
<b>Enzymes</b>	Coagulase	Convertit le fibrinogène en fibrine autour des bactéries, formant un caillot protecteur qui les dissimule du système immunitaire.	Pantrangi <i>et al.</i> , 2014
	Catalase	Dégrade le peroxyde d'hydrogène produit par les neutrophiles, protégeant ainsi la bactérie contre les attaques oxydatives.	Foster <i>et al.</i> , 2014
	Dnase	Dégradation de l'ADN extracellulaire.	Foster <i>et al.</i> , 2014
	Lipase et protéase	Hydrolyse des lipides et protéines de l'hôte ; Favorise la destruction tissulaire.	Foster <i>et al.</i> , 2014
	Hyaluronidase	Dégradation de l'acide hyaluronique, facilitation de la diffusion, ; Déstructure la matrice extracellulaire.	Foster <i>et al.</i> , 2014
<b>Adhésines</b>	Clumpingfactors (ClfA, ClfB)	Liaison au fibrinogène, agrégation cellulaire ; Facilite l'adhésion aux tissus et aux dispositifs médicaux.	McAdow <i>et al.</i> , 2011

	Fibronectin-bindingproteins (FnBPs)	Liaison à la fibronectine, invasion des cellules épithéliales	Foster <i>et al.</i> , 2014
	Collagen-bindingprotein (Cna)	Liaison au collagène dans les tissus conjonctifs ; Impliqué dans les infections ostéo-articulaires.	Foster <i>et al.</i> , 2014
	Protéine A (SpA)	Liaison au fragment Fc des IgG, inhibition de l'opsonisation.	Foster, T. J. (2005)
	Système agr (quorum sensing)	Système de régulation global qui module l'expression des gènes de virulence en fonction de la densité bactérienne. Réprime les adhésines à forte densité et active les toxines.	Novick, <i>et al</i> , 2008

#### 4. La résistance aux antibiotiques

Les souches de staphylocoques particulièrement *S.aureus* et *S.épidermidis* ont une très forte capacité de résistance à différentes classes d'antibiotiques, parfois à tous les types disponibles (Bush *et al.*, 2023).

Cette résistance repose principalement sur l'acquisition de gènes spécifiques, souvent véhiculés par des éléments génétiques mobiles tels que les plasmides, les transposons ou les cassettes chromosomiques staphylococciques (SCC) (Chambers et Deleo, 2009).

Les principaux antibiotiques, leur mode d'actions, et les mécanismes de résistance des staphylocoques sont résumés dans le tableau 02.

Tableau 2: Principaux ATB et mécanismes de résistance des staphylocoques

Antibiotique	Mode d'action	Mécanisme de résistance des staphylocoques	Références
Bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines, oxacilline, ect.)	Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne en se fixant sur les PLP (protéines liant la pénicilline)	Production de $\beta$ -lactamases (hydrolyse de l'anneau $\beta$ -lactame)   - Modification des PLP (ex : PLP2a codée par le gène mecA)	CLSI (2025) ; (Livermore, D.M. 1995) ; Fournier <i>et al.</i> , 2005)
Glycopeptides (vancomycine)	Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne en se liant aux précurseurs du peptidoglycane (D-Ala-D-Ala)	Épaississement de la paroi (piège à vancomycine)   - Rare : modification des cibles (D-Ala-D-Lac) chez certaines souches VRSA	(Livermore, D.M. 1995) ; (Howden <i>et al.</i> , 2010)
Macrolides (érythromycine)	Inhibition de la synthèse protéique en se fixant sur la sous-unité 50S du ribosome	Modification de la cible (méthylation de l'ARNr 23S, gène erm)   - Efflux actif (gène msrA)	(Fournier <i>et al.</i> , 2005) ; (Schwarz <i>et al.</i> , 2012)
Lincosamides (clindamycine)	Inhibition de la synthèse protéique (sous-unité 50S)	Méthylation de l'ARNr 23S (gène erm)   - Résistance croisée avec macrolides (MLSB)	(Fournier <i>et al.</i> , 2005) ; (Schwarz <i>et al.</i> , 2012)

Aminoglycosides (gentamycine)	Inhibition de la synthèse protéique (fixation sur la sous-unité 30S)	Modification enzymatique de l'antibiotique (acétylation, phosphorylation, adénylation)	(Fournier <i>et al.</i> , 2005) ; (Schwarz <i>et al.</i> , 2012)
Tétracyclines	Inhibition de la synthèse protéique (fixation sur la sous-unité 30S)	Efflux actif (gène tetK, tetL)   - Protection de la cible ribosomale (gène tetM, tetO)	(Schwarz <i>et al.</i> , 2012)
Quinolones (ciprofloxacine)	Inhibition de la synthèse de l'ADN en bloquant l'ADN gyrase et la topoisomérase IV	Mutations des gènes gyrA, grlA  - Pompes d'efflux	(Fournier <i>et al.</i> , 2005) ; (Schwarz <i>et al.</i> , 2012)
Sulfamides et triméthoprime (SXT)	Inhibition de la synthèse des folates (synthèse des bases nucléiques)	Production d'enzymes résistantes (dihydroptéroate synthétase altérée, gènes dfrA, dfrG)	(Schwarz <i>et al.</i> , 2012)
Oxazolidinones (linezolide)	Inhibition de la synthèse protéique (liaison à la 50S, inhibition du complexe d'initiation)	Mutations de l'ARNr 23S   - Production de cfr-méthylase	(Schwarz <i>et al.</i> , 2012)

## 5. Les infections causées par des staphylocoques

Le genre *Staphylococcus* regroupe des bactéries ubiquitaires, appartenant à la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'être humain. Certaines espèces, telles que *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, sont capables de devenir opportunistes et de provoquer une large gamme d'infections chez l'homme (figure 01), allant des formes bénignes jusqu'à des atteintes systémiques graves (**Tong et al., 2015**).

Parmi les infections les plus fréquemment causées par *S. aureus*, on retrouve les infections cutanées des tissus mous, telles que les furoncles, les abcès, les impétigos, les folliculites, et les cellulites. Ces infections peuvent apparaître de manière spontanée ou à la suite d'une effraction cutanée, notamment après une blessure, une chirurgie ou une intervention invasive (**Lowy, 1998**). *S. aureus* est également une cause majeure d'infections nosocomiales, notamment les infections de plaies post-opératoires, les infections du site opératoire (ISO), et les infections liées aux dispositifs médicaux (**Otto, 2009**).

Au niveau systémique, *S. aureus* peut entraîner des pathologies graves telles que la bactériémie, l'endocardite infectieuse, la pneumonie nécrosante, l'ostéomyélite, et la septicémie. Ces formes cliniques sont souvent associées à un fort taux de morbidité et de mortalité, en particulier dans les milieux hospitaliers ou chez les patients immunodéprimés (**Fowler et al., 2005 ; Tong et al., 2015**).

D'autre part, *Staphylococcus epidermidis*, bien que moins virulent que *S. aureus*, est particulièrement impliqué dans les infections associées aux biomatériaux, tels que les cathéters intraveineux, les prothèses articulaires, et les valves cardiaques artificielles (**Becker et al., 2014**). Ce pathogène est le principal responsable d'infections liées aux dispositifs médicaux implantables, grâce à sa remarquable capacité à former des biofilms protecteurs (**Otto, 2008**).

En effet, un élément fondamental dans la pathogénicité des staphylocoques est leur aptitude à former des biofilms. Ces structures organisées de cellules bactériennes enchâssées dans une matrice extracellulaire leur permettent de résister aux défenses immunitaires de l'hôte et à de nombreux antibiotiques (**Costerton et al., 1999**). La formation de biofilm est donc un mécanisme clé dans la chronicité des infections staphylococciques et dans leur persistance sur les surfaces abiotiques, notamment les dispositifs médicaux. De nombreuses études ont montré

que la majorité des infections staphylococciques chroniques et nosocomiales sont associées à la formation de biofilms, ce qui complique leur traitement et favorise les récives (Otto, 2013 ; Archer *et al.*, 2011).

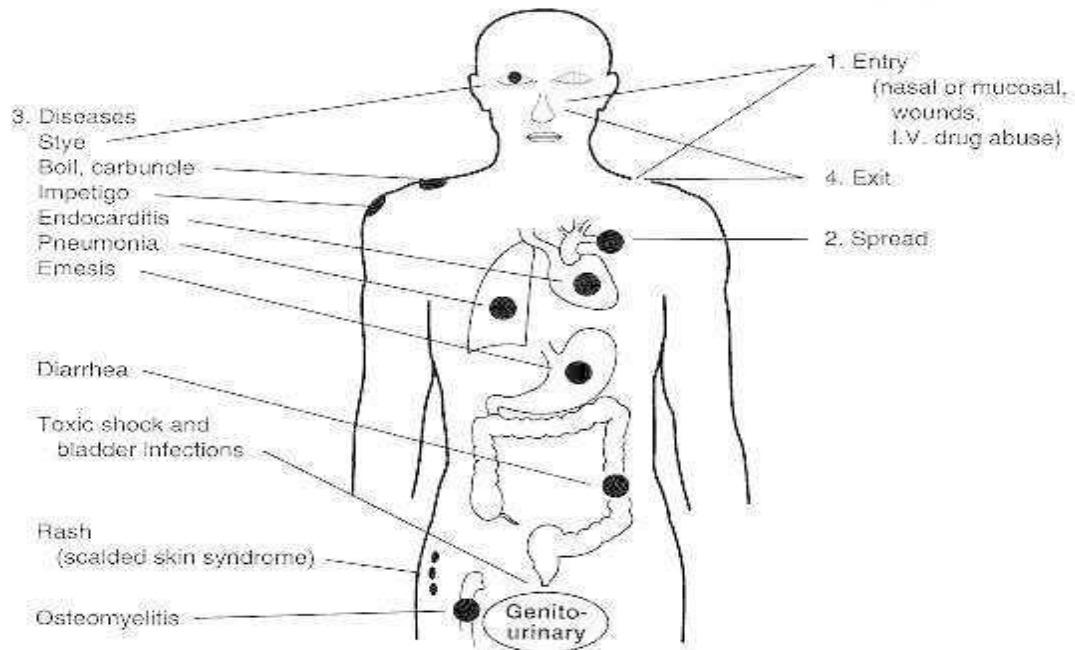


Figure 1: Sites des principales infections causées par les staphylocoques (Ryan *et al.*, 2004)

## CHAPITRE 02 : LES BIOFILMS CHEZ LES STAPHYLOCOQUES

### 1. Historique

L'existence des biofilms a été révélée dès le début des années 1940 grâce aux observations de Henrici, qui a démontré que les bactéries se développent plus aisément sur des surfaces solides que sous forme libre, et aux travaux de Zobell, qui a confirmé que l'adhésion aux surfaces favorise l'activité bactérienne (**Henrici, 1933**); (**Zobell, 1943**).

Christensen et ses collaborateurs (1982) furent les premiers à mettre en évidence la capacité de *Staphylococcus epidermidis* à former un biofilm, en observant un dépôt visqueux et filamenteux sur des tubes de culture à partir d'une souche isolée d'un cathéter. L'analyse de cette substance extracellulaire, visualisée par microscopie électronique à balayage après une coloration au bleu alcian, a révélé une production variable selon les souches, influencée par la composition du milieu et l'enrichissement en glucose. Les auteurs ont ainsi suggéré que la formation de biofilm constituait un facteur déterminant dans la pathogénie de *S. epidermidis*. Cette hypothèse a été confirmée la même année par Peters et al. (1982), qui ont établi un lien entre la capacité de colonisation de matériel médical par cette bactérie et la survenue d'infections nosocomiales (**Planchon, 2006**).

### 2. Définition d'un biofilm

Le biofilm désigne une communauté structurée de micro-organismes, incluant des bactéries, des champignons et d'autres types cellulaires, adhérant à une surface et intégrée dans une matrice extracellulaire auto-produite, aux propriétés adhésives et protectrices. Cette organisation confère aux micro-organismes une meilleure résistance et une coordination fonctionnelle accrue (**Sutherland, 2001**).

La production de substances polymériques extracellulaires (EPS) permet aux communautés bactériennes de s'attacher à différents types de surfaces, telles que l'acier, le plastique, le béton ou même les aliments (**Othman et al., 2023**).

### 3. Structure d'un biofilm

La structure du biofilm présente une organisation hétérogène consolidée par une matrice extracellulaire composée majoritairement d'exopolymères, en particulier d'exopolysaccharides

(EPS). Cette matrice intègre également diverses molécules organiques et inorganiques, contribuant à la protection des microorganismes contre les stress environnementaux (**De Almeida Cournet, 2010**).

À l'intérieur du biofilm, les bactéries s'organisent en microcolonies séparées par un réseau de canaux aqueux, facilitant la diffusion de l'oxygène, des nutriments et l'élimination des déchets. Les substances solubles capables de traverser la matrice extracellulaire peuvent ainsi être assimilées par les cellules. Par conséquent, l'état métabolique d'une bactérie au sein d'un biofilm dépend étroitement de sa position dans la structure tridimensionnelle (**De Almeida Cournet, 2010**).

#### **4. Les étapes de formation d'un biofilm chez les staphylocoques**

##### **4.1. L'adhésion initiale**

L'adhésion initiale des cellules bactériennes à une surface, qu'elle soit biotique ou abiotique, repose sur une fixation réversible impliquant des interactions hydrophobes, électrostatiques et de van der Waals. Cette étape est facilitée par des protéines de surface de type MSCRAMMs (Atl, AtlE, Aap, FnBPs, Clf, Sdr), ainsi que par la présence d'acides teichoïques (WTA) et d'ADN extracellulaire (eDNA) libéré lors de l'autolyse (**Otto, 2013 ; Arciola *et al.*, 2018**).

##### **4.2. Accumulation et maturation précoce**

Suite à l'adhésion, les cellules se multiplient et forment des microcolonies, marquant le début de la structuration du biofilm. Cette phase s'accompagne de la production d'une matrice extracellulaire composée de polysaccharides intercellulaires (PIA/PNAG) synthétisés par le locus *icaADBC*, de protéines (Aap, Bap), d'eDNA et d'acides teichoïques muraux, assurant la cohésion et la stabilité de l'ensemble (**Otto, 2013 ; Arciola *et al.*, 2018**).

##### **4.3. Maturation**

Le biofilm acquiert ensuite une architecture tridimensionnelle complexe, caractérisée par la formation de tours, canaux et cavités. Cette organisation favorise la circulation des nutriments et des signaux moléculaires, tout en renforçant la tolérance collective aux agents antimicrobiens (**Otto, 2013**).

#### 4.4. Détachement / Dispersion

Enfin, des cellules viables, seules ou en agrégats, peuvent se détacher du biofilm pour coloniser de nouveaux sites. Ce processus, finement régulé par le système de quorum sensing agr, les phénomodulines solubles (PSM), les nucléases et les protéases, joue un rôle clé dans la dissémination de l'infection et l'établissement de foyers secondaires (Otto, 2013 ; Arciola *et al.*, 2018).

Les étapes sont schématisé dans la figure 02.

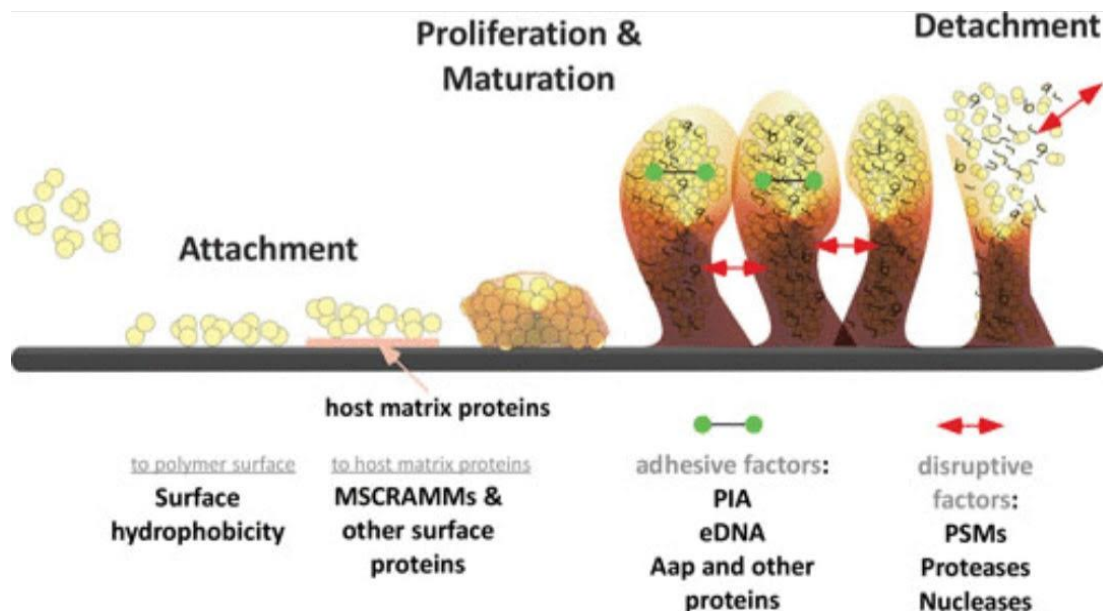


Figure 2: Les différentes étapes de la formation d'un biofilm staphylococcique (Otto, 2018)

#### 5. Les effets délétères d'un biofilm

Les biofilms sont principalement connus pour leurs effets délétères, en particulier dans le domaine de la santé publique. Ils sont à l'origine de nombreuses infections dues au développement de bactéries opportunistes et/ou pathogènes sur les muqueuses humaines. Par ailleurs, leur formation sur des surfaces inertes, qu'elles soient en contact direct avec les utilisateurs, comme les plans de travail, ou indirect, comme les réseaux d'eau, représente un risque sanitaire majeur.

Dans le secteur agroalimentaire, au-delà des enjeux sanitaires, des problèmes techniques tels que l'encrassement des équipements apparaissent fréquemment, notamment au niveau des réacteurs et des réseaux d'eau. Par ailleurs, la présence de biofilms a été impliquée dans des phénomènes de bio corrosion affectant les surfaces métalliques et les infrastructures industrielles (De Almeida Cournet, 2010).

Le biofilm constitue une source de contamination majeure et difficile à éliminer. En raison de leur protection au sein de la matrice organique, les micro-organismes deviennent résistants aux méthodes conventionnelles de nettoyage et de désinfection. Une fraction de ces micro-organismes peut également représenter un danger pour les consommateurs, contribuant ainsi à une augmentation des symptômes gastro-entériques tels que les diarrhées et les vomissements (De Almeida Cournet, 2010).

## **6. Stratégies de lutte contre les biofilms staphylococciques**

### **6.1. Inhibition de la communication cellulaire (quorum sensing)**

Les staphylocoques utilisent un système de communication appelé Agr pour réguler la formation du biofilm. Des molécules comme la savirine peuvent bloquer ce système, réduisant la capacité des bactéries à former ou maintenir un biofilm (Schilcher et Horswill, 2020).

### **6.2. Dégradation de la matrice extracellulaire**

Le biofilm est protégé par une matrice composée de substances comme des protéines, des polysaccharides et de l'ADN extracellulaire. Des enzymes telles que la DNase I ou la Dispersin B permettent de décomposer cette matrice, facilitant la dispersion du biofilm (Schilcher et Horswill, 2020).

### **6.3. Agents bactéricides ciblant les bactéries en biofilm**

Certaines molécules, comme la lysostaphine ou des peptides antimicrobiens (AMPs), sont capables de tuer les bactéries en profondeur dans le biofilm, là où les antibiotiques classiques échouent souvent (Schilcher et Horswill, 2020).

### **6.4. Revêtement antibactérien des dispositifs médicaux**

Des techniques permettent de recouvrir les implants médicaux avec des antibiotiques, des peptides ou des polymères afin d'empêcher l'adhésion bactérienne initiale et la formation du biofilm (**Schilcher et Horswill, 2020**).

### **6.5. Nanotechnologies**

L'usage de nanoparticules, notamment celles à base de PLGA chargées d'antibiotiques, permet une libération contrôlée du médicament directement sur le site du biofilm, augmentant l'efficacité antimicrobienne (**Schilcher et Horswill, 2020**).

### **6.6. Thérapies à base de bactériophages**

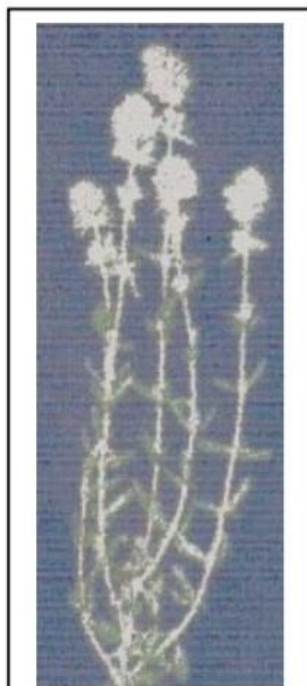
Les phages, virus spécifiques des bactéries, peuvent infecter et détruire les staphylocoques même dans le biofilm. Ils sont parfois utilisés en combinaison avec des antibiotiques pour un effet synergique (**Schilcher et Horswill, 2020**).

**CHAPITRE 03 : LES PLANTES AROMATIQUES ET MEDICINALES (PAM)**

Les plantes aromatiques et médicinales (PAM) désignent des espèces végétales dont au moins une partie possède des propriétés thérapeutiques, utilisées pour prévenir, soulager ou traiter diverses affections (Farnsworth *et al.*, 1986). Employées sous forme de décoctions, infusions ou macérations, elles mobilisent différentes parties comme les racines, feuilles ou fleurs (Dutertre, 2011). On estime à environ 35 000 le nombre d'espèces médicinales utilisées dans le monde, représentant une ressource précieuse, notamment dans les systèmes de santé traditionnels (El Qaj *et al.*, 2007). Parmi ces plantes, le thym (*Thymus fontanesii*) et la lavande (*Lavandula stoechas*) se distinguent par leurs huiles essentielles aux propriétés antimicrobiennes.

**1. *Thymus fontanesii***

Le terme « thym » trouve son origine dans le mot latin *Thymus*, signifiant « parfumé », dérivant lui-même du grec *Thumos*, issu de *Theo*, en référence à son parfum caractéristique et à son utilisation ancienne en tant que plante odoriférante (figure 03) (Guy, 2005).



**Figure 3 : *Thymus fontanesii* (Haddouchi *et al.*, 2009)**

### **1.1. Nomenclature**

- Nom français : Thym
- Nom anglais : Thym
- Nom arabe : زعتر
- Nom vernaculaire : Zaatar

### **1.2. Taxonomie**

La classification botanique de *Thymus fontanesii*, telle que décrite par **Quézel et Santa (1963)**, est la suivante :

- Règne : Plantae
- Embranchement : Spermatophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Thymus*
- Espèce : *Thymus fontanesii*

### **1.3. Description botanique**

*Thymus fontanesii* est un sous-arbrisseau qui présente une croissance érigée ou prostrée, formant des amas denses et ramifiés pouvant culminer entre 10 et 40 cm de hauteur. Il pousse naturellement sur des terrains sèches, pierreux ou rocaillieux, particulièrement dans les garrigues. Sa tige, qui est ligneuse, possède des feuilles disposées de façon opposée et recourbées en bordure, d'une couleur vert foncé, couvertes de poils glandulaires appelés trichomes, qui conservent une concentration élevée en huiles essentielles (**Iserin, 2001**). En ce qui concerne les fleurs, elles sont regroupées en glomérules et affichent une palette de couleurs allant du blanc au violet, avec des nuances de rose (**Martini & Seiller, 1999**).

### **1.4. Huile essentielle du thym**

On extrait principalement l'huile essentielle de thym des sommités fleuries et des feuilles. En outre, les parties florales contiennent des flavonoïdes tels que la thymonine, le cirsilinéol et le 8-méthoxy-cirsilinéol, ainsi que des acides phénoliques (acide caféique, acide rosmarinique), des tanins et une résine. Cette huile peut présenter des variations significatives dans ses propriétés biochimiques, principalement dues à des influences génétiques et climatiques, mais également en fonction de la phase phénologique de la plante au moment de la récolte (**Chikhoune, 2007**).

### **1.5. Propriétés**

*Thymus fontanesii* est une plante aromatique couramment utilisée dans la médecine traditionnelle pour ses propriétés (**Ghannadi et al., 2004**). Ces activités biologiques et pharmaceutiques sont essentiellement dues à l'existence de composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol (**Benjilali, 2004**)

- **Propriétés médicinales**

**Antispasmodique** : soulage les spasmes musculaires, en particulier dans le système digestif (**Denoël et al., 1975**).

**Cholagogue** : favorise l'élimination de la bile, aidant ainsi à une meilleure digestion (**Denoël et al., 1975**).

**Vermifuge** : contribue à l'expulsion des parasites intestinaux tels que les ascaris et les oxyures (**Denoël et al., 1975**).

**Diurétique** : renforce la production d'urine, facilitant l'élimination des toxines (**Denoël et al., 1975**).

**Expectorant et fluidifiant bronchique** : aide à la libération des sécrétions bronchiques, raison pour laquelle il est utilisé dans les sirops contre la toux (par exemple : le sirop de Desessartz) (**Denoël et al., 1975**).

**Usage gynécologique traditionnel** : utilisé dans la médecine populaire pour soigner les leucorrhées, communément appelées « fleurs blanches » (**Denoël et al., 1975**).

**Antiseptiques** : Intégration dans des formulations topiques à visée antiseptique ou cicatrisante (Denoël *et al.*, 1975).

- *Applications industrielles*

Le thym est utilisé dans l'industrie alimentaire à la fois pour ses propriétés organoleptiques et pour sa capacité à inhiber la croissance microbienne et prévenir les altérations alimentaires (Denoël *et al.*, 1975).

## 2. *Lavandula stoechas*

*Lavandula stoechas*, communément appelée lavande papillon (figure 04), est une plante aromatique typiquement méditerranéenne, traditionnellement utilisée pour ses vertus médicinales et cosmétiques (Zuzarte et Salgueiro, 2015).



**Figure 4 : *Lavandula stoechas* (Porse, 2007)**

### 2.1. Nomenclature

- Nom français : Lavande
- Nom anglais : Lavender
- Nom arabe : خزامى
- Nom vernaculaire : Khzama

### **2.2. Taxonomie**

Selon la classification classique des plantes à fleurs (**Dupont & Guignard, 2007**), la lavande est classée comme suit :

- Embranchement : Spermatophytes
- Division : Magnoliophyta
- Classe : Magnoliopsida
- Sous-classe : Asteridae
- Ordre : Lamiales
- Famille : Lamiaceae
- Genre : *Lavandula*
- Espèce : *Lavandula stoechas*

### **2.3. Description botanique**

*Lavandula stoechas* est un sous-arbrisseau persistant, avec des tiges et des feuilles qui peuvent atteindre une hauteur approximative d'un mètre (**Hicham, 2017**). La période de floraison, qui se produit habituellement d'avril à mai, est caractérisée par la libération d'un parfum agréable, délicat et floral (**Vialard, 2008**). Elle se distingue par ses tiges dressées, ligneuses à la base, ses feuilles opposées, étroites et grisâtres, ainsi que par ses inflorescences caractéristiques : des épis compacts surmontés de bractées stériles violettes en forme d'ailes (**Bousta et al., 2020**).

### **2.4. Huile essentielle du lavande**

L'huile essentielle de *L. stoechas* est principalement extraite par hydrodistillation des sommités fleuries. Elle contient divers composés bioactifs, y compris des monoterpènes (camphre, terpinen, cymene..), des monoterpènes alcools (linalol, lavandulol, p-cymen-8-ol.), des monoterpènes esters (acétate de linalyl et acétate de terpenyl), ainsi que des benznoïdes et des sesquiterpènes (**Belmont, 2013**). Ces substances confèrent à cette plante une gamme variée de propriétés pharmacologiques.

## **2.5. Propriétés**

- ***Propriétés médicinales***

**Antispasmodique** : Les composés actifs présents dans la lavande confèrent à cette plante des propriétés antispasmodiques efficaces, notamment dans le soulagement de la toux spasmodique et des manifestations asthmatiques (**Denoël et al., 1975**).

**Antiseptique** : Lorsqu'elle est utilisée localement, la lavande possède une propriété antiseptique remarquable qui aide à désinfecter les blessures, surtout celles dont la guérison prend du temps ou pose des défis (**Denoël et al., 1975**).

**Impacts sur le système nerveux et digestif (infusion)** : traditionnellement, l'infusion de fleurs de lavande, à hauteur de 4 tasses quotidiennes d'une solution à 5 %, est employée pour calmer diverses affections telles que : les maux de tête (en particulier les migraines), les diarrhées non infectieuses, et les quintes de toux persistantes (**Denoël et al., 1975**).

**Applications dermatologiques et capillaires (application externe)** : on utilise l'eau de lavande en applications topiques pour apaiser les douleurs associées aux rhumatismes. Elle est également incluse dans certains liniments employés pour traiter les symptômes de l'alopecie (chute de cheveux) (**Denoël et al., 1975**).

- ***Applications industrielles***

En raison de leur parfum plaisant et de leurs vertus aromatiques, les fleurs de lavande sont souvent employées en parfumerie et en fabrication de savons. De plus, on a pour habitude de les disposer dans le linge afin d'y diffuser un parfum et d'éloigner les insectes, ce qui leur confère le nom commun de « garde-robe » (**Denoël et al., 1975**).

---

## **Partie Expérimentale**

---

---

## **Matériel et méthodes**

---

## 1. Lieu et durée de l'étude

Cette étude a été réalisée au sein du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE), de l'Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, sur une période allant de février à mars 2025.

## 2. Revivification des souches bactériennes

L'étude a été menée sur 24 souches du genre *Staphylococcus* d'origine hospitalière provenant de la collection du laboratoire LAMAABE (équipe 2). Avant toute expérimentation, les souches ont été revivifiées par une culture de 24 heures à 37 °C dans un bouillon cœur-cerveau (BHIB). Cette étape visait à restaurer leur viabilité. Par la suite, elles ont été repiquées sur un milieu Chapman pour confirmer leur appartenance au genre "*Staphylococcus*".

## 3. Identification des souches bactériennes

### 3.1 Identification microscopique

L'observation microscopique après une coloration de Gram représente une technique fondamentale en bactériologie, dans la mesure où elle permet une première classification des bactéries en fonction de leurs caractéristiques structurales, de leur morphologie, de leur mode d'agencement cellulaire, ainsi que de leur affinité à la coloration de Gram (**Berrada, 2016**).

### 3.2 Identification biochimique

#### 3.2.1 Test de catalase

La catalase est une enzyme capable de catalyser la décomposition du peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en eau et en oxygène.

Une goutte de peroxyde d'hydrogène est déposée sur une lame, au contact d'une colonie bactérienne bien isolée provenant d'une culture jeune. La réaction positive se traduit immédiatement par l'apparition de bulles d'oxygène (**Reiner, 2010**).

### 3.2.2 Test de coagulase

Ce test vise à mettre en évidence la production de coagulase, une enzyme bactérienne permettant de différencier *Staphylococcus aureus* des autres espèces de staphylocoques coagulase-négatives. La procédure débute par la préparation d'une suspension bactérienne dense en cultivant une colonie pure (isolée sur milieu Chapman) dans un bouillon BHIB pendant 18 heures à 37 °C. Ensuite, 0,5 mL de cette culture est mis en contact avec 0,5 mL de plasma humain. Si la bactérie est positive, la coagulase convertit le fibrinogène du plasma en fibrine, ce qui se traduit par la formation d'un caillot solide observable en 1 à 24 heures (**Parisi et al., 1973**).

## 4. Conservation des souches bactérienne

La conservation des souches bactériennes à long terme, consiste à préparer un mélange qui est composé de 0.5mL de glycérol stérile et de 0.5 mL d'inoculum jeune obtenu après une incubation de 24heures, dans un tube Eppendorf. Le contenu est ensuite homogénéisé à l'aide d'un vortex, puis stocké dans un congélateur à -20 °C.

## 5. Etude de l'activité antimicrobienne de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii* sur les souches planctoniques par méthode de diffusion sur milieu gélosé (Méthode des puits)

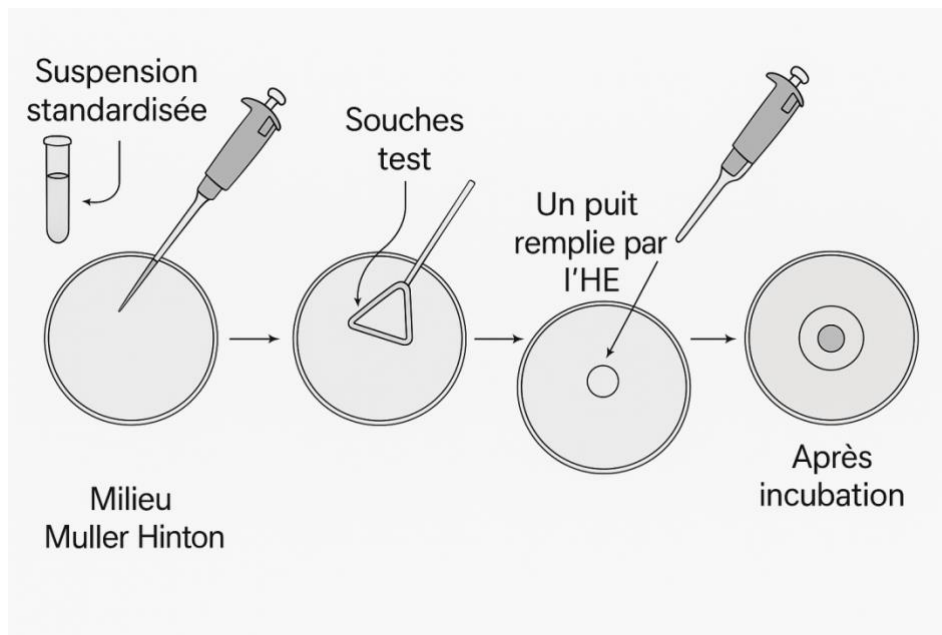
La méthode de diffusion sur milieu gélosé est une technique couramment utilisée pour évaluer le potentiel antimicrobien de diverses substances, notamment les extraits ou huiles essentielles. Elle permet d'apprécier l'efficacité d'un agent antimicrobien par la mesure de sa capacité à inhiber la croissance bactérienne in vitro (**Kuş et Sökmen, 2021**).

Pour cette partie nous avons testé les extraits des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii* extrait du laboratoire de chimie par nos collègues et d'autres provenant du commerce, nous avons également testé les hydrolats de ces mêmes plantes.

Des boîtes de Pétri contenant un milieu Mueller-Hinton solidifié sont inoculées en surface par écouvillonnage, à l'aide d'une suspension bactérienne fraîchement préparée (culture jeune), standardisée à  $10^8$  UFC/mL. Des puits de 6 mm de diamètre sont creusés dans la gélose par une

pipette pasteur stérile, puis remplis avec un volume (de 100  $\mu$ l) d'huile essentielle de *Lavandula stoechas* et de *Thymus fontanesii*. Les boîtes sont ensuite incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

L'activité antimicrobienne est évaluée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition autour des puits, si le diamètre est supérieur à 8 mm l'extrait est considéré actif (Djendli et Bouali, 2022).



**Figure 5 : Schéma représentant la méthode des puits sur milieu gélosé**

## 6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur microplaques 96 puits

La méthode de détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en microplaque est une technique de référence permettant d'évaluer l'activité antimicrobienne d'un composé en quantifiant la plus faible concentration capable d'inhiber visiblement la croissance bactérienne.

Un volume de 100 $\mu$ L de bouillon BHIB a été distribué dans les huit premiers puits de chaque ligne. Ensuite, 100 $\mu$ L d'huile essentielle (*Lavandula stoechas* et de *Thymus fontanesii*) ont été introduits dans le premier puits de chaque rangée (Drugeon *et al.*, 1990). Une dilution en cascade par facteur 2 a été réalisée à travers les puits, permettant d'obtenir des concentrations finales comprises entre 0,78 et 100mg/mL pour les huiles essentielles.

Enfin, chaque puits reçoit 100 $\mu$ L d'une suspension bactérienne standardisée à 10<sup>8</sup>UFC/mL. Les microplaques ainsi préparées sont incubées à 37 °C pendant 24 heures (Güllüce *et al.*, 2007). La croissance bactérienne est évaluée visuellement, l'absence de trouble indique l'inhibition de la croissance.

La CMI est définie comme la plus faible concentration du composé pour laquelle aucune croissance visible n'est observée.

## 7. Evaluation de la formation de biofilm in vitro par la technique TCP et RCA

### 7.1 La méthode en microplaque 96 puits (TCP)

Pour évaluer la formation de biofilm, une culture bactérienne incubée pendant 18h en bouillon BHIB est utilisée. On inocule chaque puits d'une microplaque 96 puits avec 150  $\mu$ L de cette culture, préalablement standardisée à 10<sup>8</sup> UFC/mL puis diluée au 1/100 dans le même milieu. Après 24h d'incubation à 37°C pour permettre l'adhésion et la formation du biofilm, les puits sont lavés trois fois à l'eau distillée stérile pour éliminer les cellules non adhérentes. Les bactéries fixées sont ensuite colorées pendant 15 minutes au cristal violet (0,1%). L'excédent de colorant est enlevé par lavage à l'eau distillée, suivi d'un séchage de 10-20 minutes. Enfin, pour quantifier la biomasse, le colorant est solubilisé avec 150  $\mu$ L d'éthanol à 95% par puits, et l'intensité de la coloration est mesurée à 490 nm par un lecteur ELISA (Stepanović *et al.*, 2000 ; Hola et Růžička, 2011).

L'interprétation des résultats se base sur la densité optique mesurée (**DO**) par comparaison avec celle du témoin négatif (**DOc**). Une souche est considérée comme :

- Non formatrice de biofilm si  $DO \leq DOc$ ,
- Modérément formatrice si  $DOc \times 2 \leq DO \leq DOc \times 4$ ,
- Fortement formatrice si  $DO > 4 \times DOc$  (Christensen *et al.*, 1985)

### 7.2 La méthode de rouge Congo RCA

La méthode du Rouge Congo Agar (RCA) est une technique indirecte couramment utilisée pour détecter la production de slime par les bactéries, en particulier les staphylocoques. Elle repose sur la capacité des souches productrices de biofilm à former des colonies de couleur noire ou

rouge foncé sur un milieu spécifique contenant du rouge Congo, du saccharose et du bouillon cœur-cerveau (BHIB) (Freeman *et al.*, 1989).

Les souches bactériennes sont ensemencées en surface sur le milieu rouge Congo solidifié et préalablement coulé en boîtes de Pétri. Après incubation à 37 °C pendant 24 à 48 heures, une distinction visuelle peut être réalisée : les souches slime positives présentent des colonies noires, souvent visqueuses, tandis que les souches slime négatives affichent des colonies rouges sans changement de couleur notable (Freeman *et al.*, 1989 ; Arciola *et al.*, 2001).

Il est également important de noter que certaines souches présentent un phénotype intermédiaire ou variable, caractérisé par des colonies avec un centre noir et un contour rouge, ou inversement un centre rouge avec un contour noir (Touati *et al.*, 2007).

#### **8. Etude de l'activité antibiofilm de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii* par la technique TCP**

Les microplaques à 96 puits, contenant un biofilm jeune formé depuis 24 heures selon la méthode TCP précédemment décrite, sont soigneusement lavées à trois reprises à l'eau distillée stérile.

Par la suite, chaque puits reçoit 100µL de bouillon BHIB complété par 50µL d'huile essentielle, destinée à évaluer son effet anti biofilm. Une incubation statique est ensuite réalisée à 37 °C pendant 24 heures. À l'issue de cette période, les puits sont de nouveau rincés, séchés à température ambiante, puis colorés au cristal violet à 0,1 % selon le protocole standardisé.

L'intensité de la coloration résiduelle, directement proportionnelle à la biomasse du biofilm, est quantifiée à 590 nm à l'aide d'un lecteur ELISA. Une réduction significative de la densité optique par rapport à celle du témoin non traité est interprétée comme une inhibition partielle ou totale de la formation du biofilm par l'huile essentielle testée.

---

## **Résultats et Discussions**

---

### 1. Résultats de la revivification et l'identification

Après revivification des souches bactériennes, l'ensemble des observations macroscopiques et microscopiques ont confirmé que toutes les souches présentent les caractéristiques typiques du genre *Staphylococcus* à savoir :

- **Sur le milieu Chapman :** les staphylocoques forment des petites colonies circulaires, lisses et pigmentées en jaune vif, avec un changement net de couleur du milieu vers le jaune, indiquant une fermentation active du mannitol. Ce phénotype est associé à l'espèce *Staphylococcus aureus*. Ils forment aussi autres colonies roses, pâles n'entraînant aucun changement de couleur du milieu, suggérant des staphylocoques blancs tels que *Staphylococcus épidermidis* (**figure 6**) (Atlas, 2010).



**Figure 6 : Aspect des colonies du genre staphylococcus sur gélose Chapman.**

- **Coloration de Gram :** L'examen microscopique, réalisé après la mise en œuvre de la coloration de Gram, a permis d'identifier les souches de staphylocoques comme des bactéries à Gram positif, sous forme sphérique avec une coloration violette et une disposition typique en amas évoquant des grappes de raisin.

- **Test de catalase** : Ce test c'est avéré positif pour les 24 souches revivifiées, et c'est traduit par la décomposition du peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) en eau et en oxygène gazeux.
- **Test de coagulase** : Sur la base des résultats obtenus lors des tests d'identification, il a été déterminé que parmi les 24 souches staphylococciques, 16.66 % ont été identifiées comme des souches de l'espèce *Staphylococcus aureus*, en raison de la mise en évidence de l'enzyme staphylocoagulase. Les 83.33 % de souches restantes ont été classées comme des staphylocoques à coagulase négative (SCN).

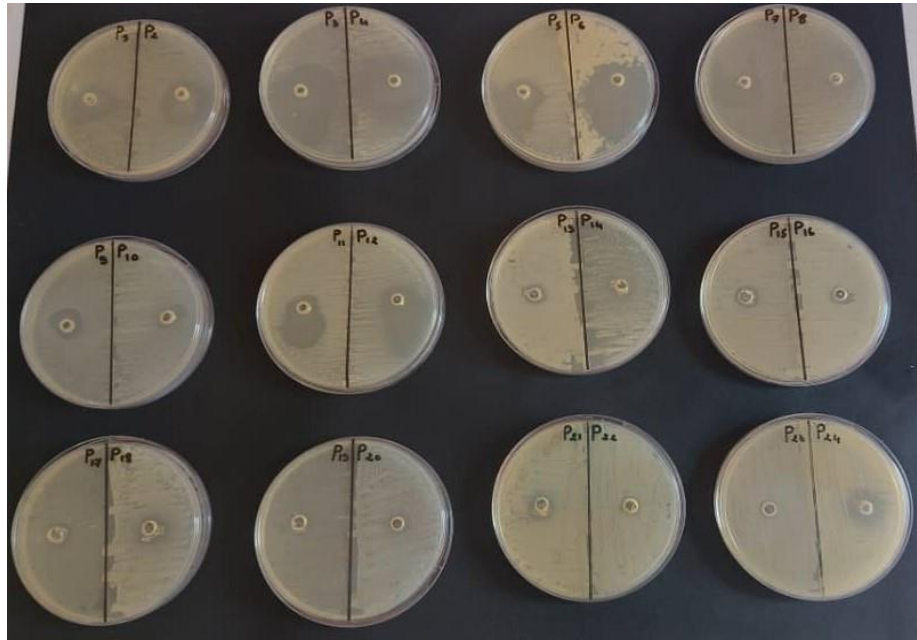
## 2. Résultats de l'activité antibactérienne des deux huiles essentielles extraites de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii*

Dans cette partie, une évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des HEs de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii* a été réalisée à l'aide de la méthode de diffusion en milieu gélose Mueller-Hinton. Cette méthode permet de mesurer l'efficacité des extraits testés sur les staphylocoques en déterminant le diamètre des zones d'inhibition formées autour des puits contenant les solutions extraites.

Les résultats de cette étude sont montrés dans la figure 7 et le tableau 03.

**Tableau 3: Résultats du test de sensibilité des souches staphylococciques aux HEs  
extraites de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii***

Les souches bactériennes	<i>Lavandula stoechas</i>		<i>Thymus fontanesii</i>	
	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Catégorie d'inhibition	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Catégorie d'inhibition
P1 (SCN)	15	Très sensible	28	Extrêmement sensible
P2 (SCN)	20	Très sensible	15	Très sensible
P3 ( <i>S.aureus</i> )	34	Extrêmement sensible	36	Extrêmement sensible
P4 ( <i>S.aureus</i> )	34	Extrêmement sensible	38	Extrêmement sensible
P5 (SCN)	16	Très sensible	22	Extrêmement sensible
P6 ( <i>S.aureus</i> )	30	Extrêmement sensible	34	Extrêmement sensible
P7 (SCN)	18	Très sensible	15	Très sensible
P8 ( <i>S.aureus</i> )	20	Très sensible	28	Extrêmement sensible
P9 (SCN)	10	Sensible	7	Résistante
P10 (SCN)	10	Sensible	7	Résistante
P11 (SCN)	14	Sensible	12	Sensible
P12 (SCN)	16	Très sensible	22	Extrêmement sensible
P13 (SCN)	12	Sensible	10	Sensible
P14 (SCN)	14	Sensible	12	Sensible
P15 (SCN)	14	Sensible	12	Sensible
P16 (SCN)	8	Résistante	7	Résistante
P17 (SCN)	12	Sensible	10	Sensible
P18 (SCN)	10	Sensible	10	Sensible
P19 (SCN)	10	Sensible	10	Sensible
P20 (SCN)	10	Sensible	14	Sensible
P21 (SCN)	12	Sensible	26	Extrêmement sensible
P22 (SCN)	8	Résistante	15	Très sensible
P23 (SCN)	00	Résistante	5	Résistante
P24 (SCN)	18	Très sensible	25	Extrêmement sensible



**Figure 7 : Résultats du test de l'activité antimicrobienne des HES sur les staphylocoques testés.**

Selon l'étude de **Ponce *et al.*, (2003)** qui a proposé une échelle qualitative pour évaluer la sensibilité des souches bactériennes aux extraits naturels basée sur le diamètre des zones d'inhibition, Nous remarquons que la sensibilité des 24 souches de staphylocoques vis-à-vis des extraits de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii* varie considérablement.

En effet, l'extrait de *T. fontanesii* a révélé une activité antimicrobienne particulièrement marquée, avec des diamètres de zones d'inhibition pouvant atteindre 38 mm pour la souche P4 qui appartient à *S. aureus* et 28 mm pour la souche P1 qui est un staphylocoque à coagulase négative (SCN).

À l'inverse, l'extrait de *L. stoechas* présente une activité antimicrobienne plus modérée, avec des diamètres de zones d'inhibition généralement  $\leq 20$  mm pour la majorité des SCN. Cependant, certaines souches, telles que P3, P4 et P6 appartenant aux *S. aureus*, se sont révélées « extrêmement sensibles », avec des diamètres d'inhibition atteignant respectivement 34 mm et 30 mm.

Plusieurs souches (comme P23 et P16) se montrent résistantes aux deux extraits.

Globalement, ces résultats confirment le potentiel antimicrobien plus élevé de *Thymus fontanesii* et montrent une efficacité variable selon les souches bactériennes.

Les huiles essentielles de *Lavandula stoechas* et de *Thymus fontanesii* ont fait l'objet de nombreuses études en raison de leurs propriétés antimicrobiennes reconnues. L'huile essentielle de *T. fontanesii* est caractérisée par une forte teneur en carvacrol (54,7 %) et en p-cymène (17,5 %), deux composés phénoliques aux propriétés antibactériennes bien établies (**Sidali et al., 2017**).

**Sidali et al. (2017)** ont montré que cette huile présente une activité significative contre diverses souches bactériennes comme *S. aureus*, ceci explique les résultats obtenus dans notre étude, notamment sur les souches les plus sensibles.

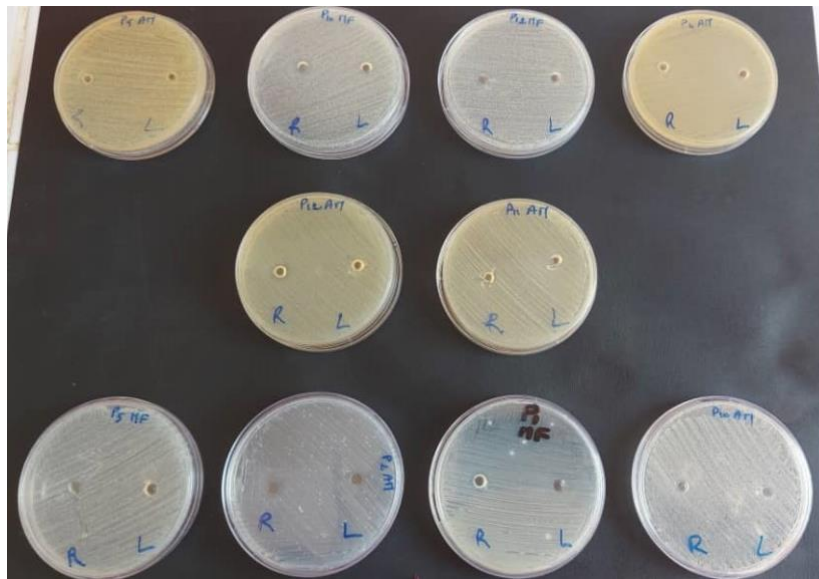
**Mebarki et al. (2015)** ont, quant à eux, isolé et caractérisé le thymol, principal constituant de l'huile essentielle de *T. fontanesii*, avec un rendement de 77,72 %, et ont mis en évidence son rôle central dans l'effet antimicrobien de cette huile. Le thymol pur a montré des diamètres d'inhibition allant jusqu'à 58,53 mm contre *S. aureus*, similaires à celles rapportées par **Sidali et al** ce qui confirme l'efficacité du composé sur des souches cliniques comme celles identifiées dans notre étude.

En ce qui concerne l'huile essentielle de *L.stoechas*, **Zane et Samar (2016)** ont rapporté un diamètre d'inhibition de 37 mm contre *S. aureus*, indiquant une forte sensibilité, ce qui est comparable aux valeurs observées dans notre étude.

**Kaya et al. (2009)** ont rapporté une forte activité antibactérienne contre *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*, ce qui confirme nos résultats. Cette efficacité semble principalement due à la présence de l' $\alpha$ -fenchone et du 1,8-cinéole dans l'huile essentielle de *Lavandula stoechas*, des composés reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes, notamment contre *S. aureus*.

- **Résultats des huiles du commerce de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii***

Lorsque nous avons comparé l'efficacité des huiles essentielles commercialisées à celle des huiles extraites en laboratoire, nous avons constaté une nette différence. En effet, les huiles du commerce n'ont montré aucun effet antimicrobien (figure8), avec des résultats totalement négatifs (zone d'inhibition : 0 mm) sur l'ensemble des 24 souches staphylococciques testées. Cette absence d'activité suggère que la qualité ou la composition des huiles commercialisées pourrait être altérée, contrairement aux huiles fraîchement extraites en laboratoire.



**Figure 8 : Résultats de l'activité antimicrobienne des huiles du commerce sur les souches de staphylocoques**

- **Résultats d'hydrolat de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii***

L'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'hydrolat de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii* sur plusieurs souches de *Staphylococcus* a révélé une absence totale d'effet inhibiteur (figure 9). Ces résultats suggèrent que, dans les conditions expérimentales testées, l'huile essentielle présente une efficacité nettement supérieure à celle de l'hydrolat.



**Figure 9 : Résultats du test de l'activité antimicrobienne des hydrolats des HEs sur les staphylocoques**

### 3. Résultats de la détermination des concentrations minimales inhibitrices CMI de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii*

Nous avons déterminé les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* et de *Thymus fontanesii* afin d'évaluer leur efficacité contre les souches staphylococciques. Les résultats obtenus nous ont permis de mesurer la plus faible concentration capable d'inhiber la croissance bactérienne (tableau 4).

Tableau 4: les résultats de la CMI de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii*

Les souches		CMI % de <i>Lavandula stoechas</i>	CMI % de <i>Thymus fontanesii</i>
P1	Staphylocoque à coagulase négative (SCN)	0.25	0.25
P2	SCN	0.5	1
P3	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.125	1
P4	<i>S.aureus</i>	0.5	1
P5	SCN	1	1
P6	<i>S.aureus</i>	1	1
P7	SCN	0.5	1
P8	<i>S.aureus</i>	1	1
P9	SCN	1	1
P10	SCN	1	1
P11	SCN	1	1
P12	SCN	0.5	1
P13	SCN	1	1
P14	SCN	1	0.125
P15	SCN	0.5	1
P16	SCN	1	1
P17	SCN	1	1
P18	SCN	1	1
P19	SCN	1	1
P20	SCN	1	1
P21	SCN	0.25	1
P22	SCN	1	1
P23	SCN	1	1
P24	SCN	0.5	1

Les résultats obtenus dans notre étude ont permis de démontrer que les huiles essentielles de *Lavandula stoechas* et de *Thymus fontanesii* présentent des concentrations minimales inhibitrices (CMI) relativement faibles vis-à-vis des souches de staphylocoques testées.

*L.stoechas* a montré des CMI variant entre 0,125 % et 1 %, avec une efficacité marquée contre certaines souches, notamment *Staphylococcus aureus* (P3) qui a été inhibée à une concentration de 0,125 % seulement. Quant à *T.fontanesii*, les CMI étaient légèrement plus élevées, oscillant majoritairement autour de 1 %, à l'exception d'une souche (P14) où une concentration de 0,125 % a suffi pour inhiber la croissance.

Selon **Bendella et al. (2020)**, l'huile essentielle de *Thymus fontanesii* a démontré une activité antimicrobienne significative contre *Staphylococcus aureus*. La CMI de cette huile était de 0,625 % pour toutes les souches testées, indiquant une forte efficacité antibactérienne. Cette activité est attribuée à la richesse de l'huile en composés phénoliques tels que le thymol et le carvacrol.

Dans un travail réalisé par **Bachir-Terrak et al. (2019)**, l'huile essentielle de *T. fontanesii* a également été testée sur des souches cliniques multirésistantes de staphylocoques. Les résultats ont mis en évidence une CMI allant de 0,125 à 0,25%, suggérant un potentiel intéressant pour le traitement des infections causées par ces pathogènes. L'étude a également noté que l'activité antibactérienne dépendait en partie de la concentration en thymol et en carvacrol.

L'étude de **Akrout et al. (2020)** a évalué l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* récoltée en Tunisie contre différentes souches bactériennes, y compris *Staphylococcus aureus*. Les résultats ont révélé une CMI variant entre 0,5% et 1%, indiquant une activité antimicrobienne modérée. L'analyse chromatographique a mis en évidence la présence de camphre, de fenchone et de bornéol comme principaux constituants.

**Tounsi et al. (2022)** ont étudié l'huile essentielle de *L. stoechas* sur des isolats cliniques, rapportant une CMI de 0,625% contre *S. aureus*. Les auteurs ont précisé que cette activité pouvait être liée à l'action synergique des constituants majoritaires, bien que ceux-ci soient globalement moins actifs que les phénols.

Dans une étude complémentaire, **Benbelaïd *et al.* (2014)** ont analysé l'huile essentielle de *L. stoechas* d'origine algérienne et ont observé une CMI de 1% contre *S. aureus*. L'efficacité relativement modeste de l'huile a été attribuée à sa composition chimique dominée par des composés oxygénés, qui exercent une activité antimicrobienne plus faible comparativement aux phénols.

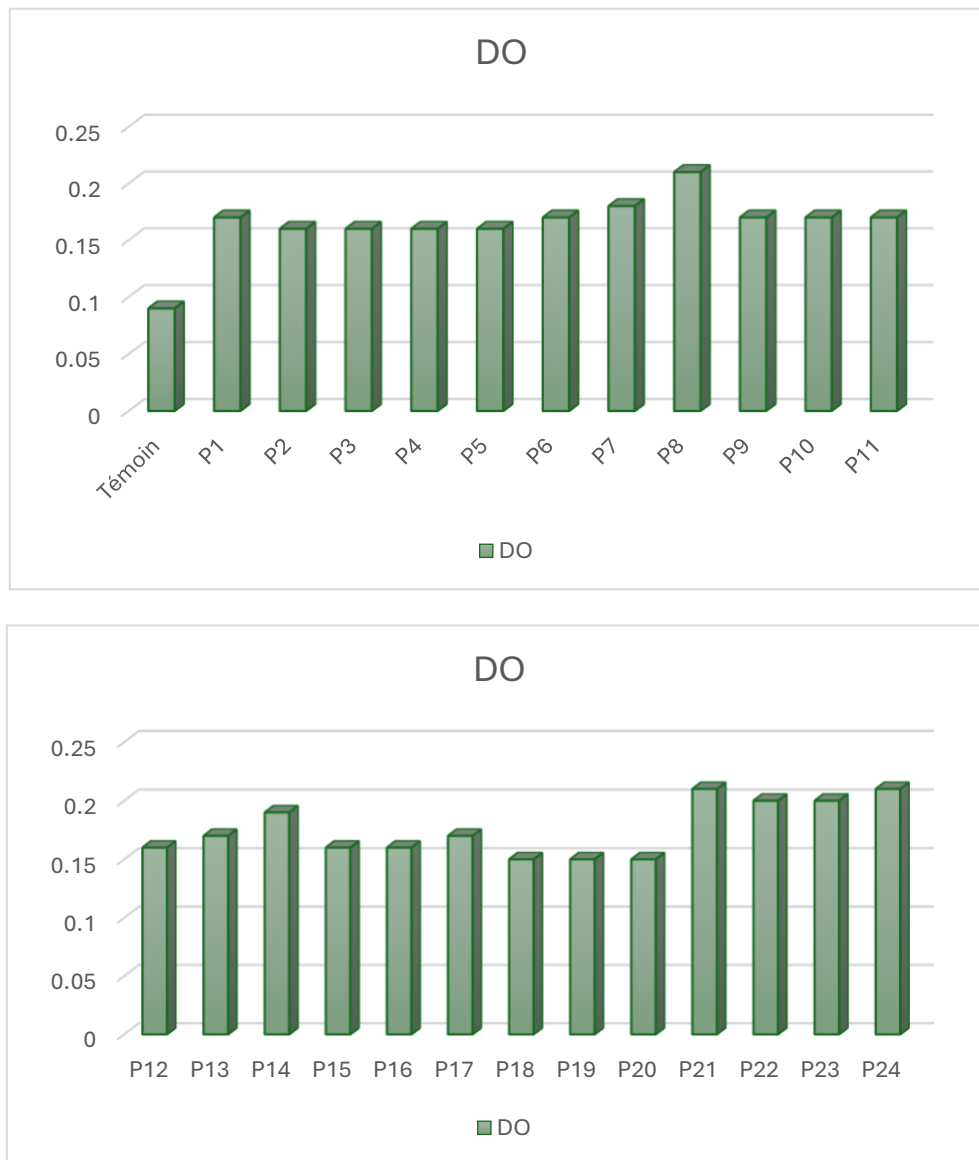
**Sari et Djebli (2014)** ont mis en évidence l'activité de l'huile essentielle de *T. fontanesii* contre des bactéries nosocomiales, y compris *S. aureus*, avec des CMI variables selon les souches. Cela reflète également la variabilité d'action observée dans notre série, où certaines souches se montrent très sensibles et d'autres plus résistantes.

#### **4. Résultats de l'évaluation de la formation du biofilm par la technique TCP et RCA**

Les bactéries pathogènes, notamment en milieu hospitalier, adoptent des stratégies sophistiquées pour résister aux conditions défavorables, parmi lesquelles figure la formation de biofilm. Cette structure complexe leur confère une protection accrue contre les agents antimicrobiens, les désinfectants et l'action du système immunitaire. Par conséquent, les infections associées à ces biofilms présentent une résistance marquée aux traitements conventionnels, ce qui complique leur prise en charge et favorise la chronicité de certaines pathologies (**Hoiby *et al.*, 2010**).

- **Formation de biofilm en microplaque 96 puits (TCP)**

Dans cette partie nous avons testé la capacité de 24 souches de staphylocoques à produire un biofilm par la technique TCP, les figures 10 et 11 résumant les résultats obtenus.



**Figure 10 : Formation de biofilm par la technique TCP chez les staphylocoques**

Selon les résultats obtenus, il a été observé que les 24 souches de staphylocoques étudiées montrent une DO supérieure à 0,13. Toutes les souches présentent une formation de biofilm modérée, avec des densités optiques (DO) variant entre 0,13 et 0,21.

Ces résultats mettent en évidence une variabilité entre les souches, mais confirment globalement que toutes possèdent le potentiel de former un biofilm, ce qui peut contribuer à leur pathogénicité et à leur résistance.

**Neopane *et al.* (2018)** ont rapporté que, parmi les 43 isolats cliniques de *S. aureus*, 69,8 % formaient des biofilms par la méthode TCP, contre 65,1 % par la méthode en tube.

Pokhrel *et al.* (2024) ont observé que, parmi 103 isolats cliniques de *S. aureus*, 48,1 % des souches de *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline SARM étaient de forts producteurs de biofilm selon la méthode TCP, contre 12,2 % des souches de *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline MSSA, soulignant l'efficacité de cette méthode pour détecter la formation de biofilm.



Figure 11 :La formation de biofilm sur microplaque 96 puits

- La détection de la formation de slime par la méthode de rouge Congo RCA

Selon les résultats obtenus, l'ensemble des 24 souches staphylococciques testées se sont révélées slime positives, ce qui indique leur capacité à produire du biofilm (figure 12).



**Figure 12 : Détection de la production de slime sur RCA.**

Selon de **Castro Melo *et al.* (2013)**, l'utilisation du milieu RCA s'est avérée particulièrement fiable pour détecter la formation de slime (biofilm) chez des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* isolées dans des cas de mammite bovine. Dans cette étude, 85 % des souches ont produit une colonie noire typique sur CRA. La sensibilité du test était de 88,9 %, tandis que la spécificité atteignait 100 %.

En effet, les biofilms staphylococciques sont particulièrement problématiques dans le contexte des infections nosocomiales, notamment celles associées aux dispositifs médicaux tels que les cathéters et les prothèses. La présence de biofilms sur ces dispositifs complique le traitement des infections, car les bactéries encapsulées dans la matrice sont moins accessibles aux antibiotiques (**Donlan, 2001**).

La tolérance accrue des biofilms staphylococciques aux antibiotiques classiques justifie la nécessité d'explorer des solutions alternatives, notamment les huiles essentielles, dont l'efficacité antibactérienne et antibiofilm a été largement démontrée (**Soulaimani *et al.*, 2025**).

##### **5. Etude de l'effet des HEs extraites de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii* sur le biofilm préformé**

Cette section évalue l'effet des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* et *Thymus fontanesii* sur les biofilms à staphylocoques déjà formés sur les microplaques 96 puits.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 5.

**Tableau 5 : Comparaison entre les valeurs de DO du biofilm obtenu avant et après l'ajout des HEs**

Les souches	<i>Lavandula stoechas</i>		<i>Thymus fontanesii</i>	
	DO avant	DO après	DO avant	DO après
P1 (SCN)	0.17	0.04	0.17	0
P2 (SCN)	0.16	0.05	0.16	0
P3 ( <i>S.aureus</i> )	0.16	0.08	0.16	0.02
P4 ( <i>S.aureus</i> )	0.16	0.06	0.16	0
P5 (SCN)	0.16	0.04	0.16	0
P6 ( <i>S.aureus</i> )	0.17	0.10	0.17	0
P7 (SCN)	0.18	0.06	0.18	0.02
P8 ( <i>S.aureus</i> )	0.21	0.05	0.21	0.20
P9 (SCN)	0.17	0	0.17	0
P10 (SCN)	0.17	0	0.17	0
P11 (SCN)	0.17	0	0.17	0.1
P12 (SCN)	0.16	0	0.16	0.1
P13 (SCN)	0.17	0.1	0.17	0
P14 (SCN)	0.19	0.1	0.19	0
P15 (SCN)	0.16	0.1	0.16	0
P16 (SCN)	0.16	0.1	0.16	0.1
P17 (SCN)	0.17	0	0.17	0.01
P18 (SCN)	0.15	0	0.15	0.1
P19 (SCN)	0.15	0	0.15	0
P20 (SCN)	0.15	0	0.15	0
P21 (SCN)	0.21	0.01	0.21	0
P22 (SCN)	0.20	0.1	0.20	0.1
P23 (SCN)	0.20	0	0.20	0.01
P24 (SCN)	0.21	0	0.21	0.01

Les résultats de notre étude mettent en évidence une activité anti biofilm notable des huiles essentielles de *Lavandula stoechas* et de *Thymus fontanesii* vis-à-vis de la majorité des souches staphylococciques testées. Des souches telles que P20 P19 et P10 leur DO a diminué jusqu'à 0.

Cette efficacité remarquable peut être attribuée à la richesse de ces huiles en composés bioactifs à fort potentiel antimicrobien (**Soulaimani et al. 2025**).

En particulier, l'huile essentielle de *T. fontanesii* s'est révélée très active, ce qui concorde avec les données antérieures de **Sidali et al. (2017)**, qui ont souligné le rôle central des composés phénoliques tels que le carvacrol dans la désorganisation de la matrice extracellulaire des biofilms. Cette altération structurelle favorise la diffusion des agents antimicrobiens et conduit à une meilleure éradication des cellules bactériennes.

**Valliammai et al. (2020)** ont rapporté qu'une concentration de 100 µg/ml de thymol permettait d'inhiber jusqu'à 88 % la formation de biofilm chez des souches de *S. aureus* résistant à la pénicilline (MRSA). Ces auteurs soulignent également une inhibition de l'adhésion bactérienne sur différents supports (verre, acier, titane), ainsi qu'un effet modulateur sur l'expression de gènes liés à la virulence et à la formation du biofilm, notamment *sarA* et *agr*. Selon eux, l'action combinée de thymol sur la membrane bactérienne et le système de quorum sensing expliquerait cette double activité anti biofilm, ce qui corrobore nos propres observations expérimentales

Concernant *Lavandula stoechas*, bien que son activité anti biofilm soit moins prononcée que celle de *T. fontanesii*, elle demeure significative. **Tounsi et al. (2022)** ont observé une inhibition de la formation de biofilm de *S. aureus* allant de 40 % à 60 %, en fonction de la concentration, avec un effet maximal à 1 %. Cette activité modérée est attribuée à la présence de composés tels que le camphre, le fenchone et le bornéol. Ces molécules, bien que moins puissantes que les phénols, exercent néanmoins une action notamment à des concentrations élevées, ce qui peut expliquer les effets observés dans notre étude.

Par ailleurs, les travaux de **Akrout et al. (2020)** ont montré que l'huile essentielle de *L. stoechas* réduisait l'adhésion initiale des staphylocoques d'environ 45 % à la concentration de 0,75 %, traduisant une capacité à interférer avec les premières étapes de l'installation du biofilm. Toutefois, son efficacité contre les biofilms matures reste limitée.

---

## **Conclusion**

---

Depuis de nombreuses années, l'usage des plantes en médecine traditionnelle pour le traitement des maladies infectieuses est bien établi. Plus récemment, des recherches ont mis en évidence le potentiel thérapeutique des extraits végétaux dans la lutte contre divers agents pathogènes. Les huiles essentielles, également appelées huiles volatiles, sont des mélanges naturels complexes de métabolites secondaires produits par les plantes. Elles sont généralement obtenues par hydrodistillation ou expression mécanique. Leur efficacité contre les phytopathogènes d'origine microbienne est bien documentée, et leurs propriétés antibactériennes ont été mises en évidence dès 1881 par Delacroix.

L'étude menée a permis d'évaluer l'activité antimicrobienne et antibiofilm des huiles essentielles de *Thymus fontanesii* et *Lavandulastoechas* sur 24 souches de staphylocoques, reconnues pour leur capacité à former des biofilms et leur implication dans les infections nosocomiales.

Les tests réalisés ont montré que ces huiles possèdent une activité antimicrobienne significative, avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 10 mm et 38 mm, et des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de 1 à 0.125 %. L'extrait de *T. fontanesii* s'est avéré le plus efficace, notamment contre *S. aureus*, avec des zones d'inhibition atteignant 38 mm et une CMI de 1%, tandis que l'extrait de *L. stoechas* a montré une activité plus modérée, généralement  $\leq$  20 mm. Certaines souches, comme P23 et P16, se sont révélées résistantes aux deux extraits.

Toutes les souches testées ont démontré une capacité modérée de formation de biofilm, avec des densités optiques comprises entre 0,13 et 0,21.

L'application des huiles essentielles sur les biofilms préformés a entraîné une inhibition remarquable, particulièrement pour les souches P10, P19 et P20, dont la densité optique a été totalement réduite (DO = 0). Cette activité antibiofilm dépend de la souche ciblée et de la concentration utilisée.

L'ensemble de ces résultats met en évidence le potentiel des huiles essentielles de *T. fontanesii* et *L. stoechas* comme alternatives prometteuses pour la lutte contre les infections staphylococciques et la résistance associée aux biofilms.

Ainsi, ces résultats confirment le rôle potentiel des huiles essentielles comme alternatives naturelles dans la lutte contre les bactéries multirésistantes. Toutefois, afin de valider leur application thérapeutique, des études complémentaires doivent être envisagées, notamment in

vivo, en tenant compte de la toxicité, de la stabilité et de la biodisponibilité de ces extraits naturels.

Ce travail ouvre donc la voie vers des solutions phytothérapeutiques, plus respectueuses de l'environnement et mieux adaptées à la problématique actuelle de résistance bactérienne. Dans la continuité de cette étude, il serait pertinent d'élargir les travaux à un plus grand nombre de souches cliniques, d'explorer d'autres plantes aromatiques locales, et d'envisager des formulations combinées d'huiles essentielles afin de potentialiser leurs effets. L'étude de leurs mécanismes d'action moléculaires ainsi que leur application sur des modèles in vivo constitue également une perspective prometteuse en vue de leur intégration dans des protocoles thérapeutiques alternatifs

---

## **Références Bibliographiques**

---

1. **Akrout, A., Fekih, A., & Hammami, M. (2020).** Antibacterial and antibiofilm activities of *Lavandulastoechas* essential oil against clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *Natural Product Research*, 34(17), 2410–2414.
2. **Amagai, M. (2009).** Staphylococcal exfoliative toxins: disarming the enemy with their own weapons. *Journal of Investigative Dermatology*, 129(10), 2339–2341
3. **Archer, N. K., Mazaitis, M. J., Costerton, J. W., Leid, J. G., Powers, M. E., & Shirtliff, M. E. (2011).** Staphylococcus aureus biofilms: properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence*, 2(5), 445–459. <https://doi.org/10.4161/viru.2.5.17724>
4. **Arciola, C. R., Baldassarri, L., & Montanaro, L. (2001).** Presence of icaA and icaD genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(6), 2151–2156.
5. **Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010).** Food poisoning and Staphylococcus aureus enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751–1773. <https://doi.org/10.3390/toxins2071751>
6. **Bachir-Terrak, R., Bensouilah, M., & Allal, D. (2019).** Évaluation de l'activité antibiofilm de *Thymus fontanesii* Boiss. et Reut. sur des souches multirésistantes de *Staphylococcus aureus*. *Phytothérapie*, 17(1), 34–41
7. **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
8. **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
9. **Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014).** Coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 870–926. <https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13>
10. **Belmont, M. (2013).** *Lavandula angustifolia* M., *Lavandula latifolia* M., *Lavandula x intermedia* E.: études botaniques, chimiques et thérapeutiques. université Joseph Fourier faculté de pharmacie. [https://www.academia.edu/download/55767771/2013GRE17038\\_belmont\\_maud\\_1\\_D\\_.pdf](https://www.academia.edu/download/55767771/2013GRE17038_belmont_maud_1_D_.pdf)

11. **Benbelaïd, F., Khadir, A., Abdoune, M. A., Bendahou, M., & Muselli, A. (2014).** Activity of Algerian *Lavandulastoechas* essential oil on biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 8(9), 388–395
12. **Bendela, A. N. E., et al. (2020).** Escherichia coli and Staphylococcus aureus responsible for bovine mastitis sensitivity to the essential oil of Algerian *Thymus fontanesii* Boiss. *et Reut. Acta Scientifica Naturalis*, 7(1), 26–32.
13. **Benjilali, B. (2004).** Extraction des plantes aromatiques et médicinales : cas particulier de l'entraînement à la vapeur d'eau et ses équipements. Institut agronomique et vétérinaire. Maroc. Le pharmacien du maghreb, spécial N.2, 198p.
14. **Berube, B. J., & Bubeck-Wardenburg, J. (2013).** Staphylococcus aureus  $\alpha$ -toxin: nearly a century of intrigue. *Toxins*, 5(6), 1140-1166. <https://doi.org/10.3390/toxins5061140> ..... Alonzo, F., & Torres, V. J. (2014). The bicomponent pore-forming leucocidins of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(2), 199-230. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00055-13>
15. **Bouaziz, L., & Laheg, M. (2014).** *Évaluation de l'activité antibactérienne d'une plante médicinale « Lavandulastoechas L. »* [Mémoire de Master, Université 8 Mai 1945 Guelma]. DSpace Université de Guelma. [https://dspace.univguelma.dz/jspui/bitstream/123456789/1587/1/M570.434%20ECOLOGIE.pdf?utm\\_source=chatgpt.com](https://dspace.univguelma.dz/jspui/bitstream/123456789/1587/1/M570.434%20ECOLOGIE.pdf?utm_source=chatgpt.com)
16. **Bourgeois, C. M., Mescle, J. F., & Zucca, J. (1988).** Microbiologie alimentaire. Éditions Techniques et Documentation-Lavoisier, Paris, pp. 65–74.
17. **Bousseboua, H. (2005).** Résistance aux antibiotiques : Mécanismes et implications. Thèse de doctorat, Université Mentouri de Constantine, Algérie.
18. **Bousta, D., Farah, A., Chouka, M., & Aarab, L. (2020).** Étude ethnobotanique et phytopharmacologique de *Lavandulastoechas* au Maroc. *Journal of Applied Biosciences*, 154, 15804–15813. <https://doi.org/10.4314/jab.v154i1.10Zu>
19. **Božović, M., Pirolli, A., & Ragno, R. (2015).** *Mentha suaveolens* Ehrh. (Lamiaceae) essential oil and its main constituent piperitenone oxide: Biological activities and chemistry. *Molecules*, 20(5), 8605–8633. <https://doi.org/10.3390/molecules20058605>

20. **Burt, S. (2004).** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods – A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
21. **Bush, L. M., & Vazquez-Pertejo, M. T. (2023).** Infections staphylococciques. *Manuel MSD – Version professionnelle*. <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/cocci-gram-positifs/infections-staphylococciques>
22. **Chambers, H. F., & DeLeo, F. R. (2009).** Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology*, 7(9), 629–641. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2200>
23. **Chambers, H. F., & DeLeo, F. R. (2009).** Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology*, 7(9), 629–641.
24. **CHEKKALI, K. K., CHAIMA, I., & MESTOUR, H. (2024).** Évaluation du potentiel de formation de biofilms mixtes entre *Staphylococcus aureus* et d'autres espèces microbiennes (Doctoral dissertation, Université ibn khaldoun-Tiaret). <http://dspace.univ-tiaret.dz/handle/123456789/14992>
25. **Chikhoun, A. (2007).** Huiles essentielles de thym et d'origan : étude de la composition chimique, de l'activité antioxydant et antimicrobienne, mémoire de magister, Institut National Agronomique EL Harrach –Alger. p151
26. **Christensen G. D, Simpson W.A, Younger J., et al.** Adherence of coagulase negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*. 1985. Vol 22 ;pp 996–1006.
27. **Chu, C. J., & Kemper, K. J. (2001).** Lavender (*Lavandula* spp.). *Longwood Herbal Task Force*, 32, 1-32. [https://blog.vanhove.fr/wp-content/uploads/2014/12/Chu\\_Lavender\\_Pediatric\\_Education\\_and\\_Research\\_2001.pdf](https://blog.vanhove.fr/wp-content/uploads/2014/12/Chu_Lavender_Pediatric_Education_and_Research_2001.pdf)
28. **Cleef, B. A. G. L. van, Broens, E. M., Voss, A., Huijsdens, X. W., Züchner, L., van Benthem, B. H. B., Kluytmans, J. A. J. W., Mulders, M. N., & van de Giessen, A. W. (2010).** High prevalence of nasal MRSA carriage in slaughterhouse workers in contact with live pigs in The Netherlands. *Epidemiology and Infection*, 138(5), 756–763. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20141647/>

29. **Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999).** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318–1322. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>
30. **Couplan, F. (2012).** Lettre d'informations n°12, rencontre avec la lavande. [http://www.couplan.com/fr/contact/Newsletter/lettre\\_infos\\_couplan\\_12.pdf](http://www.couplan.com/fr/contact/Newsletter/lettre_infos_couplan_12.pdf)
31. **De Castro Melo, P., Ferreira, L. M., Filho, A. N., Zafalon, L. F., Vicente, H. I. G., & de Souza, V. (2013).** Comparison of methods for the detection of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1), 119–124. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822013005000031>
32. **Dealmeida Cournet A. (2010).** « Etude de la catalyse microbienne de la réduction électrochimique du dioxygène ». Mémoire Doctorat. Université Toulouse III Paul Sabatier. P: 13-21
33. **Denoël, A., Coune, C., & Angenot, L. (1975).** Plantes médicinales cultivées à l'Abbaye d'Orval. In *Jardin des Plantes Médicinales - Abbaye d'Orval* (pp. 34-99). Belgium: Abbaye d'Orval. <https://hdl.handle.net/2268/56192>
34. Désertiques Méridionale. Centre national de la recherche scientifique. Paris :
35. **Djendli, S ; Bouali, L.** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la plante médicinale « Eucalyptus globulus ». Mémoire master : Biochimie Appliquée. Université Frères Mentouri, Constantine 1, 2022 ; pp 34-37. Doc, 53, 21-102
36. **Donlan, R. M. (2001).** Biofilms and Device-Associated Infections. *Emerging Infectious Diseases*, 7(2), 277–281. [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/7/2/70-0277\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/7/2/70-0277_article)
37. **Drugeon, H. B., Courtieu, A. L., & Grimont, F. (1990).** Techniques de laboratoire pour l'étude des agents infectieux. Paris : Éditions SIMEP.
38. **Dupont, P., & Guignard, C. (2007).** Classification botanique des plantes à fleurs. Paris : Éditions Dunod
39. **Dutertre J. (2011).** Enquête prospective au sein de la population consultant dans les cabi nets de médecine générale sur l'île de la Réunion : à propos des plantes médicinales, utilisation, effets, innocuité et lien avec le médecin généraliste. Thèse. Doc. Univ. Bordeaux 2- Victor Segalen. U.F.R des sciences médicales. 120p

40. **Elqaj, M., Ahami, A. et Belghyti, D., (2007).** La phytothérapie comme alternative à la résistance des parasites intestinaux aux antiparasitaires. Journée scientifique "ressources naturelles et antibiotiques". Maroc
41. **Farnsworth N.K., Akerele O., Bingel A.S., Soejarto D.D., & Guo Z., (1986).** Places des plantes médicinales dans la thérapeutique. Bulletin de l'organisation mondiale de la santé 64 (2): 159-164
42. **Fennane, M., Ibn Tattou, M., Ouyahya, A., & El Oualidi, J. (2016).** Catalogue des plantes vasculaires rares du Maroc. Rabat : Institut Scientifique. [http://www.israbat.ac.ma/wp-content/uploads/2016/08/Fennane%20et%20al.%20\(17.05.2016\).pdf](http://www.israbat.ac.ma/wp-content/uploads/2016/08/Fennane%20et%20al.%20(17.05.2016).pdf)
43. **Flandrois, J.-P. (1997).** Bactériologie médicale. Presses Universitaires de Lyon.
44. **Foster, T. J. (2005).** Molecular basis of resistance to phagocytosis in *Staphylococcus aureus*. Trends in Microbiology, 13(12), 584-590
45. **Foster, T. J., Geoghegan, J. A., Ganesh, V. K., & Höök, M. (2014).** Adhesion, invasion and evasion: the many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus*. Nature Reviews Microbiology, 12(1), 49–62. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3161>
46. **Fowler, V. G., Olsen, M. K., Corey, G. R., Woods, C. W., Cabell, C. H., Reller, L. B., & Wang, A. (2005).** Clinical identifiers of complicated *Staphylococcus aureus* bacteremia. Archives of Internal Medicine, 165(17), 2069–2075. <https://doi.org/10.1001/archinte.165.17.2069>
47. **Freeman, D. J., Falkiner, F. R., & Keane, C. T. (1989).** New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, 42(8), 872-874.
48. **Ghannadi, A., Sajjadi, S. E., Kabouche, A., & Kabouche, Z. (2004).** *Thymus fontanesii* Boiss. & Reut. -- A potential source of thymol-rich essential oil in North Africa. Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences, 59(3-4), 187–189. <https://doi.org/10.1515/znc-2004-3-410>
49. **Guinoiseau, D. (2010).** Les huiles essentielles : Propriétés et applications thérapeutiques. Revue des Sciences et Techniques, 32(4), 29-42.
50. **Güllüce, M., Sökmen, M., Daferera, D., Açar, G., Özkan, H., Kartal, N., ... & Sökmen, A. (2007).** In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of

- the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Saturejahortensis* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(14), 3958–3965
51. **Guy, Gilly. (2005).** Les plantes aromatique et huiles essentielles a grasse – botanique culture - chimie-production et marché. Préface de hubert richard ; le harmattan, 45 ,23-33
  52. **Haddouchi, F., Lazouni, H. A., Meziane, A., & Benmansour, A. (2009).** Étude physicochimique et microbiologique de l’huile essentielle de *Thymus fontanesii* Boiss. & Reut. *Afrique Science*, 05(2), 246–259.
  53. **Hassan A, Usman J, Kaleem F, Omair M, Khalid A, Iqbal M. (2011).** Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 15(4), 305-311.
  54. **Henrici, A. T. (1933).** Studies of freshwater bacteria: I. A direct microscopic technique. *Journal of Bacteriology*, 25(3), 277–287.
  55. **Herrera, C. M. (2001).** Ecology of the Iberian Peninsula flora: *Lavandulatifolia*. *Journal of Ecology*, 89(4), 587–598
  56. **Hicham, B. (2017).** Plantes médicinales du Maghreb. Casablanca : Éditions Atlas
  57. **Høiby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M., Molin, S., & Ciofu, O. (2010).** Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35(4), 322–332. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2009.12.011>
  58. **Hola V; Ruzicka F.** The Formation of Poly-Microbial Biofilms on Urinary Catheters. 2011.pp 157-159.
  59. **Howden, B. P., Davies, J. K., Johnson, P. D., Stinear, T. P., & Grayson, M. L. (2010).** Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including VISA and VRSA: mechanisms and clinical implications. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(1), 99–139. <https://doi.org/10.1128/CMR.00042-09>
  60. **HUGARD L. (2008).** «Infectiologie, sida et soins infirmiers: Module 1. Édition Wolters Kluwer France. P: 75.
  61. **Idrees, M., Sawant, S., Karodia, N., & Rahman, A. (2021).** *Staphylococcus aureus* Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(14), 7602. <https://doi.org/10.3390/ijerph18147602>
  62. **Iserin, P. (2001).** Encyclopédie des plantes médicinales. Paris : Larousse Bourdasse,

63. **Kalia, A. (2013).** Plant Extracts in Traditional Medicine: A Review of Their Antimicrobial and Therapeutic Properties. *PharmacognosyReview*, 7(14), 63-73. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.112242>
64. **Karthik, S., Schwartz, A., Nagarajan, V., &Elasri, M. O. (2008).** The role of msa in Staphylococcus aureus biofilm formation. *BMC Microbiology*, 8, 221. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-221>
65. **Kaya, D. A., et al. (2009).** Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils of *Lavandulastoechas* L. ssp. *stoechas* growing wild in Turkey. PubMed.
66. **Kloos, W. E., & Bannerman, T. L. (1994).** Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(1), 117–140. <https://doi.org/10.1128/cmr.7.1.117>
67. **Köck, R., Harlizius, J., Bressan, N., Laerberg, R., Wieler, L. H., Witte, W., Deurenberg, R. H., Voss, A., Becker, K., & Friedrich, A. W. (2009).** Prevalence and molecular characteristics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among pigs on German farms and import of livestock-related MRSA into hospitals. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 28(11), 1375–1382. <https://doi.org/10.1007/s10096-009-0795-4>
68. **Kothe, C. (2007).** 1000 plantes aromatiques et médicinales, Paris : Tec & Doc, 13,6-10Lavoisier, 16,87-88.[https://www.persee.fr/doc/revec\\_0040-3865\\_1964\\_num\\_18\\_2\\_4410\\_t1\\_0238\\_0000\\_2](https://www.persee.fr/doc/revec_0040-3865_1964_num_18_2_4410_t1_0238_0000_2)
69. **Kuş, I., & Sökmen, A. (2021).** Methods for Determination of Antimicrobial Activity of Essential Oils In Vitro—A Review. *Molecules*, 26(18), 5540. <https://doi.org/10.3390/molecules26185540>
70. **Ikader, T., Zitouni, A., Guitton, Y., Jullien, F., & Maitre, D. (2019).** Chemical composition and biologicalactivities of *Lavandulastoechas* essential oilscollectedfromdifferentregions of Algeria. *IndustrialCrops and Products*, 129, 391–399. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.004>
71. **Lowy, F. D. (1998).** Staphylococcus aureus infections. *New England Journal of Medicine*, 339(8), 520–532. <https://doi.org/10.1056/NEJM199808203390806>
72. **Lowy, F. D. (2003)** Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Clinical Investigation*, 111(9), 1265–1273. <https://doi.org/10.1172/JCI18535>

73. **Martini, M. C., Seiller, M. (1999).** Actifs et additifs en cosmétologie, Paris : Tec &
74. **McAdow, M., Kim, H. K., DeDent, A. C., & Missiakas, D. M. (2011).** Preventing Staphylococcus aureus sepsis through the inhibition of its agglutination in blood. *PLoS Pathogens*, 7(10), e1002307. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002307>
75. **Mebarki, N., et al. (2020).** Evaluation of biological activities of Thyme extracts and their use as a natural alternative to antibiotics. *Algerian Journal of Environmental Science and Technology*.
76. **Mee-Marquet, N. V., Blanchard, M., Domelier, A. S., & Quentin, R. (2004).** Virulence and antibiotic susceptibility of Staphylococcus aureus strains isolated from various origins. *Pathologie Biologie*, 52, 579–583. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15596306/>
77. **Neopane P, Nepal HP, Shrestha R, Uehara O, Abiko Y. (2018).** In vitro biofilm formation by Staphylococcus aureus isolated from wounds of hospital-admitted patients and their association with antimicrobial resistance. *International Journal of General Medicine*, 11, 25-32.
78. **Novick, R. P., & Geisinger, E. (2008).** Quorum sensing in staphylococci. *Annual Review of Genetics*, 42, 541–564. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.42.110807.091640>
79. **Othman, A. N., Al-Ani, A. M., Al-Holy, M., Al-Nabulsi, A., Osaili, T., Abughoush, M., Ayyash, M., & Holley, R. A. (2023).** A Review of Bacterial Biofilm Components and Formation, Detection Methods, and Their Prevention and Control on Food Contact Surfaces. *Microbiology Research*, 15(4), 132. <https://doi.org/10.3390/microbiolres15040132>.
80. **O'Toole, G. A., Kaplan, H. B., & Kolter, R. (2000).** *Biofilm formation as microbial development.* *Annual Review of Microbiology*, 54, 49–79. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.49>
81. **Otto, M. (2008).** Staphylococcal biofilms. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 322, 207–228. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_10)
82. **Otto, M. (2009).** Staphylococcus epidermidis—the ‘accidental’ pathogen. *Nature Reviews Microbiology*, 7(8), 555–567. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2182>
83. **Otto, M. (2013).** Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. *Annual Review of Medicine*, 64, 175–188. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-042711-140023>

84. **Otto, M. (2018).** Staphylococcal Biofilms. *Microbiology Spectrum*, 6(4). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0023-2018>
85. P335.
86. **Pantrangi, M., Singh, V. K., & Gadepalli, R. (2014).** Coagulase and its role in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* infections. *Indian Journal of Medical Research*, 139(5), 653–660
87. **Parisi, J. T., Baldwin, J. N., & Sottile, M. (1973).** *Pour-Plate Method for the Detection of Coagulase Production by Staphylococcus aureus. Applied Microbiology*, 25(4), 558-561. <https://doi.org/10.1128/am.25.4.558-561.1973>
88. **Pibiri.MC .** Assainissement microbiologique de l’air et des systèmes de ventilation au moyen d’huile essentielle. Th doct : Environnement Naturel, Architectural Et Construit : École Polytechnique Fédérale De Lausanne ,Canada . 2005.p36.
89. **Planchon, S. (2006).** Caractérisation des biofilms de *Staphylococcus aureus* : influence de la sous-expression du gène *agrA*. Thèse de doctorat, Université de Limoges.
90. **Pokhrel S, et al. (2024).** Detection of Biofilm Production and Antibiotic Susceptibility Pattern among Clinically Isolated *Staphylococcus aureus*. PubMed.
91. **Porse, S. (2007).** *Lavandulastoechas*. [Photographie]. Wikimedia Commons. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lavandula\\_stoechas.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Lavandula_stoechas.jpg)
92. **Quezel, P. S., Santa, S. (1963).** Nouvelle Flore de L’Algérie et Des Régions
93. **Reiner, K. (2010, 11 novembre).** *Catalase Test Protocol* [Protocole]. Microrao. <https://www.microrao.com/micronotes/pg/catalase.pdf>
94. **Ryan, K. J., & Ray, C. G. (Eds.). (2004).** *Sherris Medical Microbiology* (4th ed.). McGraw Hill. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8448>
95. **Samanta, I., & Bandyopadhyay, S. (2020).** *Antimicrobial Resistance in Agriculture*. Elsevier. <https://www.elsevier.com/books/antimicrobial-resistance-in-agriculture/samanta/9780128157701>
96. **Sathish JV, Ashwini M, SujithPavan. (2016).** Biofilm production by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*: an evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Microbiology Research*, 3(4), 446-449.

97. **Schilcher, K., & Horswill, A. R. (2020).** Staphylococcal Biofilm Development: Structure, Regulation, and Treatment Strategies. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 84(3), e00026-19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00026-19>
98. **Sharifi-Rad, J., Salehi, B., Mnayer, D., Özçelik, B., Altin, G., Kasapoğlu, K. N., ... & Sharifi-Rad, M. (2018).** Plants of the genus *Lavandula*: From farm to pharmacy. *Natural Product Communications*, 13(10), 1385–1402. <https://doi.org/10.1177/1934578X1801301036>
99. **Sidali, L., et al. (2017).** Chemical composition, acute toxicity, antimicrobial and anti-inflammatory activities of *Thymus fontanesii* essential oil from Algeria. *PhytoChem&BioSub Journal*, 11(1), 30-40.
100. **Sievert, D. M., Rudrik, J. T., Patel, J. B., McDonald, L. C., Wilkins, M. J., & Hageman, J. C. (2008).** Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in the United States, 2002–2006. *Clinical Infectious Diseases*, 46(5), 668–674. <https://doi.org/10.1086/527394>
101. **Soković, M., Glamočlija, J., Marin, P. D., Brkić, D., & van Griensven, L. J. L. D. (2010).** Antibacterial effects of the essential oils of commonly consumed medicinal herbs using an in vitro model. *Molecules*, 15(11), 7532–7546. <https://doi.org/10.3390/molecules15117532>
102. **Soulaimani, B., Abbad, I., Dumas, E., & Gharsallaoui, A. (2025).** Enhanced antimicrobial and biofilm disruption efficacy of the encapsulated *Thymus pallidus* and *Lavandula stoechas* essential oils and their mixture: A synergistic approach. *International Journal of Pharmaceutics*, 670, 125144. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2024.125144>
103. **Stepanovic, S., Vukovic, D., Dakic, I., Savic, B.S., Vabic-Vlahovic, M.** A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*. 2000. Vol 40, p 177.
104. **Sutherland, P.S. (2001).** « Vie bactérienne communautaire (2), l’union fait la force : les biofilms ». *Trends Microbiol.*, pp. 20–22
105. **Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015).** *Staphylococcus aureus* infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(3), 603–661. <https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14>
106. **Touati, A., Benallaoua, S., Doudou, M., & Boudjellat, M. (2007).** Biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolated from medical devices and their resistance

- to antimicrobial agents. *African Journal of Microbiology Research*, 1(4), 63–67. <https://academicjournals.org/journal/AJMR/article-full-text-pdf/AB9AD9B2769>
107. **Tounsi, S., Trabelsi, N., &Rejeb, S. (2022).**Antibiofilm activity of *Lavandulastoechas* essential oil against *Staphylococcus aureus*: Effect on adhesion and biofilm structure. *South African Journal of Botany*, 146, 102–109
108. **Valliammai, A., Selvaraj, A., Udayakumar, Y., Aravindraja, C., &KaruthaPandian, S. (2020).**sarA-dependentantibiofilmactivity of thymol enhances the antibacterialefficacy of rifampicinagainst *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 1744. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01744>
109. **Vialard, J. (2008).** La lavande : Vertus et bienfaits. Rustica Éditions.
110. **World Health Organization. (2017).** Antibacterial agents in clinical development: An analysis of the antibacterial clinical development pipeline, including tuberculosis. <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-EMP-IAU-2017.12>
111. **Zane, M. & Samar, H. (2016).** *Etude De L'activité Antimicrobienne Des Huiles Essentielles Et L'activité Hypoglycémiante Des Extraits Aqueux De Deux Lavandes Locales (lavandulaStoechas L. Et LavandulaDentata L.)* [Mémoire de Master, Université Saad Dahleb - Blida]. [https://theses-algerie.com/8712994831979505/memoire-de-master/universite-saad-dahleb---blida/etude-de-l-activit%C3%A9-antimicrobienne-des-huiles-essentielles-et-l-activit%C3%A9-hypoglyc%C3%A9miante-des-extraits-aqueux-de-deux-lavandes-locales-lavandula-stoechas-l-et-lavandula-dentata-l-?utm\\_source=chatgpt.com](https://theses-algerie.com/8712994831979505/memoire-de-master/universite-saad-dahleb---blida/etude-de-l-activit%C3%A9-antimicrobienne-des-huiles-essentielles-et-l-activit%C3%A9-hypoglyc%C3%A9miante-des-extraits-aqueux-de-deux-lavandes-locales-lavandula-stoechas-l-et-lavandula-dentata-l-?utm_source=chatgpt.com)
112. **zarte, M., &Salgueiro, L. (2015).** Essential oilschemistry. In A. Baser & G. Buchbauer (Eds.), *Handbook of Essential Oils: Science, Technology, and Applications* (pp. 275–303). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b18971Benabde>
113. **Zobell, C. E. (1943).** The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *Journal of Bacteriology*, 46(1), 39–56.

## ملخص

تُعدّ المكورات العنقودية مكونات طبيعية للفلورا الميكروبية الجلدية والمخاطية، لكنها مسؤولة عن التهابات يصعب علاجها بسبب قدرتها على تكوين البيوفيلم، مما يقلل من فعالية العلاجات ويساهم في تكرار العدوى. في مواجهة هذه المشكلة، تحظى الزيوت الأساسية باهتمام متزايد حاليًا باعتبارها بدائل طبيعية واعدة

و *Thymus fontanesii*: الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والمضاد لتكوين البيوفيلم لزيوتين أساسيتين طبيعيتين مستخلصتين من نباتات طبية ، وتقييم (MIC) تم إجراء مجموعة من الاختبارات على سلالات مختلفة من المكورات العنقودية لقياس تثبيط النمو البكتيري، وتحديد التركيز المثبط الأدنى *Lavandula stoechas*. قدرة هذه الزيوت على منع تكوين البيوفيلم في المختبر

أظهرت النتائج أن كلتا الزيوتين تمتلكان نشاطًا مضادًا للميكروبات ملحوظًا مع أقطار تثبيط تتراوح بين 18 مم و 38 مم، وتأثيرات كبيرة على تكوين البيوفيلم العنقودي. وتؤكد هذه كبدائل طبيعية في مكافحة العدوى البكتيرية المقاومة، خاصة في البيئات الاستشفائية *Lavandula stoechas* و *Thymus fontanesii* البيانات على الإمكانيات الواعدة لزيوت

## الكلمات المفتاحية

*Lavandula stoechas* – *Thymus fontanesii* – المكورات العنقودية – المقاومة – البيوفيلم – التأثير المضاد للبكتيريا – التأثير المضاد للبيوفيلم – الزيوت الأساسية

## Abstract

Staphylococci, which are normal components of the skin and mucosal microflora, are responsible for infections that are difficult to treat due to their ability to form biofilms, which reduce treatment efficacy and promote recurrence. In response to this issue, essential oils are currently attracting increasing interest as promising natural alternatives.

The main objective of this study is to evaluate the antibacterial and anti-biofilm activity of two natural essential oils derived from medicinal plants : *Thymus fontanesii* and *Lavandula stoechas*. A series of tests were conducted on different staphylococcal strains to measure bacterial growth inhibition, determine the minimum inhibitory concentration (MIC), and assess the ability of these oils to prevent biofilm formation in vitro.

The results obtained showed that both oils exhibited notable antimicrobial activity, with inhibition zones ranging from 18 mm to 38 mm, and had a significant effect on staphylococcal biofilm formation. These findings highlight the potential of *Thymus fontanesii* and *Lavandula stoechas* essential oils as natural alternatives in combating resistant bacterial infections, particularly in hospital settings.

**Key words** : Staphylococci – Resistance – Biofilm – Antibacterial effect – Antibiofilm effect – Essential oils – *Lavandula stoechas* – *Thymus fontanesii*

## Résumé

Les staphylocoques constituants normaux de la microflore cutanée et muqueuse sont responsables d'infections difficiles à traiter en raison de leur capacité à former des biofilms, rendant les traitements moins efficaces et favorisant les récurrences. Face à cette problématique, les huiles essentielles suscitent aujourd'hui un intérêt croissant en tant qu'alternatives naturelles prometteuses.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne et anti biofilm de deux huiles essentielles naturelles, issues de plantes médicinales : *Thymus fontanesii* et *Lavandula stoechas*. Un ensemble de tests a été réalisé sur différentes souches staphylococciennes afin de mesurer l'inhibition de la croissance bactérienne, la concentration minimale inhibitrice (CMI), et évaluer la capacité de ces huiles à empêcher la formation de biofilms in vitro.

Les résultats obtenus ont montré que les deux huiles possèdent une activité antimicrobienne notable avec des diamètres de 18 mm à 38 mm, et des effets significatifs sur la formation des biofilms staphylococciens. Ces données mettent en évidence le potentiel des huiles essentielles *Thymus fontanesii* et *Lavandula stoechas* comme alternatives naturelles dans la lutte contre les infections bactériennes résistantes, notamment dans les environnements hospitaliers.

**Mots clés** : Staphylocoques – Résistance – Biofilm – Effet antibactérien – Effet antibiofilm – Huiles essentielles – *Lavandula stoechas* – *Thymus fontanesii*