



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABOUBAKR BELKAÏD – TLEMCEM

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de
l'Univers



Département de Agronomie

MEMOIRE

Présenté par :

DAOUDI SAMIA AICHA & KORIB RIMEL

En vue de l'obtention du diplôme de **MASTER**

Option : Sécurité agroalimentaire et assurance qualité

Thème :

Effet d'Eucalyptus sur les Biofilms de *Staphylococcus aureus*
Résistants à la Methiciline

Soutenu le 22/06/2025

Présidente : Bey Faiza

MAA

Examinatrice : Boumedienne Karima

MAA

Encadrante : Didouh Nassima

MCA

Année universitaire : 2024 – 2025



Remerciement

À l'issue de ce travail, je souhaite exprimer ma gratitude et mes chaleureux remerciements, en premier lieu à Dieu tout-puissant et miséricordieux qui m'a accordé le courage et la force nécessaires pour mener à bien cette modeste tâche.

Nous tenons à remercier notre encadrante **DIDOUH NASSIMA**, maître de conférence classe A au département de Biologie à l'Université de Tlemcen, pour sa disponibilité et pour sa grande Professionnalité, elle a su mettre à disposition sa connaissance pour nous permettre d'avancer dans notre recherche, nous avons énormément appris.

Nos remerciements s'adressent à les membres de jury pour leur présence, pour leur lecture attentive de notre thèse ainsi que pour leurs remarques qu'ils nous adressent lors de cette soutenance afin d'améliorer notre travail.

Nous remercierons également le personnel du laboratoire pédagogique pour leur aide durant l'élaboration de l'expérimentation de ce travail.

Ce mémoire n'aurait jamais pu voir le jour sans le soutien actif des membres de notre famille, surtout nos parents qu'ils nous ont toujours encouragés moralement et matériellement et à qui on tient à les remercier.

Enfin on tient à exprimer vivement nos remerciements avec une profonde gratitude à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à sa réalisation, car un projet ne peut pas être le fruit d'une seule personne.

Dédicaces

Je dédie ce travail :

A ma raison de vivre "maman", mon modèle et ma première source de soutien. Merci pour votre présence constante et votre soutien continu, et surtout merci pour votre amour. Que Dieu vous bénisse d'une bonne santé.

A mon trésor " papa ", qui m'a toujours poussée et motivée dans mes études, même si tu es parti trop tôt, ta présence et ta bienveillance continuent de guider chacun de mes pas.

Mon seul souhait est que vous soyez fiers de moi aujourd'hui.

A ma chère sœur IBTISSEM, Merci pour votre amour et votre soutien tout au long de mon parcours académique, sans toi, je ne serais pas arrivé ici. Je demande à Dieu de vous bénir avec plus que ce que vous méritez.

A mes sœurs adorées, HAYET et DOUNIA, Merci pour votre amour et votre présence constante, qui ont rendu cette étape très précieuse.

A mes neveux et nièce, YACINE, ADEM et ma WISSAM, je vous aime tous.

A mon cher binôme RIMEL, Merci d'être à mes côtés dans toutes les situations et merci pour votre soutien et votre fidélité.

A mes amies, HADJER, SALIHA, CHAIMAA, SOUHILA, HANANE, SOULEF

Merci Pour vos aide et vos soutien dans les moments difficiles.

Et enfin, je remercie toutes les personnes qui ont contribué directement et indirectement à nous aider à atteindre notre objectif.

Dédicace

J'offre ce modeste travail :

A mes parents, aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler. Que Dieu leur procure bonne santé et longue vie.

A mes chers frères et sœurs, RAZIA, WAFAA, ZAKI et YOUSRA, vous êtes le soutien ferme sur lequel je m'appuie. Je vous remercie pour votre soutien indéfectible et pour les instants de bonheur et d'épreuve que nous avons traversés ensemble.

A ma cher nièce RANIME que dieu te garde pour nous.

A ma chère collaboratrice SAMIA, qui a constamment été à mes coté dans toutes les situations, m'apportant son soutien et encouragement sans faille.

A tous mes amies, tout particulièrement HADJER, ZINEB, SOUHILA, MARWA, ISLAM, OUSSAMA pour leur amitié constante et leur présence qui ont rendu ces années d'études plus heureuses et inoubliables.

A la fin je tiens à exprimer ma profonde gratitude et mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont apporté leur contribution, de manière directe ou indirecte, à la réalisation de ce projet.

Résumé :

Le détachement des biofilms de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) sur les surfaces représente un véritable défi dans les hôpitaux, car ces biofilms sont particulièrement résistants aux traitements antibactériens et sont responsables de nombreuses infections nosocomiales. Les huiles essentielles, notamment celles issues de l'Eucalyptus, apparaissent comme des alternatives naturelles intéressantes grâce à leurs propriétés antimicrobiennes et leur capacité à lutter contre les biofilms. Cette étude s'est donc penchée sur l'effet des huiles essentielles d'*Eucalyptus radiata* et d'*Eucalyptus globulus* sur les biofilms formés par des souches de SARM. L'analyse chimique a été analysée par chromatographie en phase gazeuse (GC) / spectrométrie de masse (MS) a montré que l'huile d'*Eucalyptus radiata* contient principalement du 1,8-cinéol (66,43 %), tandis que celle d'*Eucalyptus globulus* est riche en globulol (18,60 %). Les tests d'inhibition réalisés par la technique de diffusion sur disque et la technique de CMI ont révélé que les deux huiles possèdent une forte activité antibactérienne, avec des zones d'inhibition variant de 19,33 à 23,66 mm et 19,33 à 26,66 mm selon les souches. L'huile d'*Eucalyptus radiata* s'est distinguée par une efficacité supérieure, avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) très faible, atteignant 0,000032 mg/mL par rapport aux *globulus* qui montre une concentration de 0,33 mg/mL. Leur effet a été effectué sur les biofilms formés sur des surfaces en acier inoxydable, les huiles d'*Eucalyptus radiata* et *globulus* ont significativement réduit la charge bactérienne des biofilms, avec des réductions logarithmiques allant jusqu'à 7,18 log₁₀. Ces résultats suggèrent que les huiles essentielles d'*Eucalyptus*, en particulier celle de *radiata*, pourraient être des agents naturels efficaces pour prévenir et détruire les biofilms de SARM, offrant ainsi une piste prometteuse pour lutter contre les infections résistantes aux antibiotiques.

Mots clés : *Staphylococcus aureus* résistants à la méthycéline, biofilms, *Eucalyptus radiata*, *Eucalyptus globulus*, détachement.

Abstract :

The detachment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) biofilms from surfaces represents a real challenge in hospitals, as these biofilms are particularly resistant to antibacterial treatments and are responsible for many nosocomial infections. Essential oils, particularly those derived from Eucalyptus, appear to be interesting natural alternatives thanks to their antimicrobial properties and their ability to combat biofilms. This study therefore examined the effect of *Eucalyptus radiata* and *Eucalyptus globulus* essential oils on biofilms formed by MRSA strains. Chemical analysis by gas chromatography (GC)/mass spectrometry (MS) showed that *Eucalyptus radiata* oil contains mainly 1,8-cineole (66.43%), while *Eucalyptus globulus* oil is rich in globulol (18.60%). Inhibition tests carried out using the disk diffusion technique and the MIC technique revealed that both oils possess strong antibacterial activity, with zones of inhibition ranging from 19.33 to 23.66 mm and 19.33 to 26.66 mm depending on the strain. *Eucalyptus radiata* oil stood out for its superior efficacy, with a very low minimum inhibitory concentration (MIC), reaching 0.000032 mg/mL compared with globulus, which showed a concentration of 0.33 mg/mL . When tested on biofilms formed on stainless steel surfaces, *Eucalyptus radiata* and *globulus* oils significantly reduced the bacterial load of biofilms, with logarithmic reductions of up to 7.18 log₁₀. These results suggest that Eucalyptus essential oils, particularly radiata, could be effective natural agents for preventing and destroying MRSA biofilms, offering a promising avenue for combating antibiotic-resistant infections.

Key words: Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, biofilms, *Eucalyptus radiata*, *Eucalyptus globulus*, detachment.

الملخص:

تُشكّل إزالة الأغشية الحيوية الرقيقة المقاومة للميثيسيلين (MRSA) من الأسطح تحدياً حقيقياً في المستشفيات، حيث أن هذه الأغشية الحيوية الرقيقة مقاومة بشكل خاص للعلاجات المضادة للبكتيريا وهي مسؤولة عن العديد من حالات العدوى المكتسبة في المستشفيات. يبدو أن الزيوت العطرية، وخاصة تلك المستخلصة من الأوكالبتوس، بدائل طبيعية مثيرة للاهتمام بفضل خصائصها المضادة للميكروبات وقدرتها على مكافحة الأغشية الحيوية الرقيقة. لذلك بحثت هذه الدراسة في تأثير زيوت الأوكالبتوس رادياتا وزيوت الأوكالبتوس غلوبولوس الأساسية على الأغشية الحيوية الرقيقة التي تشكلها سلالات بكتيريا العقنوديات الذهبية المقاومة للميثيسيلين. أظهر التحليل الكيميائي عن طريق كروماتوغرافيا الغاز (GC)/مقياس الطيف الكتلي (MS) أن زيت الأوكالبتوس رادياتا يحتوي بشكل أساسي على-1,8 سينول (66.43%) ، بينما زيت الأوكالبتوس غلوبولوس غني بالغلوبولول (18.60%). كشفت اختبارات التثبيط التي أُجريت باستخدام تقنية الانتشار القرصي وتقنية التركيز المغناطيسي المتوسط أن كلا الزيتين لهما نشاط قوي مضاد للبكتيريا، حيث تراوحت مناطق التثبيط بين 19.33 و 23.66 ملم و 19.33 إلى 26.66 ملم حسب السلالة. برز زيت الأوكالبتوس رادياتا بفعاليتيه المتفوقة، مع تركيز مثبط أدنى منخفض جداً (MIC) يبلغ 0.000032 ملغم/مليلتر مقارنةً بزيت الجلوبولوس الذي كان تركيزه 0.33 ملغم/مليلتر. عند اختباره على الأغشية الحيوية الرقيقة المتكونة على أسطح الفولاذ المقاوم للصدأ، قللت زيوت الأوكالبتوس المشع وزيوت الجلوبولوس بشكل كبير من الحمل البكتيري للأغشية الحيوية، مع انخفاض لوغاريتمي يصل إلى 7.18 لوغاريتم. 10 تشير هذه النتائج إلى أن زيوت الأوكالبتوس العطرية، وخاصةً زيوت الأوكالبتوس الرادياتا يمكن أن تكون عوامل طبيعية فعالة لمنع الأغشية الحيوية المقاومة للميثيسيلين (MRSA) وتدميرها، مما يوفر وسيلة واعدة لمكافحة العدوى المقاومة للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: المكورات العقنودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين، الأغشية الحيوية، أوكالبتوس رادياتا، أوكالبتوس

جلوبولوس، الانفصال.

Sommaire :

1. Introduction générale	01
Chapitre I : Généralités sur <i>Staphylococcus aureus</i>	
1. Généralités sur les <i>Staphylococcus aureus</i>	04
2. Généralités sur les biofilms	04
Définition	04
2.1 Les étapes de formation des biofilms	06
2.2.1. Croissance et maturation	07
2.2.2. Détachement et dispersion	08
2.2.3. La tolérance du biofilm	08
3. La lutte contre la résistance aux agents antimicrobiens	09
Chapitre II : Les huiles essentielles	
4. Généralités sur les huiles essentielles	12
5. Les huiles essentielles comme antimicrobiens	13
Chapitre IV : Matériel et méthodes	
1. Origine des souches	16.
2. Revivification et vérification de la pureté des souches	16
3. Extraction des huiles essentielles	16.
4. Évaluation de l'activité antimicrobienne par diffusion sur disques	17
4.1. Procédure d'opération	17.
5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	18

5.1. Procédure d'opération	18.
6. Détachement des biofilms de <i>S. aureus</i> sur acier inoxydable	18
6.1. Préparation des surfaces	18
6.2 Formation du biofilm	19
6.3 Dénombrement des cellules viables	19
6.4 Traitement des biofilms avec les huiles essentielles	19
Résultats et discussion	
1. Revirification et vérification de la pureté des souches	26
2. Effet des huiles essentielles sur <i>S. aureus</i>	26
1.Évaluation de la CMI	30.
1.Effet des huiles essentielles sur les biofilms	31
Conclusion	34
Références	
bibliographiques	
Annexes	
.....	

Liste des abréviations :

ADN : Acide désoxyribo nucléique

MH: Muller-Hinton

SFP :Intoxication alimentaire des *staphylocoques aureus*

QS :Quorum sensing

EPS : Exo-poly-saccharides

RAM : Résistance aux antimicrobiens

HE :Huile Essentiel

MSA: Mannitol Salt Agar

BCE :avant l'ère Commune

MDR: Multirésistantes aux antibiotiques.

XVIe:Seizième siècle (lzs années 1501 à 1600)

XXe :Vingtième siècle (1901 à 2000)

PBS: Tampon phosphate saline

LR: La réduction logarithmique

ORL :oto -rhino-laryngologique

GC/FID: chromatographie en phase gazeuse / ionisation de flamme

GC/MS: chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse

Liste des Figes:

Figure 01: Étapes de la formation d'un biofilm.	07
Figure 02: la plante d'Eucalptus.	12
Figure 03 : Principals processus d'extraction des huiles essentielles des parties aromatiques des plantes.	13
Figure 04 : la zone d'inhibition après traitement par l' huiles essentielle l' <i>Eucalyptus Radiata</i>	27
Figure 05: la zone d'inhibition après traitement par l' huiles essentielle l' <i>Eucalyptus Globulus</i> .	28
Figure 06: Log ₁₀ des cellules adhérentes (control positive).	32

Listes des tableaux:

Tableau 01 : principaux composant d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus radiata</i>	35
Tableau 02: principaux composants d'huile essentielle d' <i>Eucalyptus globulus</i> .	37
Tableau 03: Résultat des diamètres des zones d'inhibitions en mm des l'huiles essentielles <i>Eucalyptus Radia-ta</i> et <i>Eucalyptus Globulus</i>	39
Tableau 04: Résultats des l'analyses de la CMI effectuées sur les micro plaques d' <i>Eucalyptus Radia-ta</i> et d' <i>Eucalyptus Globulus</i> .	42

Introduction

Introduction générale :

Les antimicrobiens sont utilisés depuis des siècles et, à la fin des années 1920, Alexander Fleming a découvert et présenté la pénicilline. Dans les années 1940, la pénicilline a été préparée pour être utilisée dans les traitements (**Ventola, 2015**), et divers antibiotiques disponibles dans le commerce ont été rapidement utilisés pour traiter les infections et les maladies (**Kimera et al., 2020 ; Debabov, 2013**). Fleming a prédit la résistance aux antimicrobiens (RAM) en proposant que l'utilisation inappropriée de la pénicilline pourrait entraîner la mutation de *Staphylococcus aureus*, ce qui se traduirait par des infections plus graves et la transmission de souches résistantes d'un hôte à l'autre" (**Birgand et al., 2020 Rosenblatt-Farrell., 2009**). Dans les années 1940, la résistance à la pénicilline a été démontrée (**Ventola, 2015**). De nombreuses souches de *staphylocoques* sont devenues résistantes à la pénicilline (**Lobanovska & Pilla., 2017**), et rapidement > 50 % des souches étaient résistantes (**Alanis, 2005**). La production mondiale annuelle d'antibiotiques est proche de 100 000 tonnes (**Martens & Demain., 2017**), avec deux tonnes utilisées toutes les 10 min (**Harbarth et al., 2015**). Non seulement *S. aureus* a acquis une résistance, mais de nombreuses souches sont devenues multirésistantes (antibiotiques et agents chimiothérapeutiques) (MDR) (**Nikaido., 2009**).

Au niveau mondial, les principales causes d'infections nosocomiales sont *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecium*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *S. aureus* (**Santajit & Indrawattana., 2016**). La lutte contre les bactéries MDR nécessite des découvertes thérapeutiques cruciales, un meilleur contrôle des infections et des pratiques antimicrobiennes avancées (**Santajit & Indrawattana., 2016**).

De nombreuses huiles essentielles (HE) possèdent une activité antimicrobienne (**Reda et al., 2020a, 2020b; Millezi et al., 2016**), mais malgré leur utilisation très répandue à des fins multiples, seule une petite proportion est utilisée commercialement (**Ragno et al., 2020 ; Ghabraie et al., 2016**). On pense que la plupart des HE agissent sur la membrane et la paroi cellulaire mode d'action d'une variété d' HE doit donc encore être évalué. Très peu d'études ont été menées sur les HE afin d'identifier celles qui ont une capacité de destruction rapide, c'est-à-dire un temps de contact inférieur à 10 minutes. Les HE ont le potentiel de s'attaquer à la menace de la Résistance aux antimicrobiens (RAM) et de la MDR (**Faleiro, 2011**).

Notre travail a pour objectif d'évaluer l'efficacité des huiles essentielles d'*Eucalyptus Globulus* et d'*Eucalyptus Radiata* sur *S. aureus* et l'élimination de la formation de biofilm.

Une compréhension approfondie de ces éléments pourrait favoriser la mise au point de nouveaux agents thérapeutiques ou d'additifs alimentaires visant à prévenir ou traiter les infections provoquées par *S. aureus*.

Cette étude se compose de trois chapitres structurés de la manière suivante : Le premier chapitre présente une revue bibliographique concernant les *S. aureuse*, la formation de biofilm par *S. aureus*, ainsi que des généralités sur les huiles essentielles (*Eucalyptus Globulus*, *Eucalyptus Radiata*), et leurs mode d'action. Les deuxième et troisième chapitres traitent matériel et méthodes , suivi par les résultats et la discussion correspondante.

Chapitre I: Biofilm de *Staphylococcus aureus*

Chapitre I : Généralités sur *Staphylococcus aureus*

1. Généralité sur les *Staphylococcus aureus*:

Staphylococcus aureus est un pathogène redoutable qui a su développer des résistances à chaque nouvel antibiotique introduit depuis un demi-siècle. La plasticité de son génome lui confère la capacité de s'adapter à toutes les conditions environnementales, et notamment d'acquérir des gènes de résistance aux antibiotiques et de développer des mécanismes de régulation pour s'adapter à des concentrations croissantes d'antibiotiques. Ainsi, dès 1941 sont apparus les *staphylocoques* résistants à la pénicilline, grâce à l'acquisition d'une pénicillinase plasmidique, enzyme dégradant la pénicilline. La résistance à la pénicilline, initialement restreinte au milieu hospitalier, a très vite diffusé en milieu communautaire et concerne actuellement plus de 90 % des souches de *S. aureus*. Pendant les années 1950 sont apparues les souches de *S. aureus* multirésistantes : la résistance à la pénicilline était associée à la résistance à la streptomycine, à l'érythromycine, à la tétracycline, au chloramphénicol ainsi qu'aux sulfamides. L'introduction en 1959 de la méticilline, dérivé semi-synthétique de la pénicilline, pour le traitement des infections *staphylococciques* a soulevé un grand espoir. Mais à peine un an plus tard, les premières souches hospitalières de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) sont apparues dans un hôpital de Grande-Bretagne (Oliveira *et al.* , 2002). Le secret de ce pouvoir d'adaptation a été partiellement percé par le séquençage du génome de *S. aureus* effectué par les équipes de Baba et d'Hiramatsu (Kuroda *et al.* , 2001). Le génome de *S. aureus* est formé de deux domaines fonctionnels distincts. La majeure partie du chromosome contient les gènes qui assurent la maintenance de la bactérie. La deuxième partie du génome est constituée d'éléments génétiques accessoires et mobiles comme des plasmides, transposons, prophages ou des îlots de pathogénie portant la plupart des gènes associés à des facteurs de virulence et à la résistance aux antibiotiques (Ito .2003 ; Bukharie .2001). Ainsi, en dehors des mutations spontanées, *S. aureus* diversifie son génome grâce aux échanges de matériel génétique avec d'autres espèces bactériennes par des phénomènes de transfert horizontal de gènes. Le phénotype de résistance, comme le profil pathogénique, semble donc bien être déterminé par les combinaisons de ces éléments génétiques accessoires portés par le chromosome (Lebeaux & Chigo, 2012).

1. Généralités sur les biofilms :

1.1. Définition

Chapitre I : Généralités sur *Staphylococcus aureus*

Le biofilm correspond à un environnement physiquement structuré. L'utilisation de la microscopie optique, puis confocale, a permis de montrer que le biofilm est composé d'agrégats de microorganismes, séparés par des espaces libres, dépourvus de bactéries et parcourus par des courants aqueux ; véritables « canaux », ceux-ci y assurent la circulation de fluides et permettent à la fois l'apport de nutriments aux bactéries et l'élimination de leurs produits de dégradation (Lawrence *et al.*, 1991). Ainsi, le biofilm n'est-il pas un milieu homogène, mais un environnement structuré qui présente souvent une architecture complexe, très variable d'un biofilm à l'autre selon les microorganismes qui le composent et les conditions environnementales (Stoodley *et al.*, 2001 ; Lewandowski, 1994).

La matrice extracellulaire est une caractéristique de nombreux biofilms. Le développement de l'architecture des biofilms bactériens est en grande partie lié à la production de la matrice extracellulaire par les bactéries du biofilm. Cette matrice inclut tous les éléments du biofilm autre que les microorganismes. Elle est essentiellement composée d'eau (jusqu'à 97 %), de polymères polysaccharidiques sécrétés par les microorganismes, de produits de dégradation et de substances provenant du milieu extérieur. Néanmoins, on peut également y trouver d'autres composants, tels que de l'ADN, de l'ARN et des lipides (Sutherland, 2001).

Le biofilm est un environnement hétérogène. Le développement tridimensionnel du biofilm conduit à la création de gradients physico-chimiques. Ainsi, contrairement aux cultures classiques réalisées en milieux liquides agités, le biofilm n'est pas un environnement homogène car il présente des zones à teneurs variables en oxygène ou en nutriments, qui présentent des valeurs de pH différentes. Les régions au centre des agrégats bactériens sont généralement anaérobies et pauvres en nutriments, alors que celles situées près des canaux ou de l'interface entre le biofilm et le liquide sont mieux oxygénées et plus riches en nutriments (Costerton *et al.*, 1994).

Cette hétérogénéité physico-chimique s'accompagne d'une hétérogénéité métabolique, source de microenvironnements qui permet la coexistence organisée d'espèces bactériennes aux propriétés métaboliques différentes et souvent complémentaires. Il en résulte une répartition biologique organisée de nombreux microorganismes dans le biofilm où peuvent cohabiter bactéries, champignons, algues et protozoaires. Les bactéries du biofilm possèdent des propriétés spécifiques. La notion de biofilm recouvre donc des formations biologiques assez différentes et souvent très complexes, associant haute densité bactérienne, production de matrice et croissance sur une surface. De nombreux travaux ont montré que la formation d'un

biofilm induit une expression différentielle des gènes, comparée à celle des bactéries planctoniques (**Beloin & Ghigo, 2005 ; Whitele et al., 2001**). Il faut également ajouter que l'ensemble des caractéristiques structurales et physico-chimiques du biofilm confère aux bactéries qui le composent, des propriétés spécifiques de morphologie, de croissance, de communication entre les cellules et de résistances aux biocides, distinctes de celles des bactéries planctoniques.

Le terme de biofilm a été proposé en 1978 pour désigner une communauté de microorganismes enrobés d'une matrice hydratée, riche en polymères extracellulaires, et en contact avec une surface (**Costerton et al., 1978**). Il est à présent associé à de nombreuses formations microbiennes caractérisées par l'expression de propriétés biologiques originales en comparaison avec des organismes isolés en suspension (**Mc Dougal et al., 2011 ; Hall Stoodley et al., 2009**). À l'échelle de la planète, les biofilms jouent un rôle écologique majeure (**Ramey et al., 2004**). En revanche, leur développement a de nombreux effets négatifs sur les procédures industrielles ainsi qu'en médecine humaine, la formation de biofilms bactériens et fongiques sur les prothèses et cathéters contribuant au développement des infections liées aux soins (**Kilb et al., 2003 ; Costerton et al., 1999**). De nombreux problèmes associés au développement des biofilms en milieu médical, ont pour origine leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens (antibiotiques et désinfectants). Cette résistance accrue, multifactorielle, est liée aux conditions de vie dans le biofilm (hétérogénéité, accès aux nutriments, oxygène etc. physiologiques des micro-organismes et induisent des mécanismes de résistance spécifiques qui s'ajoutent aux mécanismes de résistance connus. La résistance élevée des biofilms aux agents antibactériens pourrait également reposer sur la présence d'une sous-population de bactéries résistantes, capables de résister à de fortes concentrations d'antibiotiques (**Lewis, 2005**). Ainsi, alors que les progrès de la médecine moderne permettent de lutter efficacement contre de nombreuses maladies infectieuses, celles qui sont liées à la présence de biofilms, échappent largement à ce type de traitements. Les antibiotiques sont en effet très peu efficaces contre les biofilms et les symptômes peuvent réapparaître une fois le traitement fini. De nombreux antibiotiques, comme les β -lactamines, sont plus efficaces sur les bactéries se multipliant activement. L'accès limité aux nutriments, la faible concentration en oxygène et le pH élevé des couches profondes du biofilm induisent un ralentissement de la croissance bactérienne qui pourrait diminuer l'activité des agents antibactériens (**Hall-Stoodley et al., 2009 ; Davies, 2003**)

1.2. Les étapes de formation des biofilms :

La formation et la survie d'un biofilm se font par attachement/détachement, croissance et maturation (Brigand *et al.*, 2020; O'Toole, 2003), l'attachement dépendant de nombreux facteurs pour un développement réussi (O'Toole, 2003). Les biofilms ont besoin d'un flux constant de nutriments à l'intérieur du biofilm et de déchets à l'extérieur du biofilm. En outre, une communication efficace au sein du biofilm est nécessaire.

Pour terminer le cycle, le détachement des cellules est nécessaire pour commencer un nouveau cycle. Les biofilms contiennent souvent un mélange d'espèces (Kommerein *et al.*, 2018) qui nécessite un Quorum sensing, une coopération métabolique et des interactions compétitives ou synergiques (Elias & Banin, 2012). Les étapes de la formation d'un biofilm sont décrites (voir figure 01).

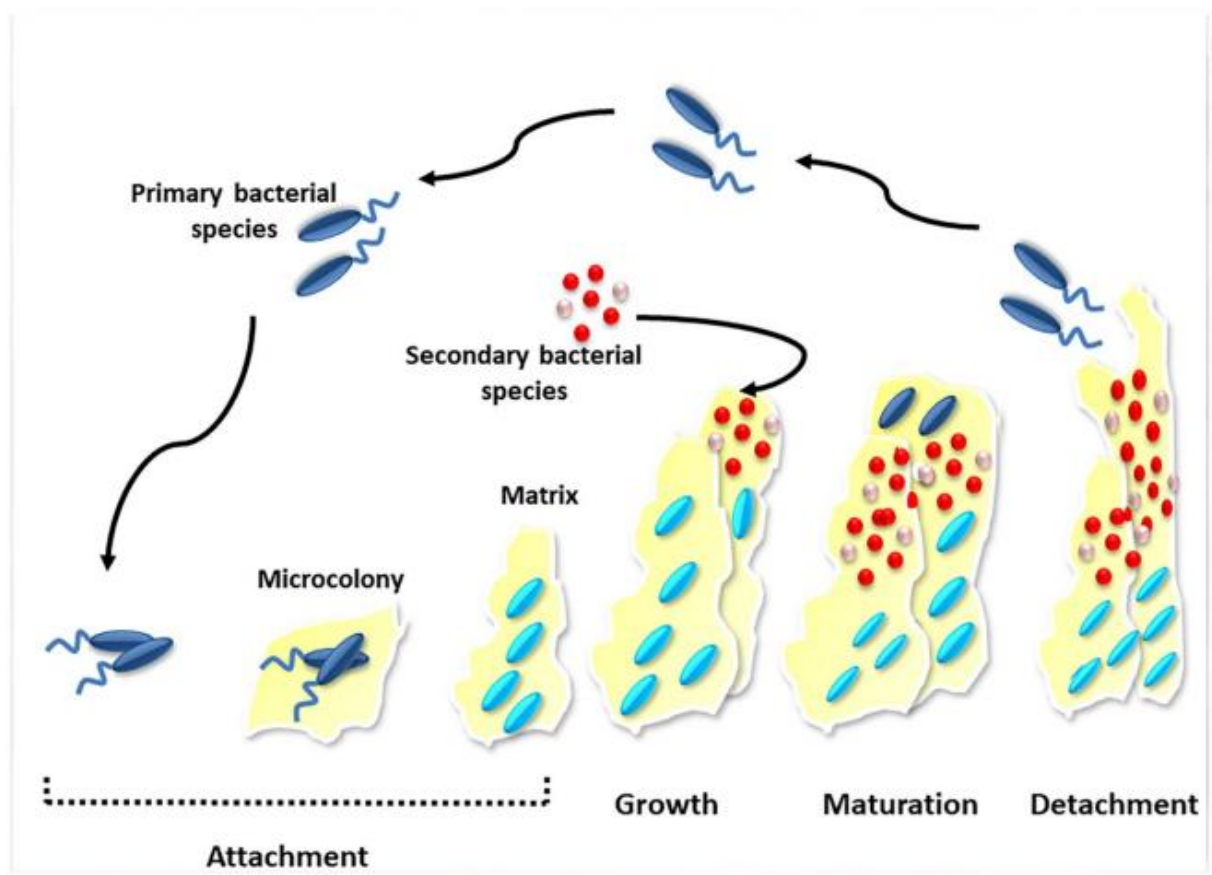


Figure 01: Les étapes de la formation d'un biofilm (Khaled A . El Tarabily *et al.*, 2021)

1.1.2. Croissance et maturation

Chapitre I : Généralités sur *Staphylococcus aureus*

Le début de la croissance du biofilm nécessite une augmentation du QS, le développement de microcolonies et la formation d'une couverture polymérique extra cellulaire, conduisant à une structure 3D d'amas cellulaire (Toyofuku *et al.*, 2016). Les microcolonies se développent à mesure que les cellules se répliquent par division cellulaire (Toyofuku *et al.*, 2016) et génèrent des composants extra cellulaires, formant un revêtement de glycoprotéine/glycolipide, à la suite de l'interaction avec l'interaction avec les matériaux organiques et inorganiques environnants (Kimera *et al.*, 2020; Dunne, 2002). La matrice exopolysaccharide (EPS), semblable à un gel, a une forte teneur en eau.

L'une des fonctions de l'EPS est de protéger les cellules microbiennes de la dessiccation (Carpentier & Cerf, 1993). Les bio polymères de l'EPS se composent de glycoprotéines, de protéines, de polysaccharides, d'ADN Extra cellulaire et de glycolipides (Flemming *et al.*, 2007), avec des canaux pour le transport des nutriments et de l'eau, et l'élimination des déchets (Arunasri & Mohan, 2019). Un doublement de la masse d'EPS se produit souvent à l'approche de la maturation (Jiao *et al.*, 2010) mais dépend de la souche bactérienne et des facteurs environnementaux (Kimera *et al.*, 2020 ; Harmsen *et al.*, 2010).

Pour que la formation d'un biofilm soit réussie, il faut un emplacement approprié, des organismes essentiels et une concentration suffisante de nutriments. La structure d'un biofilm mature peut constituer une couche homogène, des micro-colonies dispersées ou des amas de cellules saillantes (Reisner *et al.*, 2003). À une densité critique, la libération de signaux chimiques (autoinducteurs) reconnus par les récepteurs de la cellule se produit. Ces autoinducteurs sont considérés comme des antibiotiques, des sidérophores ou des déchets (Hense & Schuster, 2015). Les molécules autoinductrices trouvées dans les bactéries comprennent les autoinducteurs oligopeptidiques, les acyl- homosérine lactones et l'autoinducteur-2 (AI-2 ; diester de borate furanosyl) (Hense & Schuster, 2015). Lorsque les autoinducteurs atteignent un niveau critique, les cellules bactériennes réagissent en exprimant ou en représentant les gènes cibles (Butt & Khan, 2015.) Le biofilm peut bénéficier de l'expression des gènes en augmentant la virulence, en favorisant le transfert génétique, en régulant à la hausse la production d'EPS et les pompes d'efflux, et en contribuant à la résistance aux facteurs de stress (Butt & Khan, 2015; Cortés *et al.*, 2011). Lors de la maturation du biofilm, la mort cellulaire survient en raison d'un manque de nutriments, de fluctuations du pH, d'une privation d'oxygène ou d'un empoisonnement dû à l'accumulation de déchets (Dunne, 2002.)

1.1.3. Détachement et dispersion :

Le détachement et la dispersion des biofilms se produisent si les composés de synthèse de la matrice du biofilm cessent, activant la dégradation de la matrice du biofilm et perturbant les liens covalents entre les composants de la matrice (Solano *et al.*, 2014). La dispersion, le détachement ou la désorption sont des moyens par lesquels les bactéries peuvent quitter activement ou passivement un biofilm (Davies, 2011). Les cellules bactériennes s'échappent activement et sont influencées par des forces externes, notamment la prédation, le cisaillement des fluides et l'intervention humaine (Kaplan, 2010), y compris l'abrasion et l'érosion (Petrova *et al.*, 2016). Ces types de mécanismes de fuite sont généralement induits par des pressions de sélection bactérienne et une stratégie de survie établie (Kimera *et al.*, 2020 ; Davies, 2011). Lorsque la masse critique est atteinte, la couche externe du biofilm connaît un équilibre dynamique et des cellules planctoniques sont générées (Dunne, 2002). La libération des cellules des couches externes d'un biofilm est une méthode standard de détachement, mais l'évasion se produit également à l'intérieur du biofilm par dispersion (Davies, 2011). Les cellules se déplacent librement vers la surface de la colonie et le cycle se répète (Dunne, 2002).

2. La tolérance du biofilm :

La couche sécrétée pendant la maturation est la principale cause de la tolérance du biofilm aux antimicrobiens (Butt & Khan, 2015). L'EPS protège le biofilm et empêche ou retarde l'infiltration des anti microbiens (Butt & Khan, 2015). La croissance lente du biofilm peut également réduire la pénétration des agents antimicrobiens (Mah & O'Toole, 2001). La limitation des nutriments entraîne une réduction du taux de croissance, ce qui accroît la phase stationnaire (Evans *et al.*, 1991). Une croissance lente se produit dans les sections plus denses du biofilm, tandis qu'un taux de croissance plus rapide se produit lorsque les bactéries sont exposées au milieu en vrac (Wentland *et al.*, 1996). Les cellules plus profondes à croissance lente existent dans un état viable où elles deviennent tolérantes aux antibiotiques (Williamson *et al.*, 2012). La réponse générale au stress du biofilm peut également accroître la résistance (Williamson *et al.*, 2012).

3. La lutte contre la résistance aux agents antimicrobiens :

Chapitre I : Généralités sur *Staphylococcus aureus*

Dans les années 1990, certains pays ont cherché à remettre en cause la menace de la RAM (**Harbarth et al., 2015**), mais d'autres pays ont récemment relevé le défi. Les États-Unis se sont engagés à investir 1,2 milliard de dollars dans la lutte contre la RAM, doublant presque leur financement en 2015 (**Maison Blanche d'Obama, 2015**). Les stratégies anti-AMR du Royaume-Uni ont débuté en 2000 (**Mayor, 2019**) et font appel à l'expert économique (**O'Neill, 2014**) a suggéré que dix interventions étaient nécessaires immédiatement pour atténuer la RAM. Les suggestions portent sur l'amélioration de la sensibilisation à la RAM dans le monde entier en utilisant des programmes et des campagnes, en se concentrant sur l'amélioration de l'assainissement et de l'hygiène, en augmentant la surveillance de la consommation d'antimicrobiens et de la résistance, en encourageant et en soutenant les chercheurs en maladies infectieuses, en investissant dans de nouveaux médicaments, en améliorant les médicaments existants et en augmentant le financement de la recherche non commerciale (**O'Neill, 2014**). Ces efforts doivent être entrepris parallèlement à une réduction de l'utilisation des antimicrobiens dans l'agriculture, à un effort de recherche renouvelé pour les technologies de diagnostic rapide, les vaccins et d'autres alternatives aux antibiotiques, et à la création d'une alliance mondiale (**O'Neill, 2014**). La dernière stratégie britannique de lutte contre la RAM n'a fait état que d'une réduction de 7 % de la consommation humaine d'antibiotiques, mais d'une réduction de 40 % de l'utilisation d'antibiotiques dans l'agriculture au cours de la période 2013-2018 (**HM Government, 2019**). Au cours de cette période, ils ont observé une augmentation de 35 % des infections sanguines dues à des bactéries résistantes (**Courtenay et al., 2019**) une étude se concentre sur la recherche de nouveaux médicaments antimicrobiens. Les antimicrobiens alternatifs comprennent l'utilisation de composants naturels dérivés d'animaux (lysozymes, chitineuse et lactoflavine), de plantes (lectines, phénoliques, HE et polyéthylène) et d'autres substances de champignons, d'algues et de bactéries (reutéline et bactérienne) (**Gyawali & Ibrahim, 2014; Cowan, 1999**). Les médicaments à base d'anticorps ou les prébiotiques et probiotiques qui ciblent la communication des communautés bactériennes sont des alternatives potentielles (**Harbarth et al., 2015**). Les nouvelles approches récentes comprennent le séquençage des génomes des procaryotes (**Tracanna et al., 2017**), l'utilisation de nanoparticules à base de métaux, de polymères et de lipides (**Lakshminarayanan et al., 2018**) et d'antibiotiques à base de peptides (**Roshan et al., 2018**), les anhydrides de silice et la combinaison d'antibiotiques (**Mosselhy et al., 2018**), ainsi que des techniques revitalisées basées sur la photothérapie

Chapitre I : Généralités sur *Staphylococcus aureus*

(Kortright *et al.*, 2019). D'autres tactiques de lutte contre les biofilms bactériens comprennent la prévention de la contamination, la minimisation de l'attachement, la pénétration chimique ou mécanique des biofilms et l'éradication des cellules (Donlan, 2002).

Chapitre II : Huiles essentielles

4.Les huiles essentielles :

Les HE sont des extraits végétaux naturels de pétales, de graines, de feuilles, de tiges ou de racines (**Ragno *et al.*,2020; Butnarin & Sarac, 2018 ; Abd El-Hack *et al.*, 2016).**

Chapitre II : Les huiles essentielles

L'utilisation d'extraits d'huiles végétales sont documentées depuis des milliers d'années (Al-Shuneigat *et al.*, 2020 ; Baser & Buchbauer, 2015). Les anciens Égyptiens (~ 4500 BCE) utilisaient des extraits d'huile végétale à des fins thérapeutiques et des documents attestent de l'utilisation de la phytothérapie par les Chinois (~ 3000 BCE) (Boire *et al.*, 2013). Le processus de distillation des produits végétaux (qunita essentia) a été nommé et décrit par von Hohenheim, un alchimiste suisse du XVI^e siècle (Nazzaro *et al.* , 2017;Guenther, 2013). Cela a ouvert la voie à l'utilisation généralisée et à la production commerciale des HE. Depuis le XX^e siècle, plus de 100 pays produisent des HE (Charabia *et al.*, 2020 ; Govindasamy *et al.*, 2013). Actuellement, environ 300 des 3 000 HE connues sont utilisées dans le commerce (Ghabraie *et al.*, 2016). Dans le secteur industriel, les huiles les plus couramment utilisées sont le citron, la menthe poivrée, la citronnelle, l'*Eucalyptus*, la menthe et l'orange. Pour l'usage domestique, les huiles d'arbre à thé, de menthe poivrée, de camomille, de lavande, de romarin, d'orange, de citron, de rose, d'*Eucalyptus*, de jasmin, de géranium, de bois de santal et d'encens sont les plus populaires (Barbieri & Borsotto, 2018).



Figure 02: la plante d'Eucalptus.

Chapitre II : Les huiles essentielles

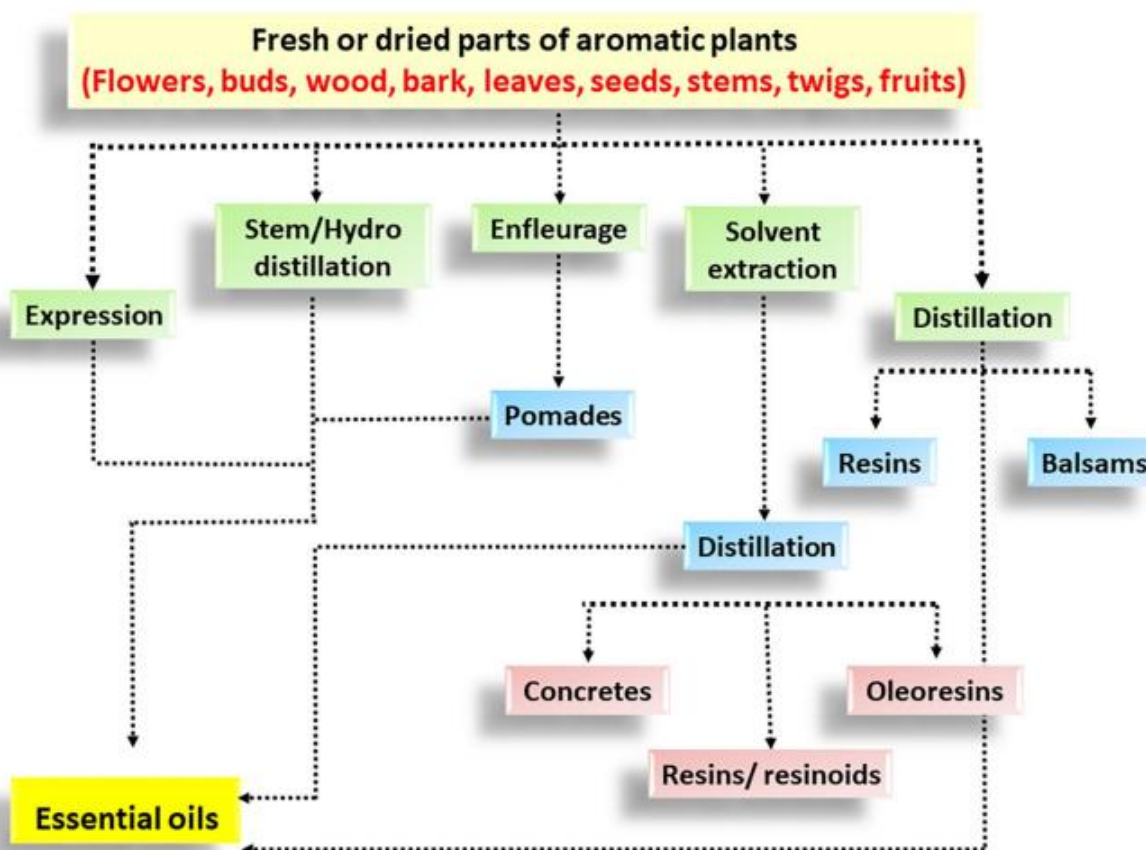


Figure 03 : Principaux processus d'extraction des huiles essentielles des parties aromatiques des plantes

4.1. Les HE comme antimicrobiens :

Les HE possèdent des propriétés anti-plasmodiales, antifongiques et antibactériennes (Utcharykiat *et al.*, 2016). Elles font partie des produits naturels les plus efficaces pour lutter contre les infections fongiques (Nazzaro *et al.*, 2017). L'activité antifongique de certaines HE est similaire à celle des fongicides synthétiques (Zabka *et al.*, 2014). La revue de (Whiley *et al.*, 2018) sur les propriétés antifongiques des HE rapporte que le clou de girofle, le thym, l'arbre à thé, l'origan et les huiles d'agrumes sont les agents les plus recherchés. Elles sont très efficaces contre certains virus, et les mélanges d'HE sont efficaces contre les virus de la grippe et de l'herpès simplexe 1 (Brochot *et al.*, 2017), tandis que les HE d'anis étoilé sont très efficaces contre le virus de l'herpès simplexe 1 (Astani *et al.*, 2011). En outre, les HE ont une action puissante contre les bactéries Gram-positives et négatives dans des conditions sessiles et mobiles (Ragno *et al.*, 2020 ; Millezi *et al.*, 2016). Sur les 53 HE examinées, toutes ont montré une activité contre les bactéries et les levures pathogènes

Chapitre II : Les huiles essentielles

telles que *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *Candida albicans* (Swelum *et al.*,2021 ; Janssen *et al.*, 1986). L'utilisation in vitro des HE de souci pour le traitement du cancer n'a montré aucune cytotoxicité dans les lignées cellulaires tumorales (Oliveira *et al.*, 2017). Des propriétés antimicrobiennes efficaces, à partir de 0,02 % d'HE, ont été notées contre *E. coli* par le thym, le clou de girofle, le myrte citronné, le laurier, la citronnelle, la cannelle, l'arbre à thé, l'origan et le bois de rose (Nazzaro *et al.*, 2019). Une évaluation in vivo après 14 jours d'utilisation d'un bain de bouche contenant des HE a permis de réduire de manière significative les pathogènes bactériens buccaux, notamment *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* et *Veillonella spp.* (Fine *et al.*, 2007). Le synergisme des HE combinées aux antibiotiques peut prévenir la transmission de la RAM (Mulani *et al.*, 2019), avec des activités antibiofilm (Artini *et al.* , 2018 ; Kuhn *et al.* , 2019)En raison de la volatilité des HE, la phase vapeur possède des propriétés antimicrobiennes potentielles. Les premières études portant sur 133 HE ont montré que la vapeur de casse, de cannelle, de laurier-cerise, d'origan et de thym inhibait une large gamme de bactéries (Maruzzella & Sicurella, 1960). Plus récemment, les vapeurs d'HE ont été utilisées pour éradiquer les bactéries responsables de la pneumonie (Houdkova *et al.*, 2018), inhiber les moisissures dans les produits alimentaires (Ji *et al.*, 2019) et combattre les bactéries formant un biofilm (Benzaid *et al.*, 2019). Les HE et leurs composants sont des agents antimicrobiens efficaces contre *E. coli O157:H7* avec un contact \geq de 5 minutes (Friedman *et al.*,2004), et les HE de *Zanthoxylum limonella* étaient très efficaces contre *E. coli* avec \geq un temps de contact de 3 minutes (Tangjitjaroenkun *et al.*, 2012 ; Mayaud *et al.*,2008) ont mis en évidence un temps de contact de \geq 5 mins d'HE permettant une inhibition contre diverses bactéries.

Matériel et méthodes

Chapitre III : Matériel et méthodes

1. Origine des souches

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

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

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

2. Revivification et vérification de la pureté des souches :

Nous étions à la disposition d'utiliser à usage expérimental cinq souches lyophilisées. La revivification des cinq souches lyophilisées, la revivification a été effectuée tout d'abord dans le milieu BHIB et incubées à 37°C pendant 72h. Après incubation, les souches ont été ensemencées dans le milieu Baird Parker et incubées à 37°C pendant 72h. La vérification de la pureté des souches a été réalisé sur gélose Chapman qui est un milieu sélectif pour les *Staphylocoques*, sa teneur élevée en chlorure de sodium limite le développement de certains germes autres que *Staphylococcus*. Les micro-organismes fermentant le mannitol donnent des colonies jaunes. Ce caractère est un critère d'orientation pour l'identification de *Staphylococcus aureus* (Leyral & Vierling, 2007). La purification consiste à réaliser des repiquages successifs sur gélose Chapman avec incubation à 37°C pendant 24 à 48h, jusqu'à l'obtention des colonies de même taille, même forme et même couleur renseignant sur la pureté des souches.

3. Extraction des huiles essentielles :

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée sur les feuilles et les rameaux d'*Eucalyptus radiata*, *Eucalyptus globulus* à la distillerie de laboratoire d'analyse des produits agricoles située à Bordj Bou Arreridj utilisant la technique de distillation à la vapeur. L'unité de distillation se composait d'une chaudière à vapeur (acier inoxydable Smir 304) séparée de l'alambic, d'une cuve contenant les plantes à distiller, d'un condenseur avec refroidisseur et

Chapitre III : Matériel et méthodes

d'un séparateur d'essences pour récupérer les produits de distillation (HE et hydrolat) pendant 2h et 6h, respectivement pour l'eucalyptus et le genévrier. La durée de la distillation a été prolongée pour permettre la collecte complète des molécules aromatiques à des pressions variant entre 0,05 et 0,10 barres. C'est la méthode la plus couramment utilisée pour extraire les molécules volatiles des plantes aromatiques (**Baser & Buchbauer, 2015**). La matière végétale est restée séparée de l'eau ; au lieu de cela, la vapeur générée par une chaudière a traversé la matière végétale de bas en haut, provoquant la rupture des cellules et entraînant les molécules volatiles avec elle. L'importance de cette technique réside dans son évitement des solvants, ce qui donne des HE purs, sans résidus de solvants potentiellement nocifs. De plus, la distillation à la vapeur d'eau préserve les propriétés aromatiques et thérapeutiques des plantes puisqu'elle utilise uniquement de la vapeur d'eau pour extraire les composés volatils. Cela en fait une méthode respectueuse de l'environnement et sûre pour une utilisation dans diverses applications, y compris l'aromathérapie, les cosmétiques et la parfumerie (**Launay & Bruneton, 2016**).

3. Évaluation de l'activité antibactérienne par la technique de diffusion sur disques :

L'activité antimicrobienne de l'HE a été évaluée à l'aide de la méthode de diffusion sur disque d'agar .Ce test permet d'évaluer la capacité inhibitrice de l'huile essentielle en déterminant le diamètre d'inhibition autour d'un disque chargé de cette dernière (**Burt et al., 2004**).

3.1. Procédure d'opération.

Les souches de *S. aureus* ont été transférées sur milieu BHIB puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures pour produire des colonies jeunes. Dans des boîtes de culture, un milieu gélose Mueller Hinton (MH) (Conda, Espagne) a été soigneusement préparé en coulant 20 mL par boîte. Après standardisation de la suspension bactérienne (DO ajustée entre 0,08 et 0,1 à 600 nm), un écouvillon stérile a été imprégné de la suspension bactérienne et réparti sur la gélose à trois reprises, en faisant pivoter la boîte d'environ 60° après chaque application pour assurer une distribution uniforme de l'inoculum. Des disques stériles ont été imprégnés avec 10 µl d'huile essentielle , puis disposés sur la gélose Mueller-Hinton (MH) inoculée (1 disque par boîte) .puis placées en incubation à 37 °C pour une durée de 24 heures. Trois répétitions ont été effectuées pour chaque tentative. Suite à l'incubation, on évalue l'activité antimicrobienne des huiles essentielles en jugeant avec précision le diamètre de la zone d'inhibition créée autour de chaque disque, conformément aux directives de (**Clinical, 2023**).

Chapitre III : Matériel et méthodes

4. Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) des huiles essentielles

La CMI est décrite comme la concentration minimale d'huile essentielle capable de freiner la prolifération bactérienne (Skandamis & Nychas., 2001). L'évaluation des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles de l'*Eucalyptus radiata*, et *Eucalyptus globulus* a été réalisée à l'aide de la technique de dilution en milieu liquide sur des microplaques en polystyrène à 96 puits, selon la méthode décrite par (Zatout *et al.*, 2022).

4.1. Procédure d'opération :

L'étude de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de chaque huile essentielle a été réalisée en utilisant la technique de dilution en micropuits. Chaque puits a reçu une inoculation de 100 µl de bouillon de BHIB 2% glucose. Puis, pour chaque HE, 100µl ont été combinés avec 100µl de bouillon de Muller-Hinton placés dans une cavité afin d'obtenir une dilution de 1/2. Ces dilutions ont été poursuivies jusqu'au puits final (10 puits). Pour finir, on a introduit 100 µl de chaque inoculum dans chaque puits pour atteindre un volume final de 200 µl. La plaque a été scellée et incubée à une température de 37°C pendant une durée de 24 heures. Tous les tests ont inclus des contrôles, négatifs, utilisant respectivement du bouillon de Muller Hinton.

L'interprétation des résultats est réalisée à l'œil nu en observant le changement de turbidité dans les puits après incubation et en faisant une comparaison avec le témoin positif (puits 11). La CMI a été déterminée comme étant la concentration minimale d'huiles essentielles qui n'entraîne aucune croissance visible des isolats de *S. aureus*.

5. Détachement des biofilm de *Staphylococcus aureus* sur acier inoxydable:

L'objectif de cette partie de l'étude était d'évaluer la capacité des isolats de *S. aureus* à former des biofilms sur des surfaces en acier inoxydable, d'évaluer l'efficacité des d'*Eucalyptus radiata* et *Eucalyptus globulus* pour détacher les cellules de *S. aureus* adhérant à ces surfaces. La formation de biofilm sur des coupons d'acier inoxydable a été testée. En outre, l'efficacité de (Marques *et al.*, 2007).

5.1. Préparation des surfaces en acier inoxydable :

Les surfaces en acier inoxydable étudiées étaient de 10x50mm. La technique de nettoyage et de stérilisation des coupons est basée sur la méthode modifiée et développée par Rassoni et

Chapitre III : Matériel et méthodes

Gaylarde (Rossoni et Gaylarde, 2000). Les coupons ont été soumis à un processus de nettoyage et de stérilisation. Tout d'abord, chaque coupon a été nettoyé individuellement avec de l'acétone pure. Ils ont ensuite été immergés dans un détergent neutre pendant une heure. Ensuite, les coupons ont été rincés avec de l'eau distillée stérile pour garantir une grande propreté, les coupons ont été nettoyés avec de l'alcool à 70 %. En outre, les puces ont subi un lavage supplémentaire à l'eau distillée stérile et ont été séchées pendant deux heures à 60°C. Enfin, les puces ont été stérilisées dans un autoclave à 121 °C pendant 35 minutes

5.2. Formation du biofilm :

Les souches de *S. aureus* sont d'abord revivifiées sur un bouillon BHIB (Brain Heart Infusion) enrichi de glucose (2 %) pour stimuler la production de polysaccharides extracellulaires. Après standardisation de la suspension bactérienne (DO ajustée entre 0,08 et 0,1 à 600 nm), des lames d'acier inoxydable ont été immergées dans des tubes à essai et incubés à 37 °C pendant 24 heures pour permettre la formation du biofilm. Après incubation, les coupons ont été retirés des tubes et lavés à l'aide d'une solution saline stérile de tampon phosphate (PBS) stérile d'un pH de 7,4 pour éliminer toutes les cellules non adhérentes.

5.3. Dénombrement des cellules adhérentes viables :

Après 24h d'incubation, le nombre de cellules a été compté selon la méthode suivante :

- (i) les coupons en acier inoxydable ont été rincés avec de l'eau distillée stérile avant d'être placés dans des tubes en verre contenant 5 mL de tampon PBS contenant 0,5 % de Tween 80 ;
- (ii) les coupons ont été vortexés pendant 30 s puis soniqués (70 W, 47 kHz, Wise Clean) pendant 2,5 min ; (iii) les cellules détachées ont été comptées par ensemencement sur la gélose nutritive après 24 h d'incubation à 30°C (Faille *et al.* , 2013).

5.4. Traitement des biofilms *Staphylococcus aureus* avec des huiles essentielles :

Pour déterminer les effets d'*Eucalyptus radiata* et *Eucalyptus globulus*, les coupons en acier inoxydable ont été plongés dans 5 ml de suspension dans une solution contenant de l'huile essentielle à des concentrations minimales inhibitrices (CMI), 2xCMI, 3xCMI, 4xCMI et 5xCMI à température ambiante ($37 \pm 1^\circ\text{C}$) pendant 24 h. Ensuite, les coupons ont été transférés dans 5 ml de solution neutralisante (3 % de polysorbate 80 v/v, 3 % de saponine

Chapitre III : Matériel et méthodes

w/v, 0,3 % de lécithine w/v) pendant 2 min. La réduction logarithmique (LR) a été estimée à l'aide de l'équation suivante :

$$LR = \log (N/N_0) = (\log N) - (\log N_0) ;$$

Où N_0 sont les cellules adhérentes initiales et N les spores adhérentes viables restantes après la désinfection (UFC/mL) aux temps t et zéro, respectivement (**Shahbazi, 2020**).

Résultats et discussions

1.Revivification et vérification de la pureté des souches

Sur Gélose Chapman, les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été prélevées, le développement bactérien sur le milieu de Chapman ne constitue qu'une indication. Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, si non les colonies sont de couleur blanche. Les colonies sont arrondies à bords régulier de 1 à 2 mm de diamètre.

L'analyse (GC-MS) est une technique qui permet d'identifier et de quantifier les composants chimiques des huiles essentielles, combinant la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse pour une analyse précise et fiable (Bakkali *et al.*, 2008). Pour les huiles d'*Eucalyptus radiata* et d'*Eucalyptus globulus*, cette analyse vise à déterminer leur composition exacte afin de mieux comprendre leurs propriétés thérapeutiques (Dorman & Deans, 2000). L'*Eucalyptus radiata* est riche en 1,8-cinéol (66,43 %) et contient des composés comme l'alpha-pinène et l'alpha-terpinéol, tandis que l'*Eucalyptus globulus* présente une composition plus variée avec une quantité moindre de 1,8-cinéol (5,95 %) et une forte présence de globulol (18,6 %) et de para-cymène. Cette caractérisation chimique permet d'adapter leur usage en fonction de leurs effets spécifiques, notamment leurs propriétés antimicrobiennes et expectorantes (Juergens, 2014). les tableaux ci-dessous présentent les résultats de la GC-MS.

Tableau 01 : principaux composant d'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*

Composants	%
Alpha-Pinène	2,12 \pm 0,01
Camphène	0,16 \pm 0,01
Sabinène	1,59 \pm 0,05
Beta-Pinène	4,10 \pm 0,02
Myrcène	1,25 \pm 0,01
Alpha-Phellandrène	0,19 \pm 0,01
Para-Cymène	0,40 \pm 0,01

Limonène	2,45 \pm 0,04
Beta-phellandrène	2,01 \pm 0,01
1,8-Cinéol	66,43 \pm 0,17
Gamma-Terpinène	0,12 \pm 0,01
Terpinolène	0,08 \pm 0,02
Linalol	1,02 \pm 0,03
Camphre	2,75 \pm 0,06
Bornéol	0,59 \pm 0,01
Terpinen-4-ol	0,49 \pm 0,01
Alpha-Terpinéol	2,30 \pm 0,14
Geraniol	0,2 \pm 0,01

Le tableau 01 présente la composition chimique détaillée d'*Eucalyptus radiata*, caractérisée par une prédominance marquée du 1,8-cinéole (66,43 \pm 0,17 %), principal composé bioactif reconnu pour ses propriétés antimicrobiennes, anti-inflammatoires et expectorantes (**Bakkali et al., 2008; Dorman & Deans, 2000**). Parmi les monoterpènes majeurs, on note la présence de beta-pinène (4,10 \pm 0,02 %) limonène (2,45 \pm 0,04 %) et alpha-pinène (2,12 \pm 0,01 %), composés connus pour leurs activités antimicrobiennes et antifongiques, ainsi que pour leur contribution à l'arôme caractéristique de l'huile (**Miguel, 2010 ; Lis-Balchin, 2002**). Le camphre (2,75 \pm 0,06 %) et l'alpha-terpinéol (2,30 \pm 0,14 %), présents en quantités modérées, apportent des effets supplémentaires, notamment des propriétés antiseptiques et relaxantes musculaires (**Cavanagh & Wilkinson, 2002**). Les composés minoritaires tels que le sabinène (1,59 \pm 0,05 %), le myrcène (1,25 \pm 0,01 %), le linalol (1,02 \pm 0,03 %) et le terpinen-4-ol (0,49 \pm 0,01 %), bien que présents en faibles proportions, participent à la synergie globale de l'huile, renforçant son efficacité antimicrobienne et son profil aromatique (**Burt, 2004; Hammer et al., 1999**). La diversité des monoterpènes et sesquiterpènes mineurs observée est typique des huiles essentielles d'*Eucalyptus* et contribue à leur large spectre d'activité biologique (**Silva et al., 2012**). En résumé, cette composition chimique, dominée par le 1,8-cinéole et enrichie par un ensemble de monoterpènes et sesquiterpènes, confirme la qualité et

le potentiel thérapeutique de l'huile essentielle analysée, en accord avec la littérature scientifique et les standards pharmaceutiques (**Bakkali et al., 2008**).

L'analyse chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles fraîches d'*Eucalyptus radiata* en Afrique du Sud, menée par **Mahumane et al.(2016)** via GC/MS, a permis de détecter 26 composants, parmi lesquels le 1,8-cinéole (66,3%) et l'alpha-Terpinéol (14,4%) étaient les plus significatifs. Dans l'étude **Mahumane et al.(2016)**, la concentration en limonène (6,3%) était nettement plus élevée comparée à celle de notre étude (2,45%) Une autre recherche réalisée par **Bendaoud. (2009)**, portant sur l'analyse chimique par GC/FID et GC/MS des feuilles fraîches d'*Eucalyptus radiata* en Tunisie, a permis d'identifier 35 composés volatiles, dont le principal est le 1,8-cinéole représentant 69,53%, ces résultats sont en corcordance avec nos résultats(66,43%).

L'étude de **Bendaoud et al. (2009)** met en avant la présence d' α -pinène, de trans-pinocarvéol et de β -sélinène dans leur huile essentielle, des composés identifiés à des concentration relativement élevées, alors qu'ils sont absents ou très faiblement représentés dans notre analyse. Ces différences peuvent s'expliquer par des variations naturelles liées au chémotype, à l'origine géographique ou aux techniques d'extraction utilisées. Ces molécules sont reconnues pour leurs effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et antioxydants (**Miguel, 2010 ; Bakkali et al., 2008 ; Silva et al., 2003**), et leur absence pourrait légèrement modifier le profil thérapeutique de notre huile, notamment en ce qui concerne son activité antimicrobienne secondaire, sans pour autant diminuer son efficacité globale.

Tableau 02: principaux composants d'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus*.

Composants	Moy
Isovaléraldehyde	ND
-Thujène	0,30
Cv - pinène	0,92
Sabinène	0,53
β -pinène	0,51
β -Myrcène	1,39
-Terpinène	0,08

Para-Cymène	8,60
Limonène	4,15
β -phellandrene	7,06
1,8-Cinéol	5,95
Trans-4-Thujanol	0,15
Terpinolène	0,20
Linalol	2,65
Cis-4-Thujanol	0,11
Iovalérianate d'isoamyle	ND
Trans-pinocarvéol	0,10
Terpinèn-4-ol	6,70
-Terpinéol	3,33
Acétate d' --Terpenyle	ND
Aromadendrene	ND
Globulol	18,60
Inconnu 1	6,20
Inconnu 2	3,10

La composition chimique de cette huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* est dominée par le globulol (18,60 %), un sesquiterpénol reconnu pour ses propriétés antimicrobiennes et anti-inflammatoires (**Bakkali et al., 2008**). Le para-cymène (8,60 %) et le β -phellandrène (7,06 %), monoterpènes aromatiques, contribuent significativement à l'arôme et possèdent une activité antimicrobienne notable (**Burt, 2004**). Le terpinèn-4-ol (6,70 %), connu pour son efficacité antibactérienne et antivirale, est également présent en quantité importante (**Bakkali et al., 2008**). Le 1,8-cinéol (5,95 %), bien que moins abondant que dans certaines huiles d'*Eucalyptus*, reste un composé clé aux effets expectorants et antimicrobiens (**Silva et al., 2012**). Deux composés inconnus représentent ensemble 9,30 % (6,20 % et 3,10 %), suggérant la présence de molécules spécifiques pouvant renforcer la synergie bioactive de l'huile (**Silva**

et al., 2012). Parmi les autres monoterpènes, le limonène (4,15 %), le linalol (2,65 %), le β -myrcène (1,39 %), le sabinène (0,53 %) et le β -pinène (0,51 %) apportent des propriétés antimicrobiennes, antifongiques et anti-inflammatoires complémentaires (Miguel, 2010 ; Lis-Balchin, 2002). Les traces de thujène (0,30 %), trans-pinocarvéol (0,10 %), terpinolène (0,20 %) et thujanols (cis-4-thujanol 0,11 % et trans-4-thujanol 0,15 %) participent à la richesse aromatique et à la complexité chimique). L'absence de composés comme l'isovaléraldéhyde et l'acétate d' α -terpenyle (ND) indique une spécificité chimique propre à cette huile, possiblement liée à son origine géographique ou à son mode d'extraction). En résumé cette huile essentielle, caractérisée par une forte teneur en globulol et une diversité de monoterpènes oxygénés, présente un profil chimique qui confère un large spectre d'activités thérapeutiques, notamment antimicrobiennes et anti-inflammatoires, en accord avec les données scientifiques et pharmaceutiques sur les huiles d'*Eucalyptus globulus* (Silva *et al.*, 2012 ; Bakkali *et al.*, 2008; Burt, 2004).

Dans leurs recherches de 2011 sur l'huile essentielle des parties aériennes séchées d'*Eucalyptus globulus* au Maroc à l'aide de la GC-MS, Ait-Ouazzou et ses collaborateurs ont identifié un total de 18 composés, avec une prédominance notable du 1,8-cinéole (79,85%) ainsi que du Limonène et du p-Cymène (6,72% et 5,14%, respectivement). Cependant, on note la présence de l'alpha-Pinène en tant que composant mineur (0,70%) et l'absence de Globulol et de cis-beta-Ocimène (Ait-Ouazzou *et al.*, 2011).

2.Effet des huiles essentielles sur *S. aureus*

On détermine l'activité antibactérienne des huiles essentielles d'*Eucalyptus radiata*, *Eucalyptus globulus* en mesurant les zones d'inhibition autour des disques. Toutes les valeurs sont présentées comme la moyenne de trois essais \pm écart type, et les résultats se trouvent dans le tableau 03.

Tableau 03: Résultats des diamètres des zones d'inhibitions en mm des l'huiles essentielles *Eucalyptus Radiata* et *Eucalyptus Globulus*.

Souche	<i>Eucalyptus Radiata</i>	<i>Eucalyptus Globulus</i> .
SA M 38	22,33±1,15	19,33±2,08
SA M 33	19,33±1.53	26,66±2,89
SA M 40	23,66±4,16	25±0
SA M 9	19±3	20,33±6,11
SA N 17	20 ±0	20,66±5,13

Les figures 04 et 05 ci-dessous présentent les résultats de l'activité antibactérienne d'*Eucalyptus radiata* et *Eucalyptus globulus* sur les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthycéline.

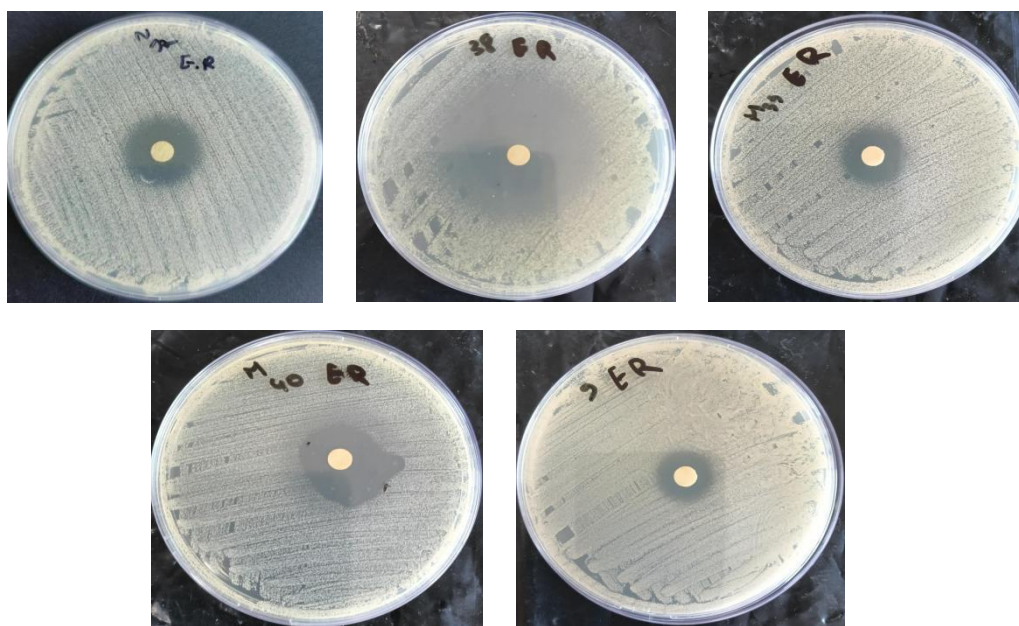


Figure 04 : la zone d'inhibition après traitement par l' huiles essentielle l'*Eucalyptus radiata*

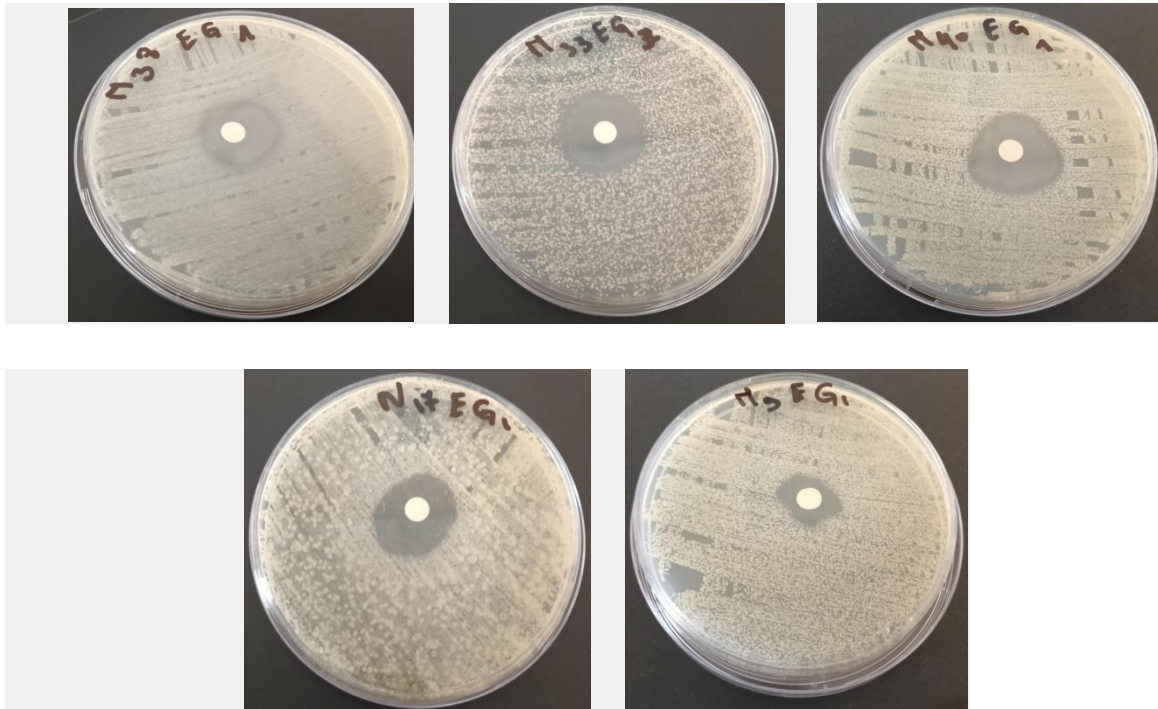


Figure 05: la zone d'inhibition après traitement par l' huiles essentielle l'*Eucalyptu globulus*

Les résultats obtenus montrent que l'efficacité des huiles essentielles d'*Eucalyptus radiata* et d'*Eucalyptus globulus* varie selon la souche de *Staphylococcus aureus* testée, ce qui confirme l'importance de la variabilité bactérienne dans la réponse aux huiles essentielles (**Sokovic et al., 2010**). Pour la souche SA M 38, *E. radiata* présente une zone d'inhibition plus large ($22,33 \pm 1,15$ mm) que *E. globulus* ($19,33 \pm 2,08$ mm), ce qui pourrait s'expliquer par la présence de composés actifs spécifiques ou par une synergie entre les constituants de l'huile, comme le suggèrent (**Bachir & Benali ,2012**). À l'inverse, pour la souche SA M 33, *E. globulus* montre une activité nettement supérieure ($26,66 \pm 2,89$ mm contre $19,33 \pm 1,53$ mm pour *E. radiata*), ce qui rejoint les travaux de (**Boulekbache-Makhlouf et al., 2013**) qui mettent en avant la forte activité du 1,8-cinéole, dans *E. globulus*, contre certaines souches de *S. aureus*. Pour la souche SA M 40, les deux huiles présentent des activités similaires ($23,66 \pm 4,16$ mm pour *E. radiata* et 25 ± 0 mm pour *E. globulus*), ce qui pourrait indiquer une sensibilité intrinsèque de cette souche à l'ensemble des composés volatils présents dans les deux huiles (**Burt, 2004**). Concernant la souche SA M 9, *E. globulus* reste légèrement plus efficace ($20,33 \pm 6,11$ mm contre 19 ± 3 mm pour *E. radiata*), bien que la variabilité des résultats soit plus marquée, ce qui pourrait être lié à la méthode de diffusion sur disque, connue pour sous-estimer l'activité réelle des huiles essentielles du fait de leur volatilité (**Burt, 2004**). Enfin, pour la souche SA N 17, les deux huiles montrent des résultats très proches (20

± 0 mm pour *E. radiata* et $20,66 \pm 5,13$ mm pour *E. globulus*) suggérant une efficacité sémi-laire sur cette souche particulière. Ainsi, ces observations confirment que l'activité antibactérienne des huiles essentielles dépend à la fois de la composition chimique de l'huile, de la souche bactérienne testée et de la méthode d'évaluation, comme l'ont souligné plusieurs études antérieures (**Boulekbache-Makhlouf et al., 2013** ; **Bachir & Benali, 2012** ; **Sokovic et al., 2010** ; **Burt, 2004**).

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* a montré une action antibactérienne notable contre *Staphylococcus aureus*, bien que les résultats puissent fluctuer en fonction des souches examinées et des conditions de l'expérience. Pour illustrer, (**Chao et al., 2008**) ont noté un diamètre d'inhibition de 25 mm face à une souche de *S. aureus*, soulignant l'efficacité notable de cette huile dans leur méthode de diffusion par disque (**Chao et al., 2008**). Une étude plus récente a aussi signalé des zones d'inhibition atteignant 25 mm contre le SARM, validant l'importance de cette huile essentielle dans la bataille contre les agents pathogènes résistants multiples (**Mudgil, 2023**). On pourrait imputer cette activité à la présence de composés actifs tels que le 1,8-cinéole, qui est fréquemment retrouvé en concentration élevée dans l'huile d'*E. radiata* (66,43%)

L'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* a prouvé son efficacité significative contre plusieurs variétés de *Staphylococcus aureus*, y compris les souches résistantes à la méthicilline (SARM). Selon une recherche effectuée par **Samoussa et al. (2018)**, ils ont noté des diamètres de zones d'inhibition allant de 10 à 13 mm face à diverses souches de *S. aureus*, attestant ainsi d'une activité antibactérienne modérée (**Samoussa et al., 2018**). Selon Mudgil (2023), dans une analyse systématique, on observe une vaste étendue de résultats avec des diamètres d'inhibition variant de $10,7 \pm 0,6$ mm à $26,3 \pm 0,6$ mm selon les conditions expérimentales et les concentrations évaluées (**Mudgil, 2023**). Des recherches supplémentaires ont démontré que l'utilisation de quantités grandissantes d'huile essentielle sur disque pouvait renforcer l'activité antibactérienne. Par conséquent, (**Hammer et al., 2018**) ont observé des zones d'inhibition mesurant de $13,0 \pm 1,0$ mm à $15,3 \pm 0,6$ mm pour des volumes respectifs de 25 μ L et 50 μ L lorsqu'ils étaient confrontés à *S. aureus* ATCC 29213 (**Hammer et al., 2018**). Enfin, (**Djellouli et al., 2023**), dans le cadre d'une recherche effectuée en Algérie, ont noté des zones d'inhibition allant jusqu'à 25 mm, mettant en avant l'efficacité notable de cette huile face à certaines souches cliniques (**Djellouli et al., 2023**).

3.Évaluation de la CMI:

L'évaluation de l'activité antimicrobienne CMI a été réalisée pour les deux huiles essentielles contre les cinq souches *S. aureus*. Le tableau 04 résume les résultats obtenus.

Tableau 04: Résultats de l'analyse de la CMI d'*Eucalyptus radiata* et d'*Eucalyptus globulus*

Souche	<i>Eucalyptus radiata</i>	<i>Eucalyptus globulus</i>
SA M38	0,0000476±0	0,13±0,056
SA M33	0,00005555±3,64	0,097±0
SA M40	0,00005555±3,64	0,13±0,06
SA M 9	0,000071±4,13	0,11±0,075
SA N 17	0,0000317±1,38	0,325±0,11

Les résultats de l'analyse des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des huiles essentielles d'*Eucalyptus radiata* et d'*Eucalyptus globulus* contre différentes souches de *Staphylococcus aureus* montrent une supériorité nette de l'huile d'*E. radiata* sur toutes les souches testées. Pour la souche SA M38, la CMI de l'*E. radiata* est extrêmement basse ($0,0000476 \pm 0$), indiquant une forte activité antibactérienne, comparée à une CMI beaucoup plus élevée pour l'*E. globulus* ($0,1297 \pm 0,0566$), ce qui illustre une efficacité potentiellement plus grande que l'*E. radiata*, probablement liée à une composition chimique spécifique ou à des composés minoritaires synergiques (Miloa, 2020; Aziz et al., 2018). La souche SA M33 confirme cette tendance avec une CMI de $0,00005555 \pm 3,64315$ pour *E. radiata* contre $0,097 \pm 0$ pour *E. globulus*, soulignant la constance de l'activité supérieure de l'*E. radiata*, en dépit d'une certaine variabilité (Miloa, 2020; Boulekbache-Makhlouf et al., 2013). Pour la souche SA M40, les valeurs sont similaires à celles de SA M33, renforçant l'idée d'une sensibilité élevée de ces souches à *E. radiata*. Concernant SA M9, bien que la CMI de l'*E. radiata* soit légèrement plus élevée ($0,00007145 \pm 4,13094$) que pour les autres souches, elle reste nettement inférieure à celle de l'*E. globulus* ($0,1133 \pm 0,0748$), suggérant une résistance modérée de cette souche aux composés majoritaires de l'*E. globulus*, notamment le 1,8-cinéole (Bachir & Benali, 2012; Ghalem & Benali, 2008). Enfin, pour la souche SA N17, la CMI de l'*E. radiata* est la plus faible ($0,0000317 \pm 1,37698$) tandis que celle de l'*E. globulus* est la plus élevée ($0,325 \pm 0,1126$), ce qui pourrait refléter des mécanismes d'action distincts des huiles sur cette souche spécifique (Sokovic et al., 2010; Burt, 2004). Ces différences

majeures entre les deux huiles essentielles confirment que, malgré la réputation bien établie de l'*E. globulus* pour son activité antibactérienne contre *S. aureus* et notamment les souches résistantes à la méthicilline (SARM) (PMC, 2023; Miloa, 2020), l'*E. radiata* peut présenter une efficacité supérieure, probablement liée à une composition chimique différente et à la présence de composés bioactifs moins étudiés. La variabilité observée dans les mesures de CMI, notamment pour l'*E. radiata*, peut également être attribuée à la volatilité des huiles essentielles et aux différences méthodologiques dans les tests de dilution (Burt, 2004). En somme, ces résultats soulignent l'importance de la sélection de l'espèce d'*Eucalyptus* et de la souche bactérienne pour optimiser l'usage thérapeutique des huiles essentielles dans la lutte contre les infections à *S. aureus*.tr

Des recherches précédentes ont validé l'action antibactérienne significative des huiles essentielles d'*Eucalyptus*, particulièrement contre le *Staphylococcus aureus*, y compris les souches résistantes à la méthicilline (SARM). Par exemple, (Bachir & Benali, 2012) ont signalé une concentration minimale inhibitrice de 75 mg/mL pour l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* contre *S. aureus*, témoignant d'une efficacité moyenne. (Merghni et al., 2018), cette huile avait une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 10 mg/mL contre les souches de SARM, alors que son composant principal, le 1,8-cinéole, affichait une CMI plus basse de 1,25 mg/mL, indiquant un effet antibactérien plus pointé. Dans une étude différente, Orchard et al. (2017) ont déterminé une CMI de 0,75 mg/mL pour la souche ATCC 33592, corroborant ainsi une variabilité potentielle selon les souches. Ces observations indiquent que même si l'*E. globulus* est reconnue pour son pouvoir antibactérien, ses valeurs de CMI sont généralement plus élevées que celles constatées dans notre recherche avec l'*E. radiata*, où des CMI inférieures à 0,0001 mg/mL ont été relevées pour plusieurs souches. Cette analyse soutient l'hypothèse que l'*E. radiata* pourrait présenter une efficacité supérieure, possiblement due à la synergie de ses composants chimiques ou à la présence de certains composés bioactifs spécifiques encore peu explorés (Merghni et al., 2018 ; Orchard et al., 2017 ; Bachir & Benali, 2012) .

4.Effet des huiles essentiels sur les biofilms :

La figure ci-dessous présente les résultats du nombre des bactéries adhérees à l'acier inoxydables avant l'application de l'huile essentiel.

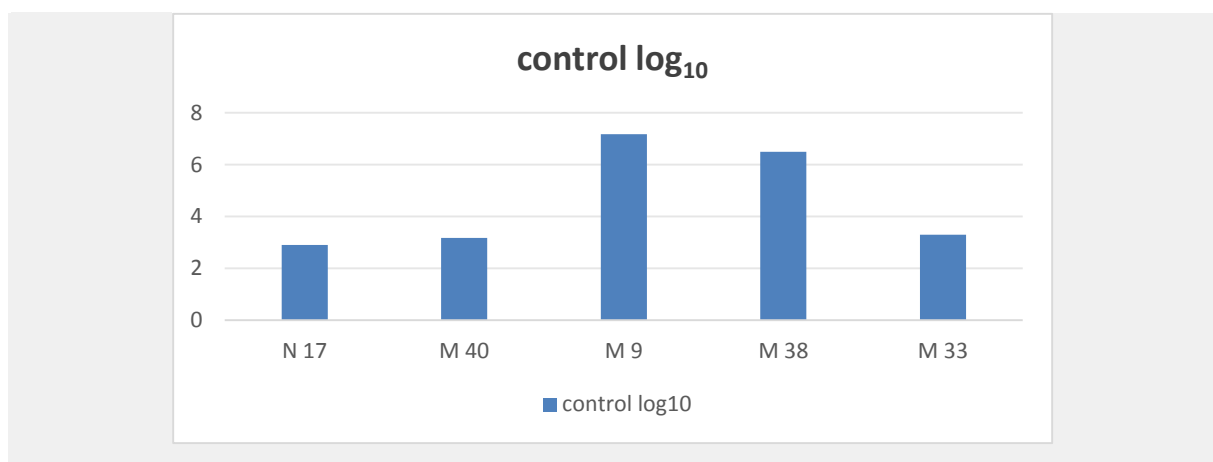


Figure 06: Log₁₀ des cellules adhérentes (control positive).

Les résultats de la figure 0 montrent que les huiles essentielles ont un effet détachant contre les souches former un biofilm sur l'acier inoxydable . Cette efficacité peut être due à une pénétration efficace des huiles essentielles riches en phénols ou aldéhydes, capables de détruire les cellules persistantes au sein des biofilms denses (**Kerekes et al., 2013**). De plus, les huiles essentielles peuvent inhiber les pompes à efflux bactériennes, augmentant la sensibilité des biofilms aux agents antimicrobiens (**Stermitz et al., 2000**), et perturber la matrice extracellulaire facilitant la pénétration des molécules actives (**Hammer et al., 2012**). Ces mécanismes expliquent en partie la capacité des huiles essentielles à réduire significativement la biomasse bactérienne même en présence de charges bactériennes élevées. Toutefois, ces résultats in vitro doivent être interprétés avec prudence, car les conditions in vivo, incluant les interactions avec le système immunitaire et la complexité des biofilms, peuvent moduler cette efficacité (**Bjarnsholt, 2013**). Enfin, la standardisation des protocoles d'application et la caractérisation chimique précise des huiles sont essentielles pour optimiser leur usage clinique contre les infections biofilm-formantes (**Burt, 2004**). Ainsi, ces données confirment le potentiel prometteur des huiles essentielles comme agents antibiofilms, notamment dans la lutte contre les souches résistantes de *S. aureus* (**Kavanaugh & Ribbeck, 2012**).

Diverses recherches scientifiques ont examiné l'impact des huiles essentielles issues de l'*Eucalyptus globulus* sur les biofilms de *Staphylococcus aureus*, incluant les souches résistantes à la méthicilline (SARM). Par exemple, (**Merghni et al., 2018**) ont mis en évidence que l'huile essentielle provenant d'*Eucalyptus globulus* ainsi que son composant principal, le 1,8-cinéole, ont un effet significatif sur l'inhibition de la formation de biofilms par des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (SARM), tout en

perturbant la communication cellulaire, également connue sous le nom de quorum sensing, de ces bactéries.

Conclusion

En conclusion, notre étude montre que les huiles essentielles d'*Eucalyptus radiata* et d'*Eucalyptus globulus* sont particulièrement efficaces pour lutter contre les biofilms formés par des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Nous avons observé des zones d'inhibition importantes et des concentrations très faibles nécessaires pour stopper la croissance bactérienne, surtout avec l'huile d'*Eucalyptus radiata*. Ce qui est encore plus encourageant, c'est leur capacité à éliminer les biofilms, ces structures protectrices qui rendent les bactéries si difficiles à éliminer. Ces résultats sont très prometteurs, car ils ouvrent la porte à des alternatives naturelles pour combattre ces bactéries résistantes, notamment dans les hôpitaux ou les industries où la désinfection est un défi quotidien. En plus, grâce à des techniques comme l'encapsulation, il serait possible d'améliorer la stabilité et l'efficacité de ces huiles tout en limitant leur impact sur l'odeur ou le goût, ce qui faciliterait leur utilisation. Enfin, utiliser les huiles essentielles d'*Eucalyptus* pourrait être méthode alternative de réduire notre dépendance aux désinfectants chimiques, souvent agressifs pour l'environnement et parfois inefficaces face aux résistances bactériennes. C'est une piste encourageante pour mieux gérer les biofilms et protéger la santé, tout en respectant la nature.

De surcroît, l'élaboration de désinfectants naturels permettra d'atténuer les effets néfastes des désinfectants chimiques synthétiques, en particulier en ce qui concerne leur impact environnemental et l'émergence de résistances bactériennes. Ces résultats constituent une contribution substantielle aux secteurs laitiers, en proposant de nouvelles alternatives pour l'application de désinfectants efficaces sur les équipements de transformation alimentaire.

Référence :

- Abd El-Hack, ME, El-Saadony, MT, Swelum, AA, Arif, M., Abo Ghanima, MM, Shukry, M., ... & El-Tarabily, KA (2021). La curcumine, substance active du curcuma : ses effets sur la santé et les moyens d'améliorer sa biodisponibilité. *Journal of the Science of Food and Agriculture* , 101 (14), 5747-5762.
- Achek, R., Hotzel, H., Nabi, I., Kechida, S., Mami, D., Didouh, N., ... & El-Adawy, H. (2020). Détection phénotypique et moléculaire de la formation de biofilm chez *Staphylococcus aureus* isolé de différentes sources en Algérie. *Pathogènes* , 9 (2), 153. Bizzini, A., & Greub, G. (2010). Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry, a revolution in clinical microbial identification. *Clinical Microbiology and Infection*, 16(11), 1614-1619.
- Adesina, I., Bhowmik, A., Sharma, H., et Shahbazi, A. (2020). État des connaissances sur les conditions de culture, les pratiques agronomiques de santé des sols et l'utilité du chanvre aux États-Unis. *Agriculture* , 10 (4), 129.
- Aich, Z., Haddouche, K., Djellouli, K., & Ghezal, A. (2023). Une modélisation thermomécanique améliorée pour la coupe orthogonale de l'acier AISI 1045. *Résultats en ingénierie* , 17 , 100789.
- Ait-Ouazzou, A., Cherrat, L., Espina, L., Lorán, S., Rota, C., & Pagán, R. (2011). The antimicrobial activity of hydrophobic essential oil constituents acting alone or in combined processes of food preservation. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(3), 320-329. orld, one fight!
- Akthar, MS, Degaga, B., et Azam, T. (2014). Activité antimicrobienne des huiles essentielles extraites de plantes médicinales contre les micro-organismes pathogènes : une revue. *J. Issues Issn* , 2350 , 1588. chia coli and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Coastal Life Medicine*.
- Alanis, AJ (2005). Résistance aux antibiotiques : sommes-nous dans l'ère post-antibiotique ?. *Archives of medical research* , 36 (6), 697-705.
- Allen, R. C., Popat, R., Diggle, S. P., & Brown, S. P. (2014). Targeting virulence: can we make evolution-proof drugs?. *Nature Reviews Microbiology*, 12(4), 300-308.
- Artini, M., Patsilnakos, A., Papa, R., Božović, M., Sabatino, M., Garzoli, S., ... & Selan, L. (2018). Antimicrobial and antibiofilm activity and machine learning classification analysis of essential oils from different mediterranean plants against *Pseudomonas aeruginosa*. *Molecules*, 23(2), 482. ° de Sousa
- Assalé, P. F. Y. (2013). Caractérisation sédimentologique, palynologique, géochimique et paléoenvironnementale des formations sédimentaires connexes à la faille des lagunes (est du bassin onshore de côte d'ivoire) (Doctoral dissertation, Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire)).
- Astani, A., Reichling, J., & Schnitzler, P. (2011). Screening for antiviral activities of isolated compounds from essential oils. *Evidence- Based complementary and alternative medicine*, 2011(1), 253643.
- Beloin, C., & Ghigo, J. M. (2005). Finding gene-expression patterns in bacterial biofilms. *Trends in microbiology*, 13(1), 16-19.
- Bendaoud, H., Bouajila, J., Rhouma, A., Savagnac, A., & Romdhane, M. (2009). GC/MS analysis and antimicrobial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus radiata*. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(8), 1292-1297.
- Bendaoud, H., Bouajila, J., Rhouma, A., Savagnac, A., & Romdhane, M. (2009). GC/MS analysis and antimicrobial and antioxidant activities of essential oil of *Eucalyptus radiata*. *Journal of the Science of Food*

- Bensghir, M., Elwali, A., Miller, C., Azendour, H., Drissi, M., Bakkali, H., ... & Kamili, ND (2008). Effet d'une infiltration sous-cutanée de ropivacaïne 0, 75% sur l'analgésie postopératoire après césarienne. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 36 (5), 516-520.
- Bertoglio, F., De Vita, L., D'Agostino, A., Diaz Fernandez, Y., Falqui, A., Casu, A., ... & Pallavicini, P. (2020). Increased antibacterial and antibiofilm properties of silver nanoparticles using silver fluoride as precursor. *Molecules*, 25(15), 3494.
- biofilm formation, tolerance, and dispersal. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 59(3), 253-268.
- Birgand, G., Mutters, N. T., Ahmad, R., Tacconelli, E., Lucet, J. C., & Holmes, A. (2020). Risk perception of antimicrobial resistance by infection control specialists in Europe: a case-vignette study. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9, 1-10.
- Bjarnsholt, T. (2013). Le rôle des biofilms bactériens dans les infections chroniques. *Apmis*, 121, 1-58.
- Boulekbache-Makhlouf, L., Slimani, S., & Madani, K. (2013). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of Eucalyptus globulus cultivated in Algeria. *Industrial crops and products*, 41, 85-89. *and Agriculture*, 89(8), 1292-1297.
- Brochot, A., Guilbot, A., Haddioui, L., & Roques, C. (2017). Antibacterial, antifungal, and antiviral effects of three essential oil blends. *Microbiologyopen*, 6(4), e00459.
- Bruneton, J. (2016). *Pharmacognosie: Phytochimie-plantes médicinales*. Tec & Doc.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Butt, A., & Khan, A. (2015). Antibiotics resistance of bacterial biofilms. *Middle East Journal of Business*, 55(2473), 1-8.
- Cavanagh, HMA, et Wilkinson, JM (2002). Activités biologiques de l'huile essentielle de lavande. *Recherche en phytothérapie*, 16 (4), 301-308.
- Celaya, L., Alabrudzińska, M., Molina, A., Viturro, C., & Moreno, S. (2014). The inhibition of methicillin-resistant Staphylococcus aureus by essential oils isolated from leaves and fruits of Schinus areira depending on their chemical compositions. *Acta Biochimica Polonica*, 61(1), 41-46.
- Chao, RO et Kavadias, S. (2008). Un cadre théorique pour la gestion du portefeuille de développement de nouveaux produits : quand et comment utiliser les compartiments stratégiques. *Sciences de gestion*, 54 (5), 907-921.
- Corée, CG, Ghigo, JM, et Beloin, C. (2011). La douce connexion : résoudre l'énigme des multiples adhésines fimbriales de liaison au sucre chez Escherichia coli : les multiples fimbriae d'E. coli forment un arsenal polyvalent de lectines de liaison au sucre potentiellement impliquées dans la colonisation de surface et le tropisme tissulaire. *Bioessays*, 33 (4), 300-311.
- Cortés, M. E., Bonilla, J. C., & Sinisterra, R. D. (2011). Biofilm formation, control and novel strategies for eradication. *Sci Against Microbial Pathog Commun Curr Res Technol Adv*, 2, 896-905.
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., DeBeer, D., Caldwell, D., Korber, D., & James, G. (1994). Biofilms, the customized microniche. *Journal of bacteriology*, 176(8), 2137-2142.

- Costerton, JW, Geesey, GG et Cheng, KJ (1978). Comment les bactéries adhèrent. *Scientific American* , 238 (1), 86-95.
- Costerton, JW, Stewart, PS, et Greenberg, EP (1999). Biofilms bactériens : une cause fréquente d'infections persistantes. *Science* , 284 (5418), 1318-1322.
- Costerton, JW, Stewart, PS, et Greenberg, EP (1999). Biofilms bactériens : une cause fréquente d'infections persistantes. *Science* , 284 (5418), 1318-1322.
- Courtenay, M., Castro-Sanchez, E., Fitzpatrick, M., Gallagher, R., Lim, R., et Morris, G. (2019). Lutte contre la résistance aux antimicrobiens 2019-2024 : plan d'action national quinquennal du Royaume-Uni. *Journal of Hospital Infection* , 101 (4), 426-427.
- Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical microbiology reviews*, 12(4), 564-582.
- Davies, D. (2003). Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nature reviews Drug discovery*, 2(2), 114-122.
- De Silva, DD, Rapior, S., Hyde, KD et Bahkali, AH (2012). Champignons médicinaux pour la prévention et le contrôle du diabète sucré. *Diversité fongique* , 56 , 1-29.89(22), 7945-7947.
- Debabov, D. (2013). Antibiotic resistance: Origins, mechanisms, approaches to counter. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 49, 665-671.
- Donlan, R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*, 8(9), 881.
- Dorman, HD, et Deans, SG (2000). Agents antimicrobiens d'origine végétale : activité antibactérienne des huiles volatiles végétales. *Journal of applied microbiology* , 88 (2), 308-316
- Dunne Jr, W. M. (2002). Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 155-166.
- Elaissi, A., Rouis, Z., Salem, N. A. B., Mabrouk, S., ben Salem, Y., Salah, K. B. H., ... & Khouja, M. L. (2012). Chemical composition of 8 eucalyptus species' essential oils and the evaluation of their antibacterial, antifungal and antiviral activities. *BMC complementary and alternative medicine*, 12, 1-15.
- Evans, D. J., Allison, D. G., Brown, M. R. W., & Gilbert, P. (1991). Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* biofilms towards ciprofloxacin: effect of specific growth rate. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 27(2), 177-184.
- Fine, D. H., Markowitz, K., Furgang, D., Goldsmith, D., Ricci- Nittel, D., Charles, C. H., ... & Lynch, M. C. (2007). Effect of rinsing with an essential oil-containing mouthrinse on subgingival periodontopathogens. *Journal of periodontology*, 78(10), 1935-1942.
- Flemming, H. C., Neu, T. R., & Wozniak, D. J. (2007). The EPS matrix: the "house of biofilm cells". *Journal of bacteriology*, 1
- Flemming, HC, Wingender, J., et Szewzyk, U. (éd.). (2011). *Points saillants du biofilm* (vol. 5). Springer Science & Business Media.
- Friedman, M., Henika, P. R., Levin, C. E., & Mandrell, R. E. (2004). Antibacterial activities of plant essential oils and their components against *Escherichia coli* O157: H7 and *Salmonella enterica* in apple juice. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(19), 6042-6048.
- Ghalem, B. R. (2014). Antibacterial activity of essential oil of north west Algerian *Eucalyptus camaldulensis* against *Escheri*

- Guemouni, S., Brahmi, F., Hamitri-Guerfi, F., Smail, L., Amirouche, F., Mokrani, A., ... & Madani, K. (2023). Development and characterization of sauces formulation based on tomato and garlic powders. *North African Journal of Food and Nutrition Research*, 7(15), 99-107.
- Gyawali, R., & Ibrahim, S. A. (2014). Natural products as antimicrobial agents. *Food control*, 46, 412-429..
- HA, B. (2001). Émergence du *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline comme pathogène communautaire. *Diagon Microbiol Infect Dis*, 40, 1-4.
- Hall- Stoodley, L., & Stoodley, P. (2009). Evolving concepts in biofilm infections. *Cellular microbiology*, 11(7), 1034-1043.
- Hall- Stoodley, L., & Stoodley, P. (2009). Evolving concepts in biofilm infections. *Cellular microbiology*, 11(7), 1034-1043.
- Hancianu, M., Cioanca, O., Mihasan, M., & Hritcu, L. (2013). Neuroprotective effects of inhaled lavender oil on scopolamine-induced dementia via anti-oxidative activities in rats. *Phytomedicine*, 20(5), 446-452.- 12 biofilms. *Molecular microbiology*, 48(4), 933-946..
- Hancianu, M., Cioanca, O., Mihasan, M., & Hritcu, L. (2013). Neuroprotective effects of inhaled lavender oil on scopolamine-induced dementia via anti-oxidative activities in rats. *Phytomedicine*, 20(5), 446-452.
- Harbarth, S., Balkhy, H. H., Goossens, H., Jarlier, V., Kluytmans, J., Laxminarayan, R., ... & World Healthcare-Associated Infections Resistance Forum participants. (2015). Antimicrobial resistance: one world, one fight!.
- Harbarth, S., Balkhy, H. H., Goossens, H., Jarlier, V., Kluytmans, J., Laxminarayan, R., ... & World Healthcare-Associated Infections Resistance Forum participants. (2015). Antimicrobial resistance: one world, one fight!.
- Harmsen, M., Yang, L., Pamp, S. J., & Tolker-Nielsen, T. (2010). An update on *Pseudomonas aeruginosa*
- Hengge, R. (2010). Réponse générale au stress chez les bactéries Gram-négatives. *Réponses bactériennes au stress*, 251-289.
- Hense, B. A., & Schuster, M. (2015). Core principles of bacterial autoinducer systems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 79(1), 153-169.
- Hillier, JK (2007). Volcanisme des monts sous-marins du Pacifique dans l'espace et le temps. *Geophysical Journal International*, 168 (2), 877-889.
- İşcan, G., Kirimer, N., Kürkcüoğlu, M., Başer, HC, & Demirci, F. (2002). Criblage antimicrobien des huiles essentielles de *Mentha piperita*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50 (14), 3943-3946.
- Ito, T., Okuma, K., Ma, XX, Yuzawa, H., & Hiramatsu, K. (2003). Aperçu de la résistance aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus* à partir de son génome entier : îlot génomique SCC. *Mises à jour sur la résistance au*
- Janssen, A. M., Chin, N. L. J., Scheffer, J. J. C., & Svendsen, A. B. (1986). Screening for antimicrobial activity of some essential oils by the agar overlay technique: Statistics and correlations. *Pharmaceutisch weekblad*, 8, 289-292.
- Jiao, Y., Cody, G. D., Harding, A. K., Wilmes, P., Schrenk, M., Wheeler, K. E., ... & Thelen, M. P. (2010). Characterization of extracellular polymeric substances from acidophilic microbial biofilms. *Applied and environmental microbiology*, 76(9), 2916-2922.

Juergens, UR (2014). Propriétés anti-inflammatoires du monoterpène 1,8-cinéole : données actuelles sur la co-médication dans les maladies inflammatoires des voies respiratoires. *Drug research* , 64 (12), 638-646.

Kaplan, J. Á. (2010). Dispersion du biofilm : mécanismes, implications cliniques et utilisations thérapeutiques potentielles. *Journal of dental research* , 89 (3), 205-218.

Kavanaugh, NL, et Ribbeck, K. (2012). Certaines huiles essentielles antimicrobiennes éradiquent les biofilms de *Pseudomonas* spp. et de *Staphylococcus aureus*. *Microbiologie appliquée et environnementale* , 78 (11), 4057-4061.

Kilb, B., Lange, B., Schaule, G., Flemming, HC, et Wingender, J. (2003). Contamination de l'eau potable par des coliformes issus de biofilms cultivés sur des valves recouvertes de caoutchouc. *Revue internationale d'hygiène et de santé environnementale* , 206 (6), 563-573

Kimera, Z. I., Mshana, S. E., Rweyemamu, M. M., Mboera, L. E., & Matee, M. I. (2020). Antimicrobial use and resistance in food-producing animals and the environment: an African perspective. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9, 1-12.

Kommerein, N., Doll, K., Stumpp, N. S., & Stiesch, M. (2018). Development and characterization of an oral multispecies biofilm implant flow chamber model. *PLoS One*, 13(5), e0196967. *x médicaments* , 6 (1), 41-52.

Kortright, K. E., Chan, B. K., Koff, J. L., & Turner, P. E. (2019). Phage therapy: a renewed approach to com

Kuroda, M., Ohta, T., Uchiyama, I., Baba, T., Yuzawa, H., Kobayashi, I., ... & Hiramatsu, K. (2001). Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet*, 357(9264), 1225-1240. *ses*, 2(3), 180-189.

Lakshminarayanan, R., Ye, E., Young, D. J., Li, Z., & Loh, X. J. (2018). Recent advances in the development of antimicrobial nanoparticles for combating resistant pathogens. *Advanced healthcare materials*, 7(13), 1701400.

Lawrence, J. R., Korber, D. R., Hoyle, B. D., Costerton, J. W., & Caldwell, D. (1991). Optical sectioning of microbial biofilms. *Journal of bacteriology*, 173(20), 6558-6567.

Lewi, G., Lacoeyllhe, J., & Albert, A. S. (2007). *Branding management: La marque, de l'idée à l'action*. Pearson Education France.

Lewis, K. (2005). Persister cells and the riddle of biofilm survival. *Biochemistry (Moscow)*, 70, 267-274.

Lewis, K. (2007). Cellules persistantes, dormance et maladies infectieuses. *Nature Reviews Microbiology* , 5 (1), 48-56.

Leyral, G., & Vierling, E. (2007). Microbiology and toxicology of food: food hygiene and safety. *Doin CRDP d'Aquitaine, Biosciences et techniques: Sciences des aliments, Bordeaux*.

López, P., Sánchez, C., Batlle, R., & Nerín, C. (2007). Vapor-phase activities of cinnamon, thyme, and oregano essential oils and key constituents against foodborne microorganisms. *Journal of agricultural and food che*

Mahumane, G., et Mulder, P. (2016). Présentation de MOZLEAP : un modèle intégré de scénarios à long terme pour le secteur énergétique émergent du Mozambique. *Économie de l'énergie* , 59 , 275-289.

Martens, E., et Demain, AL (2017). Aperçu des aspects industriels de la découverte d'antibiotiques. *Ressources microbiennes* , 149-168.

Masic, I. (2024). Index bibliométriques : avantages et limites d'application pratique, pour la validité scientifique des auteurs et de leur contenu scientifique - Liste bibliométrique de Stanford : vérités et idées fausses. *Acta Informatica Medica* , 32 (3-4), 160.

Mayaud, L., Carricajo, A., Zhiri, A., & Aubert, G. (2008). Comparison of bacteriostatic and bactericidal activity of 13 essential oils against strains with varying sensitivity to antibiotics. *Letters in applied microbiology*, 47(3), 167-173.

Mayor, S. (2019). Les médecins doivent obtenir des données en temps réel pour étayer la prescription d'antibiotiques et réduire la résistance. Resistance 2019–2024: The UK's Five-Year National Action Plan. *London (UK): HM Government*.

McDougald, D., Rice, S. A., Barraud, N., Steinberg, P. D., & Kjelleberg, S. (2012). Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nature Reviews Microbiology*, 10(1), 39-50.

Millezi, A. F., Piccoli, R. H., Oliveira, J. M., & Pereira, M. O. (2016). Anti-biofilm and antibacterial effect of essential oils and their major compounds. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 19(3), 624-631.

Moreira, M. R., Ponce, A. G., Del Valle, C. E., & Roura, S. I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT-Food Science and Technology*, 38(5), 565-570.

Muzzarelli, L., Force, M., & Sebold, M. (2006). Aromatherapy and reducing preprocedural anxiety: A controlled prospective study. *Gastroenterology Nursing*, 29(6), 466-471.

Nazzaro, F., Fratianni, F., d'Acierno, A., Coppola, R., Ayala-Zavala, F. J., da Cruz, A. G., & De Feo, V. (2019). Essential oils and microbial communication. In *Essential Oils-Oils of Nature*. IntechOpen.

Nazzaro, F., Fratianni, F., d'Acierno, A., Coppola, R., Ayala-Zavala, F. J., da Cruz, A. G., & De Feo, V. (2019). Essential oils and microbial communication. In *Essential Oils-Oils of Nature*. IntechOpen.

Nikaido, H. (2009). Multidrug resistance in bacteria. *Annual review of biochemistry*, 78(1), 119-146.

Nikolic, P., & Mudgil, P. (2023). The cell wall, cell membrane and virulence factors of *Staphylococcus aureus* and their role in antibiotic resistance. *Microorganisms*, 11(2), 259.

O'Neill, J. (2014). Review on antimicrobial resistance. *Antimicrobial resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations*, 2014(4), 1-16.

Oliveira, D. C., Tomasz, A., & de Lencastre, H. (2002). Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *The Lancet infectious disease*

Oliveira, F., de Freitas, T. S., da Cruz, R. P., do Socorro Costa, M., Pereira, R. L. S., Quintans-Júnior, L. J., ... & Coutinho, H. D. M. (2017). Evaluation of the antibacterial and modulatory potential of α -bisabolol, β -cyclodextrin and α -bisabolol/ β -cyclodextrin complex. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 92, 1111-1118..

Orchard, A., et van Vuuren, S. (2017). Les huiles essentielles commerciales comme antimicrobiens potentiels pour traiter les maladies de la peau. *Médecine complémentaire et alternative fondée sur des données probantes* , 2017 (1), 4517971.

O'Toole, G. A. (2003). To build a biofilm. *Journal of bacteriology*, 185(9), 2687-2689.

O'Toole, G., Kaplan, HB, et Kolter, R. (2000). La formation de biofilms comme développement microbien. *Revue annuelle de microbiologie* , 54 (1), 49-79.

- Peters, BM, Jabra-Rizk, MA, O'May, GA, Costerton, JW, & Shirtliff, ME (2012). Interactions polymicrobiennes : impact sur la pathogénèse et les maladies humaines. *Revue de microbiologie clinique* , 25 (1), 193-213.
- Petrova, OE, et Sauer, K. (2016). Échapper au biofilm de plusieurs façons : désorption, détachement ou dispersion. *Opinion actuelle en microbiologie* , 30 , 67-78.
- Prichard, A. J. (2004). The use of essential oils to treat snoring. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(9), 696-699.
- Ragno, R., Papa, R., Patsilnakos, A., Vrenna, G., Garzoli, S., Tuccio, V., ... & Artini, M. (2020). Essential oils against bacterial isolates from cystic fibrosis patients by means of antimicrobial and unsupervised machine learning approaches. *Scientific reports*, 10(1), 2653.
- Ramey, BE, Koutsoudis, M., von Bodman, SB, et Fuqua, C. (2004). Formation de biofilms dans les associations plantes-microbes. *Current opinion in microbiology* , 7 (6), 602-609.
- Reisner, A., Haagensen, J. A., Schembri, M. A., Zechner, E. L., & Molin, S. (2003). Development and maturation of Escherichia coli K
- Roshan, N., Hammer, KA, & Riley, TV (2018). Thérapies antimicrobiennes non conventionnelles et alternatives pour le traitement de l'infection à Clostridium difficile. *Anaerobe* , 49 , 103-111..
- Samoussa, M. O., Abdellaoui, A., Kettani, A., Saile, R., & Bennani, H. (2018). Étude de la Sensibilité Aux Huiles Essentielles de Cinnamomum Verum, Eucalyptus Globulus, et Glycyrrhiza Glabra L Ainsi qu'aux Antibiotiques de Certains Germes Issus de la Restauration Collective. *Eur Sci J*, 10.
- Sanchez-Vega, F., Mina, M., Armenia, J., Chatila, WK, Luna, A., La, KC, ... & Marra, MA (2018). Voies de signalisation oncogènes dans l'atlas du génome du cancer. *Cell* , 173 (2), 321-337. *mistry*, 55(11), 4348-4356.
- Scalabrini, M. (2019). *Étude de l'activité anti-bioadhésion de surfaces de verres greffées par des sucres furanosidiques rares* (Doctoral dissertation, Université de Bretagne Sud).
- Sera, D., Mathe, L., Kerekes, T., Spataru, S. V., & Teodorescu, R. (2013). On the perturb-and-observe and incremental con.
- Seydim, AC, et Sarikus, G. (2006). Activité antimicrobienne de films comestibles à base de protéines de lactosérum incorporés aux huiles essentielles d'origan, de romarin et d'ail. *Food research international* , 39 (5), 639-644.
- Skandamis, PN, et Nychas, GJ (2001). Effet de l'huile essentielle d'origan sur les propriétés microbiologiques et physico-chimiques de la viande hachée conservée à l'air libre et sous atmosphère modifiée. *Journal of Applied Microbiology* , 91 (6), 1011-1022.
- Sohani, Z. N., Lieu, A., Semret, M., Cheng, M. P., Simic, N., Bamba, R., ... & Lee, T. C. (2025). Comparison of ciprofloxacin and aminoglycoside susceptibility testing for ceftriaxone non-susceptible Enterobacterales by disk diffusion and VITEK 2 vs. broth microdilution using updated Clinical and Laboratory Standards Institute breakpoints. *BMC microbiology*, 25(1), 175.
- Sokovic, M., Pavletic, D., et Pipan, KK (2010). Méthodologies d'amélioration de la qualité : cycle PDCA, matrice RADAR, DMAIC et DFSS. *Revue des réalisations en ingénierie des matériaux et de la fabrication* , 43 (1), 476-483. *bat antibiotic-resistant bacteria. Cell host & microbe*, 25(2), 219-232.

- Solano, C., Echeverez, M., & Lasa, I. (2014). Biofilm dispersion and quorum sensing. *Current opinion in microbiology*, 18, 96-104.
- Soulage, V. (2015). Bartlet, un «catho de gauche»? Religion et vie politique aux États-Unis au travers de la série À la Maison Blanche. *TV/Series*, (8).
- Stermitz, FR, Lorenz, P., Tawara, JN, Zenewicz, LA, & Lewis, K. (2000). Synergie dans une plante médicinale : action antimicrobienne de la berbérine potentialisée par la 5'-méthoxyhydnocarpine, un inhibiteur de la pompe à médicaments multiples. *Actes de l'Académie nationale des sciences*, 97 (4), 1433-1437.
- ductance MPPT methods for PV systems. *IEEE journal of photovoltaics*, 3(3), 1070-1078.
- Stoodley, P., DeBeer, D., et Lewandowski, Z. (1994). Écoulement liquide dans les systèmes de biofilm. *Microbiologie appliquée et environnementale*, 60 (8), 2711-2716.
- Sutherland, I. W. (2001). The biofilm matrix—an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends in microbiology*, 9(5), 222-227.
- Tangjitjaroenkun, J., Chavasiri, W., Thunyaharn, S., & Yompakdee, C. (2012). Bactericidal effects and time–kill studies of the essential oil from the fruits of *Zanthoxylum limonella* on multi-drug resistant bacteria. *Journal of Essential Oil Research*, 24(4), 363-370.
- Thompson, M. A., Aberg, J. A., Hoy, J. F., Telenti, A., Benson, C., Cahn, P., ... & Volberding, P. A. (2012). Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2012 recommendations of the International Antiviral Society–USA panel. *Jama*, 308(4), 387-402.
- Toyofuku, M., Inaba, T., Kiyokawa, T., Obana, N., Yawata, Y., & Nomura, N. (2016). Environmental factors that shape biofilm formation. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 80(1), 7-12.
- Tracanna, V., de Jong, A., Medema, M. H., & Kuipers, O. P. (2017). Mining prokaryotes for antimicrobial compounds: from diversity to function. *FEMS microbiology reviews*, 41(3), 417-429.
- Utchariyakiat, I., Surassmo, S., Jaturanpinyo, M., Khuntayaporn, P., & Chomnawang, M. T. (2016). Efficacy of cinnamon bark oil and cinnamaldehyde on anti-multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa* and the synergistic effects in combination with other antimicrobial agents. *BMC complementary and alternative medicine*, 16, 1-7.
- Ventola, CL (2015). La crise de la résistance aux antibiotiques : partie 1 : causes et menaces. *Pharmacie et thérapeutique*, 40 (4), 277.
- Wentland, E. J., Stewart, P. S., Huang, C. T., & McFeters, G. A. (1996). Spatial variations in growth rate within *Klebsiella pneumoniae* colonies and biofilm. *Biotechnology progress*, 12(3), 316-321.
- Whiley, H., Gaskin, S., Schroder, T., & Ross, K. (2018). Propriétés antifongiques des huiles essentielles pour l'amélioration de la qualité de l'air intérieur : une revue. *Revue sur la santé environnementale*, 33 (1), 63-76.
- Whiteley, M., Banger, M. G., Bumgarner, R. E., Parsek, M. R., Teitzel, G. M., Lory, S., & Greenberg, E. P. (2001). Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature*, 413(6858), 860-864.
- Williamson, K. S., Richards, L. A., Perez-Osorio, A. C., Pitts, B., McInnerney, K., Stewart, P. S., & Franklin, M. J. (2012). Heterogeneity in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms includes expression of ribosome hibernation factors in the antibiotic-tolerant subpopulation and hypoxia-induced stress response in the metabolically active population. *Journal of bacteriology*, 194(8), 2062-2073.

Zabka, M., Pavela, R., & Prokinova, E. (2014). Antifungal activity and chemical composition of twenty essential oils against significant indoor and outdoor toxigenic and aeroallergenic fungi. *Chemosphere*, 112, 443-448..

Zatout, A., Djibaoui, R., Flamini, G., Ascrizzi, R., Benbrahim, C., Mazari, H. E., ... & Kassah-Laouar, A. (2022). Chemical composition analysis of essential oils of four plants from Aurès region of Algeria and their antibacterial and antibiofilm activities against coagulase-negative staphylococci. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 23(3), 278-289.

Zheljazkov, VD, Kacaniova, M., Dincheva, I., Radoukova, T., Semerdjieva, IB, Astatkie, T., & Schlegel, V. (2018). Composition en huile essentielle, activité antioxydante et antimicrobienne des galbuli de six espèces de genévrier. *Cultures et produits industriels*, 124, 449-458.

Zuzarte, M., Alves-Silva, JM, Alves, M., Cavaleiro, C., Salgueiro, L., & Cruz, MT (2018). Nouvelles perspectives sur le potentiel anti-inflammatoire et le profil d'innocuité des huiles essentielles de *Thymus carnosus* et de *Thymus camphoratus* et de leurs principaux composés. *Journal of ethnopharmacology*, 225, 10-17. Brown, M., Henke, W., Tattersall, I., Sykes, B., Foley, R., Klein, R., ... & Wang, Q. . À la recherche d'Ève.

Annexe

Matériaux chimiques

1 / Milieu Chapman :

peptone : 10 g.

extrait de bœuf : 1 g.

chlorure de sodium : 75 g.

D-mannitol : 10 g.

E-rouge de phénol : 25 mg. agar : 15 g.

2 / BHIB (Brain Heart Infusion Broth – Bouillon cœur-cerveau) :

Infusion de cerveau de porc : 200 g

Cœur de bœuf : 250 g

Peptone : 10 g Glucose : 2 g

Chlorure de sodium : 5 g

Phosphate disodique (Na_2HPO_4) : 2,5 g Eau distillée : 1 000 mL

3 / Bouillon Mueller-Hinton (Mueller-Hinton Broth) :

Caséine hydrolysée par acide : 17,5 g

Amidon soluble : 1,5 g

Chlorure de sodium : 5 g

Eau distillée : 1 000 mL

4 /Gélose Mueller-Hinton (Mueller-Hinton Agar) :

Caséine hydrolysée par acide : 17,5 g

Amidon soluble : 1,5 g

Chlorure de sodium : 5 g

Agar : 17 g

Eau distillée : 1 000 mL

Entrer