

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 1955- سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Science biologique

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé :

Effet antistaphylococcique de l'huile essentielle de

Rosmarinus officinalis L

Présenté Par :

- BOUIMA KAOUTER
- BOUKERKOURA MOUFIDA
- BOUKHENFIR CHAYMA
- BOUCHEIKH ACHOUAK

Membre de Jury:

BECHEKER IMENE (M.C.A)	Présidente	20 Août 1955 –Skikda
HENI SONIA (M.C.A)	Promotrice	ENSET–Skikda
LAIB IMENE (M.C.A)	Examinatrice	20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2023/2024

Remerciements

Remerciements

A

*vant tout nous remercions Dieu « ALLAH » le tout puissant
de nous avoir accordé la force, le courage et la patience
pour terminer ce travail.*

*Je remercie mon encadreur **Mme Hheni sonia** pour la qualité de son
enseignement, ses conseils et son intérêt et pour
sa précieuse aide à la relecture et à la correction de notre mémoire.*

Nos remerciements vont également à :

***Mme Machia Laila**, et tous les membres du jury et M l'examinatrice, qui nous
font
l'honneur de juger ce modeste travail. Vos suggestions et remarques sont un
apport pour la
suite de la carrière du chercheur que nous embrassons avec cette recherche.*

*Enfin je veux dire merci à tous les enseignants du département de science de la
nature de la vie et ENSET- SKIKDA*

*Pour l'aide pendant ma formation d'étude.
A tous personnes qu'est aidé de proche ou loin .*





Dédicace Dédicace

*Je remercie Allah de m'avoir donné la force et le courage pour Pouvoir
réaliser*

Ce modeste travail.

Je dédie ce travail à mes parents

*Pour leur soutien et leurs encouragements sans faille tout au long de
Mon parcours scolaire mais aussi personnel. Aucun mot ne serait
Exprimer tout mon amour et toute ma gratitude, merci pour vos sacrifices le
long de*

*Ces années merci pour vos présences rassurantes, et si j'en suis arrivée là c'est
grâce à*

*Vous. J'espère que le bon Dieu les garde, les comble de santé et leur une
longue vie.*

À mon père pour son patient avec moi et son encouragement.

*À ma source de bonheur, la prunelle de mes yeux, ma mère Que le bon ALLAH
vous garde en bonne santé.*

Mes frères que j'adore ça que je remercie

Pour leur aide et dévouement, que Dieu nous garde toujours unis.

*Mes chères sœurs qui ont toujours été présentes pour moi et qui me
complent d'ameur*

*À toute ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines, petit et grand, sans
Exception.*



Liste des abréviations

% : Pourcentage.

H : Heure.

°C : Degré celsius.

Gram (+) : Gram positif.

HE : Huile essentielle.

MH : Mueller Hinton.

AFNOR : Agence Française de Normalisation.

RHE : Rendement d'huile essentielle.

S.aureus : *Staphylococcus aureus*.

R. officinalis : *Rosmarinus officinalis*.

DI : Diamètre d'inhibition.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline

CONS : Coagulase négative

Liste Des Figures

Figures	Titre	Pages
Figure 01	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	05
Figure 02	Racine de <i>Rosmarinus officinalis</i> L	08
Figure 03	Tige principale de <i>Rosmarinus officinalis</i> L	09
Figure 04	Feuille de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	09
Figure05	Les fleurs et les feuilles de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	10
Figure 06	Apparition des résistances aux antibiotiques majeures chez <i>S. aureus</i>	18
Figure07	Taux de portage corporel de <i>S.aureus</i> chez l'adulte en général et le porteur permanent.	19
Figure08	<i>S.aureus</i> vu au microscope électronique à balayage	20
Figure 09	Culture de <i>S.aureus</i> sur gélose au sang	21
Figure10	Classification clinique et épidémiologique des staphylocoques	25
Figure11	Développement du biofilm chez <i>S. epidermidis</i>	27
Figure 12	<i>Rosmarinus officinalis L</i>	31
Figure 13	<i>Rosmarinnus officinalis</i> séchée	32
Figure 14	Montage de l'appareil d'hydrodistillation (laboratoire l'E.N.S.E. T Skikda)	33
Figure 15	Les étapes de préparation de l'inoculum	35
Figures 16	Techniques d'ensemencement en milieu solide. Muller-Hinton (MH)	36
Figure 17	Dépôt des disques sur milieu solide	36
Figure 18	Incubation des boîtes de pétrie dans l'étuve.	37
Figure 19	Mesure des diamètres des zones d'inhibitions	37
Figure 20	Effet de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur <i>S.aureus</i>	42
Figure 21	Effet de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur <i>S.epidermidis</i>	42

Liste Des Tableaux

Tableaux	Titre	pages
Tableau01	Noms vernaculaires de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	06
Tableau 02	Classification scientifique de <i>Rosmarinus officinalisL</i>	06
Tableau 03	Taxonomie de <i>Staphylococcus aureus</i>	18
Tableau 04	Caractères biochimiques de <i>S. aureus</i>	22
Tableau 05	Caractéristiques organoleptiques de l'HE de <i>Rosmarinis officinalis</i>	39
Tableau 06	Diamètres des zones d'inhibition de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les différentes souches bactériennes testées	40

Sommaire

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Sommaire	
Introduction	1-2
Synthèse bibliographique	
<i>Rosmarinus officinalis L</i>	
1.présentation des espèces végétales étudiés	05
1.1. Historique du <i>Rosmarinus officinalis L</i>	05
1.2. Définition de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	05
1.3. Nomenclature de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	06
1.4. Classification de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	06
1.5 Habitat	07
1.6. Culture	07
1.7. Répartition géographique en Algérie	07
1.8. Description botanique	07
1.8.1 Appareil végétatif de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	08
1.9. Composition chimique de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	10
1.10. Utilisation de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	11
2.Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	11
2.1. Composition chimique du romarin	11
2.1.1. Composition en huiles essentielles	11
2.1.2. Composition en polyphénols	11
2.2. Propriétés physico-chimiques de l'huile essentielle de romarin	11
2.3. Utilisation de L'huile essentielle de romarin	12
2.4. Domaine d'application	12
2.4.1. Parfums et cosmétiques	13
2.5. Activité biologique de l'huile essentielle de romarin	13

2.6. Toxicité de l'huile essentielle de romarin	14
LE GENRE STAPHYLOCOCCUS	
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	17
1.1. Historique	17
1.2. Taxonomie	18
1.3. Habitat et Mode de transmission	18
1.4. Caractères bactériologiques	20
1.4. 1. Morphologie	20
1.4.2. Morphologie des colonies des <i>S.aureus</i>	21
1.4.3. Caractères culturels	21
1.4.4. Caractères biochimiques	21
1.5 Facteurs de virulence et physiopathologie	22
1.6. Différents types d'infections à <i>S. aureus</i>	22
1.7. Résistance aux antibiotiques	23
2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	24
2.1. Caractéristiques de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	24
2.2. Epidémiologie	25
2.3. Pathogénicité	26
2.4. Résistance aux antibiotiques	28
Partie expérimentale	
Matériels et méthodes	
1. Matériel végétal	31
1.1. Récolte de la plante	31
1.2. Séchage et conservation	31
1.3. Extraction de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	32
1.3.1. Mode opératoire	32
1.3.2. Calcul du rendement en huile essentielle	33
2. Recherche de l'effet antistaphylococcique de l'huile essentielle extraite	34
2.1. Principe de l'aromatogramme	34
2.1.1. Préparation des prés cultures	34
2.1.2. Préparation de l'inoculum	34
2.1.3. Ensemencement	35
2.1.4. Application des disques	36

2.1.5. Incubation	36
2.1.6. Lecture	37
Résultats et discussions	
1. Extraction de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	39
1.1. Rendement en huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis L</i>	39
1.2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite	39
2. Recherche de l'effet antistaphylococcique de l'huile essentielle extraite	40
Conclusion	
Reference bibliographique	

Résumé

L'Algérie est un pays riche en plantes aromatiques dont plusieurs sont endémiques. Parmi ces plantes figure le Romarin (famille des *Lamiaceae*). Ce dernier, fait partie du patrimoine culinaire et médicinal des populations de différentes localités.

L'huile essentielle des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* récoltée dans la région d'El Harrouch (Skikda), et obtenue par hydrodistillation, a donné un rendement meilleur de 0,65%.

Nous avons testé l'effet de cet extrait sur des souches bactériennes du genre *Staphylococcus* incriminées dans différentes infections ; par la méthode de l'aromatogramme.

Les souches bactériennes test-objet, se sont montrées extrêmement sensibles à l'huile testée avec des diamètres allant de 25.9mm à 50.1mm.

Mots clés : *Rosmarinus officinalis*, extraction, huile essentielle, effet antistaphylococcique.

Abstract

Algeria is a country rich in aromatic plants, many of which are endemic. Among these plants is Rosemary (Lamiaceae family), which is part of the culinary and medicinal heritage of various local populations.

The essential oil from the aerial parts of *Rosmarinus officinalis* harvested in the El Harrouch region (Skikda), and obtained by hydrodistillation, yielded a better yield of 0.65%.

We tested the effect of this extract on bacterial strains of the *Staphylococcus* genus implicated in various infections using the disc diffusion method. The bacterial strains tested showed extreme sensitivity to the tested oil, with diameters ranging from 25.9mm to 50.1mm.

Keywords : *Rosmarinus officinalis*, extraction, essential oil, anti-staphylococcal effect

ملخص

الجزائر بلد غني بالنباتات العطرية، بما في ذلك عدة أنواع تعتبر محلية. من بين هذه النباتات، يأتي الإكليل من عائلة الشفويات (Lamiacées) يعتبر هذا النبات جزءًا من التراث الطهوي والطبي للسكان في مناطق متعددة.

تم جمع الزيت الطيار من الأجزاء الهوائية لنبات *Rosmarinus officinalis* في منطقة الحروش (سكيدة)، وتم الحصول عليه عن طريق التقطير بالبخار، مع نسبة استرداد تصل إلى 0.65%.

قمنا بدراسة تأثير هذا الاستخراج على سلالات بكتيرية من جنس *Staphylococcus* الموروثة في مختلف العدوى، باستخدام طريقة الأروماتوغرام. أظهرت السلالات البكتيرية المستهدفة حساسية كبيرة للزيت المختبر عليه، بأقطار تتراوح بين 25.9 مم و 50.1 مم.

الكلمات الرئيسية: إكليل الجبل، استخراج، زيت طيار، تأثير مضاد للستافيلوكوكس.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

L'avènement des antibiotiques dans la pratique thérapeutique a apporté un atout majeur dans le traitement des maladies infectieuses non seulement en médecine humaine mais aussi animale. L'usage croissant de ces agents antimicrobiens aussi bien en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire a engendré progressivement l'émergence de résistance préoccupante, parfois même il s'agit de multi résistance.

Staphylococcus aureus est le plus connu et est souvent responsable de diverses infections et toxi-infections chez l'homme. Des infections opportunistes peuvent toutefois être causées par d'autres espèces de Staphylocoques. Parfois, ces infections, qui se produisent dans les hôpitaux, ont un pronostic vital et nécessitent un traitement approprié.

(Benbouabdellah et al, 2015).

Chez l'Homme, *Staphylococcus epidermidis* est le staphylocoque à coagulase négative le plus prévalent **(K. Becker, 2016)**. Il s'agit d'une micro bactérie qui se développe dans la peau et les muqueuses. En raison de sa présence chez l'être humain, elle est également l'une des premières bactéries responsables d'infections nosocomiales, notamment après une opération ou en lien avec un vêtement. *S. epidermidis* est une bactérie qui ne réagit pas à de nombreux médicaments antimicrobiens.

Parmi les souches cliniques, plus de 90 % présentent une pénicillinase codée par le gène blaZ, **(Study group et al, 2011) ;(S. Cherifi, 2013)**.

Ces derniers temps, on enregistre une inquiétante émergence de bactéries multi résistantes, notamment celles résistantes à la méthicilline, aussi bien en milieu hospitalier que communautaire **(Mnayer, 2014)**. Le lien entre la consommation d'antibiotiques et le développement de la résistance est un fait établi et admis par l'ensemble des professionnels.

Face à ce problème, la nécessité de rechercher de nouveaux agents antibactériens est à l'ordre du jour, le recours aux molécules bioactives d'origine végétale ouvre une alternative intéressante à explorer. Tout cela justifie le regain d'intérêt porté aux extraits végétaux.

(Benkherara, 2011).

INTRODUCTION

Parmi les plantes aromatiques qui renferment ces principes actifs *Rosmarinus officinalis* (le Romarin). Dans la perspective d'usage de l'huile essentielle de cette plante en pratique médicale, nous nous sommes proposés de rechercher d'éventuelles aptitudes à inhiber la croissance des bactéries du genre *Staphylococcus*.

Le présent travail est composé de deux parties : une synthèse bibliographique subdivisée en deux chapitres portant sur la plante étudiée et son huile essentielle ; ainsi que les Staphylocoques.

Une étude expérimentale touche essentiellement deux axes principaux :

- Extraction de l'HE.
- Etude de l'effet antisaphylococcique de l'HE extraite.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

ROSMARINUS
OFFICINALIS L

1.présentation des espèces végétales étudiés

1.1. Historique du *Rosmarinus officinalis L*

Une légende raconte que le romarin était à l'origine une plante à fleurs blanches. Marie aurait placé sa cape bleue sur un romarin planté devant l'étable avant de donner naissance à l'enfant Jésus. Il semble que la cape ait déteint sur l'arbrisseau, ce qui explique pourquoi le romarin fleurit depuis lors en bleu. Certains considèrent cette légende comme une autre source possible pour le nom Romarin, à savoir « Rose de Marie ».

La reine de Hongrie, Elisabeth de Pologne, aurait donné son nom à l'eau de Hongrie, un alcool à base de romarin pour se parfumer ou à boire. Elle aurait utilisé cette machine en 5318 à l'âge de 1 ans (Zaouia, 2012).

Il est appelé rose marine (Romarin, du latin ros = rosée et marinus = marin), une plante aux couronnes, un encensier, une plante méditerranéenne sauvage ou cultivée provenant de la Méditerranée. (Terzo M et al, 2007).

1.2. Définition de *Rosmarinus officinalis L*

En règle générale, il s'agit d'une plante parfumée avec des tiges quadrangulaires, des feuilles opposées décussées sans stipules et des fleurs réunies en cymes axillaires plus ou moins contractées, souvent semblables à des verticilles, ou encore condensées au sommet de la tige et en forme d'épi (Messaili, 1995).



Figure 01 : *Rosmarinus officinalis L* (Photo Boukerkoura M et al, 2024).

1.3. Nomenclature de *Rosmarinus officinalis L*

Le romarin tire son nom du latin *Rosmarinus*, qui signifie rosée de la mer, cette appellation pourrait s'appliquer au parfum de la plante, à la couleur de sa fleur. Le nom rose de mer vient simplement du fait qu'il pousse spontanément au bord de la mer, on même à sa prédilection pour le littoral. L'épithète spécifique "*officinalis*" rappelle que le Romarin est une plante médicinale (Lagsier et al, 2020).

Tableau01 : Noms vernaculaire de *Rosmarinus officinalis L*

Nom vernaculaire en arabe	Eklil, Klil, Hatssalouban, <i>Hassalban</i> , Helhal, Yazir	(AouadetBelayachi,2019)
Appellations régionales en Algérie	Région de l'Est :Eklil Région de l'Ouest: Helhal Région du Centre : Yazir	(Belkhiri,2015) et (Bouadjemi,2018)
Nom vernaculaire en Français	Encensier, herbe aux couronnes, romarin, romarinofficinal, Rose de Marine, enprovençal, Roumanieou	(ChibahetLabandji,2017) et (Bouadjemi,2018)

1.4. Classification de *Rosmarinus officinalis L*

La classification scientifique de *Rosmarinus officinalis* est récapitulée dans le Tableau.

Tableau02 : Classification scientifique de *Rosmarinus officinalis L*(Andrade et al, 2018)

Règne	Plantes
Embranchement	<i>Spermaphytes</i>
Classe	<i>Dicotylédones</i>
Ordre	<i>Lamiales (labiales)</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Rosmarinus</i>
Espèce	<i>Officinalis</i>

1.5 Habitat

Le romarin est originaire de la Méditerranée et se développe naturellement dans le Sud de l'Europe. Cette plante est cultivée à travers le monde à partir de semis ou de boutures au printemps.

Il aime les régions chaudes et assez sèches, les branches collectées pendant l'été sont séchées à l'air libre et à l'ombre. **(Henrich et al, 2006).**

1.6. Culture

Étant donné que le Romarin a un taux de germination des graines très faible, la propagation la plus facile est le bouturage ou le marcottage à l'automne et au printemps. La propagation végétative implique la culture d'un fragment d'organe végétal dans un environnement propice. Il est possible que la bouture se transforme en un organisme complet capable de vivre de manière autonome et possédant les caractéristiques essentielles de l'individu originaire. **(Zermane A, 2010).**

1.7. Répartition géographique en Algérie

L'Algérie est considérée comme l'un des pays méditerranéens en raison de sa variété de climats (climat méditerranéen humide, semi-aride et aride) et de sa riche biodiversité. Le Romarin est l'une des espèces végétales qui se trouvent en pleine nature dans les zones littorales, à proximité de la mer, dans les régions sèches et arides (Aurès) ainsi qu'au Sahara.

(Benzineb, 2019).

Cette plante se rencontre en Algérie dans diverses régions. En Oranie, on la cultive fréquemment en tant que plante d'ornement. Elle se rencontre dans la steppe à Sid Djilali dans la région de Sid El Makhfi, ainsi qu'au bord de la mer à Béni Saf dans la région de Sid Safi.

(Belloul et al, 2016).

1.8. Description botanique

Le romarin est un genre de lamiacées de la famille des *lamiacées*, *Rosmarinus*, originaire du bassin méditerranéen. Deux espèces de plantes appartiennent au genre *Rosmarinus* : *Rosmarinus eriocalyx* et *Rosmarinus officinalis L.* **(BESOMBES, 2008).**

Rosmarinus officinalis L

Le romarin est un arbuste vert qui peut atteindre une hauteur de 60 cm à 2 mètres et qui peut vivre jusqu'à 30 ans. La tige est grisâtre, écailleuse et fissurée, avec des rameaux opposés tortueux, avec des nœuds distants de 0,5 à 2 mm. Les feuilles sont opposées, coriaces, sessiles, linéaires, entières, de 1,5 à 4,5 cm de long, avec des bords enroulés vers le bas. La face supérieure est vert sombre et glabre, tandis que la face inférieure est blanche, tomenteuse, parcourue par une nervure saillante. Elle porte des poils articulés ramifiés et des poils glandulaires fortement serrés.

Le romarin est un arbuste vert qui peut atteindre une hauteur de 60 cm à 2 mètres et qui peut vivre jusqu'à 30 ans. La tige est grisâtre, écailleuse et fissurée, avec des rameaux opposés tortueux, avec des nœuds distants de 0,5 à 2 mm. Les feuilles sont opposées, coriaces, sessiles, linéaires, entières, de 1,5 à 4,5 cm de long, avec des bords enroulés vers le bas. La face supérieure est vert sombre et glabre, tandis que la face inférieure est blanche, tomenteuse, parcourue par une nervure saillante. Elle porte des poils articulés ramifiés et des poils glandulaires fortement serrés.

1.8.1 Appareil végétatif de *Rosmarinus officinalis L*

❖ Partie souterraine

➤ Racine

La racine de la plante est la partie souterraine de la plante, qui se concentre sur l'absorption de l'eau et des sels minéraux, ainsi que sur la fixation au sol. La racine du *R. officinalis* est profonde et pivotante. (Sanon E, 1992).



Figure 02 : Racine de *Rosmarinus officinalis L* (Photo Boukerkoura M et al, 2024).

Rosmarinus officinalis L

❖ Partie aérienne

➤ Tige

Cette tige est tortueuse, anguleuse et fragile, avec un rameau de 0,5 à 2 mètres. L'écorce présente une forme linéaire à cyme plus ou moins semblable à des épis. (Janvalak K et al, 1983).



Figure 03 : Tige principal de *Rosmarinus officinalis L* (Photo Boukerkoura M et al, 2024).

➤ Feuilles

Feuilles linéaires, gaufrées, rigides, brillantes, à bords repliés verdâtres en dessus, plus ou moins hispides blanchâtres en dessous, de 18 à 50 x 1,5 à 3 mm. Les feuilles sèches ont une odeur intense et une saveur amère. Ces huiles essentielles renferment jusqu'à 2% de cinéol et de borneol, des alcaloïdes et des acides organiques. Ces feuilles, ainsi que l'essence de romarin, sont utilisées dans de nombreux produits antirhumatismaux en raison de leur effet rubéfiant sur la peau, tels que l'alcool spiritus rasmarinus. (Madadori M K, 1982).



Figure04 : Feuille de *Rosmarinus officinalis L* (Photo Boukerkoura M et al, 2024).

➤ Fleurs

Les fleurs sont généralement des pentamères, *les Hermaphrodites*. Le calice présente une sibilabiation persistant plus ou moins prononcée et la corolle est bilabée, longuement tubuleuse, parfois avec 4 à 5 lobes subégaux ou une seule lèvre inférieure trilobée, tandis que la supérieure est bilobée. Il y a 4 étamines dans l'androcée, la cinquième étant très petite, parfois 2 étamines et 2 staminodes. Le Gynécée se divise en deux carpelles biovulés, chacun étant divisé par une fausse cloison en deux logettes uniovulées. (Marrou A et al, 2007). Le style gymno basique bifide est le fruit composé de trois akènes plus ou moins soudées entre elles.



Figure05 : Les fleurs et les feuilles de *Rosmarinus officinalis L* (encounters.om, 2016)

1.9. Composition chimique de *Rosmarinus officinalis L*

Le romarin regorge de substances actives. Il est composé de flavonoïdes, d'acides phénols, en particulier d'acide rosmarinique (2 à 3 %).

La résine, le tanin, une substance amère et environ 1,50% d'une essence aromatique, chaude et camphrée, de cinéole et de camphre ordinaire sont présents dans les feuilles de romarin. Perrot a trouvé dans le limbe de la feuille de romarin des poils sécréteurs de deux espèces. Le métabolisme végétal produit des sécrétions telles que les huiles essentielles, les gommés et les mucilages, les tanins, les alcaloïdes, les nectars, et bien d'autres encore. Selon Spiro et Chen, l'huile essentielle de romarin se trouve dans des glandes épidermiques appelées trichomes, qui sont principalement divisées en deux types principaux (les glandes peltate et capitate). Le site de stockage le plus important de l'huile essentielle de romarin serait le premier type.

Il est important de se rappeler que la libération de l'huile ne peut être réalisée qu'en présence d'un facteur externe. (Zermane, 2010).

1.10. Utilisation de *Rosmarinus officinalis L*

Le romarin est fréquemment élevé en raison de son huile essentielle. Dans la traditionnelle médecine, ses parties aériennes sont administrées par voie orale afin de soulager la colique rénale, les troubles menstruels et comme antispasmodique. Elle est perçue comme bénéfique pour gérer l'érosion du sol. Pendant des siècles, l'huile du Romain a été largement utilisée comme un ingrédient dans les produits de beauté, les savons, ainsi que pour améliorer l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires . **(Benikhlef, 2014)**.

2. Huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L*

2.1. Composition chimique du romarin

2.1.1. Composition en huiles essentielles

Le Romarin contient une quantité assez importante d'huile essentielle (1 à 5%). Les fleurs et les feuilles peuvent contenir de l'huile essentielle, mais la qualité la plus élevée est obtenue à partir de ces dernières. D'après des recherches phytochimiques précédentes sur cette espèce, il a été démontré que cette plante renferme plus de 50 composants terpéniques qui forment la composition chimique de l'huile essentielle de romarin. Les principaux composants sont le camphre (15-25%) ; l' α -pinène (19,6%) ; le bornéol et estérifié (10,0%) ; le 1,8-cinéol (15-50%) et le limonène (3,6%). **(Albert. Y. et al. 1996 ; Deans et al, 1998)**.

2.1.2. Composition en polyphénols

Les composés phénoliques forment une vaste famille dont la structure fondamentale est le phénol, un cycle carbonique hydroxylé **(Richard, 2012)**. Ils sont classés en différentes catégories telles que les flavonoïdes, qui représentent plus de la moitié des polyphénols, les tanins, qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes, les acides phénoliques, les coumarines, les lignanes et d'autres classes qui existent en quantités importantes. **(Bouchouka, 2016)**.

2.2. Propriétés physico-chimiques de L'huile essentielle de romarin

D'après **(Berramdani et al, 2021)**. et **(Bourita et al, 2017)**. les propriétés physicochimiques des HE peuvent être résumées de la manière suivante :

- En général, elles se transforment en liquide à température ambiante.
- Elles se déplacent facilement et sont rarement colorées.

Rosmarinus officinalis L

- Les huiles fixes ne présentent pas le goût gras et onctueux.
- En général, leur densité est plus faible que celle de l'eau.
- L'indice de réfraction est principalement influencé par la quantité de monoterpènes et de dérivés oxygénés. Une concentration élevée de monoterpènes entraînera un indice élevé, tandis qu'une concentration élevée de dérivés oxygénés aura l'effet contraire.
- Elles peuvent être solubles dans des alcools à forte teneur en alcool, dans la plupart des solvants organiques et les lipides, mais elles sont peu solubles dans l'eau.
- Elles possèdent un pouvoir de rotation car elles sont principalement constituées de composés asymétriques.
- Les HE conservent leur stabilité à température ambiante si elles sont correctement stockées, protégées de l'oxydation et de la polymérisation causées par l'air, la lumière et les fluctuations de température.
- Leur point de fusion oscille entre 160 et 240°C.

En raison de leur grande altérabilité, de leur sensibilité à l'oxydation et de leur tendance à se polymériser, il est recommandé de les conserver à l'abri de la lumière et de l'humidité.

2.3. Utilisation de l'huile essentielle de romarin

Selon leur tropisme, ces huiles essentielles ont des effets curatifs sur un organe ou une zone spécifique. Ces substances volatiles pénètrent les tissus et l'organisme. À titre d'exemple, l'huile essentielle de basilic joue un rôle essentiel dans la digestion. Le cyprès favorise la circulation sanguine. Il est donc primordial de se familiariser avec les effets thérapeutiques des HE, car leur utilisation peut présenter des désavantages. À titre d'exemple, on recommande l'utilisation d'une huile essentielle de menthe des champs pour stimuler les individus fatigués, elle soulage les douleurs névralgiques, mais il est important de ne jamais l'utiliser dans un bain, sous peine d'irriter sérieusement la peau. En plus de ces principales qualités, elles possèdent toutes une vertu. (Blayn, 1980 ; Maach et al, 1986).

2.4. Domaine d'application

Dans le monde, il y a une grande diversité d'huiles essentielles connues et plusieurs milliers d'entre elles ont été identifiées. Toutefois, seulement une petite partie de ce nombre présente un intérêt commercial. Les huiles essentielles ont une composition chimique qui leur confère à la fois des propriétés odorantes et aromatiques, antimicrobiennes, ainsi que des utilisations multiples et des coûts de production. (Grysole, 2005 ; Fillatre, 2011).

Ces traits présentent des opportunités significatives dans divers secteurs industriels, tels que l'industrie cosmétique, les secteurs de la santé, de l'agro-alimentaire ou de l'agriculture.

2.4.1. Parfums et cosmétiques

Les huiles essentielles sont utilisées dans le secteur des parfums et de la cosmétique comme agents conservateurs en raison de leurs propriétés antimicrobiennes qui permettent d'améliorer la durée de conservation du produit. Toutefois, c'est principalement en raison de leur forte volatilité et de leur absence de trace grasse qu'elles sont employées, notamment dans la création de parfums, de produits d'entretien personnels ou ménagers, ainsi que dans les produits industriels. (Aburjai et al, 2003).

2.5. Activité biologique de l'huile essentielle de romarin

On connaît les propriétés antiseptiques et antimicrobiennes des huiles essentielles. De nombreuses d'entre elles présentent des caractéristiques antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, antioxydantes et antiparasitaires. Plus récemment, ils sont également reconnus pour leurs propriétés anticancéreuses.

Il est important de lier l'activité biologique d'une huile essentielle à sa composition chimique et aux effets synergiques potentiels entre ses composants (Valnet, 2005). Son « totum » est sa valeur, c'est-à-dire l'ensemble de ses composants et non seulement ses composés majoritaires (Lahlou, 2004).

Selon (Benikhlef, 2014), les propriétés du romarin sont comme suit :

➤ Activité antibactérienne

Influence antibactérienne les résultats des études ont examiné les effets des extraits aqueux et méthanoïques du romarin sur la croissance du *Streptococcus sobrinus* et sur l'activité extracellulaire de l'enzyme glucosyl transférase. Les résultats suggèrent que les extraits du romarin peuvent prévenir la formation de caries en inhibant la croissance du *Streptococcus sobrinus*, et ils peuvent également éliminer les plaques dentaires en supprimant l'activité de la glucosyl transférase. Pour trouver de nouvelles formes d'antibiotiques et d'agents antimicrobiens, une autre étude a été réalisée en analysant les effets antimicrobiens des extraits de composés isolés de certaines plantes sur un ensemble de 29 bactéries et levures ayant une pertinence

dermatologique. Le dioxyde de carbone (CO₂) supercritique du romarin a révélé une grande variété d'antimicrobiens. La progression de 28 ans

➤ **Activité antifongique**

L'huile essentielle du romarin a totalement inhibé la biosynthèse de l'aflatoxine à une concentration de 450 ppm. D'après les résultats obtenus, cette huile essentielle peut être utilisée comme un préservatif naturel contre *Aspergillus parasiticus*. L'analyse de l'activité biologique de 11 huiles essentielles, dont celle du romarin, a été réalisée en utilisant la méthode standard de diffusion sur gélose. Les résultats ont révélé que ces huiles ont une activité inhibitrice modérée sur les cinq levures (*Candida albicans*, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Yarrowialypolitica*) étudiées.

➤ **Activité ovicide**

La présence d'huile essentielle de romarin a démontré son efficacité en tant qu'agent ovicide contre trois espèces de moustiques (*Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*). On a découvert que cette huile a une capacité à éviter les moustiques.

➤ **Activité antivirale**

L'analyse de l'efficacité antivirale de l'extrait commercial du romarin a révélé une inhibition de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) à des concentrations très faibles. Toutefois, l'activité anti- HIV du carnosol a été démontrée à une concentration modérée, sans être cytotoxique.

➤ **Activité anti-oxydante**

À base de L'activité anti-oxydante du romarin est connue depuis environ 30 années.

En raison de ses propriétés anti-oxydantes, le romarin est largement accepté en tant qu'épices dont l'activité anti-oxydante la plus élevée. Plusieurs auteurs ont étudié l'utilisation des extraits du romarin comme antioxydant pour conserver les produits viande.

2.6. Toxicité de l'huile essentielle de romarin

« Le fait que c'est naturel ne signifie pas que c'est sans danger pour l'organisme ». En fonction de la quantité administrée et de la méthode d'exposition, que ce soit par ingestion

| *Rosmarinus officinalis L*

(souvent en grande quantité et avec une utilisation aléatoire) ou par contact (exposition à des concentrations importantes), les huiles essentielles peuvent présenter des risques de toxicité.

(Naab et al, 2018).

L'huile essentielle du romarin peut provoquer des convulsions et des crises d'épilepsie à une dose très élevée. Les feuilles présentent une toxicité faible, mais pas négligeable. Elles ont un effet très stimulant, presque excitant, qui entrave le sommeil. Il est recommandé de ne pas utiliser du Romarin de la fin de la journée jusqu'au coucher. **(Zidi et al, 2020).**

LE GENRE

STAPHYLOCOCCUS

1. *Staphylococcus aureus*

1.1. Historique

La bactérie *Staphylococcus aureus*, Gram-positive, a été découverte pour la première fois au microscope en 1878 par Louis Pasteur et ses collaborateurs à partir de prélèvements de pus de furoncles et d'ostéomyélites, qu'ils qualifient alors « d'amas de grains ». En 1881, on effectue les premières cultures in vitro, avec la mise au point du genre *Staphylococcus* (**Ogston, 1882**), puis de l'espèce aureus quelques années plus tard, après avoir observé sa couleur jaune lorsqu'il est sous forme de colonies (**Cowanst et al, 1954**).

L'agent pathogène *S. aureus* est rapidement reconnu comme étant responsable de nombreuses infections. En 1941, la pénicilline a été découverte et utilisée à des fins thérapeutiques pour lutter contre ces infections. Toutefois, l'utilisation massive de cette technologie va engendrer des résistances (**Figure 6**).

(**Kirby Wmm, 1944 ; Rammel kampch et al, 1942**).

Le même phénomène va se produire après la découverte de la méticilline dans les années 60, ce qui va entraîner une nouvelle caractérisation des souches de *S. aureus* en fonction de leur sensibilité ou de leur résistance à la méticilline (SARM pour *S. aureus* Résistant à la Méticilline (**Figure 6**). (**Jevons Mp, 1961 ; Chambers Hf et al, 2009**).

Les SARM ont donc été considérés comme l'une des principales causes d'infections dans les hôpitaux. En outre, depuis le début des années 2000, de nouvelles résistances contre Frise chronologique ont été identifiées, ce qui représente les principales évolutions de résistances aux antibiotiques acquises par *S. aureus* au fil du temps.

D'autres médicaments antimicrobiens, comme la vancomycine, ont favorisé l'apparition de souches dites multirésistantes, qui représentent actuellement un défi majeur pour la santé publique à l'échelle mondiale (**Figure 6**). (**Hiramatsu k et al, 1997**).

LE GENRE *STAPHYLOCOCCUS*

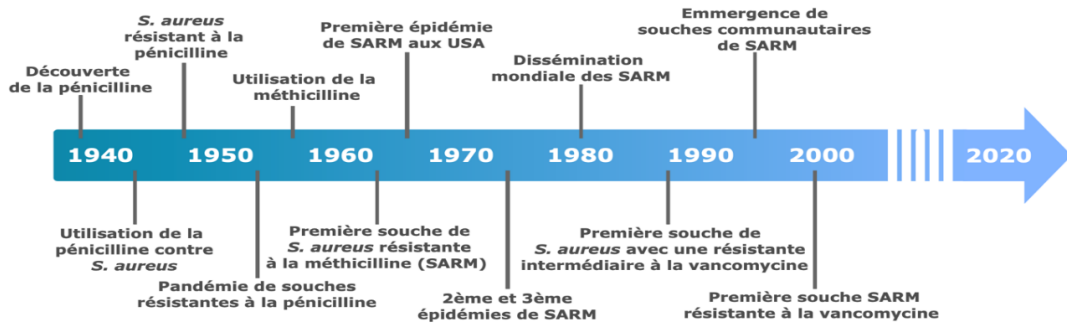


Figure 06 : Apparition des résistances aux antibiotiques majeures chez *S. aureus*

1.2. Taxonomie

L'espèce type de ce genre est *Staphylococcus aureus*, selon (Bergey's, 2007), elle appartient :

Tableau 03 : Taxonomie de *Staphylococcus aureus*

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

1.3. Habitat et Mode de transmission

Staphylococcus aureus est une espèce de micro-organismes présente partout (Jean louis F et al, 2002), Son habitat naturel est l'homme et les animaux à sang chaud (Touatia R, 2016). Il se rencontre habituellement dans l'oropharynx, les fosses nasales, dans les selles, au niveau du périnée ou des aisselles. Il est un commensal de la peau et des muqueuses (Eyque MA et al, 1998), avec un tiers des individus sains ayant *S. aureus* dans les fosses nasales (Figure 7).

LE GENRE *STAPHYLOCOCCUS*

On le retrouve de manière très répandue dans la nature, souvent dans l'eau, l'air et les poussières (saprophyte) (Jean claud B, 1973). De plus, cette bactérie peut également être isolée de manière sporadique dans le sol, l'eau douce, le sable de la plage, l'eau de mer et la surface des plantes. (Dworkin M et al, 2006).

Généralement, la transmission entre les individus se fait par contact direct (manuportage) (Nauciel C et al, 2005), ou indirectement par l'intermédiaire des aliments (la multiplication d'une souche produisant de l'enterotoxine peut entraîner une toxi-infection alimentaire

collective), ou du milieu extérieur. (Dabernat H et al,2003).

L'une des espèces de *staphylocoques* pathogènes résultant d'infections nosocomiales est *S. aureus* (Jean louis F et al, 2002 ; Michael M et al, 2007).

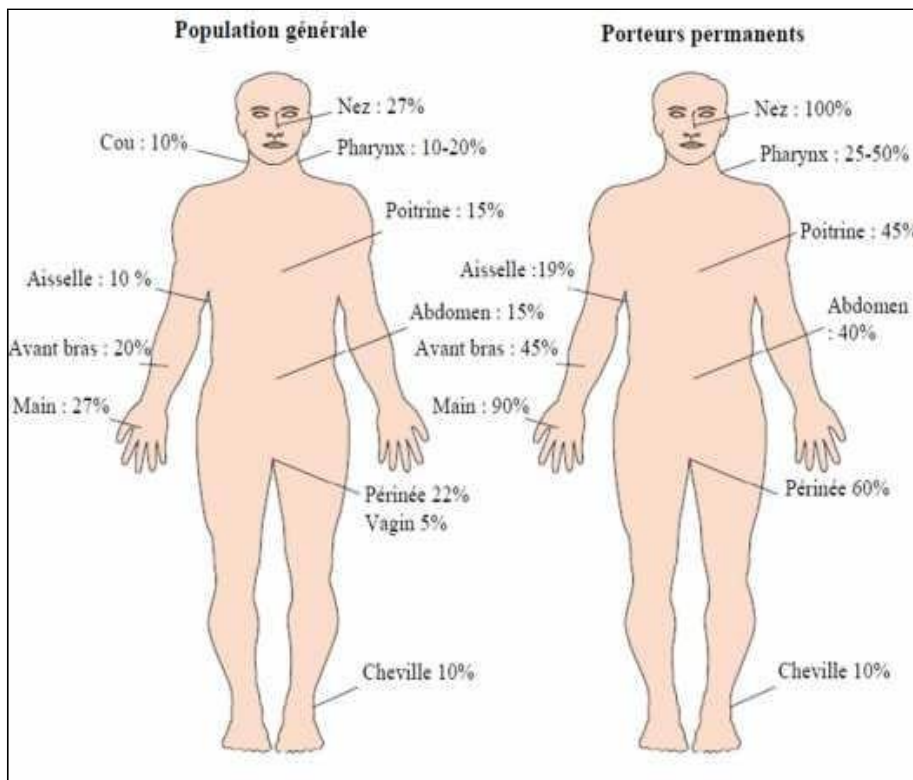


Figure 07 : Taux de portage corporel de *S. aureus* chez l'adulte en général et le porteur permanent (Wertheim H et al, 2005).

1.4. Caractères bactériologiques

1.4.1. Morphologie

Il s'agit de coques Gram positifs, instables et non sporulés, mesurant de 0,5 à 1,5 μm de diamètre (Larpent, 2010 ; Prescott et al, 2013).



Figure 08 : *S. aureus* vu au microscope électronique à balayage (Denis et al, 2016).

1.4.2. Morphologie des colonies des *S. aureus*

Le *S. aureus*, une bactérie à croissance aéro-anaérobie, peut se développer facilement dans un environnement ordinaire, avec une température de 10 à 45 °C. À l'issue de 24 heures d'incubation, *S. aureus* peut se développer sur des gélose trypticase-soja, qu'elles soient supplémentées ou non en sang. Les colonies observées présentent alors une surface lisse, opaque, convexe et ronde (avec un bord net). Elles mesurent de 1 à 3 mm de diamètre et peuvent être colorées (Fig. 09).

Le nom « *aureus* » a d'ailleurs été donné à *S. aureus* en raison de sa pigmentation souvent de couleur or (jaune à jaune orangé), Il est important de souligner que le *S. aureus* peut également se développer dans un environnement hostile, tel qu'une gélose Chapman (un milieu sélectif hyper salé), ce qui constitue un avantage pour isoler la souche. Finalement, il est possible que les colonies cultivées sur gélose au sang soient β -hémolytiques. (Robert, 2013).



Figure 09 : Culture de *S. aureus* sur gélose au sang (Robert, 2013).

1.4.3. Caractères culturaux

S. aureus peut se développer dans différents milieux de culture, qu'ils soient sélectifs (comme la gélose Chapman et Braid Parker) ou non sélectifs (comme le milieu enrichi en sang et la gélose nutritive). Les souches de *S. aureus* "typiques" présentes sur une gélose sanguine présentent des colonies lisses, convexes mesurant de 1 à 3 mm de diamètre, d'un jaune doré dû aux caroténoïdes, et sont fréquemment hémolytiques. (Freney, 2007).

Ces bactéries sont mésophiles (elles se développent à une température optimale de 37°C), neutrophiles et se développent à des concentrations élevées de NaCl (Le Loir et al, 2010). En outre, cette bactérie est capable de se développer dans des conditions difficiles, telles que des températures de 7 à 48°C ou un pH compris entre 4 et 10 (Valero et al, 2009).

1.4.4. Caractères biochimiques

Le *S. aureus* est connu pour sa capacité à produire une catalase et une coagulase, mais pas d'oxydase. De plus, il produit une endonucléase thermostable et fermente le mannitol.

(Shittu A et al, 1983 ; Durand G, 2009).

En outre, les souches de *S. aureus* comprennent : indole (-), acétone (+), uréase (+), ont la capacité de réduire le téllurite de potassium et les nitrates en nitrites, et de produire de l'ammoniaque à partir de l'arginine (Aouati H, 2009 ; Le Minor L et al, 1990).

Dans les laboratoires de routine, il n'y a pas une grande demande pour l'identification de *S. aureus*, à l'exception de quelques enzymes principales (catalase, coagulase et ADNase) qui complètent le diagnostic.

Ils sont beaucoup plus fréquemment employés dans les laboratoires de recherche.

Tableau 04 : caractères biochimiques de *S. aureus* (Morgene 2018).

Enzymes		Métabolismes des sucres	
Positif	Négatif	Positif	Négatif
Catalase	Oxydase	D-Mannitol	D-Cellobiose
Coagulase	Ornithine	D-Mannose	D-Xylose
Arginine dihydrolase	Décarboxylase	D-Tréhalose	L-Arabinose
Hémolyse	β - galactosidase	D- Turanose	Raffinose
Phosphatase alcaline	β - Glucuronisase	Maltose	
Thermonucléase		Saccharose	
β -Glucosidase			

Les caractères cités concernent au moins 90% des souches.

1.5. Facteurs de virulence et physiopathologie

De nombreux facteurs de virulence sont responsables de la pathogénie de *S. aureus*.

Les éléments de la paroi, les protéines de surface et les protéines générées constituent les principaux facteurs de virulence. Effectivement, ces éléments sont soit directement codés par un chromosome déjà présent, soit codés par des éléments génétiques mobiles (transposons, plasmides ou bactériophages).

Il est important de noter que la majorité de ces facteurs de virulence sont régulés par différents systèmes, dont le plus répandu est appelé le régulateur génétique annexe (Agr).

(Robert, 2013).

1.6. Différents types d'infections à *S. aureus*

Selon (Flandrois, 2000), *Staphylococcus aureus* est la bactérie pyogène. Les infections à *staphylocoque* peuvent être divisées en deux catégories principales:

LE GENRE *STAPHYLOCOCCUS*

- Les infections suppuratives sont principalement influencées par la multiplication du germe.

Selon (Prévost, 2004) elles peuvent être primitives ou secondaires (une porte d'entrée, habituellement une effraction cutanée ou une intervention chirurgicale précédant l'infection).

Les toxémies *staphylococciques* sont des infections non suppuratives d'origine toxinique causées par la propagation de toxines à partir d'un foyer infectieux ou l'ingestion d'une toxine préformée dans un aliment contaminé. Ces substances toxiques.

On regroupe les syndromes cutanés *staphylococciques*, le choc toxique *staphylococcique* (TSS) et les intoxications alimentaires.

1.7. Résistance aux antibiotiques

L'origine limitée au milieu hospitalier, la résistance à la pénicilline s'est rapidement répandue dans le milieu communautaire et touche aujourd'hui plus de 90 % des souches de *S. aureus*. Au cours des années 1950, les souches de *S. aureus* ont développé des résistances multiples: la résistance à la pénicilline était liée à la résistance à la streptomycine, à l'erythromycine, à la tétracycline, au chloramphenicol et aux sulfamides. La mise au point en 1959 de la méticilline, un dérivé semi-synthétique de la pénicilline, pour le traitement des infections *staphylococciques* a suscité un grand espoir. Cependant, seulement un an après, les premières souches hospitalières de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) ont été découvertes dans un hôpital de Grande-Bretagne. Le séquençage du génome de *S. aureus* par les équipes de Baba et d'Hiramatsu a permis de dévoiler en partie le secret de ce pouvoir d'adaptation. *S. aureus* possède deux domaines fonctionnels distincts dans son génome. Les gènes responsables de la maintenance de la bactérie sont présents dans la majeure partie du chromosome. Les éléments génétiques accessoires et mobiles, tels que les plasmides, les transposons, les prophages ou les îlots de pathogénie, forment la deuxième partie du génome. 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. (Oana et al, 2010).

2. *Staphylococcus epidermidis*

2.1. Caractéristiques de *Staphylococcus epidermidis*

Staphylococcus est un genre de la famille des *Staphylococcaceae*, de la classe des *Bacilli* et de l'ordre des *Bacillales*. Il s'agit de bactéries à coloration Gram positive, de 0,5 à 1 µm de diamètre, formant des tétrades ou des amas, La croissance est facile dans des environnements traditionnels et les colonies ont une taille de 1 à 3 mm à 24 heures (**Dupieux C et al, 2019**), avec une apparence pouvant être β-hémolytique. Il est possible d'effectuer des tests d'orientation biochimiques sur les colonies bactériennes afin de détecter la présence d'une catalase et l'absence d'oxydase (**Bouchiat C et al, 2016**). On distingue généralement les espèces du genre *Staphylococcus* en fonction de la présence d'une enzyme, la coagulase. L'espèce *Staphylococcus aureus* est la principale représentante des *staphylocoques* à coagulase positive, contrairement au groupe des *staphylocoques* à coagulase négative (CoNS), auquel appartient *S. epidermidis* (**Figure 1**) (**R W Fair Brothter, 1940**). Plus de 50 espèces de CoNS sont actuellement connues (**Bacterio, net, 2019**). Les bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme et de nombreux mammifères sont leur groupe (**Becher k et al, 2014**). Ils sont aussi opportunistes en matière de pathogènes. *S. epidermidis* est l'espèce la plus courante dans la flore commensale cutanée parmi les CoNS (**Grice EA et al, 2009 - 2011**). Cette bactérie peut aussi causer des infections dans les hôpitaux (**Otto, M, 2009**). Par exemple, *S. epidermidis* est le principal responsable d'infections nosocomiales liées à des dispositifs médicaux tels que des cathéters ou des valves cardiaques. (**Uckay D et al, 2009**).

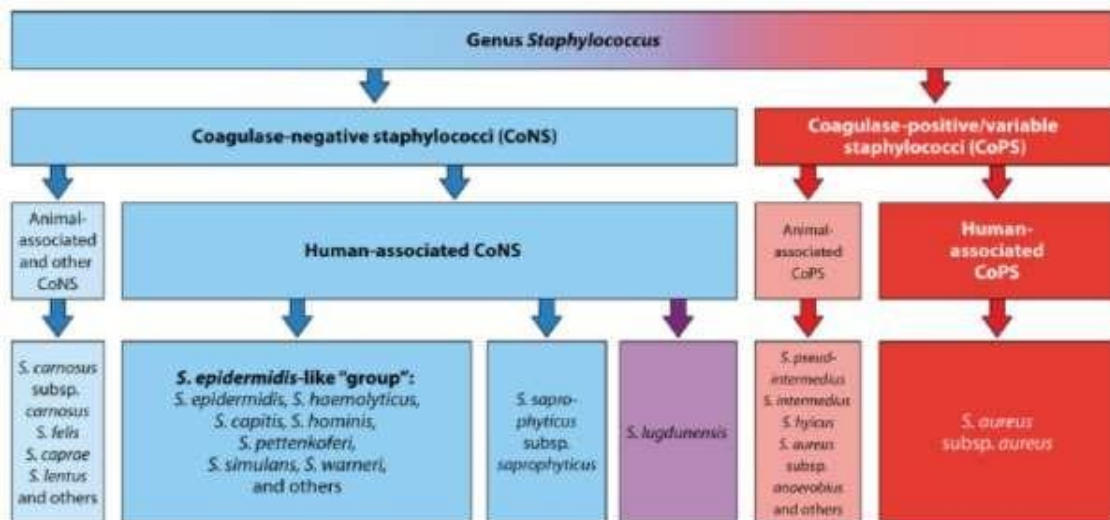


Figure 10 : Classification clinique et épidémiologique des *staphylocoques*. (Becker K et al,2014)

Dans les CoNS, il existe de nombreux colonisateurs naturels de la peau et des tissus mous chez l'homme. Le CoNS le plus fréquent (60 à 70 %) dans le microbiote cutané est *S. epidermidis*, (Bouchiat C et al, 2016 ; Heilmann C et al, 2018 ; Antimicrobe.org, 2019). Dès le début de la période néonatale (Nguyen TH et al.,2017), cette colonisation va créer un équilibre avec l'hôte et jouer un rôle protecteur contre les agressions d'autres agents pathogènes tels que *S. aureus*, *Candida albicans* ou *Streptococcus pyogenes*. Effectivement, dans l'étude menée par Lai et ses collègues, il a été démontré que *S. epidermidis* induit l'expression d'AMPs (peptides antimicrobiens) par les kératinocytes grâce à un mécanisme dépendant du TLR2 (Toll-Like Receptor, un récepteur impliqué dans la reconnaissance bactérienne), ce qui permet de protéger contre ces agents pathogènes. (Laiy et al, 2010)

L'effet anti-inflammatoire de *S. epidermidis* se manifeste également par la production d'acide lipotéichoïque (LTA) (Nguyen TH et al.,2017). Selon une autre étude menée par Lai et ses collègues, le LTA de *S. epidermidis* bloque à la fois la production de cytokines inflammatoires par les kératinocytes par TLR3 et l'inflammation provoquée par une lésion par un mécanisme dépendant de TLR2.

2.2. Epidémiologie

Les *staphylocoques* à coagulase négative sont des bactéries saprophytes présentes sur la peau et les muqueuses humaines et animales. Ces germes ont une préférence pour les environnements humides. Chaque espèce de *staphylocoque* à coagulase négative a une distribution qui lui est propre chez l'homme. *Staphylococcus haemolyticus* et *hominis* sont présents dans le creux

LE GENRE *STAPHYLOCOCCUS*

axillaire et les glandes apocrines du pubis, tandis que *Staphylococcus capitis* se trouve principalement dans les glandes sébacées du scalp. Chez l'être humain, *Staphylococcus epidermidis* est la plus courante dans les échantillons de la peau (David MD et al, 2015). Le creux axillaire, le pli inguinal, le périnée, les narines, la conjonctive et les espaces interdigitaux sont les zones préférées de *Staphylococcus epidermidis*. (Kloos et al, 1976).

Chez l'être humain, *Staphylococcus epidermidis* est la plus courante dans les échantillons de la peau (David MD et al, 2015). Le creux axillaire, le pli inguinal, le périnée, les narines, la conjonctive et les espaces interdigitaux sont les zones préférées de *Staphylococcus epidermidis* (Kloos et al, 1976). La diversité génomique de *Staphylococcus epidermidis* est significative, contrairement aux autres espèces de staphylocoques à coagulase négative, avec 74 séquences différentes de nucléotides (Otto M, 2009). Le ST27 est un clone spécifique, le plus fréquent dans les infections nosocomiales en Europe et aux États-Unis, sans doute en raison de ses gènes qui favorisent la formation de biofilms et la résistance aux antibiotiques. (Becker K et al, 2014).

2.3. Pathogénicité

La virulence du groupe staphylocoque a été largement étudiée, notamment *Staphylococcus aureus*, qui est connu pour provoquer des chocs toxiques par la production d'exotoxines (ex TSST-1). Les connaissances sur les staphylocoques à coagulase négative sont moins développées. Les infections du matériel étranger, en particulier les cathéters, sont associées à la capacité de *Staphylococcus epidermidis* à coloniser les surfaces polymériques et à créer un biofilm (Von Eff C et al, 2002). Les infections à *Staphylococcus epidermidis* semblent être influencées par d'autres facteurs tels que la production de l'antibiotiques et leur capacité à produire des enzymes et des exotoxines.

✓ Le biofilm

Plusieurs étapes sont suivies dans la formation du biofilm par *Staphylococcus epidermidis* (Figure 11): l'adhérence à la surface abiotique, l'adhérence aux surfaces biotiques l'accumulation et la maturation, puis le détachement du biofilm. Les adhésines protéiques comprennent les protéines covalentes de surface, les protéines ancrées dans la membrane (cell wall anchored protein, CWA) et les protéines non covalentes de surface, telles que les protéines de la famille autolysine/ adhésines et les protéines couvrantes (spanning proteins). Le polysaccharide intercellular adhésin (PIA), ainsi que les acides teichoïques et lipoteichoïques, sont des adhésines non protéiques. (Becker K et al, 2014).

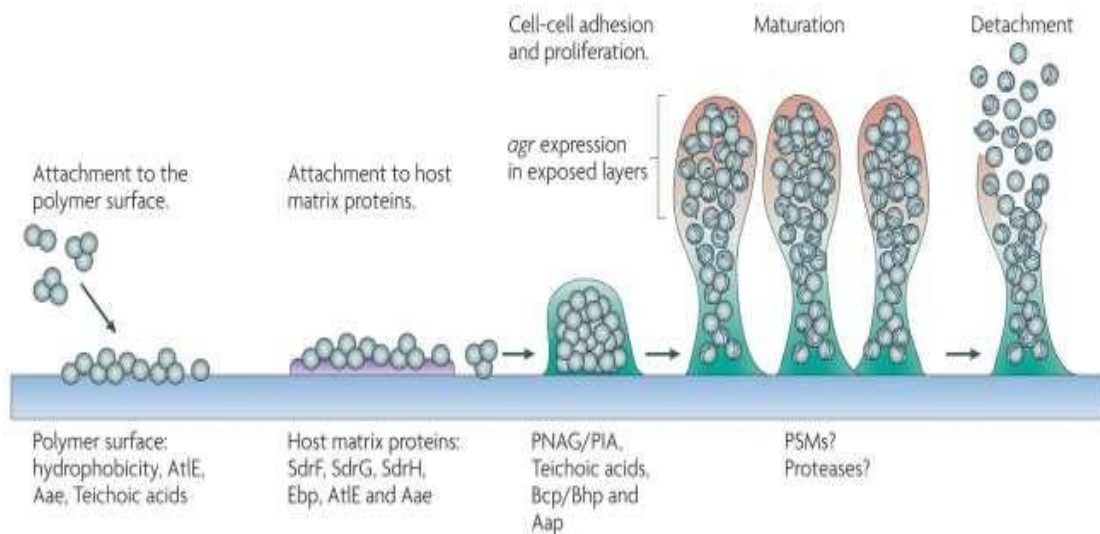


Figure 11 : développement du biofilm chez *S. epidermidis* (Heilmann C et al, 1997).

L'adhésion est la première étape du cycle de vie du biofilm. Des interactions physico-chimiques (électrostatique, hydrophobe et acide/base) sont d'abord impliquées dans ce phénomène actif. Les protéines de surface spécifiques telles que AtlE (Heilmann M et al, 1997), jouent un rôle dans l'hydrophobie, permettant ainsi leur adhésion directe ou indirecte à la surface. La libération d'ADN extracellulaire (eDNA) est également due à son activité autolytique intrinsèque, ce qui joue un rôle crucial dans la formation du biofilm (Lzano EA et al, 2008 ; Qin Zetal, 2007). Les MSCRAMMs (Microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) sont des protéines qui recouvrent une partie de la surface de la bactérie, dont la principale est SdrG. La bactérie sera fixée par cette protéine, que ce soit par des liaisons covalentes ou non (Donlan RM et al, 2002 ; Mah TFC, 2001). Très vite, une couche unique de bactéries (cluster) va constituer la fondation du biofilm (Costerton J, 1999). Les modifications génomiques de *S. epidermidis* entraînent rapidement une adhésion irréversible de cette adhésion initiale. (Mckenny D, 1998).

La deuxième phase implique la fusion des cellules bactériennes entre elles. Elle entraînera la colonisation de toute la surface. L'adhérence et la maturation du biofilm sont favorisées par PIA/PNAG (polysaccharide intercellular adhesine/Poly-N-acetylglucosamine) (Mc kenney D, 1998 ; Mock D et al, 1996). Le lien β 1-6 de ce polysaccharide est différent des autres polymères (Otto M., 2009). Elle est produite par l'opéron icaABCD (adhérence intercellulaire) et contrôlée par le gène icaR (O'Gara J p, 2007). Le PIA joue un rôle essentiel dans la création du biofilm. Par conséquent, PIA est présente dans 87 % des souches de *S.*

LE GENRE *STAPHYLOCOCCUS*

Epidermidis qui produisent un biofilm. En revanche, 89 % des souches qui ne génèrent pas de biofilm ne produisent pas de PIA (Siemssen N et al, 1996). Au terme de cette étape, le biofilm est constitué de 10 à 25 % de bactéries et de 75 à 90% de matrice extracellulaire.

(Jcosterton,1999).

Le détachement du biofilm est la dernière étape du cycle de vie du biofilm, ce qui lui permettra de coloniser d'autres surfaces. Cette étape du biofilm est la moins connue. En l'absence d'une enzyme spécifique pour la lyse de PIA, les staphylocoques utilisent des PSMs (modulins phenol-solubles) qui réduisent les interactions entre les bactéries et la surface (Trampuz A et al,2004 ; Areiola CR et al, 2005). Cela favorisera la mise en place de « tunnels » qui permettront l'apport de nutriments. En fin de compte, la division cellulaire, qui était 5 à 15 fois plus lente à l'intérieur du biofilm, pourra reprendre (Kodji kian L et al, 2008), ce qui permettra la sortie du biofilm de bactéries métaboliquement actives et prêtes à coloniser d'autres zones.

2.4. Résistance aux antibiotiques

Dans le traitement des infections à *Staphylococcus aureus* et à coagulase négative, les pénicillines, notamment la méticilline, sont les antibiotiques les plus efficaces. En inhibant la formation de la paroi bactérienne, elle empêche le *staphylocoque* de se reproduire et provoque son apoptose.

Les résistances à la méticilline ont été identifiées chez *Staphylococcus aureus* grâce à la production par la bactérie d'une protéine liée à la pénicilline (PBP). Cette protéine est codée par des éléments géniques mobiles, les chromosomes *mec staphylococciques* (SCCmec).

(Hiramatsu K et al.,2001).

La résistance de *Staphylococcus epidermidis* à la méticilline est basée sur le même mécanisme et est observée chez 75 à 90 % des souches (Diekema D et al., 1997-1999). Un grand nombre d'autres antibiotiques ont été résistants à *Staphylococcus epidermidis* : rifampicine, fluoroquinolones, gentamycine, érythromycine, clindamycine, sulfamides, chloramphénicol (Rogers KL et al.,2009). De plus, le biofilm constitue une méthode efficace pour éviter la résistance à la vancomycine. Il est fréquent de constater des résistances multiples aux antibiotiques chez *Staphylococcus epidermidis* résistant à la méticilline.

(Otto M et al, 2009).

Etude

EXPÉREMENTALE

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Matériels et méthodes

1. Matériel végétal

Pour notre étude, nous avons choisi une plante endémique de l'Algérie "*Rosmarinus officinalis*" (romarin), une plante aromatique appartenant à la famille des *Lamiacées*, qui a été utilisée pendant des milliers d'années à des fins culinaires et médicinales en raison de sa saveur aromatique et ses propriétés et bienfaits pour la santé.

1.1. Récolte de la plante

Les parties aériennes du Romarin ont été récoltés dans la région d'El Harrouch (Skikda), durant le mois de février 2024.



Figure 12: *Rosmarinus officinalis* L (Photo Boukerkoura M et al, 2024)

1.2. Séchage et conservation

L'échantillon a été séché à l'air libre et à l'abri de la lumière pendant quinze jours. Puis découpé pour faciliter sa manipulation ; et conservé dans un endroit sec dans des sacs en papier propre jusqu'à son utilisation.



Figure 13 : *Rosmarinnus officinalis* L sèche (photo Boukerkoura M et al, 2024)

1.3. Extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

Nous avons réalisé l'hydrodistillation à l'aide d'un appareil du type Clevenger au laboratoire de Botanique de l'E.N.S.E. T. Skikda.

1.3.1. Mode opératoire

L'huile essentielle est extraite par hydrodistillation dans un distillateur de type Clevenger. Avant d'être utilisé, l'appareil a été nettoyé avec l'eau distillée afin de retirer les poussières et les graisses qui pourraient être présentes dans l'appareil, afin d'éviter toute contamination de l'huile lors de l'extraction.

Cette approche implique d'incorporer un mélange de 200 g de matière végétale dans un litre d'eau distillée. Une fois que l'eau a bouilli, la vapeur entraîne les composants volatils dans le tube principal, puis se condensent dans le système de refroidissement et sont récupérés dans une ampoule à décanter. Quelques instants plus tard, on observe de petites gouttelettes formant, après un certain temps, une couche d'huiles jaunâtres qui flotte à la surface de l'eau.

Le temps nécessaire pour obtenir l'huile essentielle complète est de 2h30min. Le dispositif est arrêté et l'eau ne coule que dans le réfrigérant. La différence de densité entre l'huile et l'eau les sépare, l'huile surnage à la surface de celle-ci. L'huile résultante est collectée dans un flacon en verre soigneusement scellé afin d'éviter qu'elle ne s'évapore, puis emballée dans du papier aluminium pour la préserver de la lumière et de la chaleur. Elle est ensuite conservée dans un

Matériels et méthodes

réfrigérateur à une température de 4-5 C° jusqu'à ce qu'elle soit utilisée pour les tests microbiologiques ultérieurs.

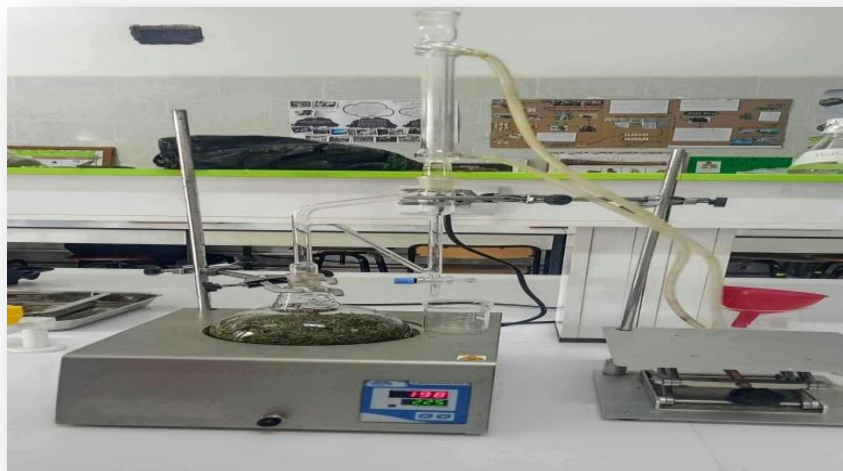


Figure 14 : Montage de l'appareil d'hydrodistillation (laboratoire l'E.N.S.E. T Skikda)
(Photo Bouima k et al, 2024)

1.3.2. Calcul du rendement en huile essentielle

Selon la norme AFNOR, le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction est la masse de la matière végétale utilisé, il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\mathbf{R\% = Pb/ Pa \times 100}$$

R%: Rendement de l'huile en (%),

Pa: Poids de l'huile en (g),

Pb: Poids de la plante en (g).

❖ Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite

Lorsque les huiles essentielles présentent des caractéristiques organoleptiques, il est nécessaire d'évaluer leur apparence, leur odeur et leur couleur en utilisant les sens.

2. Recherche de l'effet antistaphylococcique de l'huile essentielle extraite

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a été testée sur neuf souches bactériennes de *Staphylococcus aureus* dont une (1) souche de *Staphylococcus epidermidis* d'origine humaines. Ces dernières ont été fournies par un laboratoire de l'établissement hospitalier de Skikda (**Abd El Razak Bouhara**).

L'aspect qualitatif de l'activité antibactérienne de l'extrait testé a été déterminé par méthode de diffusion d'HE en milieu solide appelant aromatoگرامme, méthode similaire à l'antibiogramme, où les disques d'antibiotiques sont remplacés par des disques imprégnés de l'HE extraite, brute.

2.1. Principe de l'aromatoگرامme

La technique repose sur la diffusion de l'extrait sur le milieu solide dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible.

L'apparition et l'importance du diamètre de la zone d'inhibition reflète l'impact de l'HE sur les souches bactériennes. Ainsi, ces dernières seront qualifiées de sensibles ou très sensibles, extrêmement sensibles, ou résistantes.

2.1.1. Préparation des prés cultures

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches bactérienne est effectuée par repiquage à la surface de la gélose nutritive pré coulée en boîte de Pétri, et ensuite incubée à 37°C pendant 18 à 24h.

2.1.2. Préparation de l'inoculum

Préparer des suspensions pour chaque espèce. A l'aide d'une anse de platine on prélève deux ou trois à cinq colonies pures et bien isolées qu'on décharge dans un tube contenant 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile. Agiter au vortex pendant quelques secondes. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture est trop faible, ou bien de l'eau physiologie stérile s'il est trop fort.

L'inoculum doit être ensemencé dans les 15mn qui suivent sa préparation.

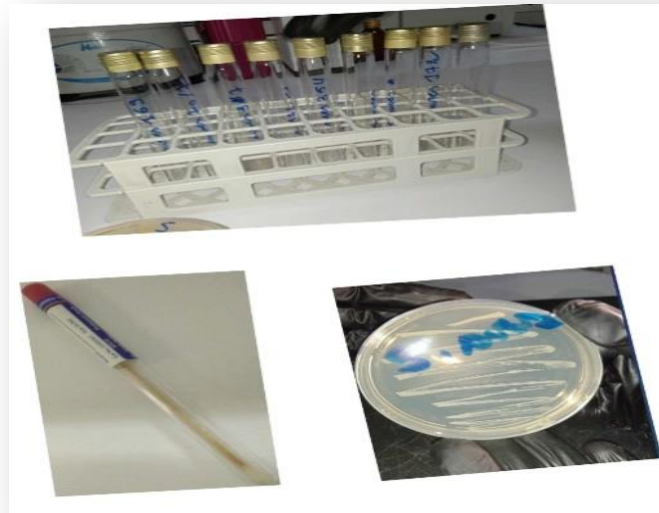


Figure 15 : Les étapes de préparation de l'inoculum (Photo Boukerkoura M et al, 2024)

2.1.3. Ensemencement

Le milieu de culture utilisé est Muller-Hinton (MH), qui est le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antimicrobiens.

- D'abord on va commencer par le coulement de milieu dans les boîtes pétrie à un épaisseur de 4 mm pour la solidification.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension microbienne.
- L'essorer en le passant fermement, en tournant sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haute en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération trois fois, en tournant la boîte de pétri de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.



Figures 16 : Techniques d'ensemencement en milieu solide. Muller-Hinton (MH)
(Boukerkoura M et al, 2024)

2.1.4. Application des disques

A l'aide d'une pince stérile, deux disques stériles ont été déposés à la surface de la gélose ensemencée et séchée, l'un imbibé de 20µl d'huile essentielle pure et l'autre est un disque témoin vierge dépourvu de tout extrait.

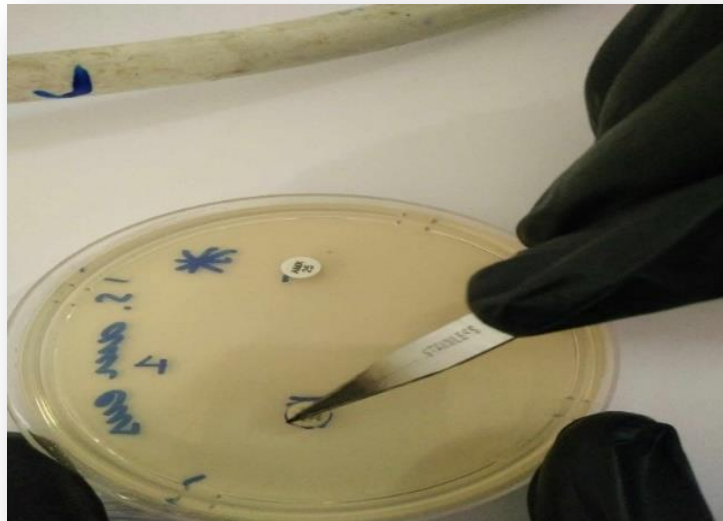


Figure 17: Dépôt des disques sur milieu solide (Boukerkoura M et al, 2024).

2.1.5. Incubation

Les boîtes ainsi préparées sont incubées à 37°C pendant 24h.



Figure 18 : Incubation des boîtes de pétrie dans l'étuve.
(Photo Boukerkoura M et al, 2024)

2.1.6. Lecture

L'activité antibactérienne est estimée en mesurant les diamètres des zones d'inhibition autour des disques chargés d'HE, à l'aide d'un pied à coulisse. Ce qui classe ainsi les souches bactériennes dans l'une des catégories suivantes selon (Ponce *et al* 2003). Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm ; Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm ; Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm ; Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm.

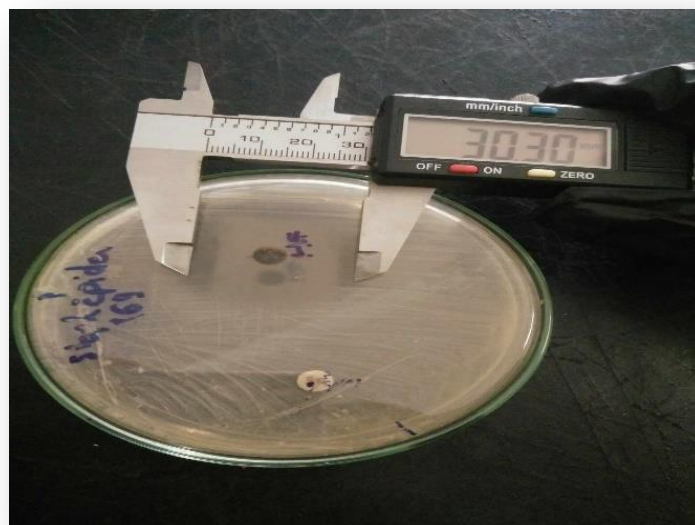


Figure 19 : Mesure des diamètres des zones d'inhibitions (Photo Boukerkoura M et al, 2024)

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1.Extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L*

1.1. Rendement en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis L*

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* extraite par hydrodistillation a donné un rendement meilleur en huile essentielle de **0,65%**, ce qui est en accord avec les normes AFNOR.

En comparant nos résultats avec d'autres travaux sur la même espèce et qui ont utilisé la même méthode d'extraction, nous avons conclu que notre résultat est pratiquement similaire à celui de (**Bourita et al , 2017**). Alors que, notre rendement est inférieur à celui trouvé Par (**Ayadi et al, 2011**) ; pour la même espèce récoltée en Tunisie avec un rendement en huile de 1.35%.

Par ailleurs, l'HE du romarin récolté dans la wilaya de Djelfa a donné un rendement en huile plus élevé (0.58%). (**Mouas Y, 2018**).

Les différences de rendement observées peuvent être liées non seulement à l'origine de la plante, mais aussi à la plante elle-même (la période de récolte et la partie utilisée).

Des éléments supplémentaires peuvent impacter le rendement de l'extraction tels que les matériaux des appareils utilisés, la méthode et la durée d'extraction, la régularité de la chauffe, le refroidissement du distillat, etc. et aussi Le taux de production d'huile essentielle varie en fonction de l'origine géographique, du stade phénologique et des éléments environnementaux tels que la température et la qualité du sol (**Bruneton, 1993 ; Bennadja et al, 2013**).

1.2. Caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite

Les propriétés organoleptiques de l'HE extraite, sont résumées dans le tableau ci-dessous

Tableau05 : Caractéristiques organoleptiques de l'HE de *Rosmarunis officinalis*

Origine	Aspect	Couleur	Odeur et saveur
Huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis</i>	Liquide mobile	Jaune pale	Fraiche Camphrée
Norme AFNOR (2006)	Liquide mobile	Presque incolore à jaune pale	Fraiche Plus ou moins camphré

Alors, on remarque que notre huile essentielle extraite, présente des caractéristiques organoleptiques identiques à celles décrites par les normes d'AFNOR.

2. Recherche de l'effet antistaphylococcique de l'huile essentielle extraite

❖ Aromatogramme

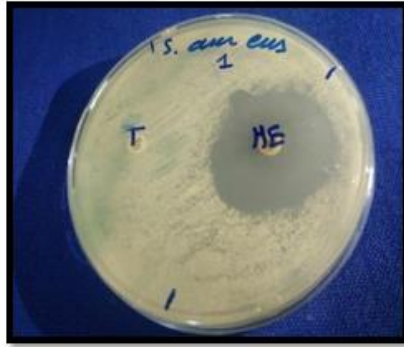
Selon (Ponceet et al, 2003) les souches bactériennes test- objet se sont montrées extrêmement sensibles à l'huile testée avec des diamètres allant de 25.9mm à 50.1mm. Ce qui permet de qualifier d'excellente l'activité de notre huile sur toutes les souches testées. Le tableau (tableau 08) résume les résultats obtenus.

Tableau 06 : Diamètres des zones d'inhibition de l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur les différentes souches bactériennes testées

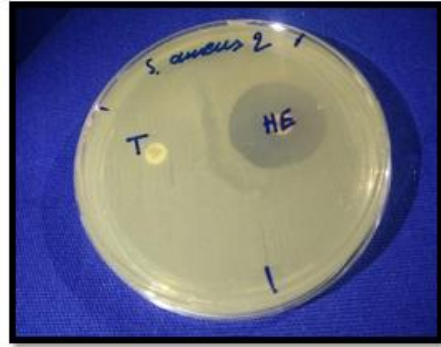
Souches bactériennes	Diamètre des zones d'inhibition (mm)	Sensibilité
<i>S. aureus</i> 354	50 ,1	+++
<i>S. aureus</i> 70	31	+++
<i>S. aureus</i> 327	43,6	+++
<i>S. aureus</i> 1	34,7	+++
<i>s. aureus</i> 2	26,4	+++
<i>S. aureus</i> 172	25,9	+++
<i>S. aureus</i> 173	33,5	+++
<i>S. aureus</i> 169	35,9	+++
<i>Staphylococcus épidermidis</i> 159	32,3	+++

(+++) **: Extrêmement sensible**

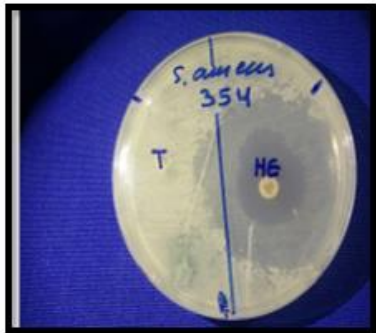
Résultats et discussions



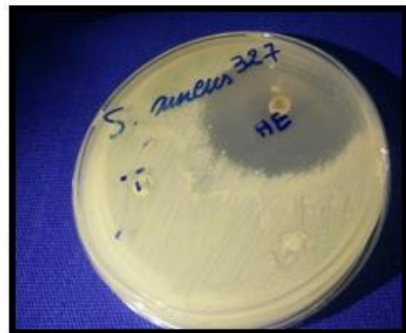
S. aureus 1



S. aureus 2



S. aureus 354



S. aureus 327



S. aureus 70/71



S. aureus 173

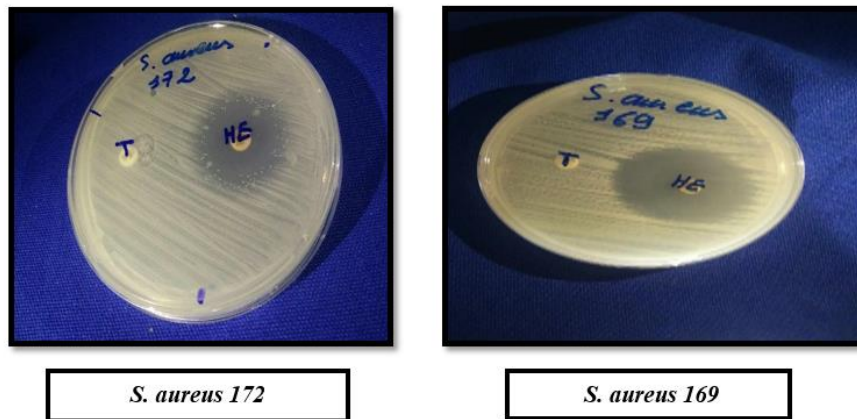


Figure 20 : Effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *S.aureus*.
(Photo Boukerkoura et al, 2024).

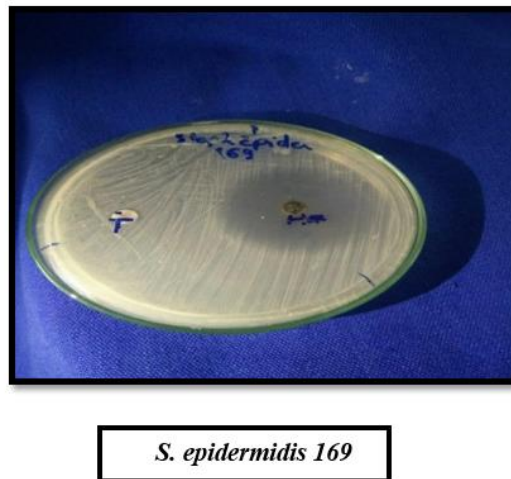


Figure 21 : Effet de l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur *S.epidermidis*.
(photo Boukerkoura M et al,2024).

En comparant nos résultats avec d'autres études, réalisée par (Mouas et al, 2017) a examiné l'impact de l'huile de romarin sur des souches bactériennes. Les résultats ont montré que les huiles essentielles des deux écotypes Blida et Djelfa ont inhibé la croissance de *Staphylococcus aureus* avec des tailles respectives de 23,75 mm et 16,75 mm. En ce qui concerne l'activité antibactérienne d'*Escherichia colis*, les données ont révélé que l'huile essentielle de l'écotype blida a une activité antibactérienne comparable à celle de Djelfa, avec une taille de 9,25 mm et 9,5 mm respectivement, respectivement.

Cependant, l'activité antibactérienne de l'HE de la même espèce de la région de Djelfa sur

Résultats et discussions

la souche d'*Enterococcus faecalis* a donné des diamètres des zones d'inhibition allant de 14,25mm à 22,75 mm.

Selon une étude réalisée par El-Kamali et ses collègues (2019), l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a montré une activité antibactérienne variable. Selon les résultats, l'huile essentielle testée a démontré des propriétés antibactériennes supérieures à celles observées dans les études MOUAS et al. (2017). Elle a démontré une activité antibactérienne contre les bactéries Grampositives (17-27) mm par rapport aux bactéries Gram-négatives (15mm-23mm). **(El-Kamali et al, 2019)**. A montré que les zones d'inhibition de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sont variables. L'activité antibactérienne est plus élevée contre les bactéries à Gram-positives (17mm-27mm), par rapport aux bactéries à Gram-négatives(15mm-23mm).

Par ailleurs, d'après **(Delaquis et al, 2002)**, il est suggéré que ces composés (mineurs) provoquent des variations dans l'enveloppe cellulaire des bactéries à Gram positive.

Il est communément admis que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux huiles essentielles que les bactéries à Gram négatifs. La forte résistance des bactéries à Gram négatif est en partie due à la complexité de leur enveloppe cellulaire qui comporte une double membrane, alors que celle des bactéries à Gram positif est simple et formée d'une couche de peptidoglycane coincée entre la membrane plasmique et une assise externe composée de lipopolysaccharides et de protéines. Il est possible que cette structure empêche la pénétration d'huiles ou protège la couche peptidoglycane contre les huiles. Elle représente une protection contre les substances hydrophobes chez les bactéries Gram négatif, qui peuvent pénétrer et entraver la croissance des bactéries Gram positif. Selon **(Moussaid et al, 2012)**, les conditions de séchage et de broyage de la plante seraient responsables de l'activité des principes actifs. Elle est également influencée par divers éléments, tels que la méthode d'extraction et la teneur en principes actifs.

(Fertout et al, 2016).

CONCLUSION

Conclusion

Rosmarinus officinalis est une plante appartenant à la famille des *Lamiaceae*, et très répandue dans le bassin méditerranéen. Son huile essentielle présente plusieurs propriétés antibactériennes, ce qui fait d'elle une des solutions que l'on peut proposer pour soulever le défi de l'antibiorésistance.

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation a donné un rendement de 0.65%. Les propriétés organoleptiques de l'HE extraite correspondent aux normes AFNOR.

L'effet antistaphylococcique de l'extrait testé a été déterminé par la méthode de l'aromatogramme.

Cependant, les souches bactériennes de Staphylocoque se sont montrées extrêmement sensibles à l'huile testée avec des diamètres allant de 25.9mm à 50.1mm. Ce qui permet de qualifier d'excellente l'activité de notre huile sur toutes les souches testées.

Par ailleurs, son effet important sur les pathogènes, constitue un atout quant à la perspective d'usage de cette substance comme molécule antibactérienne dans l'arsenal thérapeutique. Cependant, les HEs sont des éléments contribuant à la solution des problèmes de résistances et de la limite des synthèses chimiques de produits antimicrobiens. et pharmaceutiques.

**REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES**

Références bibliographiques

1. **Aburjai T., Nasheh F.M.**,(2003), plants used in cosmetics.Pytother.Res,17,p 987- 1000.
2. **Afnor**, (1992).Receuil des normes francaises ;huiles essentielles.
3. **Albert.Y.leung, Steven Foste**, (1996), Encyclopedia of common Naturel Ingradients used In Foods, Drugs, and cosmetics, 2éme édition , Awreley-interscience publication, P445.
4. **Andrade J,Faustino C, Garcia1 C et al**, (2018), *Rosmarinus officinalis L*, an update review of its photochemistry and biological activity. Future science group. 4(4). p18.
5. **Aouati, H**, (2009), Isolement des souches de Staphylococcus aureus résistante à la méticilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Mémoire. Université Mentouri Constantine-1. Microbiologie appliquée et biotechnologies microbienne, Algérie. p 94.
6. **Appliquée**. Université Badji Mokhtar - Annaba, pp 20-24.
7. **Avril, JL, Dabernat, H, Denis F, et Monteil, H**, (2003), Bactériologie clinique, 3éme Edition. Ellipses, Paris. p 602.
8. **Becker K, Heilmann C, Peters G**, (2014), Coagulase-negative staphylococci, Clin Microbiol Rev.;27(4), p 870-926.
9. **Belkhiri F** ,(2015), Etude de l'activités antibactérienne des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis L*. (en ligne) Mémoire de Master : Génie des Procédés. Biskra. Université Mohamed Khider , p 51.
10. **Belloul K et Chouiref M**, (2016), Etude de l'activité antioxydante d'une plante médicinale (le romarin), (en ligne), Mémoire de Master: Génie chimique .Universite Echahid Hamma Lakhdar - El oued, p 666.
11. **Benbouabdellah, Sarah, and Dalila Ziane**,(2015), *Prévalence de souches de Staphylococcus aureus dans le lait cru et les produits laitiers artisanaux*. Diss. Université Mouloud Mammeri.
12. **Benikhlef A**,(2014), comparaisant entre les huiles essentielles et leurs effets antibacteriens sur rosmarinus officinalis de la region de bechar et ouargla.memoire master en agronomie.universite abor belkaid-tlemcen. p 27.
13. **Benkherara**, (2011), Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Saugé officinale : *Salvia officinalis L*. sur quelques entérobactéries pathogènes, *Laboratoire de Biologie Végétale et Environnement, Faculté des Sciences, Département de Biologie, Université Badji Mokhtar, BP 12, Annaba 23000, Algérie*.
14. **Bennadja, Salima et al.**,(2013), "Antibiotic activity of the essential oil of laurel (*Laurus nobilis L.*) on eight bacterial strains." *Journal of Life Sciences* 7.8 , p 814.

Références bibliographiques

15. **Benzineb Z**, (2019), Effets antimicrobiens des extraits de Romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur les qualités physico-chimiques et microbiologiques d'un lait fermenté type yaourt. (en ligne). Mémoire de Master : Contrôle de qualité des aliments. Mostaganem: Université Abdelhamid bn Badis- p51.
16. **Bergy's.M**, (2007), of systematic Bacteriology 2 nd Edition.
17. **Berramdani A et Baghdadi M**, (2021), Évaluation de L'effet anti-inflammatoire et antidépresseurs des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis*.(en ligne) Mémoire de Master: Biochimie Appliquée. Biskra. Université Mohamed khlder de Biskra -p36.
18. **BESOMBES C**, (2008), < Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques >, Thèse doctorat université de la rochelle, p 130
19. **Blayn J.F**. (1980). Parfums Cosmétique Arômes, N°117.
20. **Bouadjmi K**, '(2018), Etude comparative des différents parties de la plante romarin «*Rosmarinus officinalis*» par rapport aux pouvoirs antibiotiques sur le yaourt(en ligne) .Mémoire de Master :Biotechnologie Alimentaire. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis-68p.
21. **Bouadjmi K**,2018. Etude comparative des différents parties de la plante romarin « *Rosmarinus officinalis* » par rapport aux pouvoirs antibiotiques sur le yaourt(en ligne) .Mémoire de Master :Biotechnologie Alimentaire. Mostaganem : Université Abdelhamid Ibn Badis, p 68.
22. **BOUCHOUKA. E**,(2016), Extraction des polyphénols et étude de l'activité antioxydante
23. **Bourita A et Boubelli K**, (2017), Étude de l'activité antibactérienne d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* cultivée à Jijel .(en ligne) Mémoire de Master: Microorganismes et pathogénéicité.Jijel:Université Mohamed Seddik Ben Yahia-p42 .
24. **Brunton J**, (1993), Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. Paris, Lavoisier, p 623.
25. **C. Bouchiat, C. Dupieux, F. Garnier, F. Denis, et F. Vandenesch**, « Familles des *Staphylococcaceae* et *Micrococcaceae* », in Bactériologie médicale, 3ème édition, p. 261 - 271.
26. **C. Dupieux, M. Bes, O. Dumitrescu, A. Tristant, et C. Bouchiat**, (2019), «Staphylococcus», in *Bactériologie clinique*, 3 ème., Eska, p. 593-648.
27. **C. Dupieux, M. Bes, O. Dumitrescu, A. Tristant, et C. Bouchiat**, (2019), «Staphylococcus», in *Bactériologie clinique*, 3 ème., Eska, p. 593 648.

Références bibliographiques

28. **C. Heilmann, M. Hussain, G. Peters, et F. Götz**, (1997), « Evidence for autolysin-mediated primary attachment of *Staphylococcus epidermidis* to a polystyrene surface », *Molecular Microbiology*, vol. 24, no 5, p. 1013-1024,
29. **C. Heilmann, W. Ziebuhr, et K. Becker**, (2018), « Are coagulase-negative staphylococci virulent? », *Clinical Microbiology and Infection*
30. **C. R. Arciola, Y. H. An, D. Campoccia, M. E. Donati, et L. Montanaro**, (2005), « Etiology of implant orthopedic Infections : a survey on 1027 clinical isolates », *Int J Artif Organs*, vol. 28, no 11, p. 1091-1100,
31. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Staphylococcus aureus* resistant to vancomycin--United States, 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2002;51:565–7
32. **Chambers HF, DeLeo FR**,(2009), Waves of resistance: *Staphylococcus aureus* in the antibiotic era. *Nat Rev Microbiol.* Nature Publishing Group;7:629–41.
33. **Chibah R et Labandji A**, (2017), Extraction et caractérisation des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et l'étude de quelques activités biologiques (en ligne). Memoire de Master : Analyses biologiques et biochimiques. Boira :Université Akli Mohand Oulhadi - p53
34. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 mai 2001;32 Suppl 2:S114-132.
35. **Costerton**, (1999), « Introduction to biofilm », *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 11, no 3-4, p. 217-221
36. **Cowan ST, Shaw C, Williams REOY**, (1954), Type Strain for *Staphylococcus aureus* Rosenbach. *Microbiology.* Microbiology Society,; 10:174–6.
37. **D. Mack, M. Haeder, N. Siemssen, et R. Laufs**, (1996), « Association of Biofilm Production of Coagulase Negative Staphylococci with Expression of a Specific Polysaccharide Intercellular Adhesin », *Journal of Infectious Diseases*, vol. 174, no 4, p. 881-883,
38. **D. McKenney, J. Hübner, E. Muller, Y. Wang, D. A. Goldmann, et G. B. Pier**, (1998), «The ica Locus of *Staphylococcus epidermidis* Encodes Production of the Capsular Polysaccharide/Adhesin », *Infect Immun*, vol. 66, no 10, p. 4711-4720,
39. **David MD, Elliott T**,(2015), Coagulase-negative staphylococci. *Br J Hosp Med Lond Engl* 2005.;76(8):C126-128.
40. **Deans et al.** (1998), chemical composition, antibacterial, and antioxidant activity of laurel, sage rosmar, oregano and coriander essential oils. *J. Essent ; oires*,10 , P10.
41. **Degryse, Hans, and Steven Ongena.** (2008) , "Competition and regulation in the banking sector: A review of the empirical evidence on the sources of bank rents." *Handbook of financial intermediation and banking* p : 483-554.

Références bibliographiques

42. **Delaquis, P.** (2002), Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*, 74(1–2), 101–109.
43. **Denis, Hélène, et al.** (2016), "MicroRNAs regulate KDM5 histone demethylases in breast cancer cells." *Molecular BioSystems* 12.2: p 404-413.
44. **Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, et al.** (1997-1999), Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program,
45. **Durand, G.** (2009), Caractérisation, épidémiologie et pathogénie d'un clone de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline portant le gène de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1). Thèse de Doctorat. Université Claude Bernard Lyon 1, France. p 209.
46. **Dworkin, M. et al.** (2006), *The Prokaryotes : Bacteria : Firmicutes, Cyanobacteria*. 3^{ème} éd. Springer, New-York,. Vol 4
47. **E. A. Izano, M. A. Amarante, W. B. Kher, et J. B. Kaplan,** (2008), « Differential Roles of Poly-NAcetylglucosamine Surface Polysaccharide and Extracellular DNA in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* Biofilms », *Appl Environ Microbiol*, vol. 74, no 2, p. 470-476
48. **El Kamli, T., el Hamdani, M., Eloutassi, N., Errachidi, F., Chabir, R., & Bour, A,** (2019), Chemical Composition, Antioxidant, and Antimicrobial Activities of *Rosmarinus officinalis* Essential Oil From Moroccan Middle Atlas. *Phytothérapie*, 18(3–4), p 162–168.
49. et antibactérienne de quelques plantes Sahariennes. Thèse de doctorat en Biochimie
50. Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical
51. **Eyque, MA., Alouf, J. and Montagnier, L,** (1998), *Traité de Microbiologie Clinique « Staphylocoques »* Nevine EL SOLH. PICCIN NUOVA, Italie. P : 567-591.
52. **Fertout-Mouri, N., Latrèche, A., Mehdadi, Z., Toumi-Bénali, F., & Khaled, M. B,** (2016), Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Teucrium polium* L. du mont de Tessala (Algérie occidentale). *Phytothérapie*, 15(6), 346–353.
53. **Fillatre Y,** (2011), Produits phytosanitaires : développement d'une méthode d'analyse multi-résidus dans les huiles essentielles par couplage de la chromatographie liquide avec la spectrométrie de masse en mode tandem .Thèse de doctorat .Université d'Angers .France, P 288.

Références bibliographiques

54. **Flandrois.J-P, Courcol.R, Lemeland.J-F, Ramuz.M, Sirot.J, Soussy.C-J, Flandrois.C,Carret.G, de Montclos.M, Chomarat.M,** (2000), *Bactériologiemédicale*.Lyon : pul,pp. p 309
55. **Freney J.** (2007), *Précis de bactériologie clinique*. Paris : Ed. Eska ;
56. **Grysole J,** (2005), la commercialisation des huiles essentielles.In :Huile essentielle :de la plante à la commercialisation :Manuel pratique(coordonné par F-X Garneau ;G.J Collin. ;Université du Québec à Chicoutimi. ,Laboratoire d'analyse et de séparation des essences végétales),pp 1-24.Corporation Laseve.Québee, Canada.
57. **Heinrich M., Kufer J., Leonti, M., Pardo-de-Santayana, M.** (2006).
58. **Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, Ito T,** (2001), The emergence and evolution of methicillinresistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol.*;9(10):486-93.
59. **Hiramatsu K, Hanaki H, Ino T, Yabuta K, Oguri T, Tenover FC,**(1997), Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clinical strain with reduced vancomycin susceptibility. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.*;40:135–6.
60. **J. P. O’Gara,** (2007), « *ica* and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* », *FEMS Microbiology Letters*, vol. 270, no 2, p. 179-188,.
61. **Janvolak.K., Jinistodola.L** ,(1983), *Plantes médicinales illustration de Francis et Severa*. Traduction française 1985-by Griind. p 256-258.
62. **Jean-Claud, B,** (1973), *Les bactéries*. Ed. Presses universitaires de France. Paris. 94 p.
63. **Jean-Louis, F. et Jean-Loup, A,** (2002), *Bactériologie générale et médicale*. Ed. Ellipses Edition Marketing. Paris. P : 214-217.
64. **Jevons MP,** (1961), “Celbenin” - resistant *Staphylococci*. *Br Med J.*;1 p:124–5.
65. **Kirby WMM,** (1944). Extraction of a Highly Potent Penicillin Inactivator from Penicillin Resistant *Staphylococci*. *Science. American Association for the Advancement of Science*;;99:452–3
66. **Kloos WE, Zimmerman RJ, Smith RF,** (1976), Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. *Appl Environ Microbiol.* 31(1):53-9.
67. **L. Kodjikian et al.,** (2008), « Biofilms à *Staphylococcus epidermidis* à la surface des implants intraoculaires », </data/revues/01815512/00280002/224>.
68. *L’aromathérapie appliquée à la dermatologie*. Thèse du grade de Docteur Vétérinaire.

Références bibliographiques

- 69. Lagsier O et Nadir N** ,(2020), Evaluation du potentiel aphicide de " *Rosmarinus officinalis*" sur les pu-eron des céréales *Rhopalosiphum Maidis* (en ligne) Mémoire de Master :Biodiversité et Environnement.El-Oued : Université Echahid Hamma Lakhdar - p 90 .
- 70. Lahlou, M**, (2004), Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 18(6), p 435-448.
- 71. Larpent JP**, (2010), *Staphylococcus aureus*. France : Editions documentation et technique, Lavoisier, p 279.
- 72. Le Loir Y. and Gutier M**, (2010), *Staphylococcus aureus*. Monographie de Microbiologie, Edition Tec&Doc.
- 73. Le Minor, L. and Veron, M**, (1990), Bactériologie Médicale «*Staphylococcus* et *Micrococcus*» J.Fleurette 2ème édition. Flammarion Médecine-Sciences, Paris. P : 773 794.
- 74. M. Otto**, (2009), « *Staphylococcus epidermidis* — the “accidental” pathogen », *Nature Reviews Microbiology*, vol. 7, no 8, p. 555-567,
- 75. Madadori m.k.** (1982), Les plantes médicinales. Guides verts. Salar. p 624.
- 76. Marrou, A ; et Reynand, j** (2007). La botanique, Dunod, 1ed Paris. P313 :241.
- 77. Messaili B.**, (1995), Systématique spermaphytes. Botanique. O.P.U. Alger. P 63.
- 78. Michael, M., John, M., et Thomas, B**, (2007), Biologie des microorganismes. 11 ème Ed. Pearson éducation France. Paris. P 379.
- 79. Mnayer, Dima, et al**, (2014), "Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essentials oils from the Alliaceae family." *Molecules* 19.12 20034-20053.
- 80. Morgene, Mohamed Fedy**, (2018), 'In vitro modelization of *Staphylococcus aureus* colonisation ; interactions with rhinovirus infection', Université de Lyon.
- 81. Mouas Y, Benrebiha F et al** ,(2017), Évaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanoliqueU Romarin *Rosmarinus officinalis L.* Article. Biotechnologie des Productions Végétales, -p 270, route de Soumaa, Blida 09000, Algérie Reçu le 21/05/2017, Révisé le 21/06/2017, p 363-370.
- 82. MOUAS Y**, (2018), Effet comparatif des paramètres physiologiques, biochimiques et thérapeutiques de romarin *Rosmarinusofficinalis L.* Thèse de doctorat en Sciences agronomiques, Univ. Blida 1, Algérie. P 165.
- 83. Moussaid M, Elamrani AA, Berhal C, et al**, (2012), Comparative evaluation of phytochemical and antimicrobial activity between two plants from the Lamiaceae family: *Marrubium vulgare* (L.) and *Origanum majorana* (L.). *Int J Nat Prod Res* 1:11–3.

Références bibliographiques

84. **Naab D et Hadibi S**, (2018), Evaluation de l'activité antimicrobienne des deux huiles essentielles *Zingiber officinale* et *Rosmarinus officinalis* en combinaison avec la nisine - p 101. (en ligne) .Mémoire de Master:Biotechnologie microbienne.Tlizi - Ouzou .Université Mouloud Mammeri.
85. **Nauciel, C., Vilde, JL**, (2005), Bactériologie médicale. 2^{ème} Edition Masson, Paris. p 258.
86. **Oana Dumitrescu, Olivier Dauwalder, Sandrine Boisset, Marie-Isabell Reverdy, Anne Tristan, François Vandenesch**, (2010), Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. Article .P : 944
87. **Ogston Alex**, (1882), Micrococcus Poisoning. *J Anat Physiol*,16:526–67.
88. **Otto M**, (2009), *Staphylococcus epidermidis*--the « accidental » pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 7(8):555-67.
89. **Ponce A.G., Fritz R., del Valle C. & Roura S.I**, (2003), Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensm. -Wiss.u.-Technol*.36, pp.679-684.
90. **Prescott., Willey., Sherwood., Woolverton**, (2013), Les bactéries: les Gram-positives à faible teneur en G+C dans l'ADN. In : Microbiologie. Bruxelles : Edition De Boeck supérieur p,551-1070.
91. **R. M. Donlan et J. W. Costerton**, (2002), « Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms », *Clin Microbiol Rev*, vol. 15, no 2, p. 167-193
92. **R. W. Fairbrother**, (1940), « Coagulase production as a criterion for the classification of the staphylococci », *The Journal of Pathology and Bacteriology*, vol. 50, no 1, p. 83 88,
93. **RAHBARI, Nuh N., et al**, (2011), Posthepatectomy liver failure: a definition and grading by the International Study Group of Liver Surgery (ISGLS). *Surgery*, 149.5: 713-724.
94. **Rammelkamp CH, Maxon T**, (1942), Resistance of *Staphylococcus aureus* to the Action of Penicillin. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. SAGE Publications;;51:386–9.
95. **RICHARD. A**, (2012), . Synthèse bibliographique de la phytothérapie.
96. **Robert, D**, (2013), *Staphylococcus aureus* résistant à la métiline (SARM) : généralités, antibiotiques actifs, résistances acquises, et implication en pathologie communautaire illustrée par l'exemple des infections acquises au cours de la pratique sportive. Thèse de Doctorat. Université angers, France. p 115.
97. **Rogers KL, Fey PD, Rupp ME**, (2009), Coagulase-negative staphylococcal infections. *Infect Dis Clin North Am*. mars;23(1):73-98.

Références bibliographiques

98. **S. Ayadi, C.** (2011), Extraction et étude des huiles essentielles de *rosmarinus officinalis* cueillie dans trois régions différentes de la Tunisie, Jerribi, M. Abderrabba *Unité de recherche Physico-Chimie Moléculaire.IPEST, Boite postale 51, 2070 la Marsa, Tunisie.*
99. **Sanon.E.** (1992), Arbre et arbrisseaux en Algérie O.P.U. Ben Aknoun.Algerie N°686 Alger. p 121
100. **Schoenbach, Karl H., and Kurt Becker.** (2016), "20 years of microplasma research: a status report." *The European Physical Journal D* 70 1-22.
101. Sciences. *J Ethnopharmacol.*107:157-160.
102. **Shittu, A., Lin, J. and Morrison, D.** (2007), Molecular identification and characterization of mannitol-negative methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 57(1) P: 5-93.
103. **T. H. Nguyen, M. D. Park, et M. Otto.** (2017), « Host Response to *Staphylococcus epidermidis* Colonization and Infections », *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 7
104. **T.-F. C. Mah et G. A. O'Toole.** (2001), « Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents », *Trends in Microbiology*, vol. 9, no 1, p. 34-39
105. **TERZO M et RASMONT P.** (2007), *Les livrets de l'Agriculture n° 14 : Abeilles sauvages, bourdons et autres insectes pollinisateurs.* Ed. Victor Thomas, Paris.48 p.
106. **Touatia, R.** (2016), *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance. Thèse de Doctorat. Université Badjit Mokhtar – Annaba, Algérie. p 105.
107. Université Claude-Bernard, Lyon I - France. pp 22-31
108. **Valero A., Pérez-Rodríguez F., Carrasco E., Fuentes-Alventosa J.M., García-Gimeno R.M. and Zurera G.** (2009), Modelling the growth boundaries of *Staphylococcus aureus* : Effect of temperature, pH and water activity. *Int. J. Food. Microbiol.* 133 :p 186-194.
109. **Valnet, M.** (2005), Antibacterial activity of 11 essential oils against *Bacillus cereus* in tyndallized carrot broth International. *Journal of Food Microbiology*, 85, 73-81.
110. **Von Eiff C, Peters G, Heilmann C.** (2002). Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis.*;2(11):677-85
111. **W. Zimmerli, A. Trampuz, et P. E. Ochsner.**(2004); « Prosthetic-Joint Infections », *New England Journal of Medicine*, vol. 351, no 16, p. 1645-1654
112. **Wertheim, HF., Melles, DC., Vos, MC. et al.** (2005), The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect. Dis.* 5 : 751-762.

Références bibliographiques

113. **Y. Lai et al.**, (2010), « Activation of TLR2 by a Small Molecule Produced by *Staphylococcus epidermidis* Increases Antimicrobial Defense against Bacterial Skin Infections », *J Invest Dermatol*, vol. 130, no 9, p. 2211-2221
114. **Z. Qin et al.**, (2007), « Role of autolysin-mediated DNA release in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* », *Microbiology*, vol. 153, no 7, p. 2083-2092
115. **ZAOUI A**, (2012), *Ecologie et systématique de genre Rosmarinus L. dans la région de sud algérois (wilaya de Djelfa)*. Thèse Mag. Univ. Djelfa. p 109.
116. **ZERMANE A**, (2010) *Etude de l'extraction supercritique application aux systèmes agroalimentaires*. Thèse Doc. Univ .Constantine. p 103.
117. **Zidi M et Houilila S**, (2020), Contribution à l'étude de L'activité biologique de la plante *Rosmarinus offi-cinalis L.*(en ligne) mémoire de Master :Biochimie appliquée.Oum El Bouaghi :Université L'Arbi Ben Mhidi Oum El Bouagh - p 57.

Site web:

118. Encounters.om, f, (2020), Rosemary-*Rosmarinus officinalis*. Retrieved from http://www.floralencounters.com/Seeds/seed_detail.jsp?productid=1117
119. *Staphylococcus epidermidis* and other Coagulase-Negative Staphylococci - Infectious Disease and Antimicrobial Agents ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.antimicrobe.org/b234.asp>. [Consulté le: 14-août-2019].
120. All names cited in the List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature: List S-Z ». [En ligne]. Disponible sur : <http://www.bacterio.net/-allnamesz.html>. [Consulté le: 16-févr-2019].