

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE
DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie et Microbiologie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la nature et de la vie.

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie Microbienne

Thème

**Évaluation de la capacité de formation de biofilms par
des souches de *Staphylococcus aureus* isolées du lait cru
de chèvre et évaluation de l'activité antibactérienne et
antibiofilm de l'huile essentielle d'*Origanum compactum***

Présenté par

M^{lle} EL-KECHAI Ghizlène & M^{lle} HAMEG Fatima

Soutenu le : 02/07/2024

Devant le jury :

Présidente : Dr. TALEB K. , MCA à l'UMMTO

Promoteur : Dr. ASMANI K. , MCA à l'UMMTO

Examinatrice : Dr. AFIF CHAOUCHE T. , MCA à l'UMMTO

Année universitaire : 2023/2024

Remerciements

La réalisation de ce projet de fin d'étude a été possible grâce au soutien de nombreuses personnes que nous souhaitons remercier.

*Tout d'abord, nous exprimons notre profonde gratitude à notre promotrice, **Dr ASMANI K.**, sans qui ce travail n'aurait pas vu le jour. Son encadrement de qualité exceptionnelle, sa disponibilité et son dévouement ont été les piliers de ce projet, nous orientant et nous soutenant à chaque étape du processus.*

*Nous adressons également nos vifs remerciements et notre profonde gratitude à **Dr TALEB K.**, pour nous avoir fait l'honneur de présider notre honorable jury.*

*Nous tenons à remercier chaleureusement **Dr. AFIF CHAUCHE T.**, qui a bien voulu examiner notre travail, ainsi que pour ses précieux conseils tout au long de notre parcours universitaire.*

Enfin, nous exprimons notre reconnaissance à l'université de Mouloud Mammeri pour les cinq années passées en son sein, années qui ont été déterminantes pour notre développement académique et personnel.

Dédicaces

Je dédie ce travail à mon papa, pour son soutien infaillible et son accompagnement tout au long de mes années d'études. Ta présence a été essentielle à chaque étape de mon parcours académique. Grâce à toi, j'ai non seulement beaucoup appris, mais j'ai également reçu des encouragements constants qui m'ont permis de persévérer dans mes efforts.

À ma maman, mon réconfort dans la vie. Je tiens à te remercier du fond du cœur pour ta foi inébranlable en moi. Les sacrifices que tu as fait et que tu continues de faire pour moi sont inestimables. Je ne saurais jamais assez te remercier pour ton amour inconditionnel et tes encouragements constants.

À ma sœur Nesrine, merci d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir toujours poussé à aller toujours plus loin.

À ma sœur Rym, ma source d'inspiration et mon roc dans les moments de doute. Merci pour ton écoute attentive et pour tes encouragements sans faille.

À ma nièce et mon neveu, qui de par leur présence m'apaisent et m'apporte la niaque lorsque j'en ai besoin.

Je dédie également ce travail à tous mes proches qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Ghizlène

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail aux personnes les plus chères à mon cœur, mes parents,

Pour leur amour, leur soutien constant, leurs encouragements, leurs sacrifices et leur aide tout au long de mon parcours.

Sans eux, ce travail n'aurait pas été possible. Que Dieu les garde pour moi.

À mon grand frère Amar, je te souhaite un avenir plein d'essor et de réussite. Que tes projets se réalisent et t'apportent satisfaction et bonheur. Puisses-tu trouver le succès dans tous les domaines de ta vie et continuer à avancer avec détermination et passion.

À ma petite sœur Taous, ta présence dans ma vie a été une source inépuisable de force et de motivation. Tu as toujours été à mes côtés, me soutenant dans les moments difficiles et célébrant avec moi chaque succès. Ta patience, ton écoute et tes conseils avisés m'ont guidé. Ce mémoire est autant le tien que le mien, car sans toi, ce projet n'aurait jamais vu le jour.

À mes grands-parents, mes oncles et tantes, mes cousins et cousines.

À mes amis d'ici et d'ailleurs.

Et à toutes les personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Fatima

Liste des abréviations

- **ADAM10**: A Disintegrin and Metalloproteinase 10.
- **ADN** : Acide Désoxyribonucléique.
- **ADNe**: Acide Désoxyribonucléique extracellulaire.
- **AgNP** : Nanoparticules d'argent.
- **Agr** : Accessory gene regulator.
- **AHL**: N-acyl Homosérine Lactone.
- **AIP** : Autoinducing Peptide.
- **AMP** : Antimicrobial Peptide.
- **ARN** : Acide ribonucléique.
- **ATB** : Antibiotique.
- **BHIB** : Brain Heart Infusion.
- **BP** : Baird Parker.
- **C** : Chloramphénicol.
- **CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute
- **C-di-GMP** : Cyclic-dimeric -Guanosine Monophosphate.
- **CHIPS**: Chemotaxis Inhibitory Protein of *Staphylococcus aureus*.
- **CIP** : Ciprofloxacine.
- **CifA** : Clumping factor.
- **CMH** : Complexe Majeur d'Histocompatibilité.
- **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.
- **CN** : Gentamycine.
- **CPA** : Cellules Présentatrices d'Antigènes.
- **CRBSI** : Catheter-Related Blood Stream Infection.
- **CTX** : Céfotaxine.
- **CuNP** : Nanoparticules de cuivre.
- **DO** : Densité Optique.
- **Eap** : Extracellular adherence protein.

- **EDTA** : Ethylène Diamine Tetra Acétique.
- **ELISA** : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.
- **EPS** : Extracellular Polymeric Substance.
- **ESKAPE** : *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*.
- **ETA et B** : Exfoliative Toxins A et B.
- **FnbpA et B**: Fibronectin-binding proteins A and B.
- **GN** : Gélose nutritive.
- **HE** : Huile Essentielle
- **ISLC** : Infections du Sang Liées au Cathéter.
- **LPV**: Leucocidine de Panton Valentine.
- **mAb** : monoclonal Antibody.
- **MH** : Mueller Hinton.
- **MSCRAMMs** : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
- **NP** : Nanoparticules.
- **Nuc1 et Nuc2**: Nucléase 1 et Nucléase 2.
- **PFT**: Pore- Forming Toxins.
- **PIA** : Polysaccharides Intercellular Adhesin.
- **PSM**: Phenol- Soluble Modulins.
- **QS** : Quorum Sensing.
- **RCA** : Rouge Congo Agar.
- **RFO** : Raffinose Family Oligosaccharides.
- **RIF** : Rifamycine.
- **RIP** : RNAIII Inhibiting Peptide.
- **SAGs**: Superantigens.
- **SARM** : *Staphylococcus aureus* Résistante à la Méthicilline.
- **SCN** : Staphylocoque Coagulase Négative.
- **SCP** : Staphylocoque Coagulase Positive.
- **SE-Is** : Entérotoxines-like.

- **SEs** : Entérotoxines Staphylococciques
- **SERAM** : Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules.
- **SpsB** : Signal peptidase B.
- **SXT/COT** : Triméthoprime/ Sulfamethoxazole
- **TCR** : T- Cell Receptor.
- **TSST**: Toxic Shock Syndrom Toxin-1.
- **VAN** : Vancomycine.
- **TE** : Tétracycline
- **E** : Erythromycine
- **P** : Penicilline G

Liste des figures

Figure 01: Molécules d'adhésion à la surface de <i>S. aureus</i> (MSCRAMMs)	5
Figure 02 : Formation et maturation du biofilm bactérien	8
Figure 03: Interactions entre les nanoparticules d'oxydes métallique (NP) et le biofilm	12
Figure 04: Différentes étapes de la stratégie d'éradication des biofilms à l'aide des peptides antimicrobiens	14
Figure 05: <i>Origanum Compactum</i>	17
Figure 06: Mécanisme d'action antibactérien et antibiofilm de l'huile essentielle d' <i>O. compactum</i>	19
Figure 07: Schéma récapitulatif du protocole d'isolement des souches <i>Staphylococcus aureus</i>	23
Figure 08: Schéma récapitulatif du plan de la microplaque	25
Figure 09: Schéma représentatif de la méthode de l'aromatogramme.	27
Figure 10 : Schéma représentant le plan suivi pour l'organisation de la microplaque pour l'évaluation de l'activité antibiofilm avec la technique de la microplaque	28
Figure 11: Photo originale prise au laboratoire montrant des colonies caractéristiques de <i>S. aureus</i> sur gélose Baird-Parker	29
Figure 12: Résultats du test de Rouge de Congo pour les cinq souches de <i>S. aureus</i> testés	30
Figure 13 : Photo originale du résultat de l'activité biofilm avec la méthode de la microplaque de 96 puits.....	31
Figure 14: Histogramme représentatif de l'activité biofilm des 5 souches de <i>S. aureus</i>	32
Figure 15: Photo originale des zones d'inhibition obtenues pour les souches S3 et S4.....	33
Figure 16: Moyennes des DO obtenues pour les 5 souches isolées de <i>S. aureus</i> testés avec les différentes dilutions de l'HE d' <i>O. compactum</i>	35

Liste des tableaux

Tableau I : Quelque extrait de plantes ayant des activités antibiofilms	15
Tableau II : Classification de la plante <i>Origanum compactum</i>	18
Tableau III : Récapitulatif des prélèvements de lait cru de chèvre.....	20
Tableau IV : Classification de l'adhésion des <i>Staphylococcus</i> spp.....	25
Tableau V : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition.....	27
Tableau VI : Résultats des tests biochimiques des souches isolées.....	29
Tableau VII : Interprétation des résultats obtenus pour l'activité biofilm des 5 souches de <i>S. aureus</i>	32
Tableau VIII : Moyennes des diamètres des trois répétitions de l'huile d'origan.	34
Tableau IX: Transcription des diamètres d'inhibition des dilutions de l'huile ess	

Table des matières

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
Chapitre 01 : <i>Staphylococcus aureus</i>	
1 Généralités.....	3
2 Habitat.....	3
3 <i>Staphylococcus aureus</i> dans les élevages caprins.....	4
4 Facteurs de virulence.....	4
4.1 Protéines de surface.....	5
4.2 Toxinesformant des pores (PFT).....	6
4.3 Superantigènes (SAgs).....	6
4.4 Formation de biofilm.....	7
4.4.1 Etapes de formation du biofilm.....	7
Chapitre 02 : Moyens de lutte contre les biofilms bactériens	
1 Stratégies de lutte contre les biofilms.....	11
1.1 Stratégies innovantes.....	11
1.1.1 Inhibition du quorum sensing.....	11
1.1.2 Anticorps monoclonaux.....	11
1.1.3 ARNs comme régulateurs de quorum.....	11
1.1.4 Probiotiques.....	11
1.1.5 Nanoparticules.....	12
1.1.6 Phages.....	13
1.1.7 Peptides antimicrobiens.....	13
1.2 Stratégies naturelles.....	14
1.2.1 Miel.....	14
1.2.2 Extraits de plante.....	15
1.2.3 Huiles essentielles.....	16
1.2.3.1 Huile essentielle d'origan (<i>Origanum compactum</i>).....	17
1.2.3.1.1 <i>Origanum compactum</i>	17
1.2.3.1.2 Activité antibactérienne et antibiofilm.....	18
Partie II : Partie expérimentale	
Matériel et méthodes	
1 Matériel.....	20
1.1 Matériel de laboratoire.....	20
2 Méthodes.....	20
2.1 Echantillonnage.....	20

2.1.1	Purification des souches isolées.....	21
2.1.2	Identification biochimique.....	21
2.1.3	Conservation des souches isolées.....	22
2.1.5	Evaluation de la formation des biofilm <i>sin vitro</i>	24
2.1.5.1	Méthode de la culture sur milieu rouge Congo (RCA).....	24
2.1.5.2	Méthode de la microplaque de 96 puits.....	24
2.1.6	Etude de l'activité antibactérienne et antibiofilm <i>in vitro</i>	26
2.1.6.1	Etude de l'activité antibactérienne.....	26
2.1.7	Etude de l'activité antibiofilm.....	28
2.1.7.1	Méthode de la microplaque de 96 puits.....	28
Résultats et discussion		
1	Résultats.....	29
1.1	Isolements.....	29
1.2	Identification biochimique.....	29
1.3	Evaluation de la formation des biofilms <i>in vitro</i>	30
1.3.1	Méthode de culture sur milieu rouge Congo Agar.....	30
1.3.2	Méthode de la microplaque de 96 puits.....	31
1.4	Evaluation de l'activité antibactérienne et antibiofilm <i>in vitro</i>	33
1.4.1	Activité antibactérienne.....	33
1.4.2	Activité antibiofilm.....	35
2	Discussion.....	36
Conclusion et perspectives		39
Références bibliographiques		40
Annexes		
Résumé / Abstract		

Le lait cru de chèvre est une source alimentaire essentielle dans les régions arides, fournissant une nutrition précieuse aux populations locales. À l'échelle mondiale, le lait de chèvre joue un rôle économique crucial (Saikia *et al.*, 2022). Sur le plan nutritionnel, le lait de chèvre est celui qui se rapproche le plus du lait maternel. Comme ce dernier, le lait de chèvre contient un niveau élevé d'enzymes aux propriétés antimicrobiennes, telles que le lysozyme, qui renforcent l'immunité des nourrissons en les protégeant contre de nombreuses infections (Niyazbekova *et al.*, 2020). Il contient également des protéines, des vitamines, des minéraux, des acides gras, des oligo-éléments qui peuvent être facilement assimilables par l'organisme. Cependant, la composition du lait peut varier en fonction de nombreux facteurs, notamment la race, l'âge et l'alimentation, ainsi que le stade de lactation et les facteurs environnementaux (Rai *et al.*, 2022).

Le lait de chèvre abrite une microflore complexe, comprenant une flore originelle (*Micrococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* et *Lactococcus*), ainsi qu'une flore de contamination qui colonise le lait cru à la sortie de la mamelle. Le lait peut également contenir des pathogènes incluant des bactéries infectieuses et toxigènes, telles que *Staphylococcus aureus* (Zakaria *et al.*, 2020). Les glandes mammaires infectées par *S. aureus* sont considérées comme la principale source de contamination du lait par cet agent pathogène, car la glande peut excréter ces bactéries dans le lait des chèvres atteintes de mammites (Tamendjari *et al.*, 2021). Le lait produit dans les fermes laitières est principalement destiné à la consommation humaine, et par conséquent, la présence d'agents pathogènes tels que *S. aureus* pourrait représenter un risque pour la santé des consommateurs (Gajewska *et al.*, 2023). De plus, les souches de *S. aureus* sont capables de former un biofilm qui les rend plus résistantes aux antibiotiques et aux désinfectants. En outre, ces bactéries peuvent adhérer à l'équipement utilisé dans la traite, la collecte et le stockage du lait, ce qui peut impacter négativement la qualité microbiologique du lait, et engendrer des maladies d'origine alimentaire (Pacha *et al.*, 2021).

Par ailleurs, l'émergence de la résistance aux agents antimicrobiens tout au long de la chaîne alimentaire constitue une préoccupation majeure de santé publique mondiale, car de nombreux animaux destinés à l'alimentation humaine sont porteurs de souches résistantes aux antibiotiques, telles que les SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline). De ce fait, le lait cru pourrait jouer un rôle potentiel dans la transmission de bactéries résistantes aux agents antimicrobiens aux populations humaines qui consomment ces produits (Titouche *et al.*, 2022 ; Javed *et al.*, 2023).

Face à l'augmentation des résistances bactériennes aux antibiotiques et à la difficulté de concevoir de nouvelles molécules efficaces, des alternatives naturelles sont envisagées, telles que les huiles essentielles (HEs). L'HE d'origan (*Origanum compactum*) est très appréciée en médecine traditionnelle à travers le monde (Kachur *et al.*, 2020). Les composants essentiels de l'HE d'*O. compactum*, principalement le Carvacrol et le Thymol, lui confèrent plusieurs activités biologiques, notamment des activités antibactériennes et antibiofilms, en agissant sur le transport ionique, l'intégrité de la membrane plasmique des bactéries et en perturbant le quorum sensing (Chroho *et al.*, 2024 ; Elshafie *et al.*, 2024). En effet, cette HE a montré son efficacité contre plusieurs agents pathogènes (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus*) (Mukurumbura *et al.*, 2022 ; Al Abdali *et al.*, 2023 ; Chroho *et al.*, 2024).

Dans ce contexte, l'objectif de cette étude est d'évaluer la capacité des souches de *S. aureus* isolés du lait cru de chèvre à former des biofilms ; l'activité antibiofilm et antibactérienne de l'HE d'*O. compactum* ont été évaluées.

Ce travail est scindé en deux parties :

- La première partie de ce travail est consacrée à une synthèse bibliographique qui rassemble des généralités sur *S. aureus*, ses facteurs de virulence, ainsi que le mécanisme de formation des biofilms. Elle aborde également les différentes stratégies de lutte contre les biofilms bactériens, notamment les stratégies innovantes et naturelles pour pallier le problème de la formation de biofilms.

- La seconde partie est expérimentale. La première section décrit la méthodologie suivie pour effectuer des isolations à partir des échantillons de lait cru de chèvre. Elle évalue aussi la capacité des isolats à former des biofilms, ainsi que l'effet antibactérien et antibiofilm de l'HE d'*O. compactum*. La deuxième section présente et discute les résultats obtenus au cours de cette étude, dans le but de dégager des conclusions et des perspectives.

Partie I :
Synthèse bibliographique

1 Généralités

Les bactéries du genre *Staphylococcus aureus* sont des cocci à Gram positif, non mobiles et non sporulés, appartenant à la famille des *Streptococcaceae*. Ils peuvent être observés, isolés, en groupes de diplocoques ou en amas ; le plus souvent retrouvés sous forme de grappe de raisins. *S. aureus* est une bactérie anaérobie facultative, catalase positive et coagulase positive. Leur culture est simple et facile à 35 ± 2 °C sur de nombreux milieux, donnant des colonies de 1 à 3 mm de diamètre en 24h. Grâce à son halotolérance, ce germe est capable également de se cultiver facilement dans des milieux sélectifs contenant de fortes concentrations en sels (NaCl 7,5%) (Price-Whelan *et al.*, 2013).

S. aureus est un agent commensal de la peau et des muqueuses ; il est également capable de coloniser les surfaces abiotiques telles que les cathéters et les implants médicaux. Cette bactérie est responsable de nombreuses infections chez l'homme, notamment les infections des plaies chroniques, les ostéomyélites, les endocardites, les infections associées aux implants médicaux (Mingzhang *et al.*, 2023), et les infections des glandes mammaires (Putz *et al.*, 2020). *S. aureus* peut atteindre les poumons et provoquer des pneumonies. Elle sécrète également des toxines responsables d'infections toxiques : impétigo bulleux, toxi-infections alimentaires, syndrome de choc toxique staphylococcique (Liu *et al.*, 2024).

De plus, cette bactérie est considérée comme la cause première des infections nosocomiales. En effet, la prévalence des infections staphylococciques nosocomiales et communautaires est en constante augmentation. Le traitement de ces infections est souvent difficile à cause des souches multirésistantes, notamment à la méthicilline, à l'origine de l'appellation SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline) (Alghamdi, 2023).

2 Habitat

L'espèce *S. aureus* est souvent retrouvée dans les réservoirs naturels tels que les mammifères (l'Homme), certains animaux et oiseaux à sang-froid (le loir *et al.*, 2010). Cette bactérie colonise activement les glandes sébacées, mais aussi les muqueuses ainsi que toute la surface de la peau.

S. aureus est fréquemment retrouvée à profusion au niveau de l'épithélium malpighien humide des fosses nasales antérieures (Sollid *et al.*, 2014). La présence des Staphylocoques au niveau nasal favorise leur dispersion, notamment par aérosols lors de l'éternuement. En outre, cette espèce a la capacité de s'adapter et de résister à différents stress (thermique, osmotique, ainsi que la carence en nutriments), ce qui lui confère la possibilité de survivre à de nombreux écosystèmes, faisant de *S. aureus* une souche ubiquitaire et présente dans tous les environnements (Le Loire *et al.*, 2010).

3 Staphylococcus aureus dans les élevages caprins

Staphylococcus aureus est considéré comme un agent pathogène majeur chez les chèvres laitières et est responsable d'infections intra-mammaires cliniques et subcliniques. Les mammites dues à *S. aureus* entraînent des pertes économiques importantes suite à la réduction de la production laitière et à la mauvaise qualité du lait (Tamendjari *et al.* 2021). En effet, ces infections représentent une source de contamination du lait cru et des produits laitiers. *S. aureus* est également impliqué dans des cas de maladies d'origine alimentaire résultant de la contamination des aliments par des toxines thermostables. Les produits laitiers, notamment les fromages frais, sont les plus incriminés dans ce type d'intoxication (Gajewska *et al.*, 2023).

En outre, *S. aureus* peut produire un biofilm qui forme une couche protectrice pour l'agent pathogène et assure sa persistance (Patel et Rawat, 2023). En effet, les *S. aureus* peuvent former des biofilms dans la machine à traire, les abreuvoirs ou encore le tank à lait, ce qui pourrait avoir des répercussions négatives sur la qualité microbiologique du lait, sur la santé des animaux et celle des consommateurs (Pacha *et al.*, 2021).

De plus, les animaux destinés à la consommation humaine hébergent souvent des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, telles que le SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline). Ces bactéries résistantes peuvent être transmises aux humains par le biais du lait cru, ce qui constitue une source de contamination importante. Ces souches résistantes sont responsables d'échecs thérapeutiques et limitent ainsi le choix des traitements contre les infections graves, entraînant une augmentation des coûts des soins (Titouche *et al.*, 2022).

4 Facteurs de virulence

S. aureus exprime divers facteurs de virulence, qui lui confèrent un pouvoir pathogène important. L'expression de ces facteurs de virulence va conditionner le type d'infection, ainsi que sa localisation. *S. aureus* produit plusieurs toxines impliquées dans le développement de l'infection. Les toxines les plus connues sont les hémolysines (α - δ), les peptides PSMs (phenol-soluble modulins), la leucocidine de Panton Valentine (LPV), la leucocidine LukE-LukD et SAg. Certaines souches de *S. aureus* ont également la capacité de sécréter d'autres types de toxines telles que les toxines exfoliatives (ETA and ETB) (Sri Amelia *et al.*, 2023) et les inhibiteurs CHIPS (Chemotaxis Inhibitory Protein of *Staphylococcus aureus*) qui bloquent le chimiotactisme des monocytes et des neutrophiles (Yang *et al.*, 2024). Cette bactérie produit également des enzymes extracellulaires telles que des nucléases, protéases, lipases, hyaluronidases et des collagénases, qui participent à la destruction des tissus de l'hôte, ce qui favorise l'extension de l'infection et le relargage des nutriments. En outre, la capsule polysaccharidique constitue une protection pour les bactéries contre la phagocytose par les neutrophiles. Elle permet également la persistance des bactéries à la surface des muqueuses (Grodon *et al.*, 2021).

Dans ce chapitre, nous aborderons les protéines de surface, les toxines formant des pores (PFT), les superantigènes (SAGs), ainsi que la formation du biofilm à l'origine de la persistance des infections à *S. aureus*.

4.1 Protéines de surface

Au début de l'infection, *S. aureus* exprime des protéines de surface, appelées adhésines, qui ont la capacité de se fixer sur les tissus de l'hôte ou sur des biomatériaux tels que les cathéters. Une grande partie de ces protéines de surface appartient à la famille des MSCRAMMs (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules), qui permettent à *S. aureus* de s'accrocher à la matrice extracellulaire de l'hôte en reconnaissant des molécules présentes sur cette dernière, telles que le collagène, les fibrinogènes et les fibronectines (Foster, 2019 (Figure 01)). Les principaux membres de la famille des MSCRAMM sont la protéine Staphylococcique A, les protéines de liaison à la fibronectine A et B (FnbpA et B, fibronectin-binding proteins), la protéine de liaison au collagène et les protéines du facteur d'agglutination (ClfA, clumping factor).

En outre, certaines de ces protéines remplissent d'autres fonctions que l'adhésion. La protéine ClfA par exemple, dont le rôle principal est d'interagir avec les fibrinogènes, permet également l'évasion immunitaire de *S. aureus* en participant à la dégradation de C3b du complément, ce qui entraîne une réduction de l'efficacité de la phagocytose de l'hôte (Hair *et al.*, 2010). Les adhésines FnbpA et FnbpB quant à elles, en plus d'interagir avec les fibrinogènes, permettent l'internalisation de *S. aureus* dans certains types cellulaires non spécialisés dans la phagocytose et sont impliquées dans l'étape initiale de la formation du biofilm (Josse *et al.*, 2017 ; Gordon *et al.*, 2021).

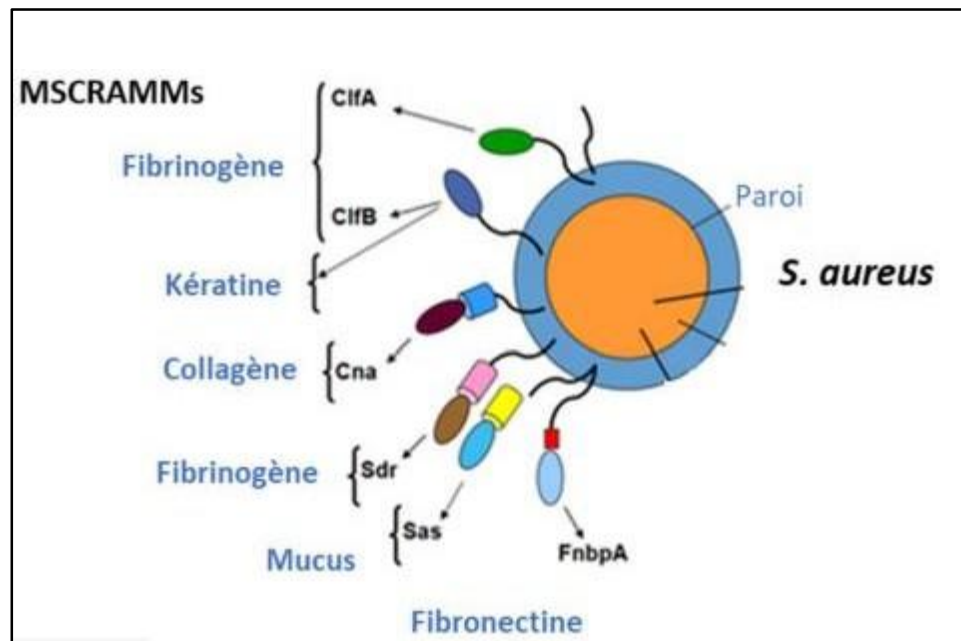


Figure 01 : Molécules d'adhésion à la surface de *S. aureus* (MSCRAMMs) (Foster, 2005).

ClfA et B : Clumping Factor A et B ; Cna : Collagen Adhesin ; Sdr : Serie-aspartate repeat proteins ; Sas : *Staphylococcus aureus* surface proteins ; FndpA : Fibronectin-binding proteins A.

4.2 Toxines formant des pores (PFT)

Les toxines formant des pores (pore-forming toxins, PFT), représentent une redoutable arme utilisée par les *S. aureus*, en perforant les membranes cellulaires de l'hôte, ce qui entraîne soit une lyse cellulaire par la fuite des composés cytoplasmiques, soit une perturbation du cytosquelette d'actine, une structure cruciale pour le maintien de la forme et la fonction des cellules (Ahmad-Mansour *et al* , 2021).

- **α -hémolysine**

L' α -hémolysine est la PFT la plus connue, elle est encodée par le gène *hla*. Elle possède une structure à feuillet β et se fixe au récepteur ADAM-10 sous la forme d'un monomère sécrété. Cette fixation entraîne son oligomérisation et la formation de pores dans la membrane, et ainsi la lyse cellulaire. Cette toxine est capable de lyser différents types cellulaires, comme les érythrocytes, les cellules endothéliales et épithéliales et certains leucocytes (Tam et Torres, 2019).

- **Modules solubles dans le phénol (PSMs)**

Les modules solubles dans le phénol (Phenol Soluble Modulins, PSMs) sont des peptides amphipathiques présents uniquement chez les staphylocoques. Il en existe trois types, notamment PSMs alfa, beta et gamma, qui se distinguent par leur taille, leur charge et leur localisation. Ils participent à la formation du biofilm et ont une action cytolytique. En effet, les PSMs permettent la lyse des neutrophiles. En outre, il existe des preuves incontestables indiquant que les PSMs sont impliqués dans les infections cutanées et dans les bactériémies à *S. aureus* (Gordon *et al.*, 2021).

- **Leucocidine de Panton-Valentine (LPV)**

Les leucotoxines de Panton-Valentine (Panton-Valentin Leukocin, PVL) appartiennent à la famille des toxines Luk de *S. aureus*. Cette famille regroupe deux types de toxines, LukDE et LukAB, des toxines à deux composants de 32kd à 35kd qui s'oligomérisent entre elles pour former une structure en pore (Ahmed-Mansour *et al.*, 2021). La plupart des gènes codant pour les leucocidines sont localisés dans le génome central de *S. aureus*. Certains de ces gènes sont liés à des éléments génétiques mobiles tels que la PVL, tandis que d'autres résident dans des îlots de pathogénicité (Pivard, 2023).

4.3 Superantigènes (SAGs)

La famille des SAGs regroupe 3 principaux sous-groupes : les entérotoxines staphylococciques (SEs), les entérotoxines-like (SE-ls) et la toxine du syndrome du choc toxique staphylococcique (TSST- 1) (Spaulding *et al.*, 2013). Les SAGs sont capables d'activer les lymphocytes T et les cellules

présentatrices d'antigènes (CPA) telles que les macrophages et les cellules dendritiques, en liant le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II à la région variable V β du récepteur des lymphocytes T (TCR). Cette liaison non spécifique va induire une libération massive de cytokines et de chimiokines, responsables des symptômes associés au syndrome du choc toxique staphylococcique (Grodon *et al.*, 2021).

4.4 Formation de biofilm

Parmi les facteurs de virulence les plus importants chez *S. aureus*, sa capacité à produire un biofilm, ce qui favorise le développement de la résistance aux antibiotiques chez cette bactérie (Chen *et al.*, 2022). Le biofilm peut être défini comme une communauté de microorganismes adhérant à un support et produisant une matrice polysaccharidique extracellulaire (Costerton *et al.*, 1997). Cette matrice sert de sanctuaire, offrant aux microcolonies de *S. aureus* un environnement entièrement sécurisé et fonctionnel pour leur survie et leur prolifération (Idrees *et al.*, 2021). En effet, le biofilm protège les bactéries des différents stress, des composés toxiques et de la phagocytose (Idrees *et al.*, 2021).

4.4.1 Etapes de formation du biofilm

Le développement du biofilm chez *S. aureus*, peut être divisé en trois étapes : (i) fixation et adhésion ; (ii) structuration et maturation du biofilm ; et (iii) dispersion du biofilm avec détachement des cellules (Cheng *et al.* 2023) (Figure 02).

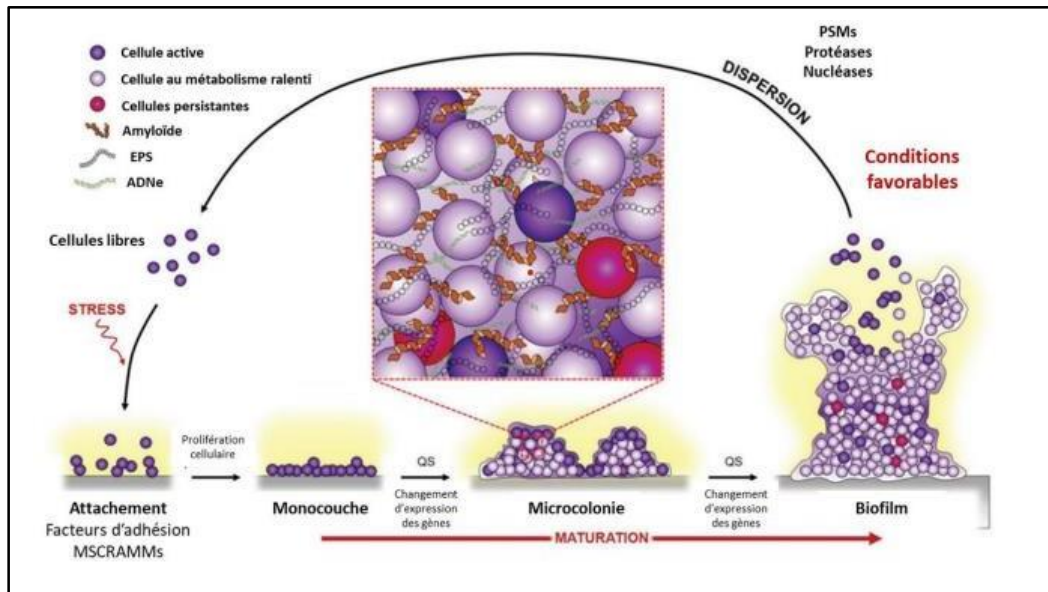


Figure 02 : Formation et maturation du biofilm bactérien (Reffuveille *et al.*, 2017).

EPS : Exopolysaccharides, ADNe : ADN extracellulaire, QS : Quorum sensing. PSMs : Phenol Solubles Modulins.

a. Adhésion des bactéries à une surface

Au cours de la phase initiale d'adhésion, les bactéries s'attachent aux tissus ou aux biomatériaux (cathéters, sondes, lentilles de contact). L'interaction entre la bactérie et le support se fait grâce aux forces de Van der Waals et les liaisons faibles comme les liaisons hydrogènes (Rijnaarts *et al.*, 1995). Cette adhésion est également consolidée par les charges négatives des acides teichoïques et des polymères (Gross *et al.*, 2001). *In vivo*, ce sont les protéines de surface de *S. aureus* capables de se fixer sur les protéines de matrice des cellules hôtes qui permettent l'attachement. Il s'agit des adhésines ancrées dans la paroi bactérienne comme les MSCRAMM ou les SERAM (Secretable Expanded Repertoire Adhesive Molecules) avec la protéine Eap (Extracellular adherence protein). Cette dernière est une adhésine sécrétée qui améliore l'adhérence de *S. aureus* à la matrice extracellulaire, en se liant au fibrinogène, à la fibronectine, à la vitronectine et à la thrombospondine-1 (Yonemoto *et al.*, 2019).

b. Structuration et maturation du biofilm

Durant la phase de maturation, les cellules bactériennes attachées se multiplient et produisent une matrice protectrice, appelée EPS (extracellular polymeric substance), qui est composée principalement d'eau, de polysaccharides, de protéines et d'ADN extracellulaire (ADNe) (Pei *et al.*, 2023). Au sein du biofilm, l'ADNe exerce diverses fonctions biologiques, notamment l'adhésion et la réparation des dommages à l'ADN. Chez *S. aureus*, le principal composant de la matrice est un polysaccharide, appelé Polysaccharide intercellular adhesin (PIA), qui joue un rôle essentiel, notamment dans la colonisation, la formation du biofilm, l'évasion immunitaire et la résistance aux antibiotiques (Wu *et al.*, 2024).

Les cellules bactériennes se divisent et la complexité de la matrice augmente, créant à l'intérieur du biofilm un gradient de concentration en nutriments et en oxygène. Il est d'ailleurs possible de classer

les cellules bactériennes présentes au sein du biofilm en quatre états métaboliques : i) les aérobies (situées dans la couche externe oxygénée et riche en nutriments) ; (ii) les fermentaires (situées dans la couche interne pauvre en oxygène et en nutriments) ; (iii) les dormantes (situées dans une couche anoxique à croissance lente et au métabolisme inactif) ; et (iv) les mortes (Guo *et al.*, 2022).

Le système de quorum sensing (QS) joue un rôle clé dans la formation du biofilm en assurant la communication entre les bactéries. En effet, ces dernières pourront réguler l'expression de certains gènes par la production de molécules signales, appelées auto-inducteurs. Le QS va permettre non seulement de coordonner la maturation du biofilm mais également le détachement du biofilm, et la régulation de l'expression des facteurs de virulence par *S. aureus* (Wu *et al.*, 2024).

c. Détachement et dispersion

Le phénomène de détachement et de dispersion des cellules du biofilm peut être induit par une insuffisance des nutriments dans le biofilm et des changements environnementaux comme la variation d'apport en oxygène, la présence de substances toxiques, une dégradation de la matrice, etc. Ces cellules détachées peuvent dans ce cas infecter des sites proches ou plus éloignés, former de nouveaux biofilms, et provoquer ainsi des infections chroniques récidivantes (Wu *et al.*, 2024).

La dégradation de la matrice du biofilm se fait sous l'action d'enzymes, telles que les nucléases et les protéases. En effet, *S. aureus* produit dix protéases, dont sept sérines protéases, une métalloprotéase et deux cystéines protéases, qui jouent un rôle crucial dans la dégradation et la dispersion du biofilm. Ces protéases dégradent divers composants des EPS, conduisant à l'affaiblissement et à la désintégration de la matrice du biofilm (Deepika *et al.*, 2022 ; Song *et al.*, 2024). *S. aureus* secrète deux nucléases Nuc1 et Nuc2 à partir de l'ADNe. Une mutation de Nuc1 induit l'augmentation de la formation du biofilm, en revanche sa surexpression entraîne une réduction du niveau de formation du biofilm. En ce qui concerne Nuc2, son rôle n'est pas encore élucidé (Hespanhol *et al.*, 2022). De plus, les PSMs, participent activement au détachement et à la dispersion du biofilm, en perturbant les interactions non covalentes.

Le QS est également impliqué dans l'étape de détachement, en diminuant l'expression des protéines responsables de l'adhérence et en augmentant la production des protéines responsables du détachement. Le QS de *S. aureus* est médié par le système Agr (accessory gene regulator). Ce dernier régule négativement les adhésines appartenant aux MSCRAMM ainsi que la PIA et régule positivement des molécules impliquées dans le détachement comme le PSM (Wu *et al.*, 2024).

1 Stratégies de lutte contre les biofilms

1.1 Stratégies innovantes

1.1.1 Inhibition du quorum sensing

L'inhibition du QS présente un potentiel thérapeutique prometteur pour lutter contre les infections bactériennes. Deux approches pourraient être utilisées pour brouiller les signaux de communication entre les bactéries. La première consisterait en l'utilisation du RNAIII inhibiting peptide (RIP). La deuxième serait de perturber la voie impliquée dans la régulation du mode de vie du biofilm, la voie du-GMPc (bis-(3',5')-cyclic-dimeric-guanosine monophosphate), en utilisant le sulfathiazole ou le fluorouracil (Antoniani *et al.*, 2009; Lebeaux et Ghigo, 2019). Les résultats obtenus ont démontré une réduction significative de la colonisation par *S. aureus* pour les deux approches. Cependant, la deuxième approche implique l'utilisation de produits toxiques pour l'Homme (Walz *et al.*, 2010).

1.1.2 Anticorps monoclonaux

Des études récentes ont exploré l'utilisation d'anticorps monoclonaux (monoclonal antibodies, mAb) pour perturber le QS et la formation du biofilm chez les bactéries pathogènes (Han et Poma, 2022 ; Vacca *et al.*, 2022 ; Juszczuk-Kubiak, 2024). Parc *et al.* (2007), ont démontré que le mAb dirigé contre le locus *Agr* inhibe de manière significative le QS et réduit l'expression de l'alpha hémolysine. Grâce à un modèle de souris infectées, une étude *in vivo* a démontré que cet anticorps monoclonal réduisait la pathogénicité de *S. aureus* (Parc *et al.*, 2007 ; Kirchdoerfer *et al.*, 2011).

En 2005, Sun Accavitti et Bryer ont étudié trois mAb (12C6, 12A1 et 3C1) individuels et §combinés, ciblant les protéines de la paroi cellulaire de *Staphylococcus epidermidis*. Les résultats obtenus ont démontré que l'inhibition de la formation du biofilm sur les surfaces abiotiques par des mélanges d'anticorps monoclonaux mAb étaient nettement plus efficaces que l'activité des mAb individuels. Selon cette même étude ces trois mAb ont montré une inhibition inférieure à ceux obtenues par les combinaisons de 12A1 et 3C1 mais aussi de 12C6 et 12A.

1.1.3 ARNs comme régulateurs de quorum

Des études récentes ont mis en évidence le rôle crucial des petits ARN non codants (sRNA) dans la régulation du QS et la formation du biofilm. Ces sRNA, également appelés ARN régulateur de quorum, agissent comme des régulateurs globaux qui influencent directement ou indirectement l'expression des gènes impliqués dans ces processus (Liu *et al.*, 2013 ; Wolska *et al.*, 2016). Selon Mandin et guilier, 2013 la modification de l'expression ou la suppression de certains ARNs tels que les OmrR, OmrB et McaS ou encore ArcZ, SdsR, GadY et MicA perturbent la motilité cellulaire ou l'exportation d'exopolysaccharides, ce qui entraînerait une inhibition du biofilm chez *E. coli* (Mandin et guilier, 2013).

1.1.4 Probiotiques

Des tests ont démontré l'efficacité des bactéries lactiques en tant que probiotiques pour interférer avec le QS des bactéries pathogènes du groupe ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *S. aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter*). Elles inhibent ainsi le développement du biofilm au stade initial jusqu'à sa phase

finale (Mirghani *et al.*, 2022 ; Santajit *et al.*, 2022 Juszczuk-Kubiak, 2024). D'après Valdez *et al.* (2005), la souche *Lactobacillus plantrum* PA100, pourrait inhiber la formation du biofilm de l'autoinducteur AHL (Acyl homosérine lactone) et de l'élastase. Une diminution de l'expression des gènes responsables de la formation du biofilm chez *S. aureus* (*cidA*, *icaA*, *dltB*, *agrA*, *sortaseA* et *sarA*) a également été démontré sous l'action de *L. plantrum* et *Pediococcus acidilactici* (Santajit *et al.*, 2022).

1.1.5 Nanoparticules

La technologie des nanoparticules (NP) représente à l'heure actuelle une alternative prometteuse (Shkodenko *et al.*, 2020). Cependant, leur efficacité dépend de leur interaction avec les biofilms. En effet, les forces électrostatiques jouent un rôle crucial dans l'interaction entre les NP et les biofilms bactériens (Sahlé-Demessie *et al.*, 2011; Ikuma *et al.*, 2014). Les NP arrivent à interagir avec les biofilms grâce à un processus en trois étapes (Figure 03). La première consiste à ramener les NP à proximité du biofilm ; la seconde étape consiste à la fixation des NP une fois que ces derniers atteignent la surface du biofilm. Cette fixation est déterminée par les interactions physicochimiques entre les NP et les composants de la matrice du biofilm. Enfin, ces NP doivent migrer dans les biofilms (Shkodenko *et al.*, 2020).

Des études *in vitro* ont démontré une inhibition jusqu'à 98 % des biofilms de *S. aureus*, grâce aux nanoparticules d'argent (AgNP) qui une fois intégrées dans le cytoplasme bactérien, engendrent la rupture de la membrane entraînant la mort des bactéries (Tan *et al.*, 2021 ; Song *et al.*, 2024). Les nanoparticules de cuivre (CuNP), utilisées seules ou en combinaison, se sont révélées efficaces pour inhiber divers pathogènes responsables de mammites, par administration intramammaire (Kalińska *et al.*, 2019). En effet, les CuNP ont permis de réduire de façon significative la charge bactérienne. Ces résultats indiqueraient que ces nanoparticules représenteraient une approche prometteuse pour le traitement de la mammite bovine (Song *et al.*, 2024).

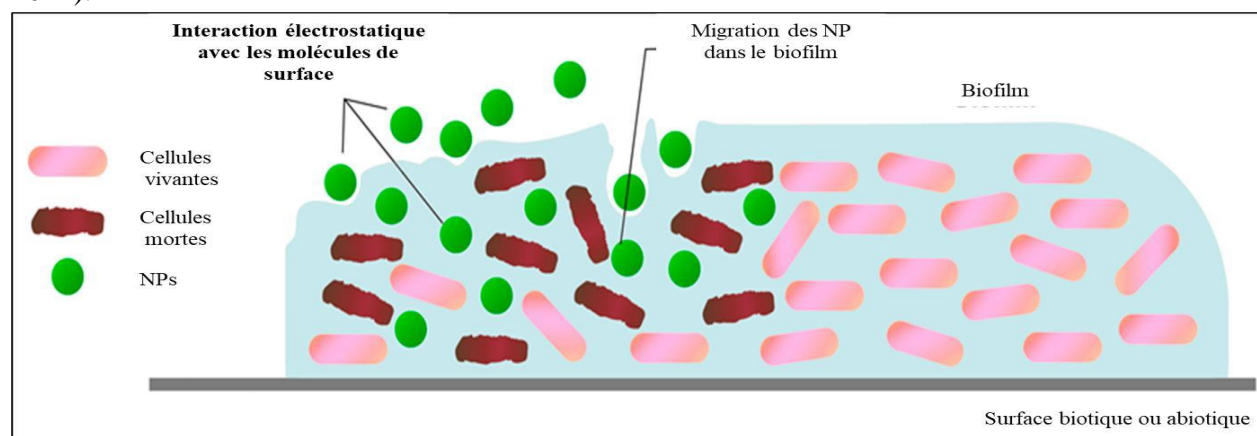


Figure 03 : Interaction entre les nanoparticules d'oxydes métalliques (NP) et le biofilm (Shkodenko *et al.*, 2020).

1.1.6 Phages

Les phages sont des virus naturels capables de détruire les bactéries. Plusieurs études ont donc été effectuées afin de déterminer l'efficacité antibactérienne des phages. Une étude *in vitro*, a montré qu'en utilisant deux bactériophages, le phage ϕ IPLA-RODI et le phage ϕ IPLA-C1C, entraînaient une réduction significative du biofilm associé à *S. aureus* et *S. epidermidis* (Gutierrez *et al.*, 2015 ; Song *et al.*, 2024). En plus de la stratégie d'application d'un seul phage pour éradiquer les biofilms, des tests ont été réalisés en combinant deux phages, K et DRA88 agissant en synergie. En 48h, le biofilm de *S. aureus* a été réduit de manière significative (Alves *et al.*, 2014 ; Song *et al.*, 2024).

En outre, une nouvelle stratégie combinant phages et antibiotiques a montré des résultats prometteurs pour éliminer le biofilm de *S. aureus*. L'association du phage SAP-26 avec la rifampicine s'est avérée plus efficace que l'azithromycine ou la vancomycine seules pour réduire le biofilm de *S. aureus* (Rahman *et al.*, 2011; Tagliaferri *et al.*, 2019).

1.1.7 Peptides antimicrobiens

La montée en puissance des bactéries résistantes aux antibiotiques constitue une menace majeure pour la santé humaine. Dans ce contexte, les peptides antimicrobiens (AMP) émergent comme une alternative prometteuse aux antibiotiques classiques. Grâce à leurs mécanismes antibactériens qui bloquent la résistance des bactéries et ceci par des mécanismes bien précis tels que (Figure 04) :

- Lyse directe des bactéries planctoniques ou dans les biofilms ;
- Inhibition de la phase d'adhésion des cellules sur la surface biotique ;
- Perturbation de la formation du biofilm en ciblant les molécules de signalisation associées ;
- Décomposition des composants de la matrice extracellulaire (EPS) du biofilm ;
- Entrée dans le biofilm et élimination des bactéries (Tang *et al.*, 2022 ; Song *et al.*, 2024).

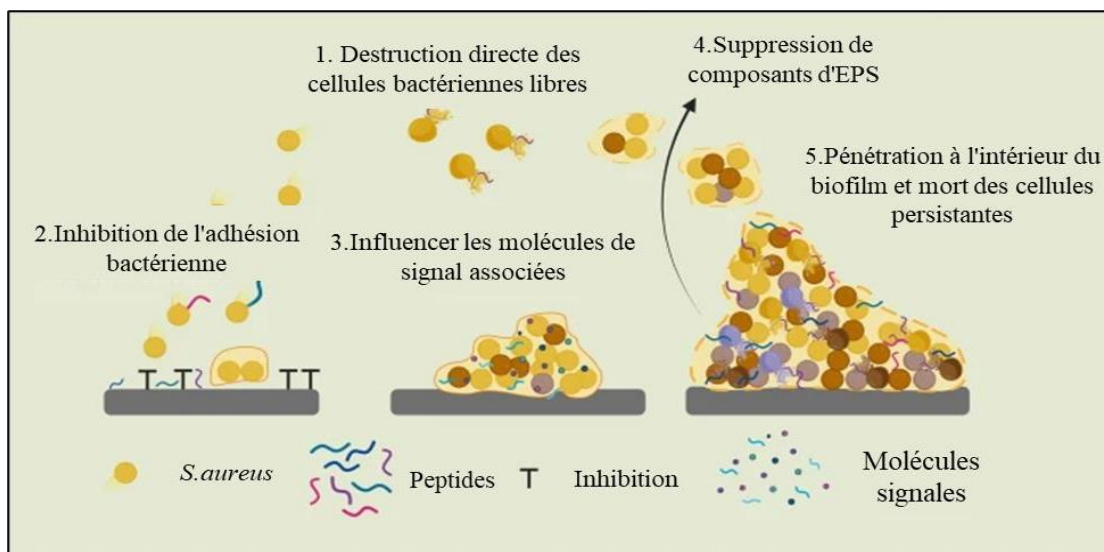


Figure 04 : Différentes étapes de la stratégie d'éradication des biofilms à l'aide des peptides antimicrobiens (AMP) (Song *et al.*, 2024).

1.2 Stratégies naturelles

Dans la recherche d'agents antibiofilms, l'exploration de produits naturels s'est intensifiée en raison de leur potentiel écologique et leur impact positive sur la santé humaine et l'environnement par rapport aux stratégies conventionnelles (Guo *et al.*, 2021). Divers métabolites secondaires végétaux, tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpénoïdes et les polyphénols peuvent être utilisés comme agents antibiofilms (Song *et al.*, 2024). Ils perturbent divers aspects du développement du biofilm, notamment les systèmes de détection du quorum, la formation de la matrice, l'adhésion cellulaire et la synthèse de facteurs de virulence (Lu *et al.*, 2019). Divers composés naturels aux propriétés antibiofilms, dont les extraits de plantes, le miel et les huiles essentielles ont été étudiés (Asma *et al.*, 2022).

1.2.1 Miel

Le miel est considéré comme le produit naturel le plus largement utilisé en raison de ses propriétés médicinales, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antioxydantes et cicatrisantes. En effet, le miel s'est révélé être un agent antimicrobien efficace contre le développement des biofilms, même à faible concentration, en inhibant les gènes du QS et de virulence bactérienne, sans provoquer l'inhibition de la croissance cellulaire (Asma *et al.*, 2022). En outre, une étude réalisée par Skadiņš *et al.* (2023), a montré que le miel pouvait empêcher le développement et l'activité d'un biofilm formé par *S. aureus*. Il peut également inhiber la formation du biofilm grâce à un peptide antimicrobien, la défensine-1 d'abeille, en affectant la viabilité bactérienne (Asma *et al.*, 2022). La forte activité antimicrobienne du miel s'explique par sa composition spécifique (flavonoïdes, acides phénoliques, méthylglyoxal) et par son faible pH, compris entre 3,2 et 4,5 (Hixon *et al.*, 2018). Néanmoins, des études approfondies des mécanismes d'action du miel, impliqués dans l'inhibition et la prévention de la formation du biofilm, sont encore en cours.

1.2.2 Extraits de plante

Il existe principalement cinq classes de composés naturels qui ont des propriétés antibiofilms élevées. Il s'agit des polyphénols, des huiles essentielles, des terpénoïdes, des lectines, des alcaloïdes, des polypeptides et polyacétylènes (Yong *et al.*, 2019). Plusieurs solvants, à savoir le méthanol, l'éthanol, le chloroforme, l'éther et l'acétone ont été utilisés pour l'extraction de composés naturels de diverses sources pour les activités antibiofilms (Mishra *et al.*, 2020).

L'extrait d'éthanol d'*Amomum tsaoko* a montré une capacité d'inhibition de la formation du biofilm causé par différentes bactéries d'origines alimentaire notamment, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *Salmonella thyphimurium* (Vandeputte, 2010 ; Kalia, 2013; Rahman *et al.*, 2017 ; Juszczuk-Kubiak, 2024). En outre, le limonène extrait de la mandarine et les extraits aqueux d'*Ananas comosus* ont également un pouvoir d'inhibition du QS. En effet, ces substances ont montré une diminution de la signalisation médiée par l'AHL et donc une diminution significative de la formation du biofilm (Musthafa *et al.*, 2010). De plus, les extraits de Casbane diterpène de la plante brésilienne *Croton nepetaefolius*, ont montré une inhibition significative du biofilm formé par des bactéries à Gram positif comme *S. aureus* et des bactéries à Gram négatif comme *P. aeruginosa* (Asma *et al.*, 2022). Certains agents antibiofilms extraits de produits naturels ainsi que leurs organismes cibles sont répertoriés dans le tableau I.

Tableau I : Quelque extrait de plantes ayant des activités antibiofilms (Asma *et al.*, 2022).

Extraits de plante	Organismes cibles	Effets anti-Biofilm	Références
<i>Bergenia cassifolia</i>	<i>S. mutans</i>	Réduction de l'adhérence de <i>S. mutans</i> en inhibant les glycosyltransferases	Liu <i>et al.</i> , 2007
Erianin	<i>S. aureus</i>	Inhibition de l'adhésion régulant à la baisse de la Sortase A	Ouyang <i>et al.</i> , 2018
Hordenine	<i>P. aeruginosa</i>	Inhibition du QS des facteurs de virulence et développement du biofilm	Zhou <i>et al.</i> , 2018
<i>Hymenocallis littoralis</i>	<i>C. albicans</i> , <i>S. aureus</i>	Activité antimicrobienne, anti-biofilm et antioxydante	Nadaf <i>et al.</i> , 2018
Parthenolide	<i>P. aeruginosa</i> PAO1	Inhibition de l'expression des gènes du QS (LasR, LasI, RhIR et RhII) et régulation à la baisse des EPS	Kalia <i>et al.</i> , 2018
Patriniae	<i>P. aeruginosa</i>	Synthèse des EPS réduite et formation de biofilm inhibée	Fu <i>et al.</i> , 2017
Quercetin	<i>S. pneumoniae</i>	Blocage de la fonction de la Sortase A, la synthèse de l'acide sialique et l'altération de la formation du biofilm de <i>S. pneumoniae</i>	Wang <i>et al.</i> , 2018

1.2.3 Huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) sont des substances volatiles extraites de plantes naturelles, qui ont été largement utilisées contre plusieurs agents pathogènes (Mukurumbira *et al.*, 2022). Les HE sont également utilisées dans l'industrie alimentaire en raison de leurs propriétés antimicrobiennes et conservatrices. Elles causent spécifiquement des dommages au niveau des parois bactériennes (Burt *et al.*, 2004). Leur dégradation rapide et facile, leur toxicité à faible dose et la disponibilité d'une grande variété d'HE en font des agents antibiofilms naturels fiables (Asma *et al.*, 2022). De nombreuses HE se distinguent par leur remarquable pouvoir antibactérien selon leur composition chimique (Mebarki, 2010), comme l'origan d'Espagne (*Thymbra capitata*), le thym (*Thymus vulgaris*), la cannelle (*Cinnamomum zeylanicum*), la sarriette (*Satureia montana*) et le girofle (*Eugenia caryophyllata*) (Kaloustian *et al.*, 2008). Dans cette étude, un intérêt particulier a été porté à l'effet antibactérien et antibiofilm de l'huile essentielle d'origan.

1.2.3.1 Huile essentielle d'origan (*Origanum compactum*)

1.2.3.1.1 *Origanum compactum*

Origanum compactum, une plante herbacée vivace, est reconnue pour sa saveur légèrement amère, piquante et aromatique (Chafai *et al.*, 2014) (Figure 05). Appartenant à la famille des Lamiacées (Tableau II), elle est principalement présente en Afrique du Nord et en Eurasie (Bouyahya *et al.*, 2020). Cette famille est d'ailleurs connue pour produire des quantités importantes d'huiles essentielles et comprend de nombreuses espèces telles que l'origan, le thym, la lavande, la marjolaine, la sauge et la menthe poivrée (Kachur *et al.*, 2020).

O. compactum est prisée pour son utilisation dans le domaine culinaire, mais également pour ses vertus médicinales uniques. En effet, des études *in vitro* ont mis en évidence une large gamme de propriétés pharmacologiques pour cette espèce, incluant des effets antibactériens, anti-inflammatoires, antioxydants et antifongiques (Bouyahya *et al.*, 2017). En outre, les feuilles et les tiges permettent de traiter les problèmes digestifs, les maladies cardiaques, l'inflammation, l'hypertension et le diabète (Hachi *et al.*, 2016).



Figure 05 : *Origanum Compactum* (Chafai *et al.*, 2014).

Tableau II : Classification de la plante *Origanum compactum* (Engler,1924).

Domaine	Biota
Règne	Plantae
Embranchement	Angiosperme
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Asteridae
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Compactum</i>
Nom binomiale	<i>Origanum compactum</i>

1.2.3.1.2 Activité antibactérienne et antibiofilm

L'HE d'*Origanum compactum* est riche en thymol et en carvacrol, deux monoterpènes d'origine naturelle reconnus pour leurs propriétés antimicrobiennes (Bouhdid *et al.*, 2012). L'HE d'origan a un potentiel en tant qu'agent de conservation, désinfectant ou antimicrobien naturel dans les industries alimentaires et pharmaceutiques (AL-Asmari *et al.*, 2024).

Des travaux préliminaires ont révélé une activité antibactérienne prometteuse de l'HE d'*O. compactum*, qui s'est avérée être particulièrement efficace contre les souches de *S. aureus* (Bouhdid, 2009). En outre, une étude a été réalisée afin de déterminer l'effet antibactérien de l'HE d'*O. compactum* sur deux souches modèles, *P. aeruginosa* ATCC 27853 et *S. aureus* ATCC 29213. Les résultats obtenus ont montré que cette HE provoquait une fuite de potassium chez les bactéries traitées. Ce phénomène s'explique par son action sur la membrane plasmique bactérienne. En effet, le carvacrol et le thymol, sont connus pour dissiper le gradient de potassium dans les cellules bactériennes, comme cela a été démontré par des études antérieures chez *S. aureus* et *E. coli* (Walsh *et al.*, 2003). Dans une étude menée par Martinez *et al.* (2021), il a été démontré que le thymol et le carvacrol avaient à la fois une activité antibactérienne et antibiofilm sur *E. coli* ATCC 25922 et *S. aureus* ATCC 29213. Dans cette même étude, il a été suggéré que ces deux composés avaient également une activité anti-QS.

Bouyahya *et al.* (2019), ont également confirmé l'activité antibiofilm exercée par cette HE en inhibant la formation de biofilms chez *E. coli* et *Bacillus subtilis*. Dans cette même étude, les auteurs ont démontré que le mécanisme d'action contre *E. coli* serait dû aux dommages irréversibles causés par l'HE d'*O. compactum* sur la paroi et la membrane cellulaire, entraînant

une fuite de protéines et de matériel génétique (ADN et ARN). Cependant, le mécanisme d'action de cette HE contre *B. subtilis* semble être lié à la dérégulation du QS (Figure 06).

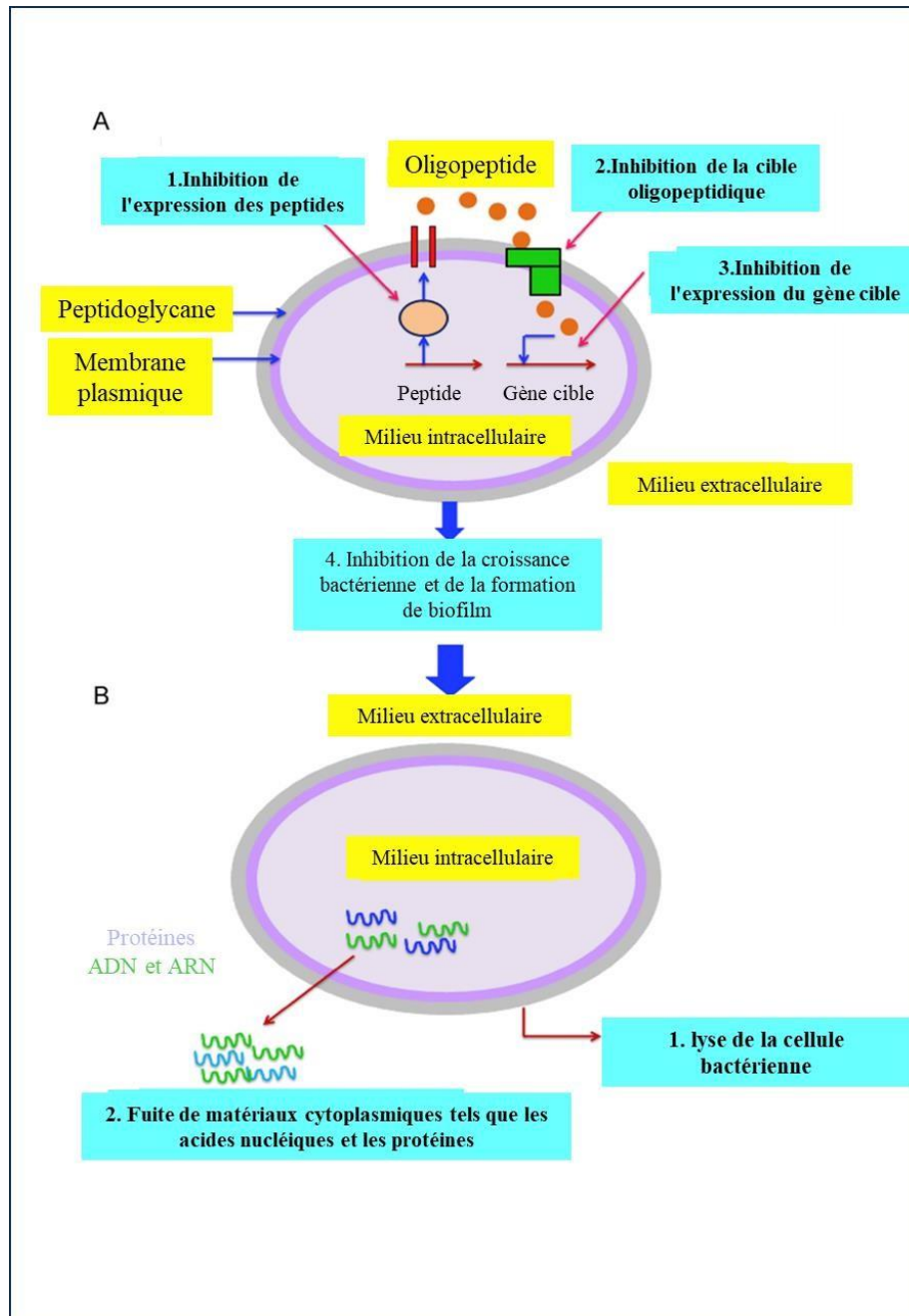


Figure 06 : Mécanismes d'action antibactériens et antibiofilms de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* contre *Bacillus subtilis* (Bouyahya *et al.*, 2019).

Partie II :
Partie expérimentale

➤ **Cadre de l'étude**

Cette étude a été réalisée durant la période allant du mois d'avril au mois de juin 2024, au niveau du laboratoire de recherche « Ecologie, Biotechnologie et Santé » de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

L'objectif de cette étude est l'isolement des souches de *Staphylococcus aureus* à partir du lait de chèvre cru, et l'évaluation de leur aptitude à former des biofilms. L'activité antibiofilm de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* a été également évaluée. Les échantillons de lait ont été récoltés au niveau de 3 élevages caprins situés dans la région de Freha dans la wilaya de Tizi-Ouzou.

1 Matériel

1.1 Matériel de laboratoire

Les milieux de cultures, le matériel de prélèvement, le matériel biologique, les réactifs ainsi que l'équipement utilisés durant notre étude sont listés dans l'annexe 01.

2 Méthodes

2.1 Echantillonnage

Au cours de cette étude, 9 échantillons de lait cru de chèvre ont été récoltés dans 3 différentes fermes dans la région de Freha dans la wilaya de Tizi-Ouzou. Ces échantillons proviennent de chèvres en bonne santé et de taille moyenne, dont la période de lactation a débuté au mois de février (Tableau III). Le pH a été mesuré pour chaque échantillon de lait. de plus chaque échantillon correspond à une chèvre différente.

Tableau III : Récapitulatif des prélèvements de lait cru de chèvre.

Ferme	Race de la chèvre	Date du prélèvement	Nombre d'échantillons	PH
Ferme 1	Saanen	22/04/2024	02	6.84
				6.83
Ferme 2	Saanen	30/04/2024	04	6.92
				6.93
				6.82
				6.80
Ferme 3	Saanen	12/05/2024	03	6.83
				6.86
				6.82

Les prélèvements de lait ont été réalisés en respectant les règles d'hygiène et en suivant les étapes ci-dessous :

- Porter des gants chirurgicaux ;
- Maintenir la chèvre immobile ;
- Laver le pis avec une eau savonneuse ;
- Nettoyer le pis avec de la gaze stérile imbibée d'alcool ;
- Eliminer le premier jet de lait chargé en microorganismes;
- Récupérer le lait cru dans des flacons stériles étiquetés.

Les échantillons de lait ont été ensuite acheminés au laboratoire dans des glacières contenant des blocs de glace dans le but de maintenir une température adéquate et conserver la qualité microbiologique du lait de chèvre jusqu' au moment de l'analyse.

2.2 Isolement des souches de *S. aureus*

Une fois les prélèvements arrivés au laboratoire, 1mL de lait cru ont été prélevés de chaque échantillon et déposés dans 9mL d'eau peptonée stérile afin d'effectuer un enrichissement. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, des boîtes de Pétri contenant la gélose Baird Parker (BP) ont étéensemencées en strie en déposant 100 µL des inoculum prélevés à partir des eaux peptonnées. Les boîtes ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24h.

Les colonies caractéristiques de *S. aureus* apparaissent noires (réduction du tellurite en tellure) entourées d'un halo d'éclaircissement correspondant à la dégradation du jaune d'œuf par la lécithinase.

2.1.1 Purification des souches isolées

Après avoir sélectionné les souches caractéristiques de *S. aureus*, ces dernières ont été repiquées sur la gélose BP afin de les purifier en utilisant la technique des trois quadrants. Les boîtesensemencées ont été ensuite incubées à 37°C durant 24h. Des repiquages successifs ont été réalisés jusqu'à obtention d'une culture pure.

2.1.2 Identification biochimique

L'identification des souches de *S. aureus* repose sur trois principaux tests biochimiques: le test de la catalase, le test de la coagulase et le test de l'ADNase (Figure 07). Pour qu'une souche soit confirmée comme appartenant à l'espèce *S. aureus*, cette dernière doit impérativement présenter des résultats positifs pour ces trois tests. Afin de confirmer les résultats obtenus, chaque test a été également réalisé sur la souche de référence *Staphylococcus aureus* MU50. Tous les tests ont été réalisés sur des souches provenant d'une culture jeune de 18 à 24h.

➤ **Test de la catalase**

La catalase est une enzyme présente chez les bactéries à métabolisme aérobie. Cette enzyme les protège de la toxicité de l'oxygène en dégradant le peroxyde d'hydrogène en eau et dioxygène selon la réaction suivante :



Le test de la catalase a été réalisé en déposant une colonie de la souche caractéristique dans une goutte de peroxyde d'hydrogène préalablement déposée sur une lame. La présence de l'enzyme de la catalase se traduit par dégagement de bulles de gaz.

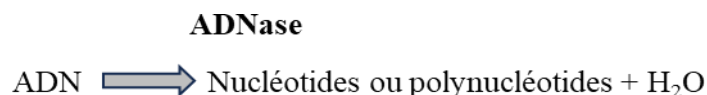
➤ **Test de la coagulase**

La coagulase est une protéine extracellulaire qui a la capacité de coaguler le plasma de l'Homme. C'est une protéine thermostable qui active la prothrombine afin de la transformer en thrombine puis en fibrinogène et fibrine. Le test de la coagulase permet de différencier entre les staphylocoques à coagulase positive (SCP) et les staphylocoques à coagulase négative (SCN).

Ce test est réalisé en déposant une colonie caractéristique de *S.aureus* dans 0.5mL de BHIB. Après 24h d'incubation à 37°C, 0.5mL de plasma humain (à défaut du plasma de lapin) ont été additionnés à cette culture. Les tubes à hémolyse ont été incubés à 37°C ; la lecture des résultats se fait après de 2h d'incubation, puis 4h et enfin 24h. Le test est considéré comme étant positif lors de l'observation d'une prise de masse du plasma (formation d'un caillot).

➤ **Test de l'ADNase**

Certaines souches du genre *Staphylococcus* telles que *S.aureus* ont la capacité d'hydrolyser l'ADN grâce à l'enzyme ADNase. Cette dernière a la capacité de décomposer l'ADN en nucléotides et H₂O afin que la bactérie *S.aureus* l'utilise comme source de carbone et d'Énergie.



Une colonie caractéristique a été ensemencée en strie centrale sur la gélose ADN. Après incubation à 37°C pendant 24h, la révélation a été réalisée en inondant les boîtes avec du bleu de toluidine. Le test est considéré positif à l'apparition d'une zone rose de métachromasie tout autour de la strie centrale, signe de la décomposition des polynucléotides suite à l'hydrolyse de l'ADN présente dans le milieu.

2.1.3 Conservation des souches isolées

Après identification des souches isolées, ces dernières ont été repiquées sur le bouillon BHIB et incubées à 37°C pendant 24h. La conservation des souches se fait en mélangeant un volume de la suspension bactérienne avec deux volumes de glycérol dans des cryotubes étiquetés. Ces derniers ont été conservés à -20°C au congélateur.

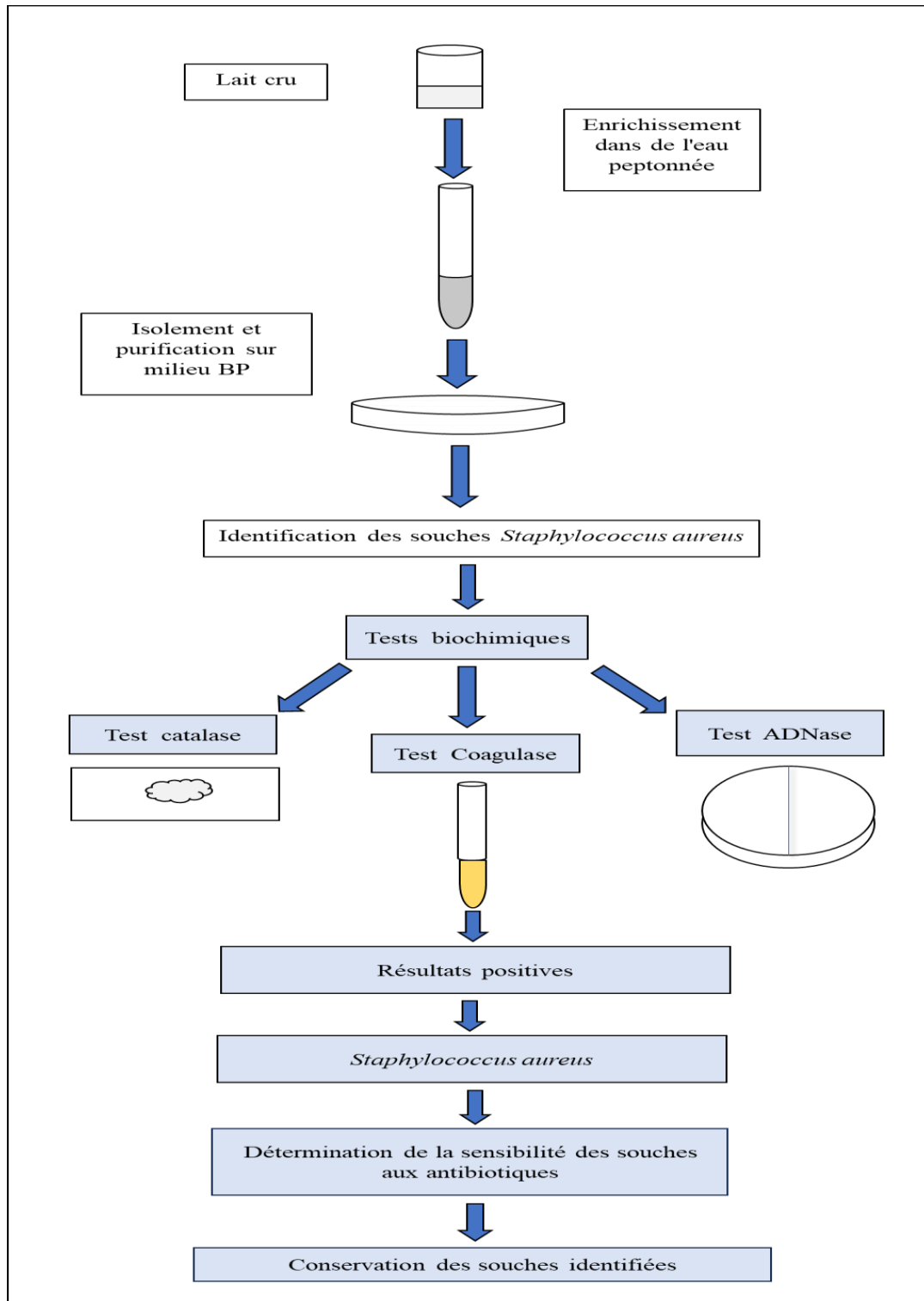


Figure 07: Schéma récapitulatif du protocole d'isolement des souches *Staphylococcus aureus*.

2.1.5 Evaluation de la formation des biofilm *sin vitro*

Dans cette étude, la détection de la production du biofilm a été réalisée en utilisant deux méthodes: la culture sur milieu rouge Congo (Congo Red Agar, CRA) et la méthode de la microplaque de 96 puits.

2.1.5.1 Méthode de la culture sur milieu rouge Congo (RCA)

Le milieu RCA permet la détection des souches productrices de slime (Freeman *et al.*, 1989). En effet, il permet de mettre en évidence la production du PIA. Le rouge de Congo se lie avec les exopolysaccharides et suite à cette liaison les colonies produisant des biofilms arborent une couleur plus foncée, noire ou rouge foncée. Quant aux bactéries non productrices de biofilms, celles-ci forment des colonies de couleur rouge ou rose (Nasr *et al.*, 2012).

A partir d'une culture jeune de 18 à 24h des souches isolées ainsi que du témoin positive (*S. aureus* MU50), une colonie a été prélevée et ensemencée avec la technique des trois quadrants sur la gélose RCA. Après incubation à 37° pendant 24h, l'interprétation des résultats se fait comme suit:

- Les souches productrices de slime sont de couleur noire ou rouge foncé à surface rugueuse ;
- Les souches non productrices de slime sont de couleur rouge ou rose, à surface lisse.

2.1.5.2 Méthode de la microplaque de 96 puits

Dans le but d'évaluer la capacité des isolats à former des biofilms, la technique des microplaques a été utilisée (Figure 08). Cette méthode permet de quantifier la formation des biofilms et ceci en mesurant l'adhérence des biofilms au niveau des parois des différents puits de la microplaque de 96 puits (Christensen *et al.*,1982).

a) Préparation de la suspension bactérienne

A partir de cultures jeunes des souches de *S. aureus* isolés ainsi que la souche de référence *S. aureus* MU50 ; quelques colonies ont été prélevées puis déposées dans des tubes contenant de l'eau physiologique stérile. Les suspensions bactériennes ont été ensuite standardisées au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625nm.

b) Préparation de la microplaque

A l'aide d'une micropipette, 200 µL de BHIB à 2% de Saccharose ont été prélevés et versés dans les puits correspondant au témoin positif (T+ : souche de référence *S. aureus* MU 50), témoin négatif (T- :BHIB à 2% de saccharose non ensemencé) et les différents isolats.

Cinquante microlitres de chaque suspension ont été prélevés et déversés dans les puits tout en comptant les répétitions, excepté le T-. Afin de faciliter la lecture et faire une distinction entre les témoins et les souches, les deux premiers puits ont été assignés aux T+ et T-, et un puits vide a été laissé entre ces deux derniers et les isolats. La microplaque a été incubée à 37°C pendant 48h jusqu'à formation d'un dépôt blanchâtre au fond des puits.

c) Préparation de la microplaque pour la lecture

À l'aide d'une micropipette réglée à 250µL, tout le contenu des puits a été pipeté délicatement en évitant d'aspirer le biofilm. Deux lavages successifs avec 250µL d'eau distillée ont été réalisés pour chaque puits. Une coloration a été ensuite effectuée avec 250µL de cristal violet à 1%. Après un temps de pause de 15 minutes, le cristal violet a été pipeté et les puits ont été lavés avec 250 mL d'eau distillée. Après avoir vidé les puits, la plaque a été séchée à l'aide d'un papier Sopalin. Tous les puits ont été remplis avec 250 µL d'éthanol absolu et laissés sous agitation pendant au moins 20 minutes sur la plaque d'agitation jusqu'à dispersion du biofilm. L'interprétation de la production de biofilms par les souches de *S. aureus* a été réalisée en suivant les normes et critères décrits dans le tableau IV (Achek *et al.*, 2020).

Tableau IV : Classification de l'adhésion des *Staphylococcus* spp. (ACHEK *et al.*, 2020).

Valeur DO	Formation de biofilm
ODs < ODc	Non formatrice
ODc < ODs < 2ODc	Faible
2ODc < ODs < 4ODc	Modérée
ODs > 4ODc	Forte

- ODs : Valeur moyenne de la DO pour chaque souche.
- ODc : Cut off, avec ODc = valeur moyenne de la DO du contrôle négatif + 3 fois l'écart type du contrôle négatif.
- 2ODc = 2 fois ODc.
- 4ODc = 4 fois ODc.

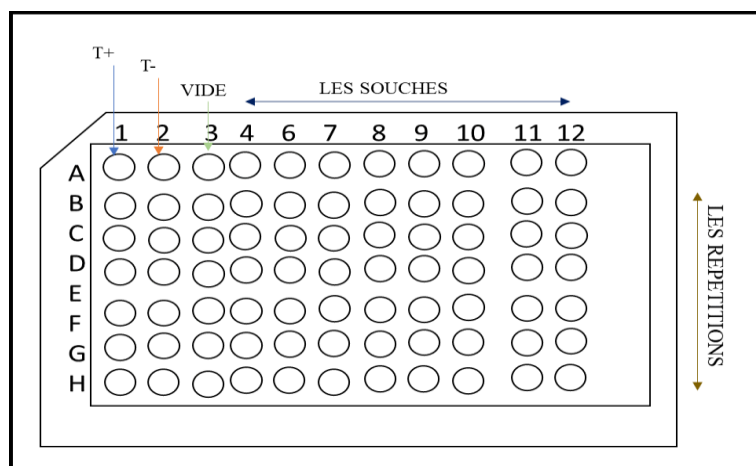


Figure 08 : Schéma récapitulatif du plan de la microplaque.

T+ : souche de référence *S. aureus* MU50 ; T- : BHIB à 2% de saccharose non ensemencé.

2.1.6 Etude de l'activité antibactérienne et antibiofilm *in vitro*

2.1.6.1 Etude de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan (*Origanum compactum*) contre les souches de *S. aureus* isolés a été évaluée à l'aide de la méthode de l'aromatogramme, en suivant les protocoles établis par Mouas *et al.* (2017) (Figure 09). La réalisation de cet aromatoigramme passe par trois étapes : préparation de la suspension bactérienne, ensemencement des boîtes contenant le milieu MH avec la technique de l'écouvillonnage et enfin la disposition des disques imprégnés de l'huile essentielle.

a) Préparation de la suspension bactérienne et standardisation

La réalisation de la suspension bactérienne se fait à partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24h. Quelques colonies bien isolées ont été prélevées à partir de la gélose nutritive (GN), et déposées dans des tubes à essai contenant de l'eau physiologique stérile. Suite à cela, la suspension est standardisée et ceci à l'aide d'un spectrophotomètre. La densité optique de la suspension doit être comprise entre 0.08 et 0.1 à une longueur d'onde de 625nm, soit l'équivalent de 10^8 UFC /mL (0.5 Mc Farland) (CA-SFM, 2013).

b) Ensemencement des boîtes de MH

L'ensemencement des boîtes de MH se fait avec la technique de l'écouvillonnage en suivant les étapes suivantes :

- Plonger l'écouvillon stérile à l'intérieur du tube contenant la suspension bactérienne standardisée ;
- Eliminer l'excès de liquide en tournant et essorant l'écouvillon contre les parois du tube ;
- Ensemencer la totalité de la boîte avec l'écouvillon et ceci sur toute la surface avec des stries serrées de haut en bas puis tourner la boîte d'environ 60°.
- Terminer l'ensemencement des boîtes en passant l'écouvillon sur tout le contour de la gélose MH.

c) Disposition des disques d'antibiotiques

Un disque de papier Whatman d'un diamètre de 6mm imbibé de 8µL de l'extrait brut de l'huile essentielle, ainsi que six disques imbibés des dilutions au 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 et 1/64 ont été déposés sur la gélose MH. Un disque d'antibiotique d'érythromycine considéré comme T+, et un disque imbibé de BHIB à 2% de saccharose non ensemencé (utilisé comme diluant pour l'huile essentielle) a été utilisé comme témoin T-. Trois répétitions ont été effectuées. Les boîtes de MH ont été ensuite incubées à 37°C pendant 24h. Après incubation, les zones d'inhibition autour de chaque disque ont été mesurées (Tableau V) afin d'évaluer l'efficacité de l'huile essentielle et ses dilutions. Les mesures ont été prises pour les trois répétitions afin de faire une moyenne et permettre de trouver la concentration minimale inhibitrice (CMI). Préalablement, un antibiogramme a été réalisé pour déterminer l'antibiotique approprié auquel les souches de *S. aureus* sont sensibles (annexe 02).

Tableau V : Sensibilité des souches microbiennes en fonction des zones d'inhibition (CLSI (2020)).

Sensibilité	Symbole	Zone d'inhibition
Extrêmement sensible	(+++)	Diamètre >20
Très sensible	(++)	Diamètre compris entre 15et19mm
Sensible	(+)	Diamètre compris entre 8 et 14mm
Résistante	(-)	Diamètre <8mm

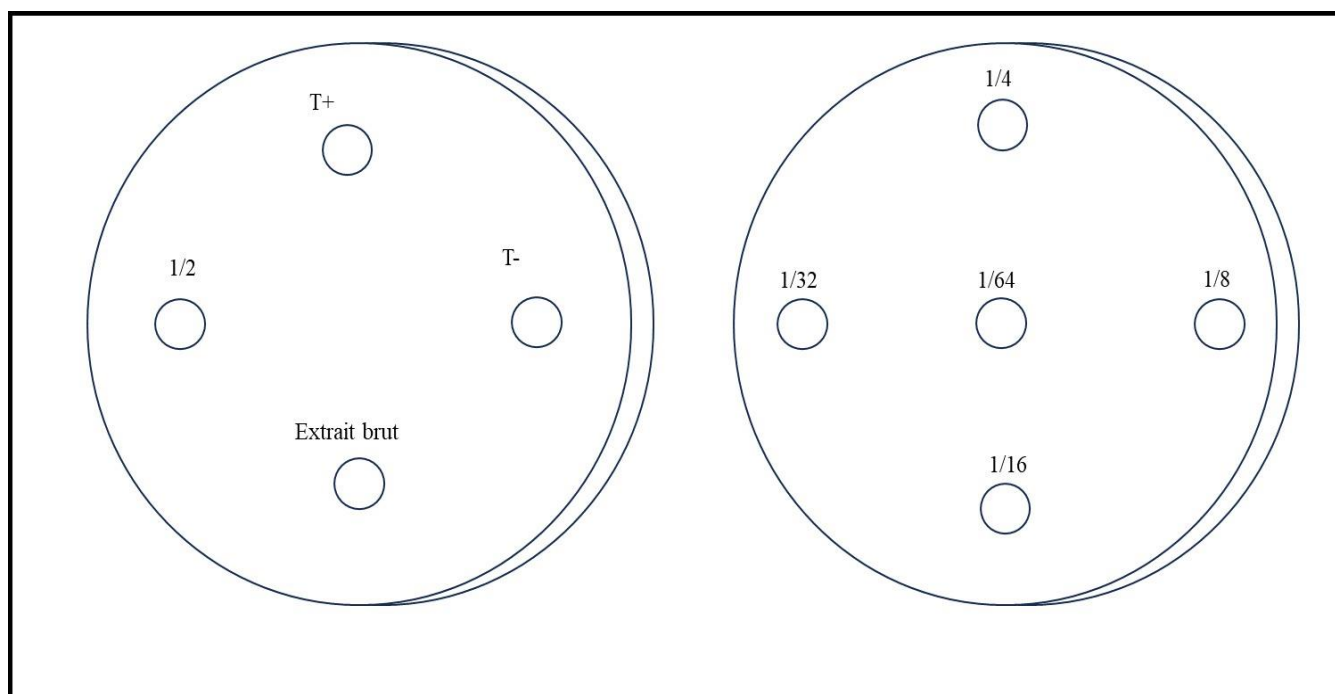


Figure 09 : Schéma récapitulatif de la méthode de l'aromatogramme. T+ : Disque d'antibiotique (Erythromycine) ; T- : BHIB à 02% de saccharose non ensemencé ; Extrait brut :Huile essentielle d'origan ;1/2:Dilution de l'huile essentielle au 1/2 ; 1/4 :Dilution de l'huile essentielle au 1/4 ;1/8 : Dilution de l'huile essentielle au1/8 ; 1/16 : Dilution de l'huile essentielle au 1/16 ; 1/32 : Dilution de l'huile essentielle au 1/32 ; 1/64 : Dilution de l'huile essentielle au 1/64.

2.1.7 Etude de l'activité antibiofilm

2.1.7.1 Méthode de la microplaque de 96 puits

Cette méthode permet d'évaluer l'activité antibiofilm de l'huile essentielle d'origan et de ses différentes dilutions sur les biofilms formés par les souches de *S. aureus* (Christensen *et al.*, 1982) (Figure 10). Deux cents microlitres de BHIB à 2% de Saccharose ont été déposés dans tous les puits (T+, T- et les isolats), tout en effectuant des répétitions. Le T+ correspond au BHIB à 2% de saccharose ensemencé additionné de l'huile essentielles et le T- au BHIB à 2% de saccharose non ensemencé. Une fois les suspensions bactériennes standardisées, 50 µL de chaque suspension ont été déversés dans les puits et 10µLde chaque dilution ont été ajoutés dans les puits, excepté pour le T-. La microplaque a été ensuite incubée à 37°C pendant 24h.

A partir de là, les mêmes étapes que pour l'évaluation de l'activité biofilm ont été réalisées, sauf pour l'incubation de la microplaque qui a duré 24H au lieu de 48h. La lecture de la microplaque a été réalisée dans le lecteur de microplaques ELISA à une longueur d'onde de 620nm. Le résultat est exprimé selon cette formule : (DO control positif – DO échantillon)/ DO control positif x 100. (Merghni *et al.*, 2015)

- DO control positif : Témoin positif sans huile essentielle.
- DO échantillon : DO de l'extrait brut.

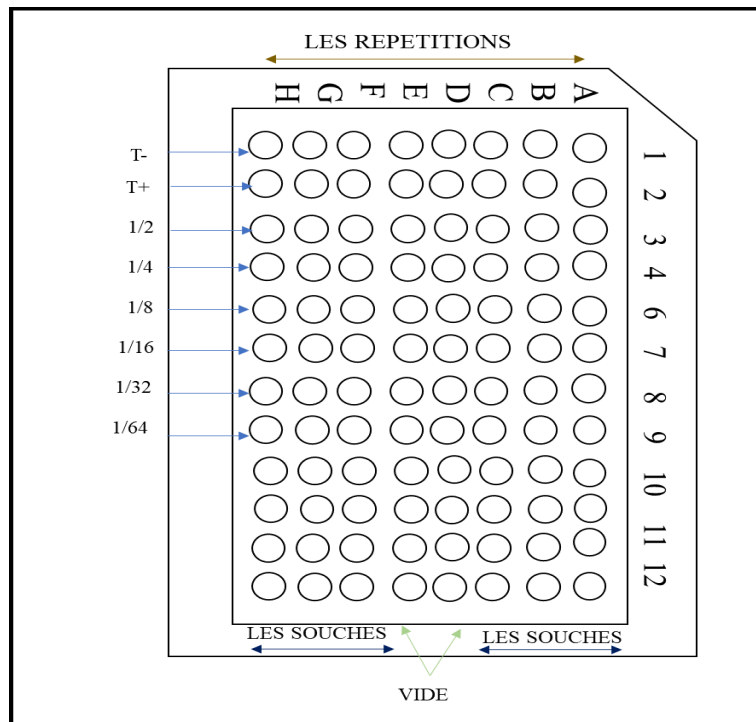


Figure 10 : Schéma représentant le plan suivi pour l'organisation de la microplaque pour l'évaluation de l'activité antibiofilm avec la technique de la microplaque. T- :BHIB à 2% de saccharose non ensemencé ; EB : Extrait brut ; T+:BHIB à 2% de saccharose ensemencé additionné de l'huile essentielle ; 1/2: Dilution de l'huile essentielle au 1/2 ; 1/4 : Dilution de l'huile essentielle au 1/4 ; 1/8 : Dilution de l'huile essentielle au 1/8 ; 1/16 : Dilution de l'huile essentielle au 1/16 ; 1/32 : Dilution de l'huile essentielle au 1/32 ; 1/64 : Dilution de l'huile essentielle au 1/64.

1 Résultats

1.1 Isolements

A partir des milieux Baird Parker ensemencés avec les différents inoculums, 10 souches ayant des colonies noires ont été isolées (Figure 11). Ces souches ont été ensuite purifiées en réalisant des repiquages successifs jusqu'à l'obtention de cultures pures. Suite à cela, seules 5 souches présentant un halo d'éclaircissement caractéristiques de *S. aureus* ont été sélectionnées pour effectuer une identification biochimique. Par ailleurs, il est important de préciser qu'aucune souche caractéristique n'a été isolée à partir des laits crus de chèvres récoltés chez l'éleveur 3.



Figure 11 : Photo originale prise au laboratoire montrant des colonies caractéristiques de *S. aureus* sur gélose Baird-Parker.

1.2 Identification biochimique

Les résultats des tests biochimiques réalisés sur les souches isolées sont présentés dans le tableau VI.

Tableau VI : Résultats des tests biochimiques des souches isolées.

Souche	Catalase	Coagulase	ADNase	Provenance
S3	+	+	+	F1 chèvre 2
S4	+	+	+	F2 chèvre 1
S6	+	+	+	F2 chèvre 2
S8	+	-	-	F2 chèvre 3
S9	+	+	+	F2 chèvre 4

Légende : F1 chèvre 2 : Ferme 1 chèvre 2 ; F2 chèvre 1 : Ferme 2 chèvre 1 ; F2 chèvre 2 : Ferme 2 chèvre 2 ; F2 chèvre 3 : Ferme 2 chèvre 3 ; F2 chèvre 4 : Ferme 2 chèvre 4.

D'après le tableau VI, seules les souches S3, S4, S6, et S9 ont présenté des résultats positifs pour les tests de la catalase, coagulase et ADNase, et sont donc considérées comme des souches de *S. aureus*. Par conséquent, seules ces quatre souches ont été sélectionnées pour la suite de cette étude, à savoir l'évaluation de l'activité antibactérienne et antibiofilm.

1.3 Evaluation de la formation des biofilms *in vitro*

1.3.1 Méthode de culture sur milieu rouge Congo Agar

La technique de détection de la formation de slime sur milieu rouge Congo agar a démontré que les quatre souches isolées sont toutes productrices de slime, mais à des degrés différents. En effet, les colonies S3, S4 et S9 ont donné des colonies noires à surface rugueuse, tandis que S6 a donné des colonies noires à rouge foncé. Cependant, la souche de référence *S. aureus* MU50 a produit des colonies avec un noir plus intense que les autres souches (Figure 12).

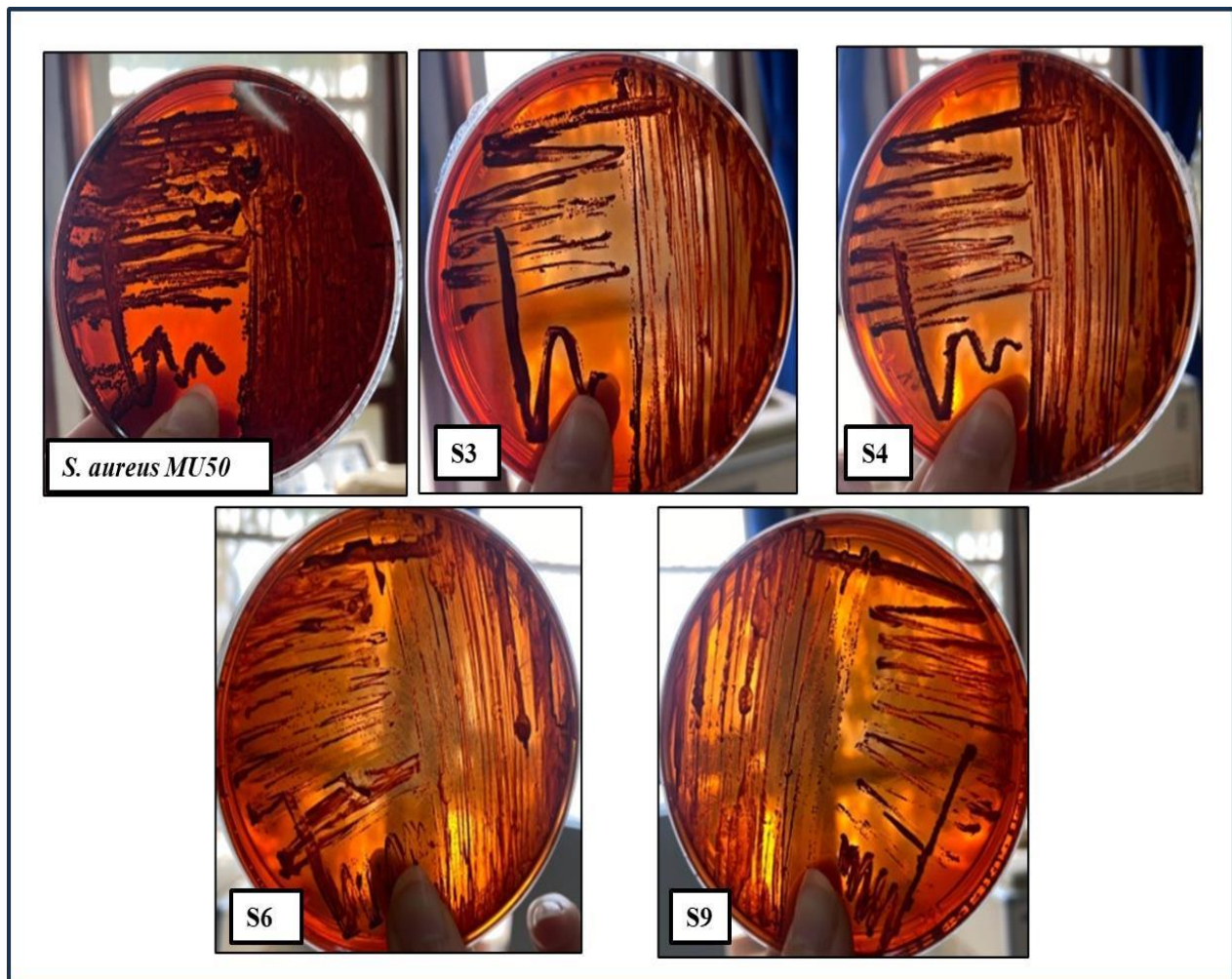


Figure 12: Résultats du test de Rouge de Congo pour les cinq souches de *S. aureus* testés.

1.3.2 Méthode de la microplaque de 96 puits

Le lecteur de plaque ELISA a permis de quantifier la formation du biofilm en mesurant la densité optique à une longueur d'onde de 625 nm. Les valeurs de densité optique (DO) et leurs moyennes obtenues pour chaque souche, ainsi que les répétitions, sont présentées dans le tableau de l'annexe 3.

L'observation à l'œil nu de la microplaque a permis d'évaluer, dans un premier temps, le degré de formation du biofilm pour chaque souche (Figure 13). Il est possible de constater que les souches S3, S6 et S9 sont faiblement formatrices de biofilm par rapport à la souche S4. En revanche, la souche de référence est fortement formatrice.

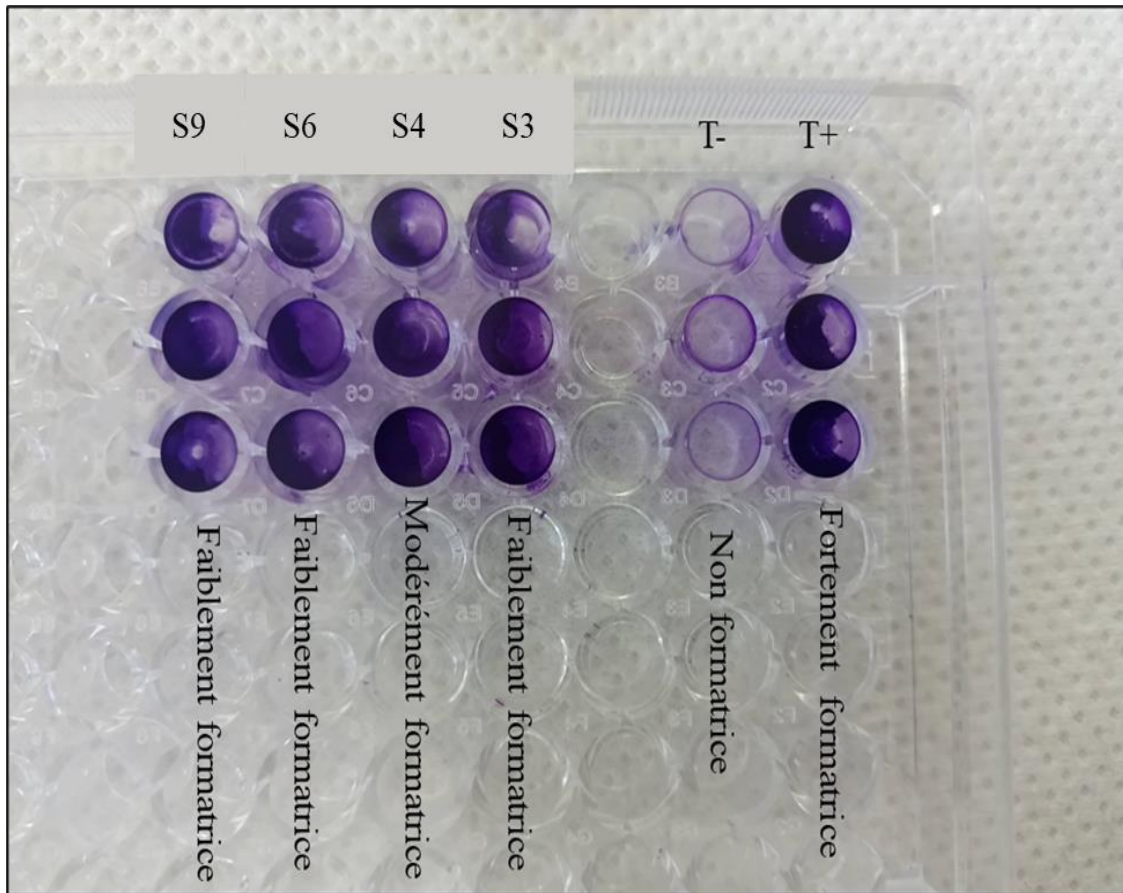


Figure 13 : Photo originale du résultat de l'activité biofilm avec la méthode de la microplaque de 96 puits.

Les résultats illustrés dans la figure 14 montrent que toutes les souches de *S. aureus* isolés sont productrices de biofilm, mais avec des capacités variables.

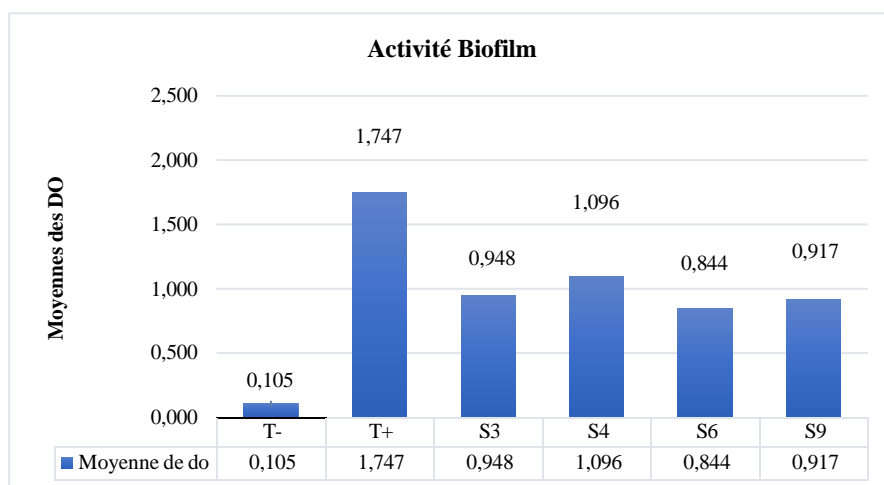


Figure 14 : Histogramme représentatif de l’activité biofilm des 5 souches de *S. aureus*.

T+ : souche de référence *S. aureus* MU 50), témoin négatif (T- : BHIB à 2% de saccharose non ensemencé).

En effet, il est possible de constater que la souche de référence présente la moyenne de DO la plus élevée, indiquant une forte capacité de formation de biofilm, comparée à la souche S4 qui a montré une moyenne de DO inférieure (1,096), synonyme d’une formation de biofilm modérée. Quant aux souches S3, S6 et S9, avec des moyennes de DO de 0,948, 0,844 et 0,917 respectivement, ont donné des valeurs de DO plus faibles, témoignant d’une faible capacité de formation de biofilm.

Selon les critères de classification de l’adhésion des *Staphylococcus* spp. (ACHEK et al., 2020), les souches ont pu être classées en souches faiblement formatrices, modérément formatrices et fortement formatrices de biofilm (Tableau VII).

Tableau VII : Interprétation des résultats obtenus pour l’activité biofilm des 5 souches de *S. aureus*.

Souche	Production de biofilm
<i>S. aureus</i> MU 50	Fortement formatrice
S3	Faiblement formatrice
S4	Modérément formatrice
S6	Faiblement formatrice
S9	Faiblement formatrice

1.4 Evaluation de l'activité antibactérienne et antibiofilm *in vitro*

1.4.1 Activité antibactérienne

L'analyse de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et de ses dilutions, a révélé la présence de zones d'inhibition autour des disques imprégnés pour les 4 souches étudiées, ainsi que pour la souche de référence, comme illustré dans la figure 15. Les diamètres de ces zones variaient selon les souches, indiquant des niveaux d'inhibition différents. Les diamètres de zones d'inhibition sont répertoriés dans l'annexe 4.

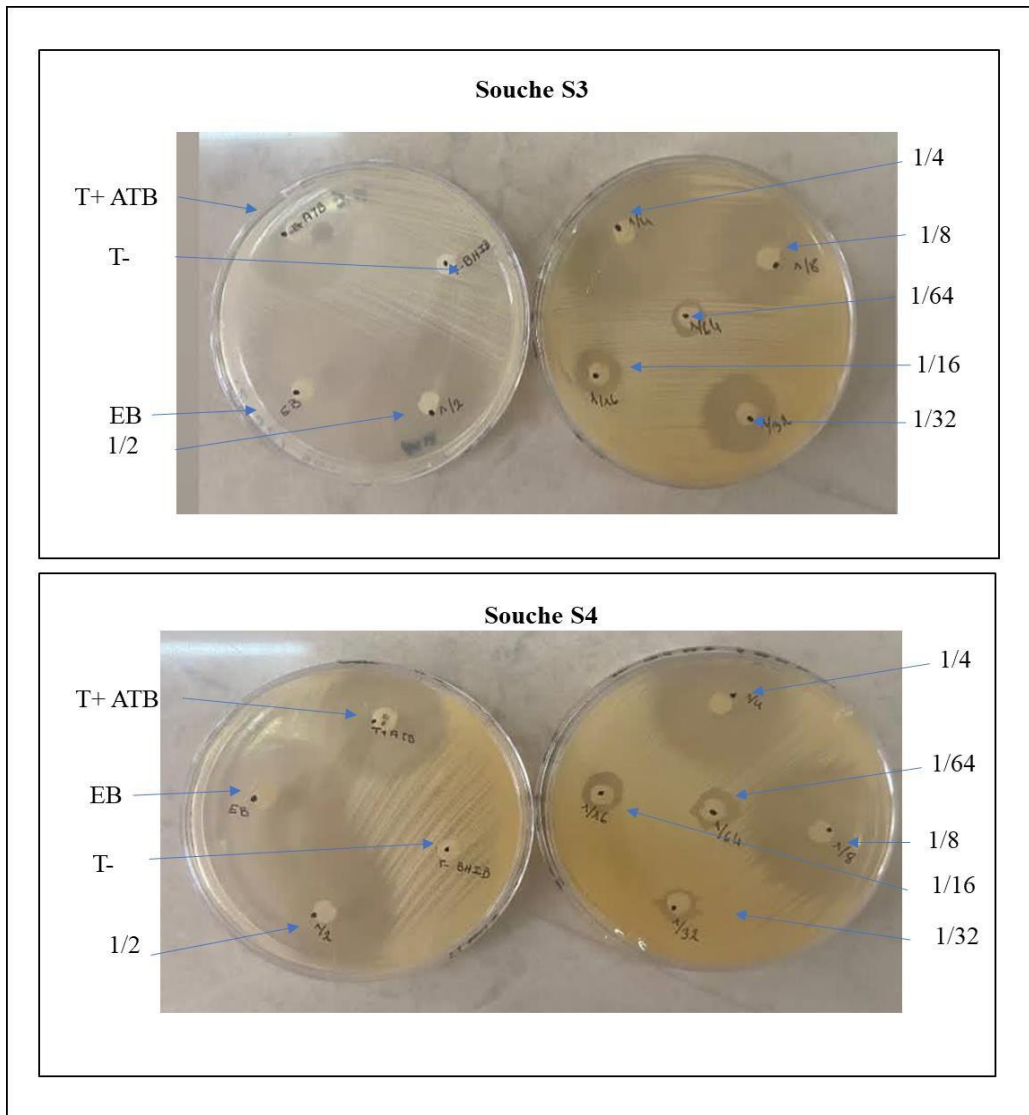


Figure 15 : Photo originale des zones d'inhibition obtenues pour les souches S3 et S4. T+ : Disque d'antibiotique (Erythromycine) ; T- : BHIB à 2% de saccharose non ensemencé ; Extrait brut : Huile essentielle d'origan ; 1/2 : Dilution de l'huile essentielle 1/2 ; 1/4 : Dilution de l'huile essentielle 1/4 ; 1/8 : Dilution de l'huile essentielle 1/8 ; 1/16 : Dilution de l'huile essentielle 1/16 ; 1/32 : Dilution de l'huile essentielle 1/32 ; 1/64 : Dilution de l'huile essentielle 1/64.

À partir des résultats obtenus dans le tableau VIII ci-dessous, les 4 souches se révèlent sensibles vis-à-vis l'extrait brut de l'HE avec des moyennes de zones d'inhibition de 30 mm, 38 mm, 38,4 mm et 37,3 mm respectivement pour les souches S3, S4, S6 et S9.

Tableau VIII : Moyennes des diamètres des trois répétitions de l'huile d'origan.

Souche	Moyennes \pm écarts types
S3	30 \pm 3.4
S4	38 \pm 9.1
S6	38.4 \pm 9.2
S9	37.3 \pm 3

A partir des résultats illustrés dans le tableau IX, toutes les souches se sont avérées extrêmement sensibles à l'extrait brut. En revanche, les souches ont montré des résultats variables de sensibilité et de résistance aux différentes dilutions. En effet, seule la souche S4 est extrêmement sensible jusqu'à la dilution 1/16, tandis que les souches S3 et S6 sont extrêmement sensibles jusqu'à la dilution 1/8. Les souches S3 et S9 montrent une résistance à partir de la dilution 1/32. En revanche, la souche S6 devient résistante à partir de la dilution 1/16. Quant à la souche S4, elle montre une résistance à des dilutions plus élevées.

Les résultats des valeurs de CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) indiquent une bonne efficacité de l'HE contre les souches S3 (dilution 1/16 soit 6.25%) ; S4 (solution 1/32 soit 3.125%) ; S6 (solution 1/8 soit 12.5%), S9 (solution 1/16 soit 6.25%).

Tableau IX: Transcription des diamètres d'inhibition des dilutions de l'huile essentielle d'origan.

Dilution Souche	Témoin+ ATB (Erythromycine)	Témoin- BHIB	EB	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	CMI
<i>S. aureus</i> MU 50	(+++)	(-)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+)	(+)	(-)	1/32
S3	(+++)	(-)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+)	(-)	(-)	1/16
S4	(+++)	(-)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(++)	(-)	1/32
S6	(+++)	(-)	(+++)	(+++)	(+++)	(+++)	(-)	(-)	(-)	1/8
S9	(+++)	(-)	(+++)	(+++)	(+++)	(++)	(++)	(-)	(-)	1/16

1.4.2 Activité antibiofilm

Les valeurs de DO obtenues pour chaque souche, ainsi que leurs répétitions, sont répertoriées dans le tableau de l'annexe 5.

Les moyennes de DO obtenues pour l'activité antibiofilm des différentes dilutions de l'HE montrent une inhibition du développement du biofilm par les souches dans la microplaque. Les moyennes des densités optiques (DO) sont représentées dans la figure 16.

L'extrait brut de l'huile essentielle d'*Origanum compactum* s'est révélée très efficace pour inhiber la formation du biofilm, en comparaison avec le témoin positif sans huile essentielle, et ce pour les quatre souches testées. En effet, cet extrait brut a montré la plus faible moyenne de DO pour les souches S3, S4, S6 et S9, avec des valeurs respectives de 0,109, 0,127, 0,128 et 0,070 soit 85.41%, 94.16%, 91.96% et 94.50% d'inhibition. Les différentes dilutions de l'huile essentielle ont également montré un effet inhibiteur sur la formation du biofilm. Cependant, leur efficacité diminue au fur et à mesure de l'augmentation de ces dilutions.

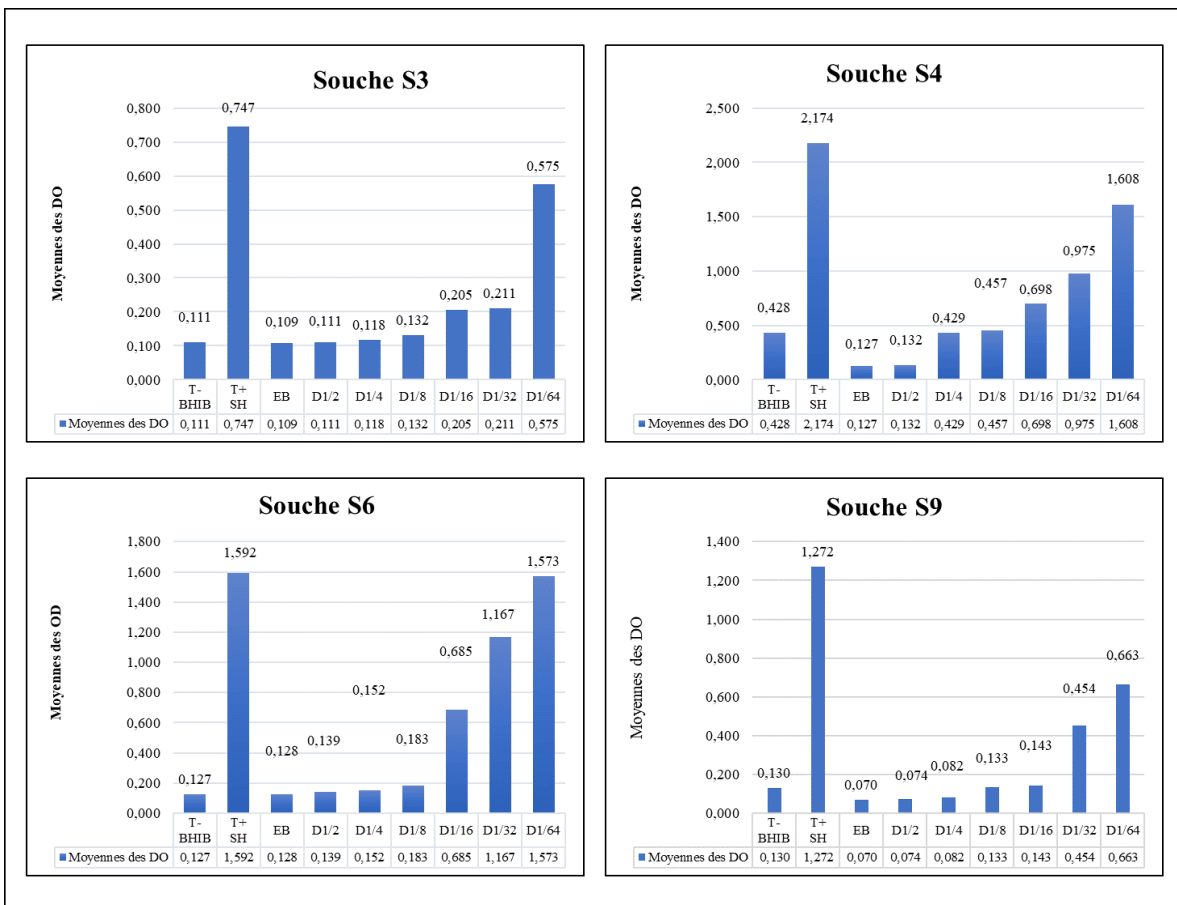


Figure 16 : Moyennes des DO obtenues pour les 5 souches de *S. aureus* testés avec les différentes dilutions d'HE d'*Origanum Compactum*. T+ ATB :BHIB , T- : BHIB à 02% de saccharose nonensemencé, Extrait brut : HE d'origan.

2 Discussion

Dans cette étude, 4 souches de *S. aureus* ont été isolées dans des échantillons de lait cru de chèvre provenant de fermes situées dans la région de Freha. Dans une étude similaire de Bouchentouf et Boumaza, réalisée en 2023, 5 souches de *S. aureus* ont également été isolées à partir de 9 échantillons de lait cru de chèvre. Dans une autre étude, une seule souche seulement a été isolée à partir d'un mélange de lait cru de chèvre (Djaoui et Zmihi, 2020). Les résultats obtenus par Tamendjari *et al.* (2021) n'ont montré la présence que de deux souches de *S. aureus* sur les 29 échantillons de lait cru de chèvre analysés, alors que 29 isolats ont été obtenus à partir de 87 échantillons de lait de vache. Les travaux de Maatallah et Remdani, (2022) ont montré que dans 377 échantillons de lait de vache, près de la moitié (44,82%) étaient contaminés par *S. aureus*.

Il est important de noter que tous les échantillons prélevés à partir des chèvres de la ferme 3 étaient indemnes de *S. aureus*. Ces résultats indiqueraient que les mamelles des chèvres de cette ferme, sont en bonne santé et que les règles d'hygiène de cet élevage sont à priori respectées. De plus, la majorité des souches isolées proviennent des chèvres de la ferme 2 ; seule une souche provient de la chèvre de la ferme 1. De façon générale, la présence de *S. aureus* peut être attribuée à un manque d'hygiène lors de la traite ou à la prévalence élevée de mammites staphylococciques dans les élevages laitiers (Tamendjari *et al.*, 2021). La mammite subclinique chez les chèvres est associée à la longueur et aux lésions au niveau des trayons, à l'utilisation de bains de trayon, ainsi qu'aux manipulations par les vétérinaires (Javed *et al.*, 2023). En ce qui concerne les souches isolées à partir de nos échantillons et qui ne correspondaient pas à *S. aureus* ; ces dernières pourraient être des bactéries appartenant au genre *Staphylococcus* comme *Staphylococcus epidermidis* qui est fréquemment isolé dans le lait cru (Benayache et Guenifi, 2021).

Par ailleurs, la plupart des études réalisées sur l'isolement des *S. aureus* dans le lait, ont montré qu'ils s'agissaient de souches SARM. En effet, dans 116 échantillons de lait de bovins et caprins récoltés dans les fermes de la région de Tiaret et Souk Ahras, 31 souches étaient des *S. aureus* dont 4 étaient des SARM (Tamendjari *et al.*, 2021). Cortimiglia *et al.* (2015), ont démontré que dans 197 échantillons de lait collectés auprès de fermes laitières caprines du Nord de l'Italie, 85 étaient positifs pour *S. aureus* dont 4 étaient des SARM. De plus, des souches de *S. aureus* multirésistantes ont été également retrouvées dans le lait cru de chèvre. En effet, Praja *et al.* (2023) ont montré que parmi les 258 échantillons de lait cru de chèvre récoltés, 66 d'entre eux étaient positifs à *S. aureus* dont 36 étaient des souches multirésistantes. Ces souches étaient résistantes à la pénicilline, l'ampicilline, l'érythromycine et la gentamicine. Javed *et al.* (2023) ont démontré que 43,24% des isolats *S. aureus* obtenus, présentaient une résistance élevée à l'oxytétracycline, la gentamicine et la vancomycine. En outre, la présence des SARM ne se limite pas au lait ; un portage nasal des SARM a été également rapporté (Mallek *et al.*, 2022 ; Titouche *et al.*, 2022 ; Gaoui *et al.*, 2023). L'augmentation des niveaux de résistance est attribuée à une utilisation croissante des antibiotiques dans différents secteurs, notamment en communauté, dans l'élevage et chez les animaux de compagnie (Titouche *et al.*, 2022).

S. aureus peut s'attacher et se multiplier sous forme de biofilm à la surface de différents matériaux utilisés dans les salles de traite, tels que l'acier inoxydable ou le plastique. Une fois formés, ces biofilms protègent les bactéries contre les agents désinfectants, rendant leur élimination difficile. Par conséquent, ils peuvent servir de réservoir permanent pour la contamination du lait lors de la traite (Peretz et Dumoulin, 2020). De ce fait, la capacité de formation des biofilms par les 4 souches isolées, a été évaluée dans cette

étude. La détection de la production de slime sur le milieu Rouge de Congo a montré que 100% des isolats étaient productrices de slime. Cette méthode a déjà montré ses preuves dans d'autres études, comme celles de Chibi en 2015 où la production de biofilm a été mise en évidence. Cependant, selon Mathur *et al.*, (2006), cette méthode n'est pas totalement fiable pour l'évaluation de la formation de biofilm. Cependant, elle reste tout de même une méthode convenable pour une évaluation qualitative de la formation de biofilm. D'autres méthodes telles que la technique de la microplaque de 96 puits permettent une évaluation quantitative de la formation du biofilm. Cette méthode a montré que la souche de référence *S. aureus* MU50 était fortement formatrice de biofilm, alors qu'une seule souche de *S. aureus* (S4) était modérément formatrice et les 3 restantes (S3, S6, S9) étaient faiblement formatrices. Muzammil *et al.* (2021), ont montré que 34.4% des souches *S. aureus* isolées du lait de chèvre, pouvaient produire un biofilm. De plus, dans une autre étude, des *S. aureus* isolés à partir des 70 échantillons de lait de chèvre ont montré une aptitude à former un biofilm (Shekhawat *et al.*, 2023). Le point commun entre ces deux études était que les chèvres de ces élevages étaient atteintes de mammites. Dans notre cas, aucun test n'a été réalisé pour vérifier si les chèvres à partir desquelles les prélèvements de lait ont été effectués étaient atteintes ou pas de mammite. Il serait donc judicieux de le faire avant chaque prélèvement lors de la prochaine étude.

Durant notre étude, une évaluation de l'activité antibactérienne et antibiofilm de l'HE d'*O. compactum* a été également réalisée. Cette dernière a montré une activité inhibitrice vis-à-vis des souches testées même lorsqu'elles forment un biofilm. En effet, les zones d'inhibition pour l'extrait brut variaient entre 30 et 38.4 mm. Ces résultats sont proches de ceux obtenus dans l'étude de Laghmouchi *et al.* (2018). De plus, l'extrait brut s'est avéré plus efficace que les dilutions au 1/2, 1/4, 1/8 et 1/16. En effet, Al-Mijalli *et al.* (2022) ont testé l'activité antimicrobienne de cette HE sur quatre souches bactériennes: *Listeria innocua*, *B. subtilis*, *E. coli*, ainsi que sur *Staphylococcus* spp. Les résultats ont révélé une sensibilité significative de ces bactéries face aux différentes dilutions de l'HE, avec des diamètres de zone d'inhibition variant de 10,33 à 49,00 mm. Une autre étude menée par El Abdali *et al.* (2023), a montré que l'HE d'*O. compactum* a inhibé la croissance de *S. aureus* à de faibles CMI, même celles de souches SARM. Mouas *et al.* (2017) ont étudié l'activité de l'HE de *Rosmarinus officinalis* (écotype Blida et Djelfa) sur *S. aureus*. Les résultats de l'HE écotype Blida ont montré que les diamètres de zone d'inhibition étaient de 23,75 mm, contrairement à *R. officinalis* L. de la région de Djelfa qui arbore une zone d'inhibition de 16.75 mm. Ces résultats sont inférieurs à ceux de la région de Blida et aux nôtres. Par conséquent, malgré le fait que les deux extraits proviennent de la famille des lamiacées, ils ne présentent pas la même efficacité et ceci revient à l'influence de l'écotype.

Quant aux résultats de l'activité antibiofilm de notre HE sur les 4 isolats, des DO de 0.109, 0.127, 0.128, 0.070 pour les souches S3, S4, S6 et S9 respectivement, ont été enregistrées témoignant d'une inhibition de la formation du biofilm. Bouyahya *et al.* (2019), ont évalué les effets anti-QS de l'HE d'*O. compactum* sur *E. coli* et *B. subtilis*. D'après les résultats obtenus, L'HE d'*O. compactum* avait une activité inhibitrice très importante de la formation du biofilm pour les bactéries testées et ceci aux stades végétatifs et post-floraison. Cependant au stade de floraison, le pourcentage d'inhibition de la formation du biofilm était modéré.

L'étude effectuée par Walczak *et al.* (2021) sur l'effet du thymol, l'un des composants principaux de l'HE étudiée, a démontré un puissant effet antibiofilm contre *S. aureus*. Dans un court laps de temps,

ce composant a inhibé 52 à 75% la formation du biofilm. Selon l'étude d'Ersenli *et al.* (2023), l'HE d'*Origanum vulgare* présente une activité inhibitrice du biofilm de *S. aureus*.

Azizkhani *et al.* (2017) ont émis l'hypothèse que les principaux composants de l'HE sont impliqués dans l'inhibition de la croissance bactérienne. Effectivement, ils perturbent le transport d'ions de potassium entraînant la perturbation de l'intégrité membranaire. Les travaux de Bouyahya *et al.* (2019), ont montré que les principales cibles des HEs contre les bactéries sont la dérégulation de la synthèse des protéines, l'augmentation de la perméabilité membranaire, entraînant une fuite du matériel génétique (ADN et ARN), ainsi que des changements morphologiques. Abdallah *et al.* (2020), soutiennent également que l'HE d'origan est un puissant agent antibactérien.

L'activité anti-QS des HEs végétales repose sur plusieurs mécanismes, notamment l'inhibition de la biosynthèse des molécules de signalisation bactérienne. En effet, ces microorganismes coordonnent leur pathogénicité en communiquant entre eux *via* le QS. Ce système active l'expression de phénotypes spécifiques, tels que la formation des biofilms (Bouyahya *et al.*, 2017). D'ailleurs, Caceres *et al.* (2020) ont suggéré que la forte teneur de l'HE étudiée en thymol et carvacrol lui permettrait d'inhiber la production des auto-inducteurs entraînant une inhibition de la formation du biofilm.

La présence de *S. aureus* dans le lait de chèvre représente un risque majeur pour la santé humaine et entraîne des pertes économiques considérables. Il est alors essentiel d'adopter des approches naturelles afin de contrer son activité (Tamendjari *et al.* 2021).

L'objectif principal de cette étude était d'isoler des souches de *S. aureus* à partir d'échantillons de lait cru de chèvre provenant de 3 fermes différentes de la région de Freha. La capacité de ces isolats à former un biofilm, ainsi que l'activité antibactérienne et antibiofilm de l'HE d'*Origanum compactum* ont été étudiées.

Au cours de cette étude, 4 souches caractéristiques de *S. aureus* ont été isolées dans le lait cru de chèvre, en s'appuyant sur une approche bactériologique classique basée sur l'isolement et la purification des souches bactériennes sur un milieu sélectif. En outre, les 4 isolats étaient tous producteurs de biofilm avec un pouvoir de formation variable. Il semblerait que la souche S4 soit la plus formatrice. La méthode de la culture sur milieu Rouge Congo et la méthode de la microplaque de 96 puits sont deux méthodes complémentaires qui permettent de mettre en évidence la formation du biofilm.

Par ailleurs, l'aromatogramme a montré que l'extrait brut de l'HE d'*O. compactum* possède une activité antibactérienne importante contre les souches de *S. aureus* testées avec des zones d'inhibition de 30, 38, 38,4 et 37,3mm correspondants aux souches S3, S4, S6 et S9, respectivement. De plus, cette HE a permis une inhibition des biofilms formés par les souches isolées. En effet, l'extrait brut de l'HE s'est avéré être le plus efficace avec une moyenne de DO de 0,109, 0,127, 0,128 et 0,070 pour les souches, S3, S4, S6 et S9, respectivement. A la lumière de ces résultats, il semblerait que l'huile essentielle d'*O. compactum* pourrait être une alternative prometteuse aux antibiotiques traditionnels pour la prévention et le traitement des infections liées à *S. aureus*, en particulier celles impliquant des biofilms.

Cette étude préliminaire, permet d'avoir une vision globale de la prévalence de *S. aureus* dans le lait cru de chèvre dans la région de Freha. Ces travaux permettront également une meilleure compréhension des risques associés aux infections à *S. aureus*. Ces avancées sont cruciales non seulement pour la protection de la santé des consommateurs mais aussi pour la réduction des pertes économiques liées aux contaminations microbiennes.

Le développement de la prochaine génération d'agents antimicrobiens devra tenir compte de la synergie possible entre un antibiotique et une HE, afin d'accroître leur efficacité envers les biofilms. Considérant son impact sur la santé animale et la santé publique, la persistance de gènes de résistance aux antibiotiques au sein des biofilms est un autre aspect important qu'il ne faut pas négliger.

Il serait intéressant de compléter ce travail en :

- Isolant de nouvelles souches de *S. aureus* dans d'autres échantillons de lait cru de chèvre dans la région de Freha et dans d'autres régions en Kabylie ;
- Réalisant une identification moléculaire des souches isolées ;
- Evaluant l'antibiorésistance des souches isolées ;
- Combinant des huiles essentielles à une antibiothérapie ;
- Effectuant une étude poussée des mécanismes de fonctionnement des biofilms pour une meilleure compréhension du QS et de son cheminement moléculaire.

A

- **Ahmad-Mansour, N., Loubet, P., Pouget, C., Dunyach-Rem, C., Sotto, A., Lavigne, J. P., Molle, V., (2021).** *Staphylococcus aureus* Toxins: An Update on Their Pathogenic Properties and Potential Treatments. *Toxins (Basel)*, 13(10), 677.
- **Al-Asmari, F., Koirala, P., Rathod, N. B., Alnemr, T. M., Asiri, S. A., Babeker, M. Y., Li, L., Nirmal, N. P. (2024).** Antimicrobial Activity of Formulated *Origanum* and *Thyme* Essential Oil Nanoemulsions-A Comparative Study. *Current Nutrition & Food Science*, 20(6), 757-766.
- **Alghamdi, B. A., Al-Johani, I., Al-Shamrani, J. M., Alshamrani, H. M., Al-Otaibi, B. G., Almazmomi, K., & Yusof, N. Y. (2023).** Antimicrobial resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 30(4), 103604.
- **Antoniani, D., Bocci, P., Maciąg, A., Raffaelli, N., & Landini, P. (2010).** Monitoring of diguanylate cyclase activity and of cyclic-di-GMP biosynthesis by whole-cell assays suitable for high-throughput screening of biofilm inhibitors. *Applied microbiology and biotechnology*, 85, 1095-1104.
- **Asma, S. T., Imre, K., Morar, A., Herman, V., Acaroz, U., Mukhtar, H., Arslan-Acaroz, D., Shah, S. R. A., Gerlach, R. (2022).** An overview of biofilm formation–combating strategies and mechanisms of action of antibiofilm agents. *Life*, 12(8), 1110.
- **Azizkhani, M., Basti, A. A., & Tooryan, F. (2017).** Comparing inhibitory potential of *Eugenia caryophyllus* and *Origanum compactum* against the growth and gene expression of enterotoxins in *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 11 (4):299-310.

B

- **Benayeche Marwa, G. C. (2021).** Etude comparative des caractéristiques physico-chimiques et microbiologiques du lait de vache et de lait de chèvre. Mémoire de fin d'étude, Université de Guelma, Algérie.
- **Bouchentouf, S., & Boumaza, K. (2023).** Evaluation de la contamination du lait de chèvre. Mémoire de fin d'étude, Université Ibn Khaldoun, Tiaret, Algérie.
- **Bouhdid, S., Abrini, J., Baudoux, D., Manresa, A., & Zhiri, A. (2012).** Les huiles essentielles de l'origan compact et de la cannelle de Ceylan: pouvoir antibactérien et mécanisme d'action. *Journal de pharmacie clinique*, 31(3), 141-148.
- **Bouyahya, A., Abrini, J., Bakri, Y., & Dakka, N. (2018).** Les huiles essentielles comme agents anticancéreux: actualité sur le mode d'action. *Phytothérapie*, 16(5), 254.
- **Bouyahya, A., Abrini, J., Dakka, N., & Bakri, Y. (2019).** Essential oils of *Origanum compactum* increase membrane permeability, disturb cell membrane integrity, and suppress quorum-sensing phenotype in bacteria. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 9(5), 301-311.
- **Bouyahya, A., Dakka, N., Talbaoui, A., Et-Touys, A., El-Boury, H., Abrini, J., Bakri, Y. (2017).** Correlation between phenological changes, chemical composition and biological activities of the essential oil from Moroccan endemic Oregano (*Origanum compactum* Benth). *Industrial crops and products*, 108, 729-737.

- **Bouyahya, A., Zengin, G., Belmehdi, O., Bourais, I., Chamkhi, I., Taha, D., Benali, T., Dakka, N., Bakri, Y. (2020).** *Origanum compactum* Benth., from traditional use to biotechnological applications. *Journal of food biochemistry*, 44(8), e13251.
- **Burt, S. (2004).** Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods— A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94, 223–253.

C

- **Cáceres, M., Hidalgo, W., Stashenko, E., Torres, R., & Ortiz, C. (2020).** Essential oils of aromatic plants with antibacterial, anti-biofilm and anti-quorum sensing activities against pathogenic bacteria. *Antibiotics*, 9(4), 147.
- **CLSI. 2020.** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020,332p.
- **Cheng, C. S., Jiang, T., Zhang, D. W., Wang, H. Y., Fang, T., & Li, C. C. (2023).** Attachment characteristics and kinetics of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* on ready-to-eat cooked beef contact surfaces. *Journal of Food Science*, 88(6), 2595–2610.
- **Cheung, G. Y. C., Bae, J. S., & Otto, M. (2021).** Pathogenicity and virulence of *Staphylococcus aureus*. *Virulence*, 12(1), 547-569.
- **Chibi, A. (2015).** Évaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *S. aureus* isolées de CHU Tlemcen. Mémoire de fin d'étude, Université de Tlemcen, Algérie.
- **Christensen, G. D., Bisno, A. L., Simpson, W. A., Beachey, E. H. (1982).** Adherence of slime producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infection and Immunity*, 37(1), 318-326.
- **Cortimiglia, C. E. A., Bianchini, V., Franco, A., Caprioli, A., Battisti, A., Colombo, L., Stradioto, K., Vezzoli, F., Luini, M. (2015).** Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in bulk tank milk from dairy goat farms in Northern Italy. *Journal of Dairy Science*, 98(4), 2307-2311.
- **Costerton, J. W., & Lewandowski, Z. (1997).** The biofilm lifestyle. *Journal of Dental Research*, 11(1).

D

- **Deepika, G., Subbarayadu, S., Chaudhary, A., Sarma, P. V. G. K. (2022).** Dibenzyl (benzo [d] thiazol-2-yl (hydroxy) methyl) phosphonate (DBTMP) showing anti-*S. aureus* and anti-biofilm properties by elevating activities of serine protease (SspA) and cysteine protease staphopain B (SspB). *Archives of Microbiology*, 204, 397.
- **Djaoui, Y., Zmihi, S. (2020).** Isolement de *Staphylococcus aureus* chez les caprins et résistance des isolats aux antibiotiques. Mémoire de fin d'étude, Université de Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. Algérie
- **Dumoulin, E., Peretz, G. (2020).** Qualité bactériologique du lait cru de chèvre en France. *Le Lait*, 73(5-6), 475-483.

E

- **El Abdali, Y., Mahraz, A. M., Beniaich, G., Mssillou, I., Chebaibi, M., Bin Jordan, Y. A., Lahkimi, A., Nafidi, H. A., Aboul-Soud, M. A. M., Bourhiya, M., Bouia, A. (2023).** Essential oils of *Origanum compactum* Benth: Chemical characterization, in vitro, in silico, antioxidant, and antibacterial activities. *Open Chemistry*, 21(1), 20220282.
- **Elango, D., Rajendran, K., Van der Laan, L., Sebastiar, S., Raigne, J., Thaiparambil, N. A., El Haddad, N., Raja, B., Wang, W., Ferela, A., Chiteri, K., Thudi, M., Varshney, R. K., Chopra, S., Singh, A., Singh, A. K. (2022).** Raffinose family oligosaccharides: friend or foe for human and plant health, *Frontiers in Plant Science*, 13, 829118
- **Elshafie, H. S., Mang, S. M., & Camele, I. (2024).** Blended formulations of oregano-sage essential oils: antimicrobial, phytotoxic, and anti-quorum sensing investigations. *Journal of Biological Research-Bollettino della Società Italiana di Biologia Sperimentale*, 97: 11999.
- **Engler, (1924) cité dans Zenasni, L. (2014).** Étude de polymorphisme chimique des huiles essentielles de *Thymus satureioides* Coss et d'*Origanum compactum* Benth et du genre *Nepeta* et évaluation de leur propriété antibactérienne. Thèse de Doctorat, Université Mohammed V – Agdal, Rabat.
- **Ersanli, C., Tzora, A., Skoufos, I., Fotou, K., Maloupa, E., Grigoriadou, K., Voidarou, C Zeugolis, D. I. (2023).** The assessment of antimicrobial and anti-biofilm activity of essential oils against *Staphylococcus aureus* strains. *Antibiotics*, 12(2), 384.

F

- **Foster, T. J. (2005).** Immune evasion by staphylococci. *Nature Reviews Microbiology*, 3, 948–958.
- **Foster, T. J. (2019).** Surface Proteins of *Staphylococcus aureus*. *Microbiology Spectrum*, 7(4), 10-1128.
- **Freeman, D. J., Falkiner, F. R., Keane, C. T. (1989).** New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*, 42(8), 872-874.
- **Fu, B., Wu, Q., Dang, M., Bai, D., Guo, Q., Shen, L., Duan, K. (2017).** Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by traditional Chinese medicinal herb *Herba patriniae*. *BioMed Research International*, 2017, 9584703.

G

- **Gajewska, J., Zakrzewski, A., Chajęcka-Wierzchowska, W., & Zadernowska, A. (2023).** Meta-analysis of the global occurrence of *S. aureus* in raw cattle milk and artisanal cheeses. *Food Control*, 147, 109603.
- **Gaoui, K., Drahi, L., & Selmani, C. (2023).** Prévalence et antibiorésistance des souches de *staphylococcus aureus* isolées de la cavité nasale chez les veaux et les vaches laitiers, mémoire), Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, Algérie.
- **Grodon, L., Lastname, F., & Others, A. (2021).** Extracellular enzymes and polysaccharide capsule in *Staphylococcus aureus* pathogenesis. *Journal of Infectious Diseases*, 45(2), 123-135.
- **Gross, M., Cramton, S. E., Götz, F., Peschel, A. (2001).** Key role of teichoic acid net charge in *Staphylococcus aureus* colonization of artificial surfaces. *Infection and Immunity*, 69(5), 3423–

3426.

- **Guo, H. N., Tong, Y. C., Cheng, J. H., Abbas, Z., Li, Z. X., Wang, J. Y., Zhou, Y., Si, D., Zhang, R. (2022).** Biofilm and small colony variants-an update on *Staphylococcus aureus* strategies toward drug resistance. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1241.
- **Guo, N., Bai, X., Shen, Y., & Zhang, T. (2023).** Target-based screening for natural products against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 63(14), 2216-2230.
- **Gutiérrez, D., Vandenheuvel, D., Martínez, B., Rodríguez, A., Lavigne, R., & García, P. (2015).** Two phages, phiIPLA-RODI and phiIPLA-C1C, lyse mono-and dual-species staphylococcal biofilms. *Applied and environmental microbiology*, 81(10), 3336-3348.

H

- **Hair, P. S., Echague, C. G., Sholl, A. M., Watkins, J. A., Geoghegan, J. A., Foster, T. J., Cunnion, K. M. (2010).** Clumping Factor A Interaction with Complement Factor I Increases C3b Cleavage on the Bacterial Surface of *Staphylococcus aureus* and Decreases Complement-Mediated Phagocytosis. *Infection and Immunity*, 78, 1717–1727.
- **Han, J., & Poma, A. (2022).** Molecular targets for antibody-based anti-biofilm therapy in infective endocarditis. *Polymers*, 14(15), 3198.
- **Hespanhol, J. T., Sanchez-Limache, D. E., Nicastro, G. G., Mead, L., Llontop, E. E., Chagas-Santos, G., Farah, C. S., de Souza, R. F., Galhardo, R. S., Lovering, A. L., Bayer-Santos, E. (2022).** Antibacterial T6SS effectors with a VRR-Nuc domain are structure-specific nucleases. *eLife*, 11, e82437.
- **Hixon, K.R.; Lu, T.; Carletta, M.N.; McBride-Gagy, S.H.; Janowiak, B.E.; Sell, S.A. (2018).** A preliminary in vitro evaluation of the bioactive potential of cryogel scaffolds incorporated with Manuka honey for the treatment of chronic bone infections. *Journal of Biomedical Materials Research.*, 106, 1918–1933.

I

- **Idrees, M., Sawant, S., Karodia, N., & Rahman, A. (2021).** *Staphylococcus aureus* Biofilm: Morphology, Genetics, Pathogenesis and Treatment Strategies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(14), 7602.
- **Ikuma, K., Madden, A. S., Decho, A. W., & Lau, B. L. (2014).** Deposition of nanoparticles onto polysaccharide-coated surfaces: implications for nanoparticle–biofilm interactions. *Environmental Sciences: Nano*, 1(2), 117-122.

J

- **Javed, M. R., Shah, M. A., Ahmad, M., Rehman, M. U., Alarifi, S., & Alkahtani, S. (2023).** Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from raw milk in Pakistan: Molecular characterization and public health implications. *Journal of Dairy Science*, 106(1), 115-126
- **Javed, M. U., Ijaz, M., Durrani, A. Z., & Ali, M. M. (2023).** On-farm epidemiology, virulence profiling, and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at goat farms. *Microbial Pathogenesis*, 185, 106456.

- **Josse, J., Laurent, F., Diot, A. (2017).** Staphylococcal adhesion and host cell invasion: fibronectin-binding and other mechanisms. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2433.
- **Juszczuk-Kubiak, E. (2024).** Molecular aspects of the functioning of pathogenic bacteria biofilm based on Quorum Sensing (QS) signal-response system and innovative non-antibiotic strategies for their elimination. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(5), 2655.

K

- **Kachur, K., Suntres, Z. (2020).** The Antibacterial Properties of Phenolic Isomers, Carvacrol and Thymol. *Critical reviews in food sciences and nutrition*, 60, 3042–3053.
- **Kalia, M., Yadav, V.K., Singh, P.K., Sharma, D., Narvi, S.S., Agarwal, V. (2018).** Exploring the impact of parthenolide as anti-quorum sensing and anti-biofilm agent against *Pseudomonas aeruginosa*. *Life Sciences* 199, 96–103.
- **Kalia, V. C. (2013).** Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnology advances*, 31(2), 224-245.
- **Kalińska, A., Jaworski, S., Wierzbicki, M., & Gołębiewski, M. (2019).** Silver and copper nanoparticles—an alternative in future mastitis treatment and prevention. *International journal of molecular sciences*, 20 (7), 1672.
- **Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., & Vergnes, M. F. (2008).** Étude de six huiles essentielles: composition chimique et activité antibactérienne. *Phytothérapie*, 6(3), 160-164.
- **Kirchdoerfer, R. N., Garner, A. L., Flack, C. E., Mee, J. M., Horswill, A. R., Janda, K. D., Kaufmann, G, F., Wilson, I. A. (2011).** Structural basis for ligand recognition and discrimination of a quorum-quenching antibody. *Journal of biological chemistry*, 286(19), 17351-17358.

L

- **Laghmouchi, Y., Belmehdi, O., Senhaji, N. S., & Abrini, J. (2018).** Chemical composition and antibacterial activity of *Origanum compactum* Benth. essential oils from different areas at northern Morocco. *South African Journal of Botany*, 115, 120-125.
- **Le Loir, Y., & Gautier, M. (2010).** Étude fonctionnelle et cibles d'un ARN régulateur exprimé par le pathogène humain *Staphylococcus aureus* et impliqué dans l'internalisation des bactéries par les cellules humaines. Thèse de Doctorat, Université de Rennes, France, p. 27.
- **Lebeaux, D., & Ghigo, J. M. (2012).** aux biofilms. *médecine/sciences*, 28, 727-39.
- **Liu, A., Garrett, S., Hong, W., & Zhang, J. (2024).** *Staphylococcus aureus* Infections and Human Intestinal Microbiota. *Pathogens*, 13(4), 276.
- **Liu, X., Zhou, P., & Wang, R. (2013).** Small RNA-mediated switch-like regulation in bacterial quorum sensing. *IET systems biology*, 7(5), 182-187.
- **Liu, Y., Xu, Y., Song, Q., Wang, F., Sun, L., Liu, L., Yang, X., Yi, J., Bao, Y., Ma, H. (2017).** Anti-biofilm activities from *Bergenia crassifolia* leaves against *Streptococcus mutans*. *Frontiers in .Microbiology*, 8, 1738.

- **Lopes, L.A.A., dos Santos Rodrigues, J.B., Magnani, M., de Souza, E.L., de Siqueira-Júnior, J.P. (2017).** Inhibitory effects of flavonoids on biofilm formation by *Staphylococcus aureus* that overexpresses efflux protein genes. *Microbiol. pathogenesis*107, 193–197.
- **Lu, L., Hu, W., Tian, Z., Yuan, D., Yi, G., Zhou, Y., Cheng, Q., Zhy, J., Li, M. (2019).** Developing natural products as potential anti-biofilm agents. *Chinese medicine*, 14, 1-17.

M

- **Maatallah, A. M., & Ramdani, N. D. (2022).** *Staphylococcus aureus* isolé du lait cru de vache: sensibilité aux antibiotiques et recherche des entérotoxines. Mémoire de fin d'étude, École Nationale Supérieure Vétérinaire de Alger, Algérie.
- **Mandin, P., & Guillier, M. (2013).** Expanding control in bacteria: interplay between small RNAs and transcriptional regulators to control gene expression. *Current opinion in microbiology*, 16(2), 125-132.
- **Martínez, A., Manrique-Moreno, M., Klaiss-Luna, M. C., Stashenko, E., Zafra, G., & Ortiz, C. (2021).** Effect of essential oils on growth inhibition, biofilm formation and membrane integrity of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*, 10(12), 1474.
- **Mathur, T., Singhal, S., Khan, S., Upadhyay, D. J., Fatma, T., & Rattan, A. (2006).** Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian journal of medical microbiology*, 24(1), 25-29.
- **Merghni, A., Marzouki, H., Hentati, H., Aouni, M., & Mastouri, M. (2016).** Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis* L. essential oil against *Staphylococcus aureus* strains associated with oral infections. *Current Research in Translational Medicine*, 64(1), 29-34.
- **Mingzhang, L., Yu, J., Guo, G., Shen, H. (2023).** Article review: Interactions between Macrophages and Biofilm during *Staphylococcus aureus*-Associated Implant Infection: Difficulties and Solutions. *Journal Name*.
- **Mirghani, R., Saba, T., Khaliq, H., Mitchell, J., Do, L., Chambi, L., Chambi, L., Siaz, K., Kennedy, T., Alkassab, K., Huynh, T., Elmmi, M., Martinez, J., Sawan, S., Rijal, G. (2022).** Biofilms: Formation, drug resistance and alternatives to conventional approaches. *AIMS microbiology*, 8(3), 239.
- **Mishra R, Panda AK, De Mandal S, Shakeel M, Bisht SS and Khan J (2020).** Natural Anti-biofilm Agents: Strategies to Control Biofilm-Forming Pathogens. *Frontiers of Microbiology*, 11:566325
- **Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C. (2017).** Evaluation de l'activité antibacterienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* l. *Revue Agrobiologia*, 7(1), 363-370.
- **Mukurumbira, A. R., Shellie, R. A., Keast, R., Palombo, E. A., & Jadhav, S. R. (2022).** Encapsulation of essential oils and their application in antimicrobial active packaging. *Food Control*, 136, 108883.
- **Musthafa, K. S., Ravi, A. V., Annapoorani, A., Packiavathy, I. S. V., & Pandian, S. K. (2010).**

Evaluation of anti-quorum-sensing activity of edible plants and fruits through inhibition of the N-acyl-homoserine lactone system in *Chromobacterium violaceum* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemotherapy*, 56(4), 333-339.

- **Muzammil, I., Saleem, M. I., Aqib, A. I., Ashar, A., Mahfooz, S. A., Shoaib, M., Naser, M. A., Sohrani, I. K., Ahmad, I., Saqi, R., Lodhi, F. L., Tanveer, Q. (2021).** Emergence of pathogenic strains of *Staphylococcus aureus* in goat milk and their comparative response to antibiotics. *Pakistan Journal of Zoology*, 53(5).

N

- **Nadaf, N.H., Parulekar, R.S., Patil, R.S., Gade, T.K., Momin, A.A., Waghmare, S.R., Dhanavade, M.J., Arvindekar, A.U., Sonawane, K.D. (2018).** Biofilm inhibition mechanism from extract of *Hymenocallis littoralis* leaves. *Journal of Ethnopharmacol*, 222, 121–132.
- **Nasr, S. A., AbuShady, H. M., & Hussein, H. S. (2012).** Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of staphylococci. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 13(2), 269-274.
- **Niyazbekova, Z., Yao, X. T., Liu, M. J., Bold, N., Tong, J. Z., Chang, J. J., Wen, Y., Li, L., Wang, Y., Chen, D. K., & Ma, W. T. (2020).** Compositional and Functional Comparisons of the Microbiota in the Colostrum and Mature Milk of Dairy Goats. *Animals : an open access journal from MDPI*, 10(11), 1955.

O

- **Ouyang, P., He, X., Yuan, Z.-W., Yin, Z.-Q., Fu, H., Lin, J., He, C., Liang, X., Lv, C., Shu, G. (2018).** Erianin against *Staphylococcus aureus* infection via inhibiting sortase A. *Toxins*, 10, 385.

P

- **Pacha, P. A., Munoz, M. A., González-Rocha, G., San Martín, I., Quezada-Aguiluz, M., Aguayo-Reyes, A., Bello-Toledo., Latorre, A. A. (2021).** Molecular diversity of *Staphylococcus aureus* and the role of milking equipment adherences or biofilm as a source for bulk tank milk contamination. *Journal of Dairy Science*, 104(3), 3522-3531.
- **Park, J., Jagasia, R., Kaufmann, G. F., Mathison, J. C., Ruiz, D. I., Moss, J. A., Meijler, M., M., Ulevitch, R. J., Janda, K. D. (2007).** Infection control by antibody disruption of bacterial quorum sensing signaling. *Chemistry & biology*, 14(10), 1119-1127.
- **Pei, Z. J., Li, C. C., Dai, W. N., Lou, Z. X., Sun, X., Wang, H. X., Khan, A. A., Wan, C. (2023).** The anti-biofilm activity and mechanism of apigenin-7-O-glucoside against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Infection and Drug Resistance*, 16, 2129–2140.
- **Pivard, M. (2022).** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* associés aux pneumonies communautaires sévères: focus sur l'hémolysine-gamma. Microbiologie et Parasitologie. Université Claude Bernard - Lyon I. France.
- **Praja, R. N., Yudhana, A., Saputro, A. L., & Hamonangan, J. M. (2023).** The first study on antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw goat milk associated with subclinical mastitis in Siliragung Subdistrict, East Java, Indonesia. *Veterinary World*, 16(4), 786.
- **Price-Whelan, A., Poon, C. K., Benson, M. A., Eidem, T. T., Roux, Bod, J. M., Dunman, P, M., Torres, V. J., Krulwich, T, A (2013).** Transcriptional profiling of *Staphylococcus aureus*

during growth in 2 M NaCl leads to clarification of physiological roles for Kdp and Ktr K⁺ uptake systems. *mBio*, 4(4), e00407-13.

- **Putz, E. J., Palmer, M. V., Ma, H., Casas, E., Reinhardt, T. A., Lippolis, J. D. (2020).** Case report: characterization of a persistent, treatment-resistant, novel *Staphylococcus aureus* infection causing chronic mastitis in a Holstein dairy cow. *BMC Veterinary Research*, 16, 1-8.

R

- **Rahman, M., Kim, S., Kim, S. M., Seol, S. Y., & Kim, J. (2011).** Characterization of induced *Staphylococcus aureus* bacteriophage SAP-26 and its anti-biofilm activity with rifampicin. *Biofouling*, 27(10), 1087-1093.
- **Rai, D. C., Rathaur, A., Yadav, A. K., & Shraddha. (2022).** Nutritional and nutraceutical properties of goat milk for human health: A review. *Indian Journal of Dairy Science*, 75(1)
- **Reffuveille, F., Josse, J., Vallé, Q., Gangloff, C. M., Gangloff, S. C. (2017).** *Staphylococcus aureus* Biofilms and their Impact on the Medical Field. *The rise of virulence and antibiotic resistance in Staphylococcus aureus*, 11, 187.
- **Rijnaarts, H. H., Norde, W., Bouwer, E. J., Lyklema, J., Zehnder, A. J. B. (1995).** Reversibility and Mechanism of Bacterial Adhesion. *Colloids and Surfaces B: Biointerface*, 4(1), 5–22.

S

- **Sahle-Demessie, E., & Tadesse, H. (2011).** Kinetics and equilibrium adsorption of nano-TiO₂ particles on synthetic biofilm. *Surface science*, 605(13-14), 1177-1184.
- **Saikia, D., Hassani, M. I., & Walia, A. (2022).** Review: Goat milk and its nutraceutical properties. *International Journal of Applied Research*, 8(4), 119-122.
- **Santajit, S., Sookrung, N., & Indrawattana, N. (2022).** Quorum sensing in ESKAPE bugs: a target for combating antimicrobial resistance and bacterial virulence. *Biology*, 11(10), 1466.
- **Shekhawat, M., Nirwan, A., Bhati, T., Vyas, J., Shringi, B. N., Kataria, A. K. (2023).** Detection of ICAA and ICAD genes for biofilm production in *Staphylococcus aureus* isolates from goat mastitis. *The Indian Journal of Small Ruminants*, 29(1), 163-166.
- **Shkodenko, L., Kassirov, I., & Koshel, E. (2020).** Metal oxide nanoparticles against bacterial biofilms: Perspectives and limitations. *Microorganisms*, 8(10), 1545.
- **Skadiņš, I., Labsvārds, K. D., Grava, A., Amirian, J., Tomsons, L. E., Ruško, J., Viksna, A., Bandere, D., Brangule, A. (2023).** Antimicrobial and Antibiofilm Properties of Latvian Honey against Causative Agents of Wound Infections. *Antibiotics*, 12(5), 816.
- **Sollid, J. U. E., Furberg, A. S., Hanssen, A. M., & Johannessen, M. (2014).** *Staphylococcus aureus*: Determinants of human carriage. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 531-541.
- **Song, M., Tang, Q., Ding, Y., Tan, P., Zhang, Y., Wang, T., Zhou, C., Xu, S., Lu, M., Bai, Y., Ma, X. (2024).** *Staphylococcus aureus* and biofilms: transmission, threats, and promising strategies in animal husbandry. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 15(1), 44.

- **Spaulding, A. R., Salgado-Pabón, W., Kohler, P. L., Horswill, A. R., Leung, D. Y. M., & Schlievert, P. M. (2013).** Staphylococcal and Streptococcal Superantigen Exotoxins. *Clinical Microbiology Reviews*, 26, 422–447.
- **Sun, D., Accavitti, M. A., & Bryers, J. D. (2005).** Inhibition of biofilm formation by monoclonal antibodies against *Staphylococcus epidermidis* RP62A accumulation-associated protein. *Clinical and Vaccine Immunology*, 12(1), 93-100.

T

- **Tagliaferri, T. L., Jansen, M., & Horz, H. P. (2019).** Fighting pathogenic bacteria on two fronts: phages and antibiotics as combined strategy. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 9, 22.
- **Tamendjari, S., Bouzebda, F. A., Chaib, L., Aggad, H., Ramdani, M., & Bouzebda, Z. (2021).** Antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw cow and goat milk produced in the Tiaret and Souk Ahras areas of Algeria. *Veterinary World*, 14(7), 1929.
- **Tan, P., Fu, H., & Ma, X. (2021).** Design, optimization, and nanotechnology of antimicrobial peptides: From exploration to applications. *Nano Today*, 39, 101229.
- **Tang, Q., Tan, P., Dai, Z., Wang, T., Xu, S., Ding, Y., Jin, J., Zhang, X., Zhang, Y., Zhou, C., Yue, Z., Fu, H., Yan, J., Ma, X. (2023).** Hydrophobic modification improves the delivery of cell-penetrating peptides to eliminate intracellular pathogens in animals. *Acta Biomaterialia*, 157, 210-224.
- **Titouche, Y., Akkou, M., Houali, K., Auvray, F., & Hennekinne, J. A. (2022).** Role of milk and milk products in the spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the dairy production chain. *Journal of food science*, 87(9), 3699-3723.

V

- **Vacca, F., Sala, C., & Rappuoli, R. (2022).** Monoclonal antibodies for bacterial pathogens: Mechanisms of action and engineering approaches for enhanced effector functions. *Biomedicines*, 10(9), 2126.
- **Valdez, J. C., Peral, M. C., Rachid, M., Santana, M., & Perdigon, G. (2005).** Interference of *Lactobacillus plantarum* with *Pseudomonas aeruginosa* in vitro and in infected burns: the potential use of probiotics in wound treatment. *Clinical microbiology and infection*, 11(6), 472-479.
- **Vandeputte, O. M., Kiendrebeogo, M., Rajaonson, S., Diallo, B., Mol, A., El Jaziri, M., & Baucher, M. (2010).** Identification of catechin as one of the flavonoids from *Combretum albiflorum* bark extract that reduces the production of quorum-sensing-controlled virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Applied and environmental microbiology*, 76(1), 243-253.

W

- **Walczak, M., Michalska-Sionkowska, M., Olkiewicz, D., Tarnawska, P., & Warzyńska, O. (2021).** Potential of carvacrol and thymol in reducing biofilm formation on technical surfaces. *Molecules*, 26(9), 2723.

- **Walz, J. M., Avelar, R. L., Longtine, K. J., Carter, K. L., Mermel, L. A., Heard, S. O., 5-FU Catheter Study Group. (2010).** Anti-infective external coating of central venous catheters: a randomized, noninferiority trial comparing 5-fluorouracil with chlorhexidine/silver sulfadiazine in preventing catheter colonization. *Critical care medicine*, 38(11), 2095-2102.
- **Wang, J., Song, M., Pan, J., Shen, X., Liu, W., Zhang, X., Li, H., Deng, X. (2018).** Quercetin impairs *Streptococcus pneumoniae* biofilm formation by inhibiting sortase A activity. *Journal of Cellulose and Molecular. Medicine*, 22, 6228–6237.
- **Wolska, K. I., Grudniak, A. M., Rudnicka, Z., & Markowska, K. (2016).** Genetic control of bacterial biofilms. *Journal of applied genetics*, 57, 225-238.

Y

- **Yonemoto, K., Chiba, A., Sugimoto, S., Sato, C., Saito, M., Kinjo, Y., Marumo, K., Mizunoe, Y. (2019).** Redundant and Distinct Roles of Secreted Protein Eap and Cell Wall-Anchored Protein SasG in Biofilm Formation and Pathogenicity of *Staphylococcus aureus*. *Infection and Immunity*, 87.
- **Yong, Y. Y., Dykes, G. A., and Choo, W. S. (2019).** Biofilm formation by staphylococci in health-related environments and recent reports on their control using natural compounds. *Critical Reviews in Microbiology*. 45 : 201-222.

Z

- **Zakaria, Z., Yun, W. S., Alias, N., Noor, S. N. M., Zakaria, A. J., Mustapha, Z., Hussin, N., Taib, W. R. W., Ahmad, Y., Yusoff, N. A. M. (2020).** Physicochemical composition, microbiological quality and consumers' acceptability of raw and pasteurized locally produced goat milk. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 16, 475-482.
- **Zhou, J.-W., Hou, B., Liu, G.-Y., Jiang, H., Sun, B., Wang, Z.-N., Shi, R.-F., Xu, Y., Wang, R., Jia, A.-Q. (2018).** Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm by hordenine: A combinatorial study with aminoglycoside antibiotics. *Applied Microbiology and Biotechnology*

Annexe 1 : Composition chimique des milieux de culture.

Tableau I: Récapitulatif des milieux de cultures, le matériel de prélèvement, le matériel biologique, les réactifs ainsi que l'équipement utilisés

Milieux de cultures	Matériels de prélèvement	Matériel biologiques	Réactifs	Equipement utilises	Verrerie et outils
-Gélose nutritive -Gélose Baird Parker -Gélose à ADN -Gélose Mueller-Hinton -Bouillon BHIB -Bouillon BHIB à 2% de saccharose -Gélose rouge Congo	-Gants chirurgicaux -Flacons Stériles -Coton -Gaz stérile -Glacière -Alcool -Savon -Eau	-Souche de référence : <i>S. aureus</i> MU50 (témoin positif) -Plasma humain	-Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂) -Eau peptonnée stérile -Fushine -Violet de gentiane -Lugol -Alcool -Ethanol absolue -Disques d'antibiotique -Bleu de toluidine -Eau physiologique stérile -Eau distillée -Glycérol -Tellurite de potassium	-Bain-Marie -Autoclave -Balance de précision -Bec Bunsen -Etuve microbiologique -Agitateur magnétique -Spectrophotomètre -Lecteur ELISA -Microscope optique -Micropipette	-Boites de pétri -pipette pasteur, -Tubes à essai , -Micropipettes , -Embouts (01 et 1 Ml , -Spatules , -Erlenmeyer, -Béchers, -Cuves de spectrophotomètres -Microplaques, -Pince en bois, -Flacons en verre, -Flacons stériles, -Seringues, -Ecouvillons, -Portoirs, -Pince microbiologique,

- **Gélose Baird Parker**

-Composition

Peptone pancréatique de caséine	10g
Extrait de levure	1g
Extrait de viande	5g
Pyruvate de sodium	10g
Chlorure de lithium	5g
Glycine	12g
Gélose.....	15g
Eau distillée.....	1000mL

PH du milieu =6.8 ,à stériliser a 121°C pendant 15min.

Préparation de l'émulsion de jaune d'œuf

- Utiliser des œufs de poule frais dont la coquille est intacte.
- Désinfecter la coquille de l'œuf avec un coton imbibé d'alcool.
- Aseptiquement, casser les œufs et séparer le blanc du jaune par transfert d'une demi coquille a une autre.
- Recueillir les jaunes d'œufs dans un bécher stérile de 1000mL et compléter avec quatre fois leur volume d'eau distillée stérile, et homogénéiser vigoureusement.
- Laisser le mélange chauffer au bain marie à une température de 45° C en agitant toutes les 15 minutes pendant 2 h.
- Entreposer au réfrigérateur a une température de $\pm 3^{\circ}\text{C}$ pendant 24h, afin de former un précipité.
- Conserver l'émulsion au réfrigérateur à 4°C.

Composition du mieux complet

Milieu de base (Baird Parker)	100mL
Solution de tellurite de potassium	1mL
Emulsion de jaune d'œuf.....	8 mL

- **Gélose nutritive**

Peptone	10.0g
Extrait de viande	5g
Chlorure de sodium	5g
Agar.....	10.0g

PH=7,3

Préparation : 28g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave : 15 min à 120°C.

- **Gélose ADN**

Composition

Hydrolysate tryptique de caséine.....	20g
Acide Désoxyribonucléique	2g
Chlorure de sodium	5g
Gélose.....	12g
Eau distillée.....	1000mL

PH du milieu prêt à l'emploi 7,3 +/- 0,2 à 25°C.

Préparation : Mettre en suspension 39g de poudre dans 1L d'eau distillée. Mélanger jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 120 °C pendant 15min.

- **Gélose Mueller Hinton**

Composition

Hydrolysate acide de caséine	17,5g
Extrait de viande de bœuf.....	2g
Amidon soluble	1,5g
Agar bactériologique	17g

PH du milieu prêt à l'emploi 7,3 +/- 0,1 à 25°C.

Préparation : Mettre en suspension 38g du milieu déshydraté dans 1L d'eau distillée. Stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15min.

- **Gélose Rouge Congo Agar**

Composition

BHIB	37 g
Saccharose.....	50 g
Agar.....	10 g
Rouge Congo.....	0.8 g
Eau distillée.....	1000 mL

PH= 7,4 Stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

- **Bouillon cœur – cervelle BHIB**

Composition

Infusion de cervelle de veau.....	12.5g
Infusion de cervelle de veau.....	12,5g
Infusion de cœur de bœuf.....	5g
Peptone pancréatique de gélatine	10g
Glucose.....	2g
Chlorure de sodium.	50g
Phosphatase di sodique	2,5g

PH du milieu prêt à l'emploi 7,4 +/- 0,2 à 25°C.

Préparation : Mettre en suspension 37 g de milieu BHI déshydraté dans 1mL d'eau distillée. Agiter jusqu'à dissolution complète. Répartir le milieu dans des tubes ou flacons puis stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 min.

- **Bouillon BHIB à 02% de saccharose**

Composition

BHIB en poudre	3.7g
Saccharose.....	2g
Eau distillée.....	100mL

Préparation : Mettre en suspension 3.7g de BHIB en poudre avec 2g de saccharose dans 100mL d'eau distillée. Mélanger jusqu'à dissolution. Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15 min.

Réactifs et solution

- **Composition de l'eau peptonnée tamponnée stérile**

Bacto peptone.....	20 g
NaCl	5 g
Na ₂ HPO ₄	9 g
K H ₂ PO ₄	1,5 g
Eau distillée.....	1000 mL
PH = 7,2	

Préparation : 20g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C pendant 15 min.

- **Composition de de eau physiologique stérile**

Chlorure de Sodium	9g
Eau distillée.....	1000mL

Annexe 2 : Résultats de l'antibiogramme

Tableau II: Liste des molécules d'antibiotiques utilisées pour l'antibiogramme.

Famille	Antibiotique	Abréviation	Charge en µg
β-lactamines	Pénicilline G	P	10
	Céfotaxime	CTX	30
Aminosides	Gentamycines	CN	10
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine	CIP	5
Phénicolés	Chloramphénicol	C	30
Macrolides	Erythromycine	E	30
Tétracyclines	Tétracycline	TE	30
Sulfamides	Triméthoprime / Sulfamethoxazole	SXT/COT	25

Tableau III : Tableau des valeurs critiques ,diamètres des zones d'inhibition selon le CLSI 2020.

Famille	Antibiotiques	Diamètre critique			Références
		Sensible	Intermédiaire	Résistant	
β-lactamines	Pénicilline G	≥29	-	≤28	CLSI2020
	Céfotaxime	≥22	-	≤21	CLSI2020
Aminoglycoside	Gentamycine	≥15	13-14	≤12	CLSI2020
Macrolides	Erythromycine	≥23	14-22	≤13	CLSI2020
Tétracyclines	Tétracycline	≥19	15-18	≤14	CLSI2020
Quinolones	Ciprofloxacine	≥21	16-20	≤15	CLSI2020
Phénicol	Chloramphénicol	≥18	13-17	≤12	CLSI2020
Sulfamides	Triméthoprime/ Sulfamethoxazole	≥16	11-15	≤10	CLSI2020

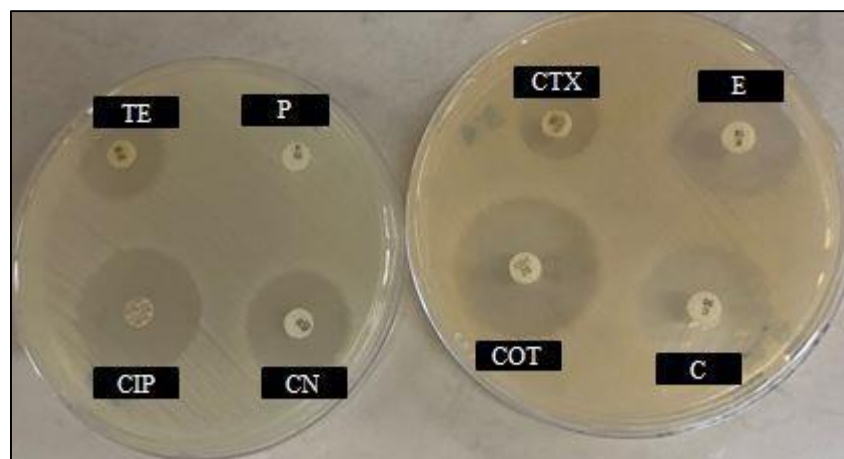
**Figure 1 :** Antibiogramme réalisé sur l'une des cinq souches de *S. aureus*.

Tableau IV : Résultats de l'antibiogramme sur les 4 souches et la souche de référence *S. aureus* MU 50

Souche	Antibiotiques							
	P	CTX	CN	CIP	C	E	TE	SXT/ COT
REF	R	R	S	R	S	S	R	S
Y1	R	R	S	I	S	I	S	S
Y2	R	R	S	I	S	I	S	S
Y3	R	R	S	I	S	I	S	S
Y4	R	R	I	I	S	I	I	S

Légende : R = Résistante ;S = Sensible ;I =Intermédiaire.

Annexe 3 : Résultats des DO de l'activité biofilm**Tableau V :** Résultats des valeurs des do obtenues pour les différentes souches pour l'activité

Puits	DO	Moyenne des DO
T- (BHIB)	0,082 0,127 0,105	0,105
T+(S. aureus MU50)	1,9 1,531 1,81	1,747
S3	0,826 1,072 0,946	0,948
S4	0,805 1,588 0,894	1,096
S6	0,883 0,993 0,656	0,844
S9	0,798 1,035 0,571	0,917

T+ : souche de référence *S. aureus* MU50 ; T- : BHIB à 2% de saccharose non ensemencé.

Annexes 4 : Résultats des diamètres de l'activité antibactérienne.**Tableau VI** : Résultats des diamètres d'inhibition obtenus de l'activité antibactérienne de la souche S3

Dilution	Diamètre	Moyennes
T+	22	24
	26	
	24	
T-	0	0
	0	
	0	
EB	26	30
	30	
	32	
D 1/2	32	29.33
	32	
	26	
D 1/4	30	28.667
	32	
	24	
D1/8	30	23.6
	34	
	38	
D1/16	8	8.667
	10	
	8	
1/32	6	5.3
	6	
	4	
1/64	2	4.6
	4	
	8	

Légende : T+ : Disque d'antibiotique (Erythromycine) ; T- : BHIB à 02% de saccharose non ensemencé ;
 Extrait brut : Huile essentielle d'origan ; 1/2: Dilution de l'huile essentielle au 1/2 ; 1/4 : Dilution de
 l'huile essentielle au 1/4 ; 1/8 : Dilution de l'huile essentielle au 1/8 ; 1/16 : Dilution de l'huile essentielle
 au 1/16 ; 1/32 : Dilution de l'huile essentielle au 1/32 ; 1/64 : Dilution de l'huile essentielle au 1/64.

Tableau VII : Résultats des diamètres d'inhibition obtenus de l'activité antibactérienne de la souche S4.

Dilution	Diamètre	Moyennes
T+	24 20 20	21.3
T-	0 0 0	0
EB	28 40 46	38
D 1/2	28 32 32	30.6
D1/4	24 24 30	18.6
D 1/8	4 32 14	16.6
D1/16	20 8 6	11.3
D1/32	14 4 10	9.3
1/64	6 10 4	6.6

Légende : T+ : Disque d'antibiotique (Erythromycine) ; T- : BHIB à 02% de saccharose non ensemencé ;
 Extrait brut : Huile essentielle d'origan ; 1/2: Dilution de l'huile essentielle au 1/2 ; 1/4 : Dilution de
 l'huile essentielle au 1/4 ; 1/8 : Dilution de l'huile essentielle au 1/8 ; 1/16 : Dilution de l'huile essentielle
 au 1/16 ; 1/32 : Dilution de l'huile essentielle au 1/32 ; 1/64 : Dilution de l'huile essentielle au 1/64.

Tableau VIII : Résultats des diamètres d'inhibition obtenus de l'activité antibactérienne de la souche S6.

Dilution	Diamètre	Moyennes
T+	26 26 24	25.3
T-	0 0 0	0
EB	36 40 38	38.1
D 1/2	38 38 32	36
D1/4	46 20 34	33.3
D 1/8	26 26 20	24
D1/16	4 10 4	6
D1/32	6 4 4	4.6
D1/64	6 4 2	4

Légende : T+ : Disque d'antibiotique (Erythromycine) ; T- : BHIB à 02% de saccharose non ensemencé ;
 Extrait brut : Huile essentielle d'origan ; 1/2: Dilution de l'huile essentielle au 1/2 ; 1/4 : Dilution de
 l'huile essentielle au 1/4 ; 1/8 : Dilution de l'huile essentielle au 1/8 ; 1/16 : Dilution de l'huile essentielle
 au 1/16 ; 1/32 : Dilution de l'huile essentielle au 1/32 ; 1/64 : Dilution de l'huile essentielle au 1/64.

Tableau IX : Résultats des diamètres d'inhibition obtenus de l'activité antibactérienne de la souche S9.

Dilution	Diamètre	Moyennes
T+	26	25.3
	28	
	22	
T-	0	0
	0	
	0	
EB	38	37.3
	34	
	40	
D1/2	32	34
	40	
	30	
D1/4	30	32.6
	38	
	30	
D1/8	26	18.6
	24	
	6	
D1/16	6	12
	24	
	6	
D1/32	8	4
	0	
	4	
D 1/64	4	3.3
	2	
	4	

Légende : T+ : Disque d'antibiotique (Erythromycine) ; T- : BHIB à 02% de saccharose non ensemencé ;
 Extrait brut : Huile essentielle d'origan ; 1/2: Dilution de l'huile essentielle au 1/2 ; 1/4 : Dilution de l'huile essentielle au 1/4 ; 1/8 : Dilution de l'huile essentielle au 1/8 ; 1/16 : Dilution de l'huile essentielle au 1/16 ; 1/32 : Dilution de l'huile essentielle au 1/32 ; 1/64 : Dilution de l'huile essentielle au 1/64.

Annexe 5 : Résultats des DO obtenus pour l'activité antibiofilm

Tableau X : Résultats des DO obtenues pour l'activité antibiofilm de la souche S3.

Dilution	DO	Moyenne des DO
T-	0,499 0,46 0,328	0,111
T+	2,176 2,301 2,045	0,747
EB	0,559 0,859 0,675	0,109
D1/2	0,108 0,141 0,132	0,111
D1/4	0,129 0,156 0,11	0,118
D1/8	0,679 0,326 0,28	0,132
D1/16	0,153 0,161 1,057	0,205
D1/32	0,731 2,448 1,645	0,211
D1/64	1,939 0,52 0,466	0,575

Légende : T- : BHIB à 2% de saccharose non ensemencé ; EB : Extrait brut ; T+ : BHIB à 2% de saccharose ensemencé additionné de l'huile essentielle ; 1/2 : Dilution de l'huile essentielle au 1/2 ; 1/4 : Dilution de l'huile essentielle au 1/4 ; 1/8 : Dilution de l'huile essentielle au 1/8 ; 1/16 : Dilution de l'huile essentielle au 1/16 ; 1/32 : Dilution de l'huile essentielle au 1/32 ; 1/64 : Dilution de l'huile essentielle au 1/64.

Tableau XI : Résultats des DO obtenues pour l'activité antibiologique de la souche S4.

Dilution	DO	Moyenne des DO
T-	0,0184 0,206 0,161	0,428
T+	1,698 1,84 1,239	2,174
EB	0,173 0,185 0,192	0,127
D1/2	0,835 0,967 0,252	0,132
D1/4	0,129 0,11 0,142	0,429
D1/8	0,158 0,128 0,132	0,457
D1/16	0,122 0,123 0,21	0,698
D1/32	1,563 1,414 1,741	0,975
D1/64	2,064 1,214 0,224	1,608

Légende : T- : BHIB à 2% de saccharose non ensemencé ; EB : Extrait brut ; T+ : BHIB à 2% de saccharose ensemencé additionné de l'huile essentielle ; 1/2: Dilution de l'huile essentielle au 1/2 ; 1/4 : Dilution de l'huile essentielle au 1/4 ; 1/8 : Dilution de l'huile essentielle au 1/8 ; 1/16 : Dilution de l'huile essentielle au 1/16 ; 1/32 : Dilution de l'huile essentielle au 1/32 ; 1/64 : Dilution de l'huile essentielle au 1/64.

Tableau XII : Résultats des DO obtenues pour l'activité antibiologique de la souche S6.

Dilution	DO	Moyenne des DO
T-	0,084 0,134 0,181	0,127
T+	1,208 1,385 1,224	1,5902
EB	0,096 0,139 0,154	0,128
D1/2	0,36 0,593 0,408	0,139
D1/4	0,077 0,076 0,068	0,152
D1/8	0,073 0,074 0,282	0,183
D1/16	0,069 0,072 0,106	0,685
D1/32	0,064 0,07 0,075	1,167
D1/64	0,676 1,021 0,293	1,573

Légende : T- : BHIB à 2% de saccharose nonensemencé ; EB : Extrait brut ; T+ : BHIB à 2% de saccharoseensemencé additionné de l'huile essentielle ; 1/2: Dilution de l'huile essentielle au 1/2 ; 1/4 : Dilution de l'huile essentielle au 1/4 ; 1/8 : Dilution de l'huile essentielle au 1/8 ; 1/16 : Dilution de l'huile essentielle au 1/16 ; 1/32 : Dilution de l'huile essentielle au 1/32 ; 1/64 : Dilution de l'huile essentielle au 1/64.

Tableau XIII : Résultats des DO obtenues pour l'activité antibiologique de la souche S9.

Dilution	DO	Moyenne des DO
T-	0,104 0,097 0,133	0.130
T+	0,153 0,271 0,191	1.272
EB	0.444 0,231 1,565	0.070
D1/2	0,967 0,172 0,586	0.074
D1/4	0,226 0,236 0,172	0.082
D1/8	0,123 0,174 0,099	0.133
D1/16	0,176 0,086 0,091	0.145
D1/32	0,146 0,095 0,086	0.454
D1/64	0,155 0,087 0,092	0.663

Légende : T- : BHIB à 2% de saccharose non ensemencé ; EB : Extrait brut ; T+ : BHIB à 2% de saccharose ensemencé additionné de l'huile essentielle ; 1/2: Dilution de l'huile essentielle au 1/2 ; 1/4 : Dilution de l'huile essentielle au 1/4 ; 1/8 : Dilution de l'huile essentielle au 1/8 ; 1/16 : Dilution de l'huile essentielle au 1/16 ; 1/32 : Dilution de l'huile essentielle au 1/32 ; 1/64 : Dilution de l'huile essentielle au 1/64.

Résumé

La composition nutritionnelle du lait de chèvre est celle qui se rapproche le plus de celle du lait maternel. Sa richesse en nutriments en fait un excellent substrat pour le développement de nombreux microorganismes. L'objectif de cette étude est d'isoler des souches de *Staphylococcus aureus* dans des échantillons de lait cru de chèvre collectés dans trois fermes de la région de Freha. Nous avons également évalué la capacité des souches isolées à former des biofilms, ainsi que l'activité antibactérienne et antibiofilm de l'huile essentielle (HE) d'*Origanum compactum*. Les isolements et les tests biochimiques ont conduit à la sélection de quatre souches de *S. aureus*. Les résultats ont montré que trois de ces isolats formaient faiblement des biofilms, tandis qu'une souche était modérément formatrice. L'HE a démontré une bonne activité antibactérienne contre toutes les souches testées, avec des zones d'inhibition allant de 30 à 38,4 mm. L'activité antibiofilm, évaluée par la méthode des microplaques à 96 puits, a montré une efficacité supérieure de l'extrait brut par rapport aux dilutions (1/2, 1/4, 1/8, 1/16, et 1/32). Ces résultats suggèrent que l'HE d'*O. compactum* pourrait être une alternative thérapeutique prometteuse pour lutter contre les infections à *S. aureus* associées aux biofilms, notamment dans les élevages caprins laitiers. Cependant, des études plus approfondies sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes d'action de cette HE.

Mots-clés : Lait cru de chèvre, *Staphylococcus aureus*, biofilm, *Origanum compactum*, Activité antibactérienne, Activité antibiofilm.

Abstract

The nutritional composition of goat milk is the most similar to human breast milk. Its richness in nutrients makes it an excellent substrate for the development of a wide variety of microorganisms. The aim of this study was to isolate strains of *Staphylococcus aureus* from raw goat milk samples collected from 3 farms in the Freha region. An evaluation of the isolated strains' ability to form biofilms, as well as a study of the antibacterial and antibiofilm activity of *Origanum compactum* essential oil (EO), were also made. Isolations and biochemical tests led to the selection of 4 strains of *S. aureus*. The results showed that 3 of these isolates were weak biofilm formers, while only one strain exhibited moderate biofilm formation. The EO demonstrated good antibacterial activity against all tested strains, with inhibition zones ranging from 30 to 38.4 mm. Antibiofilm activity assessed using the 96-well microplate method showed superior effectiveness of the crude extract compared to dilutions (1/2, 1/4, 1/8, 1/16 and 1/32). These findings suggest that *O. compactum* EO could be a promising therapeutic alternative for combating *S. aureus* infections associated with biofilms, particularly in dairy goat farming. However, further studies are needed for a better understanding of the mechanisms of action of this EO.

Keywords: Raw goat milk, *Staphylococcus aureus*, Biofilm, *Origanum compactum*, Antibacterial activity, Antibiofilm activity.