

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun –Tiaret–
Faculté Sciences de la Nature et de la Vie
Département Sciences de la Nature et de la Vie



Mémoire de fin d'études
En vue de l'obtention du diplôme de Master académique
Domaine : Science de la nature et de vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :
-BENHEBAL Assia
-BENAZZOUG Sekoura
-HIRECH Ikram

Thème :

*Efficacité des extraits végétaux de Salvia Officinalis L. et Lupinus Albus L.
sur le biofilm de Staphylococcus aureus.*

Soutenu publiquement le 03/07/2023

Jury :

-Président : M^r SAIM Mohamed Said
-Encadrant : M^r AGGAD Hebib
-Co-encadrant : M^{me} BOUTELDJA Rachida
-Examineur : Mr AYAD Mohamed Amine

Grade :

M.C.A
Pr
Dr
M.C.A

Université de TIARET
Université de TIARET
Université de TIARET
Université de TIARET

Année universitaire 2022-2023

Remerciements

الحمد لله الذي اعاننا على انهاء هذا العمل وسخر لنا القوة لإتمامه فكل توفيق منه وحده

Tout d'abord, nous tenons à remercier ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la volonté, le courage, la force et la patience pour réaliser ce modeste travail et arriver à ce stade-là.

Ce mémoire est le fruit des efforts fournis et des sacrifices consentis par plusieurs personnes que nous pourrions oublier de les remercier.

*C'est avec un grand plaisir que nous adressons nos sincères remerciements à notre professeur et promoteur monsieur **AGGAD Hebib** pour l'honneur qu'il nous a fait de nous encadrer, pour ses bons conseils, pour cela on tient à lui exprimer toutes nos gratitude.*

*Nous exprimons également nos chaleureux remerciements à notre Copromoteur docteur **BOUTELDJA Rachida** pour son soutien et sa patience durant notre travail, son exigence, sa disponibilité et pour nous avoir communiqué sa passion pour la recherche, et pour ses précieux conseils.*

*Nous adressons également les membres des jurys monsieur **AYAD Mohamed Amine** et monsieur **SAIM Mohamed Saïd** d'avoir accepté d'examiner et juger ce modeste travail.*

BEZZERROUK Mohamed Amine, directeur de l'incubateur de l'université de Tiaret et SADJI Fatima, directrice de maison de l'entrepreneuriat pour leur aide et conseils.

Nous tenons à remercier toute l'équipe de laboratoire d'hygiène et pathologie animale d'institut vétérinaire université Ibn Khaldoun, TIARET. Et surtout un grand et sincère remerciement à madame BENHAMMOUDA Leïla Sofier et monsieur DOUCENE Radhouane, les ingénieurs de ce laboratoire pour son effort et leurs aides, et leurs conseils et leurs ouvertures d'esprit, et pour en avoir la patience et la gentillesse de répondre à nos innombrables requêtes.

Nous remercions aussi mademoiselle ABBDI Fatima Zohra et madame BABADJI Khadidja pour leurs aides et leurs conseils.

Nous remercions notre collègue ROUANE Mohamed Ilies pour sa participation à nos travaux.

En fin, nos remerciements s'adressent à chacun de nos échanges nous a aidés à faire avancer notre travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre gratitude.

Dédicace

Je dédie ce mémoire ...

*A la plus belle créature que dieux a créée sur terre, à la fleur qui rehausse et aromatise mes jours et la lumière de mes yeux, Ma cher mère **KHALED Khodja Fatiha**. Symbole de tendresse et de sacrifice, ta présence à mes cotés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles. Merci pour son soutien moral pendant toutes mes longues années d'études et pour tout l'amour qu'elle ma donnée. Que Dieux te garde pour nous.*

A mon très cher père (Que dieu aie son âme).

*A mes chères frères **KHALED** et **MOHAMMED**.*

*A mes très chères sœurs **FATIMA** et **FADHOLA** et **WASSILA** et leurs enfants **Adem, Khalil, Wissal, Sirine, Bissane**.*

*A mes belles binômes **SEKOURA** et **ASSIA** je partagé avec elles les joies et les difficultés au suivi de notre travail.*

*A mes chères copines **Sekoura, Ikram, Amina, Lamia, Sabrina** qui ont partagé toutes les bons et les mauvais moments avec moi.*

*A tous personnes qui connaissent et aime **IKRAM***

Hirech Ikram

Dédicace

Je dédie ce travail :

*A mon très cher père **AOUED**, qui a été et sera toujours un exemple pour moi par ses qualités humaines, son honnêteté et sa responsabilité, je lui dédie avec fierté ce mémoire qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui.*

*A ma très chère et jolie mère du monde, le symbole de tendresse et de sacrifices qui ma supportée et m'a aidée dans les pires moments, car tu as toujours cru en moi, je suis que je suis maintenant, merci infiniment **maman**.*

*A mon oncle **Monsieur BENHEBAL Elhadj**, pour son
aide et ces conseils*

*A mes chères sœurs : **Hadjer, Bouchra, Marwa et Nadjah** En témoignage de l'attachement et de l'amour que je porte pour vous, je vous dédie ce travail.*

*A mes chers frères : **HAMZA et BILAL***

*A mes adorables petits anges **Elhassan & Elhossain***

*A mes belles copines : **KHADIDJA et WUSSEM** qui ont partagé toutes les bons et les mauvais moments avec moi.*

*A mes belles binômes **SEKOURA et IKRAM** je partagé avec elles les joies et les difficultés au suivi de notre travail.*

*A tous personnes qui connaissent et aime **ASSIA***

BENHEBAL ASSIA

Dédicace

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont cher

*A la chose la plus précieuse que j'ai, qui m'a donné la vie, Mon cher père **BELKACEM** qui a été mon ombre durant toutes les années des études, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite. Merci papa. Que dieu te protège et te donne longue vie.*

*A ma cher mère **ABDELLAOUI Dalila**, ma raison d'être, ma raison de vivre, la lanterne qui éclaire mon chemin et m'illumine de douceur et d'amour. Je vous remercie pour tout le soutien que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. Ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés le fruit de vos innombrables sacrifices. Que dieu vous donne le bonheur et la longue vie.*

*A ma deuxième mère **ROSA**, que j'aime trop je ne saurais point te remercier comme il se doit. Que dieu te protège.*

*A mes chers frères : **IBRAHIM, KHIER EDDINE**, et mon petit **ISMAIL***

*A mes chers oncles **NACEUR** et **LARBI** et leurs **FEMMES**.*

*A mes chères sœurs : **MANAL, FATIMA, IMANE** et **WAHIBA***

A tous mes plus belles Tante du monde et leurs maris, merci pour votre soutien plus que précieux dans tous les moments.

*A mes chers binômes **IKRAM** et **ASSIA** je partagé avec elles les joies et les difficultés au suivi de notre travail.*

A mes chères copines et chères sœurs Sabrina, Ikram, Lamia, Amina, Wahida qui ont partagé toutes les bons et les mauvais moments avec moi.

Pour l'âme de ma chère grand-mère (Que dieu aie son âme).

BENAZZOUG SEKOURA

Table des matières

Résumé

Liste des Figures-----	I
Liste des Tableaux-----	II
Liste des Abréviations-----	III
Introduction -----	1

Partie expérimentale

Chapitre I. Matériel et méthodes

I.1 Objectifs de travail -----	9
I.2 Lieu de travail-----	9
I.3 Matériel et Méthodes-----	9
I.3.1 Verreries et appareillage -----	9
I.3.2 Matériels végétaux-----	10
I.3.2.1 Préparation du matériel végétal pour les extraits.....	10
I.3.2.2 Extraction à l'hydro-éthanolique.....	10
I.3.3 Rendement d'extraction-----	12
I.4 Activité antibactérienne-----	12
I.4.1 Préparation d'inoculum bactérien -----	12
I.4.2 Evaluation d'activité antibactérien -----	12
I.5 Evaluation d'activité antibiofilm -----	12
I.5.1 Évaluation de la capacité des souches testées à former un biofilm-----	12
I.5.2 Activité anti-biofilm-----	13
I.5.2.1 Prévention de la formation du biofilm.....	13
I.5.2.2 Destruction de biofilm formé.....	15
I.5.3 Evaluation d'activité antibiofilm dans le matériel biomédicale (sonde urinaire)--	15
I.5.3.1 Prévention de la formation du biofilm.....	15
I.5.3.2 Destruction de biofilm formé.....	15
I.6 Analyses statistiques -----	15

Chapitre II. Résultats et discussion

II.1 Rendement d'extraction -----	18
II.2 Évaluation de l'activité antibactérienne -----	19

II.3	Evaluation de l'activité antibiofilm -----	22
II.3.1	Technique Rouge Congo-----	22
II.3.2	La capacité d'inhibition de la formation de biofilm (48h/ 5 jours) -----	23
II.3.2.1	Après 48h.....	23
II.3.2.2	Après 5 jours.....	23
II.3.3	Destruction de biofilm produite par <i>S. aureus</i> R et I à 48 h et 5 jours -----	24
II.3.3.1	Après 48 h de production.....	24
II.3.3.2	Après 5 jours de production.....	25
II.3.4	La capacité d'inhibition de la formation de biofilm dans les sondes urinaires (48h/ 5 jours)-----	26
II.3.4.1	Après 48h.....	26
II.3.4.2	Après 5 jours.....	26
II.3.5	Destruction de biofilm produite par <i>S. aureus</i> R et I dans les sondes urinaires (48h et 5jours) -----	27
II.3.5.1	Après 48h.....	27
II.3.5.2	Après 5 jours.....	27

Conclusion

Conclusion -----	31
------------------	----

Références Bibliographiques

Annexes

Résumé

Les biofilms sont souvent responsables d'infections chroniques, nosocomiales et associées à des dispositifs médicaux. Ils sont résistants aux antibiotiques, ce qui rend ces derniers inefficaces dans le traitement.

Dans cette étude, nous explorons des solutions alternatives d'origine naturelle basées sur l'utilisation de plantes médicinales, ainsi que des approches thérapeutiques avancées pour prévenir et traiter les biofilms formés par la bactérie *Staphylococcus aureus* isolée et référencée.

Cette étude avait pour but d'évaluer l'activité antibactérienne et antibiofilm des extraits hydroéthanoliques de *Salvia officinalis* et de *Lupinus albus*.

Le rendement (%) de l'extrait éthanolique de *S. officinalis* est de 12,74% et de 13,24% pour *L. albus*.

Le pouvoir antibactérien de l'extrait éthanolique de *S. officinalis* a montré une forte inhibition contre *S. aureus* R et I, avec des zones d'inhibition de $19 \pm 5,29$ et $18,83 \pm 0,76$ mm respectivement, tandis que l'extrait éthanolique de *L. albus* a été capable d'inhiber les souches testées, avec une zone d'inhibition significative contre *S. aureus* I de $17 \pm 4,35$ et $11,83 \pm 0,76$ mm contre *S. aureus* R.

En outre, l'activité antibiofilm montre une puissante capacité à inhiber la formation du biofilm et à détruire le biofilm formé par les souches R et I de *S. aureus*, avec des taux très élevés atteignant 94,14 %, 97,07 % pour *S. officinalis* et 97,41 %, 92,80 % pour *L. albus*, respectivement. De même, les extraits ont une grande capacité à bloquer la formation et à éradiquer le biofilm dans les cathéters urinaires.

Mots clé : *Salvia officinalis*, *Lupinus albus*, *S. aureus* R et I, composés bioactifs, antibactérienne, antibiofilm, sondes urinaires.

Abstract

Biofilms are often responsible for chronic, nosocomial and medical device-associated infections. They are resistant to antibiotics, making the latter ineffective in treatment.

In this study, we explore alternative solutions of natural origin based on the use of medicinal plants, as well as advanced therapeutic approaches to prevent and treat biofilms formed by isolated and referenced *Staphylococcus aureus* bacteria.

The aim of this study was to evaluate the antibacterial and antibiofilm activity of hydroethanolic extracts of *Salvia officinalis* and *Lupinus albus*.

The yield (%) of the ethanolic extract of *S. officinalis* was 12.74% and 13.24% for *L. albus*.

The antibacterial potency of the ethanolic extract of *S. officinalis* showed strong inhibition against *S. aureus* R and I, with zones of inhibition of 19 ± 5.29 and 18.83 ± 0.76 mm respectively, while the ethanolic extract of *L. albus* was able to inhibit the strains tested, with a significant zone of inhibition against *S. aureus* I of 17 ± 4.35 and 11.83 ± 0.76 mm against *S. aureus* R.

Furthermore, the antibiofilm activity shows a powerful ability to inhibit biofilm formation and destroy biofilm formed by *S. aureus* strains R and I, with very high rates reaching 94.14%, 97.07% for *S. officinalis* and 97.41%, 92.80% for *L. albus*, respectively. Similarly, the extracts have a high capacity to block the formation and eradicate biofilm in urinary catheters.

Key words: *Salvia officinalis*, *Lupinus albus*, *S. aureus* R and I, bioactive compounds, antibacterial, antibiofilm, urinary catheters.

الملخص

غالبًا ما تكون الأغشية الحيوية مسؤولة عن العدوى المزمنة و عدوى المستشفيات المرتبطة بالأجهزة الطبية. لأنها مقاومة للمضادات الحيوية، مما يجعل هذه الأخيرة غير فعالة في العلاج.

في هذه الدراسة، نستكشف حلولًا بديلة من أصل طبيعي تعتمد على استخدام النباتات الطبية، فضلاً عن الأساليب العلاجية المتقدمة لمنع وعلاج الأغشية الحيوية التي تكونها بكتيريا *Staphylococcus aureus* المعزولة والمشار إليها.

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والغشاء الحيوي لمستخلصات الهيدروإيثانول من نبات *Salvia*

lupinus albus و *officinalis*

المحصول (%). من المستخلص الإيثانولي لـ *S. officinalis* هو 12.74% و 13.24% لـ *L. Albus*.

أظهرت الفاعلية المضادة للبكتيريا للمستخلص الإيثانولي لـ *S. officinalis* تثبيطًا قويًا ضد *S. aureus R* و *I* ، مع مناطق تثبيط 19 ± 5.29 و 18.83 ± 0.76 مم على التوالي ، بينما كان المستخلص الإيثانولي لـ *L. albus* قادرًا على تثبيط *S. aureus* ، مع منطقة تثبيط معنوية ضد بكتيريا *S. aureus I* تبلغ 17 ± 4.35 و 11.83 ± 0.76 ملم ضد *S. aureus R*.

بالإضافة إلى ذلك، يظهر نشاط الغشاء الحيوي المضاد قدرة قوية على تثبيط تكون الأغشية الحيوية وتدمير الأغشية الحيوية المكونة من سلالات المكورات العنقودية الذهبية *R* و *I* ، بمعدلات عالية جدًا تصل إلى 94.14%، 97.07% لـ *S. officinalis* و 97.41%، 92.80% لـ *L. Albus* ، على التوالي. وبالمثل، فإن المستخلصات لها قدرة كبيرة على منع تكون الأغشية الحيوية والقضاء عليها في القسطرة البولية.

الكلمات الدالة: *S. officinalis* ، *L. Albus* ، *Staphylococcus. aureus I et R* ، مركبات نشطة بيولوجيا ، مضاد للبكتيريا، مضاد حيوي ، قنطير بولي

Liste Des Figures

Figure 1 : Poudre des plantes <i>S. officinalis</i> et <i>L. albus</i>	10
Figure 2 : Diagramme des différentes étapes d'extraction.....	11
Figure 3 : Diagramme des différentes étapes de l'activité anti biofilm.....	14
Figure 4 : (a) Formation de biofilm, (b) traitement par le Cristal violet.....	15
Figure 5 : Test de l'activité antibiofilm de <i>S. officinalis</i> et <i>L. albus</i> sur les morceaux de sonde urinaire.....	15
Figure 6 : Rendement des extraits éthanolique des plantes.....	18
Figure 7 : Zone d'inhibition de l'extrait d'hydroéthanolique sur <i>S. aureus</i> R et I.....	19
Figure 8 : Résultats d'activité antibactérienne d'extrait hydro-éthanolique de <i>S. officinalis</i> ..	20
Figure 9 : Résultats d'activité antibactérienne d'extrait hydro-éthanolique <i>L. albus</i> . ..	21
Figure 10 : Résultats d'activité antibactérienne d'extrait hydro-éthanolique des contrôles. ..	22
Figure 11 : Phénotype de la production de biofilm sur RCA.....	22

Liste des tableaux

Tableau 1 : Matériel utilisé	9
Tableau 2 : Pourcentage d'inhibition de la formation de biofilm par <i>S. officinalis</i>	25
Tableau 3 : Pourcentage d'inhibition de la formation de biofilm par <i>L. albus</i>	25
Tableau 4 : Pourcentage d'inhibition de la formation de biofilm dans les sondes urinaire par <i>S. officinalis</i>	27
Tableau 5 : Pourcentage d'inhibition de la formation de biofilm dans les sondes urinaire par <i>L. albus</i>	28

Liste des Annexes

- Annexe N°1** : Préparation des extraits éthanoliques.
- Annexe N°2** : Activité antibactérienne.
- Annexe N°3** : Activité antibiofilm des extraits éthanoliques.
- Annexe N° 4** : Activité antibiofilm dans les sondes urinaires.
- Annexe N°5** : Composition des milieu de culture.

Liste des abréviations

SI : *Staphylococcus aureus* Isolée

SR : *Staphylococcus aureus* Référencé

S. officinalis : *Salvia officinalis*

L. albus : *lupinus albus*

UV : ultra-violet

RCA: rouge Congo agar

Eps: exopolysaccharides

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ATCC : American Type Culture Collection

S. marashika: *Salvia marashika*

Introduction

Actuellement, avec l'augmentation du nombre de micro-organismes pathogènes, la santé publique est un sujet de préoccupation majeur. En effet, la résistance croissante des microbes aux antibiotiques conduit parfois à l'inefficacité des traitements, ce qui nécessite la recherche de nouveaux agents antimicrobiens (**Benkharara et al., 2011**).

Les staphylocoques sont des micro-organismes très répandus qui cohabitent le plus souvent avec des organismes hôtes où ils provoquent une grande variété d'infections chez l'homme (**Davido. 2010 ; Bissingou. 2019**). Les *S. aureus* sont des cocci à Gram positif, présents sur la peau humaine et animale et dans les cavités muqueuses des hôtes en tant que microflore, pouvant agir comme un pathogène opportuniste, causant des maladies infectieuses (**Feyissa et al., 2023**). En outre, cette bactérie est reconnue universellement comme l'une des principales causes d'infections intramammaires chez les vaches laitières. Ce micro-organisme est capable de produire une large gamme de facteurs pathogènes qui lui permettent de s'attacher, de coloniser, d'envahir et d'infecter l'hôte, Il est responsable de plus de 80% des infections mammaires chez les vaches, conduisant au développement de mammites. (**Monistero et al., 2018**). La pathogénicité de *S. aureus* est liée à des facteurs de virulence tels que la résistance aux médicaments, la production d'entérotoxine et le développement de biofilms (**Shettigar et Murali, 2020**). Selon l'Institut national de la santé, 80 % des infections microbiennes sont dues à des micro-organismes formant des biofilms (**Jamal et al., 2018**).

Les biofilms bactériens sont des communautés de cellules bactériennes attachées à une surface et intégrées dans une membrane polymère. Elles adhèrent à la fois aux surfaces biotiques, telles que les cellules des muqueuses, et aux surfaces abiotiques, telles que les sols ou les équipements dans les fermes, les abattoirs ou les usines de transformation (**Sauer et al., 2022 ; Yannick et al., 2014**). Leur matrice est constituée de polysaccharides, de protéines, d'amyloïdes, de lipides et d'ADN extracellulaire, ainsi que de vésicules membranaires et de substances réfractaires de type humique d'origine microbienne (**Flemming et al., 2023**).

Il est intéressant de souligner que les caractéristiques des biofilms offrent aux micro-organismes une protection contre les conditions environnementales et renforcent leur résistance aux agents antimicrobiens et aux biocides tels que les antibiotiques et les désinfectants, contribuant ainsi à la persistance et à la virulence des micro-organismes et jouant un rôle crucial dans le mécanisme de survie des bactéries (**Liu et al., 2023**).

Les biofilms jouent un rôle majeur dans de la plupart des infections humaines. En effet, ils sont responsables de près de 65 % des infections, dont 80 % des infections bactériennes

chroniques et 60 % des infections nosocomiales. **(Roux et Ghigo, 2006 ; Chalvet. 2009)**. En effet, 25 à 40 % des infections nosocomiales sont des infections urinaires, dont 90 % sont associées à l'utilisation de sondes urinaires, et ont un impact considérable sur la morbidité, la mortalité et les coûts des soins de santé **(Ghanwate et al., 2014 ; Hounane. 2011; Miranda. 2017)**.

Dans de nombreux cas, les infections urinaires associées aux cathéters peuvent être asymptomatiques, mais une fois développées, elles sont souvent difficiles à traiter et représentent un réservoir considérable d'agents pathogènes résistants **(Tambyah. 2004)**. Au cours des dernières décennies, de nombreuses tentatives ont été faites pour recouvrir les surfaces des cathéters avec des revêtements tels que des antibiotiques, des polymères, etc. afin d'inhiber la colonisation bactérienne **(Wong et al., 2019)**.

Au cours des 20 dernières années, l'efficacité des antibiotiques en tant qu'agents bactéricides a progressivement diminué en raison de leur utilisation croissante et parfois inappropriée, ce qui a conduit de nombreuses souches bactériennes à commencer à s'adapter et à développer une résistance aux antibiotiques par la formation de biofilms, leur permettant de développer des facteurs de virulence et de survivre même en présence de fortes concentrations d'antibiotiques **(Obeizi. 2020)**. L'élimination de ces bactéries résistantes est un défi majeur dans le domaine médical, car il n'existe pas de produits commerciaux efficaces **(Wong et al., 2019 ; Matyar et al., 2008)**.

Dans ce contexte, les chercheurs se tournent vers les produits naturels, tels que ceux issus des plantes médicinales, comme agents alternatifs grâce à leur richesse en composés bioactifs. Ces derniers ont l'avantage d'avoir moins d'effets indésirables sur la santé.

Depuis l'Antiquité, les plantes médicinales ont joué un rôle essentiel dans le maintien de la santé des individus et la survie de l'humanité **(Iserie. 2001 ; Machiex et al., 2005 ; Castagna et al., 2022)**.

Bien que les chimistes aient fait des efforts considérables pour synthétiser de nouvelles molécules, plus de 25 % des médicaments prescrits dans les pays développés sont dérivés à partir de plantes **(Benkherara et al., 2011)**. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), les pays en développement sont encouragés à intégrer les remèdes à base de plantes dans leurs systèmes de santé officiels, sous réserve que leur sécurité, leur efficacité et leur qualité soient garanties **(Bouzabata. 2017)**.

En Algérie, l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques à des fins industrielles dans les secteurs cosmétique, pharmaceutique et alimentaire reste largement inexploitée (**Miara et al., 2013**). Pourtant, le pays dispose d'une réserve de remèdes à base de plantes et d'un savoir-faire ancré dans la médecine traditionnelle, tant pour les soins humains que vétérinaires (**Bouzabata, 2017**).

Parmi les plantes les plus utilisées dans la pharmacopée algérienne figurent la sauge (*Salvia officinalis*) et le lupin blanc (*Lupinus albus*), en raison de leur forte teneur en composés bioactifs (**Bekats et al., 2005 ; Bouteldja et al., 2021 ; Rabai et al., 2021**).

La sauge, également connue sous le nom de "sauge", est une plante réputée pour ses vertus médicinales qui ont un impact positif sur la vie humaine (**Iserie et al., 2001**). Le terme "sauge" dérive d'un mot signifiant "guérir", ce qui résume la croyance populaire en ses propriétés thérapeutiques magiques (**Bors et al., 2003**). Cette plante appartient à la famille des Lamiacées. Elle est originaire du Moyen-Orient et des régions méditerranéennes, mais s'est répandue dans le monde entier. Elle atteint une hauteur de 30 à 60 cm, avec des tiges ramifiées, quadrangulaires et velues. Ses feuilles sont ovales et allongées, de couleur gris verdâtre en raison de la pubescence cotonneuse de la face inférieure, et dégagent une odeur aromatique caractéristique (**Ghorbani et Esmailizadeh, 2017 ; Benkharara et al., 2011**).

S. officinalis présente un intérêt considérable en cosmétologie, en raison de sa composition chimique comprenant des éléments essentiels tels que des alcaloïdes, des tanins, des glycosides, des flavonoïdes, ainsi que des vitamines E et C. Ces composants chimiques ont démontré des effets biologiques tels que l'inhibition de bactéries pathogènes et la réduction de nombreuses pathologies (**Liu et al., 2023 ; Radulescu et al., 2004**). Outre ses bienfaits pour la santé, cette plante a également été utilisée pour traiter divers troubles, notamment les ulcères, les rhumatismes, les inflammations de la bouche, les abcès, les vertiges, les tremblements, la diarrhée et l'hyperglycémie (**Djerroumi et Nacef, 2004**).

Le lupin blanc, connu sous le nom de *Lupinus albus* L., est une espèce de plante du genre *Lupinus* de la famille des Fabaceae. Il s'agit d'une légumineuse annuelle cultivée, non indigène, qui peut atteindre une hauteur d'environ 120 cm, possède une tige robuste associée à des racines secondaires et peut pénétrer dans le sol jusqu'à une profondeur d'environ 1,5 mètre (**Pereira et al., 2022**).

L. albus possède une multitude de composés bioactifs tels que des flavonoïdes, des alcaloïdes, des glycosides cardiaques et des terpénoïdes, qui jouent un rôle crucial dans l'inhibition des bactéries pathogènes. Par conséquent, cette plante a un grand potentiel en tant qu'antibiotique naturel (**Rabai et al., 2021**).

Le lupin blanc est largement reconnu pour ses propriétés nutritionnelles exceptionnelles, notamment sa teneur élevée en protéines et en fibres alimentaires. Ces caractéristiques en font un aliment particulièrement bénéfique pour la santé. De plus, depuis des milliers d'années, cette plante est utilisée dans le traitement de certaines maladies en raison de la présence de composants nutritionnels et bioactifs qui offrent des avantages thérapeutiques (**Prusinski et al., 2017 ; Pereira et al., 2022**).

La présente étude a évalué l'activité antibactérienne des extraits de *S. officinalis* et de *L. albus* contre des *S. aureus* isolés et référencés, examiné leur capacité à inhiber la formation et la destruction du biofilm produit par les deux souches testées, et estimé la capacité des extraits à inhiber et détruire le biofilm produit sur les cathéters urinaires. En conséquence, l'utilisation de ces extraits de plantes médicinales comme alternative aux antibiotiques a été renforcée.

Partie
Expérimentale

Chapitre I

Matériels et Méthodes

I.1 Objectifs de travail

- ✚ Valorisation des extraits éthanoliques de *Salvia officinalis* L. et de *Lupinus albus* L. dans le domaine thérapeutique.
- ✚ Déterminer leurs propriétés antibactériennes contre *Staphylococcus aureus* isolé et autre référencé.
- ✚ Examiner leur capacité à inhiber la formation et la destruction du biofilm produit par les deux souches testées.
- ✚ Estimer la capacité des extraits à inhiber et à détruire le biofilm produit sur les cathéters urinaires.

I.2 Lieu de travail

La présente étude est effectuée au sein du Laboratoire d'hygiène et pathologie animal, Université ibn khaldoun, Tiaret, sur une période allant du 02 février au 15 mai 2023.

I.3 Matériel et Méthodes

I.3.1 Verreries et appareillage

Tableau 1 : Matériel et les produits utilisé

Verreries	Appareillages	Réactifs	Les milieux de cultures
-Lames et lamelles -Boîtes de pétrie -Tubes à essai/Tubes sec -Les flacons -Béchers -Pipette pasteur/Écouvillons stériles -Verre de montre -Eprouvette -Entonnoir -Erlenmeyer -Spatule -Papier filtre	- Bain marie, Bec bunsen -Etuve, Secouer -Vortex (Wise mix VM-10) -Spectrophotomètre (Biochrom-Libra S6) -Broyeur -Microscope optique (Cimex) -Agitateur magnétique -Autoclave -Balance analytique (OHAU5) -Stérilisateur UV (AIR FLOW CJ-20) -Hôte bactériologique -Micropipette (1000 UI) / (250 UI) -Tamis (250 Um)	Les antibiotiques : -Navobiocine 30µg -Amikacin 30µg -Cefoxitin 30 µg -Spiramycine 100 µg -Tetracycline 30 µg Produit chimique : -Ethanol -Violet de Gentiane -Lugol -Fuchsine -Huile d'immersion -Cristal violet	Milieux liquides : -Bouillon nutritif - Bouillon glucosé Milieux solides : - Muller Hinton -Gélose nutritive -Chapman -Chromagar -Milieu Gélose rouge Congo (GRC)

I.3.2 Matériels végétaux

I.3.2.1 Préparation du matériel végétal pour les extraits

La partie aérienne de *S. officinalis* a été récoltée dans la région de Tiaret pendant la période de floraison en mars 2022, et les graines de *L. albus* ont été achetées auprès d'herboristes de la région de Tiaret. Les deux plantes ont été lavées, ensuite séchées à l'air, broyées et tamisées pour obtenir une poudre homogène (Rabai et al., 2021).

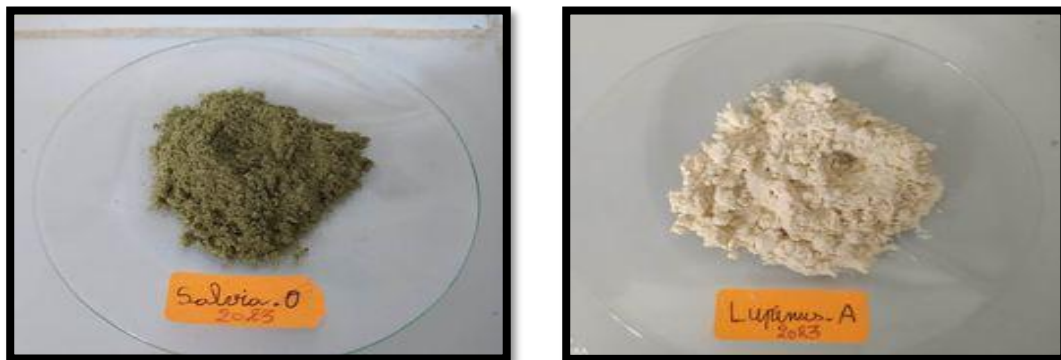


Figure 1 : Poudre des plantes *S. officinalis* et *L. albus*.

I.3.2.2 Extraction à l'hydro-éthanolique

Les extraits hydro-éthanoliques de *S. officinalis* et *L. albus* ont été préparés par macération de 20 g de poudre dans 200 ml d'éthanol à 80% à température ambiante pendant 24 h sous agitation (Bouteldja et al., 2021). Après 24 h, le mélange a été filtré sur papier filtre et le filtrage a été évaporé à 40°C pour obtenir un résidu sec (Figure N°2).

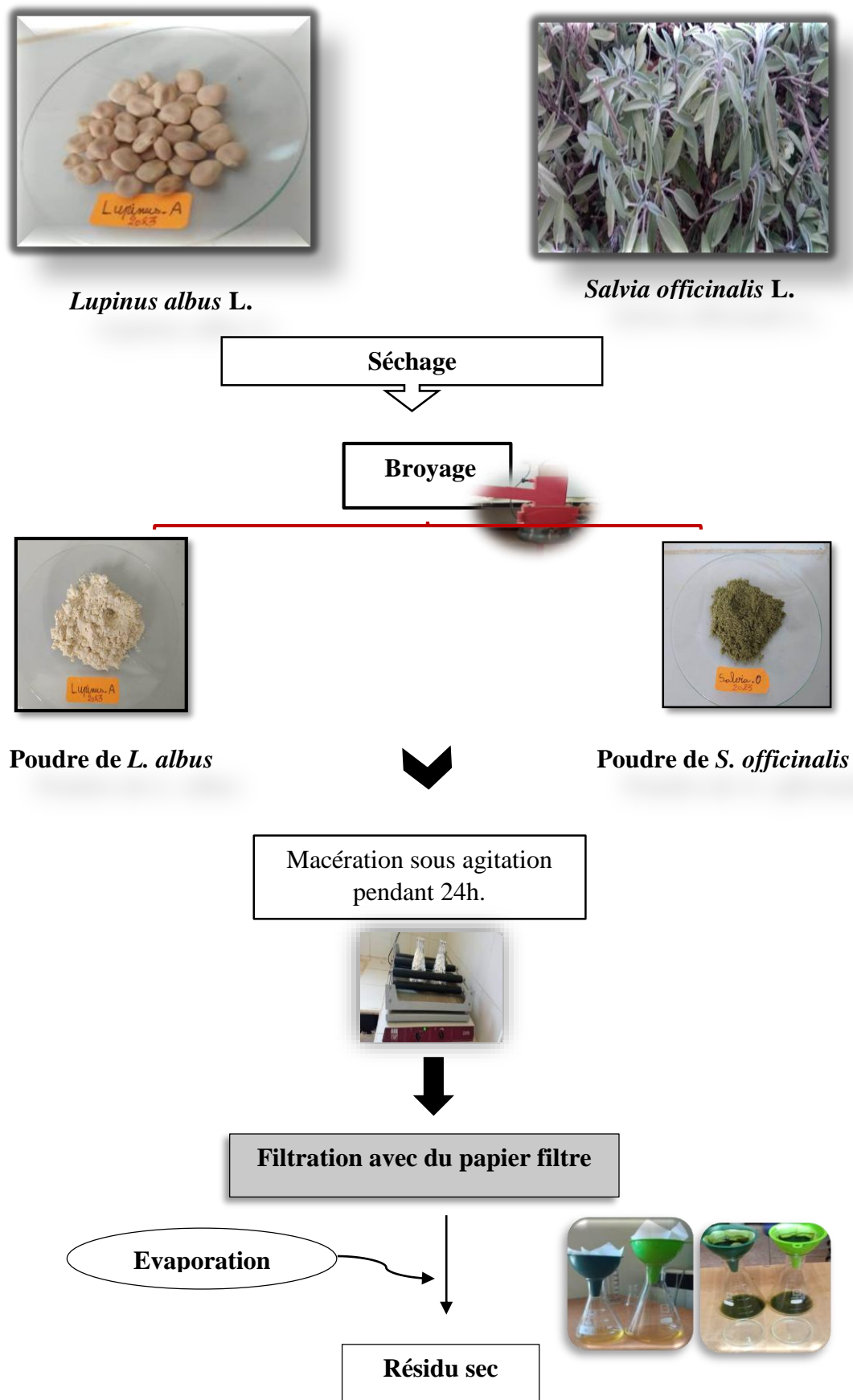


Figure 2 : Diagramme des différentes étapes d'extraction.

I.3.3 Rendement d'extraction

Le taux de rendement de l'extrait d'hydro-éthanolique (80 %) de *S. officinalis* et de *L. albus* a été estimé à l'aide de la formule suivante :

$$R (\%) = (M_r/M_v) * 100$$

Avec : R (%) : résidu sec en pourcentage, Mr : masse en g de résidu sec et Mv : masse en g de matériel végétal à traiter (Taadaouit et al., 2012).

I.4 Activité antibactérienne

I.4.1 Préparation d'inoculum bactérien

La suspension bactérienne a été préparée à partir d'une jeune culture de 18 heures. Elle est mélangée à de l'eau physiologique stérile en vue d'une standardisation à l'échelle de 0,5 Mcfarland via un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625nm (Bekhichi et al., 2008).

I.4.2 Evaluation d'activité antibactérien

Le pouvoir antibactérien des extraits éthanoliques de *S. officinalis* et de *L. albus* contre les souches testées a été évalué à l'aide de la méthode de diffusion par puits. Des puits de 6 mm de diamètre ont été creusés dans des boîtes de pétri de gélose Mueller Hinton et inoculés avec une suspension bactérienne (*S. aureus* R et I) normalisée à l'échelle de 0,5 Mcfarland. Ces boîtes ont été remplies de 10 µl d'extrait éthanolique de *S. officinalis* et de *L. albus* à une concentration de 25 mg/ml. Des disques d'antibiotiques ont été utilisés comme témoins. Après 24 heures d'incubation, les zones d'inhibition ont été mesurées en millimètres à l'aide d'un pied à coulisse (Tepe et al., 2004 ; Klancnik et al., 2010).

I.5 Evaluation d'activité antibiofilm

I.5.1 Évaluation de la capacité des souches testées à former un biofilm

La méthode du rouge Congo est utilisé pour évaluer la capacité de *S. aureus* R et I à produire un biofilm. Le protocole suivi est celui décrit par Hasanvand et al., 2019, avec quelques modifications :

1. Les boîtes de Pétri sont versées avec de la gélose Mueller Hinton à 5% de saccharose et complétées avec 0,8g/l de rouge Congo à l'état liquide et laissées à se solidifier.
2. Les souches sontensemencées et incubées à 37°C pendant 24 heures.
3. Après incubation, les colonies noires indiquent les souches productrices de biofilm et les colonies rouges indiquent les non-producteurs.

I.5.2 Activité anti-biofilm

Après avoir sélectionné les souches productrices de biofilm, les extraits ont été testés pour leur activité anti biofilm en utilisant la méthode Cristal Violet pendant deux phases du déroulement du biofilm : A) la prévention de la formation du biofilm, B) la destruction du biofilm formé pendant 48 heures et 5 jours.

I.5.2.1 Prévention de la formation du biofilm

Deux séries de 9 dilutions de l'extrait hydro-éthanolique des deux plantes ont été préparées dans un bouillon nutritif glucosé (25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3,12 ; 1,56 ; 0,7 ; 0,39 ; 0,19 ; 0,09mg/ml). Un volume égal de suspension bactérienne standardisée avec une concentration de 10^6 ufc/ml a été ajouté à chaque tube pour les deux souches bactériennes testées. Une série a été incubée pendant 48 heures et l'autre pendant 5 jours à 37°C.

Après incubation, les tubes ont été vidés, lavés trois fois à l'eau distillée et séchés à l'air. Ils ont ensuite été traités avec une solution de cristal violet à 1% pendant 30 minutes. L'excès de colorant a été éliminé en lavant les tubes avec de l'eau distillée, puis en solubilisant le colorant avec une solution d'éthanol à 95 %. Enfin, une mesure au spectrophotomètre a été réalisée à une longueur d'onde de 625nm pour déterminer le pourcentage d'inhibition (**Famuyide et al., 2019 ; Sofy et al., 2020**). Le pourcentage d'inhibition de la formation de biofilm est mesuré par la formule suivante :

$$[(DO_{\text{Témoin}} - DO_{\text{Echantillon}}) / DO_{\text{Témoin}}] \times 100.$$

Où :

- Contrôle représente la souche bactérienne non traitée.
- Echantillon l'extrait d'hydro-éthanolique des plantes avec la suspension bactérienne.

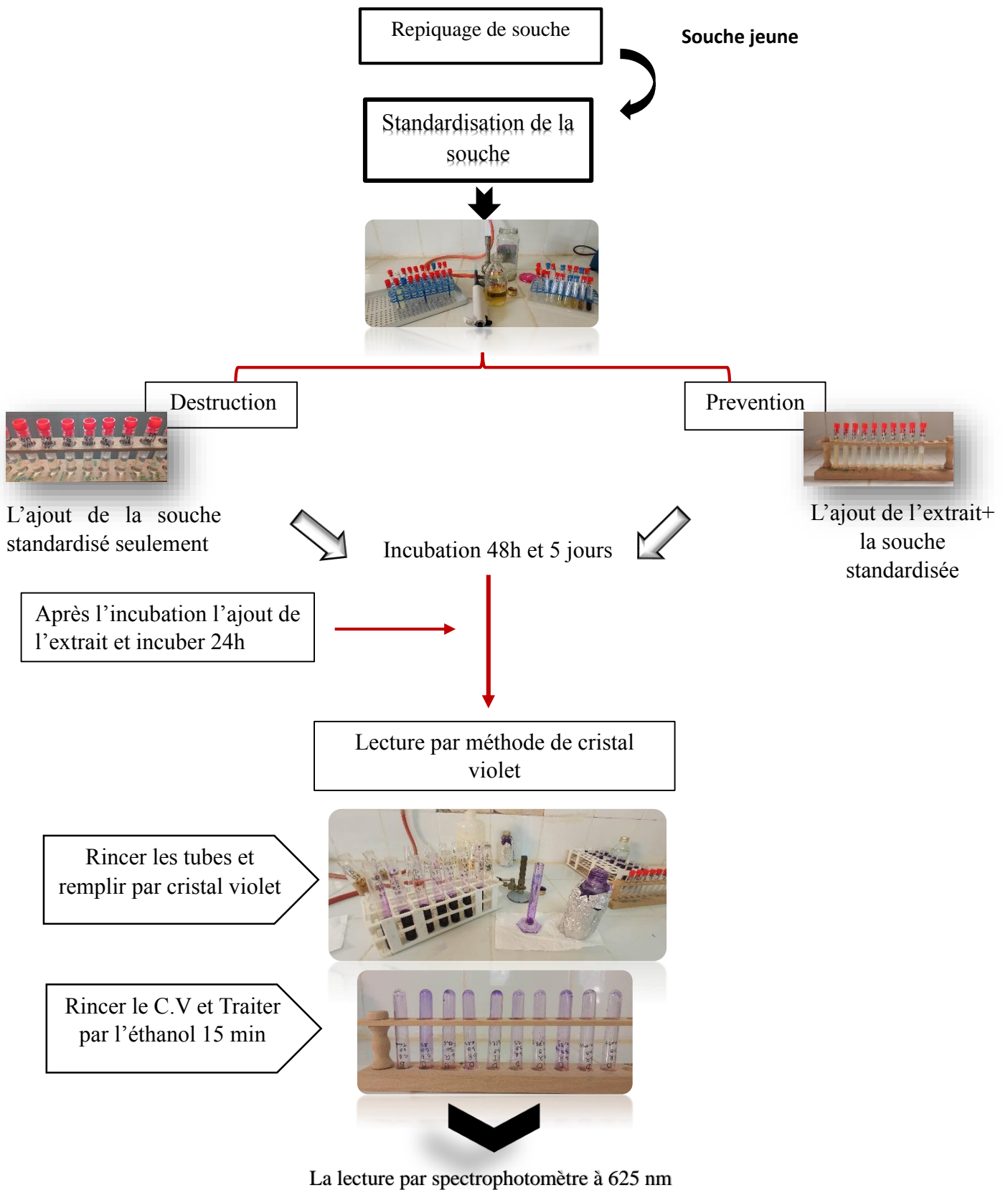


Figure 3 : Diagramme des différentes étapes de l'activité anti biofilm

I.5.2.2 Destruction de biofilm formé

Deux séries de 09 tubes stériles sont remplis d'un volume de 2 ml de suspension bactérienne à une concentration de 10^6 ufc/ml. L'un est incubé pendant 48 jours et l'autre pendant 5 jours à 37°C . A la fin de chaque période d'incubation, 2 ml d'extrait éthanolique (80%) de *S. officinalis* et de *L. albus* sont ajoutés à chaque tube et incubés une seconde fois pendant 24 h à 37°C . Le pourcentage de destruction a été mesuré en utilisant les mêmes procédures que pour la technique du cristal violet décrite ci-dessus (Olawuwo et al., 2022).

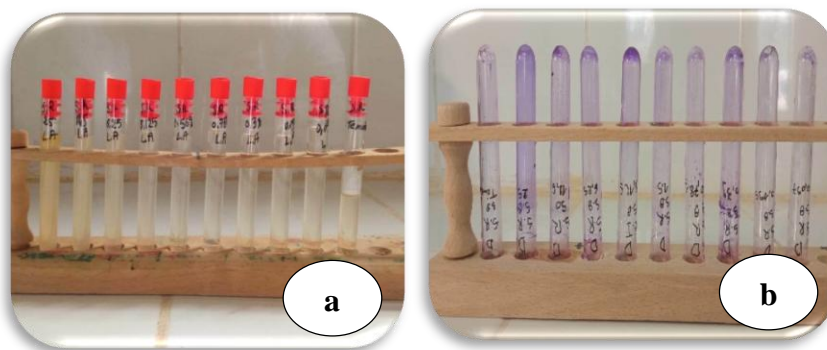


Figure 4 : (a) Formation de biofilm, (b) traitement par le Cristal violet.

I.5.3 Evaluation d'activité antibiofilm dans le matériel biomédicale (sonde urinaire)

S. aureus est l'une des bactéries les plus fréquemment rencontrées en pathologie humaine, pouvant adhérer aux cathéters et autres dispositifs médicaux (Fowler et al., 2001). Dans cette étude, des morceaux de 2 cm de sonde urinaire ont été préparés et placés dans des eppendorfs (Bounghar et al., 2019), ensuite stérilisés au rayonnement UV.

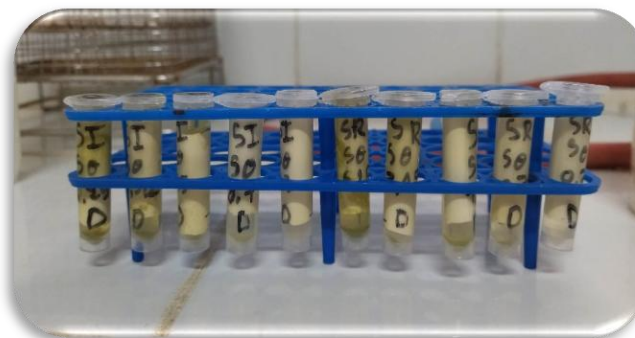


Figure 5 : Test de l'activité antibiofilm de *S. officinalis* et *L. albus* sur les morceaux de sonde urinaire.

I.5.3.1 Prévention de la formation du biofilm

Dans une série d'eppendorf, nous avons introduit 1 ml d'extrait éthanolique à 80% de *S. officinalis* à des concentrations de (6,25 ; 3,125 ; 1,5 ; 0,7 ; 0,3 mg/ml) et pour *L. albus* à 6,25;

0,39 ; 0,195 ; 0,097 mg/ml. Ajouter ensuite 1 ml de suspension bactérienne standardisée "10⁶ ufc/ml" de *S. aureus* R et I dans chaque Eppendorf. Une série d'Eppendorf a ensuite été incubée à 37°C pendant 48 h, et une autre pendant 5 jours.

Après incubation, les eppendorf sont vidés, lavés 3 fois avec de l'eau distillée et séchés à l'air. Ils sont ensuite traités avec 1% de cristal violet pendant 30 minutes, lavés avec de l'eau distillée et remplis d'une solution d'éthanol à 95%. Enfin, des mesures spectrophotométriques ont été réalisées à 625 nm pour déterminer le pourcentage d'inhibition (**Famuyide et al., 2019; Sofy et al., 2021**). Le pourcentage d'inhibition de la formation du biofilm est mesuré par la formule suivante :

$$[(DO_{\text{Témoin}} - DO_{\text{Echantillon}}) / DO_{\text{Témoin}}] \times 100.$$

Avec:

- Témoin : la suspension bactérienne non traité.
- Echantillon : la suspension bactérienne plus l'extrait.

I.5.3.2 Destruction de biofilm formé

Deux séries d'Eppendorf remplir par un volume de 1 ml de la suspension bactérienne standardisé a une concentration de 10⁶ UFC/ml sont incubé à une température de 37°C pendant 48h pour la première série et 5 jours pour la deuxième série. Après le passage de ces durées ont ajoute un volume de 1 ml d'extrait éthanolique (80%) de *S. officinalis* et *L. albus* puis incubé pour la deuxième fois à 37°C durant 24h.

Après l'incubation, éliminer les cellules non adhérentes par les méthodes précédentes et évaluer la biomasse de biofilm attaches aux coupes de sondes par l'analyse de Cristal violet suivant la méthode de **Djordjevic et al., (2002)**.

I.6 Analyses statistiques

Tous les résultats de notre étude sont exprimés sous forme de moyenne ± écart-type. Les résultats ont été élaborés statistiquement à l'aide de Microsoft Excel 2016.

Chapitre II
Résultats et discussion

II.1 Rendement d'extraction

Le rendement atteint à la suite d'une extraction hydroéthanolique à 80% de la partie aérienne de *S. officinalis* est de 12,74%. Ceci est également confirmé par les travaux d'**El ouali et al., 2016**, qui ont montré que l'extrait éthanolique à 80% de la partie aérienne de *S. officinalis* a donné un rendement de 12,30%.

D'autres études ont révélé que l'extrait hydroéthanolique de *S. officinalis* offre un rendement supérieur à ceux des extraits méthanolique et aqueux (**Velic Kovic et al., 2011**).

En outre, les travaux de **Bouharb et de ses collègues en 2014** ont réalisé une comparaison entre les extraits aqueux, éthanolique et hydroéthanolique de *S. officinalis*, dans laquelle ils ont constaté que l'extrait hydroéthanolique était le meilleur solvant d'extraction.

En 2011, **Dellovalle et al.**, Ont révélé que le rendement du résidu sec de *S. officinalis* varie en fonction de plusieurs paramètres, dont l'origine de la plante et le type de solvant.

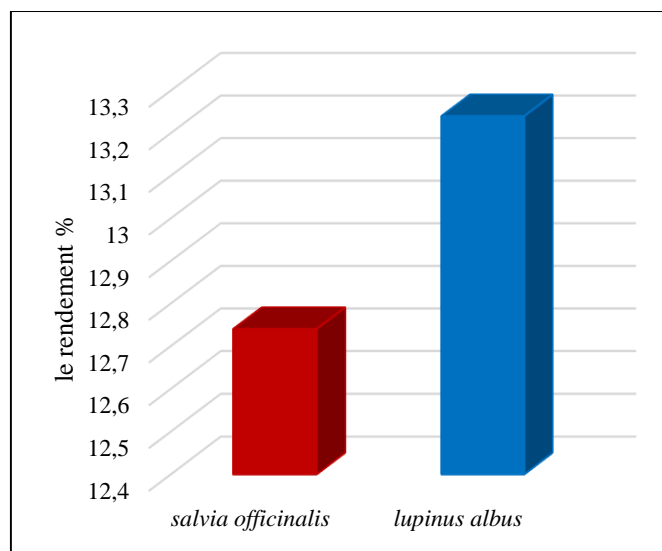


Figure 6 : Rendement des extraits éthanolique des plantes.

En revanche, le rendement obtenu à partir de l'extrait hydro-éthanolique de *L. albus* était de 13,24%. Ceci est en discordance avec les travaux de **Buszewski et al., 2019**, qui ont montré que l'extrait hydro-éthanolique à 96% de *L. luteus* a fourni un faible rendement de 3,25%.

Par ailleurs, une étude comparative réalisée sur les deux espèces de *Lupinus albus* et *varius* portant les différentes parties a permis de constater que l'extrait hydro-éthanolique des grains était supérieur à celui des parties aériennes chez les deux espèces (**El shazly et al., 2001**).

Nos résultats ont montré que l'extrait hydro-éthanolique fournit un rendement important, ce qui pourrait s'expliquer par la polarité accrue du solvant. Ceci est en cohérence avec les

études de Nga et al., 2017, qui ont validé que l'augmentation du résidu sec de l'extrait est associée à l'augmentation de la polarité du solvant, et que l'extrait d'hydro-éthanolique constitue le solvant le plus polaire.

En outre, l'ajout d'eau au solvant organique augmente la solubilité des polyphénols en favorisant sa diffusion au niveau des tissus végétaux ainsi qu'en ajustant la polarité du solvant organique (Mohammedi, 2011).

II.2 Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de *S. officinalis* et de *L. albus* a été réalisée par la technique de diffusion en puits et exprimée sous forme de zone d'inhibition en millimètres (Figure 7).

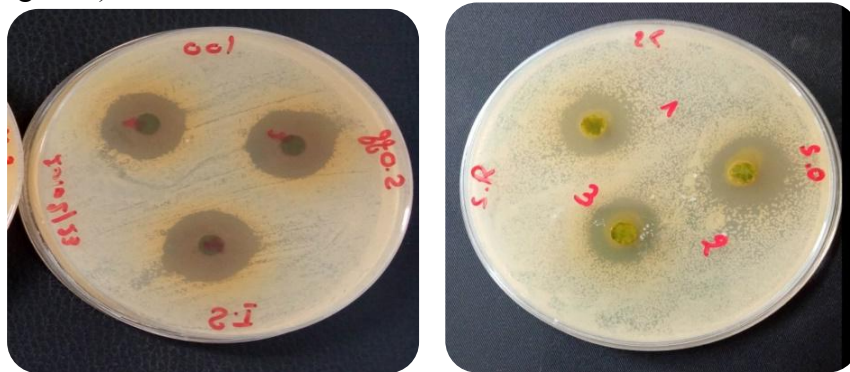


Figure 7 : Zone d'inhibition d'extrait hydroéthanolique sur *S. aureus* R et I.

L'extrait éthanolique de *S. officinalis* a permis d'obtenir un fort pouvoir d'inhibition contre les deux souches testées, avec des zones d'inhibition de $19 \pm 5,29$ et $18,83 \pm 0,76$ mm contre *S. aureus* R et I respectivement (Figure 8).

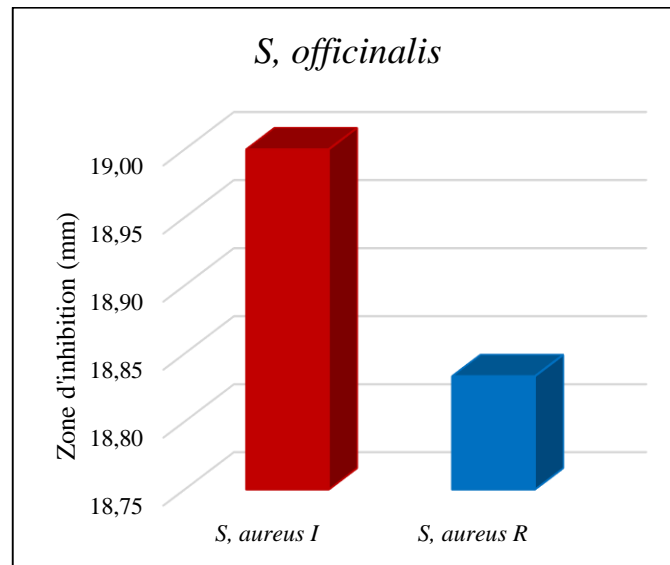


Figure 8 : Résultats d'activité antibactérienne d'extrait hydro-éthanolique de *S. officinalis*.

Ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **VelićKović** et ses collègues (2011), qui ont démontré que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* fournissait une zone d'inhibition de 14,2 mm contre *S. aureus* référence.

En 2017, **Hammoudi et al.** ont rapporté que l'extrait éthanolique de *S. chudaei* exerçait un effet significatif sur *S. aureus* référence.

Par ailleurs, d'autres études prouvent que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* est capable d'inhiber 50 isolats de *S. aureus* provenant d'infections humaines, dont les infections des voies urinaires, les infections respiratoires, les infections de l'oreille, les infections cutanées, les plaies et les abcès (**Mosafa et al., 2014**).

Par ailleurs, **Bensebia et al., (2021)** affirment que les extraits de feuilles de *S. officinalis* sont considérés comme des sources potentielles de médicaments naturels contre les bactéries standard et multi-résistant, qui ont été isolées dans les hôpitaux, y compris *S. aureus*.

En outre, les espèces de *Salvia* sont capables de détruire la plupart des germes résistants, notamment le *S. aureus* (**Benkherara et al., 2015**). Une autre étude, réalisée par **Bozin et ses collaborateurs** en 2007, a révélé que les huiles essentielles de sauge ont de puissants effets antimicrobiens sur diverses souches bactériennes examinées.

L'effet antibactérien de *S. officinalis* est dû à la richesse de la plante en composés bioactifs. Ceux-ci agissent de manière inhibitrice sur les germes pathogènes (**Bouteldja et al., 2021 ; Gortezi et al., 2007**).

En parallèle, l'extrait éthanolique de *L. albus* a été capable d'inhiber *S. aureus* R et I, avec une zone d'inhibition significative contre *S. aureus* R de $17 \pm 4,35$ et $11,83 \pm 0,76$ mm contre *S. aureus* I (Figure 9).

En outre, l'activité des contrôles positifs fournit des activités élevées contre *S. aureus* R et I de ($28 \pm 2,82$ et $33,67 \pm 5,85$ mm) ; ($31 \pm 1,41$ et $36,67 \pm 1,52$ mm) ; ($37,5 \pm 0,7$ et $39 \pm 6,24$ mm) ; ($26 \pm 2,12$ et $24,33 \pm 3,05$ mm) et ($10,5 \pm 0,7$ et 0 mm) pour Amikacin 30ug, Spiramycine (100ug), Novobiocine (30ug), Tetracycline (30ug), Cefoxitin (30ug) respectivement (Figure 9).

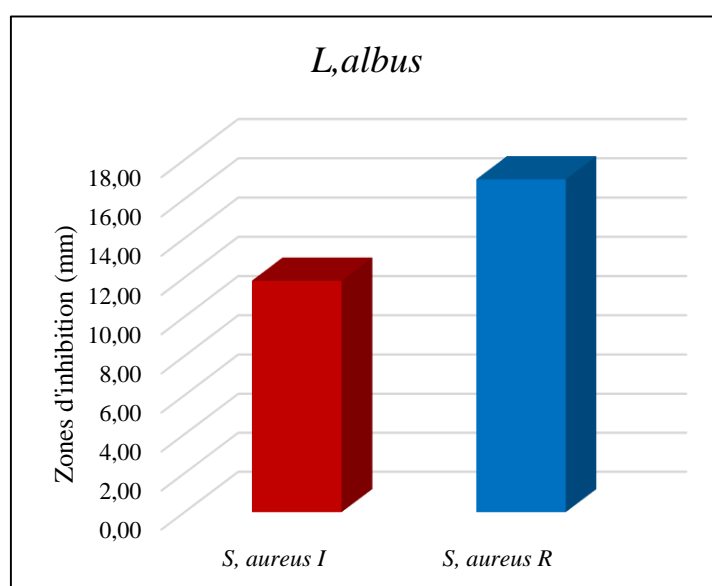


Figure 9 : Résultats d'activité antibactérienne d'extrait hydro-éthanolique *L. albus*.

Ces résultats corroborent ceux trouvés par **Rabai et al., (2021)**, montrant que l'extrait éthanolique fournit une efficacité antibactérienne plus faible que l'extrait méthanolique de *L. albus*. En outre, **Abdel-Shafi et al., 2023** ont rapporté que les protéines de *L. albus* étaient capables d'inhiber la souche de *S. aureus*.

D'autres études ont rapporté que les huiles essentielles de lupinus ont un effet contre les bactéries *S. aureus* (**Al Amrousi et al., 2022**). Cette activité peut s'expliquer par la teneur en composés phénoliques des extraits (**Lampart_szczapa et al., 2003**).

En 2021, **Bouteldja et al.** ont démontré la capacité antibactérienne des extraits de *L. albus* sur plusieurs germes, et ont justifié cette activité par leur richesse en composés bioactifs. Les composés d'origine végétale ont une activité considérable contre les bactéries gram-positives. (**Bakkali et al., 2008**).

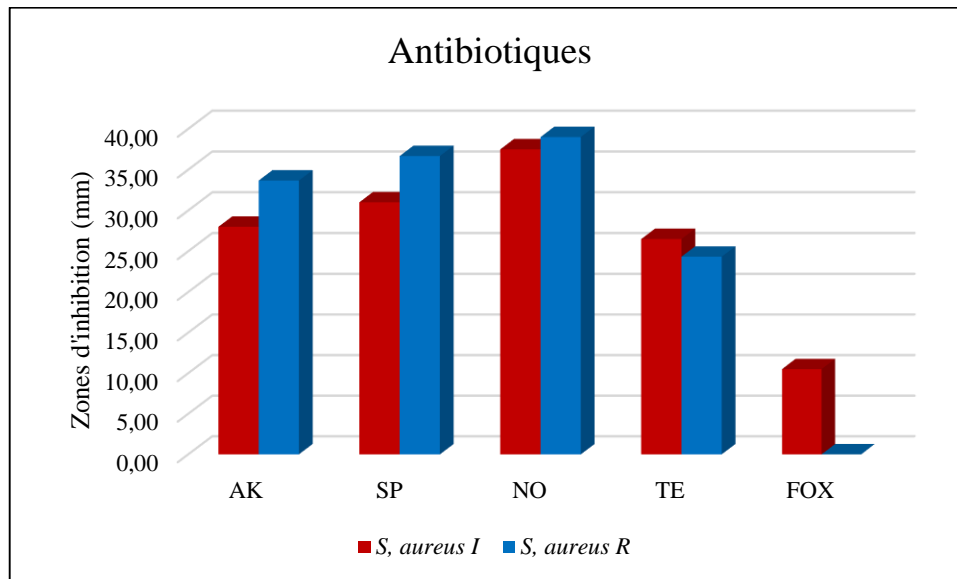


Figure 10 : Résultats d'activité antibactérienne d'extrait hydro-éthanolique des contrôles.

II.3 Evaluation de l'activité antibiofilm

II.3.1 Technique Rouge Congo

La capacité de création de biofilms des deux souches de *S. aureus*, l'une isolée et l'autre référencée "ATCC", a été évaluée par la méthode du rouge Congo sur milieu Gélose Muller Hinton et Gélose nutritif après incubation ; les résultats sont exprimés en O2, classés selon la couleur : colonies noires sur gélose noire et colonies noires sur gélose rouge (Figure N°11).



Figure 11 : Phénotype de la production de biofilm sur RCA

Ces données concordent avec ceux qui ont été recueillis dans la recherche d'**Abdulrahim et al., 2019**, qui indique que le *S. aureus* isolé a une capacité à produire un biofilm. D'autre part, une autre étude menée par **Aouchiche et Bounghar, 2015**, rapporte que la souche de *S. aureus* de référence est capable de former un biofilm.

En 2018, **Triveni et al.**, ont mis en évidence que l'apparition de colonies noires sur le milieu rouge Congo constitue un indice de production de biofilms bactériens par les deux souches de *S. aureus* (isolées et référencées).

L'apparition de colonies noires est attribuée à la production d'exo polysaccharides (EPS) qui réagissent avec le rouge Congo. Ceux-ci jouent un rôle important dans les infections où ils sont considérés comme un facteur de virulence (**Vasudevan et al., 2003 ; Alcaraz et al., 2003**).

II.3.2 Capacité d'inhibition de la formation de biofilm (48h/ 5 jours)

La capacité des extraits à inhiber le biofilm a été évaluée par La méthode du cristal violet permet de mesurer la biomasse par spectrométrie, qui quantifie la masse totale du biofilm en observant la liaison du colorant aux polysaccharides de la matrice du biofilm.

II.3.2.1 Après 48h

Les résultats obtenus ont révélé un pourcentage d'inhibition significatif de la production de biofilm de *S. aureus* R de $82,63 \pm 0,41\%$ à une concentration égale à $0,39$ mg/ml d'extrait éthanolique de *S. officinalis*, suivi de $65,96 \pm 0,41\%$ pour $0,195$ mg/ml. De plus, la capacité de l'extrait éthanolique de *S. officinalis* à inhiber la formation du biofilm de *S. aureus* I était de $92,12 \pm 0,32 \%$ pour une concentration de $3,125$ mg/ml et de $78,65 \pm 0,63 ; 65,57 \pm 0,32 \%$ et $85,61 \pm 0,32 \%$ pour $0,781 ; 0,195$ et $0,097$ mg/ml respectivement.

Pour l'extrait éthanolique de *L. albus*, la meilleure activité d'inhibition a été rapportée à $0,195$ et $0,097$ mg/ml avec $88,5 \pm 0,81$ et $81,22 \pm 0,41\%$ contre *S. aureus* R respectivement. Concernant *S. aureus* I : $84,07 \pm 0,55\%$ ($6,25$ mg/ml) ; $66,12 \pm 0,63\%$ ($0,39$ mg/ml) et $59,52 \pm 0,32$ ($0,195$ mg/ml).

II.3.2.2 Après 5 jours

Après une période d'incubation de 5 jours, les résultats ont montré que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* avait un pouvoir inhibiteur contre la formation de biofilms par *S. aureus* R et *S. aureus* I de $(95,89 \pm 0,44 \%$ à $0,39$ mg/ml et $88,73 \pm 1,19$ à $0,097$ mg/ml) et $(87,73 \pm 0,37 \%$ à $0,781$ mg/ml ; $80,92 \pm 0,57$ à $0,39$ mg/ml ; $49,57 \pm 0,77 \%$ à $0,195$ mg/ml) respectivement.

De plus, l'extrait éthanolique de *L. albus* est capable de bloquer la production de biofilm par les souches R et I de *S. aureus* de $91,69 \pm 0,29$ et $82,9 \pm 0,37 \%$ à $0,195$ mg/ml et $89,3 \pm 0,17$ et $69,02 \pm 0,86 \%$ à $0,097$ mg/ml respectivement.

Les résultats de notre étude sur l'activité antibiofilm révèlent la capacité accrue de l'extrait éthanolique de *S. officinalis* et de *L. albus* à inhiber la production de biofilms par *S.*

aureus R et I sur des périodes de 48 heures et de 5 jours à de faibles concentrations. Ces résultats sont confirmés par les recherches menées par **Alkja et al.** en **2020**, montrant l'effet antibiofilm de l'extrait éthanolique de *S. officinalis* sur *S. aureus*. Dans le même sens, d'autres rapportent que des plantes appartenant à la famille des Lamiaceae, notamment *S. marashica*, ont un effet antibiofilm produit par des *S. aureus* isolés et référencés (**Bastanci et al., 2022 ; Cordeiro et al., 2020**).

Les biofilms pathogènes sont considérés comme un moyen de résistance bactérienne aux antibiotiques, car ils donnent aux bactéries la capacité de survivre et de coloniser l'hôte même dans des conditions défavorables. Pour cette raison, les chercheurs se tournent vers des sources naturelles plus fiables en utilisant des plantes médicinales pour l'inhibition des biofilms, grâce à leur richesse en composés bioactifs (**Jain et Parihar, 2018**). Plusieurs études prouvent la richesse des extraits éthanoliques de *S. officinalis* et *L. albus* en composés bioactifs, notamment en flavonoïdes, polyphénols et alcaloïdes (**Bouteldja et al., 2021 ; Rabai et al., 2021**).

En **2012**, **Daglia et ces chercheurs** ont réalisé une étude sur l'activité antibiofilm de plusieurs concentrations de composés phénoliques, où ils ont démontré que les plus fortes concentrations exerçaient un plus grand pouvoir antibiofilm.

En outre, l'extrait aqueux des fabacées a permis une inhibition de 54 % du biofilm produit par la référence *S. aureus* (**Ahmad et al., 2023**). Parallèlement, l'extrait méthanolique des fabacées présente une bonne activité antibiofilm de *S. aureus* (**Erhabor et al., 2022**).

II.3.3 Destruction de biofilm produite par *S. aureus* R et I à 48 h et 5 jours

II.3.3.1 Après 48 h de production

Les résultats de cette étude démontrent la capacité de l'extrait éthanolique de *S. officinalis* à détruire le biofilm produit par *S. aureus* R avec 83,8 ; $83,33 \pm 0,41$ et $77 \pm 0,41\%$ à 0,781 ; 0,39 et 0,195 mg/m respectivement. D'autre part, pour le biofilm produit par *S. aureus* I, y compris $61,36 \pm 0,32$ et $66,3 \pm 0,32\%$ à 0,195 et 0,097 mg/m respectivement.

En revanche, l'extrait éthanolique de *L. albus* à des concentrations de 0,195 et 0,097 mg/ml a dissuadé le biofilm produit par *S. aureus* R avec des taux significatifs de 84,51 et $84,27 \pm 0,41\%$ et celui produit par *S. aureus* I de $64,1 \pm 0,32$; 62,64 et $56,23 \pm 0,32\%$ à 0,39; 0,195 et 0,097 mg/ml.

II.3.3.2 Après 5 jours de production

Nos résultats soulignent que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* a été efficace pour éliminer le biofilm produit durant les 5 jours par *S. aureus* R et I avec un pourcentage de dégradation égale à $95,22 \pm 0,17\%$ (0,195 mg/ml) ; $93,51 \pm 0,17\%$ (0,097mg/ml) et $92,57\%$ (0,195mg/ml) ; $88,6 \pm 0,21\%$ (0,097 mg/ml) (Tableau 2).

Tableau 2 : Pourcentage d'inhibition de la formation de biofilm par *S. officinalis*.

concentration	0,781		0,39		0,195		0,097	
la souche	SR	SI	SR	SI	SR	SI	SR	SI
% d'inhibition 48h	/	78,65	82,63	/	65,96	65,57	/	85,61
% d'inhibition 5 j	/	87,73	95,89	80,92	/	49,57	88,73	/
% destruction 48h	83,8	/	83,33	/	77	61,36	/	66,3
% destruction 5 j	/	/	/	/	95,22	92,57	93,51	88,6

Pour *L. albus* leur extrait éthanolique a permis de détruire le biofilm produit pendant cette période de $(93,51 \pm 0,17\%$ pour 0,195 mg/ml et $91,21 \pm 0,17\%$ pour 0,097 mg/ml) et $(89,1 \pm 0,21\%$ pour 0,39 mg/ml ; $81,78\%$ pour 0,195 mg/ml et $70,26$ pour 0,097 mg/ml) vis-à-vis le biofilm produit par *S. aureus* R et I respectivement (Tableau 3)..

Tableau 3 : Pourcentage d'inhibition de la formation de biofilm par *L. albus*.

concentration	0,39		0,195		0,097	
la souche	SR	SI	SR	SI	SR	SI
% d'inhibition 48h	/	66,12	88,5	59,52	81,22	/
% d'inhibition 5 j	/	/	91,69	82,9	89,3	69,02
% destruction 48h	/	64,1	84,51	62,64	84,27	56,23
% destruction 5 j	/	89,1	93,51	81,78	91,21	70,26

Les deux extraits éthanoliques ont été utilisés pour la destruction du biofilm préformé par les deux souches testées. Nos résultats ont montré que l'extrait éthanolique de *S. officinalis* est efficace pour détruire le biofilm, ce qui a également été démontré par **Barchan et ses collègues en 2015** où l'extrait alcoolique et aqueux de la plante Lamiaceae s'est avéré avoir une grande capacité à éliminer le biofilm référencé de *S. aureus*. En outre, **Wijesundara et**

Rupasinghe, 2018, ont étudié l'effet antibiofilm de *S. officinalis*, mettant en évidence une forte éradication du biofilm des bactéries Gram-positives.

Bazargani et Rohllof en 2016, a démontré que les huiles essentielles des lamiacées réagissent également contre le biofilm de *S. aureus* référencé avec une éradication très efficace. La destruction des biofilms isolés de *S. aureus* a également été constatée par le biais d'autres études (**Merghini et al., 2016**).

D'autres n'ont publié que les alcaloïdes et les flavonoïdes de *L. albus* ayant une grande capacité à briser les biofilms de *S. aureus* (**Jain et Parihar, 2018**).

Les plantes de la famille des Fabacées constituent une source naturelle excellente de composés bioactifs, avec une plus grande capacité à détruire les biofilms synthétisés par les Cocci gram-positifs (**Ahmad et al., 2023; Vaňková et al., 2020**).

II.3.4 La capacité d'inhibition de la formation de biofilm dans les sondes urinaires (48h/ 5 jours)

II.3.4.1 Après 48h

Les résultats de la détermination du potentiel des extraits éthanoliques de *S. officinalis* et de *L. albus* pour inhiber la formation de biofilms dans les cathéters urinaires indiquent que l'extrait de *S. officinalis* est capable de bloquer la formation de biofilms de *S. aureus* R avec un pourcentage de 90,29% à une concentration égale à 0,39mg/ml, 87,38 et 76,70% pour 0,781 et 1,562 mg/ml par ordre. L'extrait a également un effet inhibiteur sur les biofilms de *S. aureus* I avec un pourcentage de $97,07 \pm 0,46\%$ à une concentration de 1,5 mg/ml, suivi de $92,27 \pm 0,46\%$ et $94,13 \pm 0,46$ pour 0,39 mg/ml et 0,78 mg/ml.

De plus, l'extrait d'hydroéthanolique de *L. albus* avait un pouvoir inhibiteur élevé de 96,12 et 91,26 % à 0,195 et 0,097 mg/ml pour *S. aureus* R, de 91,20 et 92,80 % avec 0,195 et 0,097 mg/ml par ordre pour *S. aureus* I.

II.3.4.2 Après 5 jours

Après avoir prolongé la période d'incubation à 5 jours, l'extrait hydroéthanolique de *S. officinalis* a eu un effet inhibiteur sur le biofilm formé par *S. aureus* R de 88,35 % (0,781 mg/ml) et 76,70 % (0,39 mg/ml), et sur *S. aureus* I : 80,80 % (1,562 mg/ml) et 79,20 % (0,39 mg/ml).

Cependant, l'extrait de *L. albus* montre un potentiel d'inhibition considérable vis-à-vis de *S. aureus* R avec des valeurs significatives de 80,58 % à 0,1 mg/ml suivies de 76,70 % à 0,09 mg/ml, tandis que *S. aureus* I représente 92 % (0,195 mg/ml) et $78,93 \pm 0,46$ (0,09 mg/ml).

II.3.5 Destruction de biofilm produite par *S. aureus* R et I dans les sondes urinaires (48h et 5jours)

II.3.5.1 Après 48h

Notre étude confirme que l'extrait hydroéthanolique de *S. officinalis* a un effet expulsif sur le biofilm produit dans les sections de cathéters urinaires par *S. aureus* R correspondant à $79,61 \pm 0,61\%$ (0,39mg/ml) et $65,70 \pm 0,56\%$ (0,781 mg/ml), et de même pour le biofilm produit par *S. aureus* I, englobant 92%, $85,33 \pm 0,46\%$ (1,562 mg/ml, 0,39 mg/ml) dans l'ordre successif. L'extrait d'hydroéthanolique de *L. albus* montre une activité de démolition sur le biofilm de *S. aureus* R formé à des concentrations de 0,39 mg/ml, 0,195mg/ml et 0,097mg/ml avec un pourcentage de 81,55 ; 92,23 ; $81,88 \pm 0,56\%$ respectivement, de même pour *S. aureus* I avec 82,40% et 85,60% à 0,39mg/ml et 0,097%.

II.3.5.2 Après 5 jours

D'après les résultats obtenus, il est clair que le biofilm de *S. aureus* R et I formé après 5 jours d'incubation a été détruit par l'extrait éthanolique de *S. officinalis* qui varie de $64,72 \pm 0,56$ et $49,19 \pm 0,56\%$ à un taux de concentration de 0,39 et 0,781mg/ml pour *S. aureus* R et de 68.53 et 66,40% à une concentration de 0,39 et 1,562 mg/ml respectivement pour *S. aureus* I.

Tableau 4 : Pourcentage d'inhibition de la formation de biofilm dans les sondes urinaire par *S. officinalis*.

concentration	1,562		0,781		0,39	
Souche	SR	SI	SR	SI	SR	SI
% d'inhibition 48h	76,7	97,07	87,38	94,13	90,29	92,27
% d'inhibition 5 j	/	80,8	88,35	/	76,7	79,2
% destruction 48h	/	92	65,7	/	79,61	85,33
% destruction 5 j	/	66,4	49,19	/	64,72	68,53

Pour *L. albus*, l'extrait hydroéthanolique peut également détruire le biofilm *S. aureus* R avec un pourcentage de 78,32% et $58,90 \pm 0,56\%$ à 0,195mg/ml et 0,39mg/ml, et 80% à 0,195mg/ml et 84% à 0,39mg/ml pour *S. aureus* I (Tableau 5).

Concentration	0,39		0,195		0,097	
La Souche	SR	SI	SR	SI	SR	SI
% D'inhibition 48h	/	/	96,12	91,2	91,26	92,8
% D'inhibition 5 J	/	/	80,58	92	76,7	78,93
% Destruction 48h	81,55	82,4	92,23	/	81,88	85,6

% Destruction 5 J	58,9	84	78,32	80	/	/
-------------------	------	----	-------	----	---	---

Tableau 5 : Pourcentage d'inhibition de la formation de biofilm dans les sondes urinaire par *L. albus*.

Plusieurs études confirment que le biofilm de *S. aureus* a été significativement éradiqué en présence d'huiles essentielles de plantes de la famille des Lamiacées (**Benabdelah et al., 2020**). En revanche, la famille des Fabaceae a la capacité de bloquer le biofilm de *S. aureus* (**Erhabar et al., 2022 ; Vaňková et al., 2020**).

Les biofilms sont associés à de graves problèmes de santé. Ils peuvent adhérer à de nombreux dispositifs médicaux sur lesquels ils déclenchent des infections durables, en particulier dans les cathéters urinaires (**Khatoon et al., 2018 ; Miranda et al., 2017**). Les infections urinaires liées aux cathéters sont l'une des infections nosocomiales les plus fréquentes (**Saint et al., 2016**). Elles sont causées par un certain nombre de bactéries, dont *Staphylococcus aureus*, qui est responsable de la formation de biofilms dans les cathéters urinaires (**Lister. 2014**).

Nos résultats indiquent que les sondes urinaires traitées avec les extraits de *S. officinalis* et de *L. albus* présentent une réduction du nombre de cellules bactériennes récupérées par rapport aux sondes non traitées. Cette activité peut être liée à la richesse des plantes utilisées en composés bioactifs. Ceci est validé par plusieurs études reflétant le fait que les polyphénols, les flavonoïdes et les alcaloïdes ont un pouvoir antibiofilm significatif. (**Jain et al., 2018 ; Skogmen et al., 2012**).

Le criblage phytochimique confirme la richesse de *S. officinalis* et *L. albus* en composés bioactifs (**Khare et al., 2019 ; Elouali et al., 2016 ; Ibrahim et al., 2019**). Notamment l'activité inflammatoire et antimicrobienne et l'effet inhibiteur sur la formation de biofilms. (**Russel. 2011 ; Kot et al., 2015 ; Darmasiwiet et al., 2022**).

De même, **Prabharkar et al., 2012** rapportent dans leurs travaux que les composés phénoliques d'origine végétale ont un pouvoir antibiofilm.

Les composés végétaux bioactifs affectent le biofilm de *S. aureus* provenant de cathéters urinaires, où ils réduisent l'attachement du biofilm aux surfaces internes des sondes urinaires (**Ezeonu et al., 2009**).

Conclusion

La résistance bactérienne aux antibiotiques chimiques par la formation de biofilms est un problème sanitaire majeur qui a des répercussions sur la santé humaine.

Devant la résistance croissante, le recours aux sources naturelles est une nécessité, en particulier *Salvia officinalis* L. et *Lupinus albus* L. en raison de leur richesse en composés bioactifs.

Au cours de notre étude, nous avons effectué plusieurs analyses sur l'extrait éthanolique à 80% de *S. officinalis* et de *L. albus*, dont l'activité antibactérienne vis-à-vis de *S. aureus* isolé à partir de lait contaminé et d'autres références, ainsi que l'activité antibiofilm contre le biofilm produit par les deux souches testées.

Le rendement de l'extrait sec obtenu à partir de l'extrait éthanolique (80%) et de *L. albus* était respectivement de 12,74 et 13,24%.

En outre, Le pouvoir antibactérien des extraits éthanoliques de *S. officinalis* et *L. albus* possèdent une activité antibactérienne significative contre *S. aureus*, l'un des principaux pathogènes impliqués dans les infections nosocomiales et communautaires.

À cet égard, l'estimation de l'activité antibiofilm par la méthode du cristal violet révèle une forte capacité des extraits de *S. officinalis* et de *L. albus* à inhiber la formation et à détruire le biofilm produit par des *S. aureus* référencés et isolés, une étape importante dans la survie des infections et la résistance au traitement antibiotique.

En conclusion, cette étude met en évidence le potentiel des extraits de *Salvia officinalis* et de *Lupinus albus* en tant qu'agents antibactériens et anti-biofilm contre *Staphylococcus aureus*. Ces résultats ouvrent de nouvelles perspectives pour le développement de thérapies alternatives basées sur des composés naturels pour combattre les infections bactériennes.

Références
Bibliographiques

A

- **Abdel-Shafi.S., El-Nemr.M., Gamal.E., Osman.A., Sitohy.M., Sitohy.B.2003.** Isolation and Characterization of Antibacterial Conglutinins from Lupine Seeds. *Molecules*, 28 : 35. <https://doi.org/10.3390/molecules28010035>.
- **Abdulrahim.U, Kachallah.M., Rabiou.M., Usman.N.A., Adeshina.GO., Olayinka.B.O. 2019.** Molecular Detection of Biofilm-Producing *Staphylococcus aureus* Isolates from National Orthopaedic Hospital Dala, Kano State, Nigeria. *Open Journal of Medical Microbiology*, 9 : 116-126. <http://DOI: 10.4236/ojmm.2015.93012>.
- **Ahmad.A., Ansari.F.A., Anis.M., Khan.A.S. 2023.** Micropropagation of *pterocarpus marsupium* Roxb. Through synthetic seeds and its novel antibiofilm activities against ESKAPE pathogens. *Industrial crops and products*, 198: 116681. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2023.116681>.
- **Ait taadaouit.N., Hsaine.M., Rochdi.A., Nilahyane.A., Bouharroud.R. 2012.** Effet des extraits végétaux méthanolique de certaines plantes marocaines sur tuta absoluta (*Lepidoptera, Gelechlidae*). *Journal compilation , Eppo bulletin*, 42 : 275_280.
- **Akanksha. J., Parihar D. K 2018.** Antibacterial, biofilm dispersal and antibiofilm potential of alkaloid and flavonoids of *Curcuma*. Department of Biotechnology, Guru Ghasidas Vishwavidyalaya, Bilaspur 495009, Chhattisgarh, *India Biocatalysis and Agricultural Biothechnology* 16 : 677-682.
- **Al-Amrousi., Badr.A.N., Abdel-Razek.A.G., Gromadzka.K., Drzewiecka.k., Minar.M.M., Hassanein.A. 2022.** Comprehensive Study of Lupin Seed Oils and the Roasting Effect on Their Chemical and Biological Activity. *Plants*, 11: 2301. <https://doi.org/10.3390/plants11172301>. <https://www.mdpi.com/journal/plants>.
- **Alcaráz.L.E., Satorres.S.E., Lucero.R.M., Centorbi, O.N.2003.** Species identification, slime production and oxacillin susceptibility in coagulase-negative *staphylococci* isolated from nosocomial specimens. *Brazilian Journal of Microbiology*, 34: 45-51.
- **Allkja.J., Bjarnsholt.T., Coenye T., Cos.P., Fallarero.A., Harrison.JJ., Lopes.S.P., Oliver.A., Pereira.M.O., Ramage.G., Shirliff.M.E., Stoodley.P., Webb.J.S., Zaat.SAJ., Goeres.D.M., Azevedo.N.F. 2020.** Minimum information guideline for spectrophotometric and fluorometric methods to assess biofilm formation in microplates. *Biofilms*, 2: 100010.

- **Ananthanarayan, R., 2006.** Ananthanarayan and Paniker's textbook of microbiology. Orient Blackswan.and *Salvia officinalis L.,Lamiaceae*) Essential Oils. *Journal Agricultur, Food Chem*, 55 : 787-7879–7885.
- **Andriani.Y., Mohamad.H., Bhubalan.K., Abdullah.I., Amir.H. 2017.** Phytochemical analyses, anti-bacterial and ant-biofilm activities of magrove. Associated hibiscus tiliaceus sustainability science and management. *Journal of Sustainability Science and Management*, 45(51) : 1823-8556.
- **Aouchiche.R., Boumghar.N. 2015.** Evaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante d'extraits de feuilles de laurier et de sous-produits de l'olivier. Mémoire de fin d'étude. Université Mouloud Mammeri de Tizi ouazou.
- **Auger.M. 2012.** Formation de biofilm in vitro par des souches cliniques de *E.coli* : impact de la modification des conditions expérimentales. Thèse de doctorat en pharmacie :1-90.

B

- **Bakkali.F., Averbek., Idomam. 2008.** Biological effects of essential oils. *Food and Chemical Toxicology*, 46 : 446-475.
- **Barchan A., Bakkali M., Arakrak A., Laglaoui A. 2015.** Effet antibactérien et antibiofilm de trois espèces de Mantha: *Mentha spicata* , *Mentha pulegium* et *Mentha piperita*. *Lavoisier SAS, phytothérapie*, 14(2) : 1-9. DOI:[10.1007/s10298-015-0970-y](https://doi.org/10.1007/s10298-015-0970-y).
- **Bazargani.M.M., Rohloff.J. 2016.** Antibiofilm activity of essential oils and plant extracts against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilm. *Food Control*, 61: 156-164. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.09.036>.
- **Bekhechi.C., Atik-Bekkara.F., Abdelouahi.D.E. 2008.** Composition et activité antibactérienne des huiles essentielles d'origanum glandulosum d'Algérie. *pharmacologie, phytothérapie*,6 : 153_159.
- **Bektas.T., Dimitra.D., Atalay.S., Munevver.S., Moschos.P. 2005.** Antimicrobial And antioxidant activities of essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa Miller*. *Food Chemistr*, 84(4) : 519-525.
- **Ben Abdallah.F., Lagha.R., Gaber. 2020.** Propriétés d'inhibition et d'éradication du biofilm des huiles essentielles de plantes médicinales contre les isolats de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline Clinical. *Produits pharmaceutiques*, 13 (11) : 369.
- **Benkherara.S., Bordjiba.O.A., Djahra.A.2011.** Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Saugé officinale : *Salvia officinalis L.* sur quelques entérobactéries pathogènes.Revue Synthèse N°23 : 72-80. Université Badji Mokhtar -Annaba-

- **Benkherara.S., Bordjiba.O.A., DjahraA.B. 2015.** Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia officinalis*. *Phytothérapie*. 1-5. Doi 10.1007/s10298-015-0925-3.
- **Bensebia.O., Benamani.A., Issaadi.H.M. 2021.** Antibacterial Activity of *Sage Leaves* against Pathogenic Bacteria as Affected by Different Drying Temperature. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 7(1) : 74-92.
- **Bissingou.E. 2019.** Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des souches *staphylocoques* isolées des infections hospitalière et communautaire, cas de l'hôpital Bamba marie mutombo (hbmm). Thèse de doctorat : pharmacie : université de Kinshasa.
- **Bors.W., Heller.W., Michel.C., Saran.M. 2003.** Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. *Methods in Enzymology*, 186 : 343– 355.
- **Bostanci.M.T., Bulbul.A.S., Celik.S.I., Kocabas.Z.Y., Burhan.H., Bayat.R., Sen.F., Zakariae.N., Esmaeili.R., Jafari.H., Karimi.F., Karimi-Maleh.H. 2020.** Investigation of antibacterial, antifungal, antibiofilm, antioxidant and anticancer properties of methanol extracts of *Salvia marashica* A.Ö.Şim, *Celep & DoAÿan* and *Salvia caespitosa* Montbret & Aucher ex Benth plants with medicinal importance. *Chemosphere*, 288, Part 2: 132602.
- **Bouharb H., El badaoui K., Zair T., El amri J., Chakir S., Alaoui T. 2014.** Screening of some medicinal plants of Zenhoun (Central Morocco) for antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of applied Bioscience*, 78: 6685-6693.
- **Boungar.N., Behidj.N., Ksouri.R. 2019.** Antimicrobial and antibiofilm activities of phenolic compounds extracted from *Populus nigra* and *Populus alba* bud (Algeria). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55 : 18114. <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902019000218114>.
- **Boutheldja.R., Doucene.R., Aggad.H., Abaid.S. 2021.** Phytochemical characterization, antioxidant and antibacterial activity of *salvia officinalis* (L.) extracts from the tiaret region. *Europeon Journal of Biological Research*, 11(3): 356-366
- **Bouzabata.A. 2017.** Les médicaments à base de plantes en Algérie : réglementation et enregistrement. *Phytothérapie*, 15(6) : 401-408.
- **Bozin.B., MimicaDukic.N., Samojlik.I., Jovin.E. 2007.** Antimicrobial and Antioxidant Properties of Rosemary and Sage (*Rosmarinus officinalis* L). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19) :7879-8. DOI :[10.1021/jf0715323](https://doi.org/10.1021/jf0715323).
- **Buszewski.B., Rafńska.K., Cvetanović.A., Walczak.J., Krakowska.A., Rudnicka.J., Zeković.Z. 2019.** Phytochemical analysis and biological activity of *Lupinus luteus* seeds

extracts obtained by supercritical fluid extraction. *Phytochemistry Letters*, 30 : 338-348. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2019.02.014>.

C

- **Castagnaa.J., Kurihara.F., Amsler.E., Soriaa.A., Barbaud.A. 2022.** Quelques déboires avec la phytothérapie. *Revue française d'allergologie*, 62 : 282284.
- **Chalvet de Rochemonteix.A. 2019.** Les biofilms et la peau. Thèse pour le doctorat vétérinaire. Ecole national vétérinaire D'Alfort Paris.
- **Christensen.G.D., Simpson W.A., Younger.J.J ., Baddour.L.M ., Barrett.F.F., Melton.D.M. 1985.** Andthe département of médecine, microbiology, pédiatrics of the university of Tennesse centre for the health sciences, Available at: <http://jcm.asm.org/>.
- **Cordeiro.L., Figueiredo.P., Souza.H., Sousa.A., Andrade-Júnior.,F., Medeiros.D., Nóbrega.J., Silva.D., Martins.E., Barbosa-Filho.J. 2020.** Terpinen-4-ol as an Antibacterial and Antibiofilm Agent against *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 21 : 4531.

D

- **Daglia.M. 2012.** Polyphenols as antimicrobial agents. *Current opinion in biotechnology*, 23(2) : 174-181.
- **Darmasiwi.S., Aramsirirujwet.Y., Kimkong.I. 2020.** Antibiofilm activity and bioactive phenolic compounds of ethanol extract from the Hricivm erinaceus basidiome. *Journal of aadvanced pharmaceutical Technologie and Research*, 13(2) : 111-116.
- **Davido.B. 2010.** Étude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à staphylocoque doré [thèse]. Paris : Université Diderot.
- **Dellavalle.P.D., Cabrera.A., Alem.D., Larrañaga.P., Ferreira.F., Rizza.M.D. 2011.** Antifungal Activity Of Medicinal Plant Extracts Against Phytopathogenic Fungus *Alternaria* Spp. *Chilean journal of agricultural research*, 71(2): 231-239.
- **Didier.B., Marcel.L. 2011.** Cercle mycologique de [/2011.www.rhodia.com/en/sustainability/global_product_strategy/index.tcm](http://2011.www.rhodia.com/en/sustainability/global_product_strategy/index.tcm).
- **Djerroumi.A., Nacef.M. 2004.** 100 plantes médicinales d'algerie . ED Palais du livre. 135-131.
- **Djordjevic.D., Wiedmann.M., Mclan dsborough.L.A. 2002.** Microtier plate assay for assessment of listeria monocytogens biofilm formation. *Applied and environmental microbiology*, 68(6): 2950-2958.

- **Doğanli.G., Ülger.G., Doğan.N.M. 2016.** Antibiofilm Activity and Chemical Contents of Propolis Samples From Manisa-Turkey. *Hacettepe Journal of biologie and chemistry*, 44(4) : 505-513.

E

- **El Ouali.L.A., El-Akhal.F., Ez Zoubi.Y., Taghzouti.K. 2016.** Study of Phytochemical Screening and Larvicidal Efficacy of Ethanolic Extract of *Salvia officinalis* (Lamiaceae) from North Center of Morocco Against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) Vector of Serious Human Diseases. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(10) ; 1663-1668.
- **El-Shazly.A., Abdel-Monem.M. Ateya.M., Winkb.Quinolizidine. 2001.** Alkaloid Profiles of *Lupinus varius orientalis*, *L. albus albus*, *L. hartwegii*, and *L. densiflorus*. *Naturforsch*, 56 : 21-30.
- **Erhabor.R.C., Erhabor.J.O., Nkadimeng.S.M., McGaw.L.J. 2022.** *In vitro* antimicrobial, antibiofilm and antioxidant activities of six South African plants with efficacy against selected foodborne pathogens. *South African Journal of Botany*, 146 : 643-652.
- **Ezeonu.I.M, Ayalogu.V.O., Esimone.C.O. 2009.** Studies on the Use of Plant Extracts for the Prevention of Bacterial Biofilms on Urinary Catheters. *Nigerian journal officiel biotechnology*, 20 : 12. <http://www.ajol.info/index.php/njb/index>.

F

- **Matyar.F., Kaya.A., Dinçer.S. 2008.** Antibacterial agent and heavy metal resistance in Gram-negative bacterial isolated from sea water. Shrimp and sediment in Iskenderun bay. Turkey. *Science of the total environment*, 407(1) : 279-285.
- **Famuyide.M.J., Abimbola.O.A., Folorunso.O.F., Jcobus.N.E., LyndyJ.M. 2019.** Antibacterial ant antibiofilm activity of acetone leaf extracts of nine under-investigated south Africa *Eugenia* and *suzygium* (Myrtaceae) species and their selectivity indices. *BMC complementary and alternative medicine*, 19:141.
- **Feyissa.N., Alemu.T., Birri.D.J., Dessalegn.A. 2023.** Isolation, identification, and determination of antibiogram characteristics of *Staphylococcus aureus* in cow milk and milk products (yoghurt and cheese) in West Showa Zone, Ethiopia. *International Dairy Journal* 137 : 105503.
- **Fowler.V.G., Fey.P.D., Reller.L.B., Chamis.A.L., Corey.G.R., Rupp.M.E. 2001.** T heintercellular adhesion locus *Ica* is present in clinical isolates of *Staphylococcus a*

ureus from bacteremic patients with infected and uninfected prosthetic joints. *Microb iol. Immunol. (Berl)*, 189 : 127-131.

- **Freeman.D.J., Falkiner F.R., Keane.C.T. 1989.** New method for detecting slime production by coagulase negative *staphelococci*. *Journal of Clinical Pathology*, 42 : 872-874.
- **Flemming.H., Hullebusch.E.D., Thomas.R.N., Nielsen.P.H., Seviour.T., Stoodley.P., Wingender.J., Wuertz.S. 2023.** The biofilm matrix: multitasking in a shared space. *Nature Reviews Microbiology*, 21 : 70–86.

G

- **Ghanwate.N.A., Thakare.P.V., Bhise.P.R., Tayde.S. 2014.** Prevention of Biofilm Formation in Urinary Catheters by Treatment with Antibiofilm Agents. *International Journal of Science and Research*, 3(4) : 2319-7064.
- **Ghorbani.A., Esmailizadeh.M. 2017.** Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *Journal officiel of traditional and complementary médecine*, 7(4) : 433–440.
- **Gortzi.O., Lalas.L., Chinou.L., Tsaknis.J. 2007.** Evaluation of the Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum dictamnus* Extracts before and after Encapsulation in Liposomes. *Molecules*, 12 : 932-945.

H

- **Hammoudi.R., Khenfer.S., Medjouel.M., Tlili.M.L., Mahammed.M.H. 2017.** Optimization of extraction conditions for phenolic compounds from *salvia chudaei*. *Lebanese Science Journal*, 18(2) : 234-243. [http : //dx. doi. org/10.22453/LSJ-018.2.234-243](http://dx.doi.org/10.22453/LSJ-018.2.234-243).
- **Harper.D., Parracho.H., Walker.J., Sharon.R., Hughes.G., Werthen.M. 2014.** Bactériophages and biofilms, *Antibiotics*, 10(2) : 175 doi : 10.3390/ Antibiotics 3030270.
- **Hasanvand.H., Téymouri.F. Ohadi.E., Azdegan.A., Sadeghi.B. 2019.** Biofilm formation in staphylococcus epidermidis isolated from hospitalized patients. *Archives of Clinical Infectious Diseases*, 14 (3): 64496. DOI: 10.5812/archid.64496.
- **Hounane.N. 2011.** Acteurs de risque des infections urinaires nosocomiales étude cas témoin. Thèse de doctorat : médecine ; University Cadi Ayyad.

I

- **Ibrahim.R.A., Elawad.A.A., Hamad A.M. (2019).** Checklist of Plants Used as Blood Glucose Level Regulators and Phytochemical Screening of Five Selected Leguminous Species. *Agricultural Extension Journal*, 3(1) :38-57.
- **Iseri.P. 2001.** Encyclopédie des plantes médicinales, Larousse VUEF. 2éme Ed. Vol. 14. Paris. 335p.

J

- **Castagnaa.J., Kurihara.F., Amsler.E., Soriaa.A. 2022.** Barbaud. Quelques déboires avec la phytothérapie. *Revue française d'allergologie*, 62 : 282–284.
- **Jacobsen.S.M, Stickler.D.J, Mobley.H.L.T, Shirliff.M.E. 2008.** Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical Microbiology Revue* 21: 26–59.
- **Jain.A., Parihar.D.K. 2018.** Antibacterial, biofilm dispersal and antibiofilm potential of alkaloids and flavonoids of Curcuma. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 16 : 677-682.
- **Jamal.M., Ahmad.W., Jalil.F., Imran.M., Nawaz.M.A., Hussain.T., Ali.M., Rafiq.M., Kamil.M.A.2018.** Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81 : 7–11. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012>.

K

- **Khare.R, Upmanyu.N., Jha.M. 2019.** Exploring the Potential Effect of Methanolic Extract of *Salvia officinalis* Against UV Exposed Skin Aging: In vivo and In vitro Model. *Current Aging Science*, 12: 1-10. doi: 10.2174/1874609812666190808140549.
- **Khatoon.Z., McTiernan.C.D., Suuronen.E.J., Mah.T., AlarconE.I.2018.** Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. *Heliyon*, 4(12): 01067.
- **Klančnik.A.,Piskernik.S., Jeršek.B., Možina.S.S. 2010.**Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Elsevier. Journal of Microbiological Methods*, 81,121–126.
- **Kot B., Wicha J., Piechota M., Wolska K., Gruzewska A. 2015.** Antibiofilm activity of trans-cinnamaldehyde, p-coumaric and ferulic acids on uropathogenic *Escherichia coli*. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 45 : 919-924.

L

- **Lampart-Szczapa.E., Siger.A., Trojanowska.K., Nogala-Kalucka.M., Malecka.M., Pacholek.B. 2003.** Chemical composition and antibacterial activities of lupin seeds extracts. *Nahrung/Food*, 47 (5) : 286– 290. doi: 10.1002/food.200390068.
- **Lister.J.L., Horswill.A.R. 2014.** *Staphylococcus aureus* biofilms : recent developements in biofilm dispersol. *Front cellule infection Microbiol*, 4 : 178.
- **Liu.Z., Zhang.Z., Du.X, Liu.Y. 2023.** Formulation of a novel anti-lung cancer drug: Vanadium nanoparticles containing *Salvia officinalis*. *Inorganic Chemistry Communications*, 150 : 110520.

M

- **Macheix.J.J., Fleuriet.A., Sarni-Manchado.P. 2006.** Les Polyphénols en agroalimentaire. Ed. Tec et Doc, Paris. France. PP : 1-28.
- **Mathieu.T., Singhal.S., Khan.S., Upadhyat.D.J., Fatma.T., Rottan.A. 2006.** Détection of biofilm formation among thé clinical isolates or *staphylococci*: An évaluation if three différent screening méthodes. *Indian journal of médical microbiology*, 24(1):25-29.
- **Matyar.F., Kaya.A., Dinçer.S. 2008.** Antibacterial agent and heavy metal resistance in Gram-negative bacterial isolated from sea water. Shrimp and sediment in Iskenderun bay. Turkey. *Science of the total environment*.,407(1) : 279-285.
- **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 of methode for the detection of biofilm production in coagulase-negative *staphelococci*. *BMC research notes*, 3:260.
- **Merghni.H., Marzouki.H., Hentati.H., Aouni.M., Mastouri.M. 2015.** Antibacterial and antibiofilm activities of *Laurus nobilis.L.*essential oil against *Staphelococcus aureus* strains associated with oral infection.. *Pathologie Biologie*, 3205; NO. of pages 6.
- **Miara.M.D., Ait Hammou.M., Hadjadj Aoul.S. 2013.** Phytothérapie et taxonomie des plantes médicinales spontanées dans la région de Tiaret (Algérie). *Phytothérapie*, 11 : 206– 218.
- **Miranda.E., Boillat.C., Kherad.O. 2017.** Eviter l’utilisation inappropriée des sondes urinaires. In *Forum Médical Suisse*, 17(05) :102-104. EMH Media.
- **Miranda.E., Boillati.C., Kherad.O. 2017.** Sonde urinaire : respecter les indications pour éviter les infections. *Smarter medicine. Revue Medical Suisse*, 13 : 273-5.

- **Mohammedi.Z. 2011.** Etude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huile Essentielles et flavanoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister Université de Tlemcen. p 18-24-25-49-50.
- **Monistero.V., Graber H.U., Pollera.C., Cremonesi.P., Castiglioni.B., Bottini.E., Ceballos-Marquez.A., Lasso-Rojas.L., Kroemker.V., Wentz.N., Petzer.I., Santisteban.C., Runyan.J., dos Santos.M.V., Alves.B.G., Piccinini.R., Bronzo.V., Abbass.M.S., Ben Said.M., Moroni.P. 2018.** *Staphylococcus aureus* Isolates from Bovine Mastitis in Eight Countries : Genotypes, Detection of Genes Encoding Different Toxins and Other Virulence Genes. *Toxins (Basel)*, 10(6) : 247.
- **Mosafa.E., Yahyaabadi.S., Doudi.M. 2014.** In-Vitro Antibacterial Properties of Sage (*Salvia officinalis*) Ethanol Extract against Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumonia*. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 16(10) : 42-46.

N

- **Nga.N.E., Yinyang.J., Baran à Bidias.E., Etame-Loe.G., Dibong.D.S. 2017.** Étude phytochimique et pharmacologique d'*Alchornea cordifolia* (Schum, Thonn.) Mull. Arg. et de *Mangifera indica* dans le traitement traditionnel de la maladie hémorroïdaire. *Journal of Applied Biosciences*, 109 :10649-10661.

O

- **Obeizi.Z., Benbouzid.H., Djahoudi.A. 2020.** Evaluation de l'activité antibactérienne et antibiofilm des nanoparticules de dioxyde d'étain (Sn O₂). *Journal of advanced research in science and technologie*, 7(2) : 22-34.
- **Olawuwo.O.S, Famuyide.I.M., Lyndy.J., Gaw.M.C. 2022.** Antibacterial and Antibiofilm Activity of Selected Medicinal Plant Leaf Extracts Against Pathogens Implicated in Poultry Diseases. *Frontiers in Veterinary Science*, 9: 820304. doi: 10.3389/fvets.2022.820304
- **Ouchar.M., Tidjani.A., Savadogo.A., Abakabir., Mahamat.A., Sondage.M.K., Troaore. A.S.2013.** Isolement et caractérisation des bactéries productrice des biofilms issues des produits alimentaires. *Revue de microbiologie industrielle, sanitaire, et environnementale*, 7(2) : 187_210.

P

- **Pereira.A., Ramos.F., Sanches Silva.A. 2022.** *Lupin (Lupinus albus L.)* Seeds : Balancing the Good and the Bad and Addressing Future Challenges. *Molecules*. 27(23) : 8557.

- **Prabhakar.K.V Abraham.K.P., Sreenivas.J., Venkateswarulu.T.C., Indira.M., Baba.D.J. 2012.** Investigation of the potentiel antibiofilm activities of plant extracts. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(4) : 0975-1491.
- **Prusinski.J.2017.** White lupin (*Lupinus albus L.*) – nutritional and health values in human nutrition. a review:*Czech Journal of Food Sciences*, 35: 95–105.
- **Pal Mirul.K., Lavanya.M. 2022.** Microbial Influenced Corrosion : Understanding Bioadhesion and Biofilm Formation. *Journal of Bio- and Tribo-Corrosion*, 8 :76 <https://doi.org/10.1007/s40735-022-00677-x>.

R

- **Rabai.M., Bouteldja.R., Doucene.R., Aggad.H. 2021.** *lupines albus* seeds extracts: phytochemical screening and antibacterial activity. *Lucrari stiintifice medicina veterinara* vol. Liv (2), Timisoara.
- **Radulescu.V., Silvia.C., Eliza.O. 2004.** capillarygas chromatography-mass spectrometry of volatile and semi volatile compound of *salvia officinalis*. *Journal of chromatography*, 1027 : 121-126.
- **Roux.A., Ghigo.J.M.2006.** Les biofilms bactériens. *Bulletin de l'académie vétérinaire de France*, [159\(3\)](https://doi.org/10.1016/j.bvfr.2006.03.003) : 261-268.
- **Russel.w., Duthie.G.2011.** Plant secondary metabolites and gut health : the case for phenolic acides. *Proc NutrSOC*, 70(3) : 389-96.

S

- **Saint.S., Greene.M.T., Krein.S., Rogers.L., Ratz.M.A.M., Fowler.D., Edson.K.E., Watson.B.S., Meyer-Lucas.S.R., Masuga.B., Faulkner.M., Gould.K., Fakih.C.V.B., Mohamad.G. 2016.** A Program to Prevent Catheter-Associated Urinary Tract Infection in Acute Care. *New England Journal of Medicine*, 374(22) : 2111–2119. doi:10.1056/NEJMoa1504906.
- **Sandasi.M., Leonard.C.M., Viljoen.A.M. 2010.** The in vitro antibiofilm activity of selected culinary herbs and medicinal plants against *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 50(1) : 30e35.
- **Serieys.F.** Rapport d'expertise épidémiologie In : conférence sur la prévention médicale et le traitement des mammites. Prague. 23-24 janvier 2004, 8-22.
- **Shettigar.K., Murali.T.S. 2020.** Virulence factors and clonal diversity of *Staphylococcus aureus* in colonization and wound infection with emphasis on diabetic foot infection. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 39 : 2235-2246.

- **Skogman.M.E., Kujala.J., Busygin.I., Leino.R., Vuorela.P.M., Fallarero.A. 2012.** Evaluation of antibacterial and anti-biofilm activities of cinchona alkaloid derivatives against *Staphylococcus aureus*. *Product Communications*, 7 : 1173–1176.
- **Sofy.A.R., Aboseidah.A.A., El_morsi.E., Ahmed., Azmy.H. 2021.** Évaluation if antibacterial and antibiofilm activity of new antimicrobials as an urgent need to countract stubborn multidrug_resistant Bacteria. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 14(1) : 595-608.
- **Sauer.K., Stoodley.P., Goeres.D.M., Hall-Stoodley.L, Burmølle.M., Stewart.P.S., Thomas.B. 2022.** The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature Reviews Microbiology*, 20 : 608–620.
- **Stewart Philip.S. 2002.** Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. *International Journal of Medical Microbiology*, 292 (2) : 107-113. <https://doi.org/10.1078/1438-4221-00196>.

T

- **Tambyah.P.A. 2004.** Catheter-associated urinary tract infections : diagnosis and prophylaxis. *International Journal of Antimicrob Agents*, 24S : 44-48.
- **Tepe.B., Donmez.E., Unlub.M., Candanc.F., Dafererad.D., Vardar-Unlub G., Polissioud.M., Sokmena.A.2004.** Antimicrobial and antioxidative activities of te essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth.) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Elsevier, Food chemistry*, 84 : 519-525.
- **Triveni.A.G., Kumar.M.S., Manjunath., Shivnavar.C.T., Gaddad.S.M. 2018.** Biofilm formation by clinically isolated *staphelococcus aureus* fron india. *Journal of Infection in Developing*, 12(12) :1062-1066. [http://: doi :10.3855/jidc.10671.7](http://doi:10.3855/jidc.10671.7).

U

- **Uc-Cach´on.A.H., Dzul-Beh.A.J., Palma-Pech.G.A., Jim´enez-Delgadillo. B., Flores-Guido.J.S., Gracida-Osorno.C., Molina-Salinas.G.M.(2021).** Antibacterial and antibiofilm activities of Mayan medicinal plants against *Methicillin-susceptible* and -resistant strains of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 279 : 114369.

V

- **Vaňková.E., Paldrychová.M., Kašparová.P., Lokočová.K., Kodeš.Z., Maťátková.O., Kolouchová.I., Masák.J. 2020.** Natural antioxidant pterostilbene as an effective antibiofilm agent, particularly for gram-positive cocci. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36: 101. <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02876-5>.

- **Vasudevan.P., Nair, M.K.M., Annamalai., Venkitanarayanan.K.S.2003.** phenotypic and genotypic characterization of bovine mastitis isolates of *staphylococcus aureus* for biofilm formation. *veterinary microbiology*, 92: 179_185.
- **Veličković.D.T., Karabegović.I.T., Stojičević.S.S., Lazić.M.L., Marinković.V.D., Veljković.V.B. 2011.** Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained from *Salvia glutinosa L.* and *Salvia officinalis L.* *Hemijaska industrija*, 65 (5): 599–605. doi:10.2298/HEMIND110412034V.
- **Vestby.L.K., Gronseth.T., Simm.R., Nesse.L.L. 2020.** Bacterial biofilm and Its Role in the pathogenesis of disease. *Antibiotics (Basel)*, 9(2) : 59. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020059>.

W

- **Wijesundaraa.N.M., VasanthaRupasinghec.H.P. 2018.** Essential oils from *Origanum vulgare* and *Salvia officinalis* exhibit antibacterial and anti-biofilm activities against *Streptococcus pyogenes*. *Microbial Pathogenests*, 177: 118-127.
- **Wong.L., Zhang.S., Keath.K., Corner.G., Nabi.G., Murdoch.S., Davidson.F., Zhao.Q. 2019.** In vitro antibacterial and anti-encrustation performance of silver-polytetrafluoroethylene Nano composite coated urinary catheters. *Journal of hospital infection*, 103: 55-63.

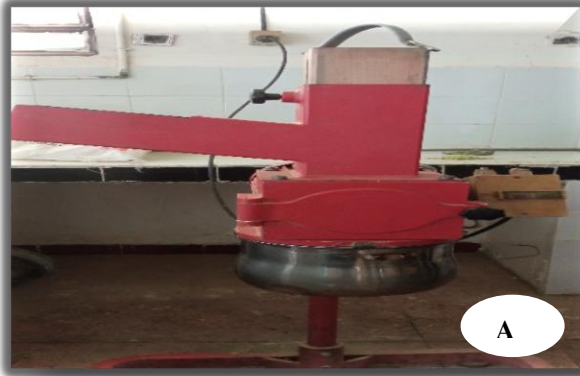
X

- **Xiaoli.L., Huaiying.Y., Xihong.Z., Chaorong.Ge. 2023.** Biofilm Formation and Control of Foodborne Pathogenic Bacteria. *Molecules*, 28(6) : 24-32. doi: 10.3390/molecules28062432.

Y

- **Yannick.D.N., Tremblay., Skander.H., Mario.J. 2014.** Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 78 :110–116.

Annexes



A



B

Figure N° 01 : A) Broyeur, B) Tamis.



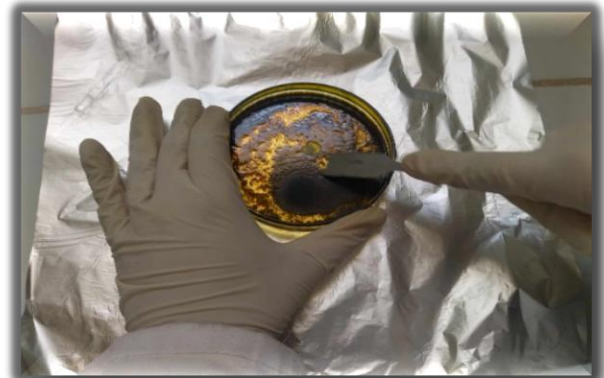
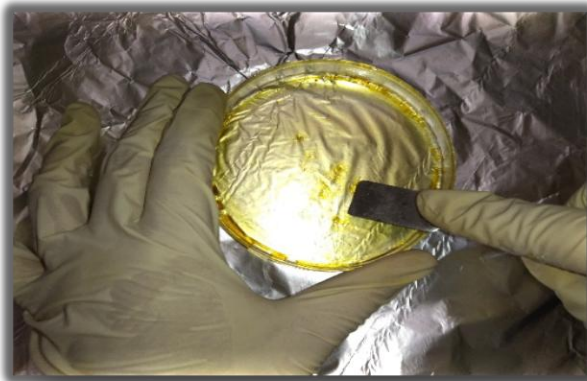
A



B

Figure N°02 : Poudre de plantes broyées A) *L. albus*, B) *S. officinalis*.

Figure N° 03 : Le résidu sec de l'extrait



éthanolique après séchage à 24h.

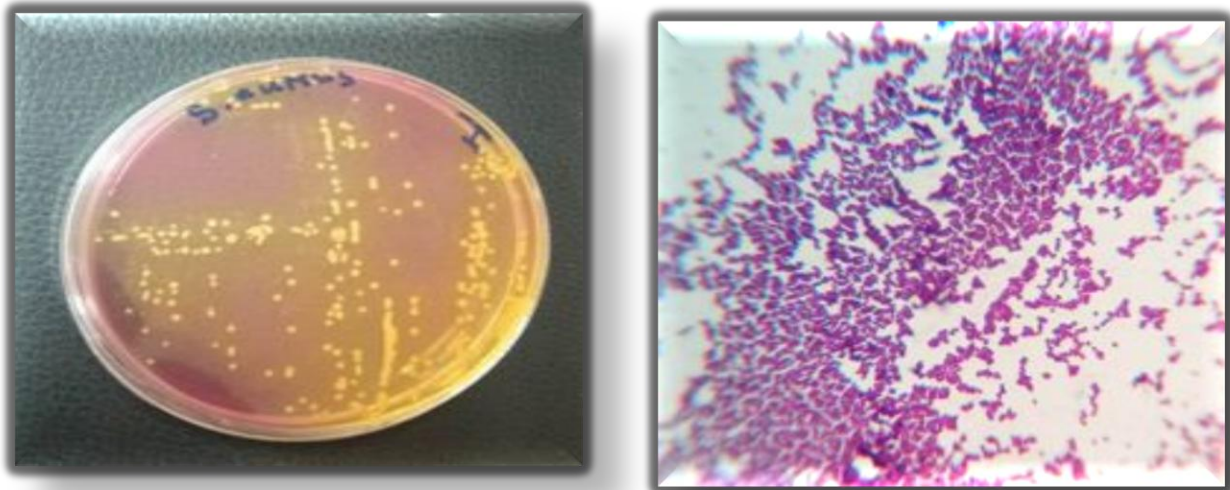


Figure N° 04 : Revivification et purification de la souche *S. aureus I*.

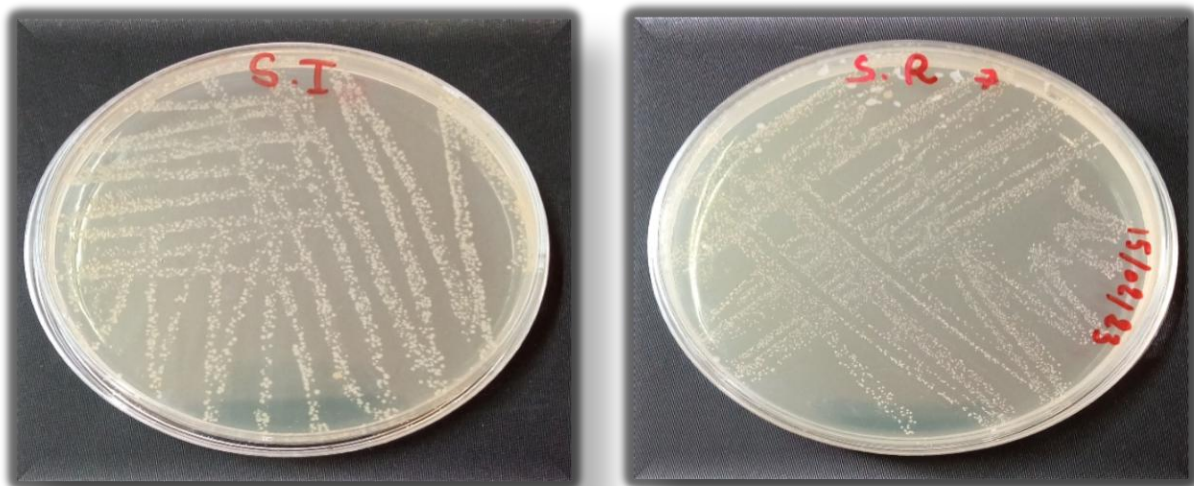


Figure N° 05 : Repiquage des souches.

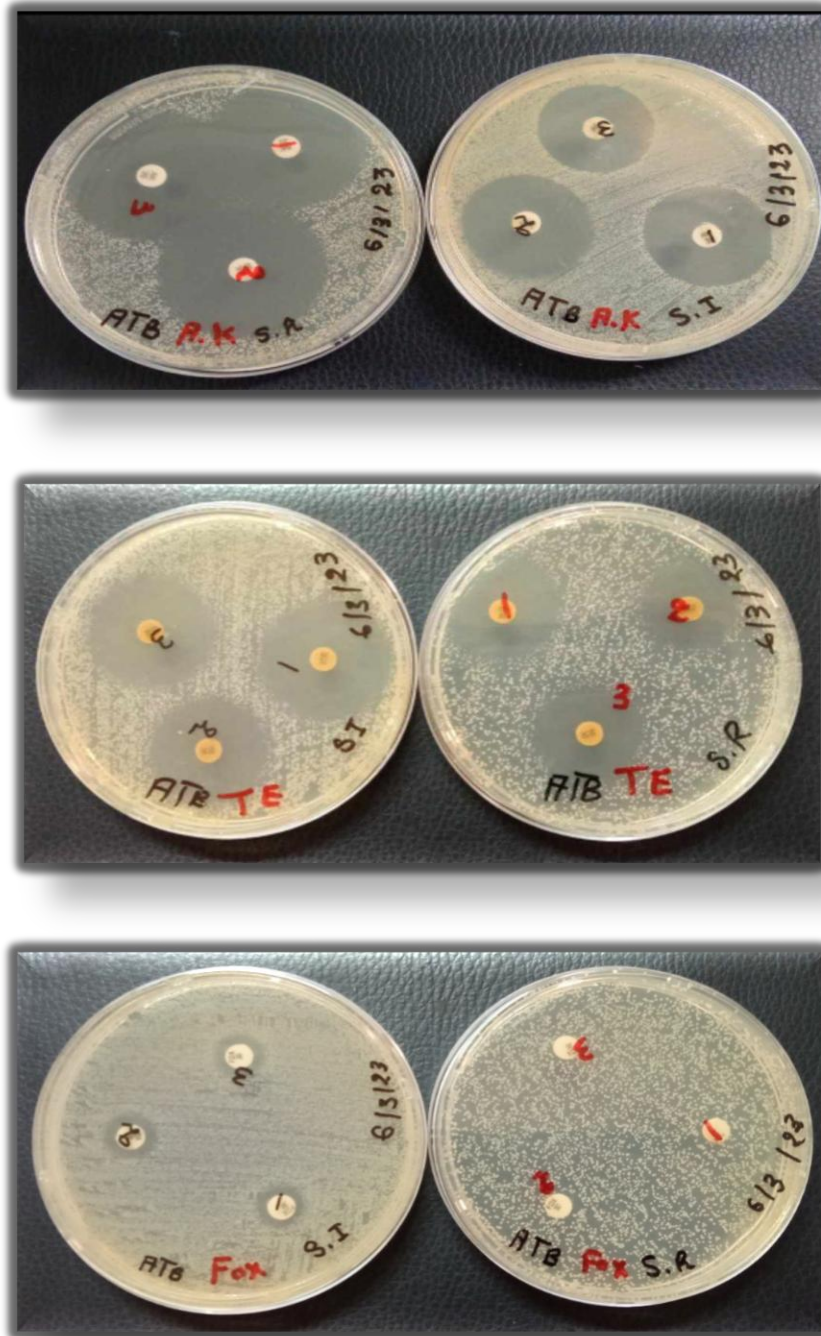


Figure N° 06 : Résultats de l'activité antibactérienne pour les témoins "disques antibiotiques".

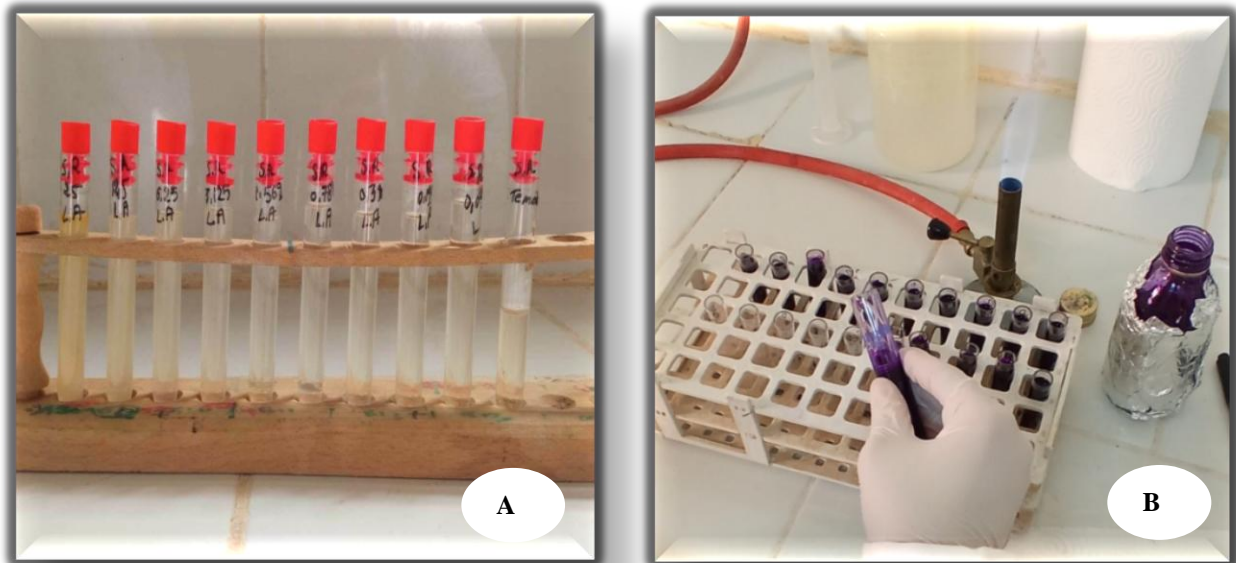


Figure N°07 : (A) la formation de biofilm, (B) : Traitement par cristal violet

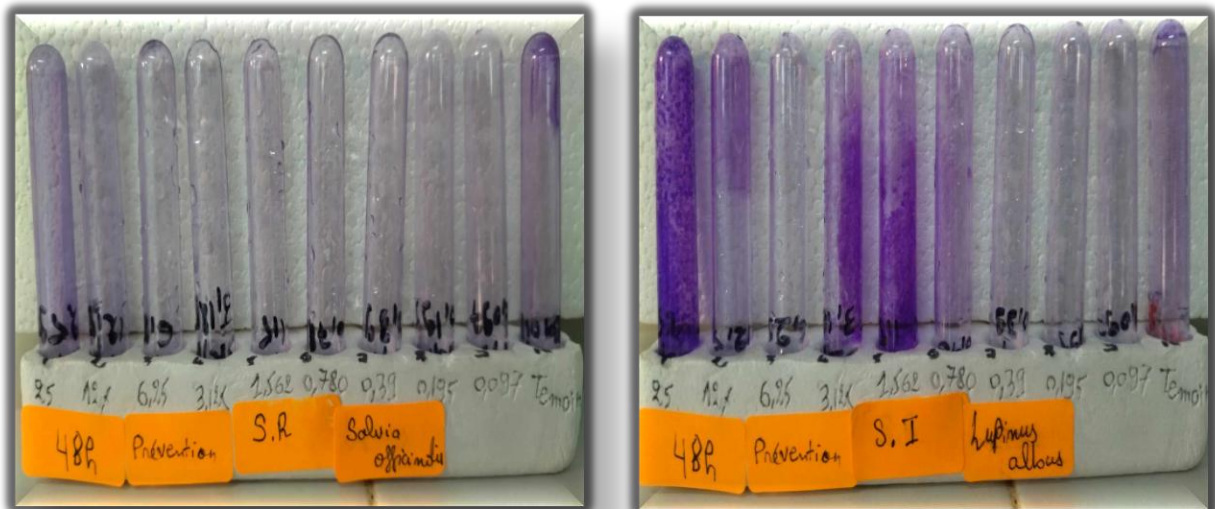


Figure N°08 : Traitement de biofilm formé par les souches *S. aureus* R et I dans les tubes sec par la méthode cristal violet.



Figure N°09 : Traitement de biofilm formé par la souche *S. aureus R* et *S. aureus I* dans les sondes urinaires par le CV.

Milieux de culture liquides**Bouillon nutritif**

Peptone.....	15,0 g
Extrait de levure.....	3,0 g
Chlorure de sodium.....	6,0 g
D(-) glucose.....	1,0 g
Eau distillée.....	1000 ml

Milieux de culture solides**Gélose nutritive**

Peptone.....	15 g
Extrait de viande.....	10g
Extrait de levure.....	02g
Chlorure de sodium.....	05g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml

pH= 6,8 ± 0,2 à 25 °C.

Stérilisation à l'autoclave à 121± 1 °C pendant 15 minutes.

Gélose Chapman

Extrait de viande (bovin au porcin).....	1g
Peptone de caséine et de viande (bovin et porcine).....	10g
Chlorure de sodium.....	75g
Mannitol.....	10g
Agar.....	15g
Rouge de phénol.....	0,025g

pH=7,6

Rouge Congo Agar

Eau distillée.....	50g
Agar.....	37g
Rouge Congo.....	0,8g
BHIB.....	10g
Saccharose	1000ml

pH=6,8-7,4

Gélose Muller Hinton

Peptone	10g
Extrait de levure	05g
Chlorure de sodium.....	05g
Glucose.....	01g
Agar.....	15g
Eau distillée.....	1000ml

pH non précisé ajouté à 7,0.

Stérilisation à l'autoclave à 118 °C pendant 15 minutes.