

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun–Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

M<sup>elle</sup> DIFALLAH Chahinez

M<sup>elle</sup> DJAOUID  
Khaldia

Thème

**Activité antibiofilm d'extrait aqueux et éthanolique  
*d'Ocimum basilicum***

Soutenu publiquement le 01/07/2024

Jury:

Président: M<sup>r</sup> DERRER S.

Encadrant: M<sup>me</sup> BOUTELDJA R.

Co-encadrant: M<sup>r</sup> AGGAD H.

Examineur : M<sup>r</sup> SAIM M. S.

Grade

M.C.A.

M.C.B.

Pr

M.C.A.

Année universitaire 2023/2024

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## **Remerciements**

(وَآخِرُ دَعْوَاهُمْ أَنِ الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ) [يونس: 10].

Avant tout nous remercions **ALLAH** tout puissant qui nous a donné la force, la santé, la volonté et le courage afin d'accomplir ce présent travail, ainsi que nos parents qui nous ont toujours soutenu et encouragé durant tous nos études.

Nous tenons à présenter nos sincères remerciements à notre honorable encadrante de mémoire Dr **BOUTELDJA Rachida** que sa profonde gratitude pour avoir orienté, dirigé ce travail et également pour tous ses conseils dans l'élaboration et la conception de ce mémoire.

Nos remerciements vont aussi à notre Co-encadrant Pr **AGGAD Hebib** pour son accueil, son aide et son orientation.

Nous adressons également nos chaleureux remerciements aux membres du jury monsieur **SAIM Mohamed Said** et monsieur **DERRER Soufiane** d'avoir accepté de juger notre travail.

Nous tenons à remercier toutes l'équipe de laboratoire d'hygiène et pathologie animal d'institut vétérinaire université Ibn Khaldoun, TIARET. Et surtout un grand et sincère remerciement à monsieur **DOUCENE Radhouane** et madame **BENHAMMOUDA Leila Soher**, les ingénieurs de ce laboratoire pour son effort et leurs aides, et leurs conseils et leurs ouvertures d'esprit, et pour eu 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 **BENALLOU Houaida Nada** pour sa participation à nos travaux.

Nous tenons à exprimer notre reconnaissance à tous nos amis et collègues de la promotion de Microbiologie Appliquée 2024.

Enfin nous tenons à remercier toute personne qui a participé de près ou de loin, directement ou indirectement à finaliser ce modeste travail.

## ***Dédicaces***

*Avec l'aide de dieu le tout puissant a achevé le présent travail que je dédie*

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

*À la lumière de ma vie le symbole de tendresse et de sacrifice qui ma supportée et m'a aidée dans les pires moments, merci infiniment maman.*

*À mes chères sœurs en témoignage de l'attachement et de l'amour que je porte pour vous, je vous dédie ce travail*

*À mes chers frères*

*À tous les membres de ma famille*

*À mon beau binôme **Chahinez** je partagé avec elle les joies et les difficultés au suivi de notre travail, et à tous mes amies surtout : **Aya** et **cherifa** qui m'ont toujours donné le sourire dans les moments difficiles.*

*À tous personnes qui connaissent et aime **Khaldia***

***Khaldia***

## ***Dédicaces***

*Avec toute ma gratitude et mon amour, je vous dédie ce mémoire...*

*À ma chère **mère**, source inépuisable de courage et de tendresse, que Dieu te  
donne le bonheur et la longue vie*

*À qui je porte fièrement son nom, chère **papa** que Dieu te protège*

*À mes frères **Moulay, Mokhtar, Sahraoui, Abd El Nour et Abd El Hamid** ,  
pour leurs encouragements constants*

*À mes chers sœurs **Khadidja, Hiba et Nedjoua***

*À ma belle copine **Khaldia**, pour sa motivation et son soutien précieux. Nous  
avons partagé ensemble des moments joyeux et tristes tout au long de la  
préparation de notre mémoire .Tu as toujours été à ma côté, je resterai toujours  
reconnaissante pour ton soutien et ton amitié sincère*

*À mes amis, pour leur amitié, leur patience et leurs encouragements*

*À tous ceux qui ont cru en moi et m'ont aidé*

*Merci pour votre confiance, votre patience et votre générosité.*

*Ce mémoire vous est dédié.*

***Chahinez***

## Résumé

Les biofilms sont un problème majeur pour la santé humaine, responsables de 80 % des infections bactériennes, des infections chroniques et des infections nosocomiales, ce qui représente un défi dans l'environnement clinique.

Dans ce contexte, l'objectif de notre étude est d'évaluer la richesse des extraits aqueux et éthanoliques de la plante *Ocimum basilicum* L, en composés bioactifs par criblage phytochimique. Identifier leurs propriétés biologiques, en particulier leurs propriétés antioxydantes, antibactériennes et antibiofilm.

A cet égard, nous avons criblé les molécules bioactives des extraits aqueux et éthanolique (80%) d'*O. basilicum* L. , puis étudié le pouvoir antioxydant par le test DPPH et l'évaluation de l'activité antibactérienne réalisée contre deux souches de *S. aureus* isolet et référencé. En outre, nous avons déterminé la capacité de formation de biofilms des souches testées en utilisant la méthode du Rouge Congo et évalué l'activité antibiofilm des extraits aqueux et éthanoliques de basilic en utilisant la méthode du cristal violet contre les deux souches de *S. aureus* R et I.

Le rendement (%) de l'extrait éthanolique d'*O. basilicum* L. est de 13,05% et de 7,58% pour l'extrait aqueux. L'extrait éthanolique d'*O. basilicum* possède un pouvoir antioxydant plus intéressant que l'extrait aqueux.

Le pouvoir antibactérien de l'extrait aqueux d'*O. basilicum* a montré une forte inhibition contre *S. aureus* I et R , avec des zones d'inhibition de (24.14± 0.89mm et 22.82± 1.7mm) respectivement, tandis que l'extrait éthanolique a été capable d'inhiber les souches testées, avec une zone d'inhibition significative contre *S. aureus* I de (11.13 ±0.36 mm) significative pour *S.aureus* I et (11.77 ±0.63 mm ) pour *S. aureus* R . Avec une CMI de 25 mg/ml pour les deux extraits contre les souches testées.

En revanche, l'activité anti-biofilm révèle une puissante capacité à inhiber la formation de biofilms et à détruire les biofilms formés par les souches I et R de *S. aureus*, avec des taux de 72,70±0,03% et 79,36±0,14% pour l'extrait aqueux et de 75,64 ±00% et 79,59 ±0,18% pour l'extrait éthanolique, respectivement.

**Mots clé :** *Ocimum basilicum* , *S. aureus* I, pouvoir antioxydant, composés bioactifs, antibactérienne, biofilm.

## Abstract

Biofilms are a major problem for human health, responsible for 80% of bacterial infections, chronic infections and nosocomial infections, which represents a challenge in the clinical environment.

In this context, the aim of our study is to assess the richness of aqueous and ethanolic extracts of the plant *Ocimum basilicum* L. , in bioactive compounds by phytochemical screening. To identify their biological properties, in particular their antioxidant, antibacterial and antibiofilm properties.

To this end, we screened the bioactive molecules of the aqueous and ethanolic (80%) extracts of *O. basilicum* L. , then studied the antioxidant power using the DPPH test and assessed the antibacterial activity carried out against two strains of *S. aureus* I and R. In addition, we determined the biofilm-forming capacity of the strains tested using the Rouge Congo method and assessed the antibiofilm activity of aqueous and ethanolic basil extracts using the crystal violet method against the two *S. aureus* strains R and I.

The yield (%) of the ethanolic extract of *O. basilicum* L. was 13.05% and 7.58% for the aqueous extract. The ethanolic extract of *O. basilicum* has a more interesting antioxidant power than the aqueous extract.

The antibacterial power of the aqueous extract of *O. basilicum* showed strong inhibition against *S. aureus* I and R , with zones of inhibition of (24.14± 0.89mm and 22.82± 1.7mm) respectively. whereas the ethanolic extract was able to inhibit the strains tested, with a significant zone of inhibition against *S. aureus* I of (11.13 ±0.36 mm ) significant for *S. aureus* I and (11.77 ±0.63 mm ) for *S. aureus* R . With an MIC of 25 mg/ml for both extracts against the strains tested.

On the other hand, the anti-biofilm activity revealed a powerful capacity to inhibit biofilm formation and destroy biofilms formed by *S. aureus* I and R strains, with rates of 72.70±0.03% and 79.36±0.14% for the aqueous extract and 75.64 ±00% and 79.59 ±0.18% for the ethanolic extract, respectively.

Key words: *Ocimum basilicum* , *S. aureus* R and I, antioxidant power, bioactive compounds, antibacterial, antibiofilm.

## المخلص

تُعد الأغشية الحيوية الرقيقة مشكلة كبيرة لصحة الإنسان، فهي مسؤولة عن 80% من حالات العدوى البكتيرية والالتهابات المزمنة وعدوى المستشفيات، مما يمثل تحديًا في البيئة السريرية.

في هذا السياق، تهدف دراستنا إلى تقييم ثراء المستخلصات المائية والإيثانولية لنبات *Ocimum basilicum* L.، بالمركبات النشطة بيولوجيًا عن طريق الفحص الكيميائي النباتي. لتحديد خواصها البيولوجية، ولا سيما خصائصها المضادة للأكسدة والمضادة للبكتيريا والمضادة للأغشية الحيوية.

تحقيقًا لهذه الغاية، قمنا بفحص الجزيئات النشطة بيولوجيًا من المستخلصات المائية والإيثانولية (80%) من *O. basilicum* L.، ثم درسنا قوة مضادات الأكسدة باستخدام اختبار DPPH وقمنا بتقييم النشاط المضاد للبكتيريا الذي تم إجراؤه ضد سلالتين من *S. aureus* I و R. بالإضافة إلى ذلك، حددنا القدرة على تكوين الأغشية الحيوية للسلاسل التي تم اختبارها باستخدام طريقة روج كونغو وقمنا بتقييم النشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات الريحان المائي والإيثانولي باستخدام طريقة الكريستال البنفسجي ضد سلالتين من بكتيريا *S. aureus* R و I.

بلغ العائد (%) من المستخلص الإيثانولي للريحان الإيثانولي 13.05% و 7.58% للمستخلص المائي. يتميز المستخلص الإيثانولي للريحان الإيثانولي بقدرة مضادة للأكسدة أكثر إثارة للاهتمام من المستخلص المائي.

أظهرت الفعالية المضادة للبكتيريا للمستخلص المائي للباسيليكوم المائي تثبيطاً قوياً ضد *S. aureus* I و R، مع مناطق تثبيط ( $0.89 \pm 24.14$  مم و  $22.82 \pm 7.1$  ملم) على التوالي، في حين أن المستخلص الإيثانولي كان قادراً على تثبيط السلالات التي تم اختبارها، مع منطقة تثبيط كبيرة ضد بكتيريا *S. aureus* I قدرها ( $0.36 \pm 11.13$  ملم) كبيرة بالنسبة ل *S. aureus* I و ( $0.63 \pm 11.77$  ملم) ل *S. aureus* R. مع وجود تركيز مميت متوسط قدره 25 ملغم/مل لكلا المستخلصين ضد السلالات المختبرة .

من ناحية أخرى، كشف النشاط المضاد للفيلم الحيوي عن قدرة قوية على تثبيط تكوين الأغشية الحيوية الرقيقة وتدمير الأغشية الحيوية الرقيقة التي شكلتها سلالات *S. aureus* I و R، بمعدلات  $72.70 \pm 0.03\%$  و  $79.36 \pm 0.14\%$  للمستخلص المائي و  $75.64 \pm 0.00\%$  و  $79.59 \pm 0.18\%$  للمستخلص الإيثانولي على التوالي.

الكلمات المفتاحية: *Ocimum basilicum*، *S. aureus* R و I، قوة مضادة للأكسدة، مركبات نشطة بيولوجياً، مضاد للبكتيريا، مضاد للأغشية الحيوية.



## Liste des Abréviations

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**AlCl<sub>3</sub>** : Chlorure d'Aluminium.

**ATCC**: American Type Culture Collection

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>).

**EAG** : Equivalent Acide Gallique.

**Eps**: Exopolysaccharides

**EQ** : Equivalent Quercétine.

**Ex Aq** : Extrait Aqueux.

**Ex Eth** : Extrait Ethanolique

**FeCl<sub>3</sub>** : Chlorure ferrique.

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** : Acide sulfurique.

**IC<sub>50</sub>** : Concentration inhibitrice médiane

**MH**: Muller Hinton.

**Na<sub>2</sub> CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium.

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

**NH<sub>4</sub> OH** : Ammoniaque

***O.basilicum***: Ocimum basilicum

**RCA**: Rouge Congo agar

**SBEO** : Sweet Basil Essential Oil

**SI** : *Staphylococcus aureus* Isolée

**SR** : *Staphylococcus aureus* Référencé

**TFC** :Teneur en flavonoïdes totaux.

**TPC** :Teneur en polyphénols totaux

**UV** : Ultra-violet

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°01:</b> Histoire de biofilms. ....	03
<b>Tableau N°02:</b> Classification d' <i>Ocimum basilicum</i> .....	07
<b>Tableau N°03 :</b> Différentes matériels et produits utilisés .....	10
<b>Tableau N°04 :</b> Screening phytochimique d'extrait aqueux et éthanolique d' <i>O. basilicum</i> L .....	22.
<b>Tableau N°05:</b> Valeurs de la IC50 des extraits d' <i>Ocimum basilicum</i> et de l'acide ascorbique exprimées en mg/ml et obtenues par le test de DPPH.....	27
<b>Tableau N°06 :</b> Concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits d' <i>O. basilicum</i> .	32

## Liste des annexes

<b>Annexe I:</b> Préparation des extraits
<b>Annexe II:</b> Screening phytochimique
<b>Annexe III:</b> Courbes d'étalonnages
<b>Annexe IV:</b> Différents dosages
<b>Annexe V:</b> Composition de milieu
<b>Annexe VI:</b> Activité antibactérienne
<b>Annexe VII :</b> Activité antibiofilm

## Liste des figures

<b>Figure N°01 :</b> Stades du développement du biofilm .....	4.
<b>Figure N°02:</b> Une présentation du basilic .....	6
<b>Figure N°03 :</b> Répartition géographique du basilic .....	6
<b>FigureN°04:</b> Mécanisme antibactérien et antibiofilm de la plante médicinale .....	8
<b>Figure N°05:</b> La partie aérienne de la plante <i>Ocimum basilicum</i> L.....	11
<b>Figure N° 06:</b> Différentes étapes d'extraction éthanolique et aqueuse de basilic .....	12
<b>Figure N° 07:</b> Etapes principaux de l'activité antibactérienne des extraits de basilic .....	17
<b>Figure N°08 :</b> Diagramme des déférentes étapes de l'activité anti biofilm .....	20
<b>Figure N°09 :</b> Rendement d'extraction obtenus pour les différents extraits d' <i>O. basilicum</i> .....	21
<b>Figure N°10:</b> Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes des extraits d' <i>O basilicum</i> . .....	26
<b>Figure N°11:(A)</b> Zone d'inhibition d'extrait Ethanolique, et <b>(B)</b> l'aqueux d' <i>O. basilicum</i> sur <i>S. aureus</i> I.....	29
<b>FigureN°12:</b> Résultats d'activité antibactérienne d'extrait aqueux et éthanolique d' <i>O. basilicum</i> . .....	30
<b>Figure N°13:A):</b> Détermination de la CMI par la méthode de macrodilution, <b>(B) :</b> Ensemencement des tubes qui ne présent pas de turbidité.....	31
<b>FigureN°14:</b> Phénotype de la production de biofilm sur RCA par <i>S.aureus</i> R et I .....	33
<b>Figure N°15:</b> Pourcentage d'inhibition de la formation du biofilm par l'extrait aqueux et éthanolique d' <i>O. basilicum</i> . .....	34
<b>Figure N°16:</b> Pourcentage d'inhibition de la formation du biofilm par l'extrait aqueux et éthanolique d' <i>O. basilicum</i> .....	36

Résumé	
Liste des abréviations	
Liste des Tableaux	
Liste des Annexes	
Liste des Figures	

## Sommaire

Introduction .....	1
I Biofilm .....	3
I.1. Définition .....	3
I.2. Historique.....	3
I.3. Mécanisme de formation.....	4
I.4. Les facteurs favorisant la formation de biofilm .....	5
I.5. Problèmes liés à la formation de biofilm .....	5
Ocimum basilicum L. ....	6
II.1. Description.....	6
II. 2. Classification .....	7
II.3. Propriétés biologiques d' <i>Ocimum basilicum</i> .....	7
II.4 Effet des plantes médicinales sur la formation de biofilm .....	8
I. Matériel et Méthodes .....	9
I.1. Objectifs d'étude .....	9
I.3. Matériel et produits .....	10
II. Matériel végétal .....	11
II.1. Préparation des extraits.....	11
II.2. Détermination du rendement des extraits .....	13
II.3. Caractérisation phytochimique .....	13
II.3.1. Screening phytochimique .....	13
II.3.2. Dosage des polyphénols .....	14
II.3.3. Dosage des flavonoïdes .....	14
II.3.4. Activité antioxydante.....	15
II.4. Teste de l'activité antibactérienne .....	15
II.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	18
II.6. Evaluation de l'activité anti-biofilm.....	18
II.6.1. Evaluation de la capacité des souches à former biofilm.....	18

1. Prévention de la formation de biofilms (prévention de l'attachement initial des cellules bactériennes).....	19
2. Inhibition du développement de biofilms formés (évaluation de la destruction massive de biofilms) .....	19
Résultats & Discussion .....	21
I.1. Rendement des extraits bruts .....	21
I.2. Screening phytochimiques .....	22
II.3. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes .....	25
I.4. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits de plantes.....	27
II.5.1 L'évaluation de l'activité antibactérienne .....	28
I.5.2 Détermination des concentration minimales inhibitrices (CMI) .....	31
I.6. Evaluation de l'activité antibiofilm .....	32
II.6.1. Technique de Rouge Congo .....	32
II.6.2. Capacité d'inhibition de la formation de biofilm (5 jours).....	33
II.6.3 Destruction de biofilm produit par <i>S. aureus</i> R et I (5 jours) .....	35
Conclusion.....	37
<b>Références Bibliographiques</b> .....	38
<b>Annexes</b> .....	

# *Introduction*

La progression de la résistance aux antimicrobiens constitue un défi majeur pour le traitement efficace des infections bactériennes, aggravé par la surconsommation d'antibiotiques. De ce fait, il est urgent de découvrir de nouveaux agents antimicrobiens et des remèdes naturels pour lutter contre cette menace (**Eid et al., 2023**).

*Staphylococcus aureus* est l'une des bactéries Gram-positives les plus importantes en matière de santé publique, reconnue par l'OMS comme hautement prioritaire en raison de sa résistance aux antibiotiques. En outre, *S. aureus* est responsable d'infections communautaires et hospitalières, causant environ 110 500 décès en 2019. Grâce à sa capacité à adhérer aux surfaces et à former des biofilms, elle contamine souvent les dispositifs médicaux et les instruments (**Beltrán-Martínez et al., 2024**).

Les biofilms, constitués de communautés bactériennes attachées à des surfaces solides ou à l'interface air-liquide, protègent les bactéries en réduisant la pénétration des antimicrobiens et en inactivant les antibiotiques grâce à une matrice de polysaccharides, de protéines et d'acides nucléiques. Les variations environnementales induisent des mécanismes de résistance et des changements phénotypiques chez les bactéries, favorisant la formation de cellules persistantes et pouvant entraîner des rechutes après le traitement (**Slobodníková et al., 2016**). La présence de biofilms bactériens est à l'origine de plus de 80 % des maladies infectieuses humaines et de certaines maladies animales telles que la mammite, ce qui souligne l'importance de ces biofilms en médecine clinique et vétérinaire (**Wang et al., 2024**).

Face à l'augmentation des effets secondaires des antibiotiques et de la résistance des agents pathogènes, la recherche porte actuellement sur les plantes médicinales en tant que source d'agents thérapeutiques efficaces, qui constituent une alternative médicinale prometteuse en raison de leur faible coût et de leurs effets secondaires tolérables (**Yelwa et al., 2018**).

Les plantes médicinales sont étudiées depuis des décennies pour leurs effets thérapeutiques, elles sont reconnues pour leurs constituants phytochimiques qui aident à prévenir et à guérir diverses maladies (**Yelwa et al., 2018**). Selon l'Organisation mondiale de la santé, la plupart des populations des pays développés font un usage intensif des plantes pour traiter leurs problèmes de santé primaires (**Faur et al., 2020**). Il a été établi que sur les 3000 espèces végétales connues dans le monde, seules 15 % sont utilisées à des fins médicinales (**Elahe et al., 2023**).

Le grand basilic (*Ocimum basilicum*), qui appartient à la famille des Lamiacées, est l'une des plus de 60 espèces du genre *Ocimum* (**Bin-Masalam et al., 2021**), dont les propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et immunomodulatrices sont particulièrement reconnues. Ces vertus proviennent de composés phytochimiques tels que les flavonoïdes, les acides phénoliques, l'acide rosmarinique, les composés aromatiques tels que l'eugénol, le chavicol, le linalol et l' $\alpha$ -terpinéol, ainsi que les huiles essentielles (**Teofilovic et al., 2021**).

Les extraits éthanoliques de ses feuilles présentent des effets antibactériens significatifs contre *S. aureus* (**Dehi et al., 2023**). Dans certaines régions du monde, les fruits du basilic sont utilisés pour traiter les infestations de vers, les inflammations, la diarrhée et certaines maladies oculaires (**Faur et al., 2020**). En outre, les feuilles de basilic sont utilisées comme tonique et vermifuge, et le thé de basilic traite la dysenterie, la fatigue mentale, les rhumes, les spasmes et les rhinites, et est utilisée comme premier soin pour les piqûres de guêpes et les morsures de serpents (**Benabdallah et al., 2020**).

Dans ce contexte, cette étude vise à :

- ✚ Évaluer la richesse des extraits éthanoliques et aqueux d'*Ocimum basilicum* par un criblage phytochimique.

- ✚ Déterminer le taux des polyphénols et des flavonoïdes dans les extraits.

- ✚ Déterminer la capacité antioxydante in vitro en utilisant la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH.

- ✚ Evaluer de l'effet antibactérienne des extraits contre *Staphylococcus aureus*, par des techniques de diffusion en puits et concentration minimale inhibitrice par la technique de macrodilution.

- ✚ Estimer de l'activité antibiofilm "prévention-destruction" des extraits éthanoliques et aqueux d'*Ocimum basilicum* contre *Staphylococcus aureus*.



*Partie I.*

*Recherche*

*bibliographique*

## I Biofilm

### I.1. Définition

Le biofilm est une communauté microbienne sessile dans laquelle les microbes évoluent en association sur des substrats biotiques ou abiotiques reliés par des polysaccharides extracellulaires, des protéines, des lipides et de l'ADN. Il s'agit d'un milieu de vie essentiel et permanent pour les bactéries, qui y adaptent leur métabolisme et leurs propriétés physiologiques (**Boubakeur et al., 2022; Suchita et al., 2020**).

### I.2. Historique

Les biofilms ont été découverts la première fois par **Anton Von Leeuwenhoek** à l'aide de son microscope lorsqu'il examine des raclures dentaires, Mais la première formulation de la théorie générale de la prédominance du biofilm a été énoncée en 1978 (**Leanne et Garmatt., 2023; Dolan et Costerton., 2002**).

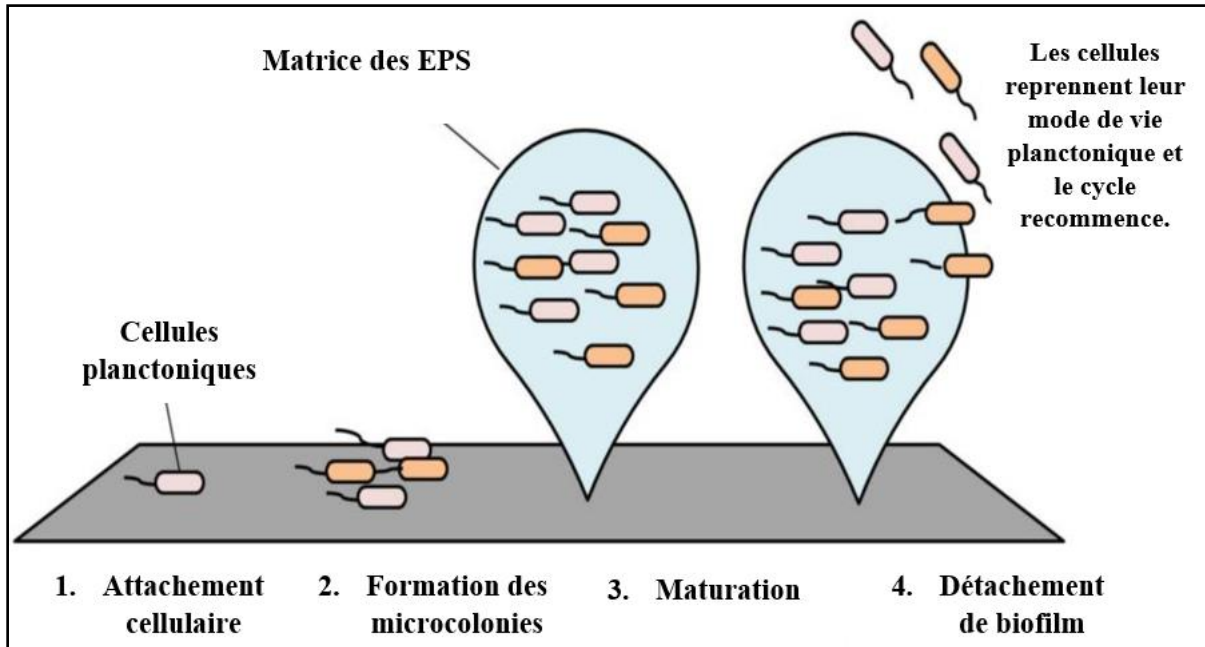
Voici ce tableau qui montre l'histoire de biofilm :

**Tableau N°01: Histoire de biofilms (Suchita et al.,2020).**

Année	Contribution de chercheur
17 <sup>ème</sup> siècle	<b>Antony Van Leeuwenhoek</b> a été examiné pour la première fois des microorganismes sur la surface de ses dents.
1930	<b>Claude Zobelle</b> a été examiné l'adhésion bactérienne.
	La création du biofilm par <b>Bill Costeron</b> .
1978	<b>Heukelein et Heller</b> ont été étudié l'effet bouteille sur les microorganismes.
	<b>Jones et al</b> ont été utilisé la microscopie électronique à balayage pour examiner les biofilms
2002	Description silencieuse de biofilm par <b>Donlan et Codterton</b> .

### I.3. Mécanisme de formation

Les biofilms représentent une forme naturelle de croissance pour la plupart des micro-organismes, dont le développement se fait en plusieurs stades (Wang et al., 2023). La figure N°01 illustre cette évolution.



**Figure N°01 :** Stades du développement du biofilm (Samrot et al., 2021).

La première étape de la formation d'un biofilm, qui fait suite à l'interaction instantanée avec une surface abiotique, est l'adhésion au biofilm, lorsque l'interaction initiale des bactéries avec un substrat est réversible. Les bactéries, une fois attachées à la surface, se divisent et se multiplient en générant des microcolonies. Durant cette étape, la formation de la matrice extracellulaire a lieu, comprenant une substance polysaccharide extracellulaire (EPS) et des protéines structurales, parmi d'autres composants, fournissant une protection contre les variables externes. Cette étape est connue sous le nom "d'attachement irréversible". La troisième étape est la maturation, où les bactéries communiquent entre elles et modifient en conséquence leur réponse aux variables environnementales et leur résistance (Grishma et al., 2023; Murul et Lavanya., 2022). Finalement, c'est l'étape de la dispersion des cellules du biofilm, où les cellules planctoniques disséminées peuvent adhérer à d'autres sites (Leanne et Garmett., 2023).

#### I.4. Les facteurs favorisant la formation de biofilm

La formation de biofilms bactériens est un phénomène présent au sein de la plupart des environnements de notre planète (**Elena et al., 2023**). Ces biofilms sont influencés par diverses conditions environnementales notamment le pH, la température, la salinité, la force ionique, la vitesse d'écoulement du milieu, la disponibilité des éléments nutritifs et l'hydrodynamique.

En outre, cette formation est influencée par des facteurs liés à l'hôte, tels que la réponse immunologique, les problèmes de santé et les facteurs génétiques (**Asghar et al., 2023; Sakshi et al., 2023**).

#### I.5. Problèmes liés à la formation de biofilm

Les biofilms offrent aux bactéries plusieurs avantages écologiques et physiologiques, ainsi que la constitution de biofilms peut multiplier la résistance bactérienne aux antibiotiques, aux agents antimicrobiens, aux désinfectants et au système immunitaire de l'hôte par un facteur pouvant aller jusqu'à 1000 (**Berlang et Guerrero., 2016; Singh et al., 2017**). Cependant, les biofilms constituent une source de préoccupations importantes

✚ **Environnementaux** : les biofilms concentrent les matières pauvres en oxygène dans les lacs et les rivières.

✚ **Industriels** : les biofilms entraînent une dégradation des installations immergées, un encrassement biologique, une augmentation des risques de corrosion et une contamination des équipements agroalimentaires et des réseaux de distribution d'eau (**Klein et al., 2010**).

✚ **Médical** : les biofilms sont responsables de 80% des infections bactériennes (**Penesyan et al., 2021**), ils jouent donc un rôle très important dans diverses infections chroniques associées aux pathologies humaines, ce qui représente un défi dans l'environnement clinique (**Chin et Zeuko, 2023**), ils peuvent coloniser les implants médicaux, orthopédiques et dentaires et les cathéters de dialyse, provoquant des infections urinaires (**Asghar et al., 2023**).

## Ocimum basilicum L.

### II.1. Description

*Ocimum basilicum* L. (*basilic doux*), également connu sous le nom de " Roi des herbes", est une plante médicinale aromatique, membre de la famille des Lamiaceae compte plus de 150 espèces (Bensaid et al., 2022). Traditionnellement, le basilic est utilisé comme remède maison pour soigner les maladies humaines (Azizah et al., 2023 ; Akoto et al., 2020).



Figure N°02 : Une présentation du basilic (Zhakipbekov et al., 2024).

*Ocimum basilicum* s'adapte à une grande variété de climats, prospérant dans les zones fraîches et humides (Dharsono et al., 2022), et il est naturellement présent dans les régions tropicales et subtropicales (Rahimi et al., 2023).

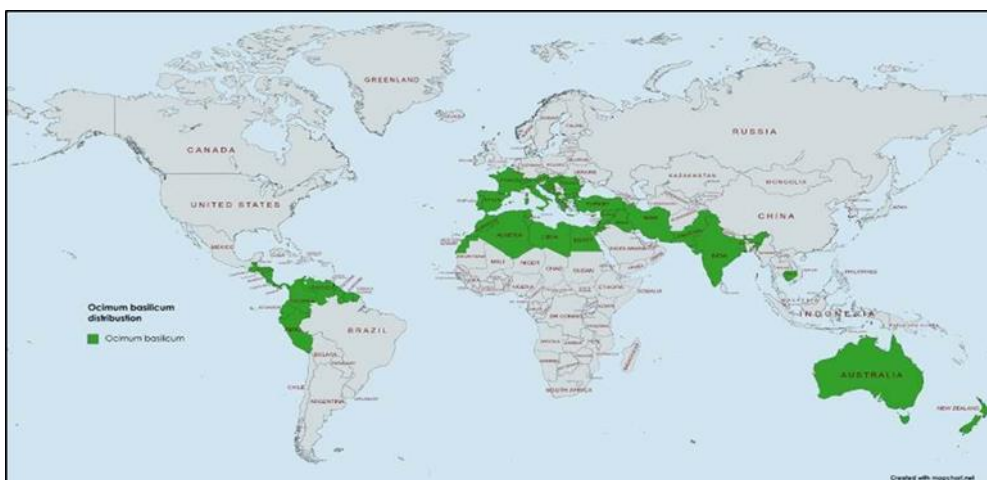


Figure N°03 : Répartition géographique du basilic (Boukhadoum., 2021).

## II. 2. Classification

La classification de la plante *Ocimum basilicum* L. est présentée ci-dessus :

**Tableau N°02** : Classification d'*Ocimum basilicum* (Kamelnia et al., 2023)

<b>Règne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnolipsida
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Ocimum</i>
<b>Espèce</b>	<i>Basilicum</i>

## II.3. Propriétés biologiques d'*Ocimum basilicum*

Plusieurs études montrent qu'*Ocimum basilicum* contient une diversité de composés bioactifs d'origine phytochimique, dont des phénols, des flavonoïdes, des alcaloïdes, des terpénoïdes, des tanins, des stéroïdes, des saponines, des glycosides et des sucres réducteurs, qui exercent des effets thérapeutiques variés (Zhakipbekov et al., 2024 ; Teofilovic et al., 2021). Elle pourrait donc avoir des propriétés biologiques exceptionnelles, notamment anti-inflammatoires en bloquant les enzymes et les médiateurs du processus d'inflammation (Akoto et al., 2020). De plus, diverses recherches ont démontré la capacité des composés terpéniques à attaquer et à détruire les membranes cellulaires des micro-organismes (Zhakipbekov et al., 2024).

## II.4 Effet des plantes médicinales sur la formation de biofilm

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles pour traiter diverses maladies. Elles restent une ressource sous-exploitée contenant des composés naturels puissants, offrant un potentiel significatif en termes d'activité antimicrobienne et/ou antibiofilm, en particulier face à la résistance croissante aux antibiotiques (Guimarães et al., 2021).

Différentes stratégies peuvent contribuer à l'élimination du biofilm (Figure N°04) dont l'inhibition de la formation du biofilm comme stratégie préventive en empêchant l'adhésion initiale, la transition de la forme planctonique à la formation du biofilm pour limiter la maturation du biofilm, la promotion de la dispersion des cellules bactériennes du biofilm. Ou une stratégie curative alternativement, par dissociation du biofilm existant (Goetz., 2018; Aumeran et al., 2020 ; Dvid et Jean ., 2012).

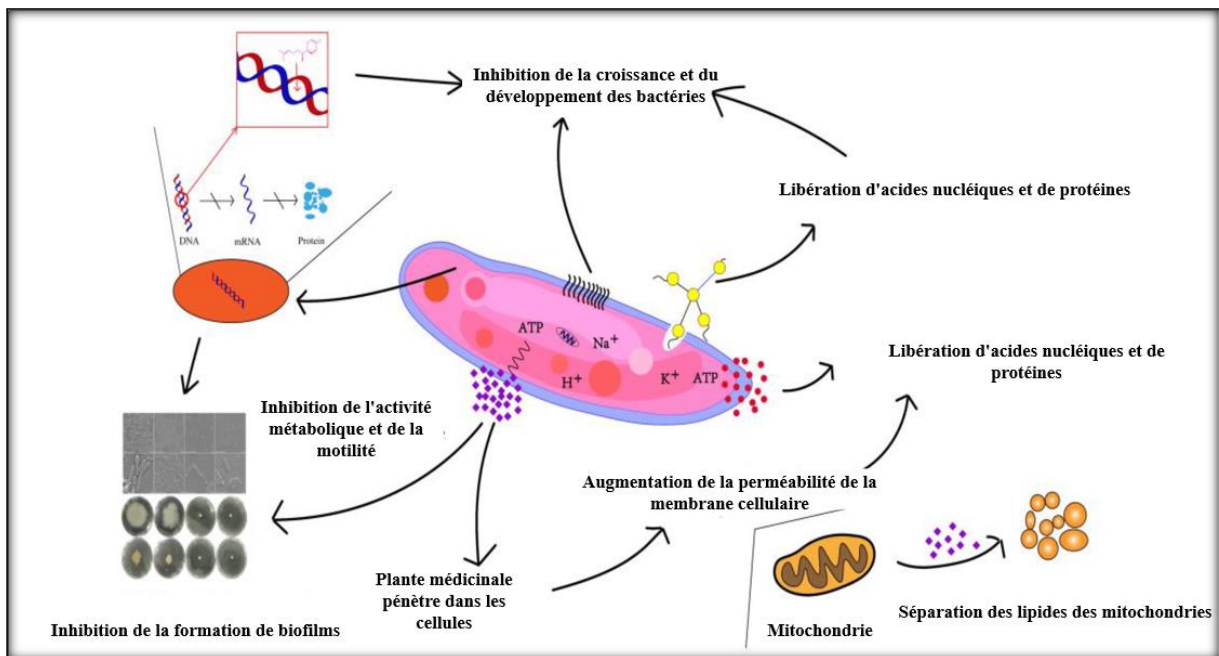


Figure N°04 : Mécanisme antibactérien et antibiofilm de la plante médicinale (Zhang et al ., 2023).

**Partie II.**  
**Partie expérimentale**



**Matériel**  
**&**  
**Méthodes**

### I. Matériel et Méthodes

#### I.1. Objectifs d'étude

Cette étude a pour objectifs les suivants :

- ✚ Caractérisation phytochimique des extraits *d'Ocimum basilicum* L.
- ✚ Identification des propriétés biologiques des extraits aqueux et éthanoliques d'*Ocimum basilicum* L. en particulier leurs propriétés antioxydantes et antibactériennes.
- ✚ Détermination de la capacité de ces extraits à prévenir la formation et la destruction de biofilms.

#### I.2. Lieu d'étude

Cette expérimentation a été effectuée au sein du laboratoire d'hygiène et de pathologie animale de l'institut vétérinaire - Université Ibn Khaldoun de Tiaret durant la période allant du 27 janvier au 03 juin 2024 .

## I.3. Matériel et produits

➤ Les outils utilisés dans cette recherche résumée dans le tableau ci-dessous

Tableau N°03: Différentes matériel et produits utilisés

Appareillages	Verreries	Réactifs et Produits chimique	Milieux de culture
-Agitateur magnétique	-Écouvillons stériles	- Acétate de sodium	<b>Milieux solides :</b> Gélose Chapman
-Autoclave	- Embouts	-acétate de plomb(10%)	Gélose nutritive
-Bain marie	- Erlenmeyer	-acide sulfurique	Gélose rouge Congo
-Balance analytique (OHAU5)	-Béchers	-AlCl <sub>3</sub> (10%)	Muller Hinton
-Bec bunsen	-Boîtes pétries	-Anhydride acétique	<b>Milieux liquides</b> : Bouillon nutritif
-Broyeur	-Entonnoir	-Chlorofome	Bouillon glucosé
-Etuve	-Eprouvette	-Chlorure ferrique(FeCl <sub>3</sub> )	Eau physiologique
-Hôte bactériologique	-flacons	-Cristal violet	
-Micropipette (1000 UI)	-Lames et lamelles	-DPPH	
-Microscope optique (Cimex)	-Papier filtre	-Ethanol/Méthanol absolu	
-Pied à coulisse	-Pince -	- Folin-Ciocalteu (10%)/ Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> (7,5%)	
-Secouer	-Pipette pasteur	-Fuchsine	
-Spectrophotomètre (Biochrom-Libra S6)	-Spatule	- H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> /NH <sub>4</sub> OH (10%)	
-Stérilisateur UV (AIR FLOW CJ-20)	-Tubes à essai/Tubes sec	-Huile d'immersion	
-Tamis (250 Um)	-portoir	-Lugol	
-Vortex (Wise mix VM10)	-Verrede montre	-réactifde Mayer/Bouchardat	
		-Saccharose	
		-Violet de Gentiane	

## II. Matériel végétal

Dans cette expérience, nous avons utilisé la partie aérienne de l'espèce *Ocimum basilicum* L. achetée chez un herboriste de la ville de Tiaret (**Figure N°05**). Celle-ci a été broyée à l'aide d'un broyeur jusqu'à obtention d'une consistance fine, puis tamisée pour obtenir une poudre homogène (**Rahayu et al., 2021**).



**Figure N°05** : La partie aérienne de la plante *Ocimum basilicum* L.

### II.1. Préparation des extraits

Les extraits d'*Ocimum basilicum* ont été préparés par macération de 20mg de poudre de plante dans 200ml de solvant (éthanol 80% et aqueux) sous agitation continue pendant 24 heures à température ambiante ( **Figure N°06**). Les mélanges ont ensuite été filtrés sur papier filtre et le filtrat obtenu a ensuite été évaporé à 40°C jusqu'à l'obtention d'un résidu sec conservé à -20°C jusqu'à utilisation (**Annexe I**) (**Bouteldja et al., 2021**)

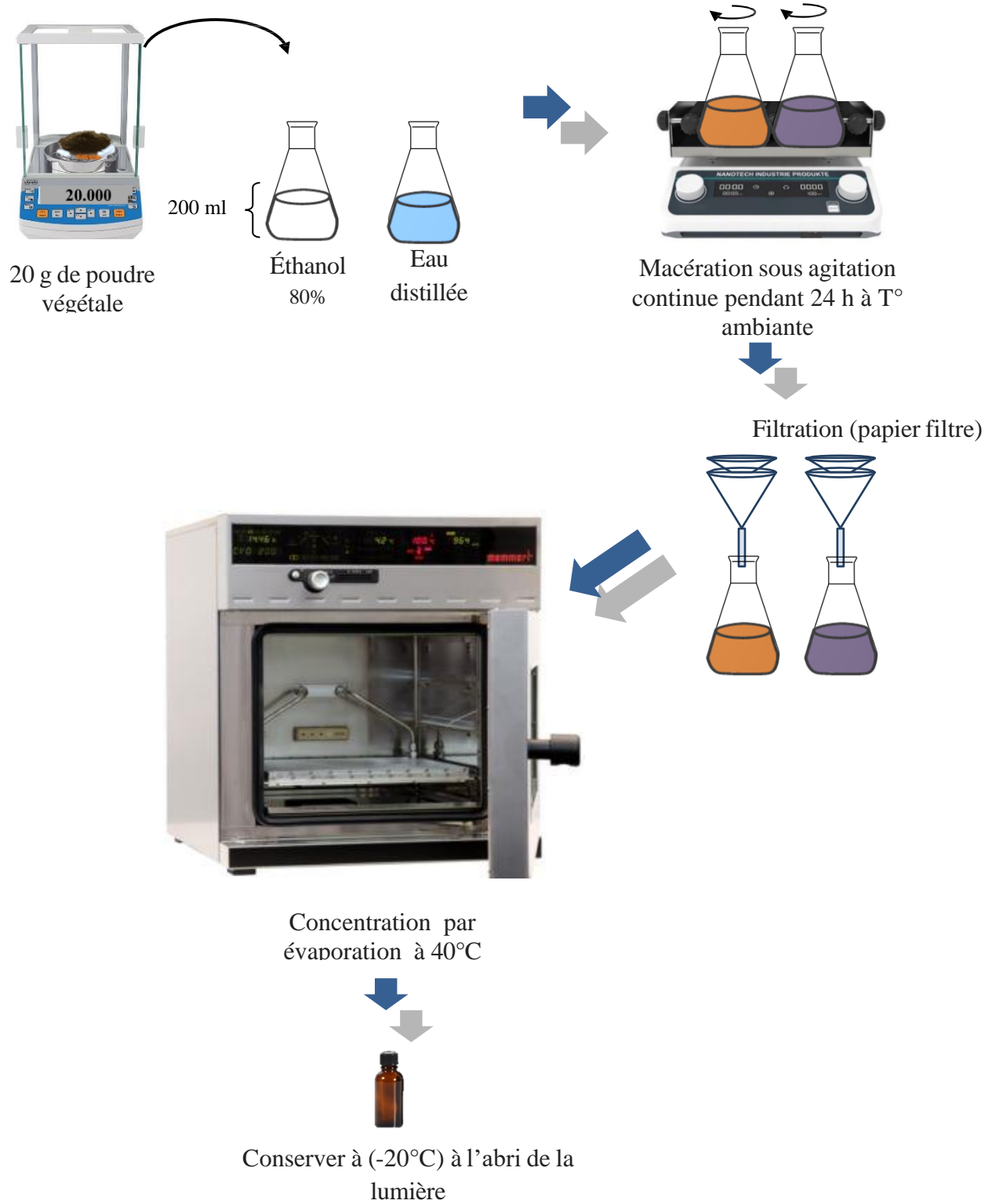


Figure N°06 : Différentes étapes d'extraction éthanolique et aqueuse de basilic (Annexe I)

## II.2. Détermination du rendement des extraits

Le rendement des extraits est le rapport entre le poids de l'extrait après évaporation du solvant et le poids initial de la plante en poudre.

$$R\% = (P_E / P_P) * 100$$

**R** : Rendement

**P<sub>E</sub>** : Poids de l'extrait après évaporation du solvant .

**P<sub>P</sub>** : Poids de la poudre .

## II.3. Caractérisation phytochimique

### II.3.1. Screening phytochimique

Le criblage phytochimique est une méthode permettant de détecter la présence de différents composés phytochimiques (**El-Haoud et al., 2018**).

#### ➤ **Tanins**

La présence de tanins est détectée en ajoutant 2 gouttes de solution de FeCl<sub>3</sub> (chlorure ferrique) diluée à 0,1% dans 2ml de chaque extrait. Une coloration vert foncé ou bleu-vert indique la présence de tanins. En effet, les couleurs vert foncé et bleu-vert indiquent la présence de tanins catéchiques et galliques respectivement (**Bouteldja et al., 2021**).

#### ➤ **Alcaloïdes**

Les alcaloïdes sont détectés par deux tests de Bouchardat et Mayer, dans lesquels 2 gouttes de réactif de Bouchardat ou Mayer sont ajoutées à 2 ml de chaque extrait. L'apparition d'une précipitation rouge-brun indique un résultat positif (**Rabai et al., 2021**).

#### ➤ **Flavonoïdes**

Les flavonoïdes ont été détectés en ajoutant 1ml d'une solution d'acétate de plomb à 10% à 1ml de chaque extrait. La formation d'un précipité jaune est considérée comme un résultat positif (**Saidi et Doumandji., 2023**).

#### ➤ **Terpénoïdes**

Le test des terpénoïdes a été effectué en ajoutant 0,5 g du résidu sec de chaque extrait à 2 ml de chloroforme et 3 ml d'acide sulfurique concentré (**Rafique et al., 2021**).

#### ➤ **Mucilage**

En ajoutant 5 ml d'alcool absolu à 1 ml d'extrait, la précipitation floconneuse indique la présence de mucilage (**El-Haoud et al., 2018**).

### ➤ Saponines

Dans un tube à essai, introduire 10 ml de chaque extrait, agiter pendant 15 secondes et laisser reposer pendant 15 min. La formation de la mousse sur une hauteur de plus de 1 cm indique la présence de saponosides (**Rabai et al., 2021**).

### ➤ Anthocyanes

On mélange 1ml de chaque extrait avec 3ml de H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> 10% et 1 ml de NH<sub>4</sub> OH 10%. On considère que le résultat est positif si la couleur est accentuée par l'acidification puis devient bleue en conditions basiques (**Traore et al., 2024**).

### ➤ Glycosides

Dissoudre 2 ml de chaque extrait dans 2 ml de chloroforme, puis ajouter avec précaution 3 ml d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une couche rouge-brunâtre foncée à l'interface de l'anneau indique un résultat positif (**Sonie et Sosa., 2013**).

### ➤ Stéroïdes

Introduire 5 ml d'anhydride acétique dans 5 ml de chaque extrait dans un tube à essai, puis 0,5 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentré. La réaction est positive si une couleur violette apparaît, devenant bleue puis verte (**Daira et al., 2016**).

### II.3.2. Dosage des polyphénols

La concentration totale en polyphénols a été évaluée selon la méthode décrite par (**Rezzoug et al., 2019**) avec de légères modifications, qui consiste à ajouter 0,2 ml de chaque concentration (de 1 à 0,062 mg/ ml) à 2 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (10%) et 0,4 ml de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (7,5%), suivi d'une incubation à température ambiante pendant 30 minutes. L'absorbance de chaque échantillon a été mesurée par un spectrophotomètre (765 nm). Une courbe d'étalonnage a été obtenue en utilisant une solution d'acide gallique. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de poids sec (mg GAE/g de poids sec).

### II.3.3. Dosage des flavonoïdes

La détermination des flavonoïdes dans les extraits d'*O. basilicum* est réalisée par la méthode du chlorure d'aluminium (**Ali-Rachedie et al., 2018**). Dans laquelle, un volume de 0,5ml de chaque concentration ajoute 1,5ml de méthanol (95%), 100µl d'AlCl<sub>3</sub> préparé à 10% (m/v), puis 100µl d'acétate de sodium (1M) et 2,8ml d'eau distillée. Le mélange est ensuite agité et incubé pendant 30 minutes dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance est mesurée à 415 nm à l'aide d'un spectrophotomètre, où le blanc est préparé en remplaçant l'extrait par du méthanol (95%) (**Bouteldja et al., 2021**).

Les résultats sont exprimés en mg d'équivalent quercétine /g de matière végétale sèche en référence à la courbe d'étalonnage de la quercétine.

### II.3.4. Activité antioxydante

Le pouvoir antioxydant a été évalué à l'aide de la méthode DPPH. Celle-ci est l'un des substrats les plus couramment utilisés pour l'évaluation rapide de l'activité antioxydante (**Eid et al., 2023**).

La capacité d'élimination des radicaux DPPH des extraits d'*O. basilicum* a été déterminée selon la méthode décrite par (**Rezzoug et al., 2019**), dans laquelle 2 ml de chaque extrait ont été mélangés avec 2 ml d'une solution méthanolique de DPPH à 0,004%, puis le mélange a été maintenu à température ambiante et à l'abri de la lumière pendant 30 min avant de mesurer l'absorbance à 517 nm. Le méthanol a été utilisé à la place de l'extrait comme contrôle, et l'acide ascorbique a servi d'antioxydant de référence.

L'activité de capture a été calculée à l'aide de la formule suivante :

$$\% \text{Piégeage des DPPH} = [100 \times (A_c - A_s / A_c)]$$

Dont : **Ac** : absorbance de contrôle.

**As** : absorbance de l'échantillon d'essai.

## II.4. Teste de l'activité antibactérienne

### II.4.1. Matériel biologique

Les souches bactériennes examinées ont été obtenues du laboratoire d'hygiène et de pathologie animale de l'institut vétérinaire - Université Ibn Khaldoun de Tiaret. Un panel de deux souches à Gram positif a été choisie pour cette étude, à savoir :

- *Staphylococcus aureus* isolé à partir d'un lait de vache.
- *Staphylococcus aureus* référencée par l'ATCC25923.

### II.4.2. Description des souches étudiées

#### ➤ *Staphylococcus aureus*

*S. aureus* est un pathogène Gram positif important qui provoque des infections localisées et systémiques chez l'homme et l'animal, associées à une morbidité significative. Les souches de *S. aureus* sont plus résistantes à une large gamme d'antibiotiques couramment utilisés, tels que les  $\beta$ -lactames. *S. aureus* est également capable de former des biofilms à la fois in vitro et in vivo, ce qui renforce sa tolérance et sa résistance aux traitements antibiotiques et en fait une cause majeure de maladies réfractaires liées aux biofilms (**Wang et al., 2024**).



### II.4.3. Méthode de diffusion sur gélose

Le test d'activité antibactérienne in vitro d'un extrait éthanolique et aqueux de basilic a été réalisé en utilisant la méthode de diffusion en puits telle que décrite par (**Ampofo et al., 2020**) avec de légères modifications présentées dans (**Figure N°07**).

En bref, des puits de taille équivalente ont été créés à l'aide d'une pipette Pasteur en verre stérile dans des plaques de gélose Mueller-Hinton, puis une couche uniforme de bactéries a été obtenue en étalant 100  $\mu$ L de la suspension ajustée à une valeur standardisée de  $10^8$  (CFU)/ml sur chacune des boîtes de Petri et remplies avec les extraits à des concentrations de 50mg/ml et 25 mg/ml. Les boîtes de Petri ont été laissées au repos pendant 1 heure à 25°C pour permettre la diffusion des extraits dans la géloseensemencée, puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

L'expérience a été réalisée en trois exemplaires et les résultats sont présentés comme la moyenne des trois valeurs  $\pm$  l'écart-type.

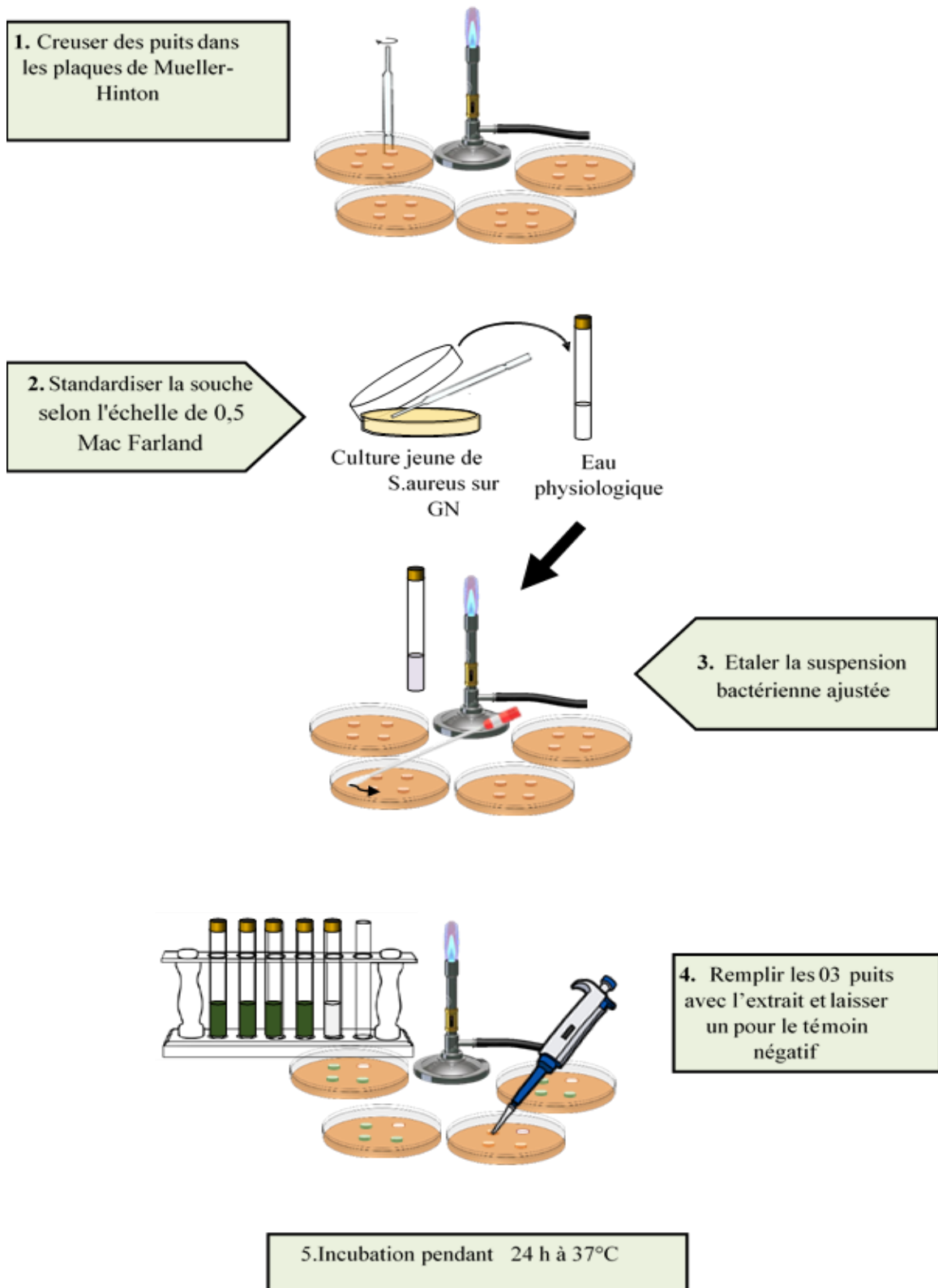


Figure N°07 : Etapes principaux de l'activité antibactérienne des extraits de basilic.

## II.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI des extraits aqueux et éthanolique d'*Ocimum basilicum* a été déterminée en utilisant la méthode de dilution en bouillon décrite par (**Adebsin et al., 2023**)

Une série de 9 dilutions des extraits aqueux et éthanoliques ont été préparées à partir d'*Ocimum basilicum* dans un bouillon nutritif. Ensuite, 2 ml de la suspension bactérienne standardisée à  $10^6$  UFC/ml ont été ajoutés à un tube contenant 2 ml des différentes dilutions préparées.

- Un tube contenant 4 ml de suspension bactérienne a été considéré comme un contrôle positif.

- Un tube contenant 4 ml de bouillon nutritif est considéré comme un contrôle négatif.

Les tubes sont incubés pendant 24 heures à 37°C, après quoi ils sont inoculés sur des boîtes contenant de la gélose de Muller Hinton à partir de tubes sans croissance bactérienne, puis incubés à 37°C pendant 24 heures. La CMI est la concentration des boîtes sans croissance bactérienne.

## II.6. Evaluation de l'activité anti-biofilm

### II.6.1. Evaluation de la capacité des souches à former biofilm

La méthode utilisée pour détecter la capacité des souches R et I de *S. aureus* à former des biofilms est la méthode Rouge Congo Agar, qui comporte les étapes suivantes :

1. On remplit des boîtes de Pétri avec de la gélose Mueller Hinton additionnée de 5 % de saccharose et de 0,8 g/l de rouge Congo à l'état liquide et on les laisse se solidifier.
2. Inoculer les souches sur les boîtes et incuber à 37°C pendant 24 heures.
3. La production de biofilm est détectée par la présence de colonies noires dues à l'association du lipopolysaccharide et du rouge Congo (**Harika et al., 2023 ; Mori et al., 2023**).

### II.6.2. Activité anti-biofilm

Après avoir sélectionné les souches productrices de biofilms, l'activité antibiofilm des extraits sera déterminée en deux phases :

## 1. Prévention de la formation de biofilms (prévention de l'attachement initial des cellules bactériennes)

Après l'incubation, l'adhésion du biofilm et l'effet de l'extrait aqueux et éthanolique d'*O. basilicum* ont été évalués en utilisant la méthode décrite par **Akinboyea et al., 2024** ; **Mahgoub et al., 2022** ; **Costa et al., 2018**

- Une série de 10 dilutions de chaque extrait d'*O. basilicum* a été réalisée dans un bouillon nutritif glucosé ( 50 ; 25 ; 12,5 ; 6,25 ; 3,12 ; 1,56 ; 0,7 et 0,39 mg/ml ) , puis un volume égal de la souche standardisée à une concentration de  $10^8$  UFC/ml a été ajouté pour les deux souches testées (*S. aureus* R et I ). La série a ensuite été incubée pendant 5 jours à 37°C.
- Les tubes ont ensuite été vidés, lavés délicatement trois fois avec de l'eau distillée pour éliminer les cellules planctoniques et séchés à l'air. Ils ont ensuite été traités avec du cristal violet à 0,1 % pendant 30 minutes, et ont été rincés pour éliminer l'excès de colorant.
- Le colorant a ensuite été solubilisé avec une solution d'éthanol à 95 %. Enfin, une analyse au spectrophotomètre a été effectuée à une longueur d'onde de 625 nm pour déterminer le pourcentage d'inhibition.

Le pourcentage d'inhibition de la formation du biofilm est mesuré par la formule suivante :

$$\% \text{ d'Inhibition} = [(DO \text{ Témoin} - DO \text{ Echantillon}) / DO \text{ Témoin}] \times 100.$$

## 2. Inhibition du développement de biofilms formés (évaluation de la destruction massive de biofilms)

Deux séries de 10 tubes stériles sont remplis avec 2 ml de suspension bactérienne standardisée à une concentration de  $10^8$  ufc/ml . Ils ont été incubés pendant 5 jours à 37°C. Après incubation, 2 ml de chaque extrait ont été ajoutés à chaque tube et incubés une seconde fois pendant 24 heures à 37°C (**Akinboyea et al., 2024**). Le pourcentage de destruction du biofilm a été mesuré selon les mêmes procédures que pour la technique du cristal violet décrite ci-dessus

### Analyses statistiques

Dans notre étude, tous les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart-type. Les résultats ont été traités statistiquement à l'aide de Microsoft Excel 2016.

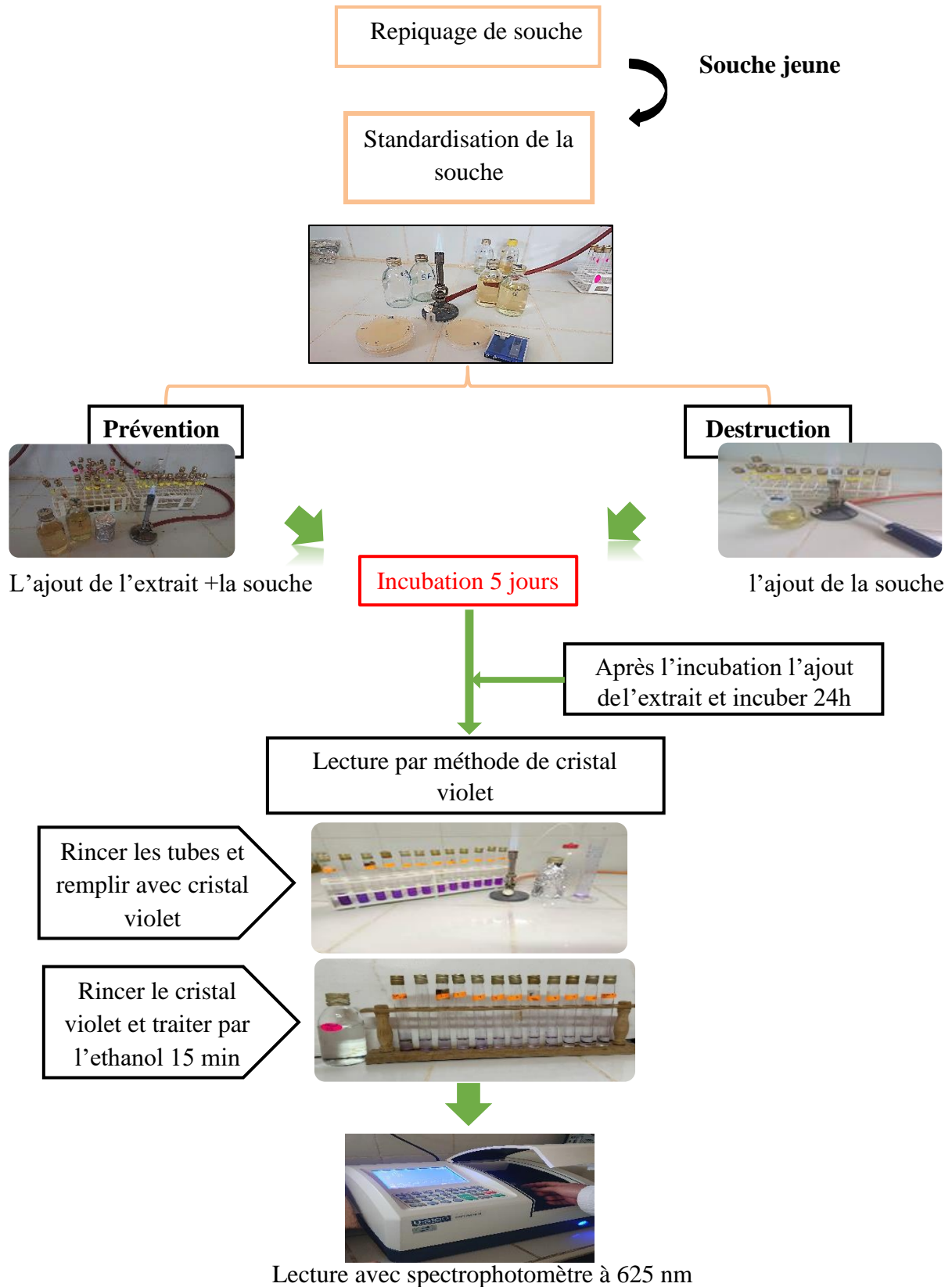


Figure N° 08 : Diagramme des différentes étapes de l'activité anti biofilm

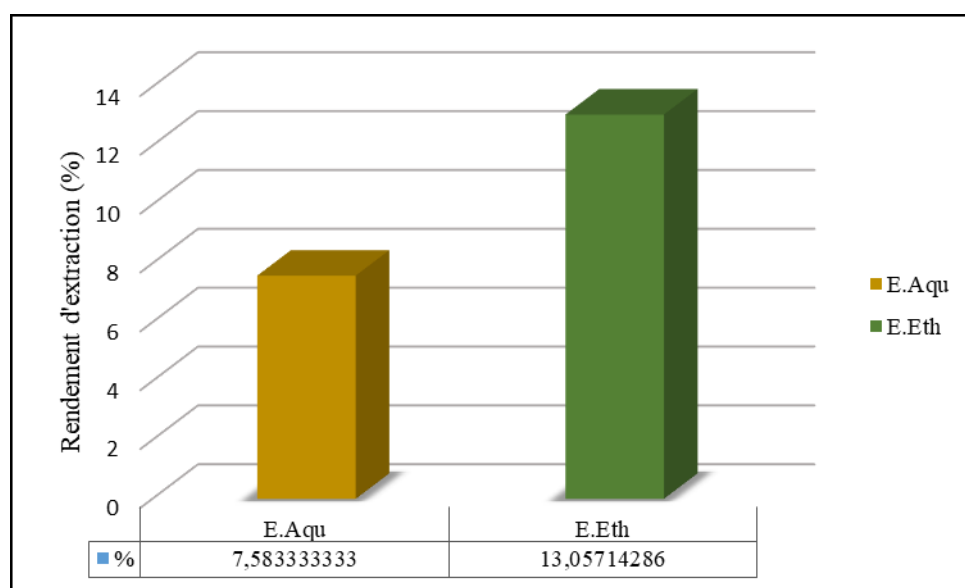
**Résultats**  
**&**  
**Discussion**

## Résultats et discussion

### I.1. Rendement des extraits bruts

L'extraction par macération des parties aériennes d'*O. basilicum* dans l'eau et l'éthanol à 80%, nous a permis d'obtenir des extraits secs significatifs en fonction de solvant utilisé.

L'extrait éthanolique a montré un rendement plus important (13,05%) meilleur que celui obtenu par l'extrait aqueux (7,58%) (**Figure N°09**).



**Figure N°09:** Rendement d'extraction obtenus pour les différents extraits d'*O. basilicum*

Nos résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Valdi et al., 2023**, qui ont également observé que les extraits hydro-éthanoliques offrent un rendement d'extraction plus élevé que les extraits aqueux.

Ainsi, **Ibrahim** et ses collègues en **2015**, ont rapporté que l'extraction des feuilles d'*O. basilicum* L avec de l'éthanol à l'aide d'un Soxhlet a permis d'obtenir un rendement de 13 %. Une autre recherche, réalisée sur l'extrait éthanolique d'*O. basilicum*, a mis en évidence un rendement de 10 % (**Pandey et al., 2019**).

Des travaux de recherche ont mis en évidence l'efficacité accrue du méthanol en tant que solvant d'extraction, puisqu'il permet de récupérer (28,67 %) davantage de composés bioactifs que l'extrait aqueux (**Benabdelah et al., 2020**).

En **2020**, **Akoto et al.**, ont révélé que le rendement des fruits de basilic était de 9,43% pour l'extrait éthanolique et de 18,60% pour l'hexane.

Il est bien connu que la polarité du solvant est un facteur déterminant dans l'extraction des métabolites secondaires des plantes (Nadeem et al., 2022). En outre, l'éthanol peut remplacer le méthanol dans les applications alimentaires et cosmétiques, en raison de sa faible toxicité et de ses rendements comparables à ceux du méthanol (Oreopoulou et al., 2019).

La technique d'extraction est également importante, la macération étant la plus simple et la plus rentable, avec un rendement dix fois supérieur à celui des autres techniques (Nugroho et al., 2023). D'autres facteurs importants comprennent le climat, la localisation, la variabilité génétique et les parties de la plante utilisées, ainsi que le moment de la récolte et le stockage du matériel végétal (Al Ubeed et al., 2024).

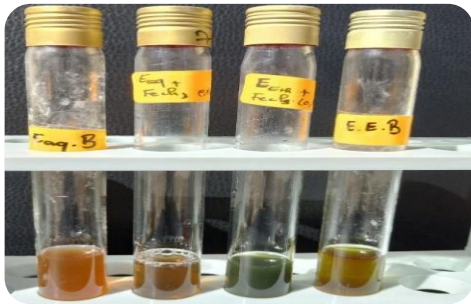
### I.2. Screening phytochimiques

Les résultats de l'analyse phytochimique de l'extrait aqueux et éthanolique d'*O. basilicum* sont présentés dans le **tableau N°04**.

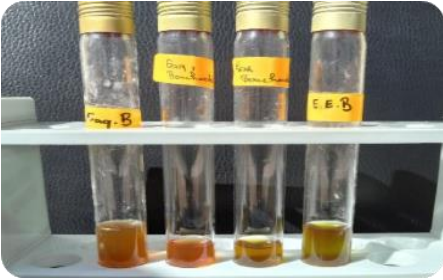
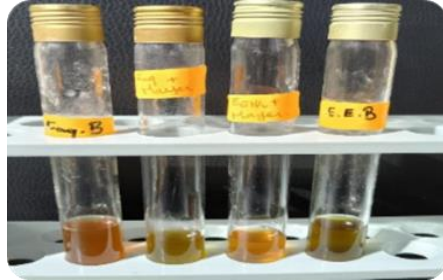


Le criblage phytochimique obtenu pour chaque extrait d'*O. basilicum* L. révèle une richesse en flavonoïdes, tanins, terpénoïdes, glycosides, mucilages et saponines. Par contre, les alcaloïdes, les stéroïdes et les anthocyanes sont absents.

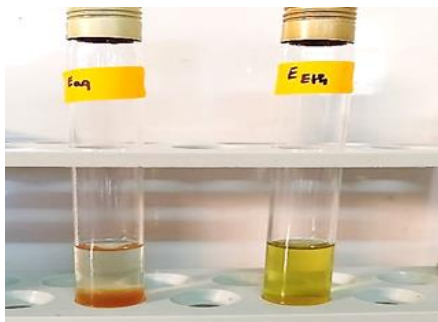



Dans les deux extraits, les alcaloïdes, les stéroïdes et les anthocyanes sont absents, alors que les saponosides ne sont présents que dans l'extrait aqueux (**Annexe II**)


**Tableau N°04** : Screening phytochimique d'extrait aqueux et éthanolique d'*O. basilicum* L.

Métabolites secondaires testé	Les réactifs utilisés	Observation	Les résultats	
			Extrait aqueux	Extrait éthanolique
Les Tanins	FeCl <sub>3</sub>		+	+++



0	Teste de bouchardât		-	-
Les alcaloïdes	Test de Mayer		-	-
Flavonoïdes	Acétate de plomb à 10%		+	+++
Les Terpénoïdes	Chloroforme + d'acide sulfurique concentré		+++	+++

Mucilage	Alcool absolu		+++	+
Saponines	Agitation		++	-
Les anthocyanes	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> à 10% + NH <sub>4</sub> OH 10% .		-	-
Glycosides	Chloroforme + Acide sulfurique concentré		+++	++

Stéroïdes	Anhydride acétique + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> concentré .		-	-
-----------	---	--	---	---

Les résultats ont été évalués comme suit : (+++) : Fortement positif ; (++) : Moyennement positif ; (+) : Positif ; (-) Négatif

Ces résultats sont en accord avec les résultats qui sont trouvés par **Nguyen et ses collègues** en 2021.

En 2018, **Murali et Prabakaran** indiquent l'absence des glycosides, tanins, et la présence des stéroïdes, Terpénoïdes ,saponines dans l'extrait méthanoïque de basilic.

D'autres recherches montrent que l'extrait éthanolique d'*O. gratissium* et l'extrait aqueux d'*O. canum* sont riches en anthocyanes (**Kpétéholo et al., 2019 ; Tshilanda et al.,2019**).

Nos résultats sont en désaccord avec ceux de **Jakob et al, 2016**, qui rapportent que les extraits aqueux et éthanoliques contiennent des stéroïdes et des alcaloïdes. L'extrait aqueux d'*O. basilicum* L. est dépourvu de saponines ( **Nadeem et al ., 2023**).

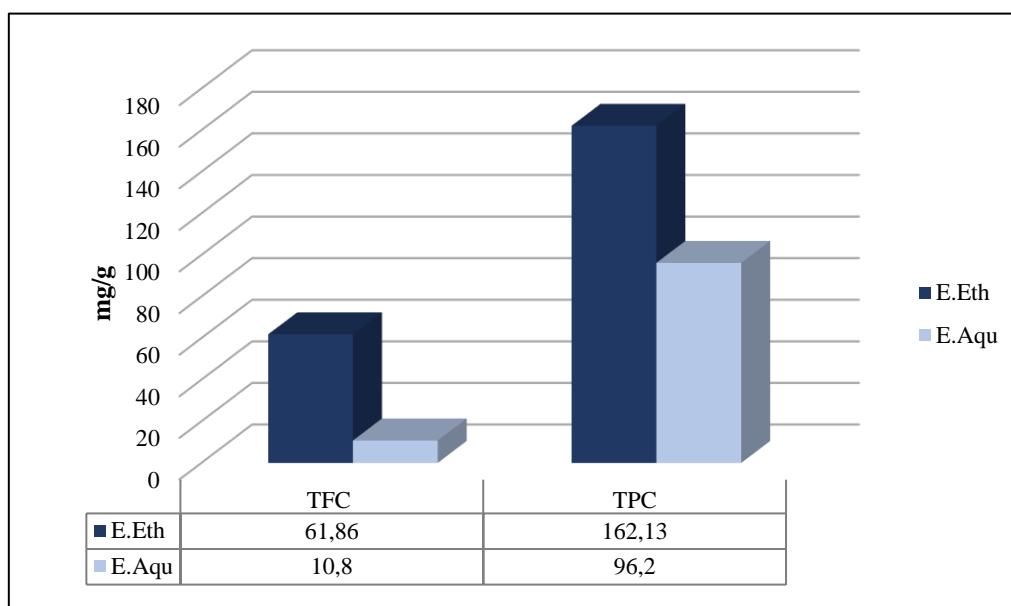
### II.3. Dosages des polyphénols et des flavonoïdes

Le contenu en polyphénols des extraits éthanoliques et aqueux d'*O. basilicum* a été estimé par la procédure Folin-Ciocalteu et représenté en termes d'équivalent d'acide gallique. En outre, la teneur totale en flavonoïdes a été mesurée par la méthode AlCl<sub>3</sub> et exprimée en termes d'équivalent quercétine (**Annexe III**)

Dans la présente étude, l'éthanol a donné le meilleur ratio de composés phénoliques avec des valeurs de 162,13 ± 1,42, tandis que la teneur de l'extrait aqueux était égale à 96,2 mg EAG/g (**Annexe IV**).

Concernant les flavonoïdes, l'extrait éthanolique a fourni une teneur plus importante que l'extrait aqueux, avec des valeurs de 61,86± 1,74 vs. 10,8± 0,4 mg EQ/g respectivement

(Figure N°10) .



**Figure N°10** : Teneurs en phénols totaux, flavonoïdes des extraits d'*O basilicum*

Ces résultats sont confirmés par les travaux de **Bensaid et al., (2022)**, qui ont enregistré une plus grande quantité de polyphénols dans l'extrait éthanolique des feuilles et des tiges par rapport à l'extrait aqueux.

**Nadeem et al., en 2022**, ont réalisé une étude comparative entre différents solvants et ont trouvé que l'extrait éthanolique avait une teneur en polyphénols et en flavonoïdes plus élevée que les extraits au dichlorométhane et à l'eau, avec des valeurs correspondantes de (191,2 ; 86,6 et 70,7 mg EAG/g) contre (13,3 ; 9,63 et 6,49 mg EQ/g). En outre, les extraits de n-hexane ont montré une faible affinité pour l'extraction du polyphénols (29,7 mg EAG/g) et du flavonoïdes (3,51 mg EQ/g).

Nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par **Nguyen et al., (2020)** . En effet, ils ont obtenu un contenu en polyphénols et en flavonoïdes à partir de l'extrait éthanolique de (29,60± 1,64 mg EAG /g) vs (19,58± 0,93 mg EQ/g), et (12,98± 0,53 mg EAG /g) vs (5,77± 0,25 mg EQ/g) pour l'extrait aqueux respectivement.

D'autres recherches ont révélé que les niveaux de polyphénols ont été mesurés à (317,75 ± 4,105 µg EAG/mg) de l'extrait éthanolique, tandis que les flavonoïdes totaux étaient de (46,9 ± 0,884 µg EQ/mg) (**Babayán et al., 2023**).

En revanche, ces résultats sont plus faibles que ceux rapportés dans l'étude de **Rezzoug et al** en **2019**, qui ont montré que l'extrait éthanolique absolu présentait des valeurs de  $(226 \pm 2 \text{ mg EAG /g})$  vs  $(213 \pm 3 \text{ mg EQ /g})$  pour les polyphénols et les flavonoïdes respectivement.

En **2019**, **Ahmed et ses chercheurs** ont prouvé que l'extrait de basilic a une teneur très élevée en polyphénols par rapport à son huile essentielle.

Le processus d'extraction de substances bioactives telles que les polyphénols dépend largement du solvant utilisé, en particulier de sa polarité, de son degré de polymérisation et de son interaction avec d'autres composants (**Sharma et al., 2022 ; Pandey et al., 2023**) .

En effet, les composés bioactifs sont très solubles dans les alcools, entraînant une augmentation des rendements d'extraction lorsque la teneur en éthanol de l'eau est supérieure à 70 % (**Oreopoulou et al., 2019**).

#### I.4. Evaluation du pouvoir antioxydant des extraits de plantes

##### I.4.1. Piégeage du radical DPPH

Le pouvoir antioxydant a été évalué à l'aide de la valeur IC50 correspondant à la concentration d'inhibition de 50 % des radicaux libres dont la valeur IC50 la plus faible représente le pouvoir antioxydant le plus élevé (**Nguyen et al., 2021**). On a utilisé l'acide ascorbique comme référence (**Annexe III**). Les résultats sont résumés dans (**Tableau N°05**).

Notre étude montre que les extraits éthanoliques présentent une forte inhibition du radical DPPH, avec une IC50 de  $(0,083 \text{ mg/ml})$  et de  $(0,164 \text{ mg/ml})$  pour l'extrait aqueux. L'acide ascorbique étaient de  $(0.004 \text{ mg/ml})$  (**Annexe IV**).

**Tableau N°05 :** Valeurs de la IC50 des extraits d'*Ocimum basilicum* et de l'acide ascorbique exprimées en mg/ml et obtenues par le test de DPPH.

Extraits	Extrait éthanolique	Extrait aqueux	Acide ascorbique
IC50(mg/ml)	$0.083 \pm 7.54$	$0.164 \pm 0.006$	$0.004 \pm 2.86$

Nos résultats sont très similaires à ceux rapportés par **Nguyen et al., 2021**, qui ont rapporté que l'extrait éthanolique avait une forte activité de piégeage des radicaux libres avec une IC50 de (91,31 µg/ml) par rapport à celle de l'extrait aqueux (258,55 µg/ml).

De même, **Bensaid et al., en 2022** ont rapporté que l'extrait éthanolique des tiges et des feuilles d'*O. basilicum* avait un effet antioxydant plus important que leur extrait aqueux.

En **2020**, **Faur et al.**, ont découvert que les extraits hydroalcooliques de la partie aérienne et des feuilles d'*O. basilicum* L. montrent une forte activité antioxydante, en comparaison avec celle de la vitamine C, en inhibant respectivement 68 et 89%.

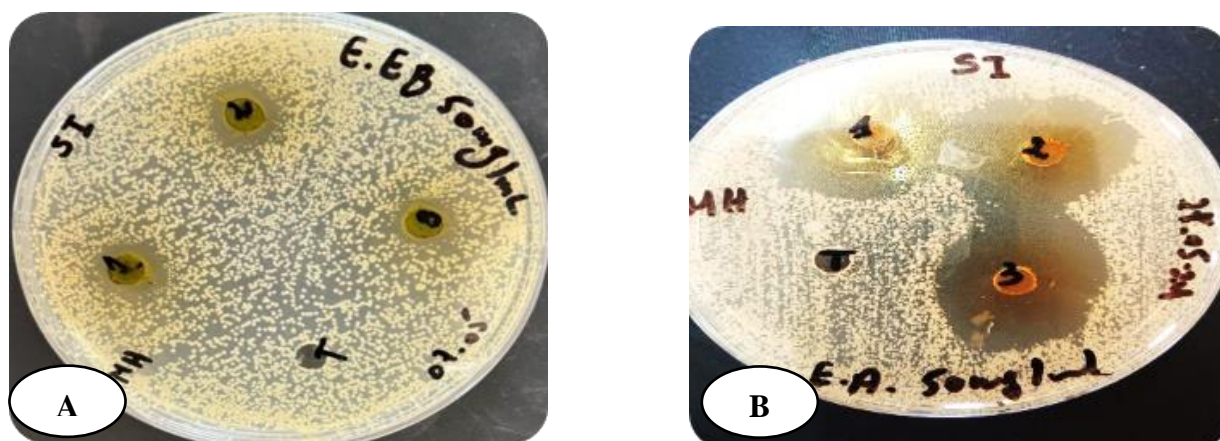
Ces résultats montrent la forte capacité des extraits éthanoliques à inhiber les radicaux libres, suggérant que cette propriété est attribuée à leur richesse en composés bioactifs. Ceci est validé par les recherches de **Zlotek et al en (2015)** dévoilant que les composés phénoliques des plantes peuvent jouer un rôle crucial dans la création des caractéristiques biologiques des plantes, y compris les propriétés antioxydantes.

Les agents thérapeutiques et les médicaments à base de plantes, principalement utilisés pour lutter contre les radicaux libres et les maladies liées au stress oxydatif, offrent des propriétés régénératrices significatives grâce à la présence de composés phénoliques et flavonoïdes et de tanins ( **Babayan et al., 2023 ; Mahendran et al., 2023 ; Olde pavlovic et al., 2021**).

### II.5.1 L'évaluation de l'activité antibactérienne

Pour déterminer l'activité antibactérienne des extraits aqueux et éthanoliques d'*O. basilicum*, on utilise la méthode de diffusion en puits, en mesurant la zone d'inhibition en millimètres ( **Figure N°11** ).

L'effet antibactérien de la partie aérienne d'*O. basilicum* a été observé contre deux souches de *S. aureus* l'une isolée et l'autre est référencée. .

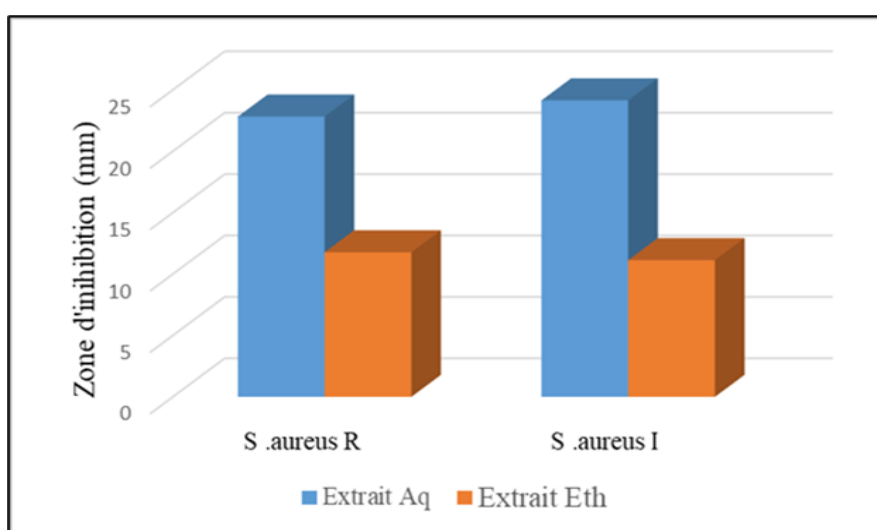


**Figure N°11 :** (A) Zone d'inhibition d'extrait éthanolique, et (B) l'aqueux d'*O. basilicum* sur *S. aureus* I.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait aqueux d'*O. basilicum* a atteint un haut pouvoir d'inhibition contre les deux souches testées, avec ( $24.14 \pm 0.89\text{mm}$  et  $22.82 \pm 1.7\text{mm}$ ) zones d'inhibition contre *S. aureus* I et R respectivement.

D'autre part, l'extrait éthanolique d'*O. basilicum* a été capable d'inhiber *S. aureus* R et I avec une zone d'inhibition ( $11,13 \pm 0,36 \text{ mm}$  ) pour *S. aureus* I et ( $11,77 \pm 0,63 \text{ mm}$  ) pour *S. aureus* R (**Figure N°12**).

Cependant, l'extrait éthanolique a montré une activité significativement plus faible que l'extrait aqueux contre les *S.aureus* isolés et référencés (**Annexe VI**).



**Figure N°12 :** Résultats d'activité antibactérienne d'extrait aqueux et éthanolique d'*O. basilicum*.

Les résultats ont révélé que les deux souches de *S. aureus* étaient plus sensibles à l'extrait aqueux d'*O. basilicum* qu'à l'extrait éthanolique. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Zhakupbekov et al., 2024**, qui montrent que l'extrait éthanolique d'*O. basilicum* est capable d'inhiber *S. aureus* avec une zone de  $20\pm 1$  mm. D'autre part, l'extrait aqueux fournit des activités puissantes contre *S. aureus* de  $24\pm 1.2$  mm à une concentration de 50mg/ml.

En outre, des études soulignent que l'extrait éthanolique des feuilles d'*O. gratissim* a une activité antibactérienne contre la croissance de *S. aureus* (**Adebsine et al., 2023 ; Khalil et al., 2013**).

D'autre part, les huiles essentielles d'*O. basilicum* ont une forte activité antibactérienne contre plusieurs souches bactériennes, y compris *S. aureus* (**Zhakupbekov et al., 2024**).

Ces résultats intéressants peuvent être attribués à la présence de tanins, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes. Ceux-ci inhibent la croissance des micro-organismes en précipitant les protéines microbiennes et en les empêchant d'obtenir les protéines nutritionnelles nécessaires à leur croissance et à leur développement (**Jacob et al., 2016**).

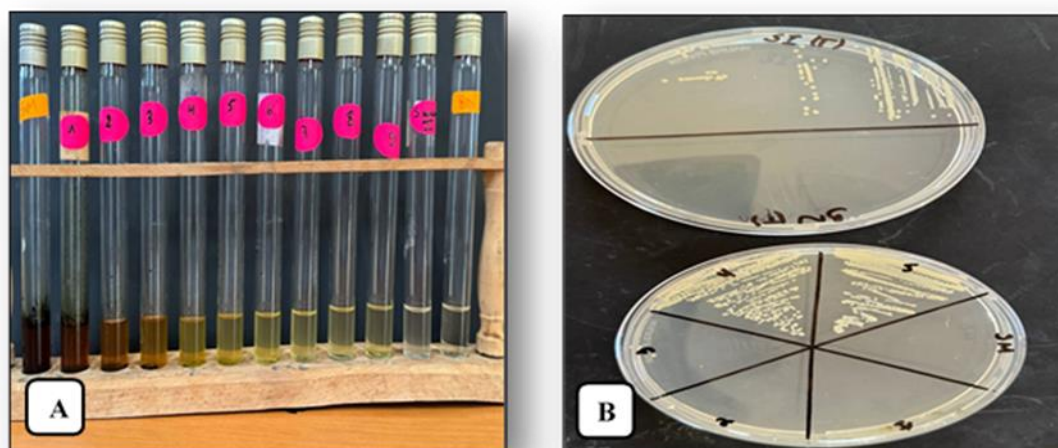
Des études préliminaires ont révélé la présence de tanins et de flavonoïdes dans les extraits de feuilles et de tiges de basilic. Ces composés phytochimiques actifs se révèlent redoutables contre les bactéries en détruisant les fonctions membranaires, en empêchant la formation de biofilms et en bloquant les pompes d'efflux (**Sulistiyawati et al., 2023 ; Prasath et al., 2019**).

Par ailleurs, de nombreuses études ont montré que les alcaloïdes, les flavonoïdes, les saponines, les tanins, les glycosides cardiaques et les terpénoïdes jouent un rôle crucial dans l'activité antibactérienne, en inhibant la croissance de bactéries dont *S. aureus* (**Yan et al., 2024 ; Aminiaïn et al., 2022 ; Wirtu et al., 2024 ; Qamar et al., 2024**).



### I.5.2 Détermination des concentration minimales inhibitrices (CMI)

Les concentrations inhibitrices minimales d'extrait éthanolique et aqueux de la plante *O. basilicum* contre les bactéries *S. aureus* isolées et référencées ont été évaluées par la méthode de macrodilution (**Figure N°13**).



**Figure N°13 :** (A): Détermination de la CMI par la méthode de macrodilution, (B):Ensemencement des tubes qui ne présentent pas de turbidité .

L'extrait éthanolique de *O. basilicum* présente une valeur de CMI de 25 mg/ml vis-à-vis *S. aureus* I et R. Les mêmes valeurs de CMI ont été observé pour l'extrait aqueux de basilic contre les deux souches étudiées (**Annexe VI**) .

**Tableau N°06 :** Concentration minimale inhibitrice (CMI) des extraits d'*O. basilicum*

Extraits	E. Ethanolique	E. Aqueux
<i>S. aureus</i> I	25 mg/ml	25 mg/ml
<i>S. aureus</i> R	25 mg/ml	25 mg/ml

Nos résultats sont confirmés par les travaux de **Popescu et al., 2023**, ayant mesuré une CMI de 11,2 mg/ml pour l'extrait hydroéthanolique des feuilles d'*O. basilicum* vis-à-vis *S. aureus*.

En outre, l'extrait méthanolique et éthanolique de feuilles d'*O. basilicum* ont montré des CMI de 6.5 mg/ml contre les souches *S. aureus* isolé de mammite (**Okmen et al .,2018**).

En **2023**, des travaux montrent que l'extrait aqueux de feuilles de basilic avait une CMI de 0,5 g/ml contre la souche de référence ATCC de *S. aureus* (**Karakaş et al., 2023**).

**Chenni et al., 2016**, ont également constaté que *S. aureus* référencé était particulièrement sensible à l'huile essentielle d'*O. basilicum* avec des concentrations inhibitrices allant de (18 à 25 µl/ml).

Les études de **Rezzoug et al., 2019** et **Azizah et al., 2023**, ont démontré l'efficacité de l'huile essentielle de basilic contre la bactérie *S. aureus*.

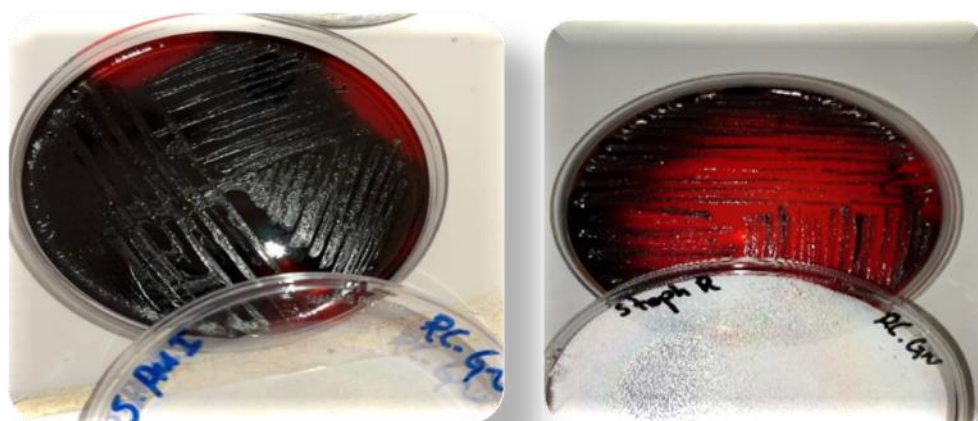
Par conséquent, ces résultats peuvent être expliqués par la présence de composés phénoliques. Cette proposition est confirmée par les travaux de **Popescu et al. 2023** qui montrent que les deux extraits de basilic endommagent la perméabilité de la membrane bactérienne en complexant le substrat, perturbant la membrane, inactivant les enzymes et chélatant les métaux, ce qui entraîne la mort de la bactérie.

**Zhakupbekov et al., 2024**, ont également montré que l'huile essentielle de basilic possède un pouvoir antibactérien important contre les bactéries Gram-positives, en raison de ses principaux composants phénoliques, qui perturbent les membranes bactériennes et induisent la mort cellulaire.

## I.6. Evaluation de l'activité antibiofilm

### II.6.1. Technique de Rouge Congo

La capacité des souches isolées de *S.aureus* référencées "ATCC25923" à former un biofilm a été testée en utilisant la méthode du rouge Congo (RCA) sur milieu gélosé nutritif après incubation. Les résultats ont montré la présence de colonies noires. (**Figure N°14**).



**Figure N°14** : Phénotype de la production de biofilm sur RCA par *S.aureus* R et I.

Ces résultats sont en accord avec **Banerjee et al., 2018**, qui indique que le *S. aureus* isolé à un fort potentiel à produire un biofilm. En plus, **Abdulrahim et al., 2019**, montre que la souche *S. aureus* de référence est une souche productrice de biofilm .

En **2018**, **Neopane et chercheurs** ont montré que le *S. aureus* isolé d'une infection de plaie chez des patients hospitalisés avait une forte capacité à former des biofilms.

De plus, une autre étude a montré la capacité de *S. aureus* isolés à produire un biofilm entraînant l'apparition de colonies noires après 24 h d'incubation sur du rouge congo (**Ferreira et al., 2014**).

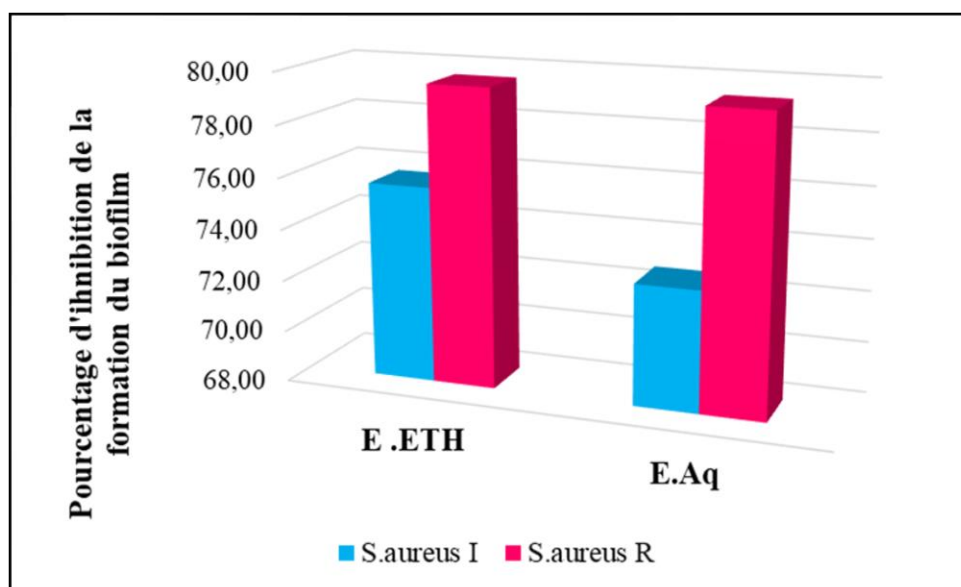
La capacité de production de biofilms de la souche bactérienne correspond à la diffusion de pigments noirs dans la gélose, avec la croissance de colonies noires pigmentées sur la gélose rouge Congo ( **Mariana et al., 2009**). On attribue la formation de colonies noires à la production d'exo-polysaccharides (EPS) en réaction avec le rouge Congo ( **Anjali et al., 2015**).

La formation de biofilms confère aux bactéries une protection accrue contre les agressions environnementales, comme le nettoyage, la désinfection et les traitements antimicrobiens ( **Zhang et al., 2020**; **Avila-Novoa et al., 2018**).

### **II.6.2. Capacité d'inhibition de la formation de biofilm (5 jours)**

Après une période d'incubation de 5 jours, les résultats ont montré que l'extrait aqueux d'*O.basilicum* avait un pouvoir inhibiteur contre la formation de biofilms par *S. aureus* I et R de (72,70±0.03% à 6.25mg/ml et 79.36±0.14% 0.39 mg/ml ) respectivement (**Annexe**

VII ).De plus, l'extrait éthanolique a une possibilité d'inhibition de la formation de biofilm de *S. aureus* I et *S. aureus* R de  $75,64 \pm 0,00\%$  à  $0,39\text{mg/ml}$  et  $79,59 \pm 0,18\%$   $0,39 \text{ mg/ml}$  respectivement (**Figure N°15**)



**Figure N°15** : Pourcentage d'inhibition de la formation du biofilm par l'extrait aqueux et éthanolique d'*O. basilicum*.

Nos résultats démontrent la capacité des extraits éthanoliques et aqueux d'*O. basilicum* à empêcher la formation de biofilms. Ceci est en accord avec les travaux de **Pernando et al.** en **2023**, révélant que l'extrait de feuille de basilic pouvait inhiber la croissance du biofilm formé par *S. aureus* référencé (ATCC 25923). En effet, une étude in vitro a démontré que l'extrait aqueux des feuilles d'*O. basilicum* inhibait significativement la formation du biofilm après 48h, avec un pourcentage de  $35,32 \pm 0,31$  à  $40,01 \pm 1,22\%$  pour le *S. aureus* de référence ATCC (**Karakaş et al., 2023**).

Des études ont démontré le potentiel antibactérien et anti-biofilm du basilic sous deux formes : bain de bouche à base de feuilles de basilic et huile essentielle de feuilles de basilic (**Slobodníková et al., 2016**).

En revanche, Les biofilms bactériens sont des colonies de bactéries qui adhèrent aux surfaces et se recouvrent d'une substance protectrice qu'elles produisent elles-mêmes. Celle-ci protège les bactéries contre les attaques du système immunitaire et leur permet de survivre dans des environnements difficiles (**Vestby et al., 2020 ; Zhao et al., 2023**).

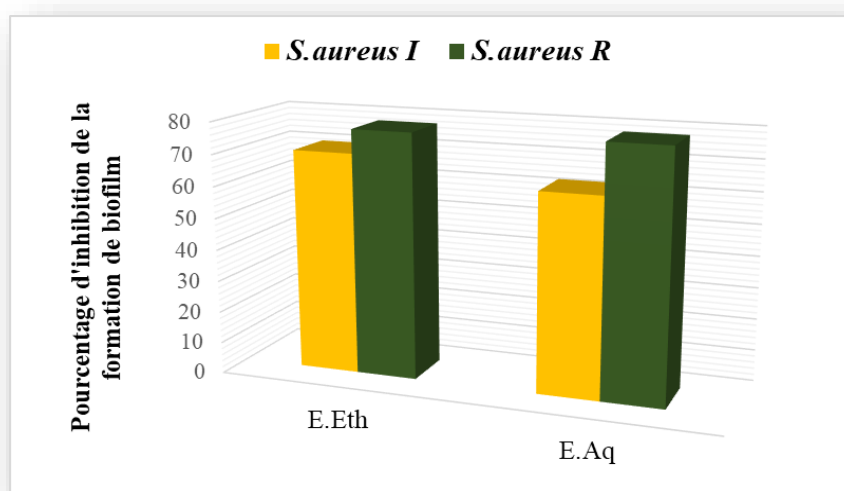
En plus, *Staphylococcus aureus*, une bactérie à Gram positif, cause de nombreuses infections et décès chaque année en raison de sa résistance aux antibiotiques et de sa capacité à former des biofilms, ce qui nécessite de nouvelles stratégies efficaces pour lutter contre ce pathogène (Beltrán-Martínez et al., 2024).

En 2021, Al-Tamimi et al., signalent l'efficacité des polyphénols de réduire la formation de biofilm bactérienne. Les composés bioactifs ont une capacité considérable pour inhiber la matrice du biofilm des Staphylocoques (Matilla-Cuenca et al., 2020).

### II.6.3 Destruction de biofilm produit par *S. aureus* R et I (5 jours)

Nos résultats soulignent que l'extrait aqueux d'*O. basilicum* est efficace pour éliminer le biofilm produit durant les 5 jours par *S. aureus* R et I avec un pourcentage de dégradation égale à  $62,71 \pm 00\%$  (6.25 mg/ml) et  $76,35 \pm 0.03$  (6.25mg/ml) respectivement.

En revanche, l'extrait éthanolique détruit le biofilm produit par *S. aureus* I avec  $70,20 \pm 0.07 \%$  (1.56 mg/ml), d'autre part pour le biofilm formé par *S. aureus* R y compris  $77,73 \pm 0.25\%$  (0.39mg/ml). (Figure N°16) (Annexe VII).



**Figure N°16** : Pourcentage d'inhibition de la formation du biofilm par l'extrait aqueux et éthanolique d'*O. basilicum*.

Les résultats de notre étude sur l'activité antibiofilm révèlent la capacité de l'extrait éthanolique et aqueux à inhiber la production de biofilms matures produits par *S. aureus* R et I. Ceci est confirmé par les travaux de Benabdelah et al., 2020, qui montrent que les huiles essentielles de plantes médicinales peuvent éradiquer le biofilm produit par *S. aureus* à des

pourcentages allant de 12,65 à 98,01%. En effet, l'huile essentielle d'*Ocimum basilicum* L. capable d'éradiquer le biofilm mature de 74,7 à 99,9 % (**Pejčić et al., 2020**).

En outre, **Zain et al., 2022**, ont étudié les effets d'éradication des biofilms de SBEO sur des biofilms préétablis (24 h) produits par *S. mutans* et *S. aureus*, en montrant une forte élimination à court terme.

Des études suggèrent que l'effet antibiofilm du basilic est dû à sa teneur élevée en phénylpropanoïdes, qui sont considérés comme un traitement potentiel du biofilm (**Cabalfin et al., 2020**).

En **2019**, **Nassima et al.**, suggèrent que les extraits polyphénoliques pourraient constituer une approche thérapeutique prometteuse pour lutter contre les biofilms microbiens et ainsi réduire le risque d'infections sur les surfaces épithéliales et les muqueuses.

La richesse des extraits de plantes en polyphénols suggère leur potentiel en tant qu'agents thérapeutiques complémentaires dans la lutte contre les biofilms et les infections microbiennes (**Salem et al., 2022**).

Une forte concentration de polyphénols donne une meilleure activité antibiofilm (**Calvo et al., 2023**).

# *Conclusion*

### Conclusion

A la fin de notre étude le rendement des extraits sec obtenu à partir de l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique (80%) d'*O. basilicum* était respectivement de 7,58 et 13,05%.

Les résultats du criblage phytochimique montrent que l'extrait aqueux est riche en flavonoïdes, tanins, terpénoïdes, glycosides, mucilages et saponines, tandis que l'extrait éthanolique est dépourvu de saponines. En outre, les deux extraits sont dépourvus d'alcaloïdes, de stéroïdes et d'anthocyanes.

La teneur en polyphénols et en flavonoïdes de l'extrait éthanolique est plus élevée que celle de l'extrait aqueux, et son activité antioxydante est particulièrement intéressante.

L'estimation d'activité antibactérienne par la méthode des puits contre bactéries *S.aureus* R et *S. aureus* I, révèle que l'extrait aqueux et éthanolique ont une grande capacité d'inhiber les souches testées.

La détermination de l'activité anti-biofilm par la méthode du cristal violet montre une forte capacité des extraits d'*O. basilicum* à inhiber la formation et à détruire le biofilm produit par des *S. aureus* R et I.



*Références*  
*Bibliographiques*

A

✚ **Abdulrahim U., Kachallah M., Rabiou M., Usman N., Adeshina G., Olayinka B. (2019).** Molecular detection of biofilm-producing staphylococcus aureus isolates from national orthopaedic hospital Dala, Kano State, Nigeria. *Open Journal of Medical Microbiology* 9(1): 116-126. [10.4236/ojmm](https://doi.org/10.4236/ojmm).

✚ **Adebesin I.O., Kolapo K.T., Amoka S.O., Olubunmi O.H., Olomoko C.R., Balogun A.O., Ganiyu L.T. (2023)** Phytochemical analysis and antibacterial efficacy of ocimum gratissimum extracts on multi-drug resistant bacteria. *International Journal of Medical Laboratory Research* . 8 (3): 23-31.

✚ **Ahmed A.F., Attia F.A.K., Liua Z., Li Ch., Wei J., Kanga W. (2019).** Antioxidant activity and total phenolic content of essential oils and extracts of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) plants. *Journal of Food Science and Human Wellness*, 8 (2019): 299–305. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2019.07.004> .

✚ **Akinboyea O.A., Makhubua F.N., Karzis J., Petzer J.M., McGawa L.J. (2024) .** Invitro antibiofilm and quorum sensing inhibition activities of selected South African plants with efficacy against bovine mastitis pathogens. South african, *Journal of Botany*. 166 :455-465. <https://doi.org/10.1016/j.sajb..>

✚ **Akoto C.O., Akwasi A., Yaw D.B., Abdulai A.N., Derrick H.A. (2020).** Anti-Inflammatory, Antioxidant, and Anthelmintic Activities of *Ocimum basilicum* (Sweet Basil) Fruits. *Journal of Chemistry*, p(1-9). <https://doi.org/10.1155/2020/2153534>.

✚ **Al Ubeed H.M.S., Bhuyan D.J., Alsherbiny M.A., Basu A., Vuong Q.V.A. (2022).** Comprehensive review on the techniques for extraction of bioactive compounds from medicinal cannabis. *Molecules*, 27(604). <https://doi.org/10.3390/molecules27030604>.

✚ **Ali-Rachdi F., Merghani S., Touibia N., Mesbah S. (2018).** Analyse quantitative des composés phénoliques d'une endémique algérienne *Scabiosa Atropurpurea* sub. *Martima* L. *Bulltin de la société Royale des sciences de Liège* 87. DOI :10.25518/0037-9565.7398.

✚ **Al-Tamimi A., Alfarhan.A., Rajakrishnan R. (2021).** Antimicrobial and anti-biofilm activities of polyphenols extracted from different Saudi Arabian date cultivars against human pathogens. *Journal of Infection and Public Health*, 14 (12): 1783-1787. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.006>.

- ✚ **Aminian A., Mohebbati R., Boskabady M . (2022).** The effect of *ocimum basilicum* L. And its main ingredients on respiratory disorders: an experimental, preclinical, and clinical review. *Journal of Frontiers in pharmacology*.12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.805391>.
- ✚ **Ampofo E.K., Amponsah I.K., Asante-Kwatia E., Armah F.A., Atchoglo P.K., Mensah A.Y. (2020).** Indigenous Medicinal Plants as Biofilm Inhibitors for the Mitigation of Antimicrobial Resistance. *Journal of Hindawi (Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences)*, p(1-10). <https://doi.org/10.1155/2020/8821905>.
- ✚ **Anjali T.J., Vidya S.T. (2015).** Isolation and characterization of biofilm forming *Streptococcus* species from oral flora of cancer patients. *International Journal of Current Microbiology and applied sciences*, 2015(2): 38-47. <http://www.ijcmas.com>.
- ✚ **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.
- ✚ **Asghar A., Andaleeb Z., Mohan K ., Fohad M.H ., Thamer A ., Mohammad Z., Roba A, Abid M., Salik N.M.d.(2023).** Microbial Biofilms: Applications, Clinical Consequences, and Alternative Therapies. *Journal of Microorganisms* 11(1934).
- ✚ **Aumeran C., Balestrino Damien., Forestier C. (2020).** Biofilms Bactériens Et Santé. *Encyclopédie de l'Environnement*, [en ligne ISSN 2555-0950].
- ✚ **Avila-Novoa M, Iñíguez-Moreno M., Solís-Velázquez O., González-Goómez J., Guerrero-Medina P., Gutiérrez-Lomeli M. (2018).** Biofilm Formation by *Staphylococcus aureus* Isolated from Food Contact Surfaces in the Dairy Industry of Jalisco, Mexico. *Journal of Food Quality*, p(1-8). <https://doi.org/10.1155/2018/1746139>.
- ✚ **Azizah N.S., Irawan B., Kusmoro J., Safriansyah W., Farabi K., Oktavia D., Doni F., Miranti M. (2023).** Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.)-A Review of Its Botany, Phytochemistry, Pharmacological Activities, and Biotechnological Development. *Journal of Plants*, 12(24):1-25. <https://doi.org/10.3390/plants12244148>.

**B**

- ✚ **Babayan A.M. (2023).** Antimicrobial and antioxidant activities of *Ocimum basilicum* var. *Purpureum* ethanol extract. *Journal of Chemistry and Biology*, 57(3): 258–268. <https://doi.org/10.46991/PYSU:B/2023.57.3.258>.
- ✚ **Banerjee S., Das S., Rai C., S Bhattacharyya., Roy A. (2018).** Evaluation of detection methods of biofilm formation by *Bacillus cereus* and *Staphylococcus aureus* isolates from foods. *Responsibility of life science Informatics Publications journal*,4(3). DOI - 10.26479/2018.0403.12.
- ✚ **Beltrán-Martínez M.E., Tapia-Rodríguez M.R., Ayala-Zavala J.F., Gómez-Álvarez A., Robles-Zepeda R.E., Torres-Moreno H., de Rodríguez D.J., López-Romero J.C. (2024).** Antimicrobial and Antibiofilm Potential of *Flourensia retinophylla* against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Plants*, 13(1671): 1-13. <https://doi.org/10.3390/plants13121671>.
- ✚ **Benabdallah H., Benchikh F.A.S. (2020).** Ethnopharmacological Study and Evaluation of the Antioxidant Activity of *Ocimum basilicum* L. Extracts. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(4): 132-137. <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i4-s.4308>.
- ✚ **Bensaid A., Boudard F., Servent A., Morel S., Portet K., Guzman C., Vitou M., Bichon F., Poucheret P. (2022).** Differential Nutrition-Health Properties of *Ocimum basilicum* Leaf and Extracts. *Journal of Foods*, 11(12) :1-20. Doi: 10.3390/foods11121699.
- ✚ **Berlanga M., Ricardo G. (2016).** Living together in biofilms: the microbial cell factory and its biotechnological implications. *Journal of Microbial cell factories* ,15 : 1-11.
- ✚ **Bin-Masalam MS., Bakhil A., Bashab A., Alsaiyli M. (2021).** In Vitro antibacterial activity of Yemeni medicinal plants (*Ocimum basilicum* and *Peganum harmala*) against some human pathogenic bacteria. *Journal of Physics: Conference Series*, p(1-10). doi:10.1088/1742-6596/1900/1/012021 1.
- ✚ **Boubakeur B., Drabo M.S. , Khadem H., Segda R., Ajmal Shah M., Savadogo A. (2022).** Antimicrobial, antibiofilm, and probiofilms effects of gallic acid on exopolysaccharide-dependent and -independent biofilm of model strains *Streptococcus thermophilus* CNRZ 447 and *Staphylococcus aureus* ATCC 43300. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences* <https://doi.org/10.55251/jmbfs.1781> .

✚ **Boukadoum Y. (2021).** Etude Phytochimique d'une espèce de la famille Lamiaceae de la région de Skikda (*Ocimum basilicum*). Mémoire de Master : Chimie : Université du 20 Août 1955 – Skikda.

✚ **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.

### C

✚ **Cabalfin Z.J.J., Gerona A.G., Labrador V.A., Remaneses J., Harold M. (2020).** Eradication of *Staphylococcus aureus* Biofilms by Synergistic Action of Basil Oil and Vancomycin. *Publiscience*, 79- 83.

✚ **Chenni M., El Abed D., Rakotomanomana N., Fernandez X., Chemat F. (2016).** Comparative Study of Essential Oils Extracted from Egyptian Basil Leaves (*Ocimum basilicum* L.) Using Hydro-Distillation and Solvent-Free Microwave Extraction. *Journal of Molecules*, 21(113) : 1-16. doi:10.3390/molecules21010113.

✚ **Chin E.N., Zeuko'o M.E. (2023).** Bacterial Biofilm Eradication in Human Infections. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.113341>.

✚ **Costa G.A.,Fernanda C.P.R., Aline W. M., Ana P.F.C., Adriano B., Ana Paula G.F.,Amanda S.D.M.(2018).** Evaluation antibacterial and antibiofilm activity of the antimicrobial peptide against *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis*. *Journal of Anais da Academia Brasileira de Ciências* ,90(1): 73-84.

### D

✚ **Daira N.E.H., Maazi.C., Chefrour A. (2016).** Contribution A l'étude Phytochimique d'une Plante Médicinale Ammoides Verticillata (Desf.) Briq. De l'est Algérien. *Journal of Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 85. DOI: 10.25518/0037-9565.6494.

✚ **David L., Jean M.G. (2012).** Infection associée aux biofilms. *Journal of Médecine & Science*. 28:727-739 .

✚ **Dehi R.I., Maulana A.D. (2023).** Activity test of the preparation of dental passage gel extract of basil leaf ethanol (*Ocimum Basilicum* L.) Againts *Staphylococcus Aureus*. *International Journal of Integrative Sciences*, 2(3): 257-268. DOI: <https://doi.org/10.55927/Ijis.V1i4.3490>.

✚ **Dharsono H.D.A., Putri S.A., Kurnia D., Dudi D., Satari M.H. (2022).** *Ocimum* Species : A review on Chemical Constituents and Antibacterial Activity. *Journal of Molecules*, 27(19):1-23. <https://doi.org/10.3390/molecules27196350>.

✚ **Donlan R.M., Costerton J.W. (2002).** Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Journal of clinical microbiology reviews*. 15(2):167-93. doi: 10.1128/CMR.15.2.167-193.2002. PMID: 11932229; PMCID: PMC118068.

### E

✚ **Eid A.M., Jaradat N., Shraim N., Hawash M., Issa L., Shakhsher M., Nawahda N., Hanbali A., Barahmeh N., Taha B., Mousa A. (2023).** Assessment of anticancer, antimicrobial, antidiabetic, anti-obesity and antioxidant activity of *Ocimum Basilicum* seeds essential oil from Palestine. *Journal of BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(221): 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-04058-w>.

✚ **Elena K. P .,Man-W. T (2023).** Bacterial biofilms in the humanbody: prevalence and impacts on health and disease. *Journal of Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. DOI 10.3389/fcimb.1237164

✚ **EL-Haoud H., Moncef B., Assia B., Hind T.,Rachid B. (2018)** .Phytochemical screening of a medicinal plant:*mentha spicata l.* *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*.

### F

✚ **Faur A., Watz C., Moacă E.A ., Avram S., Borcan F., Pinzaru I., Iftode A., Nicolov M., Popovici R.A., Raica M., Szuhanek C.A., Dehelean C. (2020).** Correlations on Phenolic Screening Related to In Vitro and In Ovo Assessment of *Ocimum basilicum* L. Hydro-Alcoholic Extracts Used as Skin Active Ingredient. *Journal of Molecules*, 25(5442) : 1-23. doi:10.3390/molecules25225442.

✚ **Ferreira A.A., Patrícia A.S.T., Regina C.S.M., Ariana de Souza S., Márcia M.C. (2014).** Detection of exopolysaccharide production and biofilm-related genes in *Staphylococcus* spp. isolated from a poultry processing plant. *Journal of Food Science and Technology*, 34(4): 710-716. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-457X.6446>.

### G

✚ **Goetz C. (2018).** Caractérisation de molécules antibiofilm produites par des souches de *staphylocoques* isolées dans des cas de mammite bovine. Thèse de doctorat : doctorat Philosophiae en sciences vétérinaires option microbiologie,faculté de médecine vétérinaire.

✚ **Grishma S.P., Charles D.E., Jitendra P. (2023).** Multispecies bacterial biofilms and their evaluation using bioreactors . *Foods*, 12(4495) :1-36  
<https://doi.org/10.1007/s40735-022-00677>.

✚ **Guimarães R., Milho C., Liberal Â., Silva J., Fonseca C., Barbosa A., Ferreira I.C.F.R., Alves M.J., Barros L. (2021).** Antibiofilm Potential of Medicinal Plants against *Candida* spp. Oral Biofilms : A Review. *Journal of Antibiotics*, 10(9):1-17.  
<https://doi.org/10.3390/antibiotics10091142>.

### H

✚ **Harika K., Shenoy V.P., Narasimhaswamy.N., Chawla .K. (2023).** Detection of biofilm production and its impact on antibiotic resistance profile of bacterial isolates from chronic wound infections. *Journal of Global Infectious Diseases*. 12:129-34.  
 DOI:10.4103/jgid.jgid15019.

### I

✚ **Ibrahim O.M.S., Sarhan S.R. (2015).** In vitro and in vivo Antibacterial Activity of Ethanolic Extract of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leaves against *Escherichia coli* in Experimentally Infected Rats. *Journal of Advances in Animal and Veterinary Sciences*, 3(6) : 308-320.  
<http://dx.doi.org/10.14737/journal.aavs/2015/3.6.308.320>.

### J

✚ **Jacob J.K.S., Reena C.A.C., Divina C.C., Ph.D. (2016).** Phytochemical Composition, Antibacterial and Antifungal Activities of Sweet Basil (*Ocimum basilicum*). *American-Eurasian Network for Scientific Information journal*, 10(7): 84-89.

### K

✚ **Kamelnia E., Mohebbati R., Kamelnia R., El-Seedi H.R., Boskabady M.H. (2023).** Anti-inflammatory, immunomodulatory and anti-oxidant effects of *Ocimum basilicum* L. and its main constituents: A review. *Journal Iranian of basic Medical Sciences*, 26(6) : 617-627. doi: <https://dx.doi.org/10.22038/IJBMS.2023.67466.14783>.

✚ **Karakaş İ., Hacıoğlu D.N. (2023).** Some biological potential of silver nanoparticles synthesized from *Ocimum basilicum* L. *Journal of GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 22(03): 107–113. DOI: <https://doi.org/10.30574/gscbps.2023.22.3.0099>.

✚ **Khalil A. (2013).** Antimicrobial activity of ethanolic extract of *ocimum basilicum* leaf from Saudi Arabia . *Journal of biotechnologie*,12(1) :61-64 .Doi :10.3923/biotech.2013.

✚ **Klein G.L., Dufour A., Compère C. (2010).** De nouvelles voies d'inhibition des biofilms des micro-organismes producteurs de nouvelles molécules actives. *Journal of Matériaux & Techniques, 1.*

✚ **Kpètèhoto H.W., Amoussa A.M.O., Roch C.J., Eustache E.M.H., Franck M.Z.M., Hounnankpon Y., Frédéric L., Honoré B., Latifou L. (2019).** Phytochemical analysis and antioxidant potential of *Ocimum gratissimum* Linn (Lamiaceae) commonly consumed in the Republic of Benin. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 7(04) :75-83. DOI:10.7324/JABB.2019.70412.

### L

✚ **Leanne C., Garnett J., (2023).** How to study biofilms technological advancements in clinical biofilm research . *Journal of Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. DOI 10.3389/fcimb.2023.1335389.

### M

✚ **Mahendran G., Vimolmangkang S. (2023).** Chemical compositions, antioxidant, antimicrobial, and mosquito larvicidal activity of *Ocimum americanum* L. and *Ocimum basilicum* L. leaf essential oils. *Journal of BMC Complementary Medicine and Therapies*, 23(390): 1-15. <https://doi.org/10.1186/s12906-023-04214-2>.

✚ **Mahgoub A.A., Eyad A., AbdElmoneim O. E., Mohd A., Arif J. S., Danish M., Azaz A.A., Mitesh P., Khalid M., Corina D., Syed A.A. (2022).** Anti-adhesion and antibiofilm activity of eruca sativa miller extract targeting cell adhesion proteins of food-borne bacteria as a potential mechanism: combined in vitro-in silico approach. *Journal of Plants*, 11(610). <https://doi.org/10.3390/plants11050610>.

✚ **Mariana N.S., Salman S.A., Neela V., Zamberi S. (2009).** Evaluation of modified Congo red agar for detection of biofilm produced by clinical isolates of methicillin resistance *Staphylococcus aureus*. *African Journal of Microbiology Research*, 3(6):330.

✚ **Matilla-Cuenca L., Carm G., Cuesta S., Rapún A.B., Žiemytė M., Mira A., Lasa I., Valle J. (2020).** Antibiofilm activity of flavonoids on staphylococcal biofilms through



targeting BAP amyloids. *Scientific Reports*, 10:18968. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75929-2>.

✚ **Milica P., Zorica S.R, Marija G, Marina D., Niko R. (2020).** Anti-virulence potential of basil and sage essential oils: Inhibition of biofilm formation, motility and pyocyanin production of *Pseudomonas aeruginosa* isolates, *Journal of Food and Chemical Toxicology*,141,111431. <https://doi.org/10.1016/j.fct>.

✚ **Mirul K. P.,Lavanya M (2022).** Microbial influenced corrosion: understanding bioadhesion and biofilm formation . 8(3): 1-13.

✚ **Mori S., Atsumi Y.,Kazuhiro K.(2023).** Evaluation of the biofilm detection capacity of the Congo Red Agar method for bovine mastitis-causingBacteria. *Japanese Journal of Veterinary Research* .71(3): 109-116.

✚ **Murali M.,Prabakaran G. (2018).** Effect of different solvents system on antioxidant activity and phytochemical screening in various habitats of *Ocimum basilicum* L. (sweet basil) leaves. *International journal of zoology and applied biosciences* , 3(5) : 375-381. <https://doi.org/10.5281/zenodo>.

N

✚ **Nadeem H., Akhtar S., Sestili P., Ismail T., Neugart S., Qamar M., Esatbeyoglu T. (2022).** Toxicity, Antioxidant Activity, and Phytochemicals of Basil (*Ocimum basilicum* L.) Leaves Cultivated in Southern Punjab, Pakistan. *Journal of Foods*, 11(9), 1239. <http://dx.doi.org/10.3390/foods11091239> .

✚ **Nassima B., Nassima B., Riadh K. (2019).** Antimicrobial and antibiofilm activities of phenolic compounds extracted from *Populus nigra* and *Populus alba* buds (Algeria). *Journal of Pharmaceutical Sciences*, p(1-10). <http://dx.doi.org/10.1590/s2175-97902019000218114> .

✚ **Neopane P., Nepal H.P., Shrestha R., Uehara O., Abiko Y. (2018).** In vitro biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from wounds of hospital-admitted patients and their association with antimicrobial resistance. *International Journal of General Medicine*.18(11):25-32. doi: 10.2147/IJGM.S153268.

✚ **Nguyen V.T., Nguyen N.Q.,Th N.Q.N., Thi C.Q.N.,Truc T.T., Nghi P.T.B.(2021).** Studies on chemical, polyphenol content, flavonoid content, and antioxidant activity of sweet basil leaves (*Ocimum basilicum* L). *Journal of Materials Science and Engineering* .Doi:10.1088/1757-899X/1092/1/012083.

✚ **Nugroho L.H., Sa'adah N.S.S., Sukirno.S., Nuringtyas T.R. (2023).** Toxicity of *Ocimum basilicum* L. Leaf extract against *Spodoptera exigua* Hübner (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Plant Science Today*. P(1-10). <https://doi.org/10.14719/pst.3099>.

O

✚ **Oalde Pavlović M., Kolarević S., Đorđević J., Jovanović Marić J., Lunić T., Mandić M., Kračun Kolarević M., Živković J., Alimpić Aradski A., Marin P.D., Šavikin K., Vuković-Gačić B., Božić Nedeljković B., Duletić-Laušević S. (2021).** A Study of Phytochemistry, Genoprotective Activity, and Antitumor Effects of Extracts of the Selected Lamiaceae Species. *Journal of Plants* , 10(2306): 1-23. <https://doi.org/10.3390/plants10112306>.

✚ **Okmen G., Balpınar N. (2018).** Antibacterial and Antioxidant Activities of *Ocimum basilicum* L. Against Mastitis Pathogens. *Journal of Cumhuriyet Science*, 39(3): 573-580. <http://dergipark.gov.tr/csj>.

✚ **Oreopoulou A., Tsimogiannis D., Oreopoulou V. (2019).** Extraction of Polyphenols from aromatic and medicinal plants: An overview of the methods and the effect of extraction parameters.(chap.15), dans Polyphenols in plants ( isolation, purification and extract preparation.

P

✚ **Pandey A.K., Tiwari S.P., Biswas D., Patel Y., Jajda M.H., Dave S.G. (2023).** Evaluation of Phytochemicals, Antioxidant and Anti-inflammatory properties of leaves of *Ocimum basilicum* L. *Journal of Pharmacy and Technology*, 16(4): 1981-1986. DOI: 10.52711/0974-360X.2023.00325.

✚ **Pandey H.K., Guglani A., Balakrishna G., Kumar V. (2022).** Variation in Antioxidant Activity and Antioxidant Constituents of *Ocimum basilicum* Linn. with the Maturity of Plant Grown in Open Field and Inside Polyhouse Conditions. *Journal of Defence Life Science*, 7(1): 44-51. DOI : 10.14429/dlsj.7.17247.

✚ **Penesyán A.,Paulsen I.T.,Kjelleberg S., Gillings M.R. (2021).** Three faces of biofilms: a microbial lifestyle, a nascent multicellular organism, and an incubator for diversity Gilling. *Journal of Biofilms and Microbiomes* ,7(80) .<https://doi.org/10.1038/s41522-021-00251-2>.

✚ **Pernando N.A., Hasyrul H., Wirnawati .,Khalish A A.K .S.(2023).** Antibacterial And Antibiofilm Activity Staphylococcus aureus From Plants Containing Essential Oils: A Mini-Review . *Nanobioletters* 12(1) .<https://doi.org/10.33263/LIANBS 121.005>.

✚ Popescu L., Cojocari D., Lung I., Kacso I., Ciorîţ ă A., Ghendov-Mosanu A., Balan G., Pinteă A., Sturza R. (2023). Effect of Microencapsulated Basil Extract on Cream Cheese Quality and Stability. *Journal of Molecules*, 28(3305) : 1-20. <https://doi.org/10.3390/molecules28083305>.

✚ Prasath S.G., Santhana B.P., Subramanian S. (2019). Antioxidant properties of *ocimum basilicum* leaves extract: an in vitro study. *Scholars research der pharmacia lettre*, 11 (1): 33-41. <http://scholarsresearchlibrary.com/archive.html>.

### Q

✚ Qamar F., Sana A., Naveed S., Faizi S. (2023). Phytochemical characterization, antioxidant activity and antihypertensive evaluation of *Ocimum basilicum* L. in L-NAME induced hypertensive rats and its correlation analysis . *Journal of Heliyon* , 9.

### R

✚ Rabai M., Bouteldja R., Doucene R., Aggad H. (2021). lupines albus seeds extracts: phytochemical screening and antibacterial activity. *Lucrari stiintifice medicina veterinara* .(2), Timisoara.

✚ Rafique R., Khan Z. U.D., Iltaf .S., Habib.A., Riaz .A., Ali.S., Shaukat.M., Shaukat H., Sindhu M.A.,Sindhu M.W . (2021). Phytochemical analysis and ft-ir of leaf and stem extracts of *olea ferruginea* royle pakistan. *Journal of Science* , 73(4) .

✚ Rahayu E., Lahay N., Jamilah. (2021). Antibacterial Inhibition Test Against the Combination Extract of Moringa Leaf (*Moringa oliefera*) and Basil Leaf (*Ocimum basilicum*) as a Substitute for Feed Additive. *Journal of Animal Science Hasanuddin*, 3(2) :85-94. Doi:10.20956/hajas.V3i2.20074.

✚ Rahimi M., Mojtaba M., Ameneh M., Sandip D. (2023). Evaluation of basil (*Ocimum basilicum*) accessions under different drought conditions based on yield and physio-biochemical traits. *Journal of BMC Plant Biology*, 23:1-15. Doi : 10.1186/s12870-023-04554-8.

✚ Rezzoug M., Bakchiche B., Gherib A., Roberta A., FlaminiGuido., Kilinçarslan Ö., Mammadov R., Bardaweel S.K. (2019). Chemical composition and bioactivity of essential oils and Ethanolic extracts of *Ocimum basilicum* L. and *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. from the Algerian Saharan Atlas. *Journal of BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(146) :1-10. <https://doi.org/10.1186/s12906-019-2556-y>.

S

✚ **Saidi Y.R., Doumandji A. (2023).** Anticholesterolemic activity of moringa oleifera leaves methanolic extract in triton x-100 induced hypercholesterolemic mice. *Journal of Nutrition and Santé* , 12 (01):31-37. DOI:10.30952/ns.12.1.4.

✚ **Sakshi M., Ankit B., Sarita U., Dhurba C. (2023).** Impact of Biofilms on Chronic Infections and Medical Challenges. *Journal of Cureus*, 15(11). DOI: 10.7759/cureus.48204.

✚ **Salem M.A., Salama M.M., Ezzat S.M., Hashem Y.A. (2022).** Comparative metabolite profiling of four polyphenols rich Morus leaves extracts in relation to their antibiofilm activity against *Enterococcus faecalis*. *Journal of scientific reports*. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24382-4> .

✚ **Samrot A.V., Abubakar Mohamed A., Faradjeva E., Si Jie L., Hooi Sze C., Arif A., Chuan Sean T., Norbert Michael E., Yeok Mun C., Xiao Qi N., Pooi L.M., Suresh S.K. (2021).** Mechanisms and impact of biofilms and targeting of biofilms using bioactive compounds—A review. *Journal of Medicina*, 57( 839): 1-28. <https://doi.org/10.3390/medicina57080839>.

✚ **Sharma A.D., Kaur I., Angish S., Thakur A., Sania S., Singh A. (2022).** Comparative phytochemistry, antioxidant, antidiabetic, and anti-inflammatory activities of traditionally used *Ocimum basilicum* L. *Ocimum gratissimum* L., and *Ocimum tenuiflorum* L. *Journal of Biotechnology, Computational Biology and Bionanotechnology*, 103 (2): 131–142. <http://doi.org/10.5114/bta.2022.116206> .

✚ **Singh, S., Singh S. K., Chowdhury I., Singh R. (2017).** Understanding the mechanism of bacterial biofilms resistance to antimicrobial agents. *Journal of microbiology*, 28(11):53-62. doi: 10.2174/1874285801711010053.

✚ **Slobodníková L., Fialová S., Rendeková K., Kováč J., Mučaji P. (2016).** Antibiofilm Activity of Plant Polyphenols. *Molecules*, 13;21(12):1717. doi: 10.3390/molecules21121717..

✚ **Soni A., Sosa S. (2013).** Phytochemical analysis and free radical scavenging potential of herbal and medicinal plant extracts. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2 (4): 22-29.

✚ **Suchita B., Desale R.J., Y. G., Fulpagare Y. G. (2020) .** Biofilm: An overview with respect to dairy industry. *Internatinal Journal of current microbiology and applied*. 9(10): 150-160 <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2020.910.020>.

✚ **Sulistiyawatil I., Muhammad F., Gita A., Anwar R.(2023).** Antimicrobial activity of basil (*ocimum basilicum* L.) Against gram-negative bacteria involved in pneumonia

infection . *Journal Sains dan Teknolog* , 2( 2) : 430-438 .  
doi.org/10.23887/jstundiksha.v12i2.53577.

T

✚ **Teofilović B., Tomas A., Martić N., Stilinović N., Popović M., Capo I., Grujić N., Branislava I., Aleksandar R. (2021).** Antioxidant and hepatoprotective potential of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) extract in acetaminophen-induced hepatotoxicity in rats. *Journal of Functional Foods*, 87: 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104783>.

✚ **Traore Y.Z., Kone M , Kande B., Kouadio N.G. (2024).** Phytochimie des extraits de sida acuta et evaluation de la toxicite de l'extrait aqueux. *ESI Preprints*, 28: 494-494. Doi: 10.19044

✚ **Tshilanda D.D., Clément L.I., Kashala M., Souzane M., Paulin K.M., Damien S.T.T., Gédéon N.B., Ngbolua K.N., Pius T. M. (2019).**Microscopic Studies, Phytochemical and Biological Screenings of *Ocimum canum* *International Journal of Pharmacy and Chemistry* 5(5): 61-67. doi: 10.11648/j.ijpc.20190505.13.

V

✚ **Valdi D.S., Ndoye F.F., Dongmo Z.A., Kengne G.L., Ndjib R., Ngongang T.D., Nyegue M.A. (2023).** Investigating the antibacterial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of aqueous and hydroethanolic extracts of *Ocimum basilicum* and *Ocimum gratissimum* on some germs responsible for aerobic vaginitis. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 15(3): 21-28.

✚ **Vargová M., Zigo F., Výrostková J., Farkašová Z., Rehan I.F. (2023)** Biofilm-Producing Ability of *Staphylococcus aureus* Obtained from Surfaces and Milk of Mastitic Cows. *Journal of Veterinary Sciences*,10(6):386. <https://doi.org/10.3390/vetsci10060386>.

✚ **Vestby L.K., Grønseth T, Simm R., Nesse L.L. (2020).** Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics* (Basel), 3 : 9(2):59. doi: 10.3390/antibiotics9020059.

W

✚ **Wang X., Ming L., Chuanjiang Y., Jing L., Xikun Z. (2023).** Biofilm formation : Mechanistic insights and therapeutic targets . *Journal of Biomédecine moléculaire*. P(1-25). <https://doi.org/10.1186/s43556-023-00164-w>.

✚ **Wang Z., Wang H., Bai J., Cai S., Qu D., Xie Y., Wu Y. (2024).** The *Staphylococcus aureus* ArlS Kinase Inhibitor Tilmicosin Has Potent Anti-Biofilm Activity in

Both Static and Flow Conditions. *Journal of Microorganisms*, 12(256): 1-15. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12020256>.

✚ **Wirtu S.F., Mishra A.K., Jule L.T., Ramaswamy K. (2024).** *Ocimum basilicum* and *Ocimum americanum*: a systematic literature review on chemical compositions and antimicrobial properties, *Natural Product Communications*, 19(4): 1–17 DOI: 10.1177/1934578X241247640.

### Y

✚ **Yan Y., Xia X.A., Li Z, Yuan G., Lian F., Wang Y. (2024).** Antibacterial activity and mechanisms of plant flavonoids against gram-negative bacteria based on the antibacterial statistical model. *Journal of Pharmaceuticals*, 17(292). [doi.org/10.3390/ph17030292](https://doi.org/10.3390/ph17030292).

✚ **Yani A.A., Eldahshan O.A., Hassan S.A., Elwan Z.A., Ibrahim H.M. (2019).** Aromatic Profiles and Antimicrobial Activities of Two *Ocimum basilicum* Varieties. *International Journal of Pharmacognosy and Chinese Medicine*, 3(4) : 1-7.

✚ **Yelwa A.S., Cyril O., Yahaya Y., Hassan U., Ibrahim L.S. (2018).** Phytochemical screening, in vitro antibacterial and partial TLC purification of different solvents extracts of *Ocimum basilicum* L. *Journal of Biological and Pharmaceutical Sciences*, 05(02): 132–138. DOI: <https://doi.org/10.30574/gscbps.2018.5.2.0127>.

### Z

✚ **Zain N.M., Nabilah M.A., Fatin A.N., Junaidah M., Indah M.A. (2022).** The antimicrobial and antibiofilm potential of sweet basil essential oil on *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Malaysian Applied Biology*. 51(4): 213-220 <https://doi.org/10.55230/mabjournal.v51i4.30>

✚ **Zhakupbekov K., Turgumbayeva A., Akhelova S., Bekmuratova K., Blinova O., Utegenova G., Shertaeva K., Sadykov N., Tastambek K., Saginbazarova A., Kenzhebek U., Gulbanu T., Zere Z., Zhanylsyn K. (2024).** Antimicrobial and Other Pharmacological Properties of *Ocimum basilicum*, Lamiaceae. *Journals of Molecules*, 29 (2): 1-19. <https://doi.org/10.3390/molecules29020388>.

✚ **Zhang C., Xie Y., Qiu W., Mei J., Xie J. (2023).** Antibacterial and Antibiofilm Efficacy and Mechanism of Ginger (*Zingiber officinale*) Essential Oil against *Shewanella putrefaciens*. *Journal of Plants*, 12(1720): 1-17. <https://doi.org/10.3390/plants12081720>.

✚ **Zhang J.Y.L., Ji Y. (2020).** Environmental factors modulate biofilm formation by *Staphylococcus aureus*. *Science Progress*,103(1). doi:10.1177/0036850419898659.

✚ **Zhao A., Sun J., Liu Y. (2023).** Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*,13:1137947. doi:10.3389/fcimb.2023.1137947

✚ **Złotek U., Mikulska S., Nagajek M., S´wieca M. (2015).** The effect of different solvents and number of extraction steps on the polyphenol content and antioxidant capacity of basil leaves (*Ocimum basilicum* L.) extracts. *Journal of Biological Sciences Saudi*, P(1-6). <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.08.002>.

# *Annexes*





Figure N°01 : A : Tamise , B : Broyeur



Figure N°02 : C : La parties aérienne séché de basilic , D : poudre de plante après tamisage

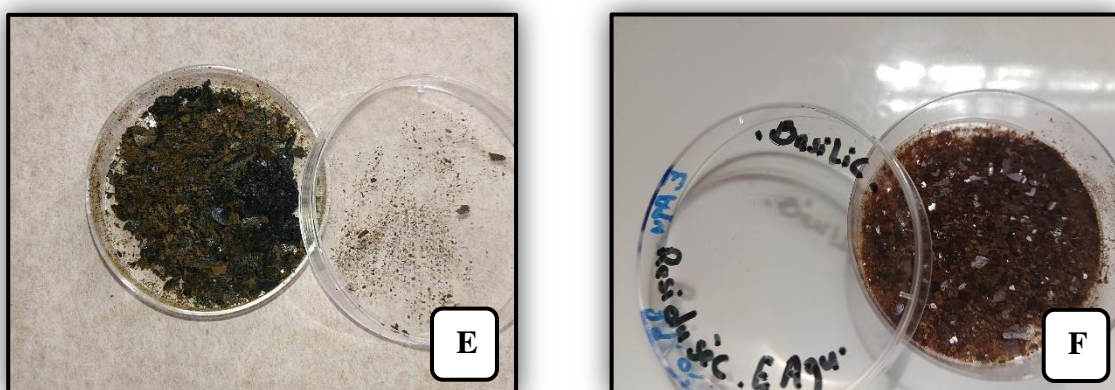


Figure N°03 : Résidu sec de l'extrait éthanolique (A), et aqueux (B) après l'évaporation

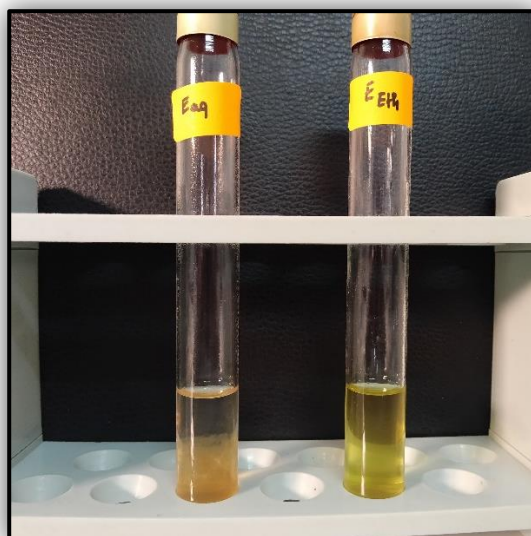
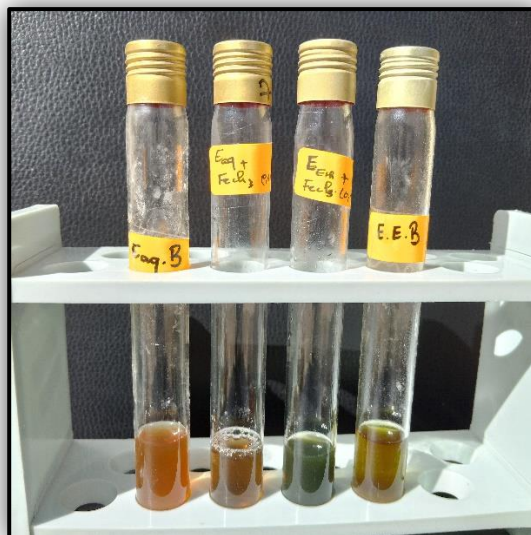
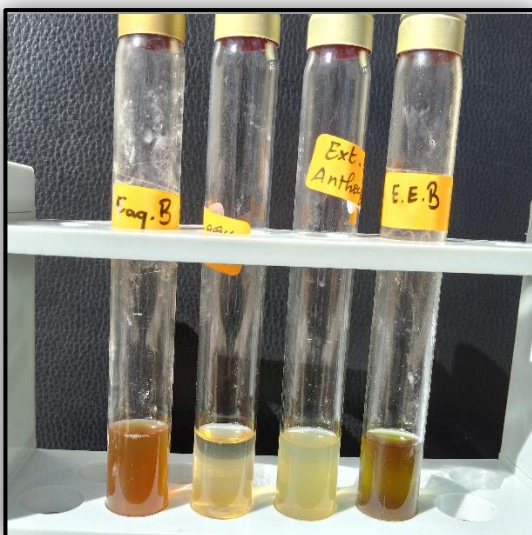
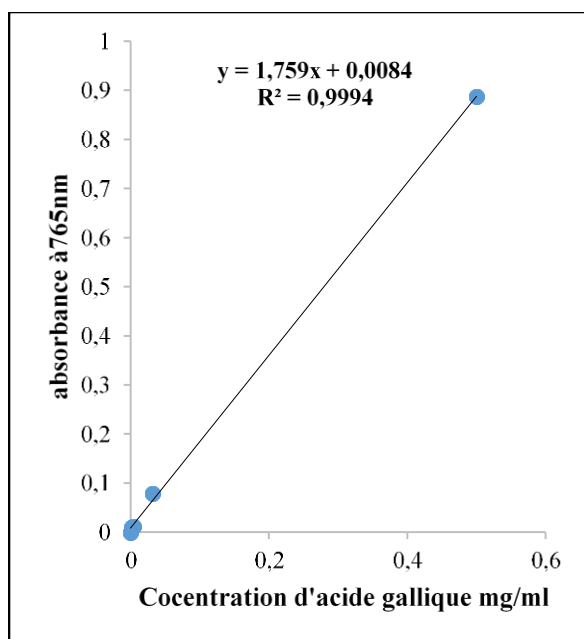
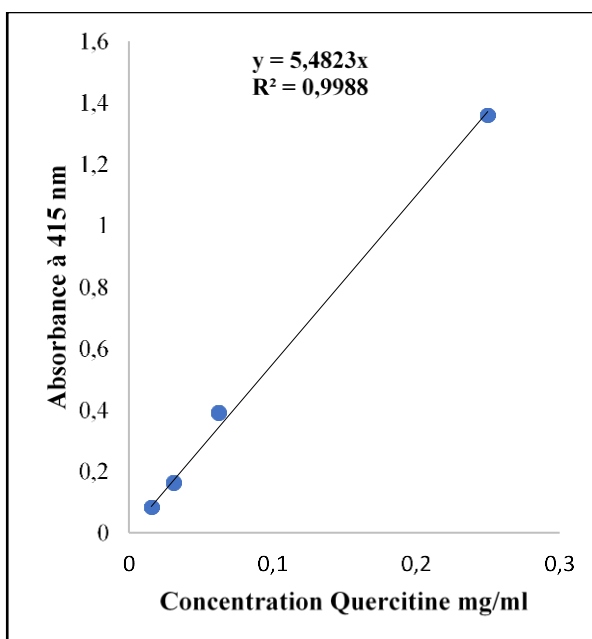


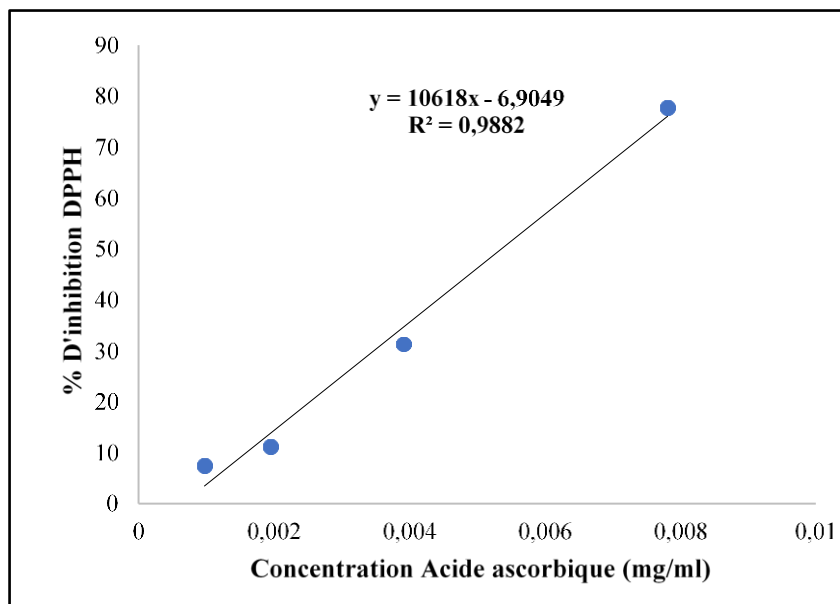
Figure N°04 : Screening phytochimiques des extraits éthanoliques et aqueux de basilic



Courbe d'étalonnage de polyphénols

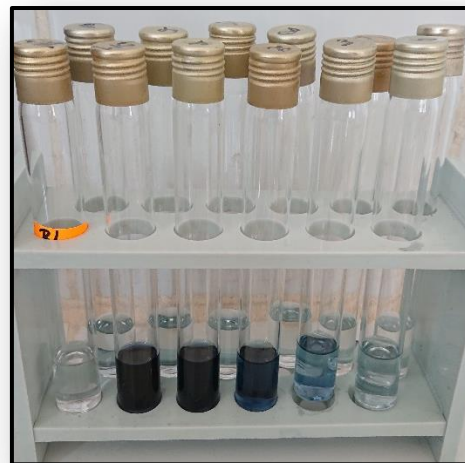
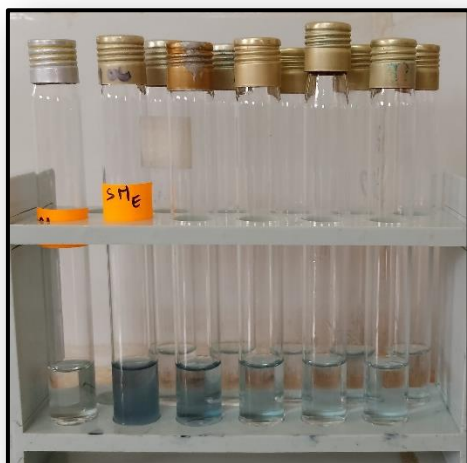


Courbe d'étalonnage de flavonoïdes

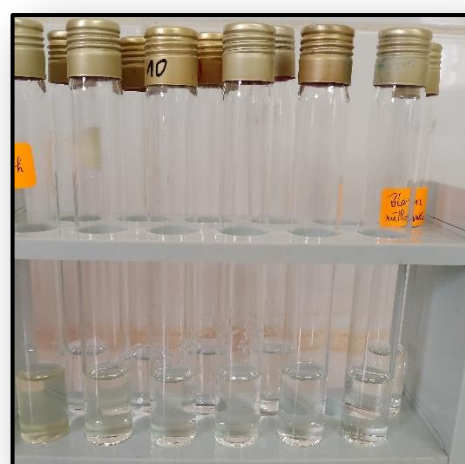


Courbe d'étalonnage de DPPH

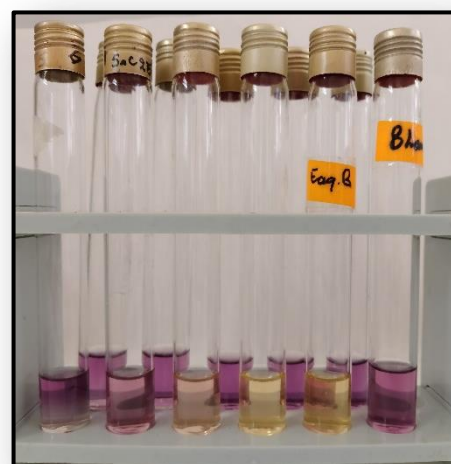
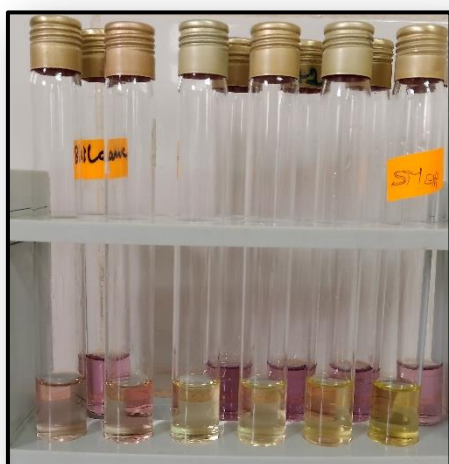
Figure N°05 : Courbes d'étalonnages des standards



**Figure N°06 :** Dosages des polyphénols des extraits de basilic



**Figure N°07 :** Dosages de flavonoïdes des extraits de de basilic



**Figure N°08 :** Test de DPPH pour extrait éthanolique et aqueux de basilic

## Composition de milieu de culture utilisée

Milieus solides :

### Gélose Chapman

Extrait de viande (bovin au porcine) .....	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

### Gélose nutritive

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

pH = 6,8 ± 0,2 à 25 °C.

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

### Muller Hinton

Peptone .....	10
Extrait de levure .....	05
Chlorure de sodium .....	05
Glucose .....	01
Agar .....	15

pH non précisé ajouté à 7,0.

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

---

---

### Gélose rouge Congo

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

pH= 6.8- 7.4

### Milieu liquide

#### Bouillon nutritif

Peptone .....	15 g
Extrait de levure .....	3 g
Chlorure de sodium.....	6 g
Glucose .....	1 g
Eau distillé .....	1000 ml

pH= 6.8

#### Eau physiologique

Na Cl.....	9 g
Eau distillé .....	1000 ml

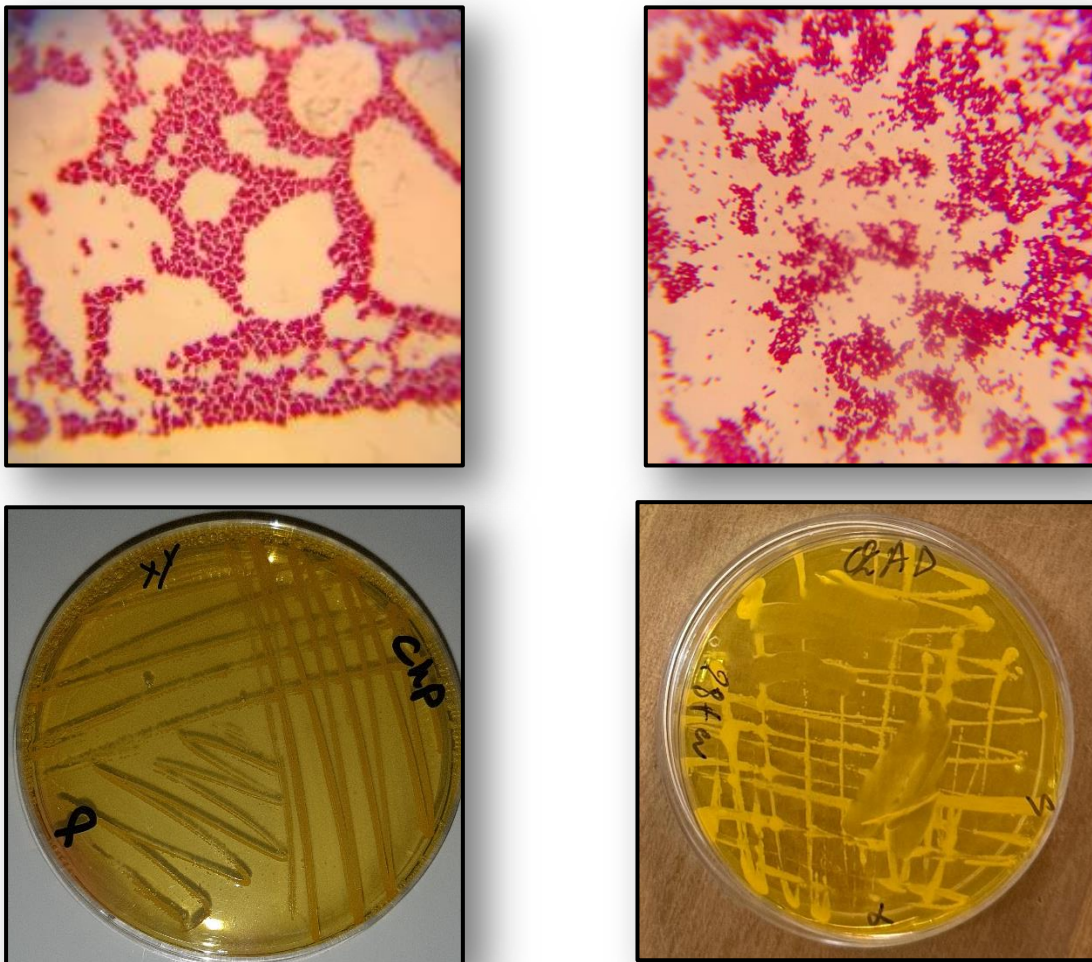


Figure N° 09 : Revivification et purification des souche de *S. aureus*

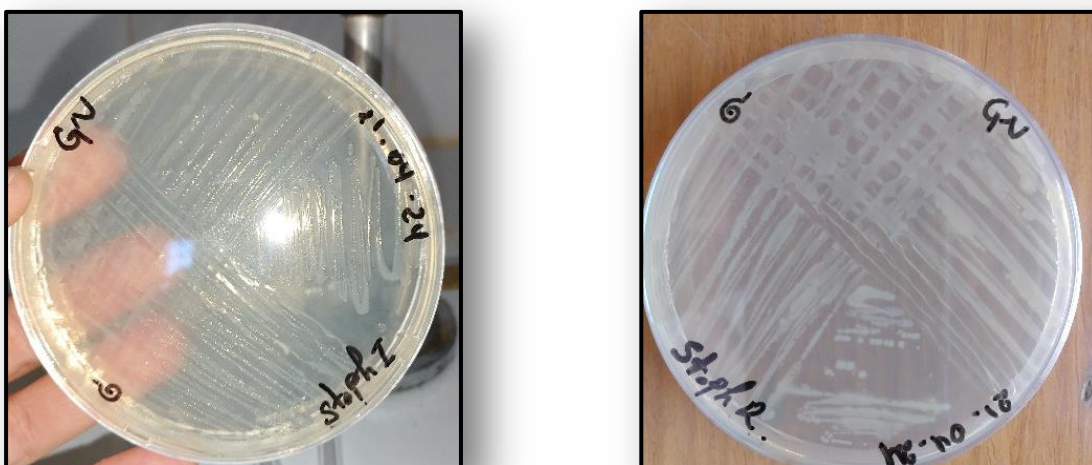


Figure N° 10 : Repiquage des souches.

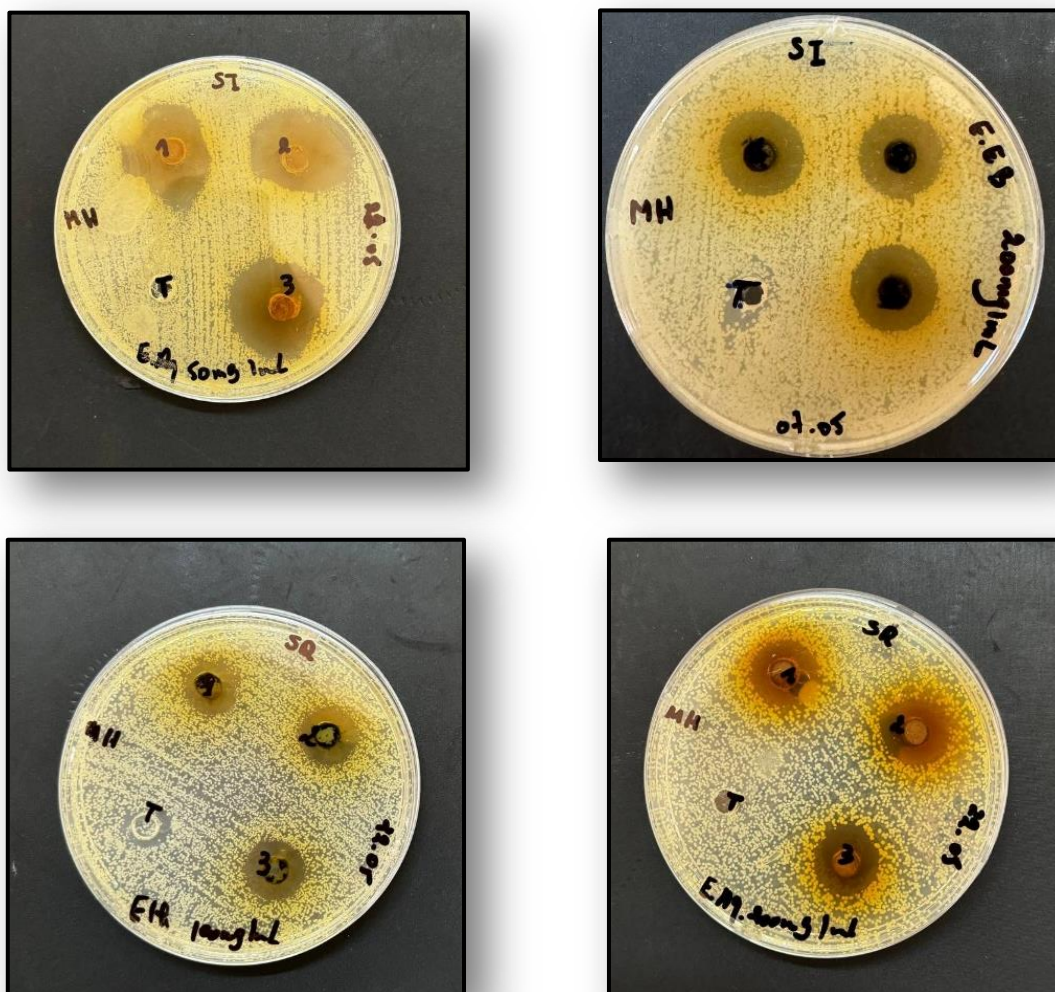


Figure N°11: Activité antibactérien par la technique de diffusion sur puits

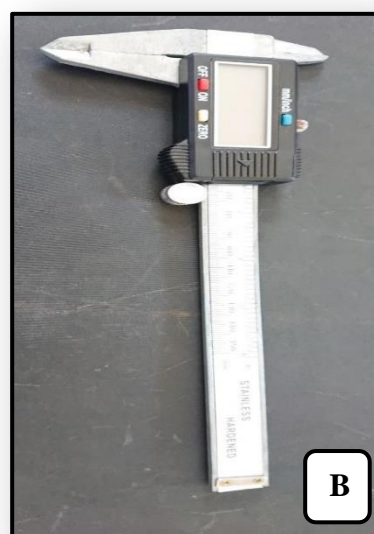


Figure N°12: (A) : Micropipette, (B) : Pied à coulisse





Figure N°13: Activité antibactérienne par la Méthode de Macrodilution.

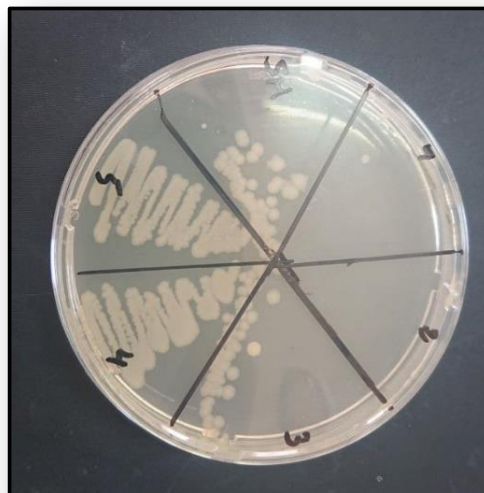
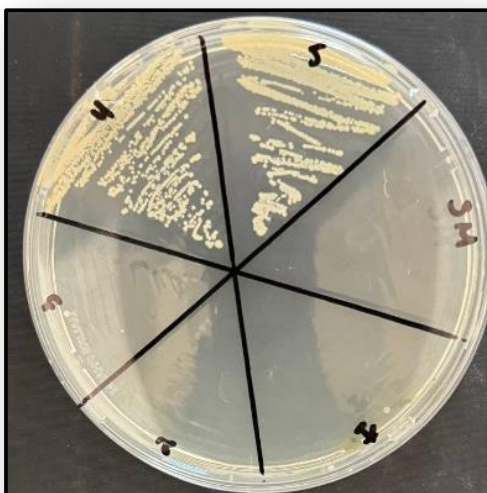
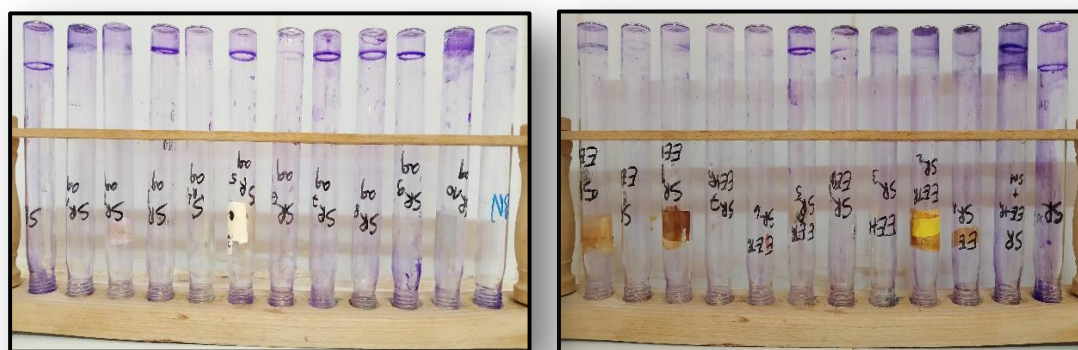


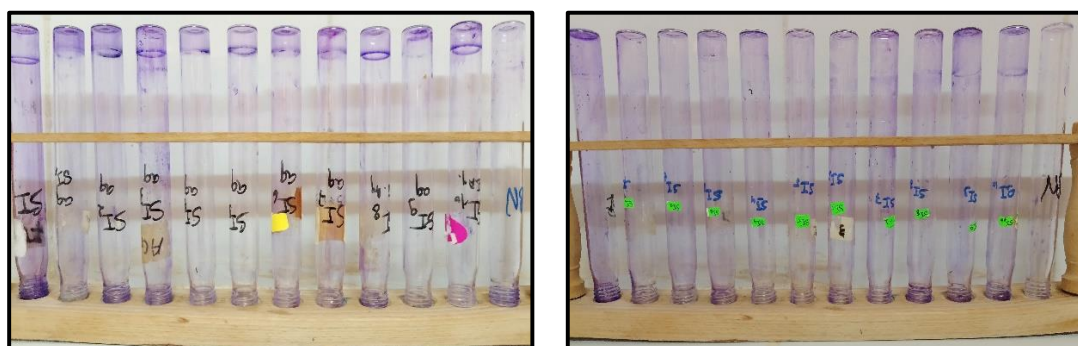
Figure N°14: Détermination de la CMI.



**Figure N°15 :** Formation de biofilm des souche *S. aureus* I et *S. aureus* R



**Figure N°16 :** Traitement de biofilm formé par les souches *S. aureus* R dans les tubes sec par la méthode cristal violet



**Figure N°17 :** Traitement de biofilm formé par les souches *S. aureus* I dans les tubes sec par la méthode cristal violet