

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique
Université « MOULOUD MAMMARI » de Tizi-Ouzou

Faculté
Département



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master 2 en Science Alimentaire
Spécialité : Agroalimentaire et Contrôle de qualité

Thème

Etude de l'activité antibactérienne et antibiofilm
de *Globularia alypum L*

Réalise par :

- ❖ **GUELLAL Soraya**
- ❖ **KAL Ouardia**

Encadre par : Mr. HOUALI.K

Membre du jury :

Mr. MOUALEK .I
Mr. SEBBANE.
Mr. HOUALI. K

M.C.B
M.C.B
Professeur

President.
Examineur.
Promoteur

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Au terme de ce travail, on tient à remercier Dieu le tout puissant de nous avoir donné, la foi, le courage, la patience et la santé pour tenir jusqu'à la fin.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Mr. HOULI .Karim pour avoir accepté d'être l'encadreur de notre de notre mémoire de master ainsi que pour ses orientations qui nous ont permis de bien avancer dans notre travail.

J'adresse mes respectueux et vifs remerciements aux membres de jury : Mr. MOUALEK .I d'avoir accepté de présider le jury, Mr. SEBBANE .H d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous remercions également tous les enseignants du laboratoire LABAB qui n'ont pas cessé de répondre à nos questions malgré leurs occupations, les membres du département .L' équipe de la bibliothèque pour l'aide apportée dans la recherche bibliographique.

Un profond merci à Mm. DARMECHE .S du laboratoire Biochimie.

Nos remercions également avec grande gratitude Mm. REMANE.

Enfin, j'adresse mes plus sincères remerciements à tous mes proche et amis, qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant la réalisation de ce travail.

Merci à vous tous.

ADN : Acide désoxyribonucléique

AHL : Acyles Homo-sérines Lactones

AI : Auto inducteur

AIP: Auto-Inducing Peptides

ARN : Acide ribonucléique

ATCC : American Type Culture Collection.

D : Densité du filtrat.

EPS : Substance polymérique extracellulaire.

ETT : Endotrachéal

GN : **Gélose** nutritive.

MBC : Concentration minimale bactéricide

MH : Milieu Muller-Hinton

MIC : Concentration minimale inhibitrice

PH : Potentiel hydrogène

QQ: Quorum quenching

QS : Quorum sensing.

RCA : Rouge Congo Agar.

RE : Le rendement de l'extrait.

UPD : Ulcères du pied diabétique

UV : Rayons ultraviolets

% : Pourcentage

µl : Microlitre.

Figure 1 : Le biofilm formé sur la paroi intérieure d'un tuyau de douche vu au microscope électronique à balayage: il se compose de mucus et de différents types de bactéries.....	4
Figure 2 : Formation d'un biofilm bactérien.....	6
Figure 3 : Différent mécanismes de LAH et AIP signal.....	12
Figure 4 : Schéma récapitulatif des mécanismes du QS bactérien et des différentes stratégies du QQ.....	14
Figure 5 : Photographie de l'aspect morphologique de <i>Globularia alypum</i>	21
Figure 6 : Répartition mondiale de la plante <i>Globularia alypum</i> L.....	22
Figure 7. Classification des polyphénols.....	27
Figure 8 : Effets biologique des polyphénols	27
Figure 9. Squelette de base des flavonoïdes.....	29
Figure 10. Situation géographique et limites administrative de la zone d'échantillonnage (wilaya Batna).....	34
Figure 11 : La réalisation de l'antibiogramme	39
Figure 12 : Le teste de l'activité antibiofilm de l'extrait (pure, dilué) de <i>Globularia alypum</i>	41
Figure 13 : Résultats de production du biofilm bactérien.....	44
Figure : L'effet antibiofilm de l'extrait aqueux (pure, dilué) vis-à-vis <i>S. aureus</i> ATCC 25923	45

Tableau I : Composition d'un biofilm bactérien	5
Tableau 2. Facteurs et propriétés impliqués dans la formation des biofilms.....	7
Tableau 3. Activité antibiofilm de quelques plantes étudiées	18
Tableau 4. Travaux antérieurs consacrés à l'étude de la plante <i>Globularia alypum</i> L.....	23
Tableau 5. Etudes antérieures sur l'espèce <i>Globularia alypum</i>	24
Tableau 6 : Les principales classes des flavonoïdes	29
Tableau 7. Tableau récapitulatifs des appareils, verrerie et petit matériel utilisés.	35
Tableau 8 : Milieux de culture utilisés	36
Tableau 9 : Résultats de la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant deux souches de référence (<i>E. coli</i> , <i>S.aureus</i>).....	43

Sommaire

Partie : Bibliographique

Introduction générale.....	1
Chapitre I : Lutte contre les biofilms bactériens	
1. Les biofilms bactériens	3
1.1 Composition	4
1.2 Etapes de formation d'un biofilm bactérien.....	5
1.2.1 Adhésion réversible	6
1.2.2 Adhésion irréversible	8
1.2.3 Formation des microcolonies	8
1.2.4 Maturation du biofilm	9
1.2.5 Dispersion du biofilm.....	10
1.3 Régulation de la formation des biofilms	10
1.3.1 Les molécules du quorum sensing (QS)	10
1.3.2 Le quorum sensing chez les bactéries à Gram négatif.....	11
1.3.3 Le quorum sensing chez les bactéries Gram-positifs.....	11
1.3.4 Rôle du <i>quorum sensing</i>	12
1.3.5 <i>Quorum quenching</i> (QQ)	13
1.4 Impacts négatifs des biofilms	15
1.4.1 Dans l'environnement et le domaine industriel	15
1.4.2 Les biofilms dans le domaine médical.....	16
2. Utilisation de biomolécules actives dans la lutte contre les biofilms	17

Chapitre II : *Globularia alypum*

1. L'aspect botanique et systématique	20
2. Classification botanique	20
3. Distribution géographique.....	21
4. Usages traditionnels et activités biologiques	22
5. Travaux antérieurs	23
6. Etude chimique antérieure	24
7. La composition chimique	26
7.1 Les polyphénols	27
7.2 Les flavonoïdes	27
7.3 Les tanins.....	29
8. Activités biologiques de <i>Globularia alypum</i>	30
8.1 Activité Antioxydante	31
8.2 Activité anti radicalaire	31
8.3 Activité antibactérienne des extraits de <i>Globularia alypum</i>	31
8.4 Activité anti-tuberculose des extraits de <i>Globularia alypum</i>	32
8.5 Activité anti inflammatoire	32

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes.....	34
1.1 Matériel biologique	34
1.1.2 Matériel végétal	34
1.1.3 Souches bactériennes utilisées	35

1.2 Matériel du laboratoire	35
2. Méthode d'extraction	36
3. Détermination du rendement d'extraction	36
3. Evaluation de l'activité antibactérienne	37
3.1. Préparation de l'extrait.....	37
3.2 Préparation de l'inoculum.....	37
4. Evaluation de l'activité antibiofilm	39

Résultats et discussion

1. Rendement de l'extraction	42
2. Activité antibactérienne des extraits de <i>G. alypum</i>	42
3. Test de formation de biofilm par la méthode au rouge Congo	44
4. Evaluation l'activité antibiofilm	45
Conclusion générale	46

Références bibliographique

Annexes

Partie

Bibliographique

Introduction générale

Les plantes sont des pharmacies naturelles pour guérir nos maladies, voir les prévenir, et malgré le développement technologique considérable, les plantes médicinales n'ont jamais perdu de leur importance (Stary et Jirasek, 1973).

Les plantes médicinales sont utilisées depuis des siècles comme remède pour diverses pathologies humaines et animales. Ces plantes doivent leur pouvoir thérapeutique à des substances, dites actives, qu'elles synthétisent. Pour l'évaluation de l'activité biologique de ces plantes, il est impératif de recourir à des tests biologiques appropriés et à des méthodes de screening chimique (Tyihákal, 2007).

L'Algérie, par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires. Cependant, La flore médicinale algérienne demeure néanmoins peu étudié jusqu'à nos jours, car sur les quelques milliers d'espèces végétales existantes, seules 146 sont dénombrées comme médicinales (Hamel et *al.*, 2018)

Parmi ces plantes médicinales, nous avons choisi de travailler sur *Globularia alypum*. Cette dernière est une plante riche en minéraux et antioxydants telles que les composés phénoliques. Elle est dotée d'un pouvoir anti-inflammatoire, antidiabétique, antibactérien et elle est utilisée pour le traitement des maladies gastro-intestinales (Khlifi et *al.*, 2011).

Notre mémoire est subdivisé en plusieurs parties, à savoir ::

- Le premier chapitre est réservé à un rappel général sur les biofilms ;
- Le deuxième chapitre se consacre à l'étude approfondie de la plante médicinale *Globularia alypum* et une étude phytochimique de cette dernière ;
- La partie expérimentale constitue la deuxième partie du manuscrit et consiste en une présentation détaillée du matériel et des méthodes

expérimentales utilisées dans cette étude. Nous avons aussi, mis le point sur tous les protocoles adoptés pour l'évaluation des activités biologiques des extraits préparés ;

- La troisième et dernière partie est consacrée à la discussion de tous les résultats obtenus, en les comparant avec les études antérieures ;
- Enfin, nous terminerons ce travail par une conclusion générale.

Chapitre I

Lutte contre les biofilms bactériens

3. Les biofilms bactériens

Les biofilms sont des communautés complexes de micro-organismes qui se développent sur des surfaces et sont enveloppés dans une matrice polymérique. Ils représentent une forme de vie prédominante pour de nombreux micro-organismes dans la nature.

Les cellules bactériennes au sein d'un biofilm peuvent adopter des phénotypes différents des cellules qui se trouvent à l'état planctonique (libre dans l'eau). Ces différences phénotypiques, appelées phénotypes sessiles, confèrent aux cellules du biofilm des avantages adaptatifs significatifs. Par exemple, les cellules du biofilm ont une plus grande capacité à coloniser de nouvelles surfaces, ce qui favorise la croissance du biofilm sur différents substrats. De plus, les cellules du biofilm sont généralement plus tolérantes aux stress environnementaux exogènes, tels que les envisagent, les agents de nettoyage ou les fluctuations des conditions environnementales. Cela est dû en partie à la présence de la matrice polymérique qui protège les cellules et leur confère une certaine résistance (Donlan et Costerton, 2002 ; Macfarlane et Dillon, 2007 ; Flemming, 2016) (Figure 1).

Les biofilms sont ubiquistes et presque toutes les espèces de micro-organismes, bactéries, champignons, levures, algues, protozoaires et virus sont capables d'adhérer aux surfaces et/ou les unes aux autres pour former des biofilms (Wingender et Flemming, 2011). Ces surfaces peuvent prendre plusieurs formes, minérales (roche) ou organiques (peau, tube digestif des animaux, racines et feuilles des plantes), industrielles (canalisation, surface alimentaires ou coques des navires) ou médicales (prothèse, cathéter, valves cardiaques) (Branger et *al.*, 2007). La sécrétion d'une matrice de substances polymériques extracellulaires (EPS) autoproduite par les micro-organismes avec des capacités d'adhésion et de protection accentue fortement la liaison des biofilms à une surface. Cette stratégie

importante mise en œuvre permet leurs survies dans des conditions environnementales parfois difficiles. Ainsi, Les biofilms sont récalcitrants aux environnements extrêmes et peuvent protéger les micro-organismes des rayons ultraviolets (UV), des températures extrêmes, des pH extrêmes, de la salinité élevée, de la haute pression, du manque de nutriments, des antibiotiques, etc., en agissant comme des "vêtements de protection" (Jin et al., 2019 ; Phillips et al., 2010).



Figure 1 : Le biofilm formé sur la paroi intérieure d'un tuyau de douche vu au microscope électronique à balayage: il se compose de mucus et de différents types de bactéries.(Photo: *Center for Microscopy and Image Analysis, Université Zurich*)

1.1 Composition

Le biofilm est constitué essentiellement de microorganismes et de la matrice que ces derniers synthétisent. Les microorganismes représentent 2 à 5 % de la matrice du biofilm selon l'espèce impliquée, ses derniers peuvent être constitués d'une seule ou de plusieurs espèces de bactéries mais aussi de champignons, d'algues et de protozoaires tandis que la matrice extracellulaire représente 50 à 90 % de la masse organique carbonée du biofilm (Lock, 1993 ; Bellifa, 2014).

La matrice des biofilms bactériens est essentiellement composée d'eau(jusqu'à 97%), de polymères polysaccharidiques sécrétés par les microorganismes, de produits de dégradation et de substances provenant du

milieu extérieur. Néanmoins, on peut également y trouver d'autres composants, tels que de l'ADN, de l'ARN, des protéines, des agents tensioactifs, des lipides, des glycolipides et des cations (Sutherland, 2001) (Tableau I). La composition de la matrice varie selon l'espèce bactérienne et les conditions de croissance (Yannick et *al.*, 2014).

Tableau I : Composition d'un biofilm bactérien (Muhsin et *al.*, 2015)

Composés	Pourcentage dans la matrice
Cellules microbiennes	2-5%
Protéines	1-2%
Polysaccharides	<1-2%
ADN /ARN	<1-2%
Eau	Supérieur à 97%

Dans les biofilms, plusieurs enzymes extracellulaires ont été détectées, la majorité étant impliquées dans la dégradation des biopolymères. Les substrats de ces enzymes sont soit des polymères solubles dans l'eau (polysaccharides, protéines et acides nucléiques), soit des substances insolubles dans l'eau (cellulose, chitine et lipides) ou soit des particules organiques emprisonnées dans le biofilm (Flemming et Wingender, 2010).

1.2 Etapes de formation d'un biofilm bactérien

Le biofilm se forme généralement en cinq étapes par un processus hautement complexe, où les cellules microbiennes passent de la forme planctonique à la forme sessile et cela de la même manière quel que soit l'environnement qu'ils colonisent (Okada et *al.*, 2005 ; Haras, 2005) (Figure

2). Sa formation est dépendante de l'expression de certains gènes spécifiques contrôlant leur formation et de l'adaptation à une multitude de conditions nutritionnelles et environnementales (Okada *et al.*, 2005 ; Rivera *et al.*, 2007).

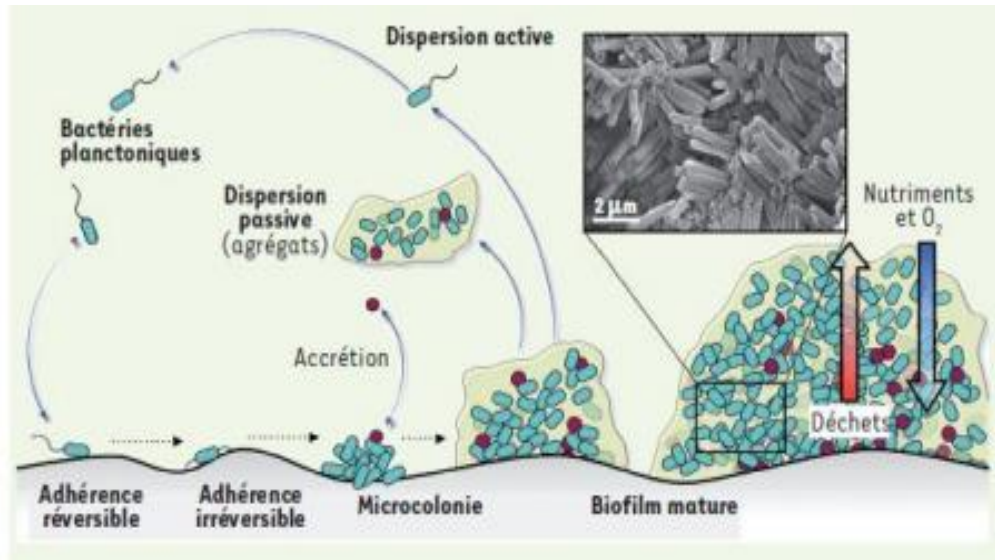


Figure 2 : Formation d'un biofilm bactérien (Lebeau et Ghigo, 2012)

3.2.1 Adhésion réversible

C'est l'étape préparatoire de la formation du biofilm et le fruit de l'interaction entre les bactéries et un substrat solide (attraction correspondante aux forces de Van der Waals, des forces de répulsion électrostatiques, forces gravitationnelles, mouvement Brownien et forces hydrodynamiques) qui font que les cellules grâce à leurs appendices (pilis, flagelles, fimbriae) s'attachent au support de façon réversible (Pecastaings, 2010; Muller et Guaguere, 2014 ; Goel *et al.*, 2021).

Dans un milieu aqueux, les molécules, organiques ou inorganiques sont émergées vers les surfaces et forment un film, qui peut être constitué de glycoprotéines, phosphoprotéines, albumines ou lipides. Ainsi, il représente une source de nutriments non négligeable pour les bactéries en favorisant leur chimiotactisme (Palmer *et al.*, 2007 ; Squinazi, 2013).

Le mouvement des cellules bactériennes devient de plus en plus ralenti à proximité de certaines surfaces ou supports, ce qui entraîne une adhésion réversible avec la surface d'une part et avec les microorganismes adhérents préalablement à la surface d'autre part. L'interface solide-liquide peut fournir un environnement idéal pour les microorganismes pour s'attacher et se développer (Muhsin et *al.*, 2015). Plusieurs paramètres parmi lesquels on peut citer les caractéristiques physico-chimiques du support (température, pH, disponibilité des nutriments...) influence sur la nature de l'attachement (El-Tarabily et *al.*, 2021) (Tableau 2).

Tableau 2. Facteurs et propriétés impliqués dans la formation des biofilms (Chalvet, 2009)

Propriétés du support	Propriétés du milieu aqueux environnant	Propriétés des cellules
Texture, rugosité, présence d'aspérités	Vitesse du flux, présence d'un flux laminaire ou non	Hydrophobicité de la surface des cellules
Hydrophobicité	pH	Présence de flagelles, fimbriae, pili, ...
Présence préalable d'un film protéique recouvrant la surface	Température	
	*Cations (Ca^{2+} , Na^{2+} , Fe^{3+} ...) *[Fer], [nutriments] *Sources de carbone disponibles *Disponibilité du milieu en oxygène	Rôle de structures polymériques
	Présence d'agents antimicrobiens	

3.2.2 Adhésion irréversible

L'adhésion est rendue stable grâce à la sécrétion d'exopolymères par les bactéries qui vont former des interactions fortes de type hydrophobe entre la cellule et la surface ou entre deux cellules permettant de consolider leur fixation au support (Van Houdt et *al.*, 2005 ; Branger et *al.*, 2007 ; Bellifa, 2014). Lorsque les gènes codant pour des protéines d'adhésion (adhésines) sont exprimés ceux qui codent pour les flagellines sont réprimés afin que les cellules deviennent immobiles et commencent donc à se multiplier en formant des petites agrégats (Geol et *al.*, 2021).

3.2.3 Formation des microcolonies

Après l'attachement définitif à la surface, les bactéries continuent de produire des EPS, vont s'agréger entre elles et se multiplient lentement en utilisant les nutriments présents dans le film ce qui conduit à la formation de microcolonies qui vont recouvrir toute ou une partie de la surface (Bellifa, 2014 ; Goetz et *al.*, 2016).

La formation des microcolonies entraîne l'expression de certains gènes liés à la formation du biofilm. Ces gènes sont primordiaux pour la synthèse des EPS qui représentent l'ossature du biofilm. L'attachement du biofilm peut activer la formation de la matrice extracellulaire suivie par la formation des canaux d'eau, pour le transport des nutriments à l'intérieur de ce dernier. Ces canaux sont considérés comme un système circulatoire, distribuant différents nutriments et faisant sortir les déchets des microcolonies du biofilm. (Parsek et Singh, 2003; Toyofuku et *al.*, 2016).

Une fois que la concentration d'individus est suffisamment dense, les microcolonies commencent à sécréter une matrice extracellulaire environnante, Ces substances jouent un rôle important dans la protection des biofilms contre les agressions extérieures (mécaniques, physiques, chimiques ou cellulaires)

ainsi que dans la fixation des cellules à la surface (Philips et *al.*, 2011 ; Mogha et *al.*, 2014 ; Tremblay et *al.*, 2014)

3.2.4 Maturation du biofilm

C'est une étape capitale dans la formation de biofilm. Elle consiste en premier lieu en la surproduction d'EPS dont le rôle est de protéger le biofilm de la dessiccation avec des canaux de transport d'eau et de nutriments ; en deuxième lieu en la communication entre cellules via le QS (*Quorum Sensing*) (Alnnasouri, 2010 ; El-Tarabily et *al.*, 2021).

Grâce à La production et la sécrétion d'enzymes, des résidus présentent dans les surfaces environnantes sont dégradés, libérant ainsi des nutriments qui favorisent la croissance du biofilm jusqu'à devenir macroscopique (Branger et *al.*, 2007 ; Jacolbsen et *al.*, 2008 ; Alnnasouri, 2010).

L'épaisseur du biofilm augmente considérablement d'autant plus que sa croissance exponentielle, jusqu'à la formation d'un film hétérogène tridimensionnel composé de trois couches de cellules. La première couche représente la structure initiale régulatrice qui couvre le support occupé par des bactéries métaboliquement peu actives en raison de l'accès difficile aux nutriments et à l'oxygène mais se trouve davantage protégées des agressions extérieures, la deuxième couche est une couche intermédiaire et la troisième constitue les cellules planctoniques qui sont en mode de division active et accèdent plus facilement aux nutriments et à l'oxygène. Le biofilm mature est caractérisé par une grande pathogénicité favorisant à augmenter sa résistance aux antibiotiques (Alnnasouri, 2010 ; Zhao et *al.*, 2017).

L'architecture complexe du biofilm s'installe avec la création de canaux aqueux et de pores entre les microcolonies, assurant ainsi l'acheminement de l'oxygène, de nutriments nécessaires à la croissance de microorganismes et l'élimination des déchets (Tenke et *al.*, 2006 ; Folkesson et *al.*, 2008).

3.2.5 Dispersion du biofilm

Ce phénomène complexe dit de dispersion représente l'étape ultime de formation des biofilms et il est induit par plusieurs actions telles que les perturbations mécaniques (force de cisaillement), synthèse et sécrétion d'enzymes de dégradation de la matrice (nucléases, glycosidases, protéases), la modification de surface des bactéries (détachement actif), l'appauvrissement en nutriments et vieillissement du support d'adhésion. Ces modifications impactent directement les bactéries, ce qui provoque l'activation de signaux intracellulaires et en dernier le décrochage d'une partie du biofilm qui se disperse dans le milieu environnant et retourne à l'état planctonique (Tremblay et *al.*, 2014 ; Aumeran et *al.*, 2020 ; Rohatgi et Gupta, 2021).

Des gènes codants pour des enzymes telles que les lysines qui sont exprimées durant ces phases permettant ainsi aux cellules de reprendre leurs formes planctoniques et de former à nouveau des biofilms (Goel et *al.*, 2021).

3.3 Régulation de la formation des biofilms

3.3.1 Les molécules du quorum sensing (QS)

La communication entre différentes espèces bactériennes pendant la formation du biofilm se produit grâce aux mécanismes du *quorum sensing* (QS). Le QS est un système qui permet la coordination de l'expression des gènes entre les cellules en fonction de la densité de leur population locale. Lors du QS, des molécules de signalisation spécifiques se lient aux récepteurs bactériens, ce qui entraîne des changements dans l'expression des gènes des cellules réceptrices. Ce phénomène est observé non seulement chez les bactéries d'une même espèce (mono-espèces), mais également entre différentes espèces bactériennes (hétéro-espèces) (Miller et Bassler, 2001 ; Naves et *al.*, 2010; Gad, 2018)

Le *quorum sensing* (QS) repose sur la production et la détection de petites molécules médiatrices appelées auto-inducteurs (AI) ou signaux de quorum. Ces AI sont produits par les bactéries pendant leur croissance. Lorsque la concentration d'AI atteint un seuil critique dans l'environnement, ils pénètrent dans les cellules bactériennes et interagissent avec des régulateurs transcriptionnels spécifiques, ce qui entraîne l'activation de l'expression de gènes spécifiques. Chez les bactéries à Gram négatif, les AI sont généralement des homosérine lactones, tandis que chez les bactéries à Gram positif, ce sont des oligopeptides ou phéromones. Ces signaux de quorum permettent aux bactéries de communiquer et de coordonner leur comportement en réponse à la densité de la population locale (Waters et Bassler ;2005 ; Roux et Ghigo, 2006 ; Czajkowski et Jafra, 2009)

3.3.2 Le quorum sensing chez les bactéries à Gram négatif

Chez les bactéries à Gram négatif, le mécanisme du QS implique la production des acylhomosérine lactones (AHL) par une AHL-synthase telle que LuxI. À faible densité, les AHL sont progressivement transportées vers le cytoplasme, tandis qu'à forte concentration, le transport se fait par diffusion passive. Lorsque la concentration d'AHL atteint un seuil, elles interagissent avec une protéine régulatrice telle que LuxR, formant un complexe R-AHL. Ce complexe se lie au promoteur des gènes cibles et active leur transcription, ce qui permet une réponse coordonnée en fonction de la densité bactérienne (Fuqua et *al.*, 1994).

3.3.3 Le quorum sensing chez les bactéries Gram-positifs

Chez les bactéries à Gram positif, les « *Auto-Inducing Peptides* » AIP sont des oligopeptides modifiés qui provoquent des signaux de communication pour le quorum sensing. L'accumulation des AIP dans le milieu déclenche une zone d'auto-induction. Les AIP interagissent avec un récepteur membranaire portant une histidine kinase, ce qui active une cascade de phosphorylation conduisant à

la formation d'une protéine régulatrice. Cette protéine régulatrice active contrôle la transcription des gènes cibles en se fixant sur l'ADN, permettant ainsi une réponse coordonnée en fonction de la concentration des AIP et de la densité bactérienne (Kleerebezem et *al.*, 1997 ; Miller et Bassler, 2001 ; Waters et Bassler, 2005 ; Irie et Parsek, 2008).

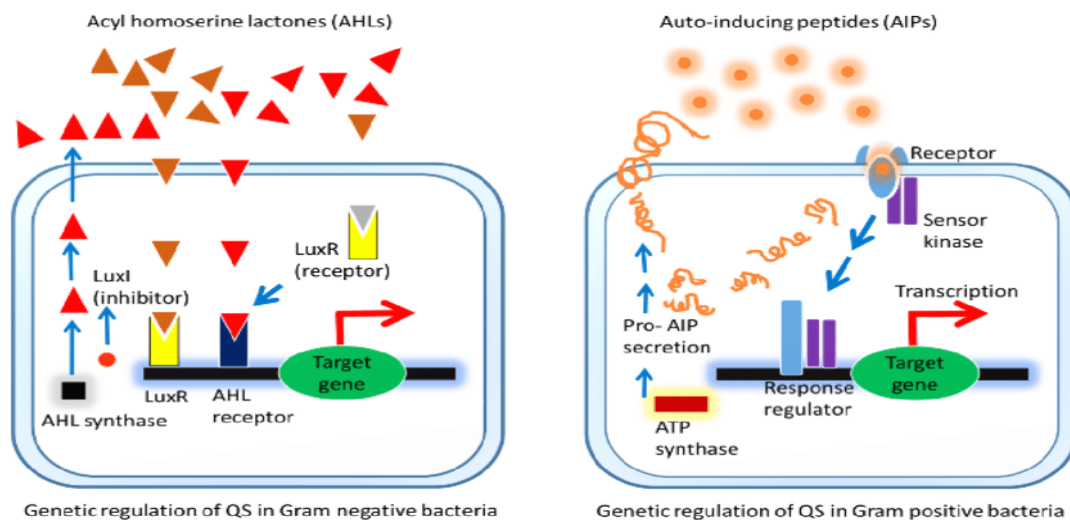


Figure 3 : Différents mécanismes de LAH et AIP signal (Shpakov, 2009 ; Konstantinidis et *al.*, 2012).

3.3.4 Rôle du *quorum sensing*

Les différentes fonctions du *quorum sensing* dans la formation du biofilm sont les suivantes :

- Régulation de la physiologie du biofilm en prenant en compte les conditions environnementales ;
- Détermination de l'épaisseur du biofilm ;
- Initiation des phénomènes de dispersion et d'essaimage de bactéries planctoniques à partir du biofilm;

- Augmentation du nombre de cellules d'une espèce donnée qui peut induire une modification métabolique ou physiologique de cette population, telle que la motilité ;
- Virulence (production de protéases, de toxines, etc.);
- Lutte contre l'attaque par d'autres microorganismes vivants, comme les protozoaires (Queck, 2006 ; Clutterbuck, 2007 ; Irie et Parsek, 2008).

3.3.5 *Quorum quenching* (QQ)

Le phénomène de *quorum quenching* (QQ) est un processus enzymatique qui vise à dégrader les molécules de signalisation du système de détection du *quorum*. Son objectif est d'éviter l'accumulation excessive de ces molécules dans l'environnement et d'inhiber les modifications de l'expression génétique induites par le *quorum sensing*. Les enzymes impliquées dans le *quorum quenching* sont capables d'inhiber la production des auto-inducteurs, de prévenir ainsi la production de facteurs de virulence dans les biofilms formés par des bactéries résistantes aux médicaments.

L'extinction du *quorum* est considérée comme une approche prometteuse pour la prévention et le traitement des infections bactériennes. Il pourrait constituer une alternative aux remèdes traditionnelles, en ciblant les mécanismes de communication bactérienne plutôt que de tuer directement les bactéries.

Il convient de noter que l'extinction du *quorum* est un domaine de recherche actif et en évolution et de nouvelles découvertes sont régulièrement publiées. (Mion et *al.*, 2019 ; Paluch et *al.*, 2020).

Le mécanisme d'action du QQ peut varier en fonction de la stratégie utilisée pour inhiber le QS chez les bactéries. Voici quelques exemples de mécanismes d'action du QQ :

- **Dégradation enzymatique :** Certains micro-organismes produisent des enzymes telles que les lactonases, les acylases ou les oxydoréductases qui dégradent les molécules de signalisation du QS, telles que les acylhomosérine lactones (AHL). Cela empêche la reconnaissance des signaux par les récepteurs bactériens et inhibe la communication cellulaire (Donget Zhang, 2005) ;
- **Blocage des récepteurs :** Certains composés peuvent bloquer les récepteurs des molécules de signalisation du QS, empêchant ainsi leur liaison et perturbant la communication cellulaire (Defoird et *al.*, 2004) ;
- **Interférence avec les voies de signalisation en aval :** Certains composés peuvent interférer avec les voies de signalisation en aval du QS, perturbant ainsi la régulation transcriptionnelle des gènes cibles et inhibant la formation du biofilm ou la production de facteurs de virulence (Rasmussen et Givskov, 2006).

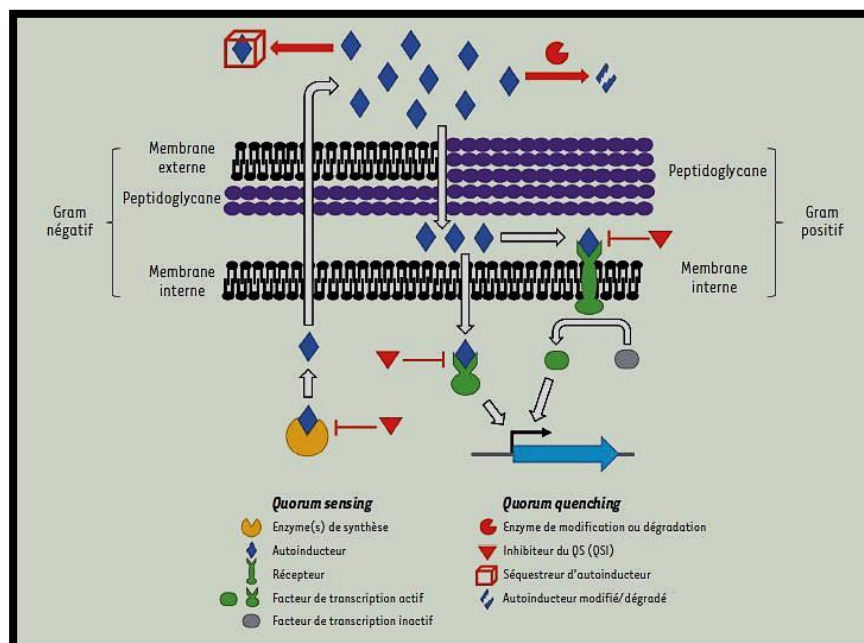


Figure 4 : Schéma récapitulatif des mécanismes du QS bactérien et des différentes stratégies du QQ (Mion et *al.*, 2019).

3.4 Impacts négatifs des biofilms

3.4.1 Dans l'environnement et le domaine industriel

Les biofilms qui se forment sur les surfaces du matériel de production, tels que les tuyaux, les réservoirs et les conduites, peuvent causer des dommages aux équipements. Les biofilms peuvent provoquer des obstructions, réduire l'efficacité des équipements et entraîner des coûts supplémentaires liés à la maintenance et au remplacement des pièces endommagées. De plus, la présence de biofilms représente un risque de contamination des aliments traités par ces équipements(Boor et *al.*,2010).

Les biofilms peuvent se former dans les réseaux d'alimentation en eau potable et les systèmes de climatisation. La présence de biofilms dans les canalisations peut entraîner plusieurs problèmes, notamment la dégradation de la qualité organoleptique et microbiologique de l'eau. Les biofilms peuvent abriter des bactéries pathogènes et favoriser leur croissance, ce qui peut représenter un risque pour la santé publique.Les biofilms peuvent également provoquer des obstructions dans les canalisations, réduire le débit d'eau et entraîner une augmentation de la consommation d'énergie. De plus, ils peuvent être responsables de la corrosion des surfaces métalliques des canalisations, ce qui peut conduire à des fuites et à des problèmes de maintenance(Flemming et Wingender, 2010).

Dans l'industrie pétrolière, par exemple, la colonisation des systèmes d'injection d'eau par des biofilms peut entraîner une acidification du pétrole, ce qui rend le produit final inutilisable. Cela peut entraîner des pertes économiques importantes en termes de production et de qualité du pétrole extrait.

Le phénomène de biofouling, qui correspond à la formation de biofilms sur les coques des navires, est également une préoccupation majeure. Les biofilms marins peuvent s'accumuler sur les coques et les structures immergées des navires, ce qui entraîne une augmentation de la résistance hydrodynamique.

Cela se traduit par une augmentation des forces de frottement, une diminution de la vitesse des bateaux et des coûts énergétiques plus élevés pour le fonctionnement des navires. De plus, le biofouling peut également endommager les peintures et les revêtements de protection des navires (Dobretsov et *al.*, 2009 ; Flemming et Wingender, 2010).

3.4.2 Les biofilms dans le domaine médical

Les biofilms jouent un rôle majeur dans les infections humaines, en particulier celles associées à l'utilisation de dispositifs médicaux. De plus, 75 % des infections chez l'homme sont liées à la présence de micro-organismes sous forme de biofilms à la surface des tissus ou des dispositifs médicaux.

Les infections associées aux biofilms peuvent être spécifiques à certains tissus, telles que les ostéo-infections et les otites, ou liées aux soins, résultant de l'utilisation de dispositifs invasifs tels que les sondes urinaires, les sondes trachéales et les cathéters. Les biofilms se forment à la surface de ces dispositifs médicaux, offrant un environnement propice à la croissance des bactéries (Donlan et Costerton, 2002 ; Aumeran et *al.*, 2020).

La formation de biofilm est un défi majeur dans le traitement des infections associées aux implants osseux, entraînant une tolérance au système immunitaire et aux antibiotiques (Bailong et *al.*, 2019).

La gestion efficace des maladies infectieuses buccales liées au biofilm est un défi mondial. Le biofilm oral présente une résistance accrue aux agents antimicrobiens et une virulence élevée par rapport aux bactéries planctoniques (Xin et *al.*, 2018). Les endoscopes souples sont des appareils complexes non autoclavables qui doivent subir une désinfection de haut niveau. La présence de souillures et de biofilms peut être à l'origine d'infection et favoriser la diffusion de résistances aux antibiotiques (Branchu et *al.*, 2022).

4. Utilisation de biomolécules actives dans la lutte contre les biofilms

Les biofilms représentent des défis considérables en terme de traitement en raison de leur résistance et de leur capacité à protéger les micro-organismes des attaques du système immunitaire et des agents antimicrobiens. En raison de cette résistance, les concentrations d'antibiotiques nécessaires pour éliminer les micro-organismes présents dans les biofilms sont souvent beaucoup plus élevées que celles nécessaires pour les bactéries planctoniques. Les concentrations minimales inhibitrices (MIC) et les concentrations minimales bactéricides (MBC) peuvent donc être augmentées, ce qui rend leur efficacité limitée dans le traitement des infections liées aux biofilms. De plus, les biofilms peuvent abriter des sous-populations de bactéries persistantes, qui sont des cellules dormantes ou à faible activité métabolique, ce qui rend leur éradication encore plus difficile (Flemming et *al.*, 2016 ; Gianfranco et *al.*, 2018).

En effet, la recherche de nouvelles substances ayant des effets antimicrobiens devient une nécessité majeure. Pour cela, la phytothérapie constitue une solution intéressante, plusieurs plantes médicinales sont utilisées dans ce but (Kahlouche-Riachi, 2014).

La phytothérapie offre une approche prometteuse pour la recherche de substances antimicrobiennes. De nombreuses plantes médicinales ont été utilisées traditionnellement pour leurs propriétés antimicrobiennes et peuvent constituer une source potentielle de composés actifs contre les biofilms bactériens. Certaines plantes présentent des activités antimicrobiennes directes en inhibant la croissance des micro-organismes, tandis que d'autres ont des propriétés anti-biofilm, ciblant la formation et la matrice des biofilms. Les composés actifs présents dans les plantes peuvent agir de différentes manières, tels que l'inhibition de l'adhésion bactérienne, la perturbation de la communication cellulaire, l'altération de la production de la matrice extracellulaire, ou encore la destruction des cellules

bactériennes. Cependant, il est important de noter que la recherche sur l'efficacité des plantes médicinales contre les biofilms est encore en cours et nécessite des études approfondies pour déterminer les mécanismes d'action spécifiques et évaluer leur efficacité dans des contextes cliniques. (Scognamiglio, 2012; De Martinoal.,2013) (Tableau 3).

Tableau 3.Activité antibiofilm de quelques plantes étudiées (Mansour et Pinavaz, 2006; Ignacimuthu, 2008; Dawes, 2014; Gao, 2014; Somboonwatthanakul, 2013 ; Ghabbour, 2015; Mishra, 2017)

Plante	Effet sur le biofilm	Souche bactérienne cible
<i>Aloe vera</i>	Réduction	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Curcuma longa</i>	Réduction	<i>Candida albicans</i>
<i>Thymus vulgaris</i>	Réduction	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Salvia officinalis</i>	Inhibition	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Camellia sinensis</i>	Inhibition	<i>Escherichia coli</i>
<i>Allium sativum</i>	Réduction	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Citrus limon</i>	Inhibition	<i>Candida tropicalis</i>

Veillez noter que ces exemples sont basés sur des études spécifiques et que l'activité antibiofilm peut varier en fonction de la souche bactérienne ou fongique utilisée, des conditions expérimentales et des extraits de plantes testés.

Chapitre II *Globulariaalypum*

1. L'aspect botanique et systématique

La plante *Globularia alypum* appelée aussi la globulaire est une plante appartenant à la famille des Globulariaceae qui comprend deux genres dont *Globularia* et *Poskea* et environ trente espèces répandues en Europe et en Afrique du nord. Son nom *Globularia* fait référence à la forme globuleuse de l'inflorescence et le terme *alypum* vient du grec *alypon* qui signifie calmer la douleur. *Globularia alypum* appelée communément Tasselgha; «Chebra», «Chelr'a», «Zerga», «zeriga», «zouitna», «alk», « haselra », «oulbarda». Au Maroc elle est appelée Einlarneb (Boussoualim, 2014).

2. Classification botanique

La classification de *Globularia alypum* est décrite par Bock (2013).

- **Règne** : Végétal.
- **Ebranchement** : Angiospermes.
- **Classe** : Dicotylédone.
- **Sous Classe** : Astérides.
- **Ordre** : Lamiales.
- **Famille** : Globulariaceae.
- **Genre** : *Globularia*.
- **Espèce** : *Globularia alypum* L.



Figure 5 : Photographie de l'aspect morphologique de *Globularia alypum*

Les plantes du genre *Globularia* sont vivaces, arbustes rameux d'environ 60 cm de hauteur (30-60cm), à feuilles alternes, dont les fleurs groupées en capitules plus ou moins globuleux entourées de bractées. Les fleurs ont une corolle à deux lèvres, la supérieure bilobée souvent atrophiée, l'inférieure trilobée. Elles sont en général bleues, à quatre étamines (Leporatti et Ghedira, 2009). Les fleurs réunies en capitules denses à bractées ciliées, atteignant près de 2 cm de diamètre et disposées le long et au sommet des tiges, elles sont d'un bleu clair réunies en capitule globuleux solitaire et situé à l'extrémité des rameaux (Quezel et Santa, 1962).

3. Distribution géographique

Cette plante originaire de sud de l'Europe sur le pourtour méditerranéen jusqu'en Grèce, Afrique du nord (Algérie, Maroc jusqu'au Sahara) et Asie mineure (Egypte, Arabie) En forêts, dans les terrains rocailleux, est à la fois une espèce à comportement héliophile et thermophile (Rameau et *al.*, 2008). La

répartition mondiale de cette plante est représentée dans la Figure 6. (<https://www.gbif.org/species/7703240>).

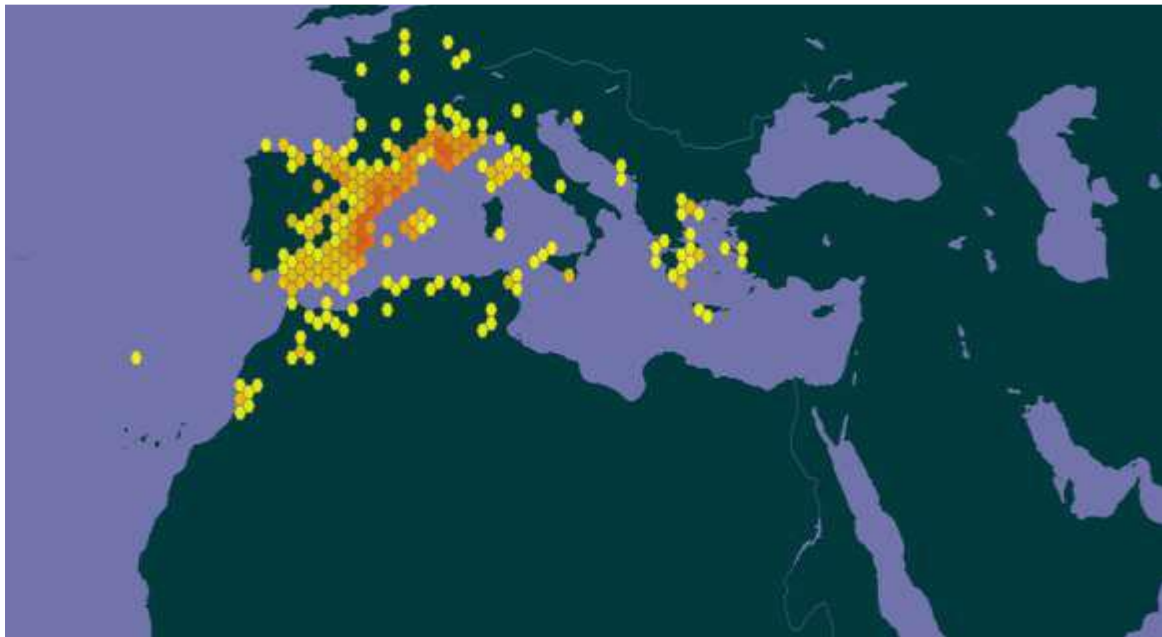


Figure 6 :Répartition mondiale de la plante *Globularia alypum* L.

4. Usages traditionnels et activités biologiques

Depuis des millénaires, les plantes de genre *Globularia* sont utilisées en médecine traditionnelle Turque, pour leurs effets laxatifs et diurétiques. Au nord de l'Afrique, Tasselgha est utilisée pour calmer et pour traiter les douleurs rhumatismales (Boutiti, 2007). De plus, ses feuilles sont souvent utilisées traditionnellement dans le traitement des maladies rénales et cardiovasculaires, de la goutte, de la typhoïde et de la fièvre Intermittente (Fehri et *al.*, 2010).

En Algérie, selon une enquête faite dans huit (08) wilayas (Alger, Blida, Tipaza, Ain Defla, Chlef, Mostaganem, Relizane et Tissemsilt), cette plante est employée en médecine populaire pour ses vertus médicinales (diabète, maladies de la peau, chute et anti frisage des Cheveux...) (Amri, 2018).

Chapitre II : *Globularia alypum*

La perfusion de *G. alypum* ne présente aucun effet toxique. Ainsi, elle peut causer une Hypoglycémie significative chez les rats par voie orale et intra péritonéale (Skim et al., 1999). Les feuilles de *G. alypum* pourraient être utilisées comme une source potentielle d'antioxydants naturels (Ben Mansour et al., 2012).

5. Travaux antérieurs

Tableau 4. Travaux antérieurs consacrés à l'étude de la plante *Globularia alypum* L.

Activité étudiées	Molécules bioactives isolées ou extraits	Références
Antioxydant	<i>6-hydroxyluteolin 7-O-laminaribioside.</i> <i>eriodictyol 7-O-sophoroside</i> <i>6'-coumaroyl-1'-O-[2-(3,4-dihydroxyphenyl)ethyl]-β-D-glucopyranoside.</i> <i>acteoside, isoacteoside et forsythiaside</i> <i>6-hydroxyluteolin 7-O-β-D-glucopyranoside.</i> <i>Luteolin 7-O-sophoroside</i>	Es-Safi et al., 2012
Antioxydant	Extraits hydro-alcoolique	Ben Mansour et al., 2012. Khelifi et al., 2005. Touaibia et al., 2016
Antidiabétique <i>in vivo</i>	<i>Globularine</i>	Zerriouh Meriem., 2008
Antibactériennes	Extraits hydro-alcoolique	Taghzouti et al., 2016 Krimat et al., 2014
Inhibition	Extrait brut	Boussoualim Naouel et

Chapitre II : *Globularia alypum*

enzymatique de la xanthine oxydase		<i>al.</i> , 2016
Anti-inflammatoire,	Extraits aqueux	Kada Seoussen., 2018
Inhibition enzymatique des β-lactamases	Extraits methanoliques	Kada Seoussen., 2018
Antigénotoxiques	Extraits hydroalcooliques	Harzallah <i>et al.</i> , 2010

6. Etude chimique antérieure

Globularia alypum L. est chimiquement riche en composés phénoliques, les études réalisées sur cette plante sont résumées dans **le tableau 5**.

Tableau 5. Etudes antérieures sur l'espèce *Globularia alypum* (Rahmouni, 2017)

Origine géographique	Parties étudiées	Les produits isolés de la plante	Références
Espagne	/	- Acide cinnamique -acide pyrocatechuique	(Sanchez, 1933)
France	Feuilles	- Globularine -acide cinnamique -catalpol -acide caffeique -rutine -acide ferulique -luteoline -7-glucoside -acide p-coumarique - Acide chlorogenique	(Bernardet <i>al.</i> , 1974)

Chapitre II : *Globularia alypum*

Suisse	Plante entière	-Globularimine -globularine - globularinine -catalpol - globularidine -liriodendrine - globularicisine –syringine	(Chaudhuri <i>et al.</i> , 1974 ; Chaudhuri, 1981)
Tunisie	Plante entière	-4',7-dihydroxyflavone - apigenine-7-gucoside - quercetol luteoline-7- glucoside 8-C-glucosyl-4',7- dihydroxyflavone rutoside cyanidine peonidine acide vanillique acide syringique acide caffeique acide sinapique acide p-coumarique acide ferulique acide b- resorcylique	(Benhassine <i>et al.</i> , 1982)
France	Feuilles	Globularine	(Louis <i>et al.</i> , 1999)
Maroc		6-hydroxyluteolin 7-O- laminaribioside eriodictyol 7-O-sophoroside 6'-O-coumaroyl-1'-O-[2-(3,4- dihydroxyphenyl) ethyl]- β - Dglucopyranoside acteoside isoacteoside forsythiaside	(ES-Safi <i>et al.</i> , 2006 ; ES-Safi <i>et al.</i> ,2007)

		6-hydroxyluteolin 7-O- β -D-glucopyranoside luteolin 7-O-sophoroside syringin	
Maroc		Globularin Globularicisin Globularidin Golbularinin Globularimin Globularioside	(ES-Safi et <i>al.</i> , 2006 ; ES-Safi et <i>al.</i> , 2007)
Algérie	Plante entière	Apigenin Luteolin Acidep-coumarique acide coumarique	(Boutiti et <i>al.</i> , 2008)

7. La composition chimique

La littérature mentionne l'isolement et la caractérisation de plusieurs composés responsables de ces différentes activités thérapeutiques. Plusieurs métabolites secondaires ont été mis en évidence ; des flavonoïdes, des polyphénols, des tannins, des iridiodes, des anthocyanines (Khlifi et *al.*, 2011).

7.1 Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ces composés sont présents dans toutes les parties des

plantes comme les fruits, les légumes et les produits naturels végétaux. Ce sont des dérivés non azotés possédant dans leur structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupes hydroxyles (-OH) libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, ester, hétéroside, etc.) (Bennetau-Pelissero, 2014).

Classe des polyphénols

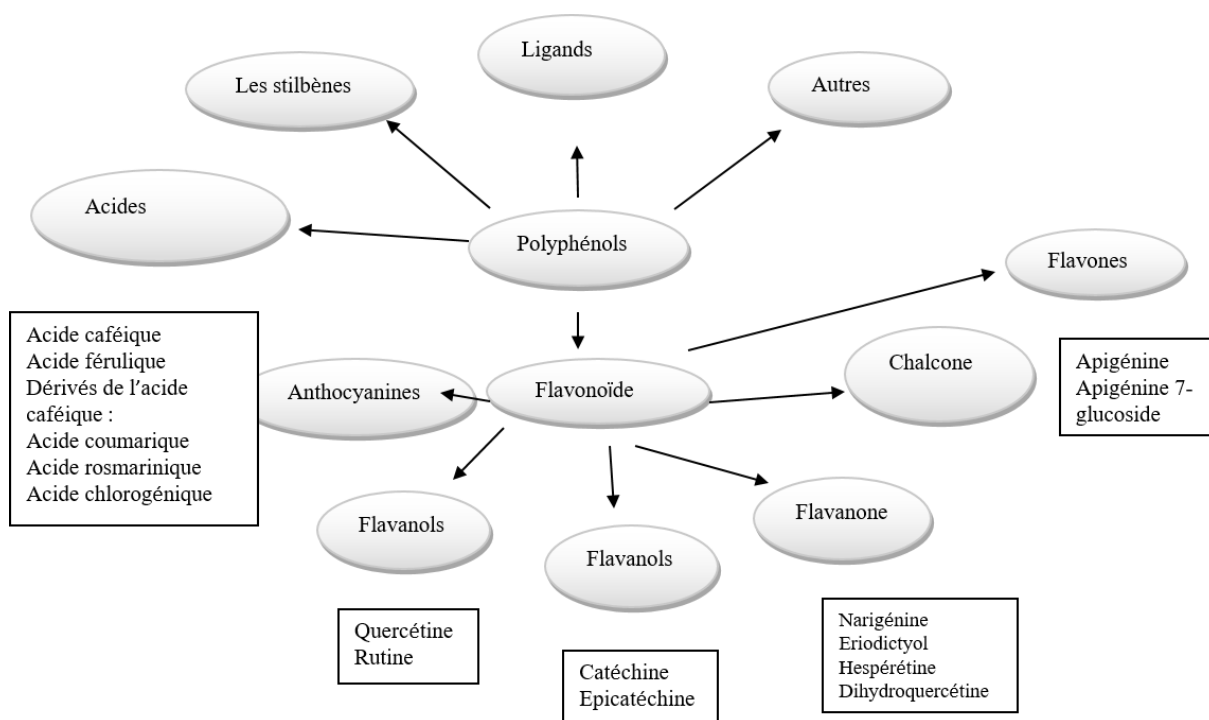


Figure 7. Classification des polyphénols (Boros et al,2010).

Les composés phénoliques montrent des activités anti carcinogènes antioxydants, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti thrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antiviraux (Bruneton,1999), anti allergènes, vasodilatateurs (Guillouty,2016).

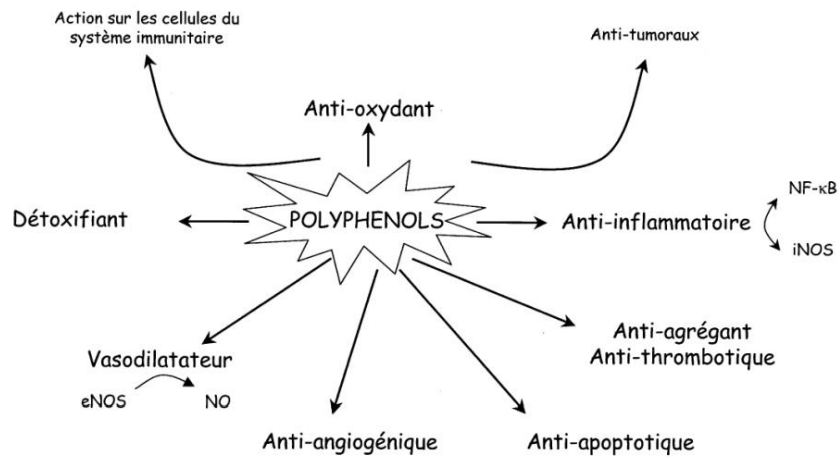


Figure 8 : Effets biologique des polyphénols (Martin et Andriantsitohaina, 2002)

7.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles, ils constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels du règne végétal (Ghedira, 2005), qui sont caractérisés par la présence d'une structure phénolique dans leurs molécules, et même d'une structure flavone ce qui les distingue des autres polyphénols (Toufektsian et *al.*, 2008) (Figure 9).

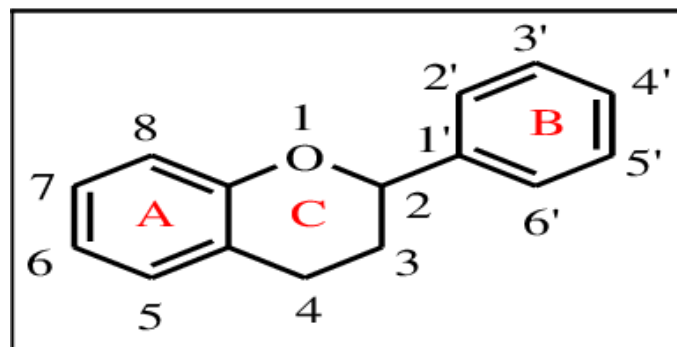


Figure 9. Squelette de base des flavonoïdes

Chapitre II : *Globularia alypum*

Les flavonoïdes sont largement connus par leurs activités antimicrobienne (Ulanowska et *al.*, 2006), antifongique (Ortuno et *al.*,2006) et anti-inflammatoire (Park et *al.*,2008).

Tableau 6 : Les principales classes des flavonoïdes (Heim et *al.*,2002)

Flavonoïdes	Exemple	aliments
Flavonols	Quercétine Kamphérol	Fruits Légumes Fleurs
Anthocyanes	Cyanidine Pélagonidine	Fleurs Fruits rouge
Flavanols	Catéchine Epicatéchine	Pomme Raisin
Flavanones	Narigénine	Citrus
Isoflavonols	Daidzéine	Soja

7.3 Les tanins

Les tanins sont des substances polyphénoliques de structure variée, de saveur astringente, ayant en commun la propriété de tanner la peau, c'est-à-dire de la rendre imputrescible. Très répandus dans le règne végétal, sont particulièrement abondants chez les conifères et sont trouvés dans toute les parties de la plante: l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines (Scalbert, 1991).

On distingue deux groupes de tanins différents par leurs structures et par leurs origines biogénétiques, les taninshydrolysables et les tanins condensés (Roux et Catier, 2007).

Selon la nature des assemblages moléculaires, les tannins sont classés en deux groupes :

- **Les tanins hydrolysables**

Ce sont des oligo ou des polyesters d'un sucre et d'un nombre variable d'acide phénol. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'acide gallique dans le cas des gallos tanins soit l'acide éllagique dans le cas des tanins classiquement dénommés ellagitannins (Bruneton, 2009).

- **Les tanins condensés**

Ils se différencient fondamentalement des tannins hydrolysables car ils ne possèdent pas de sucre dans leur molécule et leur structure est voisine de celle des flavonoïdes. Il s'agit des polymères flavaniques constitués d'unités de flavan-3-ols liées entre elles par des liaisons carbone-carbone (Bruneton, 2009). On les trouve assez souvent chez les plantes vasculaires (les dicotylédones, les gymnospermes et les fougères) (Ghinimi, 2015).

8 Activités biologiques de *Globularia alypum*

Des études confirment que les espèces du genre *Globularia* présentent plusieurs activités biologiques comme l'activité : antimicrobienne, antioxydante, cytotoxique, cytostatique et anti-inflammatoires (Calis, 2001).

8.1 Activité Antioxydante

La formation naturelle des radicaux libres par voie biochimique ou / et photochimique, peut provoquer une oxydation de certaines biomolécules : peroxydation des lipides membranaire, dégradation de l'ADN et autres. Les

Chapitre II : *Globularia alypum*

radicaux libres sont des molécules très instables car ils possèdent un électron non apparié.

La combinaison de plusieurs tests antioxydants complémentaires est utile afin d'évaluer le potentiel antioxydant des extraits (Ksouri et *al.*, 2008). Les extraits de *G. alypum* semblent contenir des composés avec des propriétés de protection antioxydants. Malgré ça, Nous avons besoin d'études complémentaires pour fractionner les extraits actifs, identifier les composés actifs et identifier leur mécanisme d'action exact (Harzallah et *al.*, 2010)

8.2 Activité anti radicalaire

L'activité antiradicalaire est très importante du au rôle délétère des radicaux libres dans le domaine alimentaire et dans les systèmes biologiques. La méthode du radical de DPPH, utilisée dans la présente étude, est une procédure commune dans laquelle l'activité antioxydant de l'échantillon étudié est estimée par le degré de décoloration de la solution de DPPH (Gulçin et *al.*, 2010).

8.3 Activité antibactérienne des extraits de *Globularia alypum*

Après l'ajout de la solution hydro alcoolique à base d'extrait de *Globularia alypum*, les bactéries prélevées des mains sont éliminées. Cela est peut être expliqué par la forte teneur en acides phénoliques, les flavonoïdes et tanins qui possèdent une activité antibactérienne importante dans les extraits des feuilles de *Globularia alypum* (Mehenni et *al.*, 2017).

L'espèce *Globularia alypum* présente une bonne activité antibactérienne. Les substances chimiques impliquant cette activité sont : (6-hydroxyluteolin 7-O-laminaribioside, eriodictyol 7-O sophoroside, et 6'-O-coumaroyl-1'-O-[2-(3,4-dihydroxyphenyl) ethyl]- β -Dglucopyranoside) et les glycosides de phénylétanoïde (acteoside, isoacteoside et forsythiaside) (khalifi et *al.*, 2016).

L'huile essentielle contenue dans l'espèce *G. alypum* présente une activité antibactérienne, elle est caractérisée par un taux élevé d'acide hexadécanoïque (acide palmitique) et d'autres composés importants tels que l'isomère de phytol (Z,Z) - 6,9-cis-3,4-époxy-nonadécadiène; 1,2 Benzèneacide-BRI dicarboxylique; L-linalol et le heptadécane (Ramdani et al., 2014).

8.4 Activité anti-tuberculose des extraits de *Globularia alypum*

Des extraits de *Globularia alypum* ont été étudiés pour leur composition chimique, cette plante a une activité d'anti-tuberculose. Ces études ont montré que l'activité anti-tuberculose est due à la richesse de cette espèce en polyphénols (acide galique), les tannins (catechine), les anthocyanes (cyanidine), et les flavonoïdes (quercétine) (Khlifi et al., 2011).

8.5 Activité anti inflammatoire

Il a été rapporté que les composés phénoliques sont bénéfiques dans le traitement des maladies inflammatoires chroniques associées à la surproduction d'oxyde nitrique (NO). Dans le processus d'inflammation, le NO est produit à partir de la L-arginine par la NO synthase inducible (iNOS). Le peroxyde d'azote, formé par la réaction rapide entre le superoxyde et le NO, est une substance toxique qui contribue aux lésions tissulaires dans les maladies inflammatoires. L'inhibition de la production de NO entraîne une activité anti-inflammatoire et a été étudiée *in vitro* en analysant l'effet de l'extrait de *Globularia alypum* sur les médiateurs chimiques libérés par les macrophages. Une fois activés par un stimulus pro-inflammatoire, les macrophages produisent un grand nombre de molécules cytotoxiques. Le traitement des macrophages RAW 264.7 avec de l'IFN- γ / LPS pendant 24h induit une production de NO, telle qu'évaluée en mesurant l'accumulation de nitrite, un métabolite stable du NO. Le NO, un médiateur dérivé des macrophages, est considéré comme jouant un rôle clé dans la réponse inflammatoire, sur la base de

Chapitre II : *Globularia alypum*

son apparition au stade inflammatoire et de sa capacité à induire de nombreuses caractéristiques de la réponse inflammatoire (Khelifi et *al.*, 2013).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes

Le présent travail a été réalisé au laboratoire de recherche de Biochimie analytique et biotechnologie la faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques, Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.

Le travail expérimental est subdivisé en deux étapes :

- Extraction de biomolécules à partir des feuilles de *Globularia alypum* ;
- Détermination de l'activité antibactérienne et antibiofilm du produit à tester.

1.1 Matériel biologique

1.1.1 Matériel végétal

Les feuilles de *Globularia alypum* L. ont été récoltées durant la période du mois d'avril 2023 dans la wilaya de Batna dans un endroit loin de toute pollution.



Figure 10. Situation géographique et limites administrative de la zone d'échantillonnage (wilaya Batna)

Matériel et méthodes

Les feuilles récoltées ont été séchées au laboratoire à température ambiante et à l'air libre. Les feuilles ont été broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine, cette dernière a été tamisée à travers un tamis. La poudre obtenue a été conservée dans des flacons en verre fermés et stockés à l'abri de la lumière.

1.1.2 Souches bactériennes utilisées

Deux souches de références ont été utilisées: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 *Escherichia coli* ATCC 25922

1.2 Matériel du laboratoire

Le tableau représente l'ensemble du matériel utilisé, les photographiques sont donnés en annexe(3).

Tableau 7. Tableau récapitulatifs des appareils, verrerie et petit matériel utilisés.

Appareillage	Verrerie	Autres matériel
Lyophilisateur	Erlenmeyer	Papier de Wattman
Spectrophotomètre	Tubes à essais	Filtre
Centrifugeuse	Flacons en verre	Pipettes
Agitateur magnétique	Bécher	Boîtes Pétri
Balance de précision	Eprouvette graduée	Pinces
Réfrigérateur		Ecouvillons
Bec Bunsen		Les disques vierges
		Spatule
		Portoirs

Matériel et méthodes

Le tableau 8 représente les milieux de culture utilisés dans la partie expérimentale.

Tableau 8 : Milieux de culture utilisés.

Milieu de culture	Utilisation
Gélose nutritive (GN)	Conservation des souches
Gélose Rouge Congo	Etude des biofilms
Milieu Muller-Hinton (MH)	Antibiogramme

2. Méthode d'extraction

Une quantité de 10g de feuilles en poudre sont macérés sous agitation à température ambiante dans 100ml d'eau distillée pendant 24 h. Le macérât est filtré une première fois sur une passoire afin d'éliminer le maximum de matière végétale puis une deuxième fois sur laine de verre jusqu'à obtenir un liquide homogène. Le filtrat obtenu est congelé pendant 24h à -80°C en fine couche à raison de 20ml dans des cristallisoirs de 15cm de diamètre, puis disposé dans un lyophilisateur christ alpha-2. Une fois le lyophilisat collecté, celui-ci est reparti dans des flacons en verre teinté, hermétiquement scellés et conservé au réfrigérateur à 4°C.

3. Détermination du rendement d'extraction

Le rendement d'une extraction est le rapport entre le poids de l'extrait sec et le poids de la plante en poudre utilisée. Il est exprimé en pourcentage selon la formule suivante :

$$R (\%) = (PS / PP) \times 100\%$$

Où :

PS : poids de l'extrait sec en gramme (g)

PP : poids de la poudre en gramme (g)

4. Evaluation de l'activité antibactérienne

4.1 Préparation de l'extrait

Deux concentrations ont été utilisées pour l'évaluation des activités antibactériennes, la première est préparée en solubilisant 100mg de l'extrait sec lyophilisé dans 500µl d'eau distillée. Après agitation, pendant une minute à température ambiante, le mélange est centrifugé à 3000 tours par minute pendant cinq minutes. La deuxième concentration constitue une dilution à ½ de la précédente.

4.2 Préparation de l'inoculum

Une suspension pour chaque souche bactérienne est préparée. Les bactéries ont été revivifiées dans un bouillon nutritif à 37°C pendant 24 heures puisensemencées en stries sur une boîte de Pétri contenant de la gélose nutritive (GN) pour leur croissance pendant 18heures à 37°C. Ensuite, une colonie est prélevée de chaque culture pour préparer une suspension bactérienne dans de l'eau physiologique stérile. Après agitation, l'inoculum est ajusté à une turbidité standard de 0,5 Mc-Farland qui correspond à une densité optique de 0,08-0,1 pour atteindre une concentration de $10^7 - 10^8$ UFC/ml. Si la DO est faible, l'inoculum va être chargé en ajoutant plus de colonies, si la DO dépasse la limite supérieure, la charge sera diminuée par l'ajout de l'eau physiologique (Khribch et *al.*, 2018).

Méthode de diffusion sur gélose à partir de disques

La méthode de diffusion en milieu gélosé encore appelée méthode des disques consiste à estimer l'inhibition de la croissance des micro-organismes soumis au contact du produit. L'effet du produit antimicrobien est apprécié par la mesure du diamètre d'une zone d'inhibition, et en fonction de ce diamètre la souche du microorganisme sera qualifiée de sensible ou de résistante (Selka et *al.*, 2016). Cette technique est réalisée selon le protocole adapté de Chaouche et *al.*,(2016).

L'ensemencement des boîtes contenant le milieu Muller-Hinton se fait par écouvillonnage de l'inoculum sur la gélose grâce à des stries serrées. Ensuite, des disques stériles en papier-filtre wattman de 6 mm de diamètre imprégnés par 10µl des extraits à tester sont déposés sur la gélose préalablement ensemencée. Un disque imprégné d'eau distillée stérile servant de contrôle négatif et un autre disque d'antibiotique (gentamycine) utilisés comme contrôle positif sont également déposés sur la gélose ensemencée.

Les boîtes de Pétri sont placées à +4°C pendant 2 h. Après diffusion de l'agent antimicrobien, les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures. Les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés, y compris le diamètre des disques.

Matériel et méthodes

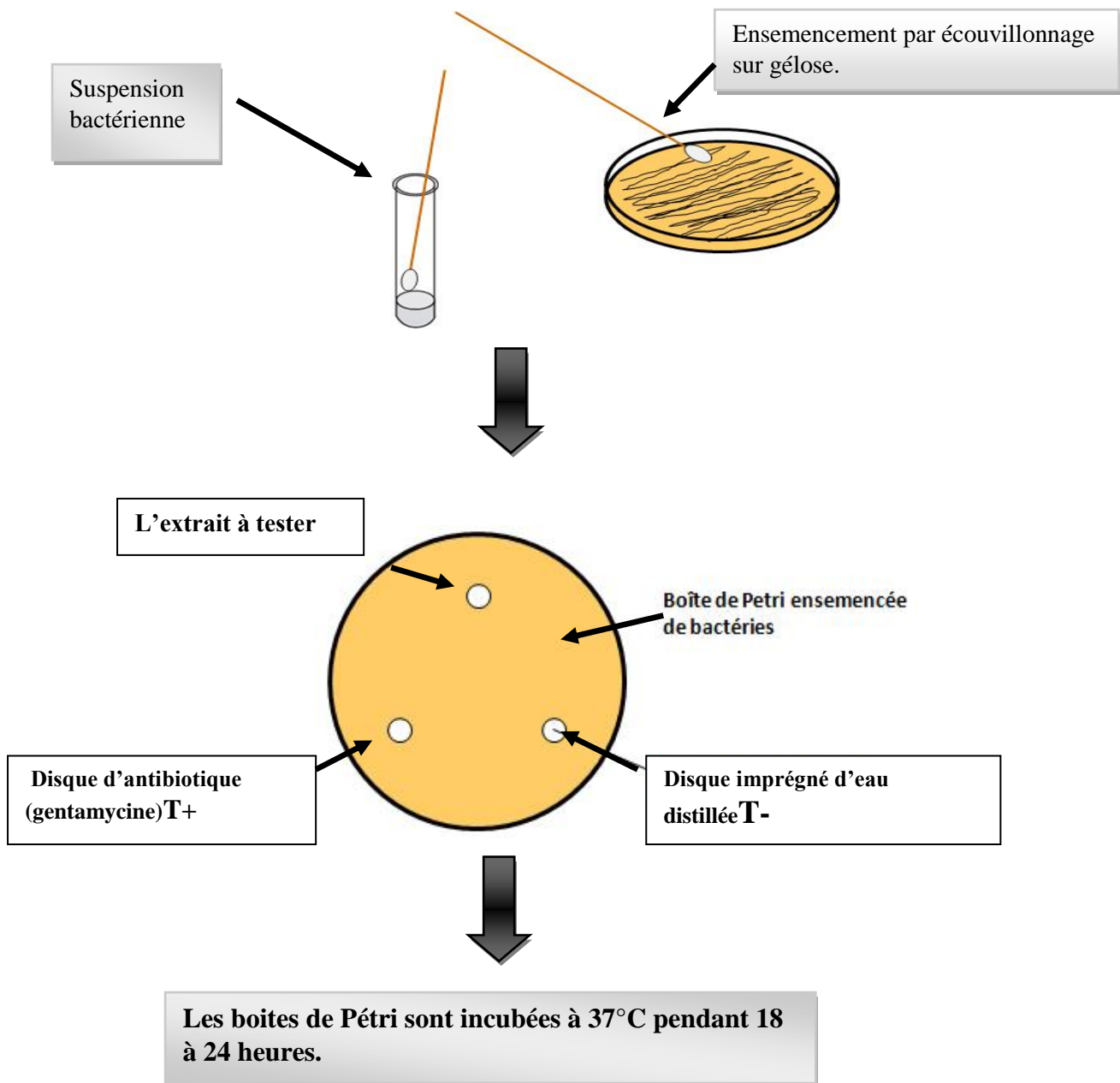


Figure 11 :La réalisation de l'antibiogramme

5. Evaluation de l'activité antibiofilm

Méthode au rouge Congo agar (RCA)

La capacité des souches utilisées à former un biofilm, a été testée par une méthode souvent employée afin de mettre en évidence d'éventuelle production

Matériel et méthodes

de biofilm par les Staphylocoques et d'autres qui n'en produisent pas, et ce, en se basant sur la comparaison de la couleur de leurs colonies. Elle s'appuie sur le caractère phénotypique des souches ensemencées sur milieu Rouge Congo (Freeman et *al.*, 1989).

Les souches testées ont été ensemencées par stries en surface sur le milieu rouge Congo coulé en boîtes de Pétri. Les boîtes ont été alors incubées en aérobiose pendant 24 à 48 heures à 37°C et ensuite pendant 24h à température ambiante (Ziebuhr et *al.*, 1997). Les colonies des souches non productrices de biofilmsont de couleur rose, tandis que celles productrices sont de couleur grise légèrement noire à noire foncée(Arciola et *al.*, 2006).

Mode opératoire

Deux boîtes contenant de gélose rouge Congo ont été ensemencée en tapis par écouvillonnage avec la suspension de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 et *Escherichia coli* standardisées. Ensuite, des disques stériles de papier wathman de 6 mm de diamètre imprégnés par 10µl des extraits à tester sont déposés dans les boîtes sur la gélose préalablement ensemencée.

Le disque imprégné d'eau distillée stérile servira de contrôle négatif et le disque d'antibiotique (gentamycine) utilisé comme contrôle positif. Les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés, y compris le diamètre des disques.

Les boîtes est mise dans un réfrigérateur pendant 1 h pour empêcher la croissance bactérienne le temps de fixation des disques et de diffusion des solutions, car dans la méthode de diffusion, il y a compétition entre la croissance du microorganisme et la diffusion du produit (Broadasky et *al.*, 1976). Les boîtes sont après mises en incubation à 37 °C pendant 24 h. Le lendemain, l'activité antibiofilm de l'extrait est confirmée par la mesure des halos d'inhibition autour des disques.

Matériel et méthodes

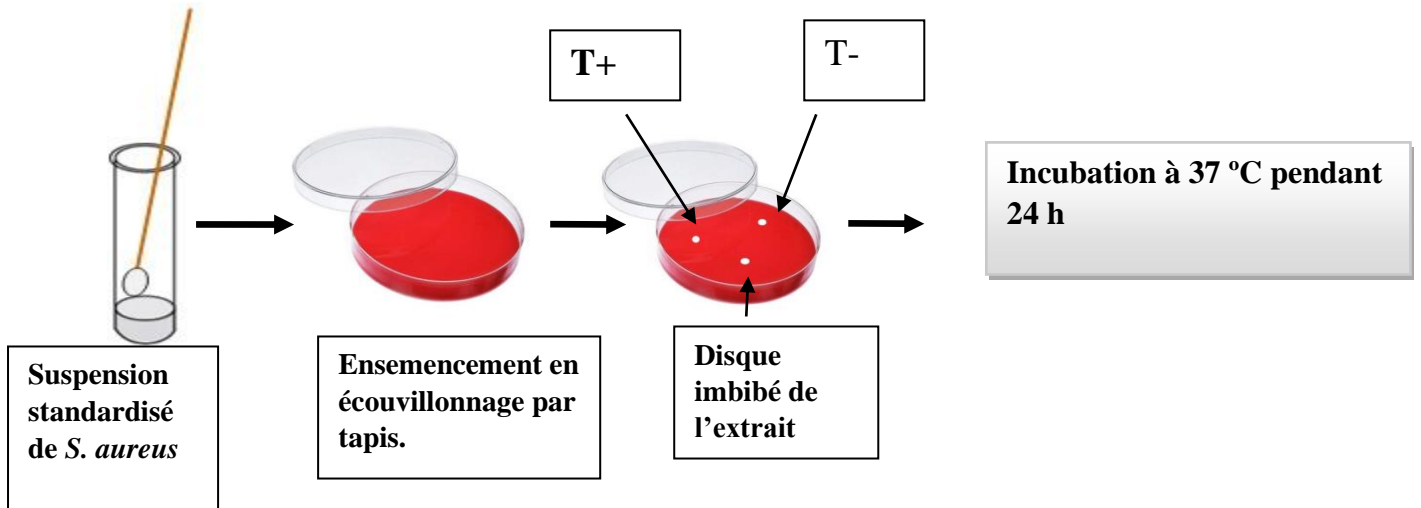


Figure 12 :Le teste de l'activité antibiofilm de l'extrait (pure, dilué) de *Globularia alypum*.

Résultats et discussion

6. Rendement de l'extraction

Le rendement obtenu (34.1%) est inférieur à ceux obtenus dans des travaux antérieurs sur la même espèce *Globularia alypum* qui ont rapporté des rendements de 42%(Daycem et *al.*, 2011), de 35.52% (Boussoualim, 2014) et 46.29% (Sellaoui, 2019).

Le rendement d'extraction en substances photochimiques dépend de plusieurs facteurs à savoir le temps de macération, la température, le solvant d'extraction et la nature chimique de l'échantillon (Su et *al.*, 2006). Il dépend également de la période de récolte de la plante, de la nature de son sol et des conditions de stress biotiques et abiotiques auxquelles la plante est soumise (Lee et *al.*,2003).

7. Activité antibactérienne des extraits de *G. alypum*




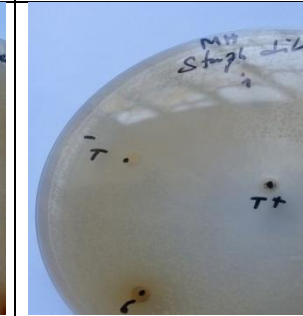
Le pouvoir antibactérien des extraits (brute et dilué) de la plante *Globularia alypum* est évalué dans cette étude par la technique de diffusion sur l'agar en utilisant deux souches bactériennes à Gram positif et négatif.

La méthode de diffusion sur milieu gélosé ou aromatoگرامme est une méthode basée sur le principe de l'antibiogramme, la mesure de diamètre d'inhibition autour de disque imprégné des extraits végétaux détermine l'activité antimicrobienne de ces extrait (Sadou *etal.*, 2015).

La souche est dite résistante R si le diamètre est inférieur de 6mm, elle est dit intermédiaire I si le diamètre d'inhibition est compris entre 6mm et 13mm, la souche est sensible S si la zone d'inhibition a un diamètre supérieur 13mm (Abi-Ayad et *al.*, 2011).

Résultats et discussion

Tableau 9 : Résultats de la méthode de diffusion sur milieu gélosé en utilisant deux souches de référence (*E. coli*, *S.aureus*).

Disque	<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
	Pure	Dilué	Pure	Dilué
T+	35mm	35mm	38mm	38mm
T-	6mm (diamètre de disque)	6mm	6mm	6mm
Extrait	6mm	6mm	6mm	6mm
				

Les résultats montrent que les extraits de la plante n'ont montré aucune activité contre les souches utilisées. De même, le control négatif (l'eau physiologie) n'a pas eu un effet sur les bactéries. La gentamycine qui a été utilisée comme contrôle positif a montré une activité vis-à-vis des deux souches, avec des zones d'inhibition de l'ordre de 38mm pour *S. aureus*, 35 mm pour *E. coli*.

Les résultats de Kada (2018) a trouvé que l'extrait aqueux et méthanolique de *Globularia alypum* L., n'ont aucun effet antibactérien vis à vis des souches de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, cependant, ils ont montré un effet antibactérien contre *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis* et *Salmonella typhi*.

Résultats et discussion

D'autre part, Das et *al.* (2010) ont supposé que l'extraction avec des solvants organiques donne une activité antimicrobienne.

Une autre étude faite par Boussoualim (2014) a constaté l'absence de tout effet d'extrait aqueux sur les bactéries *Escherichia coli* et *Enterococcus Faecalis*.

Les résultats auxquels nous sommes parvenues concordent avec ceux de Kada (2018) et Boussoualim (2014) qui ont noté, respectivement, la résistance de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* vis-à-vis de l'extrait aqueux de la même plante.

En général, l'activité antibactérienne des substances actives d'origine végétale dépend de plusieurs facteurs à savoir: l'espèce de la plante, la préparation de l'extrait, le solvant utilisé, et la sensibilité des bactéries (Basli *et al.*, 2012).

8. Test de formation de biofilm par la méthode au rouge Congo

L'évaluation de la capacité des souches à former des biofilms a été réalisée par la méthode de Rouge Congo Agar rapporté par Freeman et al (1989). Les résultats sont montrés dans la figure 13.

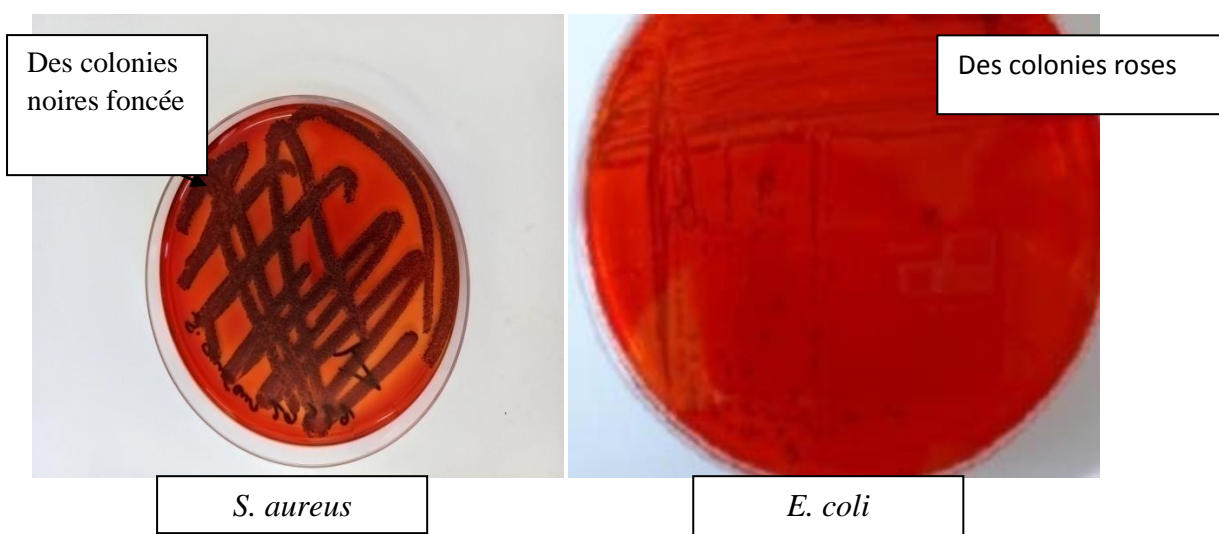


Figure 13 : Résultats de production du biofilm bactérien.

Résultats et discussion

Souche	Couleur des colonies	Interprétation
<i>S.aureus</i>	Noire foncée	Fortement formatrice
<i>E. coli</i>	Rose	Non formatrice

Chaieb et *al.*, (2005) ont dénoncé que le milieu Rouge Congo est très convenable pour la détection des souches productrice de biofilm, par contre Bellifa (2014) a annoncé que la méthode RCA semble être moins efficace pour la détection et quantification des biofilms *in vitro*.

9. Evaluation l'activité antibiofilm

Les résultats obtenus dans cette partie expérimentale se sont avérés négatifs pour les deux concentrations testées contrairement au disque témoin imbibé d'antibiotique (gentamycine) autours duquel y a apparition d'un halo d'environ 28 mm.



Figure : L'effet antibiofilm de l'extrait aqueux (pure, dilué) vis-à-vis *S.aureus* ATCC 25923.

Conclusion générale

*Globularia alypum*L est une plante médicinale de la famille Globulariaceae, largement utilisée en médecine traditionnelle grâce à ces constituants bioactifs et sa richesse en métabolites secondaires tels les polyphénols, terpenoïdes, iridoïdes et les huiles essentielles. Ces molécules suscitent actuellement l'intérêt de plusieurs chercheurs et sont reconnues pour leurs activités biologiques diverses telles que l'activité antioxydant, antifongique, antibactérienne etc.

Les résultats obtenus montrent :

- Un rendement d'extraction de l'extrait aqueux préparé par les feuilles de *Globularia alypum* est 34.1%.
- Les résultats sont avérés négatifs pour les deux méthodes d'évaluation de l'activité (antibactérienne, antibiofilm).

Ces résultats peuvent s'expliquer par la qualité et la nature des métabolites secondaires présents dans l'extrait, qui peuvent interagir ou par l'influence de la température sur l'efficacité des composés, le stade du développement, le solvant, la durée d'extraction, l'espèce de la plante et la période de collecte.

Plusieurs perspectives peuvent être dégagées comme :

- Tester d'autres activités biologiques : activité anti-inflammatoire, cancérigène, antifongique, antidiabétique.
- Réaliser des études sur les autres parties de la plante.

Références bibliographique

- Abi-Ayad F. Z. (2009). Analyse de l'huile essentielle de thuya de Berbérie (*Tetraclinis articulata*) de la région de Tlemcen et de son activité antimicrobienne. Mémoire de magister. Université Abou-bakr Belkaid. Tlemcen, Algérie. 104p.
- Alharbi K.N., Naghmouchi S. et Al-Zaban M. (2021). Evaluation of Antimicrobial Potential and Comparison of HPLC composition, Secondary Metabolites Count, and Antioxydant Activity of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* Extracts. DOI :10.1155/2021/9081536.
- Alnnasouri M. (2010). Etude du développement de biofilms dans des réacteurs de traitement d'eau. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, France.
- AMRI, H., 2018. Extraction de l'huile essentielle de *Globularia alypum* L. Identification de ses constituants chimiques et étude de son activité antioxydante. Thèse de doctorat: Chimie Moléculaire. Oran : université Ahmed Ben Bella, 220p
- Anand S., Singh D., Avadhanula M., Marka S. 2014. Development and Control of Bacterial Biofilms on Dairy Processing Membranes. *Compre. Revi in Food. Science and FoodSafety*. 13, pp 18-33.
- Aricola C.R., Commpaoccia D., Baldassari L., Donati M.E., Gamberini S., Montanaro L (2005). Detection of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* from implant infections Comparisons of a PCR method that recognize the presence of *ica* genes with two classic phenotypic methods. *Journal of Biomedical Research*. 76 (2) : 425-430
- Aumeran C., Balestrino D., Forestier C. 2020. Biofilms bactériens et santé. *Encyclopédie de l'environnement*. Pp 1-7.

- Basli, A., Chibane, M., Madani, K., & Oukil, N. (2012). Activité antibactérienne des polyphénols extraits d'une plante médicinale de la flore d'Algérie : *Origanum Glandulosum* Desf. *Phytothérapie*, 10(1), 2-9.
- Bellifa S. (2014). Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Abou bekr belkaid, Tlemcen.
- Benkhaldi D. (2017). Activité antimicrobienne des extraits végétaux application à l'inhibition de biofilm des bacilles thermophiles d'origine laitière. Mémoire de master en Biologie Option : Microbiologie Appliquée. UNIVERSITE de TLEMCEM Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers :p1.
- Bennetau-Pelissero, C. (2014). Polyphénols et voies de signalisation, données récentes. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 49(4), 151-159.
- Bock B., 2013. Base de données nomenclature de la flore de France. *Tela Botanica*.
- Boros B; Jakabova S; Dornyei A;Horvath G; Pluhare Z; Kilar F; Felingera A.(2010).Determination of polyphenolic compounds by liquid chromatography–mass spectrometry in *Thymus* specie. *Journal of Chromatography A*;1217: 7972–7980.
- Boussoualim N, (2014). Activités biologiques de plantes médicinales : *Anchusa azurea* Mill. Et *Globularia alypum* L. Thèse, Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- BOUTITI, A., 2007. Étude phytochimique de l'espèce *Globularia alypum* l. thèse de magister : chimie organique. Constantine : Université Mentouri, 110 p.
- Branger A., Richer M-M., Roustel S. (2007). Quelque système microbien: les Biofilms. Dans: *Microbiochimie et alimentation*. Educagri éditions, dijon. P.131-164.

- Branger A., Richer M-M., Roustel S. 2007. Microbiochimie et alimentation. Ed educagri. Pp 131-140.
- Brindhadevi K., Oscar F.L., Mylonakis E., Shanmugam S., Verma T.N et Pugazhendhi A.(2020). Biofilm and Quorum sensing mediated pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. *Process Biochemistry*. Vol 96, 49-57.
- Broadasky, T. F., Lewis, C.,et Eble, T.E. (1976). Bioautographic thin layer chromatophic analysis of antibiotics and their metabolites in the whole animal. I Clindamycin in the rat. *Journal of Chromatography*. 123, 33-44.
- Bruneton, J. (1999). Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales. 3^{ème}Ed Tec et Doc. Paris, P, 101-120.
- Bubonja-Sonje M, Giacometti J, Maja Abram M,2011. Antioxydant and antilisterial activity of olive oil, Cocoa and rosemary extract polyphénols.*Food Chem* 127 :1821-27
- Catier, O., & ROUX, D. (2007). Botanique pharmacognosie phytothérapie. Paris 3^é édition. Pp113. ISBN : N 2915585520.
- Chalvet de Rochemonteix A. (2009). Les biofilms et la peau. Thèse Pour le Doctorat. École Nationale Vétérinaire D'Alfort Paris.
- Chaouche, T. Med, Haddouchi, F., Zerhouni, K. et Sidi-Yakhlef, A. (2016). Évaluation de l'activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum stoechas* subsp. *Rupestre*. *Afrique science* 12 (3) :144-150.
- Chograni H., Riahi L., Zaouli Y., and Boussaid M. 2012. Polyphenols, flavonoids, Antioxidant activity in leaves and flowers of Tunisian *Globularia alypum* L. (*Globulariaceae*). *Afr J Ecol*. 51(2) :343-347
- Clutterbuck, A.L., Woods, E.J., Knottenbelt, D.C., Clegg, P.D., Cochrane, C.A. & Percival, S.2007. Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*, 121(1-2),1-17.) ;

- Czajkowski R. et Jafra S. (2009). Quenching of acyl-homoserine lactone-dependent Quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules. University of Gdansk and Medical University of Gdansk, Gdańsk, Poland.
- Das, K., Tiwari, R. K. S., & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of Medicinal plant products as antimicrobial agent: Current methods and future trends. *Journal of medicinal plants research*, 4(2), 104-111.
- Dawes, P., de Lacy Costello, B., Patel, V., Ratcliffe, NM, Probert, C., & Turner, MA (2014). L'effet de la *Salvia officinalis* sur la fonction des fibroblastes gingivaux humains. Une étude colorimétrique. *Tourillon de phytothérapie*, 4(1), 12-19.
- Daycem Khelifi., Moktar Hamdi., Akrem El Hayouni., Sylvie Cazaux., Jean Pierre souchard ., François Couderc et Jalloul Bouajila.(2011). Global Chemical Composition and Antioxidant and Anti Tuberculosis Activities of Various Extracts of *Globularia alypum* L. (Globulariaceae) Leaves. *Molecules* Vol 16
- Defoirdt T, Boon N, Bossier P, Verstraete W.(2004). Disruption of bacterial quorum sensing: an unexplored strategy to fight infections in aquaculture. *Aquaculture*;240(1-4) :69-88. Doi : 10.1016/j. Aquaculture.2004.06.031)
- Député de Schultz. Effets de la rugosité du revêtement et de l'encrassement biologique sur la résistance et la puissance du navire. *Encrassement biologique*. 2007;23(5-6):331-341. Doi:10.1080/08927010701464683
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., and Stocker P., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound. *Food chem.*, 97: 654–660.
- Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Brunel J.M., and Stocker P., 2010. Isolation and characterization of a new steroid derivative as a powerful antioxidant from *Cleome arabica* in screening the in vitro antioxidant capacity

- of 18 Algerian medicinal plants. Food and chemical Toxicology. 48(10) : 2599-2606.
- Dobretsov S, Teplitski M, Paul V. Mini-examen: détection du quorum dans l'environnement marin et sa relation avec l'encrassement biologique. Encrassement biologique. 2009;25(5) :413-427. Doi: 10.1080/08927010902928969
 - Donlan RM, Costerton JW. Biofilms : mécanismes de survie des micro-organismes cliniquement pertinents. Clin Microbiol Rev. 2002 ;15(2) :167-193. Doi :10.1128/CMR.15.2.167-193.2002
 - El-Tarabily K.A., El-Saadony M.T., Alagawany M., Arif M., Batiha G.E., Khafaga A.F., Elwan H.A.M., Elnesr S.S et El-Hack M.E. (2021).Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. Saudi Journal of Biological Sciences. Vol 28 (9), 5145-5156.
 - En ligne Ghabbour, N., & Lamia, G. (2015). Activité antibactérienne et inhibition du biofilm par des extraits de plantes médicinales, des hydrolats et des huiles essentielles contre Staphylococcus aureus. Médecine complémentaire et alternative fondée sur des preuves, 2015, 5909.
 - Es-Safi, N. E., Khlifi, S., Kollmann, A., Kerhoas, L., El Abbouyi, A., & Ducrot, P. H., 2006. Iridoid glucosides from the aerial parts of *Globularia alypum* L.(Globulariaceae). Chemical and pharmaceutical bulletin, 54, 85–88.
 - F. Skim , H. B. Lazrek, A. Kaaya ,H. El Amri , M. Jana, Therapie, 54,711—715 (1999).
 - Fehri Badreddine et Aiache Jean-Marc., 2010. Effects of *Globularia alypum* L. on the gastrointestinal tract.
 - Feriani A., Contreras D. M., Talhaoui N., Gómez-Caravaca A.M., Taamalli A., Segura Carretero A., Ghazouani L., El Feki A.E.F., et Allagui M. S. 2017. Protective effect of *Globularia alypum* leaves against deltamethrin-induced nephrotoxicity in rats and determination of its bioactive compounds using

- high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem quadrupole–time-of-flight mass spectrometry. *Journal of Functional Foods*. 32:139-148.
- Flemming H.C., et Wingender J. (2010). The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol*, 8(9), 623–633. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>
 - Flemming HC, Wingender J. (2010). La matrice du biofilm. *Nat Rev Microbiol*;8(9):623-633. Doi :10.1038/nrmicro2415
 - Flemming HC, Wingender J. La matrice du biofilm. *Nat Rev Microbiol*. 2010;8(9) :623-633. Doi : 10.1038/nrmicro2415
 - Folkesson A., Haagensen J. A. J., Zampaloni C., Sternberg C. and Molin S. (2008). Biofilm induced tolerance towards antimicrobial peptides. *Public Library of Science*, Vol. 3 No. 4, pp. 1-11.
 - Freeman D. J., Falkiner F. R., et Keane C.T. (1989). New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*. 42:872-874.
 - Fuqua W. C., Winans S. C., et Greenberg E. P., 1994. Quorum sensing in bacteria: the LuxR/LuxI family of cell density -responsive transcriptional regulators. *Journal of Bacteriology*, 176(2): 269-275.
 - Gad S., 2018. Assessment of biofilm advantages and disadvantages. *Journal of Scientific And*
 - Ghedira K. (2005). Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*, 3(4) : 162-169.
 - Ghedira, K. Les flavonoïdes : structure, propriétés biologiques, rôle prophylactique et emplois en thérapeutique. *Phytotherapy* 3, 162–169 (2005).
 - Goel N., Fatima S.W., Kumar S., Sinha R., et Khare S.K. (2021). Antimicrobial resistance In biofilms: Exploring marine actinobacteria as a potential source of antibiotics and biofilm Inhibitors. *Biotechnology Reports*. Vol 30, e00613.

- Goetz C., Dufour S., Archambault M., Malouin F., Jacques M. 2016. Importance et contrôle de biofilms formés par les staphylocoques lors d'infections intramammaires chez la vache laitière: une revue bibliographique. Pp 215-229.
- Guillouty A. (2016). Plantes médicinales et antioxydants. Thèse de doctorat en Pharmacie. Université III Paul Sabatier Toulouse, France. 94 p.
- Gülçin I., Mahfus E., Hassan Y. A. E. 2012. Antioxidant activity of clove oil – A powerful antioxidant source. *Arabian Journal of Chemistry*. 5(4) : 489-499.
- Hamel T., Sadou S., Seridi R., Boukhdar S., and Boulemtafes A. 2018. Pratique traditionnelle d'utilisation des plantes médicinales dans la population de la péninsule de L'Edough (nord-est algérien). 59: 75.
- Haras D. (2005). Biofilms et altérations des matériaux : de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. *Matériaux & Techniques* 93, 27–41 Hors-Série. (Okada *et al.*, 2005).
- Harzallah J. H., Neffati A., Skandrani I., Maaloul E., Chekir G. L., and Mahjoub T. 2010. Antioxidant and antigenotoxic activities of *Globularia alypum* leaf extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(19) : 2048-2053.
- Heim E.K.; Tagliaferro A.R.; Bobilya D.J. (2002). Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 13: 572-584.
- Irie Y. et Parsek M.R. (2008). Quorum sensing and microbial biofilms. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 322, pp 67- 84
- Jacobsen, S.M. Stickler, D-J. Mobley, H-L & Shirliff, M.E. (2008). «Complicated catheter- Associated urinary tract infectious due to *Escherichia coli* and *proteus mirabilis*». *Clin. Microbiol. Rev.*

- Joshi P., Wadhvani T., Bahaley P. and Kothari V. (2010). Microbial Chit-Chat: Quorum Sensing, The IUP Journal of Life Sciences. Vol. 4 No. 1, pp. 59-72.
- Kada, S. (2018). Recherche d'extraits de plantes médicinales doués d'activités biologiques (Doctoral dissertation, Université Ferhat Abbas Sétif ; 172).
- Kahlouche-riachi F. (2014). Evaluation chimique et activite antibacterienne de quelques plantes medicinales d'algerie. Doctorat, Constantine 1. Retrieved from <https://bu.umc.edu.dz/theses/veterinaire/KAH6514.pdf>
- Kahlouche-Riachi, F. (2014). Evaluation chimique et activité antibactérienne de quelques plantes médicinales d'Algérie. Thèse présentée en vue de l'obtention du Doctorat en Science, Institut des Sciences Vétérinaires, Université de Costantine 1, 128 p.
- Khlifi D., Rabiaa M., Sghaier D., Laouni A., Moktar H., and Jalloul B. 2013. Anti Inflammatory and acetylcholinesterase inhibition activities of Globularia alypum. Journ al of Medical and Bioengineering. 2(4) :234-235.
- Khlifi, D., Hamdi, M., Hayouni, A. E., Cazaux, S., Souchard, J. P., Couderc, F., & Bouajila, J. (2011). Global chemical composition and antioxidant and anti-tuberculosis Activities of various extracts of Globularia alypum L. (Globulariaceae) leaves. Molecules, 16(12), 10592-10603.
- Kleerebezem, M., Quadri, L. E. N., Kuipers O. P. & De Vos, W. M.1997. Quorum Sensing by peptide pheromones and two-component signal-transduction systems in Gram- Positive bacteria. Molecular Microbiology,24(5), 895-904.
- Ksouri R., Megdiche W., Falleh H., Trabelsi N., Boulaaba M., Smaoui A., and Abdelly C. 2008.Influence of biological, environmental and technical factors on phenolic content and antioxidant activities of Tunisian halophytes. C R Biol.

- Latorre AA, Van Kessel JS, Karns JS, Zurakowski MJ, Pradhan AK, Boor KJ, Jayarao BM.(2010). Biofilm dans l'équipement de traite d'une ferme laitière comme source potentielle de contamination du lait de tank à lait par *Listeria monocytogenes*. *J Dairy Sci* ;93(7) :2792-2802. Doi : 10.3168/jds.2009-2939
- Lebeaux D. et Ghigo J.M. (2012). Management of biofilm-associated infections: What can we expect from recent research on biofilm lifestyles?. *Medecine Sciences*. 28(8-9): 727- 739.
- Leporatti M, Ghedira k., 2009. Comparative analysis of medicinal plants used in traditional Medicine in Italy and Tunisia. *Journal of Ethnobiol ethnomed* 5-31.
- Li Hong , Xiangmei Liu, Lei Tan , Zhenduo Cui , Xianjin Yang , Yanqin Liang , Zhaoyang Li , Shengli Zhu , Yufeng Zheng , Kelvin Wai Kwok Yeung , Doudou Jing , Dong Zheng , Wang Xianbao , Shuilin Wu.,(2019).Adv Healthc Mater. Élimination rapide du biofilm sur les implants osseux à l'aide d'hétérostructures semi-conductrices inorganiques activées dans le proche infrarouge, 8(19):e1900835, DOI : 10.1002/adhm.201900835
- M.A. (1993). Attached microbial communities in rivers. In : *Aquatic Microbiology*, (Ed. T. E. Ford). Blackwell Scientific Publications, Cambridge. 113-138.
- Macfarlane, S., et Dillon, JF (2007). Biofilms microbiens dans le tractus gastro-intestinal humain. *J. Appl. Microbiol.* 102, 1187–1196. Doi : 10.1111/j.1365-2672.2007.03287.x
- Manios SG, Konstantinidis N, Gounadaki AS, Skandamis PN.(2012). Dynamics of low (1–4 cells) vs high populations of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* in fresh-cut salads and their sterile liquid or solidified extracts. *Food Control*,29(2) :318–327.

- Mansour R., Gargouri B2., Gargouri B1., Elloumil N., Ben haj Jilani I., GhrabiGammar Z., and Lassoued S. 2012. Investigation of antioxidant activity of alcoholic extract of *Globularia alypum* L. *Journal of Medicinal Plants Research*. 6(25): 4193-4199.
- Mansour, CM, & Pina-Vaz, C. (2006). Activité antifongique de l'huile essentielle de *Thymus pulegioides* sur les espèces *Candida*, *Aspergillus* et dermatophytes. *Tourillon de microbiologie médicale*, 55(10), 1367-1373.
- Marchand, S., De Block, J., De Jonghe, V., Coorevits, A., Heyndrickx, M. & Lieve, H.2012. Biofilm Formation in Milk Production and Processing Environments; Influence on Milk Quality and Safety. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11(2), 133–147.
- Martin S., Andriantsitohaina R. (2002). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. *Ann. Cardiol. Angéiol.* 51 : 304-315.
- Mehenni R., and Rahmouni M. 2017. Propriétés anti oxydantes d'extraits d'une plante médicinale: *Globularia alypum*. Application pharmaceutique : solution hydro alcoolique. Mémoire de fin de cycle Pour l'obtention du diplôme de Master, Département de Génie des procédés, Université A.MIRA, BEJAIA
- Miller, M.B. & Bassler, B.L. (2001). Quorum sensing in bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 55(1), 165-199.
- Mion S., Rémy B., Plener L., Chabrière E. et Daudé D. (2019). Quorum sensing et quorum Quenching Comment bloquer la communication des bactéries pour inhiber leur virulence. *Méd/sci.* 35, pp 31-8.).
- Mogha K. V., Shah, N. P., Prajapati, J. B., & Chaudhari, A. R. 2014. Biofilm a threat to dairy industry. *Indian J. Dairy Sci.*
- Mohanty, S., Mishra, S., Jena, P. et Mohapatra, N. (2017). *Curcuma longa* médiation modulation de l'activité antifongique du fluconazole contre les

- isolats cliniques de *Candida albicans*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(5), 438-442.
- Muhsin J., Ufaq T., Tahir H. et Saadia A. (2015). Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections, *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 4: 1- 14.
 - Muller A., et Guaguere E. (2014). L'Antibiothérapie n'est pas la seule source d'antibiorésistance: notion de biofilm. *Conflits AFVAC. Médecine interne / maladies Infectieuses*. Paris – la Défense.
 - Naves P., Del Prado G., Huelves L., Roderiguez –cerrato V., Ruiz V., Ponte M.C., et Soriano F., 2010. Effects of human serum albumin, ibuprofen and N-acetyl-l-cysteine against biofilm formation by pathogenic *Escherichia coli* strains. *J Hospital Infect*, 76 : 165-170.
 - Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., & De Feo, V. (2013). Effet des huiles essentielles sur les bactéries pathogènes. *Produits pharmaceutiques*, 6(12), 1451-1474. 2.
 - Okada M., Sato I., Jeong Cho S., Iwata H., Nishio T., Dubnau D et Sakagami Y. (2005). Structure of the *Bacillus subtilis* quorum-sensing peptide pheromone ComX. *Nature Chemical Biology*, 1: 23-24. Structure of the *Bacillus subtilis* quorum-sensing peptide pheromone ComX. *Nature Chemical Biology*, 1: 23-24.
 - Ortuño A, Báidez AG, Gómez P, Arcas MC, Porrás I, García-Lidón A, Del Río JA (2006) *Citrus paradisi* and *Citrus sinensis* flavonoids : their influence in the defence mechanism against *Penicillium digitatum*. *Food Chemistry* 98, 351-358
 - Palmer J., Flint S., Brooks J. (2007). Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 34 (9): 577-88.
 - Paluch E., Rewak-Soroczyńska J., Jędrusik. I., Mazurkiewicz E., et Jermakow K. (2020). Prevention of biofilm formation by quorum quenching. *Applied*

- Microbiology And Biotechnology. (2020) 104:1871–1881.
<https://doi.org/10.1007/s00253-020-10349-w>.
- Park IH, Zhao R, West JA, Yabuuchi A, Huo H, Ince TA, Lerou PH, Lensch MW, Daley GQ. 2008b. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature* 451(7175):141–146.
 - Parsek M., et Singh PK., 2003. Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annual Reviews of Microbiology*, 57 : 677–701.
 - Pecaistaings S. (2010). Apport de modèles de biofilms à *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila* à la maîtrise de la qualité microbiologique des réseaux d'eaux Minérales naturelles. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.
 - Philips P.L., Wolcott R.D., Fletcher J., Schultz G.S. 2011. Biofilms made easy. 1(3), pp 1-6.
 - Philips PL; Wolcott RD; Feltcher J; Schultz GS. (2010). «Biofilm Made Easy». Wonds International. 1-8.
 - Phillips P.L., Wollcot R.D., Fletcher J., Schultz G.S.(2010). Biofilms Made Easy. Wounds International.
 - Queck, S.Y., Weitere, M., Moreno, A.M., Rice, S.A. & Kjelleberg, S. (2006). The role of Quorum sensing mediated developmental traits in the resistance of *Serratia marcescens* Biofilms against protozoan grazing. *Environmental Microbiology*, 8(6), 1017-1025.
 - Quezel et Santa. (1962). Nouvelles Flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales, centre National de la recherche scientifique (Ed) 15, quasi Anatole-France- Paris 7^e.
 - Rahmouni N. 2017. Investigation phytochimique de l'extrait n-butanol de *Globularia alypum* (Globulariaceae). Pour l'obtention de diplôme de Magister, Département de chimie, université Constantine 1.

- Ramdani M., Lograda T., Ounoughi A., Chalard P., Figueredo G., Laidoudi H., and El Kolli M. 2014. International journal of current microbiology and applied sciences. 7 : 306-318.
- Rameau J. C., Mansion D., and Dumé G. 2008. Flore forestière française : région méditerranéenne. Forêt privée française. Paris, France.
- Ranita Roy 1, Monalisa Tiwari 1, Gianfranco Donelli 2, Vishvanath Tiwari.(2018). Virulence. Stratégies de lutte contre les biofilms bactériens: focus sur les agents anti-biofilm et leurs mécanismes d'action;9(1) :522-554.
- Rasmussen TB, Givskov M.(2006). Les inhibiteurs de détection de quorum comme médicaments anti-pathogènes. Int J Med Microbiol.;296(2-3):149-161. Doi: 10.1016/j.ijmm.2006.01.001)
- Rivera C.L.E., Ramos A.P., et Desgarenes C.P. (2007). Péptidos antimicrobianos: Antibióticos naturales de la piel. Dermatología RevMex, 51 : 57-67.
- Rohatgi A et Gupta P. (2021). Natural and synthetic plant compounds as anti-biofilm agents against Escherichia coli O157:H7 biofilm. Infection, Genetics and Evolution. Vol 95, 105055.
- Ruhel R., et Kataria R. (2021). Biofilm patterns in gram-positive and gram-negative bacteria. Microbiological Research. Vol 251, 12682
- Saliou P, Urbes F, Fouquet C, Branchu F, Rozan H, Derycke T, Colot J.(2022).Ann Biol Clin (Paris). La surveillance microbiologique des endoscopes comme élément d'assurance qualité au Centre hospitalier territorial de Nouvelle-Calédonie entre 2012 et 2020;80(2) :126-132. Doi : 10.1684/abc.2022.1720.
- Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. Phytochemistry, 30, 3875 – 3883.
- Scognamiglio B., D'Abrosca S., Pacifico V., Fiumano P.F., DeLucab P., et Monaco F.(2012).Caractérisation des polyphénols et évaluation des

- antioxydants des variétés *Olea europaea* cultivées dans le parc national du Cilento (Italie) *Food Res. Int* 2012.46 (1) : 294 -303.
- Selka, M. A., Chenafa, A., Achouri, M. Y., Aoued, L., Tareb, S., Nourredine, M. A., & Toumi, H. (2016). Activité antimicrobienne et antioxydante des feuilles de *Vitis vinifera* L. *Phytothérapie*, 14(6) : 363 - 369. <https://doi.org/10.1007/s10298-016-1036-5>
 - Shangjie Yao., Liy Hao., Rongqing Zhou., Yao Jin., Jun Huang., Chongde Wu.(2022). Compr Rev Food Sci Food Saf. Biofilms multi-espèces en fermentation : formation de biofilms, interactions microbiennes et communication, 21(4) :3346-3375.
 - Shpakov AO. (2009). Bacterial autoinducing peptides. *Microbiol*;78(3):291–303.
 - Somboonwatthanakul, P., Wonglertcachalarn, K., & Srichana, T. (2013). Inhibition de la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus* par des recettes traditionnelles thaïlandaises à base de plantes utilisées pour le traitement des plaies. *Tourillon d’Ethnopharmacologie*, 146(1), 417-423.
 - Sousa, R., Dias, S., & Antunes C. (2006). Spatial subtidal macrobenthic distribution in relation to abiotic conditions in the Lima estuary, NW of Portugal. *Hydrobiologia*, 559, 135-148.
 - Squinazi F. (2013). Biofilm et matériaux des réseaux intérieurs de distribution de l’eau. Costerton et *al.*, 1999 ; Muhsin et *al.*, 2015).
 - Stichler D.J. (2009). *Proteus mirabilis* biofilm formation and catheter design, Cardiff University, UK. Archambaud M., Clave D. (2004). Fiche technique : *Proteus mirabilis* BLSE. Centre toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. 51 : 8-543
 - Su, X., Duan, J., Jian, Y., Shi, J and Kakuda, Y. (2006). Effect of soaking conditions on the Antioxidant potentials of oolong tea. *J Food Composition Anal* 19: 348-353.

- Sutherland IW., 2001. The biofilm matrix-an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends in Microbiology*. 9 (5) : 222-7.
- Tenke P., Kovacs B., Jackel M., et Nagy E.(2006).The role of biofilm infection in Urology. *World J Urol* 24,13-20.
- Toufektsian, M. C., de Lorgeril, M., Nagy, N., Salen, P., Donati, M. B., Giordano, L., Mock, H. P., Peterek, S., Matris, A., Petroni, K., Pilu, R., Rotilio, D., Tonelli, C., de Leiris, J., Boucher, F. and Martin, C. (2008) Chronic dietary Intake of plant-derived anthocyanins protects the rat heart against Ischaemia-reperfusion injury. *The Journal of Nutrition* 138: 747 – 752.
- Toyofuku M., Inaba T., Kiyokawa T., Obana N., Yawata Y., et Nomura N. (2016). Environmental factors that shape biofilm formation, *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 80: 1, 7-12.
- Tremblay Y.D., Hathroubi S. Jacques M., 2014. Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78, 110– 116.
- Tremblay Y.D., Hathroubi S., Jacques M. 2014. Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian J. Vet Res.* 78(2), pp 110-116.
- Ulanowska, K., Tkaczyk, A., Konopa, G., et Wegrzyn, G. (2006) Activité antibactérienne différentielle de la génistéine résultant de l'inhibition globale de la synthèse d'ADN, d'ARN et de protéines dans certaines souches bactériennes. *Archives de microbiologie*, 184, 271-278.
- Van Houdt R. et Michiels C.W. 2005. Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Res Microb.*156, pp 626-633
- Vijayabaskar, P., Prabuseenivasan, S. et Ignacimuthu, S. (2008). Activité antibactérienne d'huiles essentielles végétales sélectionnées contre *Escherichia coli* O157 : H7. *Journal mondial de microbiologie et de biotechnologie*, 24(12), 3071-3077.

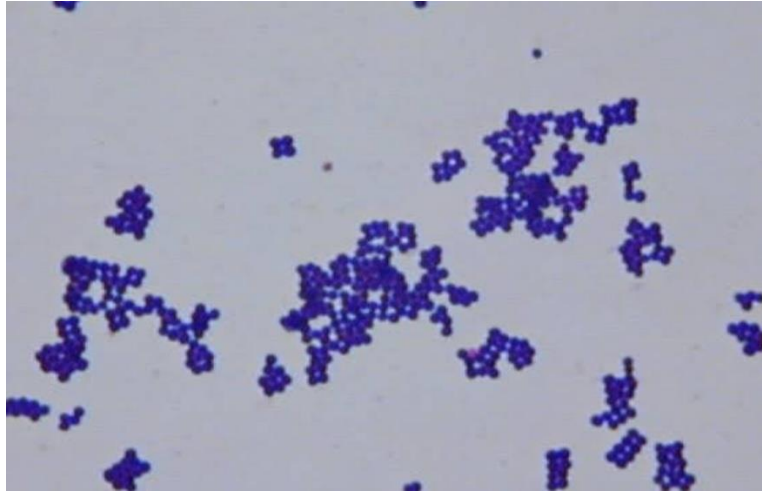
- Wang, B., Tan, X., Du, R., Zhao, F., Zhang, L., Han, Y. & Zhou, Z. 2019. Bacterial Composition of biofilms formed on dairy-processing equipment. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 49(5), 477-484.
- Waters, C. M. & Bassler, B. L. 2005. Quorum sensing: cell-to-cell communication in Bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21(1), 319-346.
- Wen Yin, Yiting Wang, Lu Liu, Jin He.,(2019), Biofilms : les «vêtements de protection» microbiens dans les environnements extrêmes(<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31336824/>)
- Xinyi Kuang., Viviane Chen., Xin Xu.(2018). *Biomed Res Int. Nouvelles approches pour le contrôle des biofilms microbiens oraux*,2018 : 6498932, doi : 10.1155/2018/6498932. eCollection 2018.
- Yannick D.N., Skander T., Mario Jacques H. (2014). Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78 : 110-116.
- Zhang Yuan 1, Bailong Tao 1, Vous, il 1, Caiyun Mu 1, Genhua Liu 1, Jixi Zhang 1, Qiang Liao 2, Peng Liu 3, Kaiyong Cai.,(2019). *Biomatériaux. Élimination à distance du biofilm sur l'implant en titane via une stratégie de thérapie photothermique/photodynamique déclenchée par la lumière proche infrarouge*, 223 :119479. Doi : 10.1016/j.biomaterials.2019.119479
- Zhang, Y., Zhuang, H., Wang, S., Gao, H. et Yang, B. (2014). Activités antibactériennes et anti-biofilm de l'huile d'ail contre *Staphylococcus epidermidis*. *Recherche en phytothérapie*, 28(10), 1541-1547.
- Zhao X., Zhao F., Wang J., et Zhong N. (2017). Biofilm formation and control strategies of foodborne pathogens: food safety perspectives. *RSC Advances*. Vol 7, 36670.
- Ziebuhr W., Heilmann C., Götz F., Meyer P., Wilms K, Straube E., Hacker J. (1997). Detection of the intercellular adhesion gene cluster (ica) and phase

variation in *Staphylococcus epidermidis* blood culture strains and mucosal isolates. *Infect Immun.* 65 : 890–896. *Engeneering Research*, 5(4) : 231-237. *Microbiology*, 55(1) : 165-199

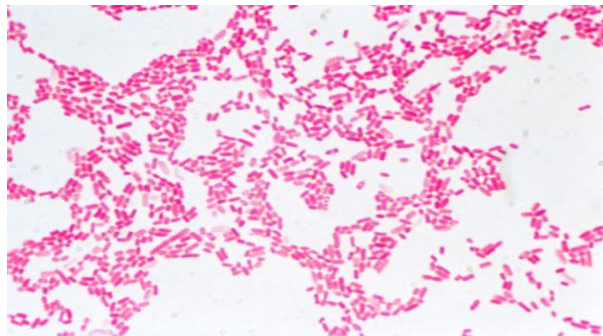
Annexes

Annexe 1

Résultats de coloration de Gram

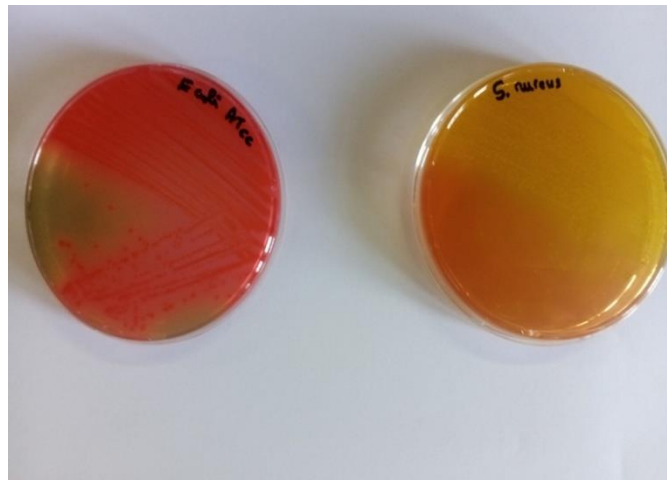


S.aureus ATCC25923



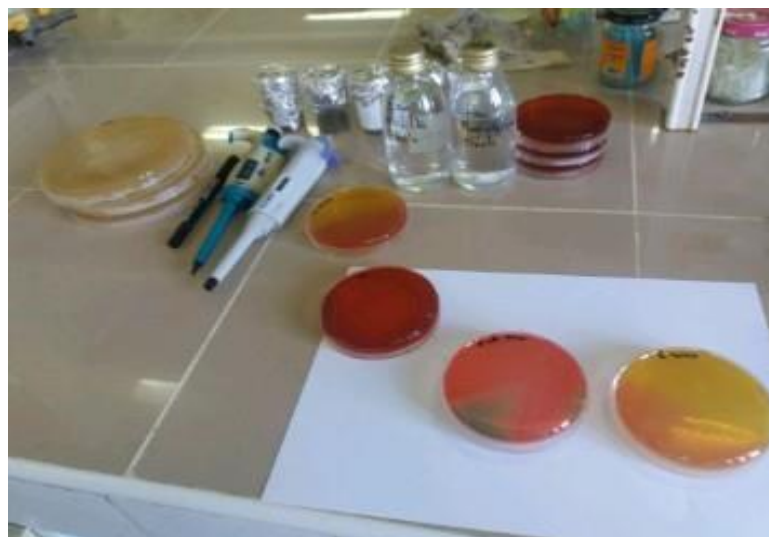
E.coli ATCC25922

Annexe 2



Souches de *S.aureus* et *E. coli* sur GN

Annexe 3



Matériels utilisé.

Résumé

Les biofilms sont des communautés de micro-organismes qui se forment sur différentes surfaces et qui sont enveloppés d'une matrice extracellulaire protectrice. Ils peuvent causer des problèmes dans de nombreux domaines, y compris la santé humaine, en provoquant des infections chroniques persistantes et en étant résistants aux traitements antimicrobiens traditionnels. Une approche prometteuse pour lutter contre les biofilms consiste à utiliser des extraits de plantes ou des composés naturels dérivés de plantes comme agents antibiofilm. Les plantes contiennent souvent des composés bioactifs qui présentent des propriétés antimicrobiennes et antiadhésives, ce qui peut aider à prévenir la formation de biofilms ou à les détruire une fois formées. Cependant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour confirmer leur efficacité et déterminer les meilleures méthodes d'utilisation. Pour cela Le présent travail s'inscrit dans la cadre d'une contribution à la valorisation du règne végétale comme source de substances bioactives naturelles, pour découvrir de nouveaux composés. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'extraction des extraits de l'espèce *Globularia alypum* L., ainsi qu'à l'étude de Leurs effets biologiques vis-à-vis l'activité antibiofilm et l'activité antibactérienne.

L'activité antibactérienne a été démontrée in vitro par la méthode de diffusion sur disque contre deux souches de référence (*S.aureus*, *E. coli*), enfin on arrive à étudier l'activité antibiofilm en utilisant la gélose Rouge Congo Agar vis-à-vis les biofilm formé par les souches de *S.aureus* ATCC 25923.

L'évaluation de l'activité antibactérienne et l'activité antibiofilm a montré une action et un degré de résistance variable (aucun effet inhibiteur)

Mots clés : *Globularia alypum* L., effet inhibiteur, activité antibiofilm, activité antibactérienne.