

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU
FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE-MICROBIOLOGIE



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique en Biologie
Option : Microbiologie appliquée

Thème

**SENSIBILITE DE QUELQUES MICROORGANISMES
UROPATHOGENES VIS-A-VIS D'EXTRAITS DE FEUILLES
D'ORTIE, GERANIUM ET SOUS PRODUITS DE L'OLIVIER**

Présenté par :

M^{elle} BEKRI Karima

M^{elle} RACELMA Kahina

Devant le jury composé de :

**Présidente : Mme OUALI-ABDOUNE Samia Maitre assistante chargée de cours
UMMTO**

Promotrice : M^{elle} DERMECHE Samia Maitre assistante classe A UMMTO

Examinateur 1 : M^r TITOUCHE Yacine Maitre assistant classe B UMMTO

Examinatrice 2 : Mme BENZAOUZ Kesbia Kinza Maitre assistante classe A UMMTO

2014-2015

Remerciements

En préambule à ce mémoire, nous souhaitons adresser tous nos remerciements aux personnes qui ont apporté leur aide et qui ont ainsi contribué à l'élaboration de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent tout d'abord à DIEU, le tout puissant qui nous a tracé le chemin de nos vies et accordé la volonté et la patience nécessaire de ce mémoire.

Nous exprimons nos profonds remerciements et notre vive connaissance à notre promotrice M^{lle} DERMECHE.S, pour nous avoir encadré et dirigé ce travail et pour sa disponibilité et ses conseils.

Nous tenons à exprimer nos plus vifs remerciements aux membres de jury d'avoir accepté de juger ce travail. Merci pour les remarques, suggestions et critiques que vous apportez, qui vont, sans doute, nous permettre d'enrichir le contenu de ce travail.

On remercie également Mr MELBOUSSI.S pour son aide, son soutien moral, ses encouragements et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer.

Un grand merci s'adresse à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin principalement tout l'effectif du service de microbiologie de l'EPH de DRAA-EL-MIZANE.

Je dédie ce modeste travail à

*A mes très chers parents, pour leur patience, leur sacrifices,
leur tendresses et soutien durant mes études, aucun hommage ne
pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler.
Que dieu leur procure bonne santé et longue vie.*

*A mon très cher frère SALIM et à mes deux chères sœurs MERIEM et
SARAH, pour leur amour et compréhension, Que dieu les protège.*

*A mon fiancé YUCEF, pour son encouragement et son soutien
constant toute au long de ce projet.*

A ma belle famille.

A mon binôme KAHINA et sa famille.

*ET à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce projet
soit possible, je vous dis merci.*

BEKRI Karima

Je dédie ce modeste travail

Auxêtre les plus chères : ma famille,

A la mémoire de mon grand père maternelle « BELAID.K » décédé le 20 aout 2015, le destin ne m'a pas laissé le temps pour jouir de ce bonheur avec vous et pour cueillir vos bénédictions interminables. Aujourd'hui tu n'es pas là mais pour toujours tu demeureras dans mon cœur. Rien au monde ne peut décrire mon grand désarroi. Puisse Dieu tout puissant vous accorder sa clémence, sa miséricorde et vous accueillir dans son saint paradis.

« Que ton âme repose en paix »

A ma mère, pour la tendresse et le grand amour dont vous m'entourez, pour votre soutien et prières, vous m'avez toujours épargné de toutes sortes de contraintes à même absorber mon stress. Jamais je ne trouverais des mots pour exprimer ma profonde affection et mon grand amour.

A mon père, dont la vie est l'exemple du courage, de dévouement, d'honnêteté, du sacrifice et de militance. Vous m'avez tellement supporté et soutenu tout au long de mon parcours d'étude. Je vous fais le témoignage de mon profond amour, ma gratitude pour les sacrifices que vous m'avez faits afin que je puisse achever mes études dans les meilleures conditions.

A mes deux frères IDIR et KACI, à mes sœurs DJEDJIGA, NADIA, FATIHA et SONIA, je vous remercie énormément et j'espère que vous trouvez dans ce mémoire l'expression de mon affection pour vous.

A mes nièces THANINA, SARA et LAHNA, a mes neveux SOFIANE et AXEL que j'adore tellement.

A mon binôme KARIMA ainsi que toute sa famille que je respecte énormément.

A mes amis (e) les plus chères à mon cœur

A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.

RACELMA Kahina

Résumé

Les infections microbiennes restent des affections graves et leurs fréquences a augmenté de façon considérable au cours des dernières années en raison de l'usage extensif des agents antibactériens et antifongiques. Le présent travail consiste à la valorisation des polyphénols extrait de deux plantes (ortie et géranium) et d'un sous produit oléicole (margine) récoltés dans la région de Tizi-Ouzou. Les extraits bruts des feuilles d'ortie et géranium, les extraits des margines et le polyphenol commercialisé acide tannique ont fait l'objet d'une étude d'un dosage des polyphénols par la méthode de Folin-Ciocalteu, d'une évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique par la méthode de diffusion en milieu solide contre des microorganismes uropathogènes suivi d'une détermination des paramètres d'inhibitions CMI/CMB. Alors que l'activité antibiofilm des margines et d'acide tannique est effectuée sur microplaque à 96 puits et sur cathéter urinaire.

Les résultats de notre étude montrent que les extrait phénoliques de feuilles de géranium, les extraits de margines et l'acide tannique ont une bonne efficacité vis-à-vis des microorganismes testées. Cependant, les extraits bruts d'ortie n'ont aucun effet inhibiteur sur ces derniers.

Nous avons aussi obtenu une activité antibiofilm importante avec l'acide tannique et les margines.

Mots clés : antibactérienne, antifongique, antibiofilm, polyphénols, margine, géranium.

Abstract

The microbial infections remain serious affection and there frequency increased in a considerable way during last years because of the extensive use of the agent antibacterial and antifungal. The present work involves the valuation of several extracts obtained from ortie, geranium, and olive mill wastewater collected in TIZI-OUZOU area in Algeria. The crude extracts of leaves both ortie, geranium, olive mill wastewater and tannique acide were subject total phenolic dosing by Folin-Ciocalteu method , evaluation of antibacterial and antifungal activity by disc diffusion method against uropathogenic microorganisms followed by CMI/CMB determination, whereas the antibiofilm activity of some extracts was carried out on 96 wells microtitre plates and urinary catheter .

The results of our study show that phenolic extract of leaves of geranium, olive mill wastewater and tannique acide were effective against microorganisms strains tested. However, phenolic extract of leaves ortie were ineffective against this last. We have also obtained antibiofilm activity by tannique acide and olive mill wastewater.

Key words: antibacterial, antifungal, antibiofilm, polyphenols, olive mill wastewater, geranium.

SOMMAIRE

Résumé

Liste des abréviations

Pages

Index des figures et tableaux

Introduction.....1

1^{ère} Partie : Etude bibliographique

Chapitre I : Les infections urinaires

I.1. Anatomie de l'appareil urinaire

I.1.1. Définition de l'appareil urinaire.....3

I.1.2. Haut appareil urinaire.....3

I.1.2.1. Les reins.....3

I.1.2.2. Les uretères.....3

I.1.3. Bas appareil urinaire.....3

I.1.3.1. La vessie.....3

I.1.3.2. L'urètre.....4

I.2. Etude de l'urine

I.2.1. Définition de l'urine.....4

I.2.2. Composition d'urine.....4

I.3. L'infection urinaire

I.3.1. Définitions.....5

I.3.2. Classification de l'infection urinaire.....5

I.3.2.1. L'infection urinaire simple.....5

I.3.2.2. L'infection urinaire compliquée.....5

I.3.3. Type d'infection urinaire et diagnostic clinique.....5

I.3.3.1. La cystite.....	5
I.3.3.2. L'urétrite.....	6
I.3.3.3. La prostatite.....	6
I.3.3.4. La pyélonéphrite.....	6
I.3.4. Transmission.....	6
I.3.4.1. Par contact direct.....	6
I.3.4.2. Par contact indirect.....	6
I.3.5. Physiopathologie.....	6
I.3.5.1. Voies d'accès.....	7
I.3.5.1.1. Voie ascendante.....	7
I.3.5.1.2. Voie hématogène.....	7
I.3.5.1.3. Voie lymphatique.....	7
I.3.6. Mécanisme de défense contre les infections urinaires.....	7
I.3.7. Facteurs favorisant la survenue d'infection urinaire.....	8
I.3.7.1. Facteurs liés à la bactérie.....	8
I.3.7.2. Facteurs liés à l'hôte.....	8
I.3.8. Diagnostique des infections urinaires.....	9
I.3.8.1. Interrogatoire.....	9
I.3.8.2. Examens complémentaires.....	9
I.3.8.2.1. La bandelette urinaire.....	9
I.3.8.2.2. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU).....	10
I.3.9. Germes responsables d'infection urinaire.....	10

Chapitre II : Les biofilms

II.1. Définition du biofilm.....	12
----------------------------------	----

II.2. Facteurs favorisant la formation d'un biofilm.....	12
II.2.1. Caractéristiques de la surface.....	12
II.2.2. Caractéristiques du milieu.....	12
II.2.3. Propriétés des cellules.....	13
II.3. Etapes de formation des biofilms.....	13
II.3.1. Transfert des bactéries vers le support.....	13
II.3.2. Adhésion initiale.....	14
II.3.2.1. Adhésion initiale réversible.....	14
II.3.2.2. Adhésion initiale irréversible.....	14
II.3.3. colonisation de la surface.....	15
II.3.4. Maturation du biofilm.....	15
II.3.4. Dispersion du biofilm.....	15
II.4. avantages et conséquences du mode de vie d'un biofilm.....	16
II.5. Rôle des biofilms.....	17
II.5.1. Rôle négatif.....	17
II.5.2. Rôle positif.....	18
II.6. Régulation de la formation des biofilms.....	18
II.7. Importance clinique des biofilms.....	18
II.8. Biofilms et infections du tractus urinaire (biofilm et sondes urinaires).....	19
Chapitre III : Les polyphénols	
III.1. Généralités sur les polyphénols.....	20
III.2. Source des composés phénoliques.....	21
III.3. Structure et classification des polyphénols.....	21
III.4. Biosynthèse des composés phénoliques.....	22
III.4.1. Voie de l'acide shikimique.....	22

III.4.2. Voie de l'acétate / malonate.....	23
III.5. L'activité biologique des composés phénoliques.....	23
III.6. Valorisation de sous-produits oléicoles.....	25

2^{ème} Partie : Partie expérimentale

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériels.....	27
----------------------------	-----------

I.2.1. Méthodes expérimentales réalisées à l'EPH de DRAA-EL-MIZANE.....

I.2.1.1. Echantillonnage.....	32
I.2.1.2. Examen macroscopique des urines.....	33
I.2.1.3. Examen microscopique – cytologique.....	33
I.2.1.4. Bandelette urinaire (labstix).....	34
I.2.1.5. Examen bactériologique : étude cytobactériologique des urines.....	34
I.2.1.6. Identification des germes responsables d'infection urinaire.....	35
I.2.1.7. Antibiogramme.....	38

I.2.2. Méthodes expérimentales réalisées à l'Université Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU.....

I.2.2.1. Extraction des polyphénols des feuilles du géranium et de l'ortie.....	39
I.2.2.2. Analyse quantitative des échantillons.....	41
I.2.2.2.1. Rendement d'extraction.....	41
I.2.2.2.2. Dosage des phénols totaux des feuilles du géranium, d'ortie et de margine.....	42
I.2.2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne.....	42
I.2.2.3.1. Méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé.....	43
I.2.2.3.2. Détermination des paramètres d'inhibition (CMI et CMB).....	43
I.2.2.4. Evaluation de l'activité antibiofilm.....	44
I.2.2.4.1. Méthode de la microplaque à 96 puits.....	44
I.2.2.4.2. Méthode du cathéter urinaire.....	45

II. Résultats et Discussion

II.1. Première partie.....	46
II.1.1. Analyse statistique.....	46
• Répartition de l'infection urinaire selon le germe causal.....	46
• Répartition des cas positifs selon le sexe.....	49
• Répartition des cas d'infection urinaire selon l'âge.....	51
II.1.2. Résultat de l'antibiogramme des souches sélectionnées.....	52
II.2. Deuxième partie.....	54
II.2.1. Rendement d'extraction.....	54
II.2.2. Résultats des dosages de PPT des extraits de feuilles d'ortie et de géranium et les margines.....	55
II.2.3. Résultats de l'activité antimicrobienne.....	59
II.2.4. Résultats des paramètres d'inhibitions.....	66
II.2.5. Activité antibiofilm.....	69
Conclusion et perspectives.....	76

Références bibliographiques

Annexes

LISTE DES ABREVIATIONS

- ADN** : Acide désoxyribonucléique
- ADH** : Arginine déshydrogénase
- AG** : Acide gallique
- AT** : Acide tannique
- BGN** : Bactérie Gram Négatif
- BH** : Brain heart
- BHIB** : Bouillon cœur cervelle
- BMH** : Bouillon Müller Hinton
- CP** : Composé phénolique
- CMB** : Concentration Minimal Bactéricide
- CMI** : Concentration Minimal Inhibitrice
- DMSO** : Diméthylsulfoxyde
- DO** : Densité optique
- ECBU** : Etude cytobactériologique des urines
- EM** : Extrait de malt
- EPH** : Etablissement Public Hospitalier
- EAEFG** : Extrait de feuille de géranium à l'acétate d'éthyle
- EEFG** : Extrait de feuille de géranium à l'éthanol
- EAEFO** : Extrait de feuille d'ortie à l'acétate d'éthyle
- EEFO** : Extrait de feuille d'ortie à l'éthanol
- EMADpH₂** : Extrait de margine à l'acétate d'éthyle delipidé, pH₂
- EMApH₂** : Extrait de margine à l'acétate d'éthyle, pH₂
- EMAND** : Extrait de margine à l'acétate d'éthyle non delipidé
- IpH** : Indicateur du potentiel d'hydrogène
- IU** : Infection urinaire

LDC : Lysine décarboxylase

LPS: Lipopolysaccharides

ONPG: Ortho-Nitro-Phénol-Galactosidase

ODC: Ornithine décarboxylase

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PPT : Polyphénols totaux

pH : Potentiel d'hydrogène

QS : Quorum sensing

RAISIN : Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales

RM : Rouge de méthyle

R² : Coefficient de corrélation

SU : Sonde urinaire

SD : Déviation standards

TDA : Tryptophane désaminase

UFC : Unité Formant Colonie

VP : Vogues Proskauer

V/V : Volume / volume

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. les constituants normaux et anormaux de l'urine (RENE, 2008).....	4
Tableau II. Les principales classes des composés phénoliques (BAHAZ et RACHDI, 2010).....	21
Tableau III. Activités biologiques des composés poly-phénoliques. (BESSAS <i>et al</i> , 2008 ; FERHAT <i>et al</i> , 2009).....	25
Tableau IV. Les appareils et milieux de culture utilisés dans notre étude.....	27
Tableau V. Les réactifs et les solutions utilisées dans notre étude.....	29
Tableau VI. Les produits chimiques utilisés.....	30
Tableau VII. Les souches utilisées dans notre étude.....	31
Tableau VIII. Interprétation des résultats d'ECBU.....	34
Tableau IX. Caractères morphologiques et biologiques de quelques germes.....	37
Tableau X. Caractères biochimiques des germes Gram+ isolés.....	38
Tableau XI. Représentation des dilutions de la détermination des CMI.....	44
Tableau XII. Répartition des ECBU effectués sur des personnes hospitalisées.....	46
Tableau XIII. Germes responsables d'infection urinaire.....	47
Tableau XIV. Répartition des cas positifs d'ECBU selon le sexe.....	49
Tableau XV. Répartition des cas positifs d'ECBU selon l'âge.....	51
Tableau XVI. Résistance et sensibilité des entérobactéries sélectionnées des ECBU vis-à-vis des antibiotiques.....	52
Tableau XVII. Résultats du dosage des PPT des extraits de margines : exprimée en µg/ml, les valeurs sont la moyenne de 2 essais ± SD.....	58
Tableau XVIII. Diamètres des zones (mm) d'inhibitions (moyenne ± SD) provoquées par les extraits de feuilles d'ortie et de géranium et leurs sensibilités.....	60
Tableau XIX. Diamètres des zones d'inhibitions et sensibilité des espèces aux extraits de margines. (Moyenne ± SD).....	62

Tableau XX. Diamètres des zones (mm) d'inhibitions (moyenne \pm SD) exprimées par le composé phénolique AT et sensibilité des espèces vis-à-vis de ce CP.....	65
Tableau XXI. Résultats des CMI exprimées en $\mu\text{g/ml}$ retenues par l'AT.....	66
Tableau XXII. Résultats des CMI exprimées en $\mu\text{g/ml}$ retenues par les extraits de margines.....	67
Tableau XXIII. Les CMB et la nature de l'activité obtenue par les différents extraits.....	68
Tableau XXIV. Les pourcentages d'inhibitions de l'activité antibiofilm obtenu par l'AT et les margines sur microplaque 96 puits après révélation au CV.....	71
Tableau XXV. Pourcentages d'inhibitions de l'activité antibiofilm retenus par l'AT sur CU après révélation au CV.....	74

LISTE DES FIGURES

Figure 01. Anatomie de l'appareil urinaire (ANTILLES, 2004).....	3
Figure 02. Représentation schématique des différentes étapes conduisant à la formation d'un biofilm (FILLOUX et VALLET, 2003).....	16
Figure 03. Mécanisme de la formation du biofilm sur une sonde urinaire (JACOBSEN, 2008).....	19
Figure 04. Biosynthèse des composés phénoliques les plus largement distribués par la voie de shikimate (Crozier <i>et al</i> , 2006). PAL : phénylalanine ammonia-lyase ; C4H : cinnmate 4-hydroxylase.....	23
Figure 05. Effets biologiques des polyphénols (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002).....	24
Figure 06. Valorisation de sous-produits oléicoles (DERMECHE <i>et al</i> , 2013).....	26
Figure 07. Protocole d'extraction des composés phénoliques par les solvants organiques.....	39
Figure 08. Protocole d'obtention des polyphénols à partir des margines.....	40
Figure 09. Protocole d'extraction des polyphénols des margines après délipidation (Modifié).....	41
Figure 10. Protocole du dosage des polyphénols (modifié).....	42
Figure 11. Rendement en (%) des extraits bruts de feuilles d'ortie et de feuilles de géranium.....	54
Figure 12. Courbe d'étalonnage pour le dosage des PPT en équivalent d'AG.....	56
Figure 13. Teneur en PPT des extraits de feuilles d'ortie et de géranium.....	56
Figure 14. Test de l'activité antibiofilm de l'AT et des margines (EMADpH ₂) sur microplaque 96 puits.....	69
Figure 15. Test de l'activité antibiofilm de l'AT et des margines (EMApH ₂) sur microplaque 96 puits.....	70

INTRODUCTION

Les microorganismes sont impliqués dans un grand nombre de maladies et sont responsables de la détérioration d'une vaste variété de produits. Malgré les grands progrès dans la compréhension de la pathogenèse microbienne, les maladies infectieuses, y compris urinaires, continuent à poser de sérieux problèmes de santé publique surtout dans les pays en voie de développement. L'infection urinaire est l'une des infections les plus rencontrées en milieu hospitalier, elles sont classées en deuxième rang après les infections respiratoires. Durant les 20 dernières années, il a été prouvé que l'efficacité des antibiotiques sont fortement diminués, les bactéries sont devenues de plus en plus résistantes (ISERIN, 2001 ; MATYAR *et al*, 2008). En effet, l'apparition de la résistance aux antibiotiques constitue un problème mondial de santé publique dont les principaux facteurs sont l'usage extensif et le mauvais suivi des traitements par l'homme (HAMILTON-MILLER et SHAN, 2004). Néanmoins, une meilleure utilisation des antibiotiques ne pourra que ralentir l'extension des résistances et la découverte de nouvelles molécules actives reste une nécessité.

Selon les statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population mondiale a eu recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire des besoins en soins de santé primaire. D'ailleurs la pharmacopée humaine est riche d'un répertoire de pas moins de 20000 espèces dont 50% sont utilisées en industrie pharmaceutique (ANONYME, 2011). De ce fait, plusieurs progrès scientifiques qui sont à la recherche de nouveaux agents antimicrobiens commencent à porter une attention particulière aux végétaux.

L'Algérie possède un climat variable qui favorise le développement d'une flore riche et diversifiée. En effet, le territoire Algérien couvre d'importantes ressources végétales réparties sur les côtes, les plaines, les montagnes, la steppe, le Sahara. Elles représentent un réservoir immense de composés potentiel attribués en métabolites secondaires qui sont de grandes diversités de structure chimique et possèdent une très large activité biologique. Cependant, l'évolution de ces activités demeure une tâche très intéressante qui peut faire l'intérêt de nombreuses études. Beaucoup d'études épidémiologiques ont démontré qu'une alimentation riche en aliment d'origine végétale réduit considérablement plusieurs maladies comme les accidents cardiovasculaires et certains types de cancer (DAUCHET *et al*, 2005). Les éléments préventifs des aliments d'origines végétales sont dû à la présence de vitamines C, E et A de caroténoïde et des composés phénoliques (GUO *et al*, 2003).

Diverse procédures de recherche des molécules bioactives ont mis l'accent sur la valorisation des margines qui constituent un problème majeur de pollution environnementale. Les margines sont riches en éléments nutritifs minéraux et organiques (BOUKNANA *et al*, 2014) ainsi qu'en polyphénols qui se caractérisent par leur pouvoir antimicrobien (LARIF *et al*, 2013). Les composés phénoliques des margines sont très divers et leur structure est très variable. Ils proviennent de l'hydrolyse enzymatique des glucides et des esters de la pulpe d'olive au cours du processus d'extraction.

L'objectif de notre travail sera consacré à l'étude statistique des infections urinaires ainsi que la valorisation de la biodiversité de notre région à travers l'évaluation de l'activité antimicrobienne et antibiofilm des polyphénols totaux des extraits d'ortie, géranium et des

sous produits oléicole vis-à-vis des entérobactéries et des *Candida* issus des examens cyto bactériologiques des urines des personnes hospitalisées.

Ce manuscrit comporte deux parties :

La première partie est consacrée à une étude bibliographique. Le premier chapitre décrira les différents types des infections urinaires, un second chapitre donnera quelques notions sur les biofilms bactériens et le troisième chapitre donnera un aperçu sur les polyphénols et leurs modes d'actions.

La seconde partie sera réservée à la présentation du matériel et méthodes ainsi que les résultats de nos travaux expérimentaux que nous subdiviserons encore en deux parties. Le résultat et la discussion de chaque expérimentation seront exposés dans le dernier chapitre.

partie
bibliographique

Chapitre I

Les infections urinaires

I.1. Anatomie de l'appareil urinaire

I.1.1. Définition de l'appareil urinaire

C'est un ensemble d'organes assurant l'épuration du sang ainsi que la production et l'élimination de l'urine. Le système urinaire est composé de deux reins, deux uretères, la vessie et l'urètre (figure 01).

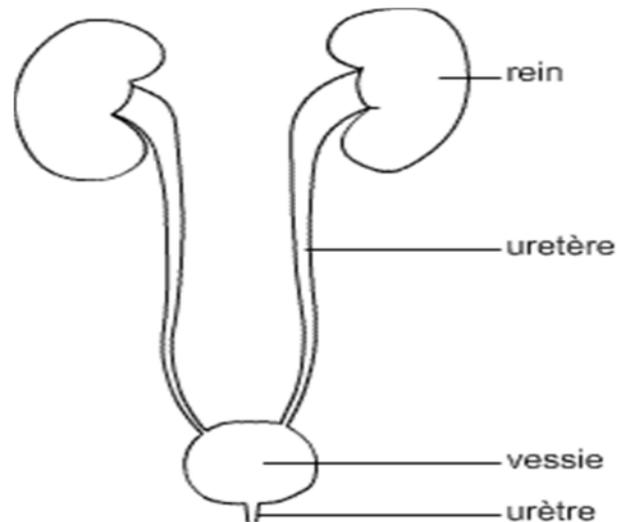


Figure 01. Anatomie de l'appareil urinaire (ANTILLES, 2004).

I.1.2. Haut appareil urinaire

I.1.2.1. Les reins

Les reins sont situés dans la région lombaire de part et d'autre de la colonne vertébrale. Ils sont plaqués contre la paroi abdominale postérieure. Ils ont la forme de l'haricot à grand axe longitudinal, légèrement oblique à l'extérieur. Leur bord interne est concave, le bord externe est convexe (LEILA, 2005). Ils mesurent environ 12 cm de long, 6 cm de large et 3 cm d'épaisseur.

I.1.2.2. Les uretères

Ce sont des conduits musculo-membraneux qui conduisent l'urine des pelvis rénaux à la vessie.

I.1.3. Bas appareil urinaire

I.1.3.1. La vessie

La vessie est un sac musculo-membraneux qui sert de réservoir pour l'urine. Sa taille et sa position varient en fonction de la quantité d'urine et ses rapports aux organes adjacents se modifient avec le remplissage à la fois de la vessie et du rectum (PAN *et al*, 2012).

I.1.3.2. L'urètre

L'urètre est le conduit musculo-membraneux qui fait communiquer la vessie et l'extérieur.

Chez l'homme, il est uro-génital et long, il mesure 25 cm jusqu'au méat externe, sa largeur moyenne est de 7 à 8 mm.

Chez la femme, il est uniquement urinaire et court, il mesure 3 à 4 cm de long et 8 mm de large (LACOMBE, 1989).

I.2. Etude de l'urine

I.2.1. Définition de l'urine

L'urine est un liquide organique de couleur jaune, normalement stérile, limpide, salé, d'odeur spéciale, légèrement acide (pH 5 à 6), de densité de 1,016 à 1,020, produit à raison de 1.5 litres /Jours en moyenne (LACOMBE, 1989 ; BOUGATTOUCHA et BOUDELLAA, 2010).

I.2.2. Composition d'urine

Les éléments figurants d'urine sont représentés dans le tableau I.

Tableau I. composition de l'urine (RENE, 2008).

Constituants de l'urine	Constituants pathologiques de l'urine
Les cellules épithéliales	Les bactéries
Les cristaux : <ul style="list-style-type: none"> • Les cristaux de phosphate amoniac- magnésium et d'oxalate de calcium ; • Les cristaux de cystine ; • Les cristaux d'acide urique. 	Les cylindres <ul style="list-style-type: none"> • Les cylindres granuleux ; • Les cylindres hématiques ; • Les cylindres leucocytaires ; • Les cylindres cireux.
Les cylindres hyalins	Les hématies
	Les leucocytes <ul style="list-style-type: none"> • Polynucléaires ; • Monocytes ; • Lymphocytes.
	Levures
	Parasites
	Virus

I.3. L'infection urinaire

I.3.1. Définitions

L'infection urinaire (IU) est définie par la présence dans les urines, qui sont normalement stérile, des germes à un nombre supérieur ou égal 10^5 germes/ml et des leucocytes en nombre anormalement élevé (KAUNAN, 1988 ; KOUADIO, 1992).

En termes de fréquence, les IU se placent au premier rang des infections nosocomiales et au deuxième rang des infections acquises dans la collectivité après les infections des voies respiratoires (QUERIN et VALIQUETTE, 2000).

Selon CTINILS (Comité Technique des Infections Nosocomiales et des Infections Liées au Soins) (2007), l'infection est dite nosocomiale lorsqu'elle est acquise dans un établissement de santé après au moins 48h d'hospitalisation.

I.3.2. Classification de l'infection urinaire

Selon LOBEL et SOUSSY (2007), les IU sont classées en deux classes selon leur complexité.

I.3.2.1. L'infection urinaire simple

L'IU simple concerne les patients qui ne présentent pas de facteurs de complication. Elle se limite aux femmes jeunes sans facteurs de risque et aux femmes de plus de 65 ans sans comorbidité.

I.3.2.2. L'infection urinaire compliquée

L'IU compliquée concerne les patients qui ont au moins un facteur de complication tel que le diabète, les malformations et la grossesse.

I.3.3. Type d'infection urinaire et diagnostic clinique

Selon BRUYERE *et al* (2008a), et selon le niveau d'atteinte de l'appareil urinaire on distingue les formes suivantes :

I.3.3.1. La cystite

La cystite est loin la forme d'IU la plus courante, elle touche presque uniquement les femmes. Il s'agit de l'inflammation de la vessie, elle s'accompagne toujours d'une urétrite. Elle se manifeste par des brûlures pendant les mictions et des besoins fréquents d'uriner. Les urines sont parfois troubles, hémorragiques et/ou malodorantes. Il existe souvent une douleur ou une pesanteur dans le petit bassin.

I.3.3.2. L'urétrite

C'est l'infection qui touche uniquement l'urètre on l'appelle urétrite. Il s'agit d'une infection transmissible sexuellement courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir.

I.3.3.3. La prostatite

La prostatite signifie simplement une inflammation du tissu prostatique, c'est une infection survenant en particulier chez l'homme. La prostatite s'accompagne pratiquement d'une cystite associée. Elle se traduit par des brûlures en urinant, des besoins fréquents et des faibles volumes urinés. Existente également une fièvre élevée, des frissons et parfois des signes grippaux (douleurs musculaires ou articulaires). Il peut exister un écoulement de pus par le méat urétral. L'urine peut être trouble et malodorante.

I.3.3.4. La pyélonéphrite

La pyélonéphrite est une affection plus grave, elle signifie l'inflammation du bassinet et du parenchyme rénal et de sa voie excrétrice. Celle-ci résulte généralement d'une infection bactérienne. Il peut s'agir d'une complication d'une cystite non traitée ou mal traitée qui conduit à la prolifération des bactéries de la vessie vers les reins. La pyélonéphrite est responsable de signes généraux: fièvre élevée (39°- 40°), frissons, altération de l'état général.

I.3.4. Transmission

Selon KOUADIO (1992), La transmission de l'IU se fait soit par contact direct ou indirect

I.3.4.1. Par contact direct

Cette transmission est due aux mains du personnel soignant porteur de germes provenant d'autres malades.

Les bactéries étant introduites dans la vessie à l'occasion de différents gestes : lavages vésicaux, déconnexions intempestives du montage entre la sonde et le système de drainage.

I.3.4.2. Par contact indirect

Les objets contaminés, les aliments, les liquides de perfusion et les solutions d'antiseptiques contaminées sont à l'origine de la transmission indirecte de l'IU.

I.3.5. Physiopathologie

L'appareil urinaire est un système clos et stérile. Seuls les derniers centimètres de l'urètre comportent une flore multiple, digestive, cutanée et génitale.

L'IU est le résultat d'une interaction entre la virulence des germes et les moyens de défense de la muqueuse et de l'hôte.

I.3.5.1. Voies d'accès

Les voies d'accès peuvent se faire par voie ascendante (la plus fréquente) ou hématogène, enfin, par la voie lymphatique.

I.3.5.1.1. Voie ascendante

Les microorganismes, vont coloniser la région péri urétrale pour ensuite accéder à la vessie par croissance ascendante dans l'urètre. Si les pathogènes parviennent à surmonter les mécanismes de défense, ils pourront atteindre la vessie et le rein (BOULARD et RAVUSSIN, 1992 ; LOBEL et SOUSSY, 2007).

I.3.5.1.2. Voie hématogène

Dans de rares cas, une IU peut plutôt résulter de l'insémination hématogène ou de la transmission contiguë des tissus infectés adjacents (ANINCH et TANAGHO, 1991 ; BRUYERE *et al*, 2008a).

I.3.5.1.3. Voie lymphatique

La voie lymphatique est rare, mais les germes infectieux peuvent gagner la vessie et la prostate par les lymphatiques du rectum et du colon chez l'homme et les voies urogénitales féminines par les lymphatiques utérins (ANTOINE, 1976 ; ANINCH et TANAGHO, 1991).

I.3.6. Mécanisme de défense contre les infections urinaires

Les différents mécanismes de défense contre les IU sont résumés comme suite :

- La longueur de l'uretère chez l'homme (LOBEL et SOUSSY, 2007);
- Les caractéristiques physicochimiques de l'urine : Forte concentration en urée, acides organiques, pH acide, osmolarité (JOHNSON, 1991 ; SCHAEFFER, 1997 ; TOSTAIN *et al*, 1999) ;
- Le flux urinaire intervient également comme mécanisme de défense naturel. La miction permet en effet d'éliminer les bactéries (CARON, 2003) ;
- Protéine de Tamm-Horsfall (JOHNSON, 1991), il s'agit d'une glycoprotéine soluble riche en résidus mannose qui va donc fixer les bactéries possédant des pili de type I et ainsi permettre leur élimination lors de la miction.
- Exfoliation des cellules infectées ou la couche de muco-polysaccharide sur l'épithélium vésical qui limite l'adhérence des bactéries ;
- Les sécrétions prostatiques qui ont des propriétés antibactériennes (présence de Zinc) (BRUYERE *et al*, 2008 b ; BRUYERE, 2010), elles permettent d'inhiber la croissance des bactéries.
- Les effecteurs de la réponse immunitaire sont un mécanisme de défense spécifique de l'organisme (TOSTAIN *et al*, 1999).

I.3.7. Facteurs favorisant la survenue d'infection urinaire

I.3.7.1. Facteurs liés à la bactérie

- Les antigènes de Paroi (ANINCH et TANAGHO, 1991).

Les antigènes de la paroi bactérienne ont été les premiers incriminés à rendre la bactérie plus résistante à la phagocytose et à l'action du complément.

Plus de 150 souches d'*E. coli* ont été déterminés, La plupart des infections sont dues aux groupes sériques O1, O2, O4, O6, O18 et O75. Ainsi, l'antigène O est considéré comme facteur de virulence.

- Adhésines bactériennes (LECOMTE, 1999).

La colonisation bactérienne des muqueuses dépend de la capacité d'adhésion du germe aux cellules épithéliales. Cette adhésion se fait d'une manière sélective à divers muqueuses et cela au moyen de structures filamenteuses de surface qui sont des prolongements chevelus minuscules appelées pili ou fimbriae, ou au moyen des protéines non filamenteuses de la membrane externe de la paroi appelées Afimbrial Adhésins. Ces adhésines se projettent du corps de la bactérie vers des récepteurs spécifiques à la surface de l'épithélium.

- Acquisition du fer (JOHNSON, 1991).

Certaines bactéries sont des sidérophores. Elles acquièrent le fer de l'hôte au bénéfice de leur croissance et de leur développement et elles codent des systèmes de chélation du fer tels que l'aérobactine. Ce dernier est codé chez *E. coli* par les gènes responsable de la résistance aux antibiotiques.

I.3.7.2. Facteurs liés à l'hôte

- La faible distance entre l'orifice vaginal et anal ainsi que le petit diamètre du l'urètre par rapport à l'homme favorise la colonisation bactérienne (LOBEL et SOUSSY, 2007) ;
- Les frottements sexuelles ainsi que l'utilisation de diaphragme contraceptif ou de spermicide altèrent la flore vaginale normale et favorisent la colonisation et la croissance bactérienne (LOBEL et SOUSSY, 2007 ; CHUNG *et al*, 2010) ;
- Les malformations congénitales (BOILLOT, 2003) ;
- Les modifications physiologiques pendant la grossesse ;
- Déficit en œstrogènes (LOBEL et SOUSSY, 2007) perturbe la flore vaginale ;
- Diminution des sécrétions prostatiques et l'augmentation du volume de la prostate chez l'homme plus de 50 ans (COX, 1998 ; JARDIN et THIOUNN, 2002) ;
- Le sondage urinaire intermittent ou a demeure (LOBEL et SOUSSY, 2007) ;
- Une prise d'antibiotique, quel que soit le motif, déséquilibre la flore périnéale et favorise la colonisation bactérienne (CHUNG *et al*, 2010) ;
- Le diabète (ROSTOKER *et al*, 1991).

I.3.8. Diagnostique des infections urinaires

Le diagnostic repose à la fois sur la clinique, la réalisation d'une bandelette urinaire (BU) et d'un ECBU.

I.3.8.1. Interrogatoire

L'interrogatoire repose sur la recherche :

- Des signes fonctionnels urinaires tels que la fièvre et des brûlures mictionnelles ;
- Des antécédents d'IU et le délai entre chaque épisode, la définition de la récurrence est décrite comme la survenue d'au moins 4 épisodes de cystite par an ;
- Des antécédents médicaux-chirurgicaux : anomalie de l'appareil urinaire, immunosuppression, ménopause.

I.3.8.2. Examens complémentaires

I.3.8.2.1. La bandelette urinaire

Selon GOUDAUT (2008) et RENE (2008), les BU permettent de détecter l'activité leucocyte estérase traduisant la présence de leucocytes et la production de nitrites traduisant une activité bactérienne. Elles recueillent donc des signes indirects d'infection et ont une bonne valeur d'orientation.

- Les règles d'utilisation de la bandelette

Il est important de vérifier avant l'utilisation d'une bandelette, sa date de péremption et de respecter les conditions de conservation (dans un endroit sec et frais, à l'abri de l'humidité, de la lumière, de la chaleur, à température entre 15°C et 30°C, mais hors du réfrigérateur).

Lors de la présence de signes d'IU, il convient de prélever les urines dans un récipient sec et propre puis de tremper la BU dans les urines (1 seconde). Il est conseillé de la maintenir horizontale pour éliminer l'excédent.

- Résultat et interprétation

Il est nécessaire d'attendre au moins une minute pour lire les résultats. Ensuite, il faut comparer les zones réactives avec la gamme colorimétrique présente sur le flacon aux temps indiqués.

- ✓ Une BU est dite négative quand la leucocyturie et les nitrites sont négatifs.
- ✓ Une BU est dite positive si une leucocyturie ou des nitrites sont détectés.

Une bandelette négative permet de dire que l'IU est très peu probable. En revanche une bandelette positive ne suffit pas à affirmer l'IU. Une uroculture est nécessaire.

I.3.8.2.2. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)

ECBU est un élément du diagnostic mais n'est pas un outil de diagnostic absolu. La culture permet de préciser l'espèce bactérienne, de quantifier la bactériurie et d'effectuer un antibiogramme.

L'ECBU impose des techniques de prélèvement rigoureuses, des conditions de conservation et de réalisation précises ainsi qu'une interprétation critique des résultats.

I.3.9. Germes responsables d'infection urinaire

Les principaux germes pathogènes responsables des IU sont :

- **Des bacilles Gram négatifs**

- ✓ Les Entérobactéries : Ils sont responsables de 80 à 90 % des IU.

Les germes les plus fréquemment en cause sont:

- *Escherichia coli* (80 % des IU communes de la femme), *Citrobacter*, *Proteus*, *Klebsiella pneumoniae*.

Les germes des infections hospitalières sont par ordre de fréquence :

-*Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia*, *Proteus*.

- ✓ Les bactéries Gram négatif non Entérobactéries

- *Pseudomonas aeruginosa* : fréquemment isolé, il pose souvent un problème de traitement du fait de sa multirésistance aux antibiotiques ;

- *Acinetobacter* : bactérie opportuniste dont le rôle dans les infections nosocomiales va croissant.

- **Les cocci Gram positifs**

Ils sont responsables de 5 à 10 % des infections. Ce sont:

- les Entérocooccus : *E. faecalis*

- *Streptococcus* du groupe D, G le plus souvent et B

- *Staphylococcus aureus* ou *Staphylococcus epidermidis*.

- **Champignons**

Dans certaines circonstances des levures représentent une infection réelle des voies urinaire, les deux principaux organismes pathogènes sont le *Candida albicans* et plus rarement le *Candida tropicalis*.

Les *Candida* sont des commensaux naturels du tube digestif, de la peau et de l'appareil génital chez la femme. L'atteinte rénale se fait habituellement par voie hématogène à l'occasion d'une candidémie, La cystite à *Candida* se développe par voie ascendante.

- **Parasites**

La vessie et les uretères peuvent être envahis par un parasite, le *Schistosoma haematobium*. La schistosomiase urinaire est causée par une réaction granulomateuse aux œufs déposés dans la paroi urétérale et vésicale.

Chapitre II
Les biofilms

II.1. Définition du biofilm

Le terme biofilm étymologiquement parlant vient du grec «bios» et de l'anglais «film» qui signifie pellicule (COSTERTON, 1999).

Le biofilm est défini comme un ensemble de cellules microbiennes agrégées, il peut être constitué d'une ou plusieurs espèces différentes de microorganismes (BEHLAU et GILMORE, 2008), il se fixe à une surface inerte ou vivante et réunie au sein d'une matrice d'exo-polysaccharide adhésive autoproduite et protectrice qu'il secrète (DUNNE, 2002 ; COOPER et OKHIRIA, 2006 ; HALL-STOODLEY *et al*, 2012). Le biofilm constitue le mode de vie majoritaire des microorganismes par opposition à l'état planctonique (STOODLEY *et al*, 2002 ; VAN HOUTDT et MICHIELS, 2005).

II.2. Facteurs favorisant la formation d'un biofilm

II.2.1. Caractéristiques de la surface

a) Rugosité de la surface

Plus une surface est rugueuse, plus la colonisation est importante (CHARACKLIS et MARSHALL, 1990). Les forces répulsives sont moindres et la surface de fixation est augmentée, grâce à la présence d'aspérités (DONLAN, 2002). Néanmoins, certaines souches sauvages de bactéries colonisent aussi des surfaces lisses (DONLAN et COSTERTON, 2002). Les biofilms auront ainsi tendance à se former au niveau des aspérités des matériaux (BALABAN *et al*, 2003 ; ESPINASSE *et al*, 2010).

b) Propriétés physico-chimiques de la surface

Les microorganismes se fixent plus facilement à des surfaces hydrophobes et non polarisées comme le Téflon ou d'autres matières plastiques, que sur des matériaux hydrophiles comme le verre ou les métaux (BENDINGER *et al*, 1993).

c) Présence de films protéiques sur la surface

La présence préalable sur un biomatériau d'un film protéique comme le sang, les larmes, l'urine...etc. favorise la formation de biofilm (MITTELMAN, 1996).

II.2.2. Caractéristiques du milieu

La formation et la dispersion d'un biofilm nécessitent des équipements enzymatiques précis et des entités structurales particulières, dont l'activation dépend de facteurs environnementaux clefs (FLETCHER *et al*, 1993 ; DAVEY et O'TOOLE, 2000 ; DONLAN, 2002 ; MARTINEZ et CASADEVALL, 2007 ; GOLLER et ROMEO, 2008).

a) Température

La température affecte l'activité métabolique et enzymatique des bactéries, influence certains paramètres physicochimiques et elle a un effet significatif sur la mobilité électrophorétique cellulaire et la production de flagelles et, ainsi sur l'adhésion (DUMAS, 2007).

b) pH

Le pH du milieu environnant modifie la charge de surface des microorganismes ainsi que celle des supports solides (HAMADI *et al*, 2004), ce qui peut avoir comme conséquence une réduction ou une augmentation des interactions électrostatiques répulsives défavorables à l'adhésion (BOUTALEB, 2007).

c) Hydrodynamique du fluide

Selon DONLAN (2002), Les zones qui sont moins soumises aux forces exercées par les fluides favorisent la formation du biofilm.

d) Concentrations en nutriments et de cations

La concentration en nutriments doit être élevée pour qu'il puisse y avoir formation d'un biofilm dans un milieu statique mais ce n'est pas le cas pour un milieu hydrodynamique (SPORMANN, 2008). D'après FLETCHER (1993), l'augmentation de la concentration de plusieurs cations réduit les forces répulsives s'exerçant entre les bactéries chargées négativement et la surface de verre.

II.2.3. Propriétés des cellules

L'hydrophobicité de la surface de la cellule, la présence de fimbriaes et de flagelles, et la production d'exo-polysaccharide influencent l'attachement des bactéries sur une surface (REIFSTECK *et al*, 1987 ; BELLON-FONTAINE *et al*, 1996 ; DONLAN, 2002). L'adhésion des bactéries résulte d'une combinaison de forces de Van der Waals, de forces électrostatiques, de propriétés acide-base de Lewis et de liaisons hydrophobes (BELLON-FONTAINE *et al*, 1996 ; BRIANDET, 1999 ; KREPSKY *et al*, 2003).

II.3. Etapes de formation des biofilms

Les biofilms bactériens isolés de divers environnements partagent des caractéristiques communes. La formation d'un biofilm bactérien sur une surface solide est un phénomène complexe dans lequel des processus physiques, chimiques et biologiques sont impliqués (CHARACKLIS et MARSHALL, 1990 ; LAPPIN-SCOTT et COSTERTON, 1995). On distingue généralement 5 étapes de formation d'un biofilm (figure 02).

II.3.1. Transfert des bactéries vers le support

Les bactéries ne peuvent pas orienter leur déplacement vers les surfaces à coloniser sur de longues distances. Elles peuvent par contre reconnaître des changements dans leur environnement chimique, notamment à proximité d'une surface ou interface (COSTERTON, 1999). L'interaction bactérie-surface est influencée par une étape préalable de transfert vers la surface cible. Les bactéries peuvent entrer en contact avec le support grâce à différents moyens : diffusion passive résultant des mouvements Browniens, transport passif via le fluide circulant, ou mouvements actifs grâce à des structures telles que les flagelles.

II.3.2. Adhésion initiale

L'adhésion initiale dépend des propriétés dynamiques du milieu et des propriétés physico-chimiques de la surface (KATSIKOIANNI *et al*, 2004). Elle nécessite différents appendices bactériens, tels que les flagelles, les cils (O'TOOLE et KOLTER, 1998 ; GAVIN *et al*, 2003). D'autres appendices, les pili sont pour leur part impliqués dans l'attachement initial à la surface (FLETCHER *et al*, 1993 ; MCBRIDE, 2001). Ce qui entraîne soit une fixation définitive grâce à cette fixation et la production de l'exo-polysaccharide, soit un retour à la phase planctonique (CAIAZZA et O'TOOLE, 2004). Les cellules attachées de manière temporaire adhèrent souvent par un de leurs pôles (HINSA *et al*, 2003 ; CAIAZZA et O'TOOLE, 2004 ; AGLADZE *et al*, 2005).

II.3.2.1. Adhésion initiale réversible

Cette approche des microorganismes vers le support conduit à un attachement transitoire pendant lequel la bactérie va chercher à «évaluer» la surface sur laquelle elle se trouve. Les cellules bactériennes établissent un premier contact avec la surface et interagissent avec le film conditionnant. Cette adhésion réversible est caractérisée par l'adsorption faible des cellules bactériennes sur la surface par des liaisons chimiques non covalentes. Ces liaisons entre la cellule et la surface d'attachement sont de type Van der Waals, électrostatiques répulsives, ou encore acide-base de Lewis dans ce cas la bactérie peut alors être enlevée facilement par simple rinçage (CHMIELEWSKI et FRANK, 2003). Elles font intervenir des macromolécules de surface, regroupées sous le terme d'adhésines (COSTERTON *et al*, 1978; COSTERTON *et al*, 1981), telles que des flagelles, des pili de type I et IV, des curli, des protéines, des polysaccharides ou encore des lipopolysaccharides (LPS).

II.3.2.2. Adhésion initiale irréversible

L'adhésion irréversible, quant à elle, correspond à une fixation active et spécifique des microorganismes sur une surface. Les structures d'adhésion varient selon les types de microorganismes concernés. Pour les bactéries à Gram-négatif, il s'agit des pili, des curli, des capsules et du glycocalix. Pour les bactéries à Gram-positif, ce sont les acides teichoïques, l'acide mycolique, la capsule et le glycocalix. Ces molécules d'adhésion permettent d'établir des contacts cellule-surface et des contacts cellule-cellule (LEMON *et al*, 2008). Chez certaines souches de streptocoques, des protéines exprimées à la surface des bactéries, la protéine Bap entre autres, favorisent les contacts entre cellules et contribuent à la synthèse de la matrice extracellulaire (LASA et PENADES, 2006).

Cette étape nécessite des forces plus importantes pour retirer les bactéries. L'adhésion irréversible résulte de l'ancrage d'adjonction et/ou la production de polymère extracellulaire. Elle est caractérisée par des interactions de haute énergie (FILLOUX et VALLET, 2003).

II.3.3. colonisation de la surface

L'étape de colonisation consiste en une accumulation plus ou moins intense et rapide par division cellulaire des bactéries adhérees, mais aussi par recrutement continu de bactéries planctoniques. Ce processus correspond donc à une occupation progressive de la surface disponible (colonisation horizontale) et à un développement en épaisseur, conduisant à la formation typique de micro-colonies (CAPDEVILLE et NGUYEN, 1990).

II.3.4. Maturation du biofilm

Un biofilm est approximativement constitué de 85% de matrice extracellulaire et de 15% de microorganismes (BEHLAU et GILMORE, 2008). La biomasse adhéree est caractérisée par un taux de croissance faible qui selon certains auteurs (NGUYEN *et al*, 1989 ; JACQUELIN *et al*, 1994) serait corrélé à l'existence d'une masse active en « surface » du biofilm et d'une masse peu active à l'intérieur du biofilm. La structure du biofilm dépend des conditions environnementales telles que la source de carbone ou le régime hydrodynamique (STANLEY *et al*, 2003 ; KLAUSEN *et al*, 2006). Le biofilm augmente de son épaisseur jusqu'à former un film hétérogène tridimensionnel (LAPPIN-SCOTT et COSTERTON, 1995 ; DAVEY et O'TOOLE, 2000 ; STOODLEY *et al*, 2002). Dans cette structure tridimensionnelle se forment des canaux permettant la circulation de nutriments (COSTERTON *et al*, 1999), d'oxygène et l'évacuation des produits issus du métabolisme bactérien (FILLOUX et VALLET, 2003 ; TENKE *et al*, 2004).

Le transfert horizontal des germes conduit à la propagation des gènes de résistances aux antibiotiques.

II.3.4. Dispersion du biofilm

Les microorganismes se détachent seul en petit ou grand amas selon le mécanisme impliqué (KAPLAN, 2010), la dispersion du biofilm intervient lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables (STOODLEY *et al*, 2002). Ce phénomène se fait soit par un processus passif sous l'effet de force de cisaillement engendré par un flux (PARSEK et SINGH, 2003), soit par une séparation active suite à la dissolution de la matrice par des enzymes hydrolytiques sécrétées par les microorganismes eux-mêmes comme cela a été montré pour les bactéries (PARSEK et SINGH, 2003).

La mort des cellules du biofilm fait aussi partie du processus de renouvellement et de dispersion de la biomasse. Un mécanisme original régissant l'autorégulation de la population des biofilms est proposé par WEBB *et al* (2003). Cette étape correspond aussi à la phase de dispersion, les microorganismes peuvent activement se séparer du biofilm parfois consommant la matrice qui représente une source d'énergie. Ces microorganismes retournent à l'état de libre circulation et peuvent aller coloniser de nouvelles surfaces ainsi le cycle continu (SREY *et al*, 2013).

Les bactéries peuvent alors migrer afin de trouver un environnement plus favorable à leur développement et coloniser à nouveau d'autre surface.

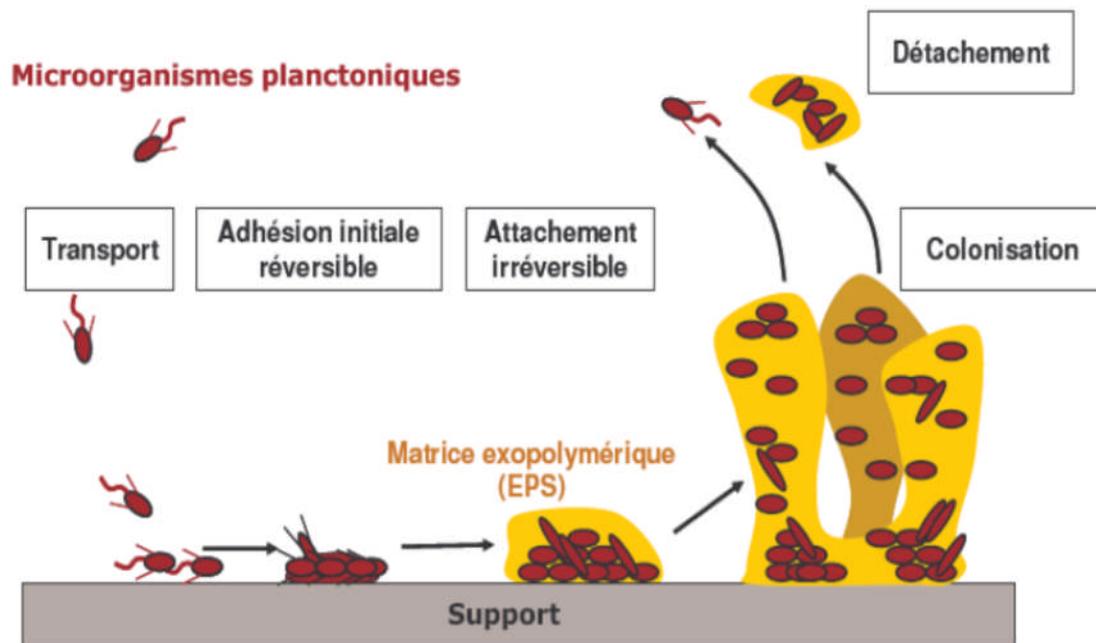


Figure 02. Représentation schématique des différentes étapes conduisant à la formation d'un biofilm (FILLOUX et VALLET, 2003).

II.4. avantages et conséquences du mode de vie d'un biofilm

II.4.1. Coopération métabolique

Selon ZOBELL (1943), les bactéries du biofilm accèderaient plus facilement aux nutriments que les bactéries planctoniques. Des études montrent que la formation des biofilms dépend de l'accessibilité des bactéries aux nutriments car dans des conditions pauvres en nutriments, les bactéries seraient sous forme planctonique afin de se diriger vers des environnements plus favorables (STANLEY et LAZAZZERA, 2004).

II.4.2. Signalisation au sein du biofilm

La densité des bactéries et leurs contacts cellulaires facilitent la communication intercellulaire via un mécanisme appelé Quorum-sensing (QS) (AHMER, 2004), qui implique la production, la sécrétion et la détection, par les bactéries, de petites molécules signal appelées des auto- inducteurs. Chez les bactéries à Gram négatif, l'auto- inducteur est une homosérine lactone, alors que chez les bactéries à Gram positif, c'est un oligopeptide appelé phéromone. Le QS permet aux bactéries d'adopter un comportement spécifique à la vie en communauté, par régulation de leur expression génétique en réponse à la densité cellulaire via la production d'auto- inducteurs.

Selon CHEN *et al* (2004) la molécule qui exerce un contrôle positif chez *Candida* est une tyrosol, et que celle qui exerce un contrôle négatif est une fumesol (RAMAGE *et al*, 2002).

II.4.3. Transfert d'information génétique au sein du biofilm

Les transferts horizontaux d'information génétique jouent un rôle important dans l'évolution et la diversité génétique des communautés microbiennes. L'un des principaux mécanismes de transfert génétique est celui de la conjugaison qui permet l'échange direct d'ADN par contact physique entre deux cellules via un pilus de conjugaison. Les biofilms, en favorisant le contact des bactéries entre elles, offrent un environnement idéal pour le transfert de gènes par le mécanisme de conjugaison, et de nombreuses études ont montré que la fréquence de transferts génétiques par conjugaison augmentait lorsque les bactéries se développaient sous forme de biofilm (ROBERTS *et al*, 1999 ; BJORKLOF *et al*, 2000 ; GHIGO, 2001).

II.4.4. Protection vis-à-vis des agressions de l'environnement

Les bactéries du biofilm résistent mieux que leurs équivalents planctoniques à diverses agressions extérieures comme les ultraviolets (UV), les changements de pH et d'osmolarité, la prédation et les agents antimicrobiens. Les biofilms tolèrent les antibiotiques à des concentrations 10 à 1000 fois plus importantes que les bactéries planctoniques (CERI *et al*, 1999) il a été proposé que la matrice agisse comme barrière de diffusion à la pénétration de certaines molécules toxiques. La présence de zones peu ou pas oxygénées dans les couches profondes du biofilm, peut également contribuer à la résistance à certains biocides qui peuvent être inactivés dans ces conditions ou qui sont peu efficaces sur les bactéries métaboliquement peu actives. Enfin, de plus en plus d'arguments expérimentaux suggèrent l'existence d'une résistance liée à l'expression de mécanismes génétiques particuliers.

II.5. Rôle des biofilms

Les biofilms peuvent avoir des effets positifs ou négatifs pour l'homme ou ses activités selon leur existence dans l'environnement et les installations.

II.5.1. Rôle négatif

Tout d'abord, dans le secteur médical, les biofilms peuvent entraîner de sévères problèmes de santé lorsqu'ils induisent l'apparition d'espèces pathogènes. Malgré les procédures de nettoyage et de désinfection, les biofilms posent des problèmes divers en médecine : biofilm de bactéries pathogènes se développant dans des systèmes digestifs, urinaires et respiratoire ou contamination d'implants. L'implantation des biofilms dans les réseaux de distribution d'eau est également un des problèmes importants rencontrés dans le maintien de la qualité de l'eau potable (contamination, mauvais goût) (BLOCK *et al*, 1993).

Dans l'industrie agro-alimentaire, les microorganismes font partie intégrante des matières premières utilisées en production. L'un des enjeux majeurs de ce secteur consiste à fournir des denrées de qualité aux consommateurs, tout en assurant la sécurité sanitaire des aliments. C'est pourquoi le contrôle du développement microbien est essentiel dans ce type d'industrie. Ainsi, des procédures de nettoyage et de stérilisation en place sont réalisées

(JULLIEN *et al*, 2002), consistant à faire circuler de l'eau chaude, additionnée ou non de détergents et/ou d'agents désinfectants. Toutefois, de nombreux microorganismes sont capables de se fixer aux surfaces en contact avec les aliments (BRIANDET *et al*, 1999 ; FONNESBECH *et al*, 2001) et de rester viables, du fait de leurs résistance accrue aux produits chimiques. Ils persistent et se développent au sein de l'équipement. Cette contamination peut induire une dégradation des installations, due à la biocorrosion. En outre les cellules remises en suspension lors des phases de production peuvent être à l'origine de la dégradation des propriétés du produit ou rendre l'aliment impropre à la consommation, au risque même de générer des toxi-infections alimentaires.

II.5.2. Rôle positif

Outre tous ces aspects négatifs, qui sont les plus évoqués quand il s'agit de biofilms, des aspects positifs existent. Certaines propriétés bactériennes peuvent être utilement exploitées afin d'en tirer avantage dans de nombreux domaines.

Le plus souvent inoffensives, les biofilms jouent un rôle écologique capital et contribuent très largement au bon fonctionnement de la plupart des écosystèmes en participant notamment au cycle du carbone, de l'eau. D'ailleurs, depuis de nombreuses années, le traitement des eaux usées s'effectue grâce à l'utilisation empirique de l'activité épuratrice des biofilms bactériens. Les biofilms jouent aussi un rôle essentiel dans de nombreux processus : ils contribuent à la production et à la dégradation de la matière organique, au recyclage de l'azote, du soufre et de nombreux métaux. Ainsi la flore commensale humaine peut être considérée comme un biofilm qui protège son hôte contre les attaques des bactéries pathogènes.

Dans l'industrie, les biofilms servent au traitement des déchets par un mécanisme appelé « bioremédiation » (COHEN, 2002). Les microorganismes composants les biofilms peuvent en effet utiliser des matériaux polluants comme source de carbone et d'énergie.

II.6. Régulation de la formation des biofilms

- **Quorum sensing**

Il s'agit de mécanismes de contrôle, grâce à des molécules signales, des processus ayant lieu au sein des cellules, matérialisés par des signaux de cellules à cellules, et dépendant de la quantité de cellules présentes. Ces mécanismes sont basés sur le principe de masse critique (COSTERTON *et al*, 1999). Une fois que les signaux atteignent une valeur seuil, des régulateurs transcriptionnels sont activés et exercent un contrôle sur des gènes spécifiques (COSTERTON, 1999 ; CLUTTERBUCK *et al*, 2007 ; IRIE et PARSEK, 2008).

II.7. Importance clinique des biofilms

Les bactéries profondes sont protégées vis-à-vis des différentes agressions, les bactéries au sein des biofilms limitent la phagocytose et la pénétration des anticorps à l'intérieur du biofilm (COSTERTON *et al*, 1999). Elles sont moins sensibles à leurs homologues

planctoniques vis-à-vis des antibiotiques (BRIDIER *et al*, 2011). L'organisation complexe des biofilms consiste une barrière à l'entrée des antibiotiques et désinfectant mais dans le cas de petite molécule cette dernière peut uniquement ralentir leur passage (LEWIS, 2001).

II.8. Biofilms et infections du tractus urinaire (biofilm et sondes urinaires)

La pose d'une sonde urinaire (SU) est le premier facteur responsable du développement d'une IU (HATT et RATHER, 2008).

Le mécanisme de formation de biofilm sur une SU est simple. Une fois la sonde posée, un film protéique va se déposer à sa surface et favoriser la fixation de microorganismes, et par conséquent entraîner la formation d'un biofilm. Une fois que les bactéries ont colonisé la sonde et l'uro-épithélium, elles doivent s'adapter à l'environnement formé par le tractus urinaire et se procurer des nutriments. La production bactérienne de toxines et d'enzymes dans l'environnement entraîne une dégradation des tissus avoisinants et une libération de nutriments (JACOBSEN, 2008).

Le mécanisme de formation d'un biofilm sur une sonde urinaire est représenté dans la figure 03.

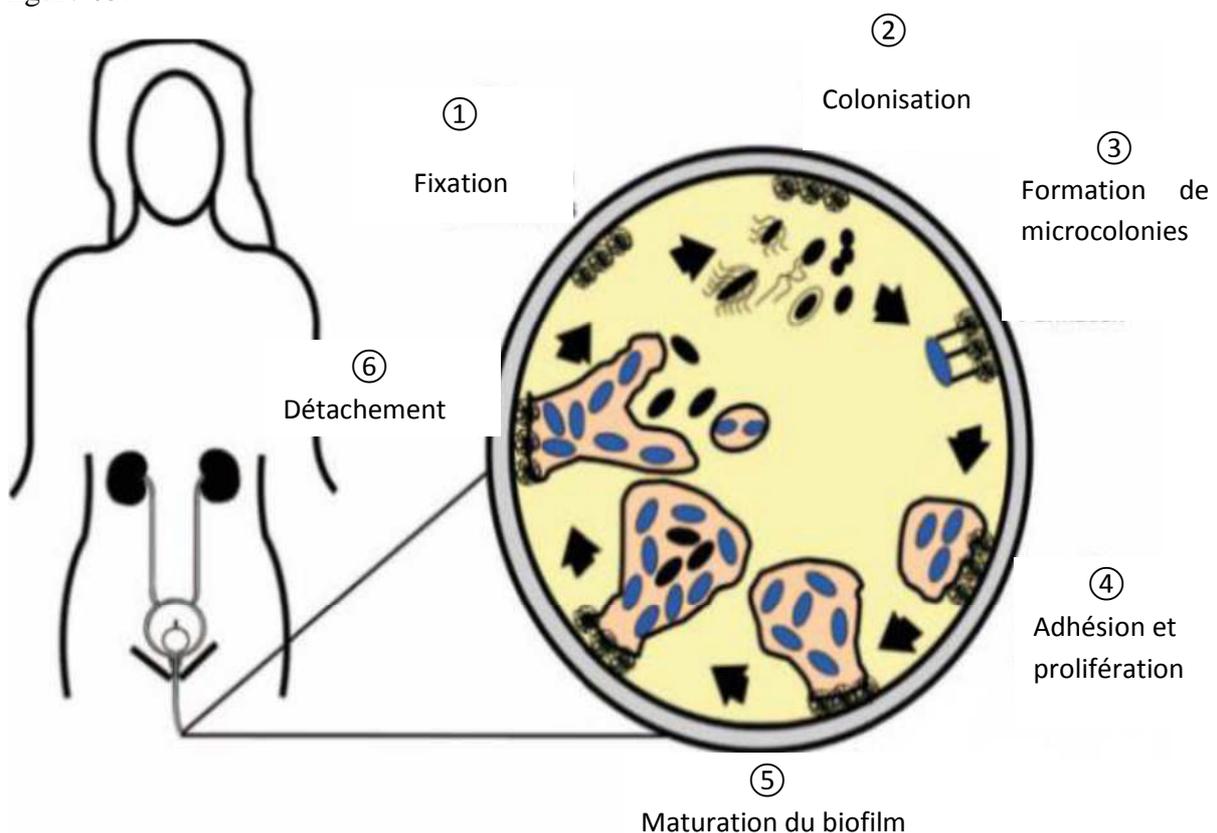


Figure 03. Mécanisme de la formation du biofilm sur une sonde urinaire (JACOBSEN, 2008).

Chapitre III
Les polyphénols

III.1. Généralités sur les polyphénols

Dans le règne végétal les plantes produisent des composés chimiques qui se répartissent en deux groupes : le métabolisme primaire qui comprend les constituants suivants : Les protéides, les acides nucléiques, les glucides, les lipides et le métabolisme secondaire qui est constitué d'alcaloïdes, de stéroïdes, de tanins et de composés phénoliques (CP) (EJEKOUANE et SALAMA, 2010).

Les CP sont des métabolites secondaires végétaux (RIBEREAU GAYON, 1968 ; ABROUMAND et DEOKULE, 2008). Ils peuvent être définis comme des molécules indirectement essentielles à la vie des plantes (d'où la dénomination de métabolites secondaires). Par opposition aux métabolites primaires qui alimentent les grandes voies du métabolisme basal, mais ils sont essentiels dans l'interaction de la plante avec son environnement.

Selon HENNEBELLE *et al* (2004) et OVASKAINEN *et al* (2008), ces composés ont tous en commun la présence d'un ou de plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. La structure des CP naturels varie depuis les molécules simples (acides phénoliques simples) vers les molécules les plus hautement polymérisées (tannins condensés). A l'heure actuelle plus de 8000 structures phénoliques ont été isolées et identifiées (FERGUSON, 2001 ; MARTIN et NDRIANTSITOHAINA, 2002 ; HABAUZIT et HORCAJADA, 2008).

Ces composés sont divisés en plusieurs catégories (DACOSTA, 2003):

- Les flavonoïdes qui représentent plus de la moitié des polyphénols ;
- les tanins qui sont des produits de la polymérisation des flavonoïdes ;
- les acides phénoliques et les coumarines ;
- les lignanes et d'autres classes existent en nombres considérables.

Les polyphénols peuvent constituer des signaux de reconnaissance entre les plantes, ou bien lui permettant de résister à diverses agressions vis-à-vis des organismes pathogènes. Ils participent de manière très efficace à la tolérance des végétaux à des stress variés, donc ces composés jouent un rôle essentiel dans l'équilibre et l'adaptation de la plante au sein de son milieu naturel, d'un point de vue thérapeutique, ces molécules constituent la base des principes actifs que l'on trouve dans les plantes médicinales (MACHEIX *et al*, 2005).

III.2. Source des composés phénoliques

Les CP sont ubiquitaires dans le règne végétal, ils sont présent dans de nombreux aliments, tels que les fruits, les légumes, les céréales ou les fruits secs (BRAVO *et al*, 1994), ainsi que les boissons, comme le vin, le cidre, la bière ou le thé (DUTHIE, 1999 ; KOLESNIKO et GINS, 2001 ; MARTIN et ANDERIZNTSITOHAINA, 2002 ; HALIWELL, 2007). Les plantes aromatiques (DIMITRIOS, 2006).

III.3. Structure et classification des polyphénols

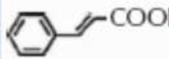
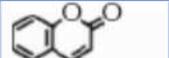
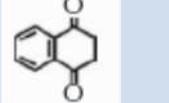
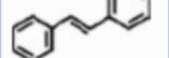
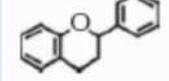
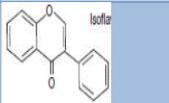
La plupart des CP sont présents conjugués avec un mono ou polysaccharides, liés à un ou plusieurs groupes phénols, ça peut être aussi des dérivations fonctionnelles comme des esters et des méthyles esters.

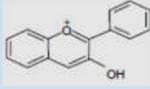
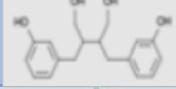
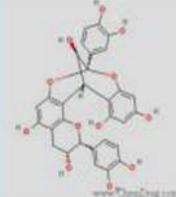
Plusieurs classes de ces composés ont été catégorisées selon leur squelette de base (tableau II).

On distingue trois principales classes :

- les acides phénoliques (acides hydroxybenzoïques, acides hydroxycinamiques);
- les flavonoïdes;
- les tannins et lignanes, ainsi que les coumarines et les Stilbènes qui sont rare.

Tableau II. Les principales classes des composés phénoliques (BAHAZ et RACHDI, 2010).

Composés phénoliques				
Squelette carboné	Classe	Exemple	Formule	Origine
C6	Phénols simples	Hydroquinone		Busserole
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	Acides phydroxybenzoïque		Épice, Fraises
C6-C3	Acides hydroxycinamiques	Acide coumarique		Tomates, ail
	Coumarines	Ombelliférone		Carottes, Coriandre
C6-C4	Naphthoquinones	Juglone		Noix
C6-C2-C6	Stilbénoides	Trans-Resveratrol		Raisin
C6-C3-C6	Flavonoïdes	Kaempférol		Fraises
	Isoflavonoïdes	Daidzéine		Graines de Soja

	Anthocyanes	Delphinidol		Raisin Cabernet- Sauvignon
(C6-C3) ₂	Lignanes	Entérodiol		Bactéries Intestinales
(C6-C3- C6) _n	Tanins condensés	Procyanidol		Raisins, Kaki

III.4. Biosynthèse des composés phénoliques

Les CP sont issus par deux grandes voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la Voie de l'acétate / malonate.

III.4.1. Voie de l'acide shikimique

La voie de l'acide shikimique (figure 04) est la voie la plus importante pour la biosynthèse des composés aromatiques dans les plantes et les micro-organismes, y compris les acides aminés aromatiques : la phénylalanine, la tyrosine et le tryptophane.

Selon BRAVO *et al* (1994) et VISOLI *et al* (2000), cette voie conduit à la formation des oses aux acides aminés aromatiques, par la suite elle conduit après transamination et désamination aux acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques ou les phénols simples.

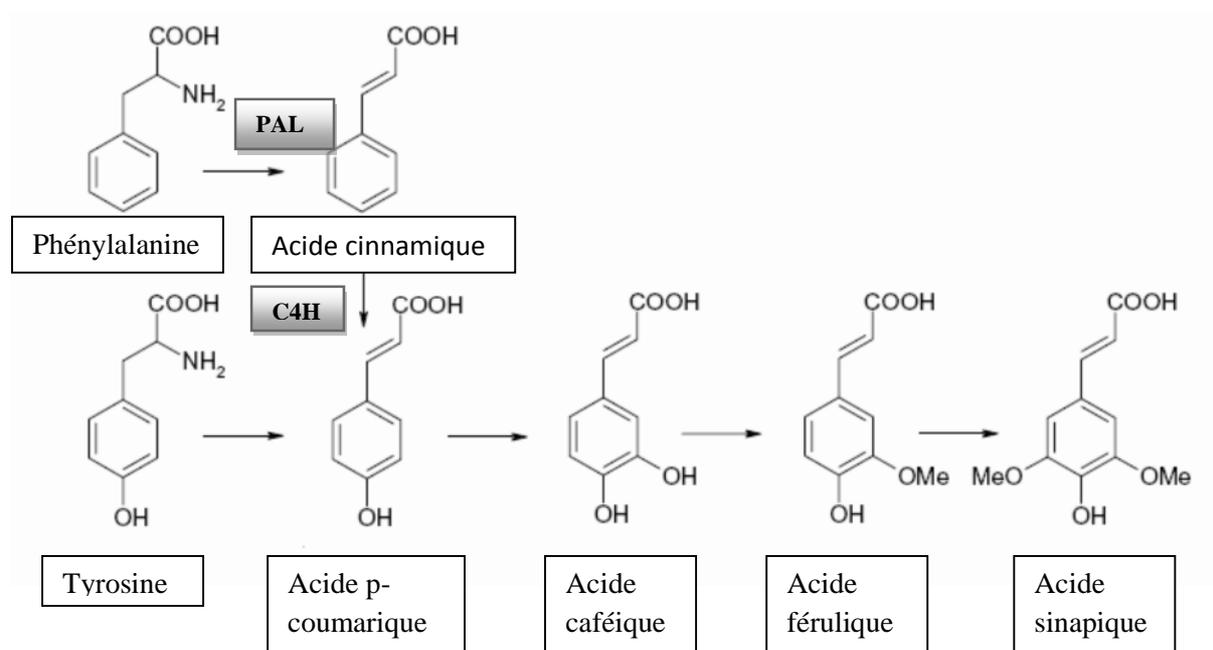


Figure 04. Biosynthèse des composés phénoliques les plus largement distribués par la voie de shikimate (Crozier *et al*, 2006). **PAL** : phénylalanine ammonia-lyase ; **C4H** : cinnamate 4-hydroxylase.

III.4.2. Voie de l'acétate / malonate

Cette voie conduit à des poly β -coésters (poly-acétates) de longueurs variables menant par cyclisation à des composés polycycliques.

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes poly-cétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (AKROUM, 2010).

III.5. L'activité biologique des composés phénoliques

Les polyphénols sont parmi les substances bioactives les plus, thérapeutiquement utiles, en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-inflammatoire, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, cardioprotective et vasodilatatoire (MIDDLETON *et al*, 2000 ; KSOURI *et al*, 2007). Ces effets biologiques sont représentés dans la figure 05.

Cependant, des recherches récentes suggèrent une variété de mécanismes d'action des polyphénols dans la prévention des maladies, qui peuvent être indépendants de leurs activités antioxydantes. En outre, les effets pro-oxydants des polyphénols ont été décrits, comme ayant des propriétés opposées aux processus physiologiques cellulaires : si comme étant des antioxydants, ils améliorent la survie cellulaire ; étant des pro-oxydants, ils peuvent induire l'apoptose et bloquer la prolifération cellulaire.

C'est, principalement, en raison de ces propriétés qu'ils exercent leurs effets protecteurs et reçoivent de plus en plus d'attention comme agents thérapeutiques potentiels contre plusieurs maladies (D'ARCHIVIO *et al*, 2007).

Les effets bénéfiques des polyphénols intéressent particulièrement deux domaines : la phytothérapie et l'hygiène alimentaire (LEONG et SHUI, 2002). D'après les études multiples attestant de l'impact positif de la consommation de polyphénols sur la santé et la prévention des maladies, les industriels commercialisent maintenant des aliments enrichis en polyphénols ou des suppléments alimentaires. De plus, leur activité antioxydante assure une meilleure conservation des denrées alimentaires en empêchant la peroxydation lipidique. Dans l'industrie cosmétique, les CP trouvent leur application pratique en luttant contre la production des radicaux libres néfastes dans la santé et la beauté de la peau. En phytothérapie, même si certaines indications sont communes à plusieurs classes (les propriétés vasculoprotectrices, sont par exemple aussi bien attribuées aux flavonoïdes qu'aux anthocyanes, tanins et autres coumarines), chaque classe chimique semble être utilisée pour des bénéfices spécifiques (HENNEBELLE *et al*, 2004).

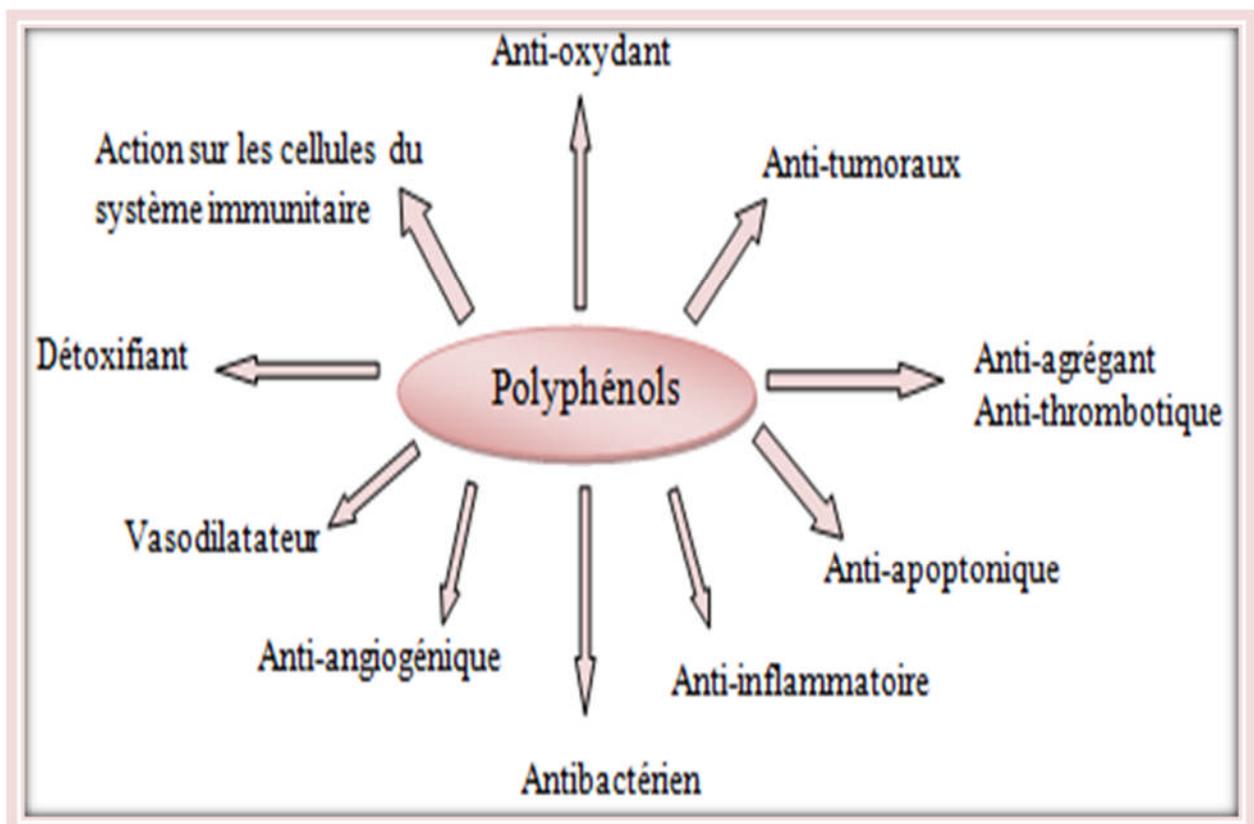


Figure 05. Effets biologiques des polyphénols (MARTIN et ANDRIANTSITOHAINA, 2002).

Le tableau III représente les activités biologiques de quelques composés phénoliques.

Tableau III. Activités biologiques des composés poly-phénoliques. (BESSAS *et al*, 2008 ; FERHAT *et al*, 2009).

Polyphénols	Activités
Acides phénols (cinnamique et benzoïque)	-Antibactériens ; -Antifongiques ; -Antioxydants.
Coumarines	-Vasoprotectrices et antioedémateuses ; -Anti carcinogènes ; Anti mutagènes ; -Digestibilité des protéines.
Flavonoïdes	-Antitumorales ; -Anticarcinogènes ; -Anti-inflammatoires ; -Hypotenseurs et diurétiques ; -Antioxydants.
Anthocyanes	-Protection des veines et capillaires.
Stilbènes	-Inhibent l'oxydation des LDL et l'agrégation des plaquettes ; -Anti carcinogènes, Anti mutagènes.
Tanins	-Anti oxydants, Anti tumoral ; -Digestibilités des protéines.
Lignanes	-Anti carcinogènes, Anti mutagènes.

III.6. Valorisation de sous-produits oléicoles

L'industrie oléicole, en plus de sa production principale qui est l'huile, génère deux résidus l'un liquide (les margines) et l'autre solide (les grignons) qui représentent un pourcentage important du poids total des olives traitées. De plus, l'olivier, à travers la taille engendre des feuilles, des brindilles et du gros bois (NEFZAOU, 1991 ; SAYADI *et al*, 2000). De nos jours, la pollution joue un rôle majeur dans la destruction de la nature. Etant donné que les margines sont considérée comme un polluant de l'industrie oléicole, le plus souvent rejetées dans le milieu naturel, notamment dans les rivières, cela impose des traitements de dépollution et de valorisation. La figure 06 résume les principales voies de valorisation des sous-produits oléicoles (DERMECHE *et al*, 2013).

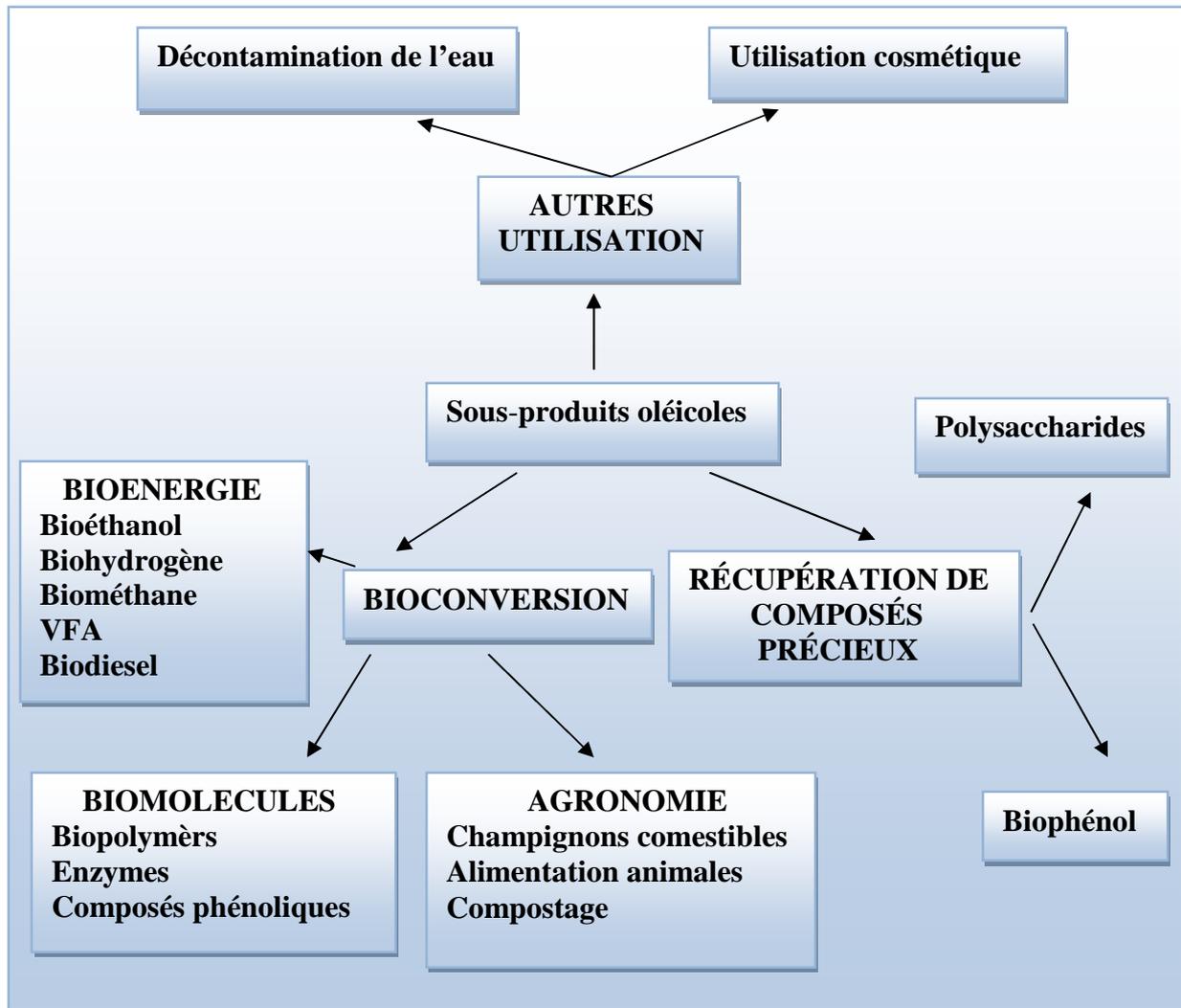


Figure 06. Valorisation de sous-produits oléicoles (DERMECHE *et al*, 2013).

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

Objectifs de l'étude

Notre travail a été effectué en deux parties :

- La première partie a été réalisée au niveau du service de microbiologie de l'établissement public hospitalier (EPH) de DRAA-EL-MIZANE sur une durée de trois mois allant de 01/03/2015 au 01/06/2015. Notre travail est consacré à l'étude cytotbactériologique des urines (ECBU) puis une étude statistique sur 187 prélèvements provenant de personnes hospitalisées au niveau des différents services.

- La deuxième partie du travail a été effectuée au niveau du laboratoire de Biochimie Analytique et Biotechnologie (LABAB) de l'Université Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU (UMMTO). Cette seconde partie consiste à évaluer l'adhérence des isolats uropathogènes et à tester l'activité antibactérienne ainsi que l'effet antibiofilm des extraits organiques des feuilles d'ortie, géranium et des margines.

I. Matériel et méthode

I.1. Matériel

I.1.1. appareils et milieux de culture de laboratoire

Les appareils et les milieux de culture utilisés sont représentés dans le tableau IV ci-dessous.

Tableau IV. Les appareils et milieux de culture utilisés dans notre étude.

Matériels	Milieux de culture		
	Milieux solides	Milieux semi-solides	Milieux liquides
Appareillages : -Autoclave de paillasse (PBINTERNATIONAL) ; -Bain marie (MEMMERT) ; -Balance de précision à 0.01mg (SARTORIUS) ; -Centrifugeuse réfrigérée (SIGMA 3-18K, SIGMA 4-16K) ; -Etuve bactériologique (MAMMERT) ; -pH mètre (HANNA instrument) ; -Spectrophotomètre visible (SCHIMADZU) ; -Agitateurs variés (à barreau magnétique chauffant et non chauffant, vortex).	-Gélose nutritive (Fluka Biochimika); -Gélose Muller Hinton (CONDA) ; -Extrait de Malt (EM) (CONDA) -Sabouraud. Pour identification biochimique : -TSI (Three- Sugar-Iron) ; -Citrate de Simmons.	-Mannitol-Mobilité ; -Milieu MEVAG (milieu d'identification de voie d'attaque des glucides).	Pour l'enrichissement : -BHIB (bouillon heart iron bread) glucose et BHIB saccharose. Pour l'identification biochimique : -Milieu urée-indole ; -TDA (tryptophane désaminase) ; -Milieu Clarck et Lubs. Pour l'étude de la dégradation des acides aminés : -Arginine déshydrogénase (ADH) ;

<p>-Réfrigérateur.</p> <p>Petits matériels :</p> <p>-Anse de platine, bec bunsen, boîtes de Pétri, cuves, cathéter urinaire (BEROMED), écouvillons, Lames et lamelles, pince, pipettes Pasteur, microscope optique, micropipettes, microplaques...</p> <p>-Papier filtre, papier Wathman ;</p> <p>-Portoirs pour tubes, pots stériles pour les prélèvements, tubes à essais stériles ;</p> <p>-Verreries de diverses dimensions (erlen Meyer, fioles jaugées, éprouvettes, béchers, entonnoirs).</p>			<p>-Lysine décarboxylase (LDC) ;</p> <p>-Ornithine décarboxylase (ODC).</p> <p>Pour la détermination des CMI (concentration minimal inhibitrice) :</p> <p>-Bouillon Mueller Hinton (BMH) (CONDA) ;</p>
---	--	--	---

I.1.2. Différents réactifs et solutions

Les différents réactifs et solutions utilisés sont représentés dans le tableau V.

Tableau V. Les réactifs et les solutions utilisées dans notre étude.

Réactifs et solutions		Utilisation
Révélateurs	-Kovacs ; -Réactif de perchlorure de fer ; -Réactif Vogues Proskauer (VP) ; -Réactif de rouge de méthyle (RM); -Huile de vaseline ; -Huile de l'immersion ; -Eau oxygénée.	-Recherche d'indole ; -Recherche de la TDA ; -Test VP ; -Test RM ; -Créer les conditions d'anaérobioses ; -Pour le microscope objectif 100x ; -Recherche de la catalase.
Colorants	-Fushine ; -Lugol ; -Violet de Gentiane.	Pour la coloration de Gram
Désinfectants	-Eau de javel ; -Alcool.	Pour la désinfection
Diluants	-Eau physiologique (9g/l) ; -Eau distillée.	Pour effectuer des dilutions
Disques	-Disque d'ONPG (Ortho-Nitro-Phénol-Galactosidase) ; -Disques d'antibiotique.	Pour l'identification de la souche

I.1.3. Matériel végétal

I.1.3.1. Les feuilles de l'ortie et du géranium

Le matériel végétatif (feuille de l'ortie et du géranium) est recueilli dans la région de TIZI-OUZOU durant le mois d'avril 2015; séché pendant sept jours à température ambiante, à l'ombre et à l'abri de l'humidité. Le produit séché est réduit en poudre, tamisé puis conservé dans des flacons en verre hermétiquement fermés.

I.1.3.2. Les margines

Les margines utilisées sont issues d'une huilerie moderne de la région de TIZI-OUZOU (Oued Aissi), provenant de la campagne 2015. Les margines sont conservées à -20°C.

I.1.4. Les produits utilisés

- **Produits chimiques**

Les produits chimiques utilisés dans notre étude sont représentés dans le tableau VI.

Tableau VI. Les produits chimiques utilisés.

		Référence	utilisation
Solvants	Ethanol absolu	Sigma-Aldrich	Extraction des polyphénols
	Acétate d'éthyle	GRP RECTAPUR	
	n-Hexane	Analar NORMAPUR	Dépigmentation et délipidation
	Diméthylsulfoxyde (DMSO)	Sigma- Aldrich	Solubilisation et conservation des extraits
Réactifs	Folin-Ciocalteu	Sigma- Aldrich	Dosage des polyphénols
	Na ₂ CO ₃	Sigma- Aldrich	
	Acide gallique (AG)	Sigma	

- **Composé phénolique :**

Le composé phénolique (CP) commercialisé utilisé est l'acide tannique (AT).

- **Préparation du composé phénolique standard**

Préparation d'une concentration de 10mg/ml du CP dans 1 ml de DMSO. Puis homogénéisation à l'aide d'un vortex jusqu'à dissolution complète.

I.1.5. Les souches bactériennes utilisées

Pour réaliser l'étude microbiologique, nos tests ce sont effectués sur 17 souches uropathogènes, ces souches sont représentées dans le tableau VII.

Tableau VII. Les souches utilisées dans notre étude.

Groupes	Souches	Numéro	Origine
Bactéries à Gram négatif	<i>Escherichia coli</i>	07	Patient sondé (homme)
	<i>Escherichia coli</i>	12	Patient sondé (homme)
	<i>Escherichia coli</i>	16	Patient sondé (homme)
	<i>Escherichia coli</i>	19	Enfant ayant une malformation urinaire
	<i>Escherichia coli</i>	21	Enfant ayant une malformation urinaire
	<i>Proteus mirabilis</i>	13	Femme diabétique
	<i>Proteus mirabilis</i>	14	Homme diabétique + insuffisance rénale
	<i>Proteus vulgaris</i>	20	Enfant
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	06	Patient sondé (homme)
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	09	Patient sondé (homme)
	<i>Enterobacter cloacae</i>	18	Femme diabétique
Levures	<i>Candida albicans</i>	01	Patient sondé (homme)
	<i>Candida albicans</i>	04	Femme enceinte
	<i>Candida albicans</i>	10	Prélèvement extérieur d'une femme
	<i>Candida.spp</i>	02	Patient sondé (homme)
	<i>Candida.spp</i>	03	Homme
	<i>Candida.spp</i>	05	Prélèvement extérieur d'une femme

I.2. Méthodes

I.2.1. Méthodes expérimentales réalisées à l'EPH de DRAA-EL-MIZANE

I.2.1.1. Echantillonnage

Les prélèvements d'ECBU reçus au niveau du laboratoire de l'EPH de DRAA-EL-MIZANE sont issus des personnes hospitalisées de deux sexes, de différentes tranches d'âge, de femmes enceintes, diabétiques, patients sondés et d'enfants présentant des malformations urinaires.

➤ Prélèvement

Le prélèvement d'urine se fait le matin, car les urines sont concentrées et les colonies bactériennes ont eu le temps de se développer pendant la nuit (RENE, 2008).

Le prélèvement est réalisé par la technique du milieu de jet après avoir réalisé une toilette des organes génitaux externes. Les urines sont recueillies dans des pots stériles.

- **Chez l'homme et le garçon**

Les urines du second jet sont recueillies de façon stérile, après nettoyage et désinfection du méat urinaire.

- **Chez la femme ou la fillette**

Le prélèvement est précédé d'une toilette périnéale soignée, pour éviter les contaminations fécales, avec plusieurs compresses humectées de sérum physiologique. Le prélèvement est recueilli dans un flacon stérile. L'examen doit être pratiqué en dehors des périodes menstruelles.

- **Chez le nourrisson**

Après le nettoyage de la région périnéale et désinfection locale, un collecteur est placé au moyen d'un adhésif.

- **Chez le sujet sondé**

L'urine est prélevée avec asepsie dans la sonde à l'aide d'une seringue de 5 ml.

➤ Fiche de renseignement

Le prélèvement des urines doit être individualisé par une étiquette comportant sur le flacon :

- Le nom et prénom du malade ;
- L'âge ;
- Le sexe ;
- La technique de prélèvement ;
- La date et l'heure du prélèvement ;

- Le nom de service ;
- Les renseignements cliniques ;
- La thérapeutique antérieure ou en cours.
- **Acheminement et conservation de l'échantillon**

Selon RENE (2008), le transport d'urine au laboratoire doit être rapide et doit être ensemencé dans un temps le plus court possible après leur émission (30mn) car elle constitue un milieu favorable à la multiplication bactérienne. A défaut, leur conservation à 4°C permet d'inhiber la prolifération microbienne mais peut fausser l'analyse du sédiment urinaire.

I.2.1.2. Examen macroscopique des urines

L'examen macroscopique des urines est réalisé afin de déterminer :

- **L'aspect**

Habituellement trouble, il peut être limpide, clair, jaune, sanglant, franchement purulente ou hématurique.

- **La couleur**

A l'état normal l'urine peut être limpide, jaune claire. A l'état pathologique elle peut avoir une couleur :

- Rouge en cas de présence de sang, de pigment alimentaire ou après absorption des médicaments à base de phénol.
- Jaune orangé dans le cas des maladies fébriles aiguës.
- Brun et jaune foncée dans les ictères.

- **L'odeur**

A l'état pathologique, il peut apparaître des substances volatiles à cause de certaines maladies d'odeur anormale à celle de l'urine.

- **La transparence**

A l'état normal, les urines fraîches sont généralement limpides. A l'état pathologique, les urines sont troubles à l'émission.

I.2.1.3. Examen microscopique - cytologique

C'est l'observation au microscope photonique (G x 400), entre lame et lamelle, d'une goutte du culot d'urine.

Cette étude permet d'identifier les divers constituants présents dans le culot à savoir :

- Hématies ;
- Leucocytes : la présence plus de 5 leucocytes par champs suspecte une infection ;

- Bactéries : leurs présences n'indiquent pas obligatoirement une infection et leur absence n'élimine pas une infection ;
- Cristaux : les cristaux de l'oxalate de calcium, les cristaux de phosphate amoniacomagnésium ou cristaux d'acide urique) ;
- Cylindres (ils peuvent être hématiques, leucocytaires ou purulents) ;
- Cellules épithéliales, vésicales, cellules rondes rénales ;
- Trichomonas ;
- Levures ;
- Spermatozoïdes.

I.2.1.4. Bandelette urinaire (labstix)

La technique consiste à faire plonger la bandelette directement dans l'urine et à comparer après une minute son virage à une grille témoin (ROSTOKER *et al*, 1991). Ce teste ne remplace ni l'examen microscopique ni la culture.

I.2.1.5. Examen bactériologique : étude cyto bactériologique des urines

C'est une étude quantitative des germes présents dans une urine correctement prélevée et acheminée rapidement au laboratoire. La technique que nous avons utilisée est la suivante :

- Prélever à l'aide d'une anse de platine stérile une goutte de l'urine totale après une bonne homogénéisation ;
- Déposer la goutte en 4 stries sur une gélose nutritive qui représente la charge microbienne ;
- Incubation à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation la lecture se fait comme suite : (tableau VIII).

Tableau VIII. Interprétation des résultats d'ECBU.

Bacteriometrie (bactérie/ml)	Appellation	Interprétation
≥10⁵ : une poussée homogène dans les quatre stries	Bactériurie significative	Présence d'IU.
10⁴ : une poussée uniquement dans les trois premières stries	Valeurs incertaine	Signification douteuse : - Infection débutante - Contamination Dans ce cas un nouveau prélèvement est nécessaire.
≤10³ : une poussée uniquement dans les deux premières stries	Bactériuries non significatif	Contamination externe (souillure)
0	Absence de bactériurie	Ni IU, ni contamination.

I.2.1.6. Identification des germes responsables d'infection urinaire

Le caractère macroscopique des colonies ne suffit pas pour identifier une bactérie, la coloration de Gram permet de classer le monde bactérien en deux groupes : les Gram positifs et les Gram négatifs.

- **Coloration de Gram**

Cette coloration révèle la différence de composition et de structure de la paroi bactérienne, les bactéries Gram- se décolorent facilement à l'alcool car elles sont plus riches en lipide contrairement au Gram+ leur paroi est en majorité protéinique. Les bactéries Gram- apparaissent en rose et les bactéries Gram+ apparaissent en violet.

- **Etude des caractères biochimiques d'une entérobactérie (Gram -)**
- **Test glucidique**
- **Milieu d'identification multiple TSI**

Il met en évidence l'attaque du glucose avec ou sans production du gaz, du lactose, du saccharose, révélé par le virage de l'IpH (Indicateur de pH) rouge de phénol, au jaune ainsi que la production de l'Hydrogène sulfuré (H₂S).

- **Caractère mannitol mobilité**

C'est un test qui met à profit la fermentation du mannitol qui est révélé par le virage de l'IpH, rouge de phénol, au jaune ainsi que la mobilité.

- **Caractère citrate de Simmons**

Les bactéries qui utilisent le citrate comme source de carbone, grâce à une citrate perméase, provoquent une alcalinisation du milieu. Cette dernière est révélée par son virage, l'IpH, bleu de bromothymol, du vert au bleu.

- **Caractère Rouge de Méthyle et Vogues Proskauer**

Ce test met en évidence la voie de fermentation Rouge de Méthyle (RM) ou Vogues Proskauer (VP) après l'ajout des réactifs appropriés pour chaque voie qui sont respectivement le RM et α -naphthol et quelques gouttes de KOH.

- **Test des enzymes**
- **Test d'Ortho-Nitro-Phénol-Galactosidase**

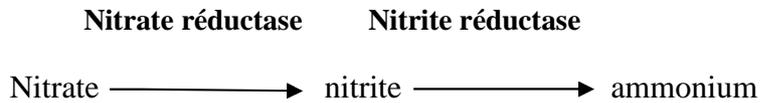
Ce test met en évidence la présence d'une β -D-galactosidase par le complexe de l'ONPG qui entre à l'intérieur de la cellule sans le concours d'une perméase qui donne O-nitrophenol d'une couleur jaune une fois scindé par la β -D-Galactosidase.

β -D-Galactosidase

ONPG \longrightarrow Ornitho-nitrophénol+galactose

- **Recherche du nitrate réductase**

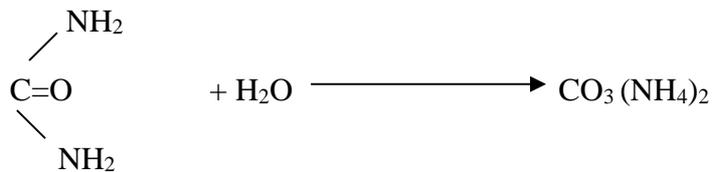
La recherche de la nitrate réductase est basée sur la révélation des nitrites dans le milieu qui se traduit par la couleur rouge après l'ajout du réactif approprié. Certaines bactéries peuvent poursuivre la réaction jusqu'au stade de la formation d'ammonium par la nitrite réductase via cette réaction :



- **Recherche de l'Urease, TDA et indole sur le milieu urée tryptophane**

Le milieu urée tryptophane servira à la fois pour la recherche de l'Uréase, indole et la tryptophane désaminase (TDA).

Une bactérie Urease+ provoque une alcalinisation du milieu par la formation de carbonate d'ammonium qui vire au rouge violacé (rouge de phénol).



La bactérie est considérée indole positif s'il y a formation d'un anneau rouge après l'ajout de réactif de Kovacs.

Une bactérie TDA positive donne une coloration brun rouge suite à la dégradation du tryptophane en acide indole pyruvique après l'ajout de perchlorure de fer.

- **Recherche des décarboxylases ODC, LDC et ADH**

Les enzymes, arginine déshydrogénase (ADH), lysine décarboxylase (LDC) et l'ornithine décarboxylase (ODC) catalysent respectivement la décarboxylation de l'arginine, de la lysine et de l'ornithine présents dans le milieu. Elles aboutissent à la formation de produits basiques, ainsi l'alcalinisation du milieu est révélée par un virage de l'IpH (le pourpre de bromocrésol) à sa teinte basique (violette).

Les caractères morphologiques et biochimiques de quelques souches Gram- sont représentés dans le tableau IX.

Tableau IX. Caractères morphologiques et biochimiques de quelques germes.

Germes	Forme	Gram	Urée	Ind	Cit	Gaz	Glu	Lac	ONPG	H ₂ S	LDC	ODC	ADH
<i>Escherichia coli</i>	bacille	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	bacille	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-
<i>Proteus vulgaris</i>	bacille	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	bacille	-	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	bacille	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-
<i>Pseudomonas</i>	bacille	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+

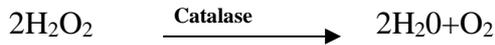
(+) : Positif, (-) : Négatif, Ind : Indole, Cit : Citrate, Glu : Glucose, Lac : Lactose.

- **Identification des Gram+**

L'identification des bactéries Gram+ se fait par la recherche des caractères suivants :

- **Recherche de la catalase**

Les bactéries qui possèdent la catalase sont capables de décomposer H₂O₂ avec libération d'O₂ via cette réaction :



- **Recherche de la coagulase**

La présence d'une coagulase se manifeste par la coagulation du plasma humain qui est un caractère de *Staphylococcus aureus* qui est un germe pathogène et son absence se manifeste par une suspension homogène.

Les caractères biochimiques des germes Gram+ isolés à partir des urines sont représentés dans le tableau X.

Tableau X. Caractères biochimiques des germes Gram+ isolés.

Espèce isolée	Caractères biochimiques	
	Catalase	Coagulase
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+
Staphylocoque non pathogène	+	-
Streptococcus	-	

- **Identification des levures**

Le test de filamentation qui consiste à examiner une goutte de la suspension entre lame et lamelle au grossissement (G X 400) permet de mettre en évidence la présence des bourgeons filamenteux (pseudo-mycélium) caractérisant une *Candida albicans*, son absence qualifie une *Candida spp.*

I.2.1.7. Antibiogramme

L'antibiogramme permet de révéler les caractères de sensibilité ou de résistance du germe à étudier aux divers antibiotiques.

L'antibiotique fournit des résultats qualitatifs en CMI et quantitatifs (sensible, intermédiaire, résistant).

I.2.2. Méthodes expérimentales réalisées à l'Université Mouloud Mammeri de TIZI-OUZOU

I.2.2.1. Extraction des polyphénols des feuilles du géranium et de l'ortie

I.2.2.1.1. Feuilles du géranium et de l'ortie

- Préparation des extraits organiques (Ethanol et acétate d'éthyle)
- Extraction sans délipidation et dépigmentation

Une quantité de 5g de poudre (feuilles d'orties et du géranium (mais chacun est utilisé séparément)) est mélangée dans un volume de 150 ml de solvant, ce volume est ensuite versé dans un bécher de 250 ml sous une agitation magnétique pendant 2 h à température ambiante. Puis une filtration est effectuée. Le surnageant récupéré est séché à 40°C. Après évaporation du solvant, l'extrait sec résultant est reconstitué dans un volume minimum du DMSO.

Les extraits organiques sont ensuite conservés dans des flacons à 4°C, à l'abri de la lumière dans le but de préserver la stabilité des principes actifs présents jusqu'à leur utilisation ultérieure. Ce procédé est décrit par le schéma représenté dans la figure 07.

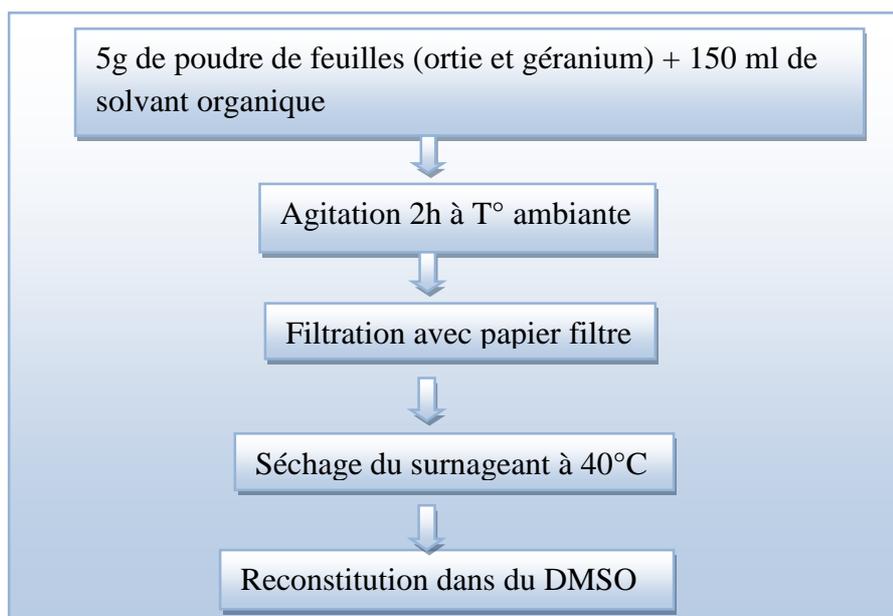


Figure 07. Protocole d'extraction des composés phénoliques par les solvants organiques.

I.2.2.1.2. Les margines

- Préparation de l'extrait organique (acétate d'éthyle)
- Extraction sans délipidation et dépigmentation

Un volume de margine est additionné de solvant (v/v), ce volume est ensuite mis dans un bécher sous une agitation magnétique pendant 2h à température ambiante. L'ensemble est centrifugé à 4°C, à une vitesse de 5000trs/5min. Après centrifugation le mélange est complètement séparé en deux phases : le solvant riche en polyphénols (surnageant) et les

margines (résidus). Le surnageant est récupéré et séché à 40°C. Après évaporation du solvant, l'extrait sec résultant est reconstitué dans un volume minimum du DMSO (figure 08).

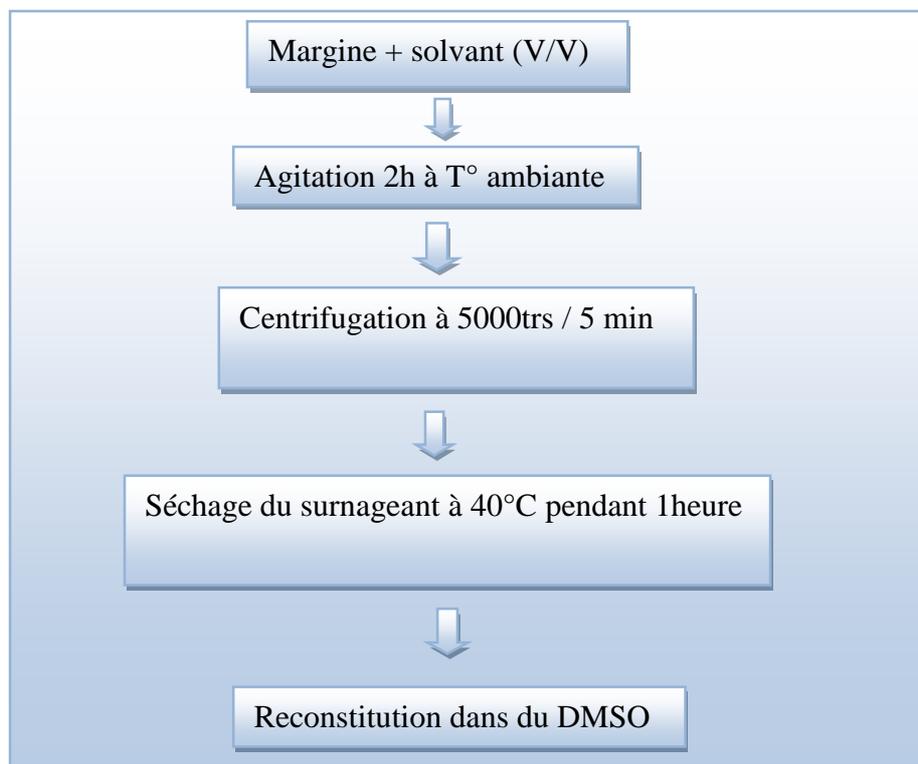


Figure 08. Protocole d'obtention des polyphénols à partir des margines.

- **Extrait d'acétate d'éthyle après délipidation et dépigmentation**

Un volume de margine est additionné à un volume d'hexane, le mélange est ensuite mis dans un bêcher de 1000 ml sous une agitation magnétique pendant 2h à température ambiante. Après agitation l'ensemble est centrifugé à 4°C, à une vitesse de 5000trs/5min. Après centrifugation le mélange est complètement séparé en deux phases : l'hexane riche en lipides, pigments..., etc (surnageant) et les margines. Les margines sont traitées par l'acétate d'éthyle (figure 09).

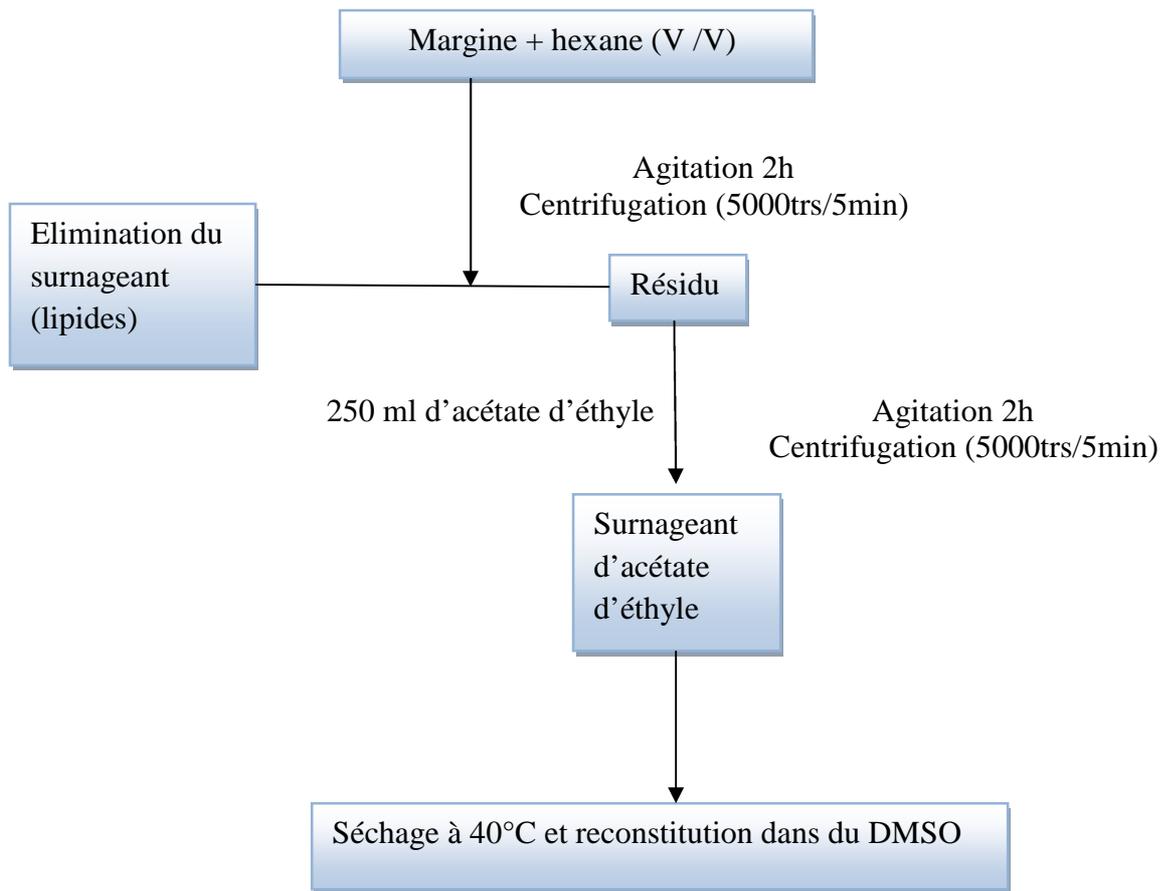


Figure 09. Protocole d'extraction des polyphénols des margines après délipidation (Modifié).

I.2.2.2. Analyse quantitative des échantillons

I.2.2.2.1. Rendement d'extraction

Nous pouvons déterminer le rendement en extrait sec en calculant le rapport entre le poids de l'extrait sec (poudre) en gramme et le poids du matériel végétal utilisé pour l'extraction en gramme selon l'équation suivante :

$$\mathbf{R\% = M / M_0 \times 100}$$

R% : Rendement exprimé en %.

M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.

M₀ : Masse en gramme du matériel végétal à traité.

I.2.2.2.2. Dosage des phénols totaux des feuilles du géranium, d'ortie et de margine

- **Principe**

L'ensemble des CP est oxydé par le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$) qui est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). Cette coloration bleue dont est proportionnelle aux taux de CP présents dans le milieu donne un maximum d'absorption à 750 nm.

- **Protocole**

Le dosage des phénols des margines et des feuilles du géranium et d'ortie illustré par la figure 10 est effectué avec le réactif colorimétrique Folin Ciocalteu selon la méthode décrite par (BORNEO et *al*, 2009).

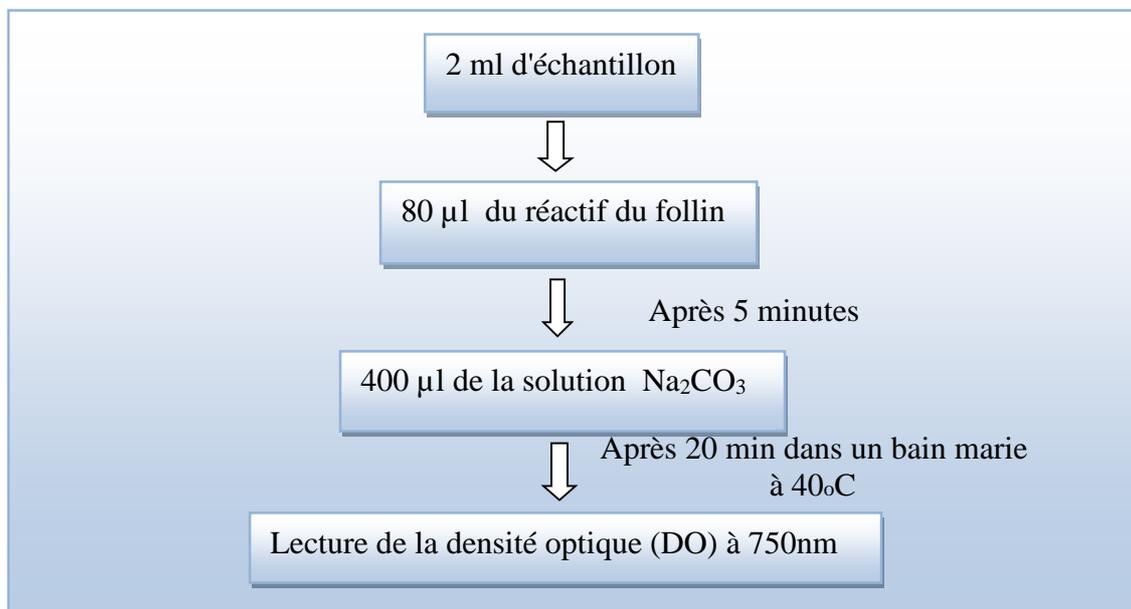


Figure 10. Protocole du dosage des polyphénols (modifié).

La gamme étalon est réalisée dans une gamme de 0 à 10 mg/l d'AG. La teneur en phénols totaux des extraits est exprimée en équivalent d'AG.

I.2.2.3. Evaluation de l'activité antimicrobienne

Au cours de notre étude microbiologique nous avons opté à utiliser deux méthodes différentes, cela pour évaluer l'effet antimicrobien des extraits bruts des feuilles du géranium, d'ortie, des margines et d'AT.

- La méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé, qui consiste en la détermination des diamètres des zones d'inhibitions.

- La méthode de microdilution en milieu liquide, qui permet de déterminer les CMI.

- **Mise en culture des souches**

Une pré-culture des souches microbiennes est préparée afin d'obtenir une phase exponentielle de croissance à 37°C pendant 18 à 24 heures pour les bactéries et à 30°C ou 37°C pour les levures. Cette dernière consiste à repiquer les souches par la méthode des stries sur gélose nutritive (bactéries Gram négatifs) et sur EM (levures). Cette étape est effectuée avant chaque test mentionné dans notre étude.

- **Préparation de la suspension microbienne**

Après réalisation de la pré-culture les colonies jeunes ont servi par la suite à préparer l'inoculum en les trempant dans des tubes de solution d'eau physiologique stérile afin d'avoir une densité cellulaire initiale comprise entre 0,08 et 0,1 l'équivalent de 10^8 UFC/mL à une longueur d'onde de 620 nm. L'inoculum ainsi préparé est dilué au $1/100^{\text{ème}}$ dans de l'eau physiologique. La DO finale obtenue de l'inoculum doit être équivalente à 10^6 UFC/mL.

I.2.2.3.1. Méthode de diffusion sur disque en milieu gélosé

- **Ensemencement et dépôt des disques**

Ce test a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu solide qui consiste en la détermination des diamètres des zones d'inhibitions (GUPTA *et al*, 2010). Des disques de 6 mm de diamètre découpés sur papier Whatman, stérilisés et imprégnés à raison de 20 μ l d'extraits à tester par disque ont été déposés à la surface d'un milieu préalablement ensemencé. Après une incubation à 37°C pendant 24h, les zones d'inhibitions formées éventuellement autour des disques seront mesurées. Chaque essai a été répété deux fois dans les mêmes conditions d'expérimentations.

- **Lecture des résultats**

L'activité antimicrobienne a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques. Les valeurs ont été exprimées sous formes de moyennes +ou-écart type. L'absence de croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque, dont le diamètre est mesuré et exprimé en millimètre (JOFFIN et LEYRAL, 2006).

I.2.2.3.2. Détermination des paramètres d'inhibition (CMI et CMB)

La détermination de la CMI est faite que pour les extraits et CP ayants montrés une activité meilleure sur milieu solide.

- **Méthode de microdilution en milieu liquide**
- **protocole**

Une progression géométrique à raison de 1/2 des concentrations de CP et d'extrait de margine (tableau XI) a été réalisée dans 100 µl du BMH. Un volume d'inoculum de 10⁶ UFC / ml a été par la suiteensemencé. Les témoins sont réalisés comme suite :

- Témoin négatif : extrait brut + milieu de culture ;
- Témoin positif : inoculum bactérien + extrait.

Les cultures ont été incubées pendant 24h à 37°C, et après incubation la CMI a été déterminée comme étant la plus faible concentration inhibitrice.

- **Préparation de la gamme des dilutions**

Tableau XI. Représentation des dilutions de la détermination des CMI.

Rapport de dilution Extrait brut ou CP/BMH	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32
%	50	25	12.5	6.25	3.12

- **Rapport CMB/CMI**

L'action d'un extrait sera considérée comme bactéricide si le rapport CMB/CMI est égal à 1. L'action est dite bactériostatique si le rapport CMB/CMI est supérieur à 1. (KAROU *et al*, 2005).

I.2.2.4. Evaluation de l'activité antibiofilm

Nous avons quantifié *in vitro* la capacité des souches uropathogènes à former un biofilm sur la microplaque de 96 puits et sur un cathéter urinaire (CU) en silicone par la méthode au cristal violet (CV). Ce dernier est un colorant basique qui se lie à l'ADN, aux protéines, aux molécules de surface chargé négativement et aux polysaccharides de la matrice extracellulaire de biofilm.

Nous avons notamment testé le pouvoir de l'AT et d'extrait de margine à éradiquer un biofilm sur microplaque 96 puits et sur le dispositif médical (CU).

I.2.2.4.1. Méthode de la microplaque à 96 puits

- **Protocole**

Dans notre expérience, chaque souche préalablement standardisée est préparée dans du BHIB glucose a été inoculée dans douze puits de microplaque de 96 puits à fond U en polystyrène. Les trois premiers puits sont inoculés avec 200µl de la souche, ils servent d'un test positif, chaque trois puits restant sont remplis avec 100µl de l'inoculum additionné, dans

chacun des puits, de 100µl d'extrait a testé. La microplaque est ensuite incubée à 37°C pendant 24h.

La révélation de la formation de biofilm est établie par la méthode colorimétrique au CV. Celle-ci consiste à vider la microplaque de la suspension microbienne (bactéries planctoniques), puis effectuer un lavage au tampon PBS, ensuite remplir les puits de la microplaque avec le CV et laisser agir 15 minutes suivi de lavages au PBS pour retirer l'excès de CV. Le colorant a été remis en solution avec de l'éthanol absolu et les DO ont été mesurés à 595nm.

Les résultats sont exprimés en pourcentage d'inhibition calculé par l'équation suivante :

$$\text{Pourcentage d'inhibition \%} = \frac{\text{DO du contrôle négatif} - \text{DO du test}}{\text{DO du contrôle}} \times 100$$

I.2.2.4.2. Méthode du cathéter urinaire

- **Protocole**

Faire imprégner des petits bouts de cathéters (environ 1cm de diamètre) dans le milieu BHIB inoculé (l'un des milieux, pourvu et l'autre dépourvu d'AT), puis incubé à 37°C pendant 24 heures. La révélation de la formation du biofilm est établie par la méthode colorimétrique au CV et laisser agir 10 mn. Puis effectuer un lavage avec un tampon PBS. Ajouter 1ml d'éthanol absolu pour chaque échantillon afin de mesurer la DO à 595nm.

Résultats et discussions

II. Résultats et discussion

II.1. Première partie

II.1.1. Analyse statistique

Nous avons reçu au laboratoire d'analyse microbiologique de l'EPH de DRAA-EL-MIZANE 187 prélèvements d'ECBU issus des personnes hospitalisées au niveau de tous les services. La répartition des prélèvements sont représentés dans le tableau XII.

Tableau XII. Répartition des ECBU effectués sur des personnes hospitalisées.

	Nombre de cas		Total
	Cas positifs	Cas négatifs	
Hommes	10	48	58
Garçons	11	17	28
Femmes	13	73	86
Filles	03	12	15
Total	37	150	187
Fréquence %	19,79	80,21	100

Après avoir soumis les prélèvements d'urine aux différentes étapes d'identifications, nous avons recensé 37 cas positifs et 150 cas négatifs.

Selon le Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (RAISIN) en 2006, 30 % des infections associées aux soins contractées dans un établissement de santé sont des IU.

CHERRADI (2015) a obtenu une fréquence de 18,08 % pour les cas positifs contre 81,92 % des cas négatifs. Ces résultats sont très proches à ceux que nous avons obtenu dans notre étude qui sont de 19,79 % pour les cas positifs et 80,21 % pour les cas négatifs.

Cependant, la fréquence de cas positifs des personnes hospitalisées enregistrée par MAXWELL (2015) qui est de 10,31 % reste inférieure à celle que nous avons obtenu dans notre étude (19,79 %).

- **Répartition de l'infection urinaire selon le germe causal**

L'urine vésicale est normalement stérile, mais au cours de la miction, elle se contamine lors de son passage urétral qui peut être colonisée le plus souvent par la flore urétrale ou par des germes ayant une origine différente, génitale ou cutanée.

Les germes les plus impliqués dans les IU sont des germes qui proviennent de la flore intestinale (Bacille Gram- (BGN)) avec la dominance d'*E. coli*. Les germes retrouvés dans la présente étude sont représentés dans le tableau XIII.

Tableau XIII. Germes responsables d'infection urinaire.

BGN			Gram+			Levures		
Espèce	Nombre	Fréquence %	Espèce	Nombre	Fréquence %	Espèce	Nombre	Fréquence %
<i>E. coli</i>	20	54,05	<i>Streptocoque spp</i>	03	8,10	<i>C.albicans</i>	02	5,41
<i>P. mirabilis</i>	02	5,41	<i>Enterococque spp</i>	02	5,41	<i>C.spp</i>	02	5,41
<i>P.vulgaris</i>	02	5,41						
<i>K.pneumonia</i>	03	8,10						
<i>E. cloacae</i>	01	2,70						
Total	28	75,67	Total	05	13,51	Total	04	10,82

D'après les résultats figurés dans le tableau XIII, on constate que la grande majorité des IU sont dues au BGN, bactérie commensale de tube digestif, avec une fréquence de 75,67 % dont la souche la plus retrouvée est *E. coli* avec un taux de 54,05 % suivi de *Proteus*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae*. Les germes Gram+ et les *Candida* présentent une fréquence plus faible par rapport au BGN dont la fréquence est respectivement de 13,51 % et 10,82 %. La diversité des espèces responsables d'IU est influencée par plusieurs facteurs, dont les plus importants sont l'état de l'appareil urinaire (uropathie) ainsi que la prise ultérieure d'antibiotiques.

Le pourcentage que nous avons obtenu avec les cocci Gram positifs (13,51%) est supérieur à celui de CHERRADI (2015) qui est de 07,84 %. Il a rapporté que la majorité des cas des IU sont dues aux entérobactéries avec un pourcentage de 92,84 % avec la prédominance d'*E. coli* avec un pourcentage de 62,61 %. Ce résultat est en accord avec le notre.

Une étude statistique en 2001 réalisée par SIDI ALI et BENCHIKH, internes en médecine au service des maladies infectieuses du CHU de TIZI OUZOU ont trouvé que 50% des cas d'IU sont dus à *E. coli*.

Au cours d'un travail réalisé par KADY et MERZKANI (2007-2011) au service des maladies infectieuses du CHU de TIZI OUZOU, le germe principalement isolé dans les IU est *E. coli* avec 40% en 2008, 56.62% en 2007 et 2009, 60% en 2010 et 72.72% en 2011. Ces résultats confirment les nôtres.

D'après les résultats rapportés par RAISIN (2006), les microorganismes les plus fréquemment à l'origine des IU restent dans 60 % des cas les entérobactéries de la flore digestive du patient, native ou modifiée par l'exposition à une antibiothérapie, ou par transmission croisée, avec prédominance d'*E. coli*.

Le pourcentage d'*E. coli* et *P. mirabilis* obtenus par TEISSER (2011) dans son étude est supérieur à celui que nous avons obtenu, Il est de 71,42% pour *E. coli* 15% pour *P. mirabilis*.

Les résultats obtenus par KARHATE et ALOUSSI (2011) montrent que le pourcentage d'*E. cloacae* (2,7 %) est égale à celui que nous avons obtenu. Cependant, le pourcentage d'*E. coli* (67,6 %) et *K. pneumoniae* (18,9 %) est supérieur à celui que nous avons obtenu qui est respectif de 54,05% et 8,10%.

Les résultats d'une étude réalisée par KOUTA (2009) montrent que des bactéries isolées des IU appartiennent à la famille d'entérobactériaceae soit 92% chez les patients diabétiques et 94% chez patients non diabétiques, les genres représentés principalement par *E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*. Ces résultats sont en accord avec ceux que nous avons obtenu.

E. coli est la bactérie la plus uropathogènes de tous les autres microorganismes. La première étape de l'infection est la migration le long de l'urètre vers la vessie. La migration est possible par la fixation des bactéries sur des protéines de l'épithélium urinaire grâce à des adhésines ou pili (LOBEL, 2007 ; ROCHA *et al*, 2007 ; ULETT *et al*, 2013), des curli (BELOIN *et al*, 2008), de l'Ag 43 qui intervient dans la formation des micro-colonies et la structure tridimensionnelle de biofilm (BELOIN *et al*, 2008), des flagelles, des LPS et la capsule (SHEIKH *et al*, 2001). Ces structures protègent les bactéries contre le flux urinaire. Cependant, certaines souches non mobiles sont capables aussi de former un biofilm (SHEIKH *et al*, 2001).

Selon BRUYERE et BOITEUX (2011), on distingue deux principaux groupes de fimbriae chez *E. coli*. Ils se différencient par leur capacité à agglutiner les érythrocytes en fonction de la présence ou de l'absence de mannose :

- Les adhésines mannose-sensibles (pili de type 1) se fixent aux résidus D-mannose des protéines de l'épithélium de la vessie (BERTHOLOM, 2007 ; DOBRINDT, 2010 ; ULETT *et al*, 2013) ;
- Les adhésines mannose-résistantes (pili de type P) se lient aux récepteurs glycolipidiques présents sur la membrane des cellules rénales (BERTHOLOM, 2007 ; DOBRINDT, 2010). Ils sont donc un facteur de virulence à l'origine de pyélonéphrites (LOBEL, 2007).

D'autres facteurs de virulence sont présents chez *E. coli*. Les sidérophores (aérobactine, entérobactine) sont sécrétés par les bactéries pour chélater le fer (DHAKAL *et al*, 2008). Ainsi les bactéries captent le fer de l'hôte et l'utilisent pour leur croissance (RIEGERL, 2003 ; DOBRINDT, 2010 ; ULETT *et al*, 2013).

Des toxines ont également un rôle important. Le facteur cytotoxique nécrosant détruit les cellules de l'épithélium urinaire. Associé à l' α -hémolysine, qui lyse les érythrocytes, cela contribue au phénomène inflammatoire, perturbe la cascade de signalisation cellulaire et induit l'apoptose de la cellule hôte, libérant des nutriments dont le fer, essentiel à la croissance et à la survie bactérienne (DHAKAL *et al*, 2008). Ces toxines facilitent ainsi l'invasion et la dissémination dans la cellule hôte (ULETT *et al*, 2013).

Selon RIEGERL (2003), les flagelles chez *P. mirabilis* sont responsables de la mobilité de la bactérie dans le tractus urinaire.

L'Uréase secrétée par *P. mirabilis*, *K. pneumoniae* ou *Staphylococcus saprophyticus*, est une enzyme qui transforme l'urée en dioxyde de carbone et ammoniac, alcalinisant ainsi les urines. Les ions présents dans les urines sont alors dissous et précipitent, pouvant former des calculs phosphoammoniacomagnésiens sur la paroi vésicale (ROCHA *et al*, 2007 ; RIEGERL, 2003 ; DOBRINDT, 2010).

La présence d'une capsule chez *K. pneumoniae* lui confère une résistance à la phagocytose, de pili I (OFEK et BEACHEY, 1978) impliqué dans les pyélonéphrites par l'adhésion aux cellules tubulaires proximales (FADER et DAVIS, 1980), pili de type III qui favorise l'adhésion aux cellules épithéliales des tractus urogénital et respiratoire (WURKER *et al*, 1990).

- **Répartition des cas positifs selon le sexe**

La répartition des cas d'IU selon le sexe est représentée dans le tableau XIV.

Tableau XIV. Répartition des cas positifs d'ECBU selon le sexe.

Sexe			
Féminin		Masculin	
Nombre	Fréquence %	Nombre	Fréquence %
16	43,24	21	56,76

D'après le tableau XIV, on constate que la fréquence d'apparition de l'IU diffère selon le sexe.

Selon QUERIN et VALIQUETTE (2000) ; LOBEL et SOUSSY (2007), la femme est plus exposée aux IU que l'homme pour des raisons anatomiques: la faible distance entre l'orifice vaginal et anal ainsi que la longueur du l'urètre (3 à 4 cm chez la femme) donne aux germes pathogène un terrain pour la colonisation de l'appareil urinaire. Chez l'homme la longueur de l'urètre est de 25 cm cela lui confère une meilleure protection vis-à-vis des germes pathogènes. Les femmes enceintes sont particulièrement à risque en raison de la pression exercée par le bébé sur le système urinaire, les changements hormonaux, aussi la grossesse dilate les voies excrétrices. (PECHER et JACOBSEEN, 1994). Le déficit en œstrogène après la ménopause (PECHER et JACOBSN, 1994) ainsi que l'usage d'un diaphragme et de spermicides comme moyen contraceptif sont aussi être des facteurs causals des IU.

Cependant, les résultats de notre étude montrent que les hommes présentent une fréquence de 56,76 % un peu plus supérieur à celle des femmes qui est de 43,24 % cela est expliqué par le fait que la plus part des patients positifs du sexe masculin étaient soit des malades sondés, diabétiques ou des enfants qui présentent une malformation urinaire.

MAXWELL en Maroc (2015) a attribué dans son étude que 43,60 % des cas positifs sont relatifs aux femmes et que 56,40 % sont relatifs aux hommes. Ces résultats sont très proches avec ceux que nous avons obtenu.

Nos résultats se rapprochent aussi à l'étude statistique effectuée par SID ALI et BENCHIKH (2001) sur les IU au CHU de TIZI OUZOU. La fréquence de l'IU chez l'homme était de 54,20 % et de 45,8 % chez la femme. Une autre étude menée au CHU de TIZOU OUZOU en 2006 par MADIOU *et al* au service des maladies infectieuses, montre qu'il n'existe pas une différence significative pour les deux sexes, elle est de 55 % pour les femmes et 45 % pour les hommes. Alors qu'une autre étude est effectuée au même laboratoire allant de 2007 à 2011 par KADY et MERZKANI, montre une grande différence significative pour les deux sexes, soit 62 % pour les femmes et de 38 % pour les hommes.

Nos résultats sont très loin de ceux obtenus par VORKAUFER (2011), elle a montré que 90 % des infections concernent les femmes et que 8 % des infections concernent les hommes. Chez la femme, la fréquence des IU augmente avec l'âge. Mais deux périodes sont propices aux infections, l'une au début de l'activité sexuelle et l'autre en période post ménopausique. Chez l'homme, les IU augmentent à partir de l'âge de 50 ans, au moment de l'apparition des troubles prostatiques.

Chez la femme ménopausée, le déficit en œstrogènes est un facteur de risque (LOBEL, 2007). La flore vaginale permet la production d'acide lactique par les lactobacilles et maintient un pH acide. Cet environnement empêche la colonisation par des germes uropathogènes. Or, la flore vaginale est sous la dépendance de l'imprégnation ostrogénique. Après la ménopause, le pH est modifié ce qui favorise la croissance bactérienne (BRUYERE et BOITEUX, 2011). De plus, la couche de mucopolysaccharides qui recouvre la muqueuse est aussi hormonodépendante. Un déficit en œstrogènes entraîne une diminution de la production de mucopolysaccharides.

Chez l'homme de plus de 50 ans, l'IU est favorisée par la diminution des sécrétions prostatiques, au pH acide et par l'augmentation du volume de la prostate. Le sondage urinaire (intermittent ou a demeure) favorise l'entrée des germes dans les voies urinaires et la création d'un biofilm sur la sonde (LOBEL, 2007).

La fréquence des IU au cours de diabète est influencée par un certain nombre de facteurs locaux et/ou généraux favorisent la survenue d'IU chez les diabétiques ; le déséquilibre métabolique des glucides et la présence d'une glycosurie constitue une condition favorable à la multiplication microbienne dans l'urine. Notant aussi le déséquilibre du système immunitaire, dont la fonction des leucocytes polynucléaires est déprimée et plusieurs étapes de la réponse immunitaire sont altérées, et certains facteurs de risques tels que l'âge, l'ancienneté de diabète, l'utilisation d'instrument sur la filière urinaire tel les sondages vésicaux.

- Répartition des cas d'infection urinaire selon l'âge

La répartition des cas d'IU est représentée dans le tableau XV.

Tableau XV. Répartition des cas positifs d'ECBU selon l'âge.

L'âge (en année)		
Tranche d'âge	Nombre de cas positif	Fréquence %
≤3	14	37,84
25-39	08	21,62
40-54	04	10,81
≥55	11	29,73
Total	37	100

A partir des résultats d'ECBU mentionnés dans le tableau XV, la répartition de l'IU diffère selon l'âge. La tranche d'âge la plus touchée est celle des enfants dont l'âge est inférieur ou égal à 3 ans. Ce sont principalement des patients ayant présenté des malformations urinaires et un reflux vésico-urétrale. Les hommes ayant l'âge supérieur ou égal à 55 ans ont de multiples raisons de survenue de l'IU telles que la diminution de la réponse immunitaire, la capacité vésicale, la glycosurie, l'augmentation du volume de la prostate, diminution de ses sécrétions, le sondage urinaire qui favorise l'entrée des germes dans les voies urinaires, la création d'un biofilm sur la sonde et diminution de taux de protéines de Tamm-Horsfall.

La tranche d'âge située entre 25-39 ans présente aussi un pourcentage important d'IU, se sont en principe des femmes enceintes ou celles qui sont sexuellement actives. La grossesse modifie les défenses immunitaires, entraîne des modifications anatomiques qui sont les dilatations des voies urinaires, un déséquilibre hormonal (augmentation de la sécrétion) et des modifications chimiques (glycosurie, augmentation du pH urinaire, augmentation de la concentration en acides aminés).

Selon AGHA *et al* (1998), les garçons de moins de 3 mois ont un risque plus élevé. Cela confirme nos résultats. Une étude statistique menée au CHU de TIZI OUZOU par KADY et MERZKANI sur les IU de 2007-2011 a montré que les enfants ayant l'âge situé entre 0 et 9 ans ont un taux faible d'IU. Leurs résultats ne se rapprochent pas à ceux que nous avons obtenu. La tranche d'âge la plus touchée est celle des patients ayant plus de 50 ans avec une fréquence élevée de 44 % en 2008 et 49 % en 2009, 36 % en 2007 et 2010, 30 % en 2011.

Les résultats obtenus par KOUTA (2009) montrent que la tranche d'âge au-delà de 60 ans, dont (52,8 %) chez les diabétiques et (61,31 %) chez les non diabétiques, est la plus touchée par les IU. Ces valeurs sont plus importantes à celles que nous avons obtenu pour la tranche d'âge des patient ayants plus de 55 ans qui est de 29,73%.

II.1.2. Résultat de l'antibiogramme des souches sélectionnées

Les résultats de l'antibiogramme effectués sur les souches sélectionnées sont représentés dans le tableau XVI

Tableau XVI. Résistance et sensibilité des entérobactéries sélectionnées des ECBU vis-à-vis des antibiotiques.																
ATB	Num	β-lactamine						Aminoside		Quinolone	Sulfamide	Autre				
Souches		AM	AMC	KZ	CRO	Ip	Tic	CN	AK	Cip	NA	SXT	C	F	FOS	CT
<i>E. coli</i>	07	R	R	S	S	S	R	R	-	-	S	R	-	S	S	S
<i>E. coli</i>	12	R	R	I	S	-	-	S	-	S	S	S	-	S	S	-
<i>E. coli</i>	16	R	R	I	S	-	-	S	-	S	S	R	-	S	S	-
<i>E. coli</i>	19	R	R	R	R	S	R	S	-	-	-	R	S	R	S	-
<i>E. coli</i>	21	R	R	I	S	-	R	S	-	-	R	R	S	S	S	R
<i>P. mirabilis</i>	13	R	R	S	S	S	R	-	S	-	-	R	S	R	S	R
<i>P. mirabilis</i>	14	R	R	I	S	S	R	-	-	-	-	R	R	R	S	R
<i>P. vulgaris</i>	20	R	R	S	S	S	-	S	S	-	-	S	S	R	S	R
<i>K. pneumoniae</i>	06	R	R	I	S	-	-	S	-	S	S	S	R	R	S	R
<i>K. pneumoniae</i>	09	R	R	S	S	S	R	S	-	-	-	S	S	R	S	-
<i>E. cloacae</i>	18	R	R	S	S	S	S	S	-	S	I	S	S	S	S	-

(-) : non testé ; R : résistant ; S : sensible ; I : intermédiaire.
 AM : Ampicilline / AMC : Amoxicilline + acide clavulanique / KZ: Cefazoline / CRO: Cétriaxone / IP: Imipenem / TIC: Ticarcilline / CN: Gentamicine / AK: Amikacine / CIP: Ciprofloxacine / NA: Acide-Nalidixique / LVX: Levofloxacine / SXT: Bactrim / C: Chloromphenicol / FOS: Fosfomycine / F: Nitrofurantoin / CT: Colistine.

Les bactéries présentent des résistances et des sensibilités naturelles qui font partie des critères de classification et d'identification. D'après les résultats de l'antibiogramme des entérobactéries sélectionnées rapportés dans le tableau XVI, nous apercevons que toutes les souches testées présentent une résistance vis-à-vis de l'ampicilline et l'amoxiciline + acide clavulanique par la production d'une β -lactamase. Toutes les souches testées ont une résistance naturelle vis-à-vis de l'ampicilline excepté le *P. mirabilis* et comme elles sont toutes sensible à l'amoxiciline + acide clavulanique excepté *E.cloacae*. Cette résistance est expliquée par l'émergence de gènes de résistance qui est la β -lactamase par une transmission horizontale entre les espèces bactériennes.

Les entérobactéries présentent une sensibilité naturelle vis-à-vis de la Fosfomycine, les aminosides, les quinolones et les β -lactamines. D'après les résultats du tableau XII ce caractère de sensibilité est préservé vis-à-vis de la Fosfomycine, Céstriaxone (excepté une souche d'*E. coli*), Gentamicine, Amikacine et Ciprofloxacine. Cependant, les souches ont développé une résistance vis-à-vis de Ticarcilline et que leur comportement vis-à-vis de la Cefazoline est variable d'une souche à une autre (sensible, résistante et intermédiaire) cela est en relation avec l'acquisition ou non acquisition du gène de résistance aux β -lactamines.

II.2. Deuxième partie

II.2.1. Rendement d'extraction

Les résidus de chaque extraction sont pesés pour calculer le rendement qui désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la plante soumise à l'extraction (FALLEH *et al*, 2008).

Le rendement de l'extraction de l'ortie et du géranium par les deux extraits organiques (acétate d'éthyle et l'éthanol) sont répertoriés dans la figure 11.

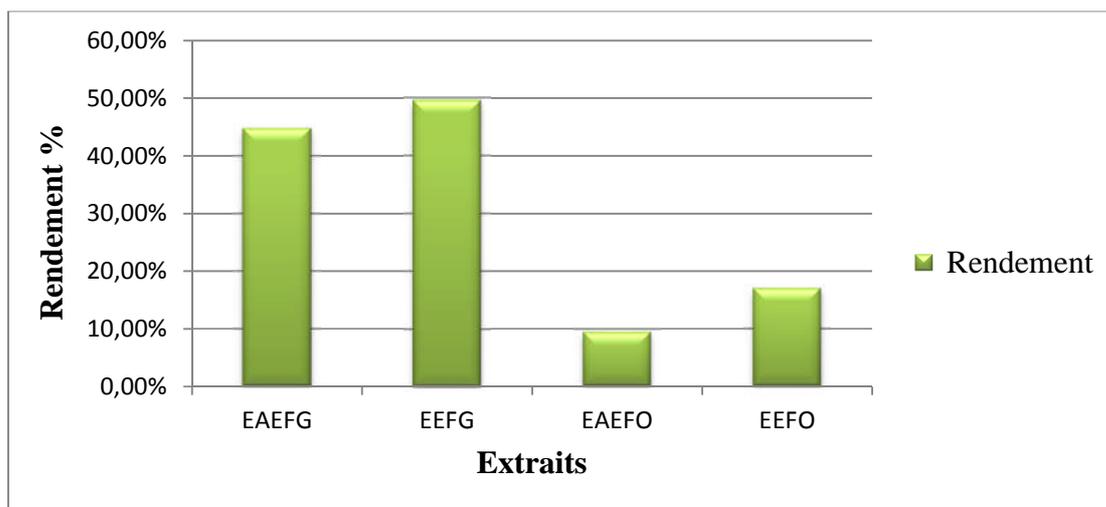


Figure 11 : Rendement en (%) des extraits bruts de feuilles d'ortie et de feuilles de géranium.

- **EAEFG** : Extrait de feuille de géranium à l'acétate d'éthyle ;
- **EEFG** : Extrait de feuille de géranium à l'éthanol ;
- **EAEFO** : Extrait de feuille d'ortie à l'acétate d'éthyle ;
- **EEFO** : Extrait de feuille d'ortie à l'éthanol.

D'après les résultats obtenus figurés dans la figure 11, le rendement d'extraction varie en fonction de l'espèce végétale, de sa richesse en métabolites et de la nature du solvant utilisé.

Les extraits de feuilles de géranium à l'éthanol (EEFG) et à l'acétate d'éthyle (EAEFG) ont montré un rendement en PPT d'extraction meilleur avec un pourcentage respectif de 49,60 % et de 44,80 % contre 17% pour l'extrait de feuilles d'ortie à l'éthanol et 09,46 % pour l'extrait de feuilles d'ortie à l'acétate d'éthyle.

L'éthanol est noté comme meilleur solvant en terme de rendement en PPT d'extraction pour les deux plantes utilisées. Cependant, la différence été plus ou moins significative pour les feuilles d'ortie par rapport à celles du géranium.

Daoudi *et al* (2015) ont rapporté dans leur étude sur trois espèces différentes de l'ortie que le rendement de l'extraction est différent d'une espèce à une autre et dépend du solvant d'extraction utilisé. Leur résultats montrent que la fraction aqueuse résiduelle représente le rendement le plus élevé pour *Urtica urens* et *Urtica piluliferae* suivie par la fraction n-

butanolique pour *Urtica urens* et la fraction d'Acétate d'Éthyle pour *Urtica piluliferae*. Par contre, pour *Urtica membranacea*, la fraction n-butanolique représente le pourcentage le plus élevé suivi par la fraction aqueuse résiduelle. Parmi leurs trois espèces étudiées, avec la fraction d'acétate d'éthyle, sauf *Urtica piluliferae* qui se rapproche de notre résultat avec un rendement de $5,40 \pm 0,54$ % contre 9,46 % dans notre cas.

Selon ALTIOK *et al* (2008), les hauts rendements sont habituellement obtenus avec l'éthanol et le méthanol et leurs mélanges avec l'eau. En effet l'eau joue un rôle important dans le processus d'extraction des polyphénols en augmentant leur diffusion dans les tissus végétaux.

Une étude menée par AOUCHICHE et BOUMGHAR en 2015 a montré que les extraits organiques à l'éthanol présentent un meilleur rendement par rapport à l'acétate d'éthyle. Comparant leurs résultats aux nôtres, le rendement en PPT d'extraction d'extrait de brindilles à l'éthanol et à l'acétate d'éthyle est très proche à celui que nous avons obtenu avec l'ortie. Elles ont noté un rendement en PPT d'extraction de 18 % pour l'extrait de brindilles avec éthanol et 08,80 % pour l'extrait de brindilles à l'acétate d'éthyle. Par contre le rendement en PPT d'extraction de feuilles de géranium à l'acétate d'éthyle (44,80 %) est supérieur à celui d'extrait de feuilles du laurier à l'acétate d'éthyle (11,60 %) ainsi que l'extrait de feuilles du laurier à l'éthanol (24 %). Cependant, le rendement en PPT d'extraction de feuilles de géranium à l'acétate d'éthyle (44,80 %) se rapproche à celui d'extrait de feuilles d'oléastre à l'éthanol (38 %).

II.2.2. Résultats des dosages de PPT des extraits de feuilles d'ortie et de géranium

Le dosage des PPT des feuilles d'ortie et de géranium a été effectué par la méthode spectrophotométrique au réactif de Folin-Ciocalteu (BOIZOT et CHARPENTIER, 2006), en se basant sur le fait que les CP forment un complexe redox avec les acides phosphotungstiques et phosphomolybdiques de ce réactif. Les teneurs obtenues sont exprimées en mg équivalent d'AG par gramme de matière végétale sèche (mg GAE/g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'AG.

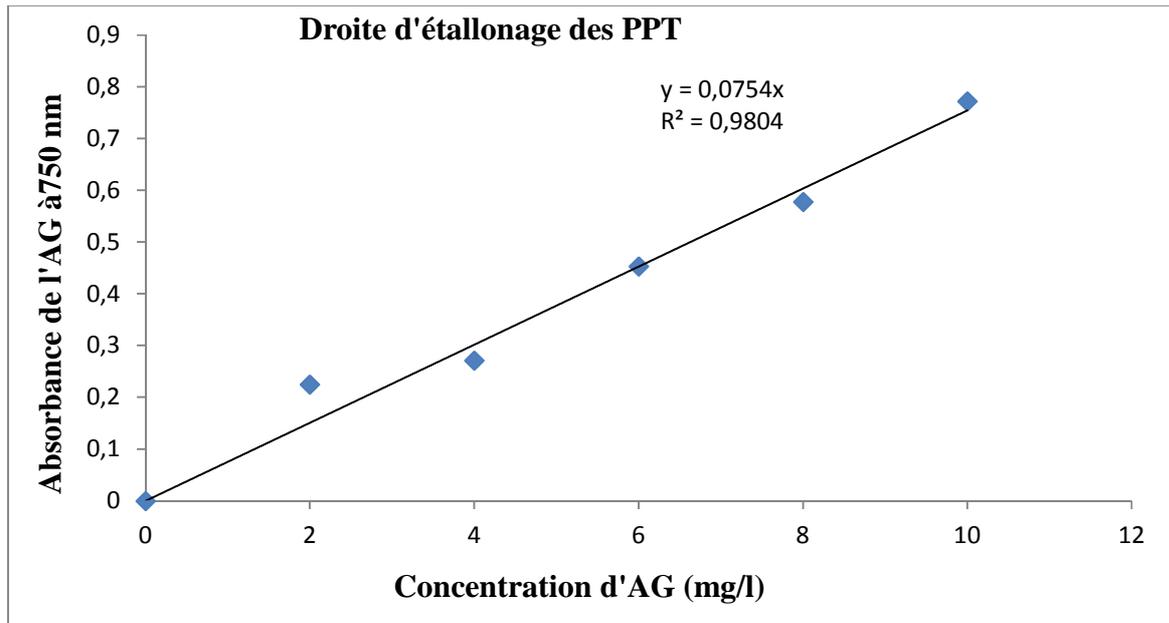


Figure 12 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des PPT en équivalent d'AG.

II.2.2.1. La teneur en PPT des extraits de feuilles d'ortie et de géranium

Le processus d'extraction des polyphénols correspond à la libération des CP à partir généralement des structures vasculaires et leur diffusion, après rupture des tissus, vers le milieu extérieur.

Le résultat du dosage des PPT des deux plantes testées (ortie et géranium) avec l'acétate d'éthyle et l'éthanol sont consignés dans la figure 13. Les valeurs obtenues sont la moyenne de 2 essais \pm Standard Errors (SD).

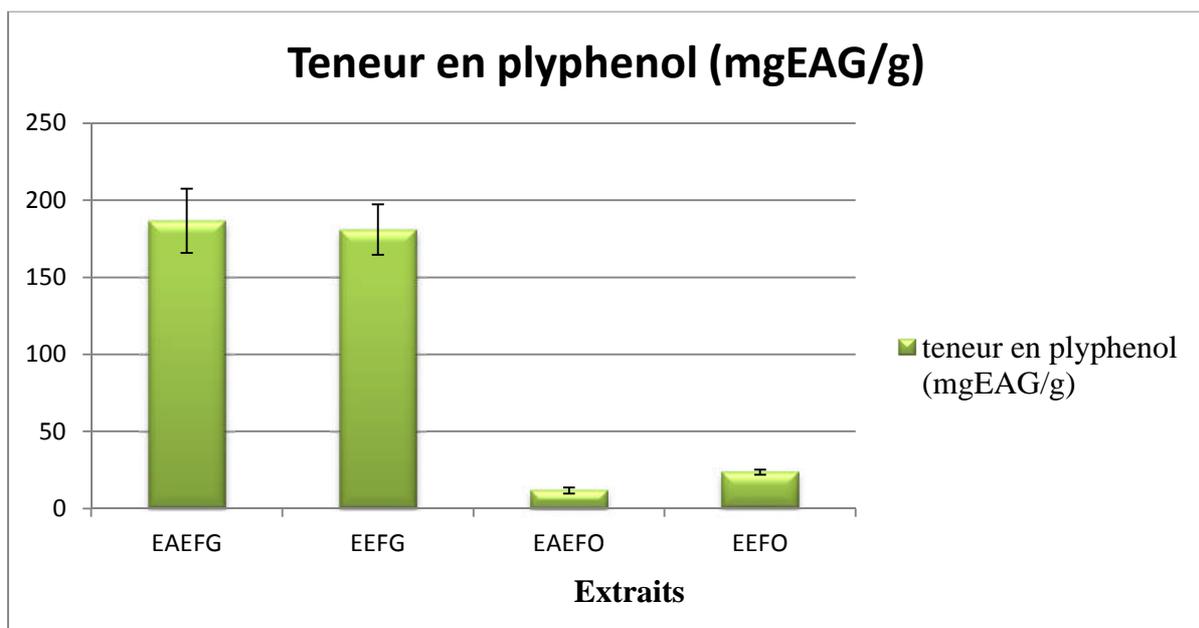


Figure 13. Teneur en PPT des extraits de feuilles d'ortie et de géranium.

Pour les deux plantes étudiées nous avons remarqué, à partir de la figure 13, une variabilité des teneurs en PPT. La teneur la plus élevée est constatée pour la plante de géranium avec l'extrait de l'acétate d'éthyle avec une teneur de $186,79 \pm 20,799$ mg EAG/g suivit du géranium avec d'extrait ethanologique avec une teneur de $180,99 \pm 16,400$ mg EAG/g. Ces résultats importants reflètent les données trouvées dans la figure 11 où nous avons enregistré des rendements élevés des extraits bruts pour le géranium ce qui prouve la richesse de cette plante en CP.

L'ortie présente une teneur en PPT beaucoup plus inférieure par rapport à celle du géranium. Néanmoins, la teneur en PPT pour l'ortie avec l'extrait de l'éthanol ($23,60 \pm 1,680$ mg EAG/g) est plus supérieure à celle de l'ortie avec l'extrait de l'acétate d'éthyle ($11,60 \pm 2,001$ mg EAG/g).

La différence de solubilité des CP est due à la polarité des solvants choisis et aussi à la nature chimique de ces composés ainsi que la méthode d'extraction et de la partie de la plante qui joue aussi un rôle majeur dans l'extraction et la quantification des polyphénols. Selon FALLEH *et al* (2008), les hautes récupérations des polyphénols sont obtenues par le méthanol. Habituellement les solvants les plus polaires sont considérés comme les plus appropriés à l'extraction de ces composés.

L'addition de l'eau aux solvants organiques augmente la solubilité des polyphénols (SRIPAD *et al*, 1982) par modulation de la polarité du solvant organique (MOHAMMEDI, 2011). Cette augmentation est peut être due à l'affaiblissement des liaisons d'hydrogènes dans les solutions aqueuses. Elle pourrait également être due à l'augmentation de la basicité et de l'ionisation des polyphénols dans de telles solutions (SRIPAD *et al*, 1982). La solubilité des polyphénols dépend principalement du nombre de groupements hydroxyles, de poids moléculaire et de la longueur de la chaîne carbonique de squelette de base (MOHAMMEDI, 2011). Par conséquent, pour obtenir des fractions riches en polyphénols, il est préférable d'employer des mélanges du solvant organique approprié avec de l'eau.

Plusieurs facteurs influencent l'extraction des CP à partir de la matière végétale tels que le type et le volume du solvant utilisé, la taille des particules de l'échantillon, le temps d'extraction, les conditions de stockage de l'échantillon, le pH et la température (NACZK et SHAHIDI, 2004 ; ALTIOK, 2010). D'après SEIDEL (2005), les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité. De plus, le déroulement de la macération sous agitation pendant un temps étalé et à température ambiante permet, respectivement, l'épuisement du solvant en composés extraits et la prévention de leur altération ou modification probable par la température élevée.

L'étude réalisée par KHALKHAL (2014) montre que la partie aérienne de *Thymus ciliatus* spp *coltratus* est beaucoup plus riche que sa racine en PPT (extraction ethanologique). Elle est de 606 mg EAG/g pour la partie aérienne et 177,07 mg EAG/g pour la racine. Notre résultat obtenu avec l'extrait de feuilles de géranium par l'éthanol ($180,99 \pm 16,400$) se

rapproche de celui qu'elle a obtenu avec la racine de *Thymus ciliatus* spp colratus et faible par rapport à celui de la partie aérienne.

Nous avons aussi comparé nos résultats avec ceux de BELYAGOUBI (2012), nous avons trouvé que la teneur en PTT d'extrait de feuilles de géranium à l'éthanol ($180,99 \pm 16,400$ mg EAG/g) et acétate d'éthyle ($186,79 \pm 20,799$ mg EAG/g) se rapproche avec celle qui a été retrouvé chez *Thymelea microphilla* ($201,646 \pm 4,655$ mg EAG/g).

MAHMOUDI *et al* (2013) ont observé aussi une différence de teneur en polyphenol dans les différentes parties d'une fleur de *cynara scolymus* qui dépend aussi de type de solvant utilisé. Ils ont rapporté que le méthanol été le meilleur solvant pour l'extraction des polyphenols à partir de réceptacle et que l'éthanol est noté le meilleur solvant pour l'extraction des PPT à partir de la tige. Nos résultats en teneur de PPT de feuille d'ortie avec l'acétate d'éthyle se rapproche à ceux qu'ils ont retrouvé dans le réceptacle d'une fleur de *cynara scolymus* avec l'extrait éthanoïque $11,67 \pm 2,78$ mg EAG/g et celui de l'extrait méthanoïque $11,85 \pm 0,09$ mg EAG/g.

VASILEIOS *et al* (2010) ont rapporté que les variations en teneur de polyphenol sont dépendantes des conditions climatiques et géographiques, des conditions de culture et le degré de maturité (BOUDHRIOUA *et al*, 2009 ; VASILEIOS *et al*, 2010), l'état physiologique et l'âge de la plante (DE LEONARDIS *et al*, 2008).

Le dosage par le réactif de Folin-Ciocalteu n'est pas spécifique aux polyphénols (TASIOLA-MARGARI et OKOGERI, 2001), c'est une méthode générale qui ne donne pas d'information concernant la nature des molécules phénoliques qui se trouvent dans les extraits. Beaucoup de composés peuvent réagir avec ce réactif, donnant un taux phénolique apparent élevé (TAWAHA *et al*, 2007). En outre, certaines substances, telles que la vitamine C, les caroténoïdes, les sucres réducteurs et les acides aminés phénoliques, peuvent en réduisant le complexe phosphotungstique- phosphomolybdique interférer et conduire à une surestimation de la teneur en CP (OBIED *et al*, 2005). Par conséquent, on ne pourra pas établir une relation entre la quantité des phénols et l'effet antioxydant (MARTHA, 2008).

II.2.2.2. La teneur en PPT des extraits de margines

Les teneurs en PPT des margines sont très importante. Nous avons trouvé $882,66 \pm 13,33$ µg/ml pour EMADpH₂ µg/ml, $937,33 \pm 49,99$ µg/ml pour EMApH₂ et $941,33 \pm 10,66$ µg/ml pour EMAND.

Tableau XVII. Résultats du dosage des PPT des extraits de margines : exprimée en µg/ml, les valeurs sont la moyenne de 2 essais ± SD.

Extrait	Teneur en PPT en µg/ml
EMADpH ₂	882,66±13,33
EMApH ₂	937,33±49.99
EMAND	941,33±10.66

- **EMADpH₂** : Extrait de margine à l'acétate d'éthyle delipidé, pH₂ ;
- **EMApH₂** : Extrait de margine à l'acétate d'éthyle, pH₂ ;
- **EMAND** : Extrait de margine à l'acétate d'éthyle non delipidé.

Ces concentrations sont très proches à celles des margines à l'acétate d'éthyle utilisées par AOUCHICHE et BOUMGHAR en 2015 ; $986,52 \pm 0,4$ µg/ml.

La concentration en PPT contenue dans les margines rapportée par EL HADJOUJI *et al* (2008), qui est de l'ordre de $0,79 \pm 0,11$ g/l reste inférieur à celles que nous avons obtenu dans notre étude.

II.2.3. Résultats de l'activité antimicrobienne: Méthode de diffusion sur l'agar

Nous avons testé *in vitro* l'activité antimicrobienne des extraits bruts (feuilles d'ortie et géranium et margines), ainsi que l'AT par la technique de diffusion sur agar (méthodes des disques) vis-à-vis de 17 microorganismes (11 entérobactéries et 06 Candida) qui proviennent des prélèvements d'ECBU. Les souches bactériennes sélectionnées sont des souches qui présentent une multirésistantes, elles engendrent beaucoup d'infections y compris les IU. Cette méthode permet de tester différents composés contre un seul microorganisme (RIOS et RECIO, 2005).

II.2.3.1. Tests de sensibilités

II.2.3.1.1. La sensibilité bactérienne aux extraits de feuilles d'ortie et géranium

Tableau XVIII. Diamètres des zones (mm) d'inhibitions (moyenne \pm SD) provoquées par les extraits de feuilles d'ortie et de géranium et leurs sensibilités.

Souches testées	Numéro	Sensibilité et valeur des diamètres d'inhibition (mm)			
		EAEFG	EEFG	EAEFO	EEFO
<i>E. coli</i>	07	10 \pm 0,5	10 \pm 1	/	/
		+	+	-	-
<i>E. coli</i>	12	10 \pm 0,5	10 \pm 1	/	
		+	+	-	-
<i>E. coli</i>	16	12 \pm 1	10 \pm 1	/	/
		+	+	-	-
<i>E. coli</i>	19	/	/	/	/
		-	-	-	-
<i>E. coli</i>	21	/	/	/	/
		-	-	-	-
<i>P. mirabilis</i>	13	12 \pm 0,5	10 \pm 1	/	/
		+	+	-	-
<i>P. mirabilis</i>	14	12,5 \pm 1	11 \pm 0,5	/	/
		+	+	-	-
<i>P. vulgaris</i>	20	12 \pm 0,5	10 \pm 1	/	/
		+	+	-	-
<i>K.pneumoniae</i>	06	/	/	/	/
		-	-	-	-
<i>K.pneumoniae</i>	09	/	/	/	/
		-	-	-	-
<i>E.cloacae</i>	18	09 \pm 0,5	12 \pm 0,5	/	/
		+	+	-	-
<i>C.albicans</i>	01	12 \pm 1	10 \pm 1	/	/
		+	+	-	-
<i>C.albicans</i>	04	13 \pm 0,5	9,5 \pm 0,5	/	/
		+	-	-	-
<i>C.albicans</i>	10	10 \pm 1	10 \pm 1	/	/
		+	+	-	-
<i>C. spp</i>	02	13 \pm 1	10,5 \pm 0,5	/	/
		+	+	-	-
<i>C.spp</i>	03	13,5 \pm 0,5	10,5 \pm 0,5	/	/
		+	+	-	-
<i>C.spp</i>	05	9 \pm 0,5	9 \pm 0,5	/	/
		+	+	-	-

(/) : Pas de zone d'inhibition.

Les mesures des halos d'inhibitions nous ont permis de classer les bactéries suivant leur degré de sensibilité aux extraits.

- Non sensible (-) pour un diamètre moins de 8 mm ;
- Sensible (+) pour un diamètre entre 9 à 14 mm ;
- Très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15 à 19 mm et extrêmement sensible (+++) pour un diamètre de plus de 20 mm (MOREIRA *et al*, 2005).

Il ressort à travers l'observation des zones d'inhibitions répertoriées dans le tableau XVIII que tous les microorganismes testés s'avèrent résistants aux extraits de feuilles d'ortie (acétate et éthanol). Cependant, le comportement des entérobactéries et des *Candida* vis-à-vis des extraits de géranium (acétate et éthanol) est différent d'une souche à une autre.

Nous avons noté que deux souches de *K. pneumoniae* testées ainsi que 2/5 des souches d'*E. coli* présentent une résistance avec absence complète de zone d'inhibition. Néanmoins, 3/5 des souches d'*E. coli* testées ont montré une sensibilité avec des diamètres d'inhibitions qui varient entre $10 \pm 0,5$ et 12 ± 1 pour l'EAEFG et 10 ± 1 pour l'EEFG.

Une sensibilité importante est noté chez le genre *Candida* vis-à-vis EAEFG. Les zones d'inhibitions étaient de 12 ± 1 et $13 \pm 0,5$ mm pour *C. albicans* et 13 ± 1 et $13,5 \pm 0,5$ mm pour *C. spp.* la sensibilité d'*E. cloacae* est plus importante avec EEFG qui est de 12,5mm contre $09 \pm 0,5$ mm avec EAEFG.

Les résultats obtenus par DAOUDI *et al* (2015) dans la région de Meknès, les extraits phénoliques des trois espèces du genre *Urtica* montrent que les trois espèces recèlent une diversité de métabolites secondaires aussi bien des tanins galliques et des flavonoïdes que des stérols, des triterpènes et des leucanthocyanes. L'activité antimicrobienne de ces extrait phénoliques testés vis-à-vis des germes pathogènes (*E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas putida* et *K.pneumoniae*) n'ont aucun effet inhibiteur sur ces dernières, ces résultats sont confirmés par les nôtres. Cette absence d'inhibition de la croissance bactérienne en présence de ces extraits est du soit à la résistance de celles-ci ou bien à l'insuffisance du volume et de la concentration utilisée.

L'activité d'un extrait est probablement due à la présence de synergie entre un nombre de composants, qui lorsqu'ils sont séparés deviendraient inactifs individuellement (RIOS et RECIO, 2005). De plus, la méthode d'extraction et les solvants utilisés pour l'extraction pourraient être à l'origine de ces résultats. En effet HAYOUNI *et al* (2007) ont montré que la méthode d'extraction et la nature du solvant peuvent influencer l'activité antimicrobienne des CP des plantes.

D'autres études ont rapporté que les huiles essentielles ont la plus grande efficacité dans le traitement des pathologies infectieuses (RIOS et RECIO, 2005). Ceci est confirmé par une étude réalisée par BENMILOUD (2014) qui est porté sur la révélation de l'activité antimicrobienne des extraits d'une plante *Nepeta amethystina* (aqueux, éthanolique, etheriques et huile essentielle) vis-à-vis des 3 souches de *C. albicans* (IPP 444, ATCC 26790 et ATCC 10231). Ces résultats montrent l'absence d'effet inhibiteur des différents extraits testés à l'exception de l'huile essentielle qui a donné des zones d'inhibitions importantes qui sont respectivement de 37, 40 et 45 mm.

Une étude a été réalisée par NABHI (2014) sur l'huile essentielle de *Pelargonium graveolens* (Géranium rosat) a montré une bonne efficacité vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* $22 \pm 1,8$ mm et *staphylococcus aureus* $19 \pm 2,2$ mm. Cependant, l'action inhibitrice de l'huile essentielle est moins importante pour *E. coli* et *K. pneumoniae* avec des zones respectives de $12 \pm 1,8$ mm et 16 ± 2 mm. D'après ces résultats on constate que l'huile essentielle de géranium a un pouvoir inhibiteur plus important que les polyphénols testés dans notre étude.

II.2.3.1.2. La sensibilité bactérienne aux extraits de margines

La méthode de diffusion sur disques nous a permis de mettre en évidence l'activité antimicrobienne des margines delipidées et non delipidées sur les microorganismes testés. Les résultats de cette activité sont figurés dans le tableau XIX.

Tableau XIX. Diamètres des zones d'inhibitions et sensibilité des espèces aux extraits de margines. (Moyenne \pm SD).

Souches testées	Numéro	Sensibilité et valeur des diamètres d'inhibitions (mm)		
		EMADpH ₂	EMApH ₂	EMAND
<i>E. coli</i>	07	11,5 \pm 0,5	11,5 \pm 0,5	11,75 \pm 0,5
		+	+	+
<i>E. coli</i>	12	11,5 \pm 0,5	12,5 \pm 0,5	11,5 \pm 0,5
		+	+	+
<i>E. coli</i>	16	12 \pm 0,5	12,5 \pm 0,5	11 \pm 0,5
		+	+	+
<i>E. coli</i>	19	12 \pm 0	11,5 \pm 1	11,75 \pm 0,5
		+	+	+
<i>E. coli</i>	21	12,5 \pm 0,5	12,75 \pm 0,5	11,5 \pm 0,5
		+	+	+
<i>P. mirabilis</i>	13	12,5 \pm 0,5	14,5 \pm 0,5	10,5 \pm 0,5
		+	+	+
<i>P. mirabilis</i>	14	13,75 \pm 0,5	13 \pm 0,5	11 \pm 1
		+	+	+
<i>P. vulgaris</i>	20	13,5 \pm 0,5	12,5 \pm 0,5	12,5 \pm 0,5
		+	+	+
<i>K.pneumoniae</i>	06	10,5 \pm 0,5	12,5 \pm 0,5	11 \pm 1
		+	+	+
<i>K.pneumoniae</i>	09	10,5 \pm 0,5	12,5 \pm 0,5	12 \pm 1
		+	+	+
<i>E.cloacae</i>	18	10,75 \pm 0,5	11,75 \pm 0,5	12,75 \pm 1
		+	+	+
<i>C.albicans</i>	01	10 \pm 0	10,5 \pm 0,5	10,25 \pm 0,5
		+	+	+
<i>C.albicans</i>	04	10,5 \pm 0,5	10,5 \pm 0,5	10,25 \pm 0,5
		+	+	+
<i>C.albicans</i>	10	10,5 \pm 0,5	10,5 \pm 0,5	10,75 \pm 0,5

		+	+	+
<i>C.spp</i>	02	12±0	13,5±0,5	11,25±0,5
		+	+	+
<i>C.spp</i>	03	10,5±0,5	11,5±1	10,5±1
		+	+	+
<i>C.spp</i>	05	10,5±0,5	11,5±0,5	11±0,5
		+	+	+

Selon les résultats figurés dans le tableau XIX, on constate que les trois extraits de margines à l'acétate d'éthyle delipidé ou non delipidé présentent une activité antimicrobienne et anticandidose.

Les zones d'inhibitions les plus importantes sont observées chez le genre *Proteus* qui peut aller jusqu'à $14,5 \pm 0,5$ avec les deux extraits EMADpH₂ et EMapH₂. Cependant l'action inhibitrice d'EMAND vis-à-vis du même genre est moins importante qu'EMADpH₂ et EMapH₂ elle varie entre $10,5 \pm 0,5$ et $12,5 \pm 0,5$.

EMADpH₂ et EMapH₂ sont les deux extraits qui ont donné des grandes zones d'inhibitions pour les cinq souches d'*E. coli* avec des diamètres qui varient entre $11,5 \pm 0,5$ et $12,75 \pm 0,5$. Par contre *K. pneumoniae* les diamètres d'inhibitions ont été notés par EMapH₂ et EMAND.

Le mode d'action des trois extraits a été de même efficacité pour le genre *Candida*. Les zones d'inhibitions prises sont moins importantes par rapport à celles des entérobactéries, elles ne vont pas au delà de $11 \pm 0,5$ mm excepté le *C. spp* $13,5 \pm 0,5$ avec EMapH₂. Cela confirme les études qui ont été faites par SINGLETON *et al* (1965). Ces derniers ont démontré que les champignons et les levures sont capables de se développer plus que les bactéries dans les margines.

GHOMAR (2015), au cours de son étude expérimentale a démontré que les margines exercent une activité inhibitrice vis-à-vis des souches pathogènes qui varie d'une souche à une autre avec des diamètres compris entre 10 et 17mm. Les souches les plus sensibles sont des Gram positif *staphylococcus aureus* et *bacillus cereus* et avec des diamètres d'inhibitions respectifs 14-16mm et 12-17mm. Les zones d'inhibitions qu'on a obtenus avec les souches *E. coli* (11 à 12,5 mm) se rapprochent à celles qu'il a obtenu (10 à 12 mm).

Nous avons comparé nos résultats avec ceux d'ESMAIL *et al* (2015) effectués sur des souches uropathogènes ainsi que des levures. Leurs résultats démontrent que les margines n'ont aucune efficacité vis-à-vis de *C. albicans* testée. Par contre dans notre étude, nous avons obtenu que les margines exercent une activité inhibitrice qui varie entre 10 ± 0 mm et $11 \pm 0,5$ mm, et que *C. spp* présente une zone d'inhibition importante de $13,5 \pm 0,5$ mm avec EMapH₂.

La zone d'inhibition qu'ils ont observé chez *E. cloacae* qui est de 13 mm se rapproche avec celle que nous avons observé avec EMAND ($12,75 \pm 1$ mm). Cependant, les diamètres d'inhibitions qu'ils ont enregistré pour *E. coli* ATCC 25921 (15mm) et *K. pneumoniae* (22mm) étaient supérieurs aux nôtres.

Le diamètre d'inhibition trouvé par AOUCHICHE et BOUMGHAR (2015) pour *E. coli* ATCC 25322 avec EMADpH₂ qui est de 12±0 mm est très proche aux diamètres que nous avons trouvé avec le même extrait vis-à-vis *E. coli* uropathogènes avec des zones comprises entre 11,5 ± 0,5 et 12,5 ± 0,5 mm de diamètres. La souche de *K. pneumoniae* qu'elles ont testé présente une sensibilité vis-à-vis de l'EMADpH₂ et EMApH₂ avec une zone d'inhibition de 13 ± 0 mm. Comparant leurs résultats aux nôtres, les zones d'inhibitions que nous avons enregistrées pour la même souche vis-à-vis de l'EMApH₂ sont très proches avec ceux qu'elles ont obtenu (12,5 ± 0 mm). La sensibilité de *B. subtilis* ATCC 6633 vis à vis de EMApH₂ (13,5 ± 0,7mm) est comparable avec la sensibilité de *Proteus* vis-à-vis de même extrait (12,5 ± 0,5 mm et 14,5 ± 0,5 mm). De plus, le diamètre d'inhibition qu'elles ont obtenu pour cette même souche vis-à-vis de l'EMADpH₂ 14,5 ± 0,7 mm est proche de celle que nous avons obtenu (12,5 ± 0,5 mm et 13,5 ± 0,5 mm) pour cet extrait.

Selon SINGLETON *et al* (1965) et RANALLI (1991), les CP confèrent aux margines un pouvoir antibactérien, car d'une part ils sont caractérisés par une très forte réticulation et aussi une dénaturation des protéines, d'une autre part en raison de leur chaîne latérale acide (ESMAIL, 2015).

Les acides phénoliques sont beaucoup moins polaires. Cette propriété peut faciliter le transport de ces molécules à travers la membrane cellulaire. Ils sont capables de se complexer avec les protéines extracellulaires solubles et aussi avec les peptidoglycane et causé ainsi la rupture de la paroi bactérienne (ARAB *et al*, 2013) comme c'est le cas des quinones. Les flavonoïdes (plus lipophiles) peuvent également perturber les membranes microbiennes (FIRAS et HASSAN, 2008). La perturbation de la paroi bactérienne entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire aux protons et aux ions potassium, une perturbation de la force proton motrice et une dénaturation des protéines intracellulaires (LAMBERT *et al*, 2001 ; BURT, 2004 ; BAKKALI *et al*, 2008). En plus, les CP en forte concentration peuvent se fixer sur les enzymes dont l'activité serait affectée et les cellules microbiennes seraient privées de métabolites intermédiaires, ce qui parviendrait à l'inhibition de leur croissance.

II.2.3.1.3. La sensibilité bactérienne aux CP standards

Les diamètres d'inhibitions sont représentés dans le tableau XXII.

Tableau XX. Diamètres des zones (mm) d'inhibitions (moyenne \pm SD) exprimées par le composé phénolique AT et sensibilité des espèces vis-à-vis de ce CP.

Souches testées	Numéro	Valeurs des diamètres d'inhibitions (mm)	Sensibilité
<i>E. coli</i>	07	18,5 \pm 1	++
<i>E. coli</i>	12	18 \pm 0	++
<i>E. coli</i>	16	19,75 \pm 0,5	++
<i>E. coli</i>	19	15,5 \pm 1	++
<i>E. coli</i>	21	15,5 \pm 1	++
<i>P. mirabilis</i>	13	20,5 \pm 0,5	+++
<i>P. mirabilis</i>	14	19,5 \pm 1	++
<i>P.vulgaris</i>	20	17,5 \pm 1	++
<i>K.pneumoniae</i>	06	12,5 \pm 1	+
<i>K.pneumoniae</i>	09	12,5 \pm 1	+
<i>E.cloacae</i>	18	18,5 \pm 1	++
<i>C.albicans</i>	01	22,5 \pm 1	+++
<i>C.albicans</i>	04	20 \pm 1	+++
<i>C.albicans</i>	10	21,5 \pm 1	+++
<i>C.spp</i>	02	24 \pm 1,5	+++
<i>C.spp</i>	03	23 \pm 1	+++
<i>C.spp</i>	05	21 \pm 1	+++

D'après les résultats consignés dans le tableau XX on remarque que l'AT exerce un large spectre d'activité vis-à-vis des entérobactéries et des *Candida* testés. On remarque que le degré de sensibilité diffère d'une souche à une autre avec un diamètre d'inhibition qui varie de 12,5 \pm 1 jusqu'à 24 \pm 1,5.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par AOUCHICHE et BOUMGHAR (2015), elles ont démontré que l'AT a une forte activité antimicrobienne vis-à-vis de leur souche testé, il a donné des zones d'inhibitions qui peuvent aller jusqu'à 23 mm de diamètre.

Les deux souches de *K. pneumoniae* ont montré un diamètre d'inhibition de 12,5 \pm 1 mm, ce diamètre est moins important par rapport aux autres diamètres notés chez les entérobactéries et les *Candida* testés.

Le diamètre d'inhibition obtenu par l'AT au sein d'une même espèce d'*E. coli* varie de 15,5 \pm 1 mm jusqu'à 19,75 \pm 0,5 mm.

Les trois souches de *Proteus* ont présenté de grandes zones d'inhibitions. On note que *P. mirabilis* présente une sensibilité plus importante comparé à celle de *P. vulgaris* avec un diamètre d'inhibition qui est de $19,5 \pm 1$ mm et $20,5 \pm 0,5$ mm pour *P. mirabilis* et $17,5 \pm 1$ mm *P.vulgaris*.

Les plus grandes zones d'inhibitions de l'AT sont obtenues avec les *Candida* ou elles varient de 20 ± 1 mm jusqu'à $24 \pm 1,5$ mm.

II.2.4. Résultats des paramètres d'inhibitions

II.2.4.1. Résultats de l'activité antimicrobienne testés par la méthode de microdilution en milieu liquide (détermination des CMI)

La méthode de diffusion en milieu gélosé utilisée est une méthode simple qui donne des résultats, mais il est difficile d'utiliser cette méthode avec des quantités importantes d'échantillons car le disque est petit et le papier filtre utilisé ne permet pas d'imprégner une grande quantité au risque de déborder l'échantillon étudié (la quantité maximale imprégnée est de 25 à 30µl). En réalité, ce test n'est qu'un criblage des activités antimicrobiennes des extraits, il nous permet de sélectionner pour chaque souche l'extrait qui a présenté le plus d'activité antimicrobienne. Ce teste doit être complété par un autre test qui permettra de déterminer la CMI des extraits actifs.

ALIGIANNIS et ses collaborateurs, (2001) in FABRI *et al* (2009), ont proposés une classification des extraits du matériel végétal sur la base des résultats des CMI, comme suit :

- Forte inhibition: CMI inférieure à 500µg/ml ;
- Inhibition modérée: CMI varie de 600µg/ml à 1 500µg/ml ;
- Faible inhibition: CMI supérieure à 1 600µg/ml.

Nous rapportons dans les tableaux XXI et XXII les CMI des extraits les plus actifs (EMADpH₂, EMApH₂ et l'AT) obtenus sur milieu gélosé dont les diamètres d'inhibitions sont >10 mm (choix arbitraire).

L'analyse des données expérimentales montre que comparativement au témoin de croissance, il y a une diminution du trouble provoquée par la croissance des germes au fur et à mesure que la concentration en extrait augmente.

Tableau XXI. Résultats des CMI exprimés en µg/ml retenues par l'AT.

Extrait	Souche	Numéro	CMI	classification
AT	<i>C. albicans</i>	01	625	Inhibition modérée
	<i>C. spp</i>	02	2500	Faible inhibition
	<i>E. coli</i>	16	2500	Faible inhibition
	<i>E. coli</i>	21	2500	Faible inhibition
	<i>P. mirabilis</i>	20	2500	Faible inhibition
	<i>P. vulgaris</i>	13	2500	Faible inhibition
	<i>K. pneumoniae</i>	06	1250	Inhibition modérée

	<i>E.cloacae</i>	18	2500	Faible inhibition
--	------------------	----	------	-------------------

D'après les résultats des CMI mentionnés dans le tableau XXI nous constatons que l'effet inhibiteur de l'AT vis-à-vis des souches testées est classé en inhibition modérée et une faible inhibition.

Nous avons obtenu une inhibition modérée pour *C. albicans* avec une concentration de 625 µg/ml ainsi que *K. pneumoniae* avec une concentration un peu plus supérieure par rapport à *C. albicans* qui est de 1250 µg/ml. Les autres souches (*E. coli*, *Proteus* et *E. cloacae*) ont présenté une inhibition faible avec une concentration en AT de 2500 µg/ml. Plus que les valeurs de CMI sont petites plus que l'extrait à une activité plus grande en vers la bactérie testée.

La CMI obtenu par AOUCHICHE et BOUMGHAR en (2015) chez *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 (625ug/ml) vis-à-vis de l'AT est identique avec celle que nous avons obtenu chez *C. albicans*. Cependant, elles ont montré une forte inhibition chez *P. marginalis* DSM 13124 et *B. thermosphacta* CIP 103251 (78,125ug/ml) qui reste très inférieur aux résultats que nous avons obtenus vis-à-vis de tous les microorganismes testés.

Tableau XXII. Résultats des CMI exprimées en µg/ml retenues par les extraits de margines.

Extraits	Souches	Numéro	CMI	classification
EMADpH₂	<i>C. albicans</i>	01	220,33	Forte inhibition
	<i>E. coli</i>	16	55,17	Forte inhibition
	<i>P. vulgaris</i>	20	25,58	Forte inhibition
	<i>K. pneumoniae</i>	06	55,17	Forte inhibition
EMApH₂	<i>C. spp</i>	02	234,33	Forte inhibition
	<i>E. coli</i>	21	58,58	Forte inhibition
	<i>P. mirabilis</i>	13	29,29	Forte inhibition
	<i>E. cloacae</i>	18	29,29	Forte inhibition

Les résultats obtenus dans notre étude, rapportés dans le tableau XXII, ont montré que les deux extraits de margine utilisés (EMADpH₂ et EMApH₂) ont une forte inhibition vis-à-vis de tous les microorganismes testés.

La plus faible concentration d'inhibition est obtenue avec EMADpH₂ vis-à-vis de *P. vulgaris*, elle est de 25,58 µg/ml. *E. coli* et *K. pneumoniae* ont donné la même CMI qui est de 55,17 µg/ml avec l'EMADpH₂. *P. mirabilis* et *E. cloacae* sont les deux souches qui ont donné la plus faible CMI (29,29 µg/ml) avec l'EMApH₂.

On comparant les extraits étudiés entre eux du point de vue de leur activité en vers les entérobactéries et les *Candida*, on conclut que les extraits de margine ont une forte activité inhibitrice par rapport à l'AT.

Les CMI rapportées par ESMAIL *et al* (2015) avec des concentras de margines marocaines vis-à-vis des souches uropathogènes de références à savoir *E. coli* ATCC 25921, *K.pneumoniae* et *E. cloacae* lesquelles ont montré une bonne efficacité, elle est de 0,25mg/ml. La CMI que nous avons noté avec la souche *E. cloacae* (29,29ug/ml) est très proche de celle qu'ils ont enregistré et que celle d'*E. coli* et *K.pneumoniae* sont légèrement supérieure a celle qu'ils ont obtenu dans leur étude.

La CMI obtenue par AOUCHICHE et BOUMGHAR (2015) ont montré une bonne inhibition des margines vis-à-vis de leurs souches testées. Leurs résultats obtenu vis-à-vis de *C. freundii* ATCC 8090 (30,83 µg/ml) se rapproche de celle que nous avons obtenu chez *P. mirabilis* et *E. cloacae* (29,29 µg/ml). Les CMI que nous avons obtenu pour les entérobactéries varient entre 29,29 et 58,58 µg/ml. Ces valeurs sont plus importante à celles qu'elles ont obtenu chez *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *P. marginalis* DSM 13124 et *E. faecalis* ATCC 0409 (123,32 µg/l). La CMI qu'elles ont obtenu pour *B. thermosphacta* CIP 103251 (246,63 µg/l) se rapproche des valeurs que nous avons noté chez *C. albicans* (220,33 µg/l) et *C. spp* (234,33 µg/l).

II.2.4.2. Détermination des CMB et la nature de l'activité antimicrobienne

La CMB est déterminée après l'ensemencement des bactéries prélevées à partir des puits où la concentration est \geq à la CMI. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau XXV.

Selon KAROU *et al* (2005), l'action d'un extrait sera considérée comme bactéricide si le rapport CMB/CMI est égal à 1. L'action est dite bactériostatique si le rapport CMB/CMI est supérieur à 1.

Tableau XXIII. Les CMB et la nature de l'activité obtenue par les différents extraits.

Extraits	microorganismes	CMI	CMB	CMB/CMI	Interprétation
AT	<i>C. albicans</i> 1	1/8	ND	ND	ND
	<i>C. spp</i> 2	1/2	ND	ND	ND
	<i>E. coli</i> 16	1/2	ND	ND	ND
	<i>E. coli</i> 21	1/2	ND	ND	ND
	<i>P. vulgaris</i> 20	1/2	ND	ND	ND
	<i>P. mirabilis</i> 13	1/2	ND	ND	ND
	<i>K.pneumoniae</i> 06	1/4	ND	ND	ND
EMADpH ₂	<i>E. cloacae</i> 18	1/2	ND	ND	ND
	<i>C.albicans</i> 1	1/4	ND	ND	ND
	<i>E. coli</i> 16	1/ 16	1/8	2	bactériostatique
	<i>P.vulgaris</i> 20	1/ 32	1/16	2	bactériostatique
EMApH ₂	<i>K.pneumoniae</i> 06	1/ 16	1/8	2	bactériostatique
	<i>C.spp</i> 2	1/4	ND	ND	ND
	<i>E. coli</i> 21	1/16	1/8	2	bactériostatique
	<i>P. mirabilis</i> 13	1/32	1/16	2	bactériostatique
	<i>E. cloacae</i> 18	1/32	1/16	2	bactériostatique

ND : Non déterminé.

D'après les résultats mentionnés dans le tableau (XXV) les deux extraits de margines testés présentent un effet bactériostatique vis à vis des souches testées.

Selon l'étude réalisée par AOUCHICHE et BOUMGHAR (2015), l'extrait de margine à l'acétate d'éthyle présente un effet bactériostatique vis-à-vis de *P. marginalis* DSM 13124.

II.2.5. Activité antibiofilm

Nous avons quantifié *in vitro* la capacité des souches uropathogènes à former un biofilm sur la microplaque à 96 puits et sur un CU en silicone par la méthode au CV. Ce dernier est un colorant basique qui se lie à l'ADN, aux protéines, aux molécules de surface chargées négativement et aux polysaccharides de la matrice extracellulaire de biofilm.

Nous avons notamment testé le pouvoir de l'AT et d'extrait de margine à éradiquer un biofilm sur microplaque 96 puits et sur le dispositif médical (uniquement l'AT).

II.2.5.1. Test de l'activité antibiofilm de l'AT et des margines sur microplaque à 96 puits

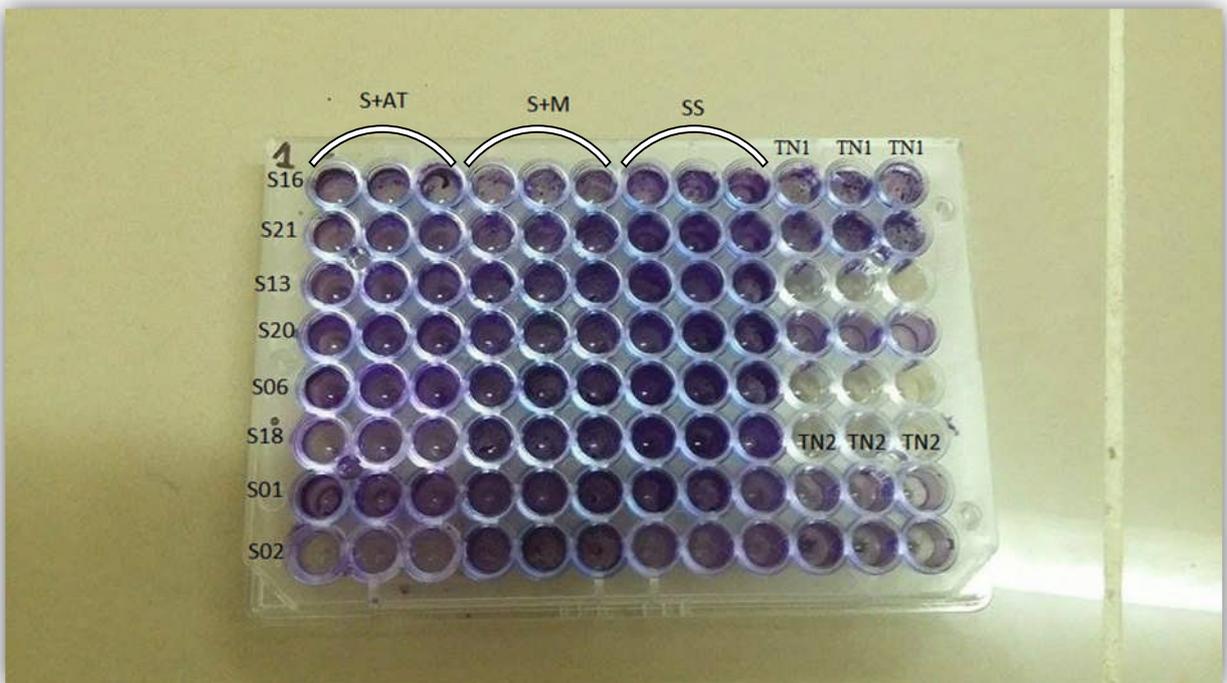


Figure 14. Test de l'activité antibiofilm de l'AT et des margines (EMADpH₂) sur microplaque 96 puits.

Répartition des souches et des extraits dans la microplaque :

- Répartition des souches:

S16: *E. coil* / **S21:** *E. coli* / **S13:** *P. mirabilis* / **S20:** *P. vulgaris* / **S06:** *K. pneumoniae* / **S18:** *E. cloacae* / **S01:** *C. albicans* / **S02:** *C. spp.*

- Répartition des extraits:

S+AT: souche + acide tannique / S+M: souche + extrait de margine (EMADpH₂) / SS : souche seule / TN1 : témoin négatif (AT) / TN2 : témoin négatif (EMADpH₂).



Figure 15. Test de l'activité antibiofilm de l'AT et des margines (EMApH₂) sur microplaque 96 puits.

Répartition des souches et des extraits dans la microplaque :

- Répartition des souches:

S07: *E. coli* / **S12:** *E. coli* / **S19:** *E. coli* / **S14:** *P. mirabilis* / **S09:** *K. pneumoniae* / **S04:** *C. albicans* / **S10:** *C. albicans* / **S05:** *C. spp.*

- Répartition des extraits:

S+AT: souche + acide tannique / S+M: souche + extrait de margine (EMApH₂) / SS : souche seule / TN1 : témoin négatif (AT) / TN2 : témoin négatif (EMApH₂).

Tableau XXIV. Les pourcentages d'inhibitions de l'activité antibiofilm obtenu par l'AT et les margines sur microplaque 96 puits après révélation au CV.

Souches testées	Numéro	Pourcentage d'inhibition de l'AT %	Pourcentage d'inhibition des margines %
<i>E. coli</i>	07	60,93	72,85
<i>E. coli</i>	12	63,89	74,65
<i>E. coli</i>	16	56,4	67,78
<i>E. coli</i>	19	60,8	74,37
<i>E. coli</i>	21	38,24	58,82
<i>P. mirabilis</i>	13	57,71	65,17
<i>P. mirabilis</i>	14	65,38	74,03
<i>P. vulgaris</i>	20	65,09	70,28
<i>K. pneumoniae</i>	06	39,29	46,43
<i>K. pneumoniae</i>	09	53,69	67,21
<i>E. cloacae</i>	18	68,32	70,98
<i>C. albicans</i>	01	52,4	74,52
<i>C. albicans</i>	04	61,54	69,55
<i>C. albicans</i>	10	63,79	72,09
<i>C. spp</i>	02	69,1	78,82
<i>C. spp</i>	03	50,7	61,5
<i>C. spp</i>	05	52,21	79,31

D'après les résultats de notre expérience, toutes les souches et les *Candida* testés sur microplaque ont la capacité de former un biofilm sur microplaque à 96 puits via l'implication des molécules adhésifs a savoir des flagelles, fimbriae ou pili (type I), les pili de conjugaison, les curli, polysaccharide de la surface bactérienne (LPS et capsules), des glycocalix, et des protéines membranaires.

Néanmoins, le degré de formation du biofilm est différent d'une souche à une autre, on note que 2/3 des souches d'*E. coli* et 1/2 des *Candida* testés sont fortement productrice du biofilm

Nos résultats se rapprochent de ceux obtenus par AUGER (2012) sur la formation de biofilm *in vitro* par des souches cliniques d'*E. coli*. Ces résultats montrent que seul 3/10 des souches testées ont une forte production de biofilm sur microplaque. Son étude montre que la formation du biofilm *in vitro* est fortement dépendante des conditions expérimentales tel que le milieu de culture, la durée et les conditions d'incubation, le type de microplaque utilisé.

Une étude a été menée par AOUCHICHE et BOUMGHAR (2015) a rapporté que toutes leurs souches testées (*Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* ATTC 27853, *Enterococcus faecalis* ATTC 49452, *Klebsiella pneumoniae* ATTC 700600, *Bacillus megaterium*, *S. aureus* ATTC 25923, *E. coli* ATTC 25922 et *B. subtilis*) sont formatrices de biofilm bactériens. Cependant, leurs valeurs obtenues sont supérieures aux nôtres.

Une étude qui a été réalisée par BELLIFA (2014), qui consiste à évaluer la formation du biofilm des souches de *K. pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen a révélé que 51 des souches testées sont bonnes formatrices de biofilm sur microplaque 96 puits, 35 des souches sont modérées et que 20 souches sont non formatrices du biofilm.

Selon REINER *et al* (2006) ; NAVES *et al* (2008) ; HANCOCK *et al* (2011), la classification des souches en faiblement et fortement productrice du biofilm reste très arbitraire et variable d'une étude à une autre.

La méthode de quantification du biofilm au CV est une méthode difficile à standardiser, il y a des variations entre les protocoles utilisés notamment la durée, les températures d'incubations, la méthodologie des lavages, la concentration du colorant ou encore la durée de coloration (PEETER *et al*, 2008 ; NAGANT *et al*, 2010). Le seuil de positivité définissant une souche varie également selon les études, la comparaison donc des résultats entre les différentes publications est assez délicate. De plus cette méthode évalue la biomasse qui peut être constituée des bactéries vivantes ou des bactéries mortes.

D'après REINER *et al* (2006) ; NAVES *et al* (2008), le taux de formation du biofilm serait plus élevé dans un milieu pauvre en nutriment que dans un milieu riche. L'étude réalisée par AUGER (2012) montre que la formation de biofilm de mêmes souches testées (*E. coli*) dans le milieu BH (Brain Heart) est plus importante que dans le milieu BHI.

JAKSON *et al* (2002) ont montré que la formation du biofilm a diminué par l'addition du glucose tandis que CERCA et JEFFERSON (2008) ont montré un effet positif du glucose sur la formation du biofilm.

Les deux extraits ont montré une activité antibiofilm contre les souches testées (tableau XXIV). Les margines ont un effet inhibiteur plus important que l'AT avec un pourcentage d'inhibition qui peut atteindre les 80%. Le pourcentage d'inhibition de l'AT varie entre 38,24% et 68,32%. Néanmoins, aucun extrait n'a pu inhiber complètement la formation de biofilm sur la microplaque 96 puits.

Avec l'extrait EMA, *K. pneumoniae* est la moins sensible par rapport aux autres souches testées avec un taux d'inhibition de 46,43%, suivi d'une souche d'*E. coli* (58,82%). Avec l'AT, une souche d'*E. coli* a noté le plus faible pourcentage d'inhibition (38,24%) suivi d'une souche de *K. pneumoniae* (39,29%).

Une étude réalisée par AOUCHE et BOUMGHARE (2015) montre que l'AT et les margines présentent une activité antiadhésive importante. Elles ont enregistré un pourcentage d'inhibition important avec l'AT (70%) et 40% avec les margines. Comparant leurs résultats aux nôtres, on trouve que le pourcentage d'inhibition de biofilm par l'AT dans notre étude était moins important par rapport à leurs résultats. Les souches les plus sensibles qu'elles ont enregistré étaient *E. faecalis* et *E. coli* avec des pourcentages d'inhibition qui sont respectivement 93,8% et 91,8%.

Leur résultats montre qu'avec l'extrait EMA, *E. faecalis* c'est avérée la plus sensible avec un taux d'inhibition de 93,8%, suivi de *E. coli* (91,8%), leurs résultats est légèrement supérieurs par rapport a ceux obtenus dans notre étude. Tandis que *B. subtilis* et *B. megaterium* se sont montrés les plus résistantes avec 48,8% et 41,6% respectivement. Ces résultats se rapprochent de ceux de *K. pneumoniae* et *E. coli* qui sont respectif de 46,43% et 58,82%.

ITO *et al* (2009), en étudiant l'effet de la pénétration des agents antimicrobiens dans les biofilms d'*E. coli*, ils ont montré une résistance accrue vis-à-vis des sous populations dans les couches profondes de biofilms matures et que la production et la résistance de ces dernières ont été facilitées par les phénotypes spécifiques du biofilm d'*E. coli*.

II.2.5.2. Test de l'activité antibiofilm de l'AT sur cathéter urinaire

L'OMS estime que 60% des infections liées aux soins sont associée a l'implantation d'un dispositif médicale ou chirurgicale (ESPINASSE *et al*, 2010 ; GUGGENBICHLER *et al*, 2011). La physiologie de ces infections est généralement liée à la constitution d'un biofilm sur un corps étranger. Vue la résistance des germes constitutifs de biofilm vis-à-vis des antiseptiques et des antibiotiques qui ont fait un véritable problème de santé publique ainsi que leur transmission dans les établissements de soins, il est donc recommander de trouver d'autre molécules alternatives permettant d'éradiquer les biofilms sur dispositifs médicaux y compris les sondes urinaires.

Le sondage est l'introduction d'une sonde dans un conduit ou cavité afin d'en évacuer les urines vésicales soit par cathétérisme urétral soit par cathétérisme sus pubien (cystostomie).

Il est indiqué au décours des interventions chirurgicales sur le petit bassin en urologie, en gynécologie et en chirurgie digestive, dans les services de soins intensifs et de réanimation, dans certaines affections neurologiques avec paralysie vésicale et chez les personnes âgées ayant perdu le contrôle de la miction (CARTIER et LOBEL, 1990 ; KOUADIO, 1992). Néanmoins, en dehors des rares acquisitions par voie hématogène ou lymphatique à partir d'une source endogène des IU, le sondage urinaire favorise la colonisation des microorganismes sur cathéter et la formation d'un biofilm par migration extraluminale et intraluminale de ces derniers (CARON, 2003 ; JACOBSEN, 2008).

Nous avons testé dans notre étude la capacité des bactéries uropathogènes et des *Candida* à former un biofilm sur CU en présence et en absence de l'AT dans le milieu BHIB saccharose. Les résultats de notre étude sont figurés dans le tableau XXV.

Tableau XXV. Pourcentages d'inhibitions de l'activité antibiofilm retenus par l'AT sur CU après révélation au CV.

microorganismes	Pourcentage d'inhibition %
<i>E. coli</i>	84,14
<i>E. coli</i>	73,03
<i>E. coli</i>	76,19
<i>E. coli</i>	68,82
<i>E. coli</i>	90,35
<i>P. mirabilis</i>	83,98
<i>P. mirabilis</i>	72,97
<i>P. vulgaris</i>	66,53
<i>K. pneumoniae</i>	76,82
<i>K. pneumoniae</i>	76,70
<i>E. cloacae</i>	90,28
<i>C. albicans</i>	62,15
<i>C. albicans</i>	52,92
<i>C. albicans</i>	58,74
<i>C. spp</i>	64,48
<i>C. spp</i>	62,24
<i>C. spp</i>	70,86

D'après les résultats représentés dans le tableau XXV, on constate que tous les microorganismes testés ont la capacité de former un biofilm sur le CU en silicone.

Les entérobactéries, d'après notre étude, sont les souches les plus formatrices du biofilm sur CU par rapport au genre *Candida* exceptée *E. cloacae*.

Selon ESPINASSE *et al* 2010, *E. coli* est responsable dans 52% dans la formation des biofilms sur les dispositifs médicaux suivis de *klebsiellae*, *Entérobacter* et *Serratia* avec une fréquence de 15%, *Staphylocoque* 10% et *Pseudomonas aeruginosa* 7% .

D'après une étude menée par HONRAET *et al* (2005) et PEETERS *et al* (2008), Toutes les souches de *Candida* testées sont capables de former un biofilm sur les sections de cathéter en silicone par la méthode de XTT (sel de tetrazolium). Cette méthode permet de quantifier le biofilm des *Candida* par la dégradation du XTT qui est un composé jaune pouvant être réduit par les bactéries métaboliquement actives en formasan, un colorant orange quantifiable par spectrophotométrie.

D'après ABD EL-BAKY (2012), il rapporte que l'adhérence microbienne sur les biomatériaux se produit dans l'ordre suivant: latex > silicone > PVC > Téflon > Polyuréthane > Acier > Titanium.

Selon HAWSER et DOUGLAS (1994) et KUMON *et al* (2001), le silicone est réputé comme étant l'un des matériaux le moins formateur de biofilm dans les cathéters.

GALLARDO-MORENO *et al* (2002) ont montré que l'adhésion d'*Enterococcus faecalis* est plus importante sur le silicone (hydrophobe) comparé au verre (hydrophile), cette adhésion étant potentialisée par un changement de la composition du milieu de culture qui induisait une augmentation du caractère hydrophobe des souches bactériennes.

JACOBSEN (2008) a montré qu'en présence de SU, les microorganismes requièrent moins de facteurs de virulence pour coloniser et établir une infection du tractus urinaire que ceux infectant un tractus urinaire fonctionnel. En effet, le sondage provoque la rupture de la défense immunitaire par action mécanique érosive de la muqueuse urétrale et il provoque une perturbation du flux mictionnel. La présence de résidu des urines y compris les protéines vont s'adsorber très rapidement sur la surface du cathéter et entraîne la formation d'un film muqueux (film de conditionnement), ce dernier va favoriser l'attachement initiale des bactéries et donc le développement du biofilm. Ce phénomène est notamment essentiel pour les bactéries qui n'ont pas de mécanismes d'adhérence particulière (TENKE, 2008). Le biofilm microbien s'installe en 24 à 72 heures après la pose de la SU. Si certaines espèces bactériennes dotées d'une uréase (*Proteus* spp, *Providencia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) sont présentes dans le biofilm, elles hydrolysent l'urée en ammoniac libre induisant une augmentation du pH urinaire et la précipitation de minéraux sous forme de cristaux de struvite ou d'hydroxyapatite qui s'incrusteront sur la SU. L'incrustation qui siège autour du ballonnet et dans la lumière de la sonde entraîne une réduction du canal de drainage et une stagnation des urines, favorisant ainsi la survenue de bactériurie.

Selon JACOBSEN (2008), le risque d'IU est lié à la méthode de sondage utilisé, la durée du sondage, le type de sondage utilisé et le terrain du patient. Un risque est important en cas de sondage à demeure.

Selon l'étude menée par GANDERTON *et al* (1992), ils ont montré la présence de biofilm sur 44 des 50 sondes posées pendant 3 à 83 jours.

L'AT a montré une bonne activité inhibitrice vis-à-vis de biofilm formé sur le CU en silicone avec un pourcentage d'inhibition qui varie entre 52,92 % et 90,35 %.

D'après nos résultats, tous les microorganismes testés ont montré une sensibilité importante vis-à-vis de l'AT. Néanmoins, le degré de sensibilité est variable d'une souche à une autre. La souche qui a montré une sensibilité plus importante été une souche d'*E. coli* suivi d'*E. cloacae* avec des pourcentages d'inhibitions respectives 90,35% et 90,28%. Le pouvoir d'inhibition de l'AT sur CU est plus important par rapport à la microplaque 96 puits. Nous avons enregistré un pourcentage d'inhibition compris entre 38,24% et 68,32% sur microplaque 96 puits contre 52,92% et 90,35% sur CU. Cela est peut être relatif à la nature du support d'adhésion qui est le polystyrène pour la microplaque et le silicone pour le CU.

Conclusion

Dans le cadre d'une analyse statistique sur les infections urinaires nous avons réalisé des ECBU sur des personnes hospitalisées. Nous avons noté que parmi les 187 prélèvements, 19,79% des cas sont portés positifs. Nous avons noté, selon le teste statistique, une prédominance du sexe masculin avec une fréquence de 56,76% contre 43,24% du sexe féminin, le faite que la majorité de nos échantillons reçus du sexe masculin proviennent des malades sondés, diabétiques ou des enfants ayant une malformation urinaire. La tranche d'âge la plus touchée, dans notre étude, est celle des enfants dont l'âge est inférieur ou égal à 3ans avec une fréquence de 37,84% suivit des hommes ayant l'âge supérieur ou égal à 55ans avec une fréquence de 29,73%. Les germes les plus impliqués dans les IU sont les entérobactéries qui proviennent de la flore intestinale avec une fréquence de 75.67% dont la prédominance est celle d'*E. coli*. 54,05%.

La présente étude a porté aussi sur l'extraction des polyphénols à partir de deux plantes ortie et géranium ainsi que les margines. Elle a permis de mettre en évidence à travers l'extraction des polyphénols que le rendement d'extraction est beaucoup important pour le géranium par rapport à l'ortie.

Le rendement d'extraction pour les deux plantes est meilleur avec l'éthanol vu sa grande polarité par rapport a l'acétate d'éthyle. Les rendements d'extractions pour le EEFG et EAEFG sont respectifs de 49,60% et 44,80% et que le rendement d'extraction d'EEFO et EAEFO est de 17 % et 9,46%.

Le dosage des polyphenols totaux des différentes fractions à monter une variabilité en teneur de PPT, cette variabilité est due à la différence de solubilité des composés phénoliques qui dépend de la polarité des solvants choisis, de la nature chimique de ces composés, de la méthode d'extraction et de la partie de la plante choisi.

Les feuilles de géranium à l'acétate d'éthyle ont donné une concentration importante de $186,79 \pm 20,799$ mg EAG/g contre $180,99 \pm 16,400$ mg EAG/g pour l'EEFG. Nous avons noté que l'ortie présente une teneur en polyphénols totaux beaucoup plus inférieur par rapport à celle du géranium. Néanmoins, la teneur en polyphénols totaux pour l'ortie avec l'extrait de l'éthanol ($23,60 \pm 1,680$ mg EAG/g) est plus supérieure à celle de l'ortie avec l'extrait de l'acétate d'éthyle ($11,60 \pm 2,001$ mg EAG/g). La plus grande concentration en teneur de polyphenols totaux pour les extraits des margines est celle de $941,33 \pm 10,66$ µg/ml pour EMAND suivit de $937,33 \pm 49,99$ µg/ml pour l'EMApH₂ et $882,66 \pm 13,33$ µg/ml EMADpH₂.

Tout nos extraits testés (feuilles de géranium, margines et AT) à l'exception de l'ortie ont prouvé une efficacité inhibitrice vis-à-vis des microorganismes testé par la méthode de diffusion sur l'agar. Les zones d'inhibitions obtenues par l'AT sont supérieur a celle des margines et celle des feuilles de géranium, elles peuvent aller jusqu'à $24 \pm 1,5$ mm. Par la méthode de micro dilution, les margine ont donné une forte inhibition avec des CMI qui varient entre 25,58ug/ml et 58,58ug/ml pour les entérobactéries et entre 220,33 µg/ml et 234 µg/ml pour les *Candida*. Cependant, les CMI obtenu par l'AT sont de 625 µg/ml pour *C.*

albicans et 1250 µg/ml pour *K. pneumoniae*. Tous les autres microorganismes ont donné une faible inhibition vis-à-vis de l'AT (2500 µg/ml).

Nous avons constaté dans un premier temps que les microorganismes ont la capacité de former un biofilm sur microplaque 96 puits et sur cathéter urinaire en silicone. L'AT et les margines exercent aussi une activité antibiofilm importante. Le pourcentage d'inhibition de biofilm sur cathéter urinaire varie entre 52,92% et 90,35%.

Ces résultats sont prometteurs, et ouvrent de nouveaux horizons, pour l'exploitation de ces polyphénols pour lutter contre les germes nosocomiaux. Les travaux menés au cours de cette étude ont aboutit à plusieurs résultats et ils ouvrent de nombreux axes de recherche, parmi lesquels on peut citer :

- L'isolement et l'identification de la ou les molécule (s) bioactive (s) responsables de l'activité antibactérienne et antibiofilm de chaque extrait par les techniques appropriées ;
- L'évaluation de l'activité antioxydante, antibactérienne et antibiofilm, *in vivo* est souhaitables pour déterminer les tissus et organes cibles et rechercher leurs mécanismes d'action au niveau tissulaire et moléculaire ;
- Tester l'effet de ces polyphenols sur les bactéries Gram+ ;
- Tester l'efficacité de l'huile essentielle de ces plantes ;
- Développer de nouvelles approches qui consisteront à greffer ces molécules bioactives dans les dispositifs médicaux à la place des ATB.

*Références
bibliographiques*

ABD EL-BAKY R.M. (2012). Application of Scanning Electron Microscopy for the Morphological Study of Biofilm in Medical Devices. *Technology*, 591-616.

ABROUMAND A. et DEOKULE S.S. (2008). Copmparaison of phenolic componds of some edible plants of Iran and India. *Pakestan journal of nutrition*, 7(4), 582-585.

AGHA M.,DICK P.T. & FELDMAN W. (1998). Cohort study on circumcision of newborn boys and subsequent risk of urinary-tract infection. *Lancet*,352, 1813-1816.

AGLADZE K., WANG X. & ROMEO T. (2005). Spatial periodicity of *Escherichia coli* K-12 biofilm microstructure initiates during a reversible, polar attachment phase of development and requires the polysaccharide adhesin PGA. *Journal of Bacteriology*, 187, 8237-46.

AHMER B.M. (2004). Cell-to cell signaling in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. *Mol. Microbiol*,52, 933-945.

AKROUM S. (2010). Etude Analytique et Biologique des flavonoides Naturels. These de Doctorat : Université MENTOURI de CONSTANINE-ALGERIE.

ALIGIANNIS N., KALPOTZAKIS E., MITAKU S. & CHINOI I. B. (2001). Composition and antimicrobial activity of the essential oils of two *Origanum species*. *J. Agric. Food Chem*, 40, 4168-4170.

ALTIOK EVREN., DENIZ BAYC, INI., OGUZ BAYRAKTAR. &SEMRA ÜLKU. (2008). Isolation of polyphenols from the extracts of olive leaves (*Olea europaea L.*) by adsorption on silk fibroin. *Separation and Purification Technology*, 62, 342–348.

ALTIOK E. (2010). Recovery of phytochemicals (having antimicrobial and Antioxydantcharacteristics) from local plants. These in Chemical Engineering. *Izmir Institute ofTechnology*.

ANINCH J. et TANAGHO E. (1991). *Smith Vro*, 12^{ème} Ed., 207-218.

ANONYME. (2011). Les plantes aromatiques et médicinales. Ces plantes odorantes qui soulagent la douleur, p46.

ANTILLES GUYANE (2004). Appareil urinaire à légender.

ANTOINE. (1976). manuelle des maladies des reins et des voies urinaires.

AOUCHICHE R. et BOUMGHAR N. (2015). Evaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante d'extraits de feuilles de laurier et de sous- produits de l'olivier. Mémoire de fin d'étude. Université Mouloud Mammeri de TIZI OUZOU.

ARAB K., BOUCHENAK O. & YAHIAOUI K. (2013). Evaluation de l'activité biologique des feuilles de l'olivier sauvage et cultivé .Université M'Hamed Bougara, Boumerdes, Algérie. ISSN 1813-548X.

AUGER M. (2012). Formation de biofilm *in vitro* par des souches cliniques de *Escherichia coli*: impact de la modification des conditions expérimentales. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de NANTES, **90**, 63-71.

BAHAZ M. et RACHDI H. (2010). Quantification des principes actifs (Les composés phénoliques) de *Rhazinolepis Lonadoides* Coss (Tichert). Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université d'Ouargla).

BAKKALI F., AVERBEK K. & IDAOMA M. (2008) .Biological effects of essential oils, *Food and Chemical Toxicology*, **46**, 446-475.

BALABAN N.A., GIACOMETTI O., CIRIONI Y., GOV R., GHISELLI F., MOCCHIGIANI C., VITICCHI M.S., DEL PRETE V., SABA G. & SCALISE DELL'ACQUA. (2003). Use of the quorum-sensing inhibitor RNAIII-inhibiting peptide to prevent biofilm formation in vivo by drug-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Infection and Diseases*, **187**, 625–630.

BEHLAU L. et GILMORE M.S. (2008). Microbial biofilm in ophthalmology and infection diseases, *Aech ophthalmol*, **126**, 1572 -1581.

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. TLEMEN. p56.

BELLON-FONTAINE M.N., RAULT J. & VAN OSS C.J. (1996). Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells. In *Colloids and Surfaces B, Biointerfaces*, 47-53.

BELOIN C., ROUX A. & CHIGO J.M. (2008).*Escherichia coli* biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol*, **322**, 249-289.

BELYAGOUBI N. (2012). Activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de dix plantes médicinales de l'Ouestet du Sud-Ouest Algérien.*Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen*. p56.

BENDINGER B., RIJNAARTS H.H., ALTENDORF K. & ZEHNDER A.J. (1993). Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain length of mycolic acids. *Applied and environmental microbiology*, **59(11)**, 3973-3977.

BENMILOUD K. (2014). Criblage phytochimique, activités antioxydantes et anticandidose des extraits de *Nepeta amethystina* (Gouzeia). Mémoire de master en chimie. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen. Algérie.

BERTHOLOM C. (2007). *E. coli* : des facteurs de virulence susceptibles d'induire des infections urinaires. *Option Bio*, 17(371), 15-15.

BESSAS A., BENMOUSSA L. & KERARMA M. (2008). Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (Université Djilali Liabes -Sidi Bel Abbès), p35-p48.

BJORKLOF K., NURMIAHO-LASSILA E.L., KLINGER N., HAAHTELA K. & ROMANTSCHUK M. (2000). Colonization strategies and conjugal gene transfer of inoculated *Pseudomonas syringae* on the leaf surface. *J. Appl. Microbiol*, **89**, 423-432.

BOILLOT B. (2003). Malformations congénitales des voies urinaires. Corpus médicale-Faculté de médecine de Grenoble, 1-15.

BOIZOT N. et CHARPENTIER J-P (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cah. Tech. INRA*, 79-82.

BORNEO R., LEON A.G., AGUIRRE A., RIBOTTA P. & CANTERO J.J. (2009). Antioxydant capacity of medicinal plants from the Province of Cordoba (Argentina) and their *in vitro* testing in a model food system. *Food Chemistry*, **112**, 664-670.

BOUDHRIOUA NOURHÈNE., BAHLOUL NEILA., BEN SLIMEN IMEN. & KECHAOU NABIL. (2009). Comparison on the total phenol contents and the color of fresh and infrared dried olive leaves. *Industrial crops and products. Article in Press*.

BOUGATTOUCHA WALID et BOUDELLAA YACINE. (2010). L'examen cytot bactériologique des urines. Ecole de formation paramédicale de Skikda Algérie. Laborantin diplômé d'état.

BOUKNANA D., HAMMOUTI B., SALGHI R., JODEH S., ZARROUK A., WARAD I., AOUNITI A. & SBAA M.J. (2014). *Mater. Environ. Sci.* (4), p 1039.

BOULARD G. et RAVUSSIN E. (1992). Prévention de l'infection urinaire nosocomiale au cours du sondage vésical. *Ann fr Anest-Reanim*, **11**, 720-723.

BOUTALEB N. (2007). Étude de la formation de biofilms sur les surfaces de matériaux couramment utilisés dans les canalisations d'eau potable. Thèse de doctorat. Universités de Bretagne-Sud, France. p 174.

BLOCK J.C., HAUDIDIER K., PAQUIN J.L., MIAZGA J. & LEVI Y. (1993). Biofilm accumulation in drinking water distribution systems, *Biofouling*, **6**, 333-343.

- BRAVO L., ABAY R., EASTWOOD M.A. & SAURA-CALIXTO F. (1994).** Degradation of polyphenols (catechin and tannic acid) in the rate intestinal tract. Effect on colonic and faecle output fermentation. *British Journal of Nutrition*, **71**, 933-946.
- BRIANDET R. (1999).** Maîtrise de l'hygiène des surfaces par la création de biofilms. Aspects physico-chimiques, Thèse de Docteur de l'ENSAR - Mention Physico-chimie et Qualité des Bioproduits, Rennes, France.
- BRIANDET R., LERICHE B., CARPENTIE M.N. & BELLON-FONTAINE (1999).** Effects of growth procedure on the surface hydrophobicity of listeria monocytogene cells and their adhesion to stainless steel. *J Food Prot*, **62**, 994-998.
- BRIDIER A., BRIANDED R., THOMAS V. & DUBOIS-BRISSENET F. (2011).** Resistance of bacterial biofilm to desinfectants: A review. *Biofouling*, **27**, 1071-1032.
- BRUYERE F., CARIOU G., BOITEUX J.P., HOZNEK A., MIGNARD J.P., ESCARAVAGE L., BERNARD L., SOTTO A., SOUSSY S.J, COLOBY P. & le CIAFU.(2008a).** Recommandation du comite d'infectiologie de l'AFU. *Generalites. Prog Urol*, **18**, suppl1, **4**, 82003, **33**, 9, 438-446.
- BRUYERE F., CARIOU G., BOITEUX J.P., HOZNEK A., MIGNARD J.P., ESCARAVAGE L., BERNARD L., SOTTO A., SOUSSY S.J., COLOBY P. et le CIAFU. (2008b),** Recommandation du comite d'infectiologie de l'AFU. Prostatites aiguës. *Prog Urol*, **18**, suppl 1, p.19-23008, **18**, suppl 1, p.14-18.
- BRUYERE F. (2010).** Prostatite aigue bactérienne chez l'homme adulte. *Prog Urol*, **20**, 815-817.
- BRUYERE F. et BOITEUX J.P (2011).** Epidemiologie, diagnostic et traitement des cystites aiguës isolees ou recidivantes de l'adulte. *Encycl. méd.-chir. Urol*, **4**(3), 1-11.
- BURT S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. *International Journal Food Microbiology*, **94**, 223-253.
- CAIAZZA N.C. et O'TOOLE G.A. (2004).** SadB is required for the transition from reversible to irreversible attachment during biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* PA14. *Journal of Bacteriology*, **186**, 76-85.
- CAPDEVILLE B. et NGUYEN K.M. (1990).** Kinetics and modeling of aerobic and anaerobic film. *Wat Sci Tech*, **22**, 149-170.
- CARON F. (2003).** Physiopathologie des infections urinaires nosocomiales. *Med et Mal Infect*, **33**(9), 438-446.
- CARTIER F. et LOBEL A. (1990).** Infection urinaire nosocomiale. *Rev. Prat*, **40** (14), 1279-1284.

CERCA N. et JEFFERSON K.K. (2008).Effect of growth condition on poly-N-acetylglucosamine expression and biofilm formation in *Escherichia coli*. *FEMS.Microbiol let*,**283**, 36-41.

CERI H., OLSON M.E., STREMICK C., READ R.R., MORCK D. & BURET A. (1999). The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J. Clin. Microbiol*, **37**, 1771-1776.

CHARACKLIS W.G. et MARSHALL K.C. (1990). Biofilms. John Wiley & Sons, Inc, New York.

CHARBI A (2006).Développement de matériaux à activité antibiofilm de *Candidaalbicans*. Thèse de doctorat. Ecole doctorale : « science pour l'environnement » GAY LUSSAC. Poitiers. p 125.

CHERRADI A. (2015). PAS DE TITRE.Projet de fin d'études. Université sidi Mohamed Ben Abdellah. Fes. p39.

CHMIELEWSKI R.A.N. et FRANK J.F. (2003). Biofim Formation and Control in Food Processing Facilities.comprehensive. *Reviews in food science and food safety*.

CHEN H., FUJITA M., FENG Q.H.,CLAROLY J. &FINK G.R.(2004). Tyrosol is a quorum- sensing molecule in *Candida albicans*. *Proceedings of the National Academy of sciences of the United States of America*, **101**,5048-5052.

CHUNG A., ARIANAYAGAM M. & RASHID P. (2010). Bacterial cystitis in women, *Aust. fam. Physician*, **39**(5), 295-298.

CLUTTERBUCK A. L., WOODS E. J., KNOTTENBELT D.C., CLEGG P. D., COCHRANE C. A. & PERCIVAL S.L. (2007). Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Veterinary microbiology*, **121**(1), 1-17.

COHEN Y. (2002). Bioremediation of oil by marine microbial mats. *Microbiol*, **5**, 189-193.

COOPER R. et OKHIRIA O. (2006). Biofilms, wound infection and the issue control. *Wounds UK*. **2**: 48-57.

COSTERTON J.W., GEESEY G.G. & CHENG G.K. (1978). How bacteria stick. *Scientific American* , **238**, 86-95.

COSTERTON J.W., IRVIN R.T. & CHENG K.J. (1981). The Bacterial Glycocalyx in Nature and Disease. *Annual Review of Microbiology*,**35**, 299-324.

COSTERTON J.W., STEWART P S. & GREENBERG E.P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, **284**, 1318-1322.

COSTERTON J.W. (1999). Introduction to biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents*.

COX E. (1998). Nosocomial urinary tract infections. *Urology*, **32**, 210-5.

CROZIER A., CLIFFORD M.N. & ASHIHARA H. (2006). Plant Secondary Metabolites: Occurrence. *Structure and Role in the Human Diet*. Ed., Blackwell Publishing Ltd.

CTINILS. (2007). Actualisation de la définition des infections nosocomiales.
http://nosobase.chu-lyon.fr/recommandations/Ministere_Sante/2006_defIN_complet.pdf,
consulte le 17/09/2013.

DACOSTA Y. (2003). Les phytonutriments bioactifs : 669 références bibliographiques. Ed., Yves Dacosta, Paris, p.317.

DAUCHET L., AMOUYEL P.H., DALLONGEVILLE J. (2005). Consommation des fruits et légumes et risque d'accident vasculaire cérébral et cardiaque : Méta-analyse des études épidémiologiques prospectives. *Cah. Nutr, Diét*, **40** (1), 31-40.

DAOUDI A., SABIRI M., BAMMOU M., ZAIR T., IBIJBIJEN J.L. & NASSIR L. (2015). Valorisation des extraits de trois espèces du genre *Urtica*: *Urtica urens* L., *Urtica membranacea* Poiret et *Urtica pilulifera* L. *Journal of Applied Biosciences* 87:8094– 8104
ISSN 1997–5902. Université Moulay Ismail, BP 11201 Zitoune, Meknès.

D'ARCHIVIOM., FILESI C., Di BENEDETTO R., GARGIULO R., GIOVANNINI C. & MASELLA R. (2007). Polyphenols, dietary source and bioavailability, *Ann Ist Super Sanita*, **43** (4), 348-361.

DAVEY M.E. et O'TOOLE G.A. (2000). Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **64**, 847-867: 217-721.

DE LEONARDIS A., ACETINI A., ALFANO G., MACCIOLA V. & RANALLI G. (2008). Isolation of a hydroxytyrosol rich extract from olive leaves (*Olea Europaea* L) and evaluation of its antioxidant properties and bioactivity. *Eur. Food. Res. Technol*, **226**, 653-659.

DERMECHE S., NADOUR M., LARROCHE C., MOULTI-MATI F. & MICHAUD P. (2013). Olive mill wastes: Biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry*, **1538**, 1532-1552.

DHAKAL B. K., KULESUS R. R. & MULVEY M. A (2008). Mechanisms and consequences of bladder cell invasion by uropathogenic *Escherichia coli*. *Eur. J. Clin. Invest*, **38**, 2–11.

DIMITRIOS B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & technology*, **81**, 425-426.

- DOBRINDT U. (2010).** Virulenzfaktoren uropathogener Erreger. *Urologe*, **49**, 598–605.
- DONLAN R.M. (2002).** Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Disease journal*, **8** (9), 881-890.
- DONLAN R.M. et COSTERTON J.W. (2002).** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*, **15**, 167- 193.
- DUMAS C. (2007).** Catalyse électro-microbienne dans les piles à combustible. Thèse de Doctorat. Institut National polytechnique de Toulouse. p 306 .
- DUNNE W.M. (2002).** Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?. *Clinical microbiology reviews*. **15**(2), 155-166.
- DUTHIE G.G. (1999).** Parsley. polyphenols and nutritional antioxydant. *British Journal of Nutrition*, **81**, 425-426.
- EJEKOUANE K. et SALAMA S. (2010).** Inventaire de quelques espèces spontanées à caractère médicinale hypoglycémiant utilisées dans les régions de Blida et de TIZI-OUZOU. Mémoire de fin d'étude d'ingénieur (université d'Ouargla).
- EL HADJOUJI H., AIT BADDI G., YAACOOBI A., HAMDI H., WINTERTON P., REVEL J.C. & HAFIDI M. (2008).** Optimization of biodegradation condition for the treatment of olive mill wastewater. *Bioresour. Technol*, **99**, 5505-5510.
- ESMAIL A, CHAHBOUN N., MENNANE Z., AMIYARE R., ABED H., BARRAHI M, QEBIBO A., OUHSSINE M. & BERNY E. H. (2015).** Étude de l'activité antimicrobienne des margines issues de Fès Boulman vis-à-vis de souches pathogènes. *CODEN: JMESC*. 869-876 p. 871-874.
- ESPINASSE F., PAGE B. & COTTARD-BOULLE B. (2010).** Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue Francophone des Laboratoires*, **426**, 51-63.
- FABRI R.L., NOGUEIRA M.S., BRAGA F.G., COIMBRA E.S. (2009).** *Mitracarpus frigidus* aerial parts exhibited potent antimicrobial anti leishmanial, and antioxidant effects. *Bioresource Technology*, **100**, 428-433.
- FADER R.C et DAVIS C.P. (1980).** Effect of piliation on *Klebsiella pneumoniae* infection in rat bladders. *Infection and Immunology*, **30**(2), 554-561.
- FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M. & ABDELLY C. (2008).** Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *Comptes Rendus Biologies*, **331**, 372-379.
- FERGUSON L.R. (2001).** Role of plant polyphenol in genomic stability. *Mutation Research*, **475**, 89-111.

FERHAT M., KADI I. & LAHOUAOU A. (2009). Recherche de substances bio actives de centaurea microcarpa coss et dur. Mémoire de Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie (DES) (université de Mohamed BOUDIAF - M'SILA), p 3, 4, 10.

FILLOUX A. et VALLET L. (2003). Biofilm: set-up and organization of a bacterial community. *Medecine Sciences: M/S*, **19**(1), 77-83.

FIRAS A. et Hassan F. (2008). *Zhejiang Univ. Sci*, **9**(2),154.

FLETCHER E.L., WEISSMAN B.A., EFRON N., FLEISZIG S.M., CURCIO A.J. & BRENNAN N.A. (1993). The role of pili in the attachment of *Pseudomonas aeruginosa* to unworn hydrogel contact lenses. *Current Eye Research*, **12**, 1067-1071.

FONNESBECH VOGEL B., HUSS H.H., OJENNIYI B., AHRENS P. & GRAM L (2001). Elucidation of *Listeria monocytogene* contamination routs in cold smoked. Salmon processing . plants detected by DNA. Based typing methods. *Appl. Environ. Microbiol*, **67**, 2586-2595.

GALLARDO-MORENO A.M., GONZALEZ-MARTIN M.L., PÉREZ-GIRALDO C., GARDUNO E., BRUQUE J. M. & GOMEZ-GARCIA C. A. (2002). Thermodynamic Analysis of Growth Temperature Dependence in the Adhesion of *Candida parapsilosis* to Polystyrene. *Applied and Environmental microbiology*, **68**, 2610-2613.

GANDERTON L., CHAWLA J., WINTERS C., WIMPENNY J. & STICHLER D. (1992). Scraming electron microscopy of bacterial biofilms on indxelling bladder catheter. *EUR Jclin Microbiol infectDis*, **11**, 789-796.

GAVIN R., MERINO S., ALTARRIBA M., CANALS R., SHAW J.G. & TOMÁS J.M. (2003). Lateral flagella are required for increased cell adherence, invasion and biofilm formation by *Aeromonas* spp. *FEMS Microbiology Letters*, **224**, 77-83.

GHIGO J.M. (2001). Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. *Nature*, **412**, 442-445.

GHOMAR O. (2015). Traitement des margines de la région duFès. Université sidi Mohamed ben Abdellah. Mémoire de fin d'étude.

GOLLER C.C. et ROMEO T. (2008). Environmental influences on biofilm development. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **322**, 37- 66

GOUDAUT C. (2008). Utilisation des bandelettes urinaires en médecine générale : enquête de pratique auprès des 229 médecins aubois. Thèse de doctorat en médecine. Université de Reims, p 130.

GUGGENBICHLER J.P., ASSARDIAN O., BOESWALD M. & KRAMER A. (2011).Incidence and clinical implication of nosocomial infections associated with implacable biomaterials- catheter, Uentilator-associated pneumoniae, urranery tract infections. *GMS.Krankenhhygg interdiszipl,Doc*,18.

GUO C., YANG J.L.Y., JIANG Y.(2003).Antioxydant activities of peel, pulp, and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay. *Nutr. Res*, **23**, 1719-1726.

GUPTA V.K., ZIDANE L. & DOUIRA A. (2010). Catalogue des plantes médicinales utilisées dans le traitement de la lithiase rénale dans la province de tan-tan (Maroc saharien). *International Journal of Biological and Chemical Science*, **7**, 1688-1700.

HABAUZIT V. et HORCAJADA M.N. (2008). Phenolic phytochemicals and bone. *Phytochemistry Review*, **7**, 313-344.

HALIWELL B. (2007). Dietary polyphenols: Good, bad, or indiffernt for your health ? *Cardiovascular Research*, **73**, 341-347.

HALL-STOODLEY L., STOODLEY P., KATHJU S., HOIBY N., MOSER C., WILLIAM COSTERTON J. & BJARNSHOLT T. (2012). Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, **65**(2), 127-145.

HAMADI F., LATRACHE H., EL GHMARI A., ELLOUALI M., MABRROUKI M. & KOUIDER N. (2004). Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and electron acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Annals of Microbiology*, **54**, 213-225.

HAMILTON-MILLER J.M.T and SHAN S. (2004). Activity of tea componement epicatechin gallate and on a logus against methicillin resistances *Stahyloccocus aureus*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **46**, 847-863.

HANCOCK V., WITSO I.L.L.& KLEMM P.(2011). Biofilm formation as a function of adhesion, growth medium, substratumand strain type. *Int J Med Microbiol*,**301**, 570-576.

HATT J.K et RATHER P.N. (2008) .Role of bacterial biofilms in urinary tract infections. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **322**, 163- 192.

HAWSER S. et DOUGLAS L.J. (1994).Biofilm formation buy *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. *Infection and immunity*,**62**, 915-921.

HAYOUNI E.A., ABEDRABBA M., BOUIX M &HAMDI M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phénolic contents and biological activities in vitro of Tuinsian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts.Food.

HENNEBELLE T., SAHPEZ S. & BAILLEUL F. (2004). Polyphénols végétaux, sources, utilisation et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif. *Phytothérapie*, **1**, 3-6.

HINSA S.M., ESPINOSA-URGEL J.L. & RAMOS O'TOOLE G.A. (2003). Transition from reversible to irreversible attachment during biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens* WCS365 requires an ABC transporter and a large secreted protein. *Molecular Microbiology*, **49**, 905-918.

- HONRAET K., GOETGHERBEUR E. & NILIS H.J. (2005).** Comparaison of three essays for the quantification of *Candida* biomass in suspension and CDC reactor grow biofilm. *Journal of Microbiological Method*, **63**, 287-295.
- IRIE Y. et PARSEK M.R. (2008).** Quorum sensing and microbial biofilms. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **322**, 67- 84.
- ISERIN P. (2001).** Encyclopédies des plantes médicinales, Edition., Vuief, 8-50.
- ITO A., TANIUCHI A., MAY T., KAWATA K. & OKABE S. (2009).** Increased antibiotic resistance of *Escherichia coli* in mature biofilms. *Applied and environmental microbiology*, **75**(12), 4093-4100.
- JACOBSEN. (2008).** *Clin Microbiol Rev*, jan, 26-59.
- JACQUELIN L.F., MAGREX E., BRISSET L., CARQUIN J., BERTHET A. & CHOISY C. (1994).** Synergism of the combination of enzymes or surfactants and a phenolic disinfectant on a bacterial biofilm. *Pathol Biol, (Paris)*, **42**(5), 425-431.
- JAKSON D.W., SIMECKA J.W. & ROMEO T. (2002).** Catabolite repression of *Escherichia coli* biofilm formation. *J Bacteriol*, **184**, 3406-3410.
- JARDIN A. et THIOUNN N. (2002).** Infection urinaire. EMC ,urgences, 235-241.
- JOHNSON J.R. (1991).** Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. *Clin Microbiol Rev*, **4**, 80-180.
- JOFFIN J.N. et LEYRAL G. (2006).** Microbiologie technique. Tome 1. Dictionnaire des techniques, 4^{ème} Ed., A.S.M Washington, 967-971.
- JULLIEN C., BENEZECH T., CARPENTIE B., LEBRET B. & FAILLE C, (2002).** Identification of surface characteristics relevant to the hygienic status of stainless steel for the food industry. *J Food Eng*, **56**, 77-87.
- KADY LYNDA et MERZKANI NASSIMA (2007-201).** Infection urinaire. Service des maladies infectieuses faculté de médecine, CHU de TIZI-OUZOU.
- KAPLAN J.B. (2010).** Biofilm dispersal: mechanism, clinical implication, and potential therapeutic uses. *J. Dent Res*, **89**, 205-218.
- KARHATE et ALOUSSI MARIEM. (2011).** L'infection urinaire au cours de la grossesse.
- KAROU D., DICKO M.H., SIMPORE J. & TRAORE A.S. (2005).** Antioxidant and antibacterial activities of polyphenols from ethno medicinal plants of Burkina Fasso African, *journal of Biotechnology*, **4**(8), 823-828.

KATSIKOIANNI M., MISSIRLIS Y.F., HARRIS L. & DOUGLAS J. (2004). Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *European cells and materials*, **8**, 37-57.

KAUNAN LAURENT MICHEL. (1988). Aspect bactériologie des infections urinaires à Abidjan. Thèse Med. Abidjan, **916**, 14-32-36.

KHALKHAL F. (2014). Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus* ssp *coloratus* et ssp *euciliatus*. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abdou Bekr Belkaid-Tlemcen. p 78

KLAUSEN M., GJERMENSEN M., KREFT J.U. & TOLKER-NIELSEN T. (2006). Dynamics of development and dispersal in sessile microbial communities: examples from *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* model biofilm. *FEMS Microbiology Letters*, **261**, 1-11.

KOLESNIKO M.P et GINS V. (2001). Phenolic substances in medicinal plants. *Applied Biochemistry and Microbiology*, **37**(4), 392-399.

KOUADIO KONAN (1992). Infection urinaire nosocomiale dans un service de Réanmal.lon du CHU de Treichville (Abidjan). Thèse Med. Abidjan, **1381**, 4-10-19.

KOUTA K.(2009).Infections urinaires chez les diabétiques adultes. Université kasdi-merbah-OUARGLA.Mémoire de fin d'études.p 75.

KREPSKY N., ROCHA FERREIRA R.B., FERREIRA NUNES A.P., CASADO LINS U.G., COSTA E., SILVA FILHO F., DE MATTOS-GUARALDI A.L. & NETTO-DOSSANTOS K.R. (2003). Cell surface hydrophobicity and slime production of *Staphylococcus epidermidis* Brazilian isolates. *Current Microbiology*, **46**, 280-286.

KSOURI R., MEGDICHE W., DEBEZ A., FALLEH H., GRIGNON C. & ABDELLY C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakilemaritima*. *Plant. Physiol Bioch*, **45**, 244-249.

KUMON H., HASHIMOTO H., NISHIMURA M., MONDENK K. & ONO N (2001).Catheter –associated urinary tract infection: impact of catheter materials on their management. *International journal of Antimicrobial Agents*, **17**, 311-316.

LACOMBE (1989). Précis d'anatomie et physiologie humaine, Ed., Lamarre.

LAMBERT R. J. W., SKANDAMIS P. N., COOTE P. J. (2001). A study of the Minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*, **91**, 453- 462.

LAPPIN-SCOTT H.M. et **COSTERTON J.W.** (1995). Microbial biofilms. Cambridge University Press, Cambridge, England.

LARIF M., OUHSSINE M., SOULAYMANI A., ELMIDAOUI A. (2013). *Res Chem Intermed* .DOI, (13), 1267.

LASA I. et **PENADES J.R.** (2006).Bap: a family of surface proteins involved in biofilm formation. *Research in Microbiology*, **157**, 99-107.

LECOMTE F. (1999). Infections urinaires; *Encycl Méd Chir, Encyclo Prat de Méd*, Ed., Elsevier, Paris. AKUS, 731- 42.

LEILA KESKES (2005).L'appareil urinaire : Cours d'histologie spéciale. Institut supérieur de biotechnologie de sante.2^{ème} année base. Université de SFAX.

LEMON K.P., EARL A.M., VLAMAKIS H.C., AGUILAR C. & KOLTER R. (2008). Biofilm development with an emphasis on *Bacillus subtilis*. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, **322**, 1-16.

LEONG L.P. et **SHUI G.** (2002).An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. *Food Chem*, **76**, 69-75.

LEWIS K.(2001). Riddle of biofilm resistance Antimicrob Agents chemother, **45**, 999-1007.

LOBEL B. (2007). Prise en charge des cystites chez la femme in LOBEL B. et SOUSSY C.J. Les infections urinaires. Paris, Springer-Verlag, p.73-87.

LOBEL B. et **SOUSSY C.** (2007).Les infections urinaires. Springer, Paris, 242.

MACHEIX J.J., FLEURIET A. & JAY- ALLEMAND C. (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechnique et universitaire romandes, Ed., Lausanne, 4-5.

MADIOU NASSIMA., OUYED TASSADIT & MEZHOUD DJAMILA (2006). Infection urinaire. Rapport de stage. Service des maladies infectieuse.CHU de TIZI-OUZOU.

MAHMOUDI S., KHALI M. & MAHMOUDI N. (2013). Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.)*Nature & Technologie.Algérie*.p 39.

MARTHA E. (2008). Caractérisation de composés phénoliques des extraits de ramilles du bouleau jaune: Etude de leur capacité antioxydante. *Thèse de Doctorat, Université Laval*. P, 31-54.

MARTIN S. et **NDRIANTSITOHAINA R. (2002).** Celluler mechanism of vasculo-protection induced by polyphenol on the endothelium *Annales de cardiologie d'angiologie*, **51**, 304-315.

MARTINEZ L.R. et **CASADEVALL A. (2007).** *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on surface support and carbone source and reduces fungal cells susceptibility to heat, cold and UV light. *Applied and Environmental Microbiology*, 4592- 4601.

MATYAR A., KAYA A. & DIN9ER S. (2008).Antibacterial agents and heavy metal resistance in Gram negative bacteria isolated from seawater, shimp and sediment in Iskenderun Bay. *Turkey science of the total environment*, **15**, 279-285.

MAXWELL M. S. (2015). Infection urinaire chez le sujet âgé à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed v de Rabat.Thèse de doctorat. p 104.

MCBRIDE J.S. (2001). Bacterial gliding motility: multiple mechanisms for cell movement over surfaces. *Annual Review of Microbiology*, **55**, 49-75.

MIDDLETON E., KANDASWAMI C. &THEOHARIDES T.C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. *PharmacolRev*, **52**, 673-839.

MITTELMAN M.W. (1996). Adhesion to biomaterials. Bacterial adhesion. *Molecular and ecological diversity*, 89- 127.

MOHAMMEDI. Z (2011). Etude du pouvoir Antimicrobien et Antioxydant des Huile Essentielles et flavanoides de quelques plantes de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister Université de Tlemcen. p 18-24-25-49-50.

MOREIRA M.R., PONCE A.G., DEL VALLE C.E., ROURA S.I. (2005).Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. *LWT*, **38**, 565-570.

NABHI O. (2014). Composition chimique et effet antimicrobien de l'huile essentiel de *Pelargonium graveolens* (Géranium rosat). Mémoire de fin d'études. Faculté des sciences Dhar el Mihzane. Fès. Maroc.

NACZK M. et **SHAHIDI F. (2004).** Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, **1054**, 95–111.

NAGANT C.,TRE-HARDY M., DEVLEESCLOUWERS M. & DEHAYE J.P. (2010). Study of the initial phase of biofilm formation using a biofomic approach. *T Microbiol*,**82**, 243-248.

NAVES P.,DEL PRADO G.,HUELVES L.,GRACIA.,RUIZ V., BLANCO J., RODRIGUEZ-CERRATO V., PONTE M.C. & SORIANO F. (2008).Correlation between

virulence factors and in vitro biofilm formation by *Escherichia coli* is method-dependent. *J Appl microbial*, **105**, 585- 590.

NEFZAOUI A. (1991). Valorisation des sous produits de l'olivier. Options Méditerranéennes-Série séminaire, **16**, 101-108.

NGUYEN V.T., MORANGE M. & BENSAUDE O. (1989), Protein denaturation during heat shock and related stress. *Escherichia coli* beta-galactosidase and Photinus pyralis luciferase inactivation in mouse cells. *J Biol Chem*, **264(18)**, 10487-1092.

-OBIED H. K., ALLEN M. S., BEDGOOD D. R., PRENZLER P. D., ROBARDS K. & STOCKMANN R. (2005). Bioactivity and analysis of biophenols recovered from olive mill waste. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 823–837.

OFEK I. et BEACHEY E.H. (1978). Mannose binding and epithelial cell adherence of *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, **22(1)**, 247-254.

O'TOOLE G.A. et KOLTER R. (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular Microbiology*, **30**, 295-304.

OVASKAINEN M.L., TORRONEN R., KOPONEN J.M., SINKO H., HELLSTRO J., REINIVUO H. & MATTILA P. (2008). Dietary intake and major food sources of polyphénols in finnish adults. *The journal of Nutrition*, **46**, 976-988.

PAN Q., THARIAT J., BAGALHAS F. & LAGANGE J.L. (2012). Assessment of movements of the implication for image-guided radiation therapy for bladder cancer. *Cancer/radiotherapies*, **03(16)**, 167-178.

PARSEK M.R. & SINGH P.K. (2003). Bacterial biofilm: An emerging link to disease pathogenesis. *Annual Review of microbiology*, **57**, 677-701.

PECHER J.C., et JACOBSN. (1994). L diabète sucré. 2^{ème} Ed., Maloine, Canada. (Pour interprété les 103 105 104).

PEETERS E., NELIS H.J. et COENYE.T.(2008). Comparaison of multiple methods for quantification of microbial biofilm grow in micrititer plates. *Journal of Microbiological Methods*.

QUERIN S. et VALIQUETTE L. (2000). Physiopathologie des maladies du rien etdes voies urinaires. Maloine, Canada.

RAISIN. (2009). Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, France, juin 2006. Volume 1 - Méthodes, résultats, perspectives. INVS, p81.

- RAMAGE G., SAVILLE S.P. WICKES B.L.& LOPEZ-RIBOT J.L (2002).** Inhibition of candida albicans biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. *Applied and Environmental Microbiology*, **68**, 5459-5463.
- RANALLI A. (1991).***Olivae*, 37- 30.
- REIFSTECK F., WEE S. & WILKINSON B.J. (1987).** Hydrophobicity-hydrophilicity of staphylococci. *Journal of Medical Microbiology*, **24**, 65-73.
- RENE CAQUET (2008).** Guide infirmier des examens de laboratoire : ECBU, 111-113.
- REINER A., KROGFELT K., KLEIN A.,ZECHNER B.M. & MOLIN E.(2006).***In vitro* biofilm formation of commensal and pathogenic Escherichia coli strain: impact of environmental and genetic factors. *J Bacteriol*, **188**, 3572-3581.
- RIBEREAU GAYON P. (1968).** Les composés phénoliques des végétaux. DUNOD, paris.
- RIEGEL P. (2003).** Aspects bactériologiques des infections urinaires nosocomiales. *Méd. Mal. Infect*, **33**, 255-265.
- RIOS J.L. et RECIO M.C. (2005).** Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **100**, 80-84.
- ROBERTS A.P., PRATTEN J., WILSON M. & MULLANY P. (1999).** Transfer of a conjugative transposon, Tn5397 in a model oral biofilm. *FEMS. Microbiol. Lett*,**177**, 63-66.
- ROCHA S.P.D., PELAYO J.S. ET ELIAS.P.W. (2007).**Fimbriae of uropathogenic *Proteus mirabilis*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol*, **51**(1), 1–7.
- ROSTOKER G., BENMAADI A. & LAGRUE G. (1991).**Infections urinaires hautes : pyelonephrites, *Encycl. méd.-chir. Urol*.
- SAYADI S., ALLOUCHE N., JAOUA M. &ALOUÏ F. (2000).** Determinal effects of high molecular-mass polyphénols on olive mill wastewater biotreatment. *Process. Biochem*, **35**, 725-735.
- SEIDEL V. (2005).** Initial and Bulk Extraction *In*: Sarker S D. Latif Z and Gray A I. *Natural Products isolation. Humana Press (Totowa)*, 27-37.
- SCHAEFFER A. (1997).** Infections of the urinary tract .*Campb urol*, Phyladelphia, **6**, 61-65.
- SHEIKH J., HICKS S., DALL'AGNOL M., PHILLIPS A.D. & Nataro J.P. (2001).** Role of Fis and yafk in biofilm formation by enteroaggregative *Escherichia coli*.*Mol Micriol*, **41**, 983-997.
- SIDI ALI SALIHA et BENCHIKH SADRINA (2001).** Étude statistique. Rapport de stage. Service des maladies infectieuse.CHU de TIZI-OUZOU.

SINGLETON V.L., ROSI J.A., *Am. J. (1965).Oenol. Vitic*, 16 -144.

SRIPAD G.,PRAKASH V. & NARASINGA M.S. (1982). Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents. *J. Biosci.* Vol 4, p 145-152.

SPORMANN A.M. (2008). Physiology of microbes in biofilms stability of *Burkholderia cenocepacia* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*, 5208- 5218.

SREY S., JAHID I.K., SANG-DO H.A. (2013). Biofilm Formation in food industries: A food safety concern .*Food Control*, 31, 72e585, benyahia tlemcen.

STANLEY N.R., LAZAZZERA B.A., BRITTON R.A. & GROSSMAN A.D. (2003). Identification of catabolite repression as a physiological regulator of biofilm formation by *Bacillus subtilis* by use of DNA microarray. *Journal of Bacteriology*, **185**, 1951-1957.

STANLEY N.R. et LAZAZZERA B.A. (2004).Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. *Mol. Microbiol*, **52**, 917-924.

STOODLEY P., SAUER K., DAVIES D.G. & COSTERTON J.W. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual Review of Microbiology*, **56**, 187-209.

TASIOULA-MARGARI et OKOGERI O. (2001).Simultaneous determination of phenolic compounds and tocopherol in virgin olive oil using HPLC.

TAWAHA K., ALALI F Q., GHARAIBEH M., MOHAMMAD M. & EL- ELIMAT T.(2007). Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species.*Food Chem*, (in press).

TOSTAIN J., ARMAND C., BLANC F. & CASTRO R. (1999).Cystite aigue et autres maladies inflammatoires bénignes de la vessie féminine. EMC, *Néphro-Uro*, 18221A10 ,16.

TENKE P., JACKEL M. & NAGY E. (2004). Prevention and Treatment of Catheter-Associated Infections: Myth or Reality? *EAU Update Series*, **2**, 106-115.

TENKE D.J. (2008). Bacterial biofilm in patients with indwelling urinary catheter. *Nat clin Urol*, **5**, 598-608.

ULETT G.C.,TOTSIKA M. & SCHAALE. (2013). Uropathogenic *Escherichia coli* virulence and innate immune responses during urinary tract infection. *Curr, Opin, Microbiol*, **16**(1), 100-107.

VAN HOUTT R. et MICHIELS C.W. (2005). Role of biofilm bacterial cell surface structure in *Escherichia coli* biofilm formation. *Res Microbiol*, **156**, 626-633.

VASILEIOS ZIOGAS., GEORGIA TANOU B., ATHANASSIOS MOLASSIOTIS A., GRIGORIOS DIAMANTIDIS B., MILTIADIS VASILAKAKIS. (2010). Antioxidant and free radical-scavenging activities of phenolic extracts of olive fruits. *Food Chemistry*, **120**, 1097–1103.

VISOLI F., GALLI C., BORNET F., MATTEI A., PATELLI R., GALLI G. & CARUSO D. (2000). Olive oil phenolics are dose-dependantly absorbed in humain. *FEBS Letters*, **468**, 159-160.

VORKAUFER STEPHANIE (2011). Les infections urinaires communautaires bactériennes de l'adulte : prise en charge diagnostique et thérapeutique. université Henri Poincaré, Nancy 1 faculté de médecine de Nancy.

WEBB J.S., THOMPSON L.S., JAMES S., CHARLTON T., TOLKER-NIELSEN T., KOCH B., GIVSKOV M. & KJELLEBERG S. (2003). Cell death in *Pseudomonas aeruginosa* biofilmdevelopment. *J Bacteriol*, **185**(15), 4585-4592.

WURKER M., BEUTH J., KO H. L., PRZONDO-MORDARSKA A. & PULVERER G. (1990). Type of fimbriation determines adherence of Klebsiella bacteria to human epithelial cells. *Zentralblatt für Bakteriologie*, **274**(2), 239-245.

ZOBELL C.E. (1943). The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *J. Bacteriol*, **46**, 39-56.

Annexes

Annexe 1. Composition des solutions et milieux de culture utilisés.

- **Eau physiologique stérile** (composition en g/l)
 - Chlorure de sodium (NaCl).....9 g.
 - Eau distillée.....1000 ml.
 - pH=7
 - Stérilisation à 120°C/15 mn.

- **Composition de la Gélose MH** (composition en g/l)
 - Extraits de viande.....3 g.
 - Amidon.....1,5 g.
 - Hydrolysa acide de caséine.....17,5 g.
 - Agar.....18 g.
 - pH=7,4.

- **Gélose Nutritive (GN)** composition en g/l
 - Peptone.....10 g.
 - Extrait de viande.....3 g.
 - Extrait de levure.....3 g.
 - Chlorure de sodium.....5 g.
 - Agar.....18 g.
 - pH=7,3 ± 0,2
 - Stérilisation à 120°C/15 min.

- **Bouillon cœur cervelle (BHIB)** composition en g/l
 - Protéose-peptone10 g.
 - Infusion de cervelle de veau12.5 g.
 - Infusion de cœur de bœuf5 g.
 - Glucose2 g.
 - Chlorure de sodium5 g.
 - Hydrogénophosphate de sodium2.5 g.
 - pH=7.4
 - Stérilisation à 120°C/15 min.

- **Tampon phosphate (PBS)** composition en g/l
 - NaCl8 g.
 - KCl.....0.2 g.
 - Na₂HPO₄.....1.44 g.
 - KH₂PO₄.....0.24 g.
 - pH=7.5
- **Cristal Violet** composition en g/l
 - Poudre de cristal violet.....10g.

Annexe 2. Caractères biochimiques permettant l'identification des Gram négatifs.

A) Coloration de Gram

- **Protocole**
- **Préparation du frottis**
- **Étalement**

Déposer une colonie bactérienne sur une lame en verre préalablement dégraissée qui contient une goutte, étalée en une couche mince et homogène.

- **Séchage**

Faire passer le frottis au dessus de la flamme.

- **Fixation**

Le frottis est fixé par la chaleur par le passage 4 à 5 fois dans la flamme.

- **Coloration du frottis**

- Recouvrir le frottis avec le violet de gentiane qu'on laisse agir 1mn ;
- Rejeter le colorant et recouvrir avec le Lugol qu'on laisse agir 45s ;
- Rejeter le Lugol et le recouvrir une deuxième fois et laisser agir 45s ;
- Décolorer à l'alcool pendant 30s ;
- Rincer à l'eau courante pour neutraliser l'action de l'alcool ;
- Recouvrir le frottis avec la fushine et laisser agir 1mn ;
- Lavage à l'eau ;
- Sécher et observer à l'immersion (G×1000).

- **Lecture**

- Les bactéries Gram+ apparaissent en rose.
- Les bactéries Gram- apparaissent en violet.

B) Etude des caractères biochimiques

- **Test glucidique**

1) Milieu d'identification multiple TSI

- **Protocole**

Ensemencement de la colonie en question en strie centrale sur la pente puis en pique profonde dans le culot. Incubation 24h/37°C.

- **Lecture**

Le test est porté positif si :

- virage du culot du rouge au jaune : bactérie glucose+ ;
- virage de la pente du rouge au jaune : bactérie lactose+ et/ou saccharose+ ;
- Noircissement du milieu : H₂S+.

2) Caractère mannitol mobilité

- **Protocole**

Verser quelques gouttes de la suspension bactérienne dans le milieu mannitol mobilité et faire une piqure centrale à l'aide d'une anse de platine. Incubation 24h/37°C.

- **Lecture**

- La bactérie est dite mannitol+ s'il y a virage du milieu du rouge au jaune ;
- Bactérie immobile : développement juste au niveau de la piqure ;
- Bactérie mobile: développement dans tout le milieu (trouble).

3) Caractère citrate de sodium

- **Protocole**

Ensemencé la pente en stries longitudinale. Incubation 24h/37°C.

- **Lecture**

- Les bactéries citrate+ se développent au niveau des stries avec ou sans alcalinisation du milieu ;
- Les bactéries citrate- ne se développent pas dans le milieu il n'y aura aucun changement dans ce dernier.

4) Caractère rouge de méthyle et vogues Proskauer

- **Protocole**

- Ensemencer le milieu Clark et Lubs avec quelques gouttes de la suspension bactérienne en question ;
- Incubation 24h/37°C ;
- Repartir le contenu en deux tubes, le premier servira pour la réaction VP l'autre pour la réaction de RM ;
- On ajoute quelques gouttes d'une solution α -naphthol et quelques gouttes de KOH.
- Dans le deuxième tube on ajoute quelques gouttes de rouge de méthyle.

- **Lecture**

Pour la réaction de VP : apparition d'un complexe rouge violacé en surface après 15mn à 30 mn donc la bactérie utilise la voie acétoïne pour la fermentation. Le virage de rouge de méthyle au rouge indique que la bactérie utilise la voie d'acide mixte.

➤ **Test des enzymes**

1) **Test d'ONPG**

- **Protocole**

- Mètre un disque d'ONPG dans une suspension bactérienne
- Incubation 24h/37°C.

- **Lecture**

- Test positif : coloration jaune du milieu (présence de β -D-galactosidase).
- Test négatif : le milieu reste tel qu'il est.

2) Recherche du nitrate réductase

- **Protocole**

- Ensemencer un tube de bouillon nutritif nitraté avec la suspension bactérienne à étudier, après culture on ajoute 10 gouttes de l'acides sulfanique et 10 gouttes d' α -naphtyle-amine.

- **Lecture**

- Test est positif : coloration rouge ou rose ;
- Absence de cette couleur ou bien le germe ne possède pas la nitrate réductase ou bien il a conduit la réaction jusqu'au stade de la formation d'ammonium, pour palier à sa on ajoute dans le milieu le zinc qui réduit les nitrates qui se traduit par l'apparition d'une couleur rouge.

3) Recherche de l'Urease, TDA et indole sur le milieu urée tryptophane

- **Protocole**

Repartir le milieu urée tryptophane dans deux tubes (l'un servira pour la recherche de l'Uréase et indole l'autre pour la recherche de la TDA), ensemencé chaque tube avec la souche en question. Incubation 24h/37°C.

- **Recherche de l'Uréase**

- **Lecture**

Une bactérie Urease+ provoque une alcalinisation du milieu par la formation de carbonate d'ammonium qui vire au rouge violacé (rouge de phénol) via cette réaction:

- **Recherche de la production d'indole**

- **Protocole**

Verser 4 gouttes de réactif de Kovacs dans le tube qui a servi pour la recherche d'Uréase.

- **Lecture**

La bactérie est considéré indole+ s'il y a formation d'un anneau rouge.

- **Recherche de la TDA**

- **Protocole**

Verser dans la culture préalablement préparée du perchlorure de fer.

- **Lecture**

Une bactérie désaminase+ (TDA+) donne une coloration brun rouge suite à la dégradation du tryptophane en acide indole pyruvique. Si le milieu est jaune orangé la bactérie est TDA-.

4) Recherche des décarboxylases ODC, LDC et ADH

- **Protocole**

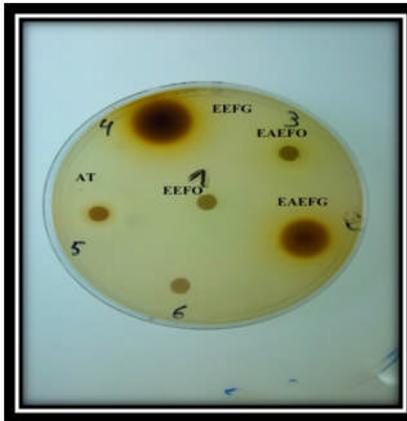
- Ensemencer le milieu avec une goutte de suspension bactérienne ;
- Agiter ;
- Recouvrir le tube par de la vaseline stérile afin de placer le milieu en anaérobiose ;
- Incuber 24h/37°C.

- **Lecture**

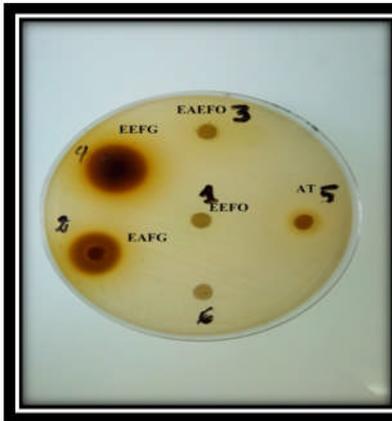
Si la bactérie présente les enzymes (ADC, ODC, LDH) les tubes virent dans un premier temps au jaune (dégradation du glucose) puis au violet (dégradation de l'acide aminé).

Annexe 03.

- **Photos montrant les zones d'inhibitions produites par les extraits organiques de feuilles d'ortie, de géranium et d'AT.**



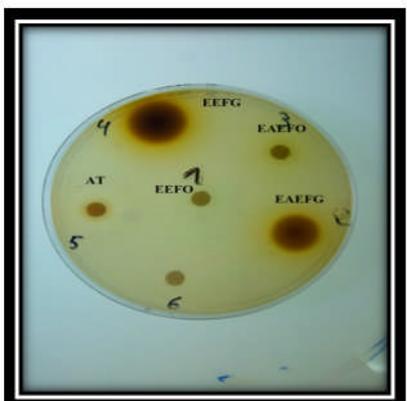
C. albicans 04



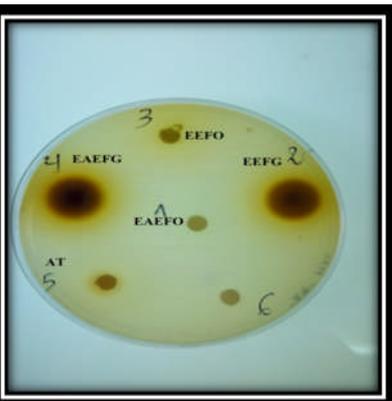
C. albicans 01



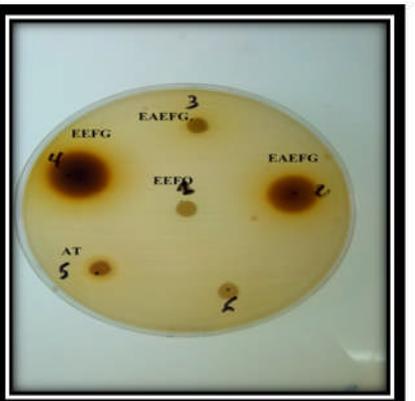
C. spp 03



C. spp 02



E. coli 16



K. pneumoniae 06



K. pneumoniae 06



K. pneumoniae 09



E. coli 12



E. coli 07



E. coli 19



E. coli 21



P. mirabilis 13



P. mirabilis 14



P. vulgaris 20