

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur

et de la Recherche Scientifique

Université de Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

EtSciences de la Terre et de l'Univers



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical

et à l'environnement

« LAMAABE »

MEMOIRE

Présenté par:

DJILALI Amina et BENSID mohammed chihab

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie Fondamentale

Thème

Activité anti biofilm des polysaccharides végétaux

Soutenu le, devant le jury composé de :

Examineur 1 :	BOUALI Waffa	MCA	Université de Tlemcen
Examineur2 :	BELLIFA Samia	MCB	Université de Tlemcen
Encadreur:	MKEDDER Ilham	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire 2020-2021

Remerciements

*Tout d'abord, nous tenons à remercier **ALLAH** le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme notre formation et pouvoir réaliser ce travail de recherche.*

*Nous sommes fières d'exprimer notre très cher remerciement et notre gratitude à **nos parents** qui, sans leur soutien, leur présence, leur prière, n'auraient pas atteint ce niveau, que dieu vous protège et vous garde, vous accorde santé, longue vie et bonheur.*

*Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement « LAMAABE » de l'Université Abou Bekr Belkaid sous la direction de Madame **MKEDDER Ilham** Maître de Conférences B, à la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen. En guise de reconnaissance, Nous tenons à remercier très sincèrement et très chaleureusement, et à exprimer nos profonds respects à Madame **MKEDDER ilham** pour son encadrement de qualité, sa gentillesse, sa motivation professionnelle, son orientation, ses précieux conseils, et de ses efforts dans le suivi et la réalisation de ce travail.*

Nous avons eu l'honneur et la chance de bénéficier de ses connaissances et compétences. Nous vous remercions infiniment.

*Madame **BOUALI Waffa** Maître de Conférences A pour l'honneur qu'elle nous fait a examiné ce mémoire. Veuillez trouver ici nos sincères remerciements Madame **BELLIFA Samia** Maître de Conférences B, Université de Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail*

Un grand merci pour tous les professeurs du département de biologie particulièrement, les microbiologistes, merci de nous avoir orientés et nous informé durant notre parcours universitaire.

Dédicaces

Avec joie, fierté et respect, je dédie ce mémoire:

*A mon très cher père **ABDEL KADER** que dieu aie son âme
et particulièrement à ma très chère maman **FATIHA HAMIDI** qui a
toujours été là pour moi à mes chères sœurs **SIHAM** et **KAWTAR** et
mes frères **ABDEL -HAFID** , **AMINE** et **KHIREDDINE***

*À mes **grands parents:***

*À mes **tantes** et mes **oncles***

*À mes **cousins** et mes **cousines***

*À toute la famille **DJILALI***

Je ne saurai terminer sans citer mes amies:

IKRAM KADDOUR**, et **DJELTI CHAHINEZ

*Enfin je le dédie à tous mes amis que je n'ai pas cités et à tous ceux
qui me connaissent à tous les étudiants de biologie*

*À toute la promotion **2016-2017**.*

AMINA

Dédicaces

Je dédie ce mémoire

*A tous les plus proches de mon cœur source de vie ,de bonheur,
d'amour et d'affection*

Chihab

المخلص

في مواجهة الفشل العلاجي وارتفاع تكاليف العلاجات الفيزيائية للعدوى بسبب البكتيريا المقاومة ، أصبح البحث عن جزيئات نشطة بيولوجيا جديدة قادرة على تثبيط تكوين الأغشية الحيوية مثل السكريات النباتية ضرورة لمكافحة العدوى الاستشفائية. في كلتا المادتين المعالجتين لغرض الكشف TCP تم استخدام طريقة لوحة زراعة الأنسجة عن تأثير اثنين من السكريات على الغشاء الحيوي لبعض السلالات المسببة للأمراض. نتائج تأثير alginate و الألبينات galactan المقالات الثلاث التي تمت دراستها تؤكد أن للجلاكتان والمكورات العنقودية *Pseudomonas aeruginosa* مثبت لتشكل الغشاء الحيوي لكل من على التوالي. هناك حاجة إلى مزيد من البحوث من أجل تثمين *Staphylococcus epidermidis* هذا المنتج الطبيعي للعلاج والتخلص من الأغشية الحيوية.

الكلمات المفتاحية: النباتات الطبية, السكريات, الغشاء الحيوي, تثبيط

Résumé

Face à l'échec thérapeutique et les coûts plus élevés des traitements des infections dues aux bactéries résistantes, la recherche de nouvelles molécules bioactives capables d'inhiber la formation de biofilms comme les polysaccharides issus des végétaux est devenue nécessaires pour lutter contre les infections nosocomiales

La méthode de plaque de culture de tissus (TCP) a été utilisée dans les deux articles traités dans le but de la détection du l'effet de deux polysaccharides sur le biofilm de quelques souches pathogènes. Les résultats des cinq articles étudiés confirment que le galactane et l'alginate avaient un effet inhibiteur de la formation du biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus epidermidis* respectivement. Des recherches plus approfondies sont nécessaires pour la valorisation de ce produit naturel pour le traitement et l'élimination de biofilm.

Mots clés : plante médicinale, polysaccharides, biofilms, inhibition

Abstract

Faced with therapeutic failure and the higher costs of physical treatments for infections due to resistant bacteria, the search of new bioactive molecules capable of inhibiting the formation of biofilms such as polysaccharides from plants has become necessary to fight nosocomial infections

The tissue culture plate (TCP) method was used in both articles for the purpose of detecting the effect of two polysaccharides on the biofilm of some pathogenic strains. The results of the three articles studied confirm that galactane and alginate had an inhibitory effect of the formation of the biofilm of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus epidermidis* respectively. Further research is needed for the valorization of this natural product for the treatment and elimination of biofilm

Keywords: medicinal plant, polysaccharides, biofilms, inhibition

Table des matières

Liste de figures	
Liste des tableaux	
List des Abréviations	
Introduction	
Introduction:	Error! Bookmark not defined.
Première partie Synthèse bibliographique:	3
Généralité sur les polysaccharides :	4
I-1- Définition des polysaccharides :	5
I-2- Classification des polysaccharides végétaux :	5
I-3- Application des polysaccharides :	8
I-4- Activités biologiques des polysaccharides :	9
Généralité sur bifilm :	11
II-1- Historique	11
II-2- Définition :	12
II-3- Diversité des biofilms :	13
II-4- Les constituants d'un biofilm :	13
II-5- Formation du biofilm :	14
II-6- Avantages du mode de vie en biofilm :	16
II-7- les biofilms et les infections nosocomiales :	16
LA DEUXIEME PARTIE Matériel et méthode	16
Les bactéries utilisées	17
Capacité des bactéries isolées à former un biofilm	17
Activité anti-biofilm des polysaccharides	18
Dispersion de biofilm	19
Troisième Partie Résultats Et discussions	20
Résultats et discussions	Error! Bookmark not defined.
conclusion	Error! Bookmark not defined.
Références bibliographiques:	Error! Bookmark not defined.

Liste de figures

Figure 01: la résistance aux antimicrobiens dans le monde.....	02
Figure 02: le biofilm bactérien.....	11
Figure 03: étapes de formation du biofilm.....	14
Figure 04: méthode de plaque de culture des tissus.....	18
Figure 05: Activité d'éradication d'alginate contre le biofilm de sepiemidermidis établi à différentes concentration.....	21
Figure 06: activité d'éradication de fucoïdan contre le biofilm de epidermidis établi à différent concentration	22
Figure 07: activité d'éradication de laminaran conte le biofilm de sepidermidis établi à différent concetration.....	22
Figure 08: Influence du galactane de pomme de terre sur la formation et la dispersion de biofilms pao1 de <i>P. aeruginosa</i> sur des coupons de polypropylène.....	23
Figure09 : effet anti-biofilm de galactane sur la formation et la dispersion des biofilms formés par <i>Pseudomonasaeruginosa POAI</i> sur des coupons de polypropylène)	25

Liste des tableaux

Tableau 01: identification des souches utilisées.....	17
--	-----------

Liste des abréviations

EPs : exopolysaccharides.

CMI: concentration minimale inhibitrice.

CMB : concentration minimale bactéricide.

G+ : gram positives.

G- : gram négatives.

TcP : plaque de culture des tissus.

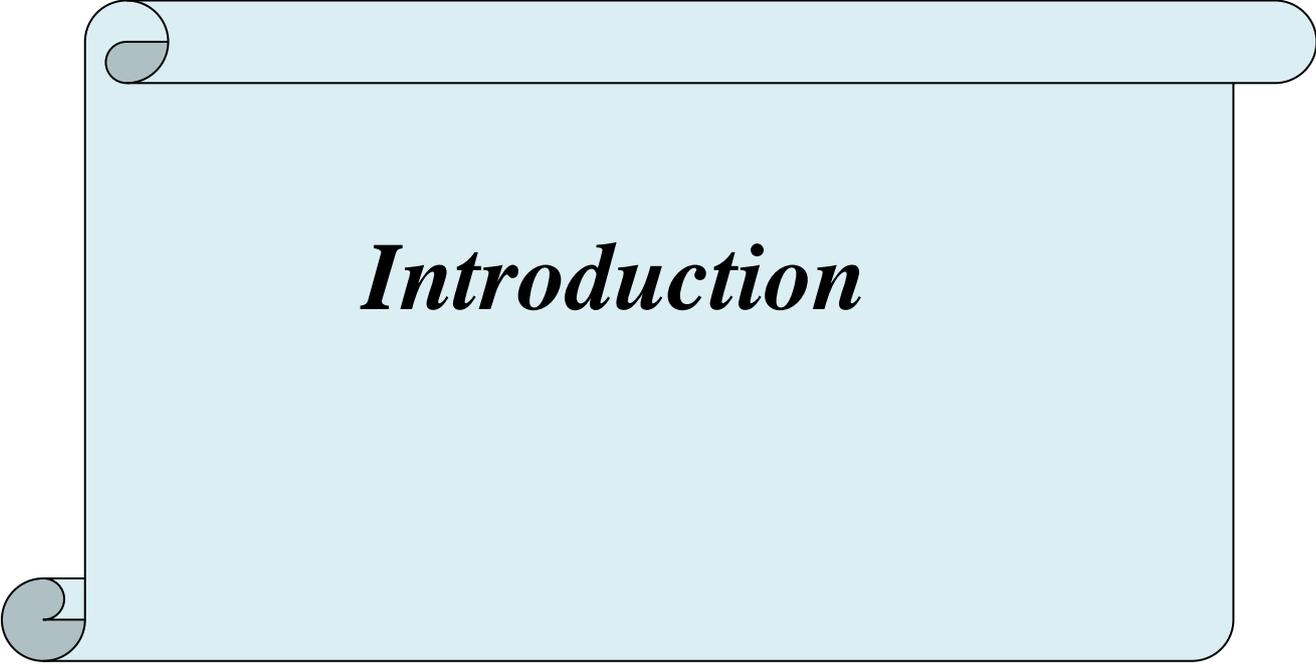
S.Aureus: *staphylococcus aureus*.

P.aeruginosa: *pseudomonas aeruginosa*.

E.coli: *Escherichia coli*.

S.epidermidis: *staphylococcus epidermidis*.

E.faecalis: *enterococcus faecalis*.



Introduction

Dans les années 90, un lien a été établi entre les biofilms et certaines infections. En fait on estime que plus de 60 % des infections nosocomiales sont liées à la formation des biofilms. On appelle un biofilm lorsque des populations de bactéries adhèrent entre elles et poussent sur un support solide. Dans ces structures, les bactéries acquièrent de nouvelles propriétés comme celles de résister fortement aux antibiotiques et aux attaques du système immunitaire (**Valle et al .,2006**).

Lorsque le support du biofilm est un dispositif médical : une prothèse, sonde ou un cathéter, il peut constituer un réservoir de bactéries pathogènes à l'origine d'infections nosocomiales particulièrement difficiles à diagnostiquer et à traiter, ce qui peut entraîner de graves complications pour le patient (**Valle et al .,2006**).

L'éradication des biofilms pose un réel problème dans le domaine médical à cause de sa grande résistance face aux antibiotiques et aux antiseptiques (**Matyar et al., 2008**).(Figure 01).

Face à l'échec thérapeutique et les coûts plus élevés des traitements des infections dues aux bactéries résistantes, les chercheurs s'orientent aujourd'hui vers la recherche de nouvelles molécules bioactives capables d'inhiber la formation de biofilms et donc lutter contre les infections nosocomiale.

Plusieurs études montrent que certains polysaccharides d'algues (**Saeki., 1994**), de plantes (**Xu et al., 2010**), et d'animaux (**Yosovich et Gilboa-Garber., 2009**) pourraient également présenter une activité anti-biofilm.

Le but de notre étude est de tester in vitro le pouvoir antibiofilm des polysaccharides extraits de plantes.

Suite aux situations de la pandémie du Covid-19, notre objectif reste irréalisable, en raison de la fermeture des laboratoires de recherche. En conséquence, nous avons orienté notre travail sur la réalisation d'une synthèse des quatre articles portant sur l'effet de polysaccharides sur la forme biofilm de certaines bactéries.

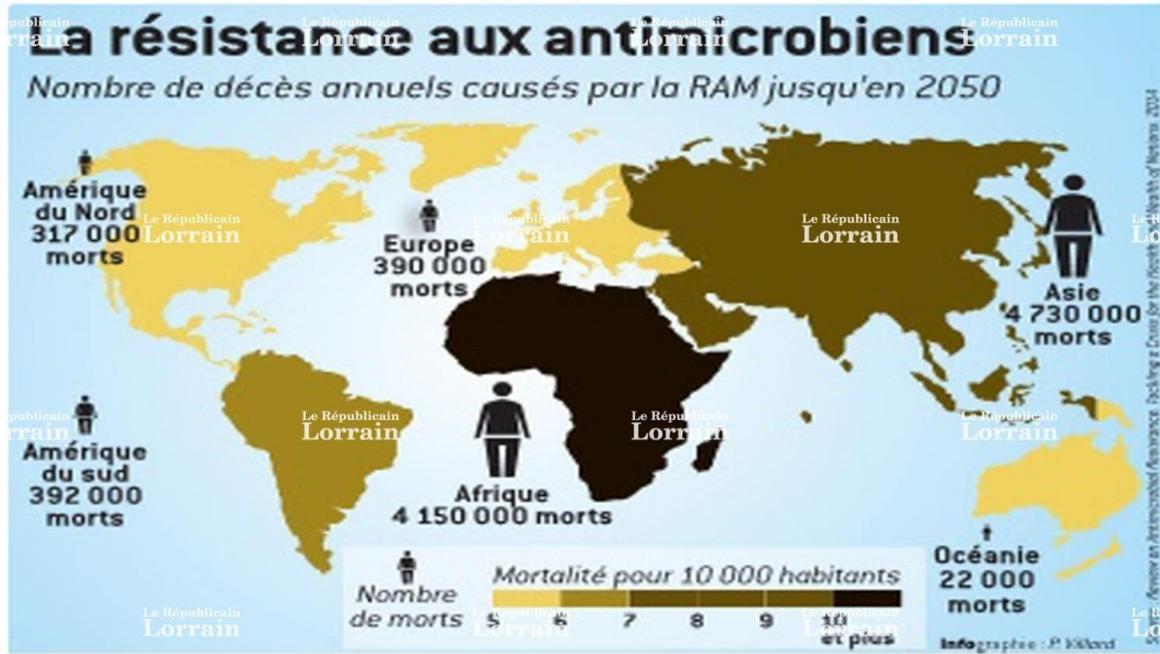


Figure 01 : la résistance aux antimicrobiens dans le monde

Première partie :
Synthèse bibliographique

Chapitre 1 :
Les polysaccharides
végétaux

I- Généralité sur les polysaccharides

Le présent chapitre traite quelque généralité sur les polysaccharides végétaux et leurs activités biologiques ; y compris l'activité anti-biofilm.

Les polysaccharides, ainsi que des acides nucléiques et des protéines sont l'un des trois catégories de polymères qui existent partout dans la nature, dont les premiers sont les macromolécules les plus répandues (végétaux, animaux et même chez les microorganismes) (**Warrand, 2004**).

Ces macromolécules sont les composés structuraux dominants de la paroi des végétaux (ex : cellulose, alginates...). Ils présentent une variabilité structurale et une richesse de propriétés physico-chimiques, liées à leur biosynthèse, que l'on ne rencontre chez aucune autre classe d'organismes (**Warrand, 2004**).

Ces substances sont présentes chez tous les êtres vivants, dont les végétaux comme L'amidon, la cellulose, les hémicelluloses et les pectines (**Ruff, 2008**).

Les polysaccharides végétaux sont classés sur la base de leur fonction et leur nature : de réserve, de structure, et les polysaccharides exsudats.

Les polysaccharides ont des propriétés physico-chimiques remarquables qui aboutissent à de nombreuses applications industrielles dans l'agro-alimentaire, la médecine, le domaine cosmétique, l'industrie papetière...etc.

En raison de la large source de polysaccharides végétaux, la composition moléculaire et le poids moléculaire des polysaccharides végétaux dans les espèces sont différents. Les polysaccharides jouent de nombreux rôles essentiels dans la biologie des systèmes vivants, y compris le stockage de l'énergie, la transduction de signal cellulaire, un soutien structurel. et ils ont de nombreuses activités biologiques, telles que la régulation immunitaire, l'activité antitumoral, l'activité anti-virus, la prévention hypoglycémique, etc., et la plus intéressante c'est l'activité anti-biofilm (**Chen et Huang, 2018b**).

I-1- Définition des polysaccharides

Les polysaccharides sont les macromolécules les plus abondantes sur Terre et dans les océans. Ce sont les éléments structuraux majeurs de la paroi des végétaux (**Théo et al ; 2008**).

Les polysaccharides sont des macromolécules glucidiques naturelles composés des unités répétitives de monosaccharide reliés entre elles par des liaisons glycosidiques. Ce sont des substrats solides qui se présentent sous la forme de fibres, de granules ou de gels. Chaque polysaccharide est caractérisé par un degré de polymérisation bien déterminé et un type de liaison entre les monomères (**Chen et Huang, 2018**).

Ils ne sont pas seulement utilisés comme réserves énergétiques par les êtres vivants, mais également pour assurer de nombreuses fonctions biologiques (**Yang et al ; 2009**).

I-2- Classification des polysaccharides végétaux

Les polysaccharides extraits des plantes ont récemment attiré une attention croissante de la recherche en raison de leurs **activités biologiques** très importantes (**Liu et al., 2015**).

a-Polysaccharides de réserve

Les polysaccharides de réserve sont des ressources caloriques. Le plus connu d'entre eux est l'amidon (nommé fécule), qui est synthétisé uniquement par les plantes (**Yves, 2008**).

L'amidon

L'amidon est une des principales matières de réserve glucidique des végétaux et le premier aliment énergétique chez l'homme. Les granules d'amidon contiennent deux types de polymère, l'amylose linéaire et l'amylopectine fortement ramifiés (**Jérôme et al., 2004**).

L'amidon est stocké sous forme de granules de semi-cristallines discrètes chez les plantes supérieures (**Cai et al., 2015**).

La formation du maltose est due à une réaction d'hydrolyse enzymatique de l'amylase sur l'amidon.

Fructanes

Les fructanes sont des polymères qui se composent principalement ou exclusivement de fructose lié par une liaison β -(2→1) ou β -(2→6) à une molécule de glucose terminal (SIMS, 2003), synthétisés à partir du saccharose. Ils présentent une grande diversité de structure selon l'espèce végétale qui les synthétise et constituent une forme de réserve glucidique au même titre que le saccharose et l'amidon (**Pollok et Cairn, 1991 ; Hinch et al., 2007**).

Ce sont des glucides hydrosolubles, tout comme les sucres simples tels que le glucose, le fructose et le saccharose. Ils jouent un rôle dans la protection des plantes contre la sécheresse, le froid et l'hyper salinité par la protection des lipides membranaires au cours de la phase de transition exprimée par les cellules au moment de stress (**Ritsema et Smeekens, 2003**).

b-Polysaccharides de structure

Les polysaccharides de structure constituent la paroi des cellules végétales, sont très stables et très rigides et ne sont pas assimilables par l'être humain. Cependant ils jouent un rôle essentiel dans l'alimentation humaine : ce sont les fibres alimentaires, dont les plus connues sont la pectine et la cellulose (**Yves 2008**).

La cellulose :

Est la molécule organique la plus abondamment synthétisée sur la planète hors de la photosynthèse elle joue un rôle essentiel dans la structure des plantes et c'est la constituant majeur des fibres végétales (**Marouf et al ; 2009**). C'est une molécule stable, et c'est le constituant principal de la paroi cellulaire des végétaux (**Paris et Hurabielle, 1981**) représentant 15 à 30% de la masse sèche de la paroi primaire (**Bret, 2000**). On peut l'utiliser pour fabriquer de l'alcool, elle est utile au bon fonctionnement des intestins puisqu'elle forme des fibres végétales.

Hémicelluloses

Les hémicelluloses représentent, après la cellulose, les polysaccharides de la matrice. Elles peuvent être ramifiées et constituent pas mal de fois des molécules de réserve. De plus, leur structure dépend de leur origine, de l'âge des cellules, du tissu ou du type cellulaire, et de leur

localisation dans la paroi végétale. Elles diffèrent de la cellulose par l'hétérogénéité de leur composition monosaccharidique (**Brudieux, 2007 ; Benhamou, 2009 ; Aboughe, 2010**).

Pectines

Les pectines sont des macromolécules glucidiques, précisément d'origine végétale. Ce sont les principaux constituants de la lamelle moyenne des parois cellulaires. Elles sont essentiellement composées d'acides galacturoniques (**Delattre, 2005**).

Elles forment alors un véritable ciment biologique (ciment pectique) qui rattache les cellules les unes aux autres (**Prat et al., 2002**). Elles se retrouvent dans la matrice des parois primaires également, et en très faible quantité dans les parois secondaires des cellules.

Les pectines sont abondantes dans les fruits tels que la pomme et le citron où leur nature évolue avec l'âge des tissus : d'abord insolubles elles assurent la rigidité des tissus, puis elles sont dégradées en sucres et en acides par des enzymes au cours du mûrissement.

La variabilité structurale des pectines en fait l'un des polysaccharides pariétaux les plus complexes. On peut distinguer deux sous catégories :

Les substances pectiques acides (homogalacturonane, rhamnogalacturonane I et II)

Les substances pectiques neutres (arabinanes, galactanes, arabinogalactanes).

c- Polysaccharides exsudats (gommes et mucilages)

Les gommes et les mucilages sont des substances entre lesquelles il n'y a aucune différence chimique précise (**Guignard, 1996**). Ce sont des saccharides hétérogènes qui ont la propriété commune de gonfler au contact de l'eau donnant une masse gélatineuse ou des solutions colloïdales.

Les gommes

Ce sont des constituants pathologiques obtenus par traumatisme de différentes origines. Les gommes végétales en contact de l'eau forment des gels ou des solutions colloïdales et que l'on regroupe parfois sous le vocable d'hydrocolloïdes (**Merghem, 2009**). Ces composés d'association des unités de monosaccharides liés via des liaisons glycosidiques (**Warrand, 2004**), contenant des acides uroniques.

Les gommés sont insolubles dans les solvants organiques ce qui les différencie des résines. Selon la période de récolte, la viscosité de la gomme se varie : elle diminue en période de pluies et augmente en période sèche. Le calibrage de la gomme tient compte de plusieurs variables physico-chimiques dont la viscosité (**Bruneton, 1999**).

Les mucilages

Les mucilages sont généralement des dérivés pectiques, un polysaccharide acide qui forme des gels dans la matrice extracellulaire, ou des xylanes et renferment souvent des oses neutres (xylose, galactose, arabinose, rhamnose...) et des acides uroniques (acide galacturonique, acide glucuronique). Il est présent dans toutes les parois cellulaires (**Delattre, 2005**).

Leur fonction est la capacité de retenir l'eau. Cette particularité leur confère de nombreuses applications industrielles dans les domaines des matériaux biologiques, cosmétiques et alimentaires. Ils sont très utiles aussi bien en usage externe qu'en usage interne; ils sont appréciés pour leurs effets adoucissants (plaies, infections). Administration orale, cas de maladie pulmonaire (**Zabeirou, 2001**).

Ce sont les composants normaux des cellules: ils agissent sur l'hydratation de la cuvette des selles en augmentant le volume, ils stimulent le transport et favorisent la reproduction des bactéries.

I-3- Application des polysaccharides

Les polysaccharides natifs sont non toxiques, biocompatibles, biodégradables, hydrosolubles et ont la capacité de gonflement (**Yang et al., 2015**).

Ceux-ci ont des propriétés qui sont largement utilisées dans divers secteurs industriels, dans l'industrie alimentaire (comme épaississant) et le domaine pharmaceutique (substances biocompatibles, agents thérapeutiques). En effet, les interactions protéine-polysaccharides jouent un rôle important dans de nombreux processus physiologiques et pathologiques (thrombose, inflammation, métastase, infertilité, etc) (**Roger, 2002**).

Parmi les propriétés rhéologiques, il y a les hydrogels et les cryogels obtenus à partir d'un mélange de protéines et de polysaccharides, qui permettent un fonctionnement dans les conditions de la technologie de culture cellulaire. Les hydrogels et les cryogels ne présentent pas de cytotoxicité.

Ils assurent la viabilité cellulaire dans des milieux de culture standards, le hyaluronate de sodium (NaHyane) et le gellane comme exemple (**Ignat, 2012**).

Une variété de polysaccharides a été utilisée en santé humaine, à savoir le chitosane, la cellulose, l'alginate, le dextran, l'amidon l'acide hyaluronique, l'héparine, le K-carraghénane, la pectine et la gomme agar (**Persin et al., 2011**).

I-4- Activités biologiques des polysaccharides

Que la source soit animale, végétale ou microbienne, la diversité structurale des polysaccharides confère à ses macromolécules de multiples activités biologiques (**Colliec-Jouault et al., 2004**).

Les polysaccharides extraits des plantes ont récemment attiré une attention croissante de la recherche en raison de leurs activités biologiques très importantes (**Liu et al., 2015**).

L'effet anticoagulant est défini comme l'inhibition de la formation de thrombine active dans le plasma, alors que l'effet antithrombotique est défini comme l'inhibition de la formation de la thrombose et/ou de sa croissance (**Colliec et al., 1990**).

Une activité antioxydant et hépato protectrice : contre des lésions et les pathologies induites par divers produits chimiques (CCl₄, D Galactosamine, paracétamol, alcool). L'activité immunostimulante, antivirale... et la plus intéressante.

L'activité antibiofilm

La production de polysaccharide antibiofilm semble être une capacité bien conservée nature. Les preuves suggèrent que certains polysaccharides d'algues, d'animaux et surtout de plantes peuvent présenter une activité antibiofilm. Divers polysaccharides isolés des plantes, y compris les fruits de gombo (**Lengsfeld et al., 2004 ; Wittschier et al., 2007**), Aloe vera (**Xu et al., 2010**), racine de réglisse (**Wittschier et coll., 2007 ; 2009**), et ginseng (**Lee et al., 2004 ; 2006 ; 2009**), ont été montrés pour inhiber la liaison de *Helicobacter pylori* aux cellules gastriques et à la mucine in vitro.

D'autre part, on sait depuis longtemps que les oligosaccharides végétaux et humains bloquent l'adhérence bactérienne aux surfaces et limitent donc la formation de biofilms (**Lane et al., 2010**). De nombreux rapports révèlent le potentiel d'utilisation

d'oligosaccharides pour inhiber l'adhérence des pathogènes aux cellules hôtes et colonisation.

Par exemple, il a été démontré que les galactooligosaccharides réduisent l'adhérence des *e.coli* entéropathogène et *Cronobacter sakazakii* à plusieurs lignées cellulaires intestinales (**Shoaf *et al.*, 2006 ; Quintero *et al.*, 2011**). Il a également été démontré que les oligosaccharides inhibent l'adhérence de plusieurs agents pathogènes respiratoires, y compris *Yersinia pestis*, *Legionella pneumophila*, *Bacillus anthracis* et *Burkholderia pseudomallei* (**Thomas et Brooks, 2004a ; 2004b**).

II- Généralité sur les biofilms

La plupart des micro-organismes (bactéries et champignons) dans la nature favorisent un mode de vie en communautés où se trouvent fixées sur un support plutôt que libres et isolées dans le milieu environnemental.

L'attachement sur une surface est une « stratégie de survie » qui permet à la bactérie de s'installer et de coloniser un environnement.

Le transfert de bactéries d'une surface à une autre peut réduire l'état flottant(libre).Après attachement sur un support, les bactéries vont mettre en place et développer une communauté organisée à laquelle William Costerton a donné le nom de « biofilm » (**Fillox et Vallet, 2003**).

II-1- Historique

On attribue la découverte des biofilms à l'inventeur du microscope Antoni VanLeeuwenhoek (1632-1723) ; qui observa vers 1683 avec cet appareil des communautés de microorganismes au niveau de ses dents (**Donlan, 2002**).

250 ans plus tard... En 1932 ; Hennerici observa des communautés bactériennes fixées sur ces lames lors l'expérience visant à observer la croissance des algues sur des lames de verre placées dans un aquarium. Il délivrait l'hypothèse que la plupart des bactéries vivant en milieu aqueux ne sont pas sous la forme planctonique, mais plutôt elles sont organisées sous forme de communautés sessiles fixées à une surface (**Hennerici, 1932 ; Trautner et al., 2009**).

Heukalagian & Heller (1940) observent « l'effet de bouteille » en 1940 : la fourniture d'un substrat solide auquel des microorganismes marins peuvent s'attacher augmente leur croissance et activité métabolique.

Zobell observe que dans le milieu marin la quantité de bactéries fixées à un substrat est largement supérieure à la quantité de bactéries libres dans la phase liquide (**Zobel ,1943**).

Jones a étudié les filtres des usines de traitement de l'eau en utilisant la microscopie électronique à transmission à balayage en **1690**.**Characklis (1969)** a démontré en **1969** que les dépôts microbiens dans les conduites d'eau des systèmes industriels semblent être tenaces et résistants aux désinfectants .

En 1978, sur la base de l'observation de l'ultrastructure de la plaque dentaire et de communautés microbiennes sessiles dans les torrents de montagne, **Costerton (1978)**, propose la théorie des biofilms

II-2- Définition

Le biofilm est une communauté microbienne structurée (bactérie, champignons, algues), enrobée d'une matrice polymère et fixée à la surface pour s'y développer. Il présente une structure très organisée. En effet, les micro-organismes d'un biofilm vont acquérir certains caractères qui leur permettent de s'adapter à ce mode de vie et aux microorganismes qui les entourent (**Figure 02**) (leur organisation interne, leur métabolisme, la communication chimique que les cellules échangent entre elles... (**Nielsen, 2000**)).

Le biofilm est défini comme un ensemble des cellules microbiennes agrégées, entourées d'une matrice polymérique autoproduite et pouvant contenir des composants de l'hôte, Cette matrice représente jusqu'à 85% du volume total du biofilm. Elle servira de protection pour les facteurs environnementaux. Sa destruction sera donc difficile (**Stoodley et al., 2012**).

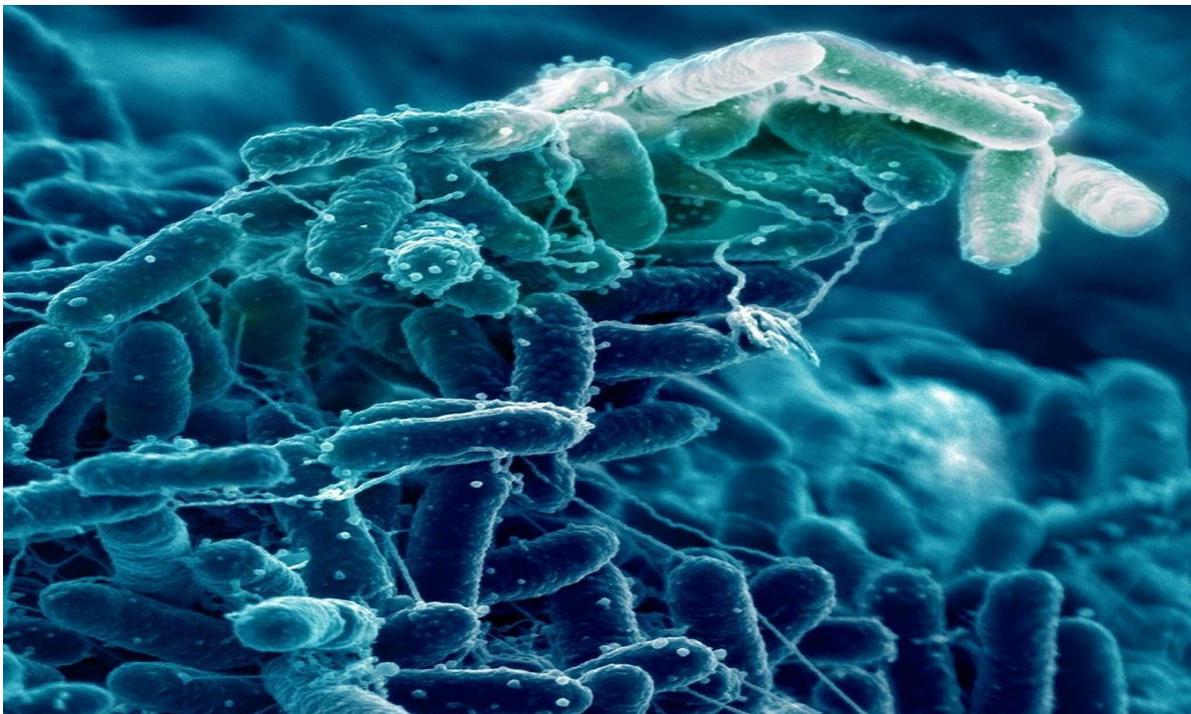


Figure 02 : le biofilm bactérien

II-3- Diversité des biofilms

Dans la nature, les bactéries existent sous deux formes : la forme planctonique (bactéries flottant librement dans leur environnement) et le biofilm (**Costerton, 1978**).

Elles peuvent passer d'une forme à l'autre. Lorsqu'elles sont sous forme planctonique, les bactéries se multiplient et colonisent l'environnement. Cette forme est minoritaire. Le principal mode de survie dans l'environnement est sous forme de biofilm.

Les biofilms présentent une grande diversité au niveau structurale, ils peuvent être composés d'une espèce de micro-organismes : homogène ou de plusieurs espèces : hétérogène, l'épaisseur de la couche microbienne est variable (une ou plusieurs couches de microbes) ; l'organisation variera selon le biofilm.

Les biofilms présents dans l'environnement lumineux (soleil) seront principalement composés d'organismes phototrophes, ils vont profiter de l'énergie lumineuse pour réaliser la synthèse de leurs aliments (algues unicellulaires, cyanobactéries...). Quant aux biofilms présents dans un environnement dépourvu de lumière, les microorganismes seront principalement hétérotrophes (micro-organismes qui vont dégrader la matière organique) et chimiotrophes (oxydation de substances minérales) (**Wanner, 2006**).

II-4- Les constituants d'un biofilm

Un biofilm est constitué de micro-organismes agglomérés entourés de la matrice qu'ils synthétisent. La matrice inclut tous les éléments du biofilm. L'un des composants principaux est l'eau (la quantité d'eau dans un biofilm peut aller jusqu'à 97%) d'où la propriété hydrophile de la plupart des biofilms (certains biofilms peuvent être hydrophobes). Un biofilm est aussi composé de polysaccharides sécrétés par les micro-organismes, de produits de dégradation et de substances issues du milieu extérieur. Il y a également de l'ADN, l'ARN et des lipides. Des canaux et pores existent également pour permettre l'écoulement d'eau, d'oxygène, de nutriments, et d'ions... Ils joueront également un rôle dans l'élimination des déchets (**Clutterbuck et al., 2007**).

Au sein d'un biofilm, les micro-organismes représentent 2 à 15 % du matériel. Quant à la matrice extracellulaire, elle représente 50 à 90 % de la masse organique carbonée d'un biofilm. La matrice d'exopolysaccharides a un rôle structural important, sa présence présente des avantages comme par exemple la protection des micro-organismes contre les

facteurs environnementaux, de plus il confère une résistance aux agents de dégradation microbiens par exemple (**Flemming, 2001 ; Sutherland, 2001**).

En se liant aux agents antimicrobiens, la matrice les empêche de pénétrer dans le biofilm. Ainsi, elle joue aussi un rôle dans les propriétés d'antibiorésistance (**Donlan, 2002**).

La matrice est créée grâce à la production de substances polymériques extracellulaires (EPS, Extracellular polymeric substances) par les micro-organismes. Les organismes produisent différentes quantités d'EPS et cette quantité augmente à mesure que le biofilm vieillit. Les EPS peuvent s'associer à des ions métalliques, des cations divalents, et à d'autres macromolécules (telles que des protéines, des ADN, des lipides...) (**Flemming, 2001**).

Comme nous le savons tous, la production d'EPS est affectée par l'état nutritionnel de son milieu de croissance. Un excès en carbone disponible et une quantité faible en azote, en potassium ou en phosphore favorisent la synthèse des EPS. Une croissance bactérienne lente augmentera également la production des EPS (**Sutherland, 2001**).

II-5- Formation du biofilm

Le mécanisme de formation des canaux de biofilm passe par plusieurs étapes, les chercheurs en ont identifié cinq (**Figure 03**). Les micro-organismes existent dans le milieu liquide, et se déplacent en raison de la gravité qui s'écoule et du mouvement des flagelles. En s'approchant d'une surface, des forces d'attraction physico-chimiques interviennent, elles vont conduire à une interaction réversible entre l'organisme et la surface.

Adhésion réversible

C'est le contact avec le substrat que l'attraction de Van Der Waals, et la répulsion électrostatique peuvent s'exercer (**Chmielewski et Frank, 2003**).

Adhésion irréversible

La sécrétion d'exopolymères par les bactéries facilite leur fixation au support et conduit à des fortes interactions avec des liaisons covalentes entre les bactéries et la surface, grâce à la présence des flagelles, des plis et des adhésines (**Vallet et al., 2001**).

Formation de microcolonies

Une fois l'attachement des bactéries est irréversible, les bactéries commencent à se diviser et à former des microcolonies (**Chmielewski et Frank, 2003**) couvrant toute ou une partie de la surface (**Stanley et al., 2003**).

Maturation du biofilm

Au sein du biofilm mature, les microorganismes sont séparés par des canaux aqueux qui forment un réseau de circulation permettant d'une part d'acheminer l'oxygène et les nutriments dans les régions enfuies du biofilm et d'autre part d'évacuer les déchets (**Filloux et Vallet, 2003**). Le développement de ces microcolonies traduit le stade de maturation du biofilm et la colonisation de nouvelle surface (**Roux et al., 2006**).

Dispersion du biofilm

Le détachement des bactéries s'effectue en trois étapes (**Kaplan, 2010**):

- Détachement des cellules de la colonie du biofilm.
- Translocation des cellules vers un nouvel emplacement
- Fixation des cellules à un substrat dans le nouvel emplacement

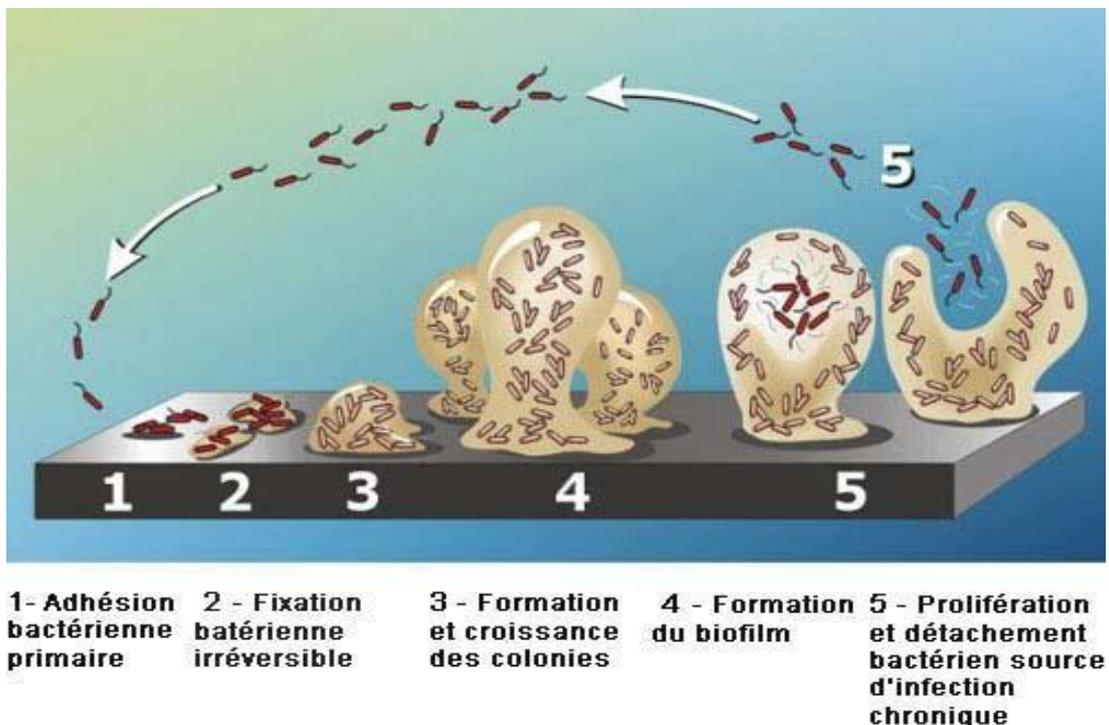


Figure 03 : les étapes de formation du biofilm

II-6- Avantages du mode de vie en biofilm

Le mode de vie en biofilm apportera des avantages aux micro-organismes. Favoriser le partage de nutriments dans le biofilm. L'organisation complexe permet une coopération entre micro-organismes dans les systèmes de dégradation de certains nutriments complexes (**Tomlin, 2005**). Ainsi, le produit de dégradation d'un substrat utilisé par un micro-organisme pourra être utilisé par un autre microorganisme.

Un biofilm apporte également une protection mécanique, c'est grâce à la matrice d'exopolysaccharides. Il protège les cellules du biofilm du dessèchement (**Clutterbuck, 2007**). Elle empêche également que les micro-organismes soient emportés par le courant. La matrice agit également comme une barrière filtrante, en empêchant les conservateurs, les détergents et les antibiotiques de pénétrer dans le biofilm (**Costerton, 1999**).

Le mode de vie de biofilm apporte des bénéfices métaboliques aux micro-organismes qui le composent : économie d'énergie et constitution de réserves. L'organisation communautaire de la biomembrane optimise Le mécanisme de capture de substrat réalisant ainsi une réelle économie d'énergie (**Bury-Moné, 2007**). Les micro-organismes situés dans les couches internes du biofilm auront une activité métabolique diminuée. De plus, les échanges de matériel génétique entre les microorganismes est plus facile.

II-7- les biofilms et les infections nosocomiales :

Le biofilm est une communauté de micro-organismes en contact avec une surface. Bien que bénéfiques dans la plupart des environnements, les biofilms bactériens formés sur des implants ou lors d'infections chroniques constituent des réservoirs de pathogènes à l'origine de nombreuses infections nosocomiales difficiles à traiter (**Le beaux et Ghigo, 2012**)

Ils peuvent se développer sur des tissus animaux et végétaux, et même sur des dispositifs médicaux à l'intérieur du corps humain tels que les cathéters, les valves cardiaques ou les prothèses des hanches. Les biofilms protègent les micro-organismes du système immunitaire et augmentent leur résistance aux antibiotiques. Il s'agit de l'une des plus importantes menaces pour les patients en milieux hospitaliers (**Snarr et al., 2012**).



***LA
DEUXIEME
PARTIE***

***Matériel et
méthodes***

I- Les bactéries utilisées

Après lecture de deux articles, nous remarquons que les souches bactériennes utilisées sont soit des souches de référence ou des souches isolées à d'un patient infecté par un dispositif implanté infecté (Chmit *et al.*, 2014).

Tableau 01: les souches utilisées

Espèces	Souches	Références
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> CIP444	Chmit et al., 2014
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 35218	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 216	Grishin et al ., 2019
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	

II- Capacité des bactéries isolées à former un biofilm

Les auteurs des articles traités ont essayé d'étudier la capacité des bactéries à former des biofilm en utilisant la technique de plaque de culture de tissu (TCP). (Figure 04)

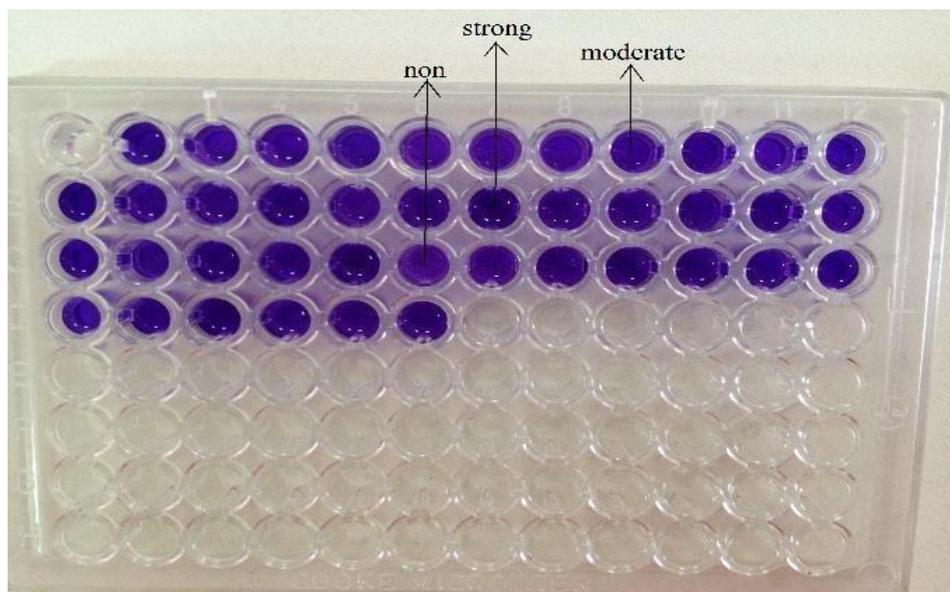


Figure 04 : méthode de plaque de culture des tissus

Les suspensions bactériennes des souches testées ont été ajustées à l'aide d'un spectrophotomètre dans le milieu de croissance puis déposées dans les puits d'une microplaque à 96 puits, la plaque était incubée à 37°C pendant 24h (Chmit *et al.*, 2014) et à 36°C pendant 24h (Grishin *et al.*, 2019).

Après incubation les plaques sont lavées afin d'éliminer les bactéries non adhérentes, le biofilm formé est ensuite coloré et détecté.

III- Activité anti-biofilm des polysaccharides

L'étude de l'activité anti-biofilm de galactane des pommes de terre et les polysaccharides (alginate, fucoidane, laminarane) de laurier a été réalisée par la méthode de TCP.

Une suspension bactérienne était distribuée dans chaque puits de plaque en polystyrène à 96 puits en présence de milieu de culture, les molécules à tester étaient ajoutées à des concentrations différentes.

Après l'incubation pendant 24h à 37°C, les cellules planctoniques ont été retirées et chaque puits de la microplaque est lavé et coloré par le cristal violet. Les biofilms colorés ont été solubilisés par l'acide acétique (Grishin *et al.*, 2019), Ils sont lavés 3 fois avec de l'eau salée (Chmit *et al.*, 2014), et les valeurs de densité optique (DO) ont été mesurées.

IV- Dispersion de biofilm

Pour les expériences de dispersion des biofilms, les biofilms ont été cultivés sur des coupons de polypropylène (10.0 × 6.5 mm) pendant 24 h, lavés avec du milieu de base M63 stérile, et placés verticalement dans les puits d'une plaque 96 puits contenant 100 µl de milieu frais avec ou sans le galactane. La plaque a été scellée avec du parafilm et incubée pendant 24 h. Après cela, les coupons ont été retirés, lavés et colorés. Comme les biofilms se forment sur les deux côtés des coupons, le côté qui a été orienté vers le bas pendant le séchage a été essuyé avec de l'éthanol à 70 % pour éliminer le biofilm. avant la photographie et la microscopie (**Grishin *et al.*, 2019**).



***Troisième
Partie:
Résultats et
Discussion***

La résistance aux antimicrobiens est un problème de santé publique grave dans le monde entier qui a conduit au développement d'infections nosocomiales et communautaires. Ceci présente un défi thérapeutique aigu pour contrôler ces infections et trouver des mesures pour lutter contre les microorganismes résistants. Les extraits naturels de plantes ayant une activité antimicrobienne peuvent fournir une source pour développer une nouvelle thérapie alternative pour le traitement des maladies liées aux infections microbiennes (Scott *et al.*, 2009). Dans ce mémoire, nous nous sommes intéressés par la réalisation d'une synthèse de deux articles visant à déterminer l'impact anti-biofilm potentiel de galactane de pomme de terre (Grishin *et al.*, 2019), et les polysaccharides extraits de *Laurus nobilis* (Chmit *et al.*, 2016) vis-à-vis des souches formatrices de biofilms en utilisant la méthode de plaque de culture de tissus (TCP).

Les résultats obtenus par Chmit *et al.*, 2016 ont bien montré l'effet positif de l'alginate sur l'inhibition de biofilm formé par *S.epidermidis*, ces bactéries sont responsables des infections acquises dans les hôpitaux à la suite de la contamination de coupes chirurgicales avec des micro-organismes provenant des patients eux-mêmes ou du personnel hospitalier. Le taux d'éradication de 78% à une concentration de 46,65 mg/mL en alginate. Sa capacité d'éradication a diminué de façon proportionnelle à sa concentration. (Figure 05)

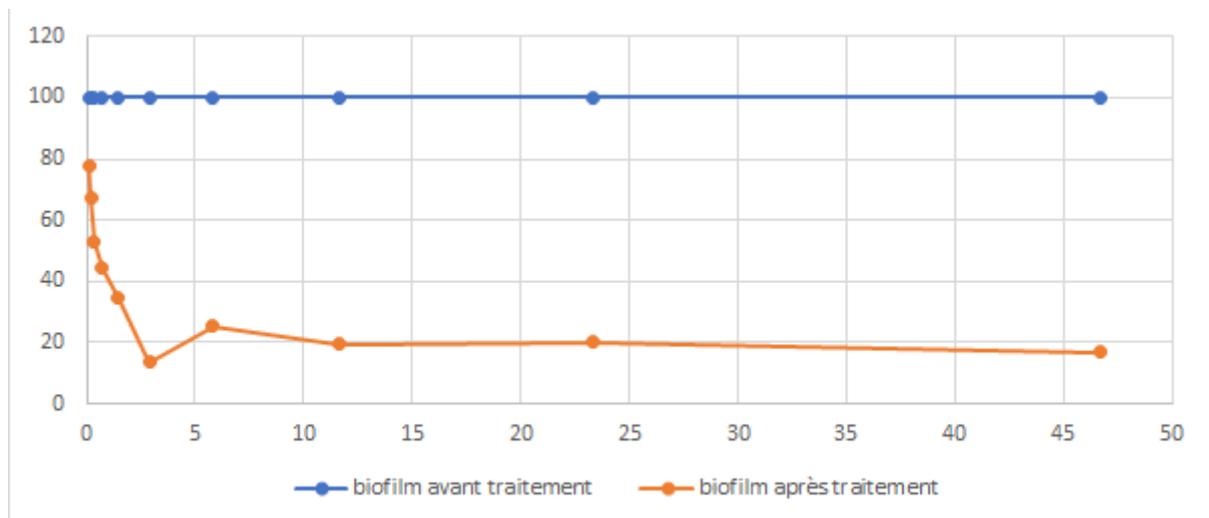


Figure 05 : Activité d'éradication d'alginate contre le biofilm de *S.epidermidis* établi à différentes concentrations

Alors que les autres le fucoïdane (3,7% - 33,5%) (**Figure 06**) et le laminarane (7%-33,0%) (**Figure 07**) ont montré une des capacités d'éradication du biofilm relativement plus faibles que celle d'alginate.

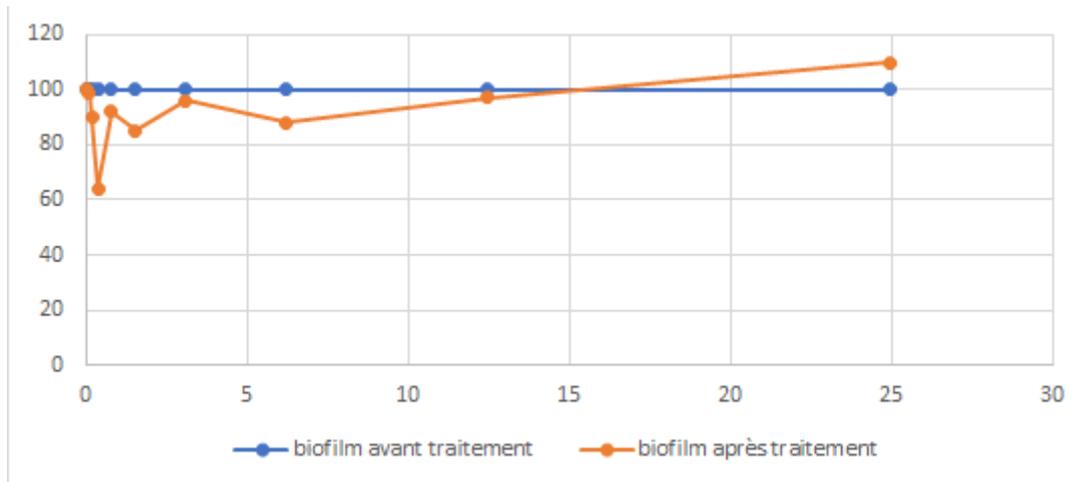


Figure 06 : activité d'éradication de fucoïdane contre le biofilm de epidermidis établi à différentes concentrations

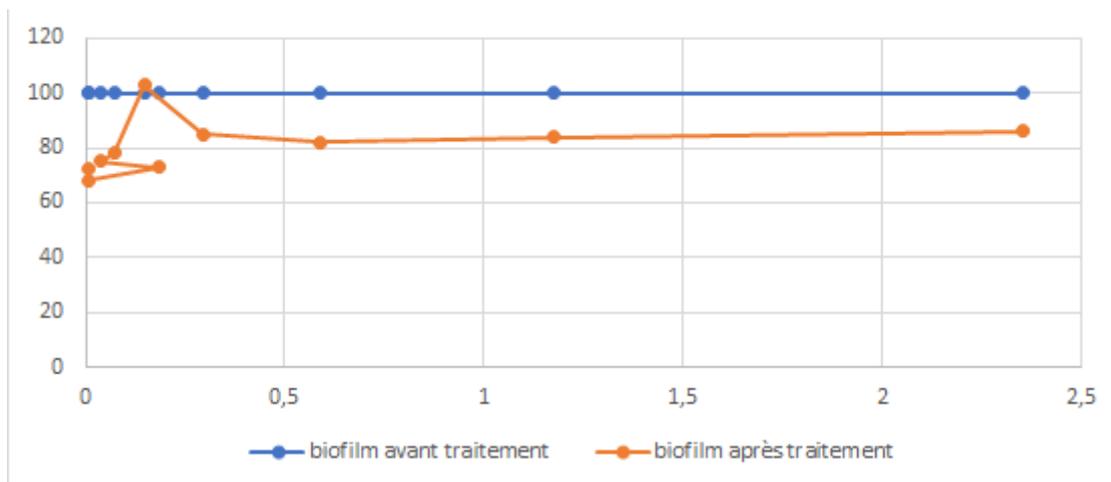


Figure 07: activité d'éradication de laminarane contre le biofilm de sepidermidis établi à différentes concentrations

Dans l'étude de **Grishin et al., 2019**, Le galactane de pomme de terre à une concentration de 1 mg/ml a presque complètement inhibé la formation de biofilms par les *P.aeruginosa* (PAO1) pendant 24 h de culture, et à désamorcer partiellement les biofilms préformés. La quantité de biomasse dans les biofilms cultivés en présence du galactane était 3,5 fois plus faible que dans les biofilms témoins (**Figure 08**)

Le glucane d'orge utilisé comme polysaccharide témoin n'a pas influencé de manière significative la formation des biofilms. Nous avons également noté que le galactane provoque une agrégation intensive des cellules bactériennes : de grands agrégats gluants non fixés aux puits de la plaque ont été vus à l'œil nu lors du lavage des biofilms. Ces agrégats étaient absents dans les puits de contrôle ou de glucane.

En présence de 0,5 et 0,1 mg/ml de galactane, il était remarqué que 0,5 mg/ml du galactane a agi de la même manière que 1 mg/ml, une concentration de 0,1 mg/ml, non seulement n'a pas eu d'effet inhibiteur, mais a plutôt eu un effet stimulant significatif sur la formation du biofilm

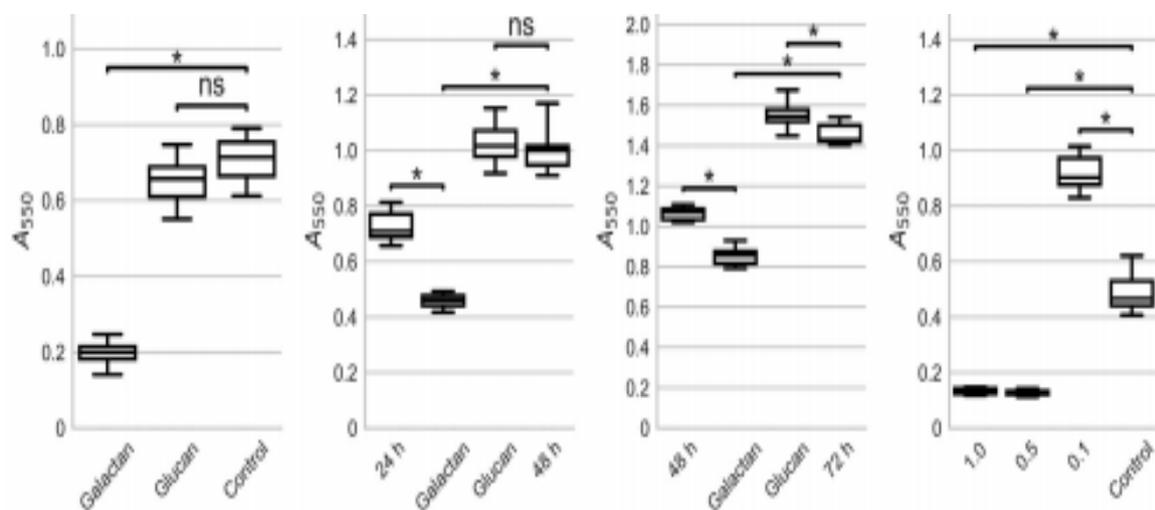


Figure 08 : Influence du galactan de pomme de terre sur la formation et la dispersion des biofilms de *P. aeruginosa* PAO1 dans 96 plaques de puits.

- Formation de biofilms PAO1 en présence de 1 mg/ml de galactan ou de glucane de pomme de terre, ou sans polysaccharide (Témoin) pendant 24 h.
- Dispersion de biofilms PAO1 préprolurgés pendant 24 h (24 h) par 1 mg/ml de galactan de pomme de terre ou de glucane d'orge, ou sans polysaccharide (48 h).
- Dispersion de biofilms PAO1 prépros cultivés pendant 48 h par 1 mg/ml de galactan de pomme de terre ou de glucane, ou sans polysaccharides (48h)
- Dispersion de biofilms PAO1 pré protégés pendant 48 h par 1 mg/ml de galactan de pomme de terre ou de glucane d'orge, ou sans polysaccharide (72 h).

d) Formation de biofilms PAO1 en présence de 1,0, 0,5 et 0,1 mg/ml de galactan, ou sans galactan (Contrôle) pendant 24 h.

Les données sont présentées sous forme de boîtes à moustaches où la boîte indique les 25e et 75e centiles, la ligne médiane indique la valeur médiane et les moustaches indiquent les valeurs minimales et maximales. L'importance statistique des différences entre les moyennes de groupe a été déterminée par un test à deux queues avec des variances inégales. Les différences ont été considérées comme significatives (*) si $p < 0,05$ après correction pour les comparaisons multiples; ns, non significatif.

Il est probable que le galactane provoque une agrégation excessive ou anormale des cellules bactériennes en se liant avec la lectine A *lecA* qui participe à l'adhésion bactérienne lors de la formation du biofilm de *P. aeruginosa*, cette liaison empêche la formation de biofilm (**Imberty et al., 2004 ; Grishin et al ., 2015**).

Les résultats obtenus dans l'article de (**Grishin et al ., 2019**) ont été confirmés par la microscopie de fluorescence. (**Figure 09**)

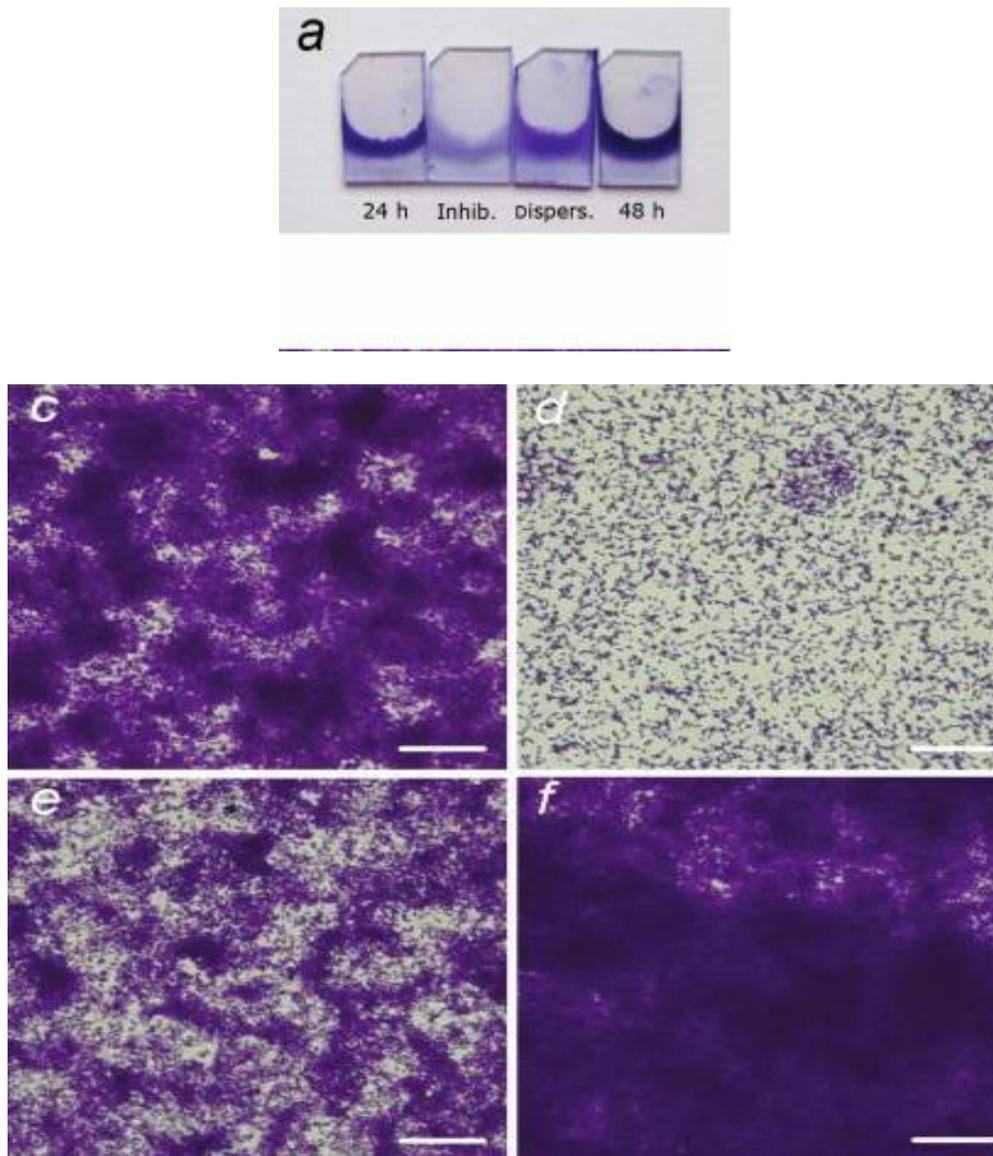


Figure 09 : effet anti-biofilm de galactane sur la formation et la dispersion des biofilms formés par *Pseudomonas aeruginosa* POA1 sur des coupons de polypropylène (Grishin *et al.* , 2019)

a) Photos de coupons de polypropylène avec des biofilms colorés avec du cristal violet (24 h - biofilm témoin cultivé pendant 24 h ; Inhibe. - biofilm cultivé pendant 24 h en présence de 1 mg/ml de galactane de pomme de terre ; Disperser. - 24 h de biofilm préformé traité avec 1 mg/ml de galactane de pomme de terre pendant 24 h supplémentaires ; 48h - contrôle du biofilm cultivé pendant 48 h).

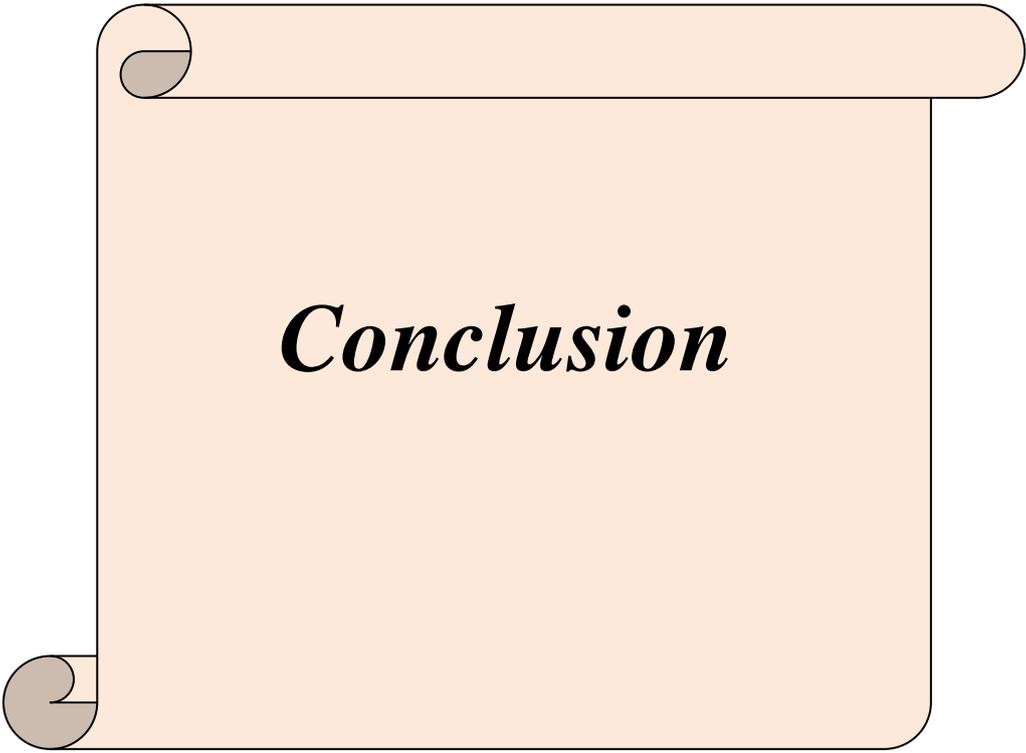
C f) Images microscopiques de biofilms cultivés sur des coupons de polypropylène :

c) biofilm préformé après 24 h ;

d) biofilm cultivé en présence de 1 mg/ml de galactane de pomme de terre ;

e) biofilm préformé après 24h d'incubation traité avec 1 mg/ml de galactane de pomme de terre

f) biofilm préformé après 48h. La barre d'échelle est de 25 μm



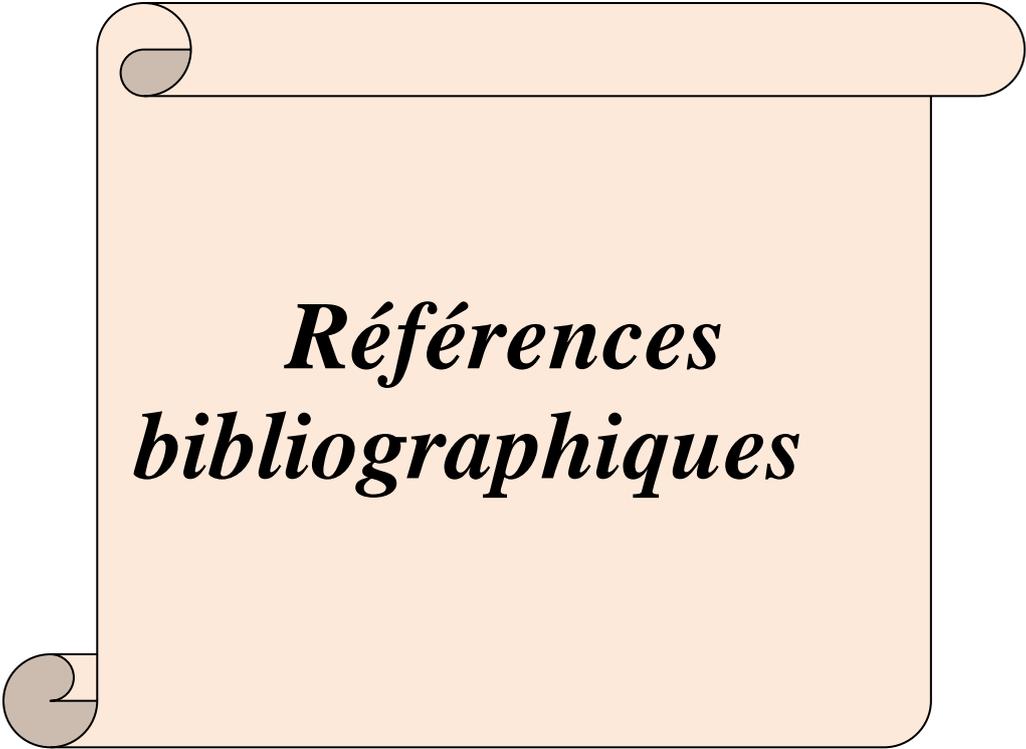
En traitant deux articles, nous pouvons dire que la recherche et la valorisation de molécules naturelles notamment celles d'origine végétale devient de plus en plus importante pour la prévention contre l'installation d'agents pathogènes et leur résistance aux agents antimicrobiens.

Dans ce travail, quatre polysaccharides d'origine végétale ont été testés pour leur activité antibiofilm.

L'étude menée par **Chimit et al., 2014** a révélé la capacité de l'alginate extrait de *Laurus nobilis* à un pouvoir d'éradication de biofilm formé par *S.epidermidis* élevé (78%).

Le galactane utilisé dans l'article de **Grishin et al ., 2019** a montré également un effet inhibiteur sur la formation de biofilm par *P. aeruginosa*, le galactane a aussi la capacité de disperser les biofilms préformés après 24h.

Comme perspective, il sera intéressant de réaliser l'extraction de l'alginate et le galactane des plantes de la flore algérienne et d'évaluer leur activité anti-biofilm sur des souches isolées du milieu hospitalier de Tlemcen.



***Références
bibliographiques***

- Abu-Shanab B, Adwan G, Jarrar N, Abu-Hijleh A and Adwan K (2006).** Antibacterial Activity of Four Plant Extracts Used in Palestine in Folkloric Medicine against Methicillin-Resistant *Staphylococcus Aureus*. *Turkish journal of biology*. 30 : 195-198.
- Brett, TC (2000).** Cellulose microfibrils in plants, Biosynthèse, déposition and integration into the cell wall, *International Review of Cytology*. 199 : 161-199.
- BRUDIEUX V., (2007).** Chapitre 1: Travaux antérieur. Extraction, modification enzymatique caractérisation chimique de nouvelle structure pectique. Application de la relation structure/activité à la dermocosmétique. Ed : Université de Limoges, 30p
- Bruneton J (2009).** Pharmacognosie ; phytochimie plante médicinal 4 éd. Tec ET Doc Paris: 57-60.
- Chanama, S. (1999).** Comparative 16S rRNA Sequence Analysis. *Journal of Health Research*, 13: 107-117.
- Characklis WG. (1973).** Attached microbial growths--II. Frictional resistance due to microbial slimes. *Water Research Pergamon Press*.7:1249-1258.
- Chen F & Huang G.(2018a).** Preparation and immunological activity of polysaccharides and their derivatives.*International Journal of Biological Macromolecules*.112: 211–216.
- Chen F., Huang G. (2018b).**Antioxidant activity of polysaccharides from different sources of ginseng. *International Journal of Biological Macromolecules*.13p.
- Chmielewski RAN Frank JF, (2003).** Biofilm Formation and Control in Food Processing Facilities, *Comprehensive Reviews In Food Science And Food Safety*. 22 : 22-32 .
- Chokr A, Watier D, Eleaume H, Pangon B, Ghnassia JC, Mack D, [Jabbouri s.](#)(2006).** Correlation between biofilm formation and production of polysaccharide intercellular adhesin in clinical isolates of coagulase-negative Staphylococci. *International Journal of Medical Microbiology*. 296: 381-388.
- Clutterbuck AL, Woods EJ, Knottenbelt DC, Clegg PD, Cochrane CA, Percival SL.(2007).**Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Veterinary Microbiology* 121: 1-17.

Collic S, Breaudiere J, Patrick D, Fischer A.M, Jacqueline J, Bernard K, Vidal C. (1990). Polysaccharides sulfatés, agent anticoagulant et agent anti complémentaire obtenus à partir de fucanes d'algues brunes et leur procédé d'obtention. Brevet.

Costerton JW, Geesey GG, Cheng KJ, (1978). How bacteria stick. *Scientific American*.238: 86-95.

Costerton JW, Lewandowski Z, De Beer D, Caldwell D, Korber D, James G, (1994). Biofilms, the customized micro niche. *Journal of Bacteriology*.176 : 2137- 2142.

Deltre C. (2005). Stratégie d'obtention d'oligosaccharides anioniques par dégradation enzymatique de gluconate : 4-11.

Devi L, Srinivas B and Rao B (2012). An evaluation of Antimicrobial activity of Aloe barbadensis Miller (Aloe vera) gel extract. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*.21: 1-4.

Donlan RM (2002). Biofilms : Microbial life on surface. *Emerging Infectious Disease journal*. 8: 881-890.

Filloux A et Vallet I. (2003). Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *médecine/sciences*.19 :77-83.

Grishin A, Karyakina AS , Tiganova IG, Dobrynina OY, Bolshakova TN, Boksha IS, Alexeyeva NV, Stepanova TV, Lunin VG, Chuchalin AG, Ginzburg AL.(2013). Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation by LecA binding polysaccharides. *International Journal of Antimicrobial Agents*.42: 471-472

Grishin AV, Krivo Zubov MS, Kartagina, AS, and Gintsburg AL.(2015) *Pseudomonas aeruginosa* lectins as targets for novel antibacterials, *Acta Naturae*.7 : 29-41

Guignard JL (1996). Abrégé de biochimie végétale, Ed. Masson, Paris, 160 p.

Henerici AT (1932), studies of freshwater bacteria i. a direct microscopic technique, *Journal of bacteriology*. 25 : 277-287.

Heukelekian H, Heller A. (1940). *Relation between Food Concentration and Surface for*

IGNAT CM (2012).Compatibilité et co-structuration dans des systèmes contenant des scléroprotéines et des polysaccharides. Thèse de doctorat en Chimie des polymères de l'université de PAU et des Pays de l'Adour.

Imberty A, Wimmerova M, Mitchell EP, Gilboa Garber, N. (2004). Structures of the lectins from *Pseudomonas aeruginosa*: insights into the molecular basis for host glycan recognition. *Microbes and infections*. 6 : 221-228.

Imbs TI, Shevchenko NM, Sukhoverkhov SV, Semenova TL, Skriptsova AV, Zvyagintseva TN.(2009).Seasonal variations of the composition and structural characteristics of polysaccharides from the brown alga *Costaria costata*. *Chemistry of Natural Compounds*. 45: 786-791.

Kaplan JB (2010).Biofilm Dispersal: Mechanisms, Clinical Implications, and Potential Therapeutic Uses.*Journal of Dental Research*, 89: 205-215.

Le beaux D, Ghigo JM (2012). Infections associées aux biofilms. *Medical Sciences*.

Lee DH, Seo BR, Kim HY, Gum GC, Yu HH, You HK, You YO.(2011). Inhibitory effect of *Aralia continentalis* on the cariogenic properties of *Streptococcus mutans* . *Journal of Ethnopharmacology*.137 : 979–984.

Lengsfeld C, Titgemeyer F, Faller G, Hensel A. (2004). Glycosylated Compounds from Okra Inhibit Adhesion of *Helicobacter pylori* to Human Gastric Mucosa. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52 : 1495–1503.

Liu G , Liu X , Zhang Y , Zhang F ,Wei T, Min Y, Wang K, Wang Y , Liu N ,Cheng H, Zhao Z (2015). Patterns of use of angiotensin-converting enzyme inhibitors/angiotensin receptor blockers among patients with acute myocardial infarction in China from 2001 to 2011: China PEACE-Retrospective AMI Study. *Journal of the American Heart Association*. 4 : 1343-1343.

Marghem R (2009). Chapitre 1: Les glucides des végétaux. Élément de la biochimie végétale. Ed, Bahaeddine.Constantine, 13-40p.

Marouf A , Gérard TR (2009). Abrégé de biochimie appliquée .Edition EDP science : 20-21.

Paris M, et Hurabielle M, (1981). Matière médicale (pharmacognosie). Ed. Masson, T. 1, Paris, 26-67p.

Perez C, Pauli M and Bazerque P (1990). An antibiotic assay by agar-well diffusion method. *Acta Biologie et Médecine Experimentalis*, 15: 113-115

Persin, Z, Stana-Kleinschek K, Foster TJ, van Dam JEG, Boeriu CG, & Navard P. (2011). Challenges and opportunities in polysaccharides research and technology: The EPNOE views for the next decade in the areas of materials, food and health care. *Carbohydrate Polymers*, 84: 22–32.

Phansri K, Sarnthima R, Thammasiri Rak S, Boonchalee P etKhammouan S (2011). Antibacterial Activities of *Solanum stramonifolium* Jacq. Seed Extract. *International journal of agriculture and biology*. 14:111-115.

Prat R, Mosiniak M. et Roland JC.(2002). Physiologie végétale. Biologie et multimédia, Université Pierre et Marie Curie, UFR de biologie: 984-988 p.

Roger O, (2002). Etude d'oligosaccharides bioactifs issus d'exopolysaccharides bactériens: obtention, caractérisation et relation structure/fonction. Thèse de doctorat, université de Paris, 13. 195p.

Roux A, Chigo JM (2006), Les biofilms bactériens, *Bulletin de l'Académie Vétérinaire*, 261-268.

Ruff Y.,(2008). Biopolymers dynamiques: oligo-et polysaccharides. Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, Strasbourg, 308 p.

Samanta S, Thavasi R and Jayalakshmi R (2008). Phenazine pigments from *Pseudomonas aeruginosa* and their application as antibacterial agents and food colourants. *Research Journal of Microbiology* .3: 122-128.

Sandasi M, Leonard CM, Viljoen AM. (2010). the in vitro antibiofilm activity of selected culinary herbs and medicinal plants against *Listeria monocytogenes*. *Letters in Applied Microbiology*, 50 : 30–35.

Sema T and Smeekens S (2003). Fructans: beneficial for plants and humans. *Current opinion in plant biology*. 6: 223-230.

Stanley NR, Britton RA , Grossman AD, Lazazzera BA. (2003). Identification of catabolite repression as a physiological regulator of biofilm formation by *Bacillus subtilis* by use of DNA microarrays. *Journal of Bacteriology* .185:1951–1957.

Sutherland I (2001). Biofilm exopolysaccharide: a strong and sticky framework. *Microbiology*, 147: 3-9.

Tolker-Nielsen T, Molin S. (2000). Spatial organization of microbial biofilm communities. *Microbial Ecology*. 40 :75-84.

Tomlin KL, Malott RJ, Ramage G, Storey DG, Sokol PA, Ceri H.(2005). Quorum Sensing mutations affect attachment and stability of Burkholderia cenocepacia biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*. 71: 5208- 5218.

Udo EE, Al-Sweih N and Noronha B (2006). Characterization of non multiresistant methicillin resistant *S. aureus* (including EMRSA-15) in Kuwait Hospitals. *Clinical Microbiology and Infection*.12 : 262-269.

Valle J, Da Re S, Henry N, Fontaine T, Balestrino D, Latour-Lambert P et Ghigo JM. (2006). Broad-spectrum biofilm inhibition by a secreted bacterial polysaccharide. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103: 12558-12563.

Vallet I, Olson JW, Lory S, Lazdunski A, Filloux A, (2001), The chaperone usher pathways of *Pseudomonas aeruginosa* : Identification of fimbrial gene clusters (cup) and their involvement in biofilm formation, *Processing of the National Academy of Science of USA*, 98 : 6911–6916.

Wanner O, Baukrowitz M. (2006). Les biofilms sont omniprésents. *Eawag News* 60f, 4-7.

Warrand J (2004). Etude structurale et propriétés en solution des polysaccharides constitutifs de mucilage de lin (*Linum usitatissimum*). Ed, Université de Picardie Jules Verne, 238.

Wittschier N, Faller G Hensel A. (2007). An extract of *Pelargonium sidoides* (EPs 7630)

inhibits in situ adhesion of Helicobacter pylori to human stomach. Phytomedicine. 14: 285-288.

Wolfe K, Wu X, Liu RH (2003). *Antioxidant activity of apple peels. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51 : 609-614.*

Xu C, Ruan XM, Li HS, Guo BX, Ren XD, Shuang JL, Zhang Z. (2010). Anti-adhesive effect of an acidic polysaccharide from Aloe vera L. var. chinensis (Haw.) Berger on the binding of Helicobacter pylori to the MKN-45 cell line. *Journal of Pharmacy and Pharmacology.62:1753–1759.*

Yang J, Han S, Zheng H, Dong H, et Liu J, (2015).Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides. *Carbohydrate Polymers. 123: 53- 66.*

Yang L, Zhang LM (2009). Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources. *Carbohydrate Polymers.76: 349–361.*

Yves R ; 2008. polymères dynamiques :oligo et polysaccharides thèse de doctorat. Université louis pasteur de strasbourg

Zabeirou H. (2001). Contribution à l'inventaire des plantes spontanées et leur utilisation éventuelle en médecine traditionnelle par la population de Ouargla. Mémoire.Ing. Agro. Sah, INF/AS, Ouargla, 180p.

Zhao B, Li X , He R , Cheng S , Wenjuan X (1989).Scavenging effect of extracts of green tea andnatural antioxidants on active oxygen radicals. Cell Biophysics Vol 14 zobell CE. 1946.Action ofmicroorganisms on hydrocarbons. *Bacteriological Reviews. 10 : 1-49*

Zobell CE. (1943). The Effect of Solid Surfaces upon Bacterial Activity. *Journal of Bacteriology. 46 :39-56.*

