



République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement
Supérieur et de la Recherche Scientifique



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEM

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement

« LAMAABE »

Mémoire de Master

Présenté par

BELARBI Khawla - YAHLA Sara

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

Option : Microbiologie

Evaluation du pouvoir anti-biofilm de quelques huiles essentielles sur des bactéries isolées de sondes urinaires

Soutenue le 08/09/2020

Devant le jury :

Présidente :	Hassaine Hafida	Professeur	U. de Tlemcen
Examinatrice :	Mkedder Ilham	MCB	U. de Tlemcen
Encadreur :	Bellifa Samia	MCB	U. de Tlemcen

Année Universitaire : 2019- 2020

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

En seconde lieu, nous tenons à remercier :

***A notre président de jury, Madame Hassaine Hafida** pour avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de cette mémoire, veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude et de notre profond respect.*

***A notre chère encadreur, Madame Bellifa Samia** pour avoir accepté de diriger cette mémoire, pour votre écoute, votre sympathie et votre accompagnement tout au long de ce travail.*

Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

*Nous tiens de remercier aussi **Madame Mkedder Ilham** qui est bien voulu être rapporteurs et pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également à toute l'équipe de Laboratoire LAAMAB surtout Monsieur **Benamar Ibrahim, M'hamedi Imane et Boumediene Karima** qui nous a aidés beaucoup dans les moments où nous avons eu besoin de matériels.*

Dédicace

Avec l'aide de Dieu, le tout puissant et tous les gens qui m'ont soutenu j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie à :

A mon père et ma mère, qui m'ont donnés l'opportunité de venir à la vie, merci mes chères parents je vous aime beaucoup

Qu'Allah le tout puissant vous accorde encore une longue vie à nos côtés pour goûter le fruit de ce travail

*A ma sœur **Chaymaa** que dieu te protège*

*A ma **grande mère** Dieu le tout-puissant la protège et lui donne la force pour qu'elle Continu à couronner notre vie.*

*A mon **grand-père** que Dieu les accueille dans son vaste paradis*

*A mes **tantes**, les plus chères dans le monde qui n'ont pas cessé de m'orienter vers La vie de réussite. Merci chères tantes.*

*A ma cousine **Ikhlassse** je te souhaite un bon courage dans ta vie*

*A mon encadreur **Mme BELLIFA Samia** merci beaucoup de m'avoir accepté dans votre équipe de recherche et pour votre encouragement durant cette année*

*A mon binôme **Belarbi Khawla** qu'Allah te garde le meilleur pour l'avenir*

*A tous les membres de **ma familles** : oncles, tantes, cousins et cousines.*

Sara

Dédicace

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail :

A mes parents,

Pour leur soutien sans faille tous au long de mes études et de ce travail ;

A mes frères, Badr El dinne, Adel et Abd El Rahman,

Pour leur humour et les bons moments partagés ensemble ;

A toutes mes amis Surtout Sara Yahla,

Pour les après- midis et soirées passée ensemble et leur amitié ;

A mon encadreur Mme BELLIFA Samia,

Pour avoir donné son appréciation sur le contenu de ce travail et pour son accompagnement tout au long de ce travail.

A toutes ma famille.

Khawla

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Partie I : Synthèse Bibliographique

Chapitre I : Les infections associées aux dispositifs médicaux2

1. Définition2

2. Le dispositif médical2

2.1. Sonde urinaire2

2.2. Description générale d'une sonde urinaire2

2.3. Propriétés et Caractéristiques d'une sonde urinaire3

2.3.1. Longueur3

2.3.2. Diamètre3

2.3.3. Le corps4

2.3.4. Nombre de voies4

2.3.5. Matériaux5

3. Les infections nosocomiales associées à la présence d'une sonde urinaire6

4. Etiologie des infections dues à la présence d'une sonde urinaire6

5. Les facteurs de risques liés à la présence d'une sonde urinaire6

5.1. Les facteurs intrinsèques6

5.2. Les facteurs extrinsèques7

6. Mécanismes d'acquisition en présence de sonde7

6.1. Acquisition lors de la mise en place de la sonde7

6.2. Acquisition par voie endoluminale8

6.3. Acquisition par voie extraluminale péri-urétrale8

6.4. Acquisition par voie lymphatique ou hématogène8

Chapitre II : Généralité sur le Biofilm10

1. Historique et découverte des Biofilms10

2. Qu'est-ce qu'un biofilm et pourquoi s'y intéresser ?11

3. Structure des Biofilms (Composition et organisation)	12
4. Le cycle de vie d'un biofilm et sa régulation	13
4.1. Les étapes de la formation d'un biofilm	13
4.1.1. L'adhésion des cellules bactériennes à la surface	14
4.1.1.1. Mise en place d'un film conditionnant	14
4.1.1.2. L'adhésion réversible	14
4.1.1.3. L'adhésion irréversible	15
4.1.2. Formation des microcolonies	15
4.1.3. Maturation de biofilm	16
4.1.4. Dispersion des bactéries	16
4.2. Les facteurs favorisant la formation d'un biofilm	16
4.2.1. Caractéristiques de la surface	17
4.2.2. Caractéristiques de milieu	17
4.2.3. Propriétés des cellules	17
4.3. Régulation d'un biofilm : Quorum sensing	18
4.3.1. Définition et mécanisme	18
4.3.2. Le Quorum sensing chez les bactéries à Gram négatives	19
4.3.3. Le Quorum sensing chez les bactéries à Gram positives	19
5. La tolérance aux antibiotiques	20
6. Les principales bactéries formatrices de biofilm sur les sondes urinaires	21
6.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	21
6.2. <i>Escherichia coli</i>	22
6.3. <i>Enterobacter cloacae</i>	23
6.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24
6.5. <i>Staphylococcus aureus</i>	25
 Chapitre III : Traitement des biofilm par les plantes médicinales	 27
1. <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	27
1.1. Nomenclature	27
1.2. Description botanique	27
1.3. Usages thérapeutique	28
2. <i>Lavandula officinalis</i>	28
2.1. Nomenclature	28
2.2. Description botanique	28

2.3. Usages thérapeutique	29
3. <i>Zingiber officinale Roscoe</i>	29
3.1. Nomenclature	29
3.2. Usages thérapeutique	30

Partie II : Partie expérimentale

1. Matériel et méthodes	
1.1. Lieu d'étude	32
1.2. Prélèvement	32
1.3. Ensemencement et isolement	32
1.4. Identification	33
1.5. Conservation des souches	34
1.6. Evaluation de la formation du biofilm in vitro	34
1.6.1. Méthode de Plaque de Culture de tissus (TCP)	34
1.6.1.1. Lecture	34
1.6.2. Détection de la production de slime sur milieu Rouge Congo Agar (RCA).35	
1.6.3. Méthode en Tube	35
1.6.3.1. Lecture	35
1.7. Activité anti biofilm d' <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	35
1.8. L'effet de quelques huiles essentielles sur un biofilm préformé	36
2. Résultats et discussion	
2.1. Prélèvement	37
2.2. Identification des souches	37
2.2.1. Aspect macroscopique	37
2.2.2. Caractères biochimiques par le système miniaturisé API	40
2.2.2.1. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	40
2.2.2.2. <i>Escherichia coli</i>	41
2.2.2.3. <i>Enterobacter cloacae</i>	41
2.2.2.4. <i>Staphylococcus aureus</i>	42
2.2.3. Résultat de test de coagulase chez <i>S. aureus</i>	42
2.2.4. Résultat de test d'oxydase chez <i>P.aeruginosa</i>	43
2.3. Résultat d'Evaluation de la formation de biofilm chez les souches isolées	43
2.3.1. Méthode de Plaque de Culture de tissus (TCP)	43

2.3.2. La méthode de Rouge Congo (RCA)	45
2.3.3. La méthode en Tube (TM)	45
2.4. Résultats de l'effet de quelques huiles essentielles sur un biofilm préformé	46
2.4.1. L'huile de <i>Lavandula officinalis</i>	46
2.4.2. L'huile de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>	46
2.4.3. L'huile de <i>Zingiber officinale Roscoe</i>	47
Conclusion	50
Références bibliographiques	51
Annexes	

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

AIP : Peptides auto inducteur

AHL : Acyl- Homosérine Lactone

ATP : Adénine triphosphate

AVC : Accident vasculaire cérébral

BM : Blessés médullaires

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CSLM : Microscope confocal à balayage Laser

CV : Cristal violet

DM : Dispositif médical

DO : Densité optique

ERV : Enterococcus résistant à la vancomycine

EPS : Exopolysaccharides

IUN : Infection Urinaire Nosocomiale

IN : Infection Urinaire

IAS : Infection Associée aux soins

LTA: Acide Lipotéichoïque

MSCRAMMs : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules

OMS : Organisation mondiale de la santé

PGA: Polyglucosamine

PBS: Phosphate buffered saline

PH : Potentiel d'Hydrogène

PNGA : N-acétyl polyglucosamine

PVC : Polychlorure vinyl

QS : Quorum sensing

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la métiline

SEP : Sclérose en plaque

UPEC : Escherichia coli uropathogène

USI : Unité de soins intensive

Liste des figures

Figure 01 : Forme de l'extrémité proximale ou embase	3
Figure 02 : Les différentes charrières et leurs couleurs	4
Figure 03 : Forme d'une sonde urinaire	4
Figure 04 : Sondage vésical : principales voies d'acquisition des microorganismes	9
Figure 05 : Représentation schématique de la structure tridimensionnelle d'un biofilm bactérien	11
Figure 06 : Structure et composition des biofilms bactériens	12
Figure 07 : Etapes de formation d'un biofilm	14
Figure 08 : Schéma descriptif des interactions impliquées dans l'étape d'adhésion initiale (Réversible, Irréversible)	15
Figure 09 : mécanisme de QS exploité par les bactéries à Gram négatif	19
Figure 10 : Hypothèses pour expliquer le phénomène de tolérance du biofilm vis-à-vis des biocides (antibiotiques et antiseptiques)	21
Figure 11 : Biofilm de 48h à <i>Klebsella pneumoniae</i> formé sur lamelle de Thermanox en microfermenteur	22
Figure 12 : Analyse au microscope électronique à balayage (MEB) de biofilms produits sur les lamelles en plastique par des isolats cliniques d' <i>E. cloacae</i> après incubation 37 ° C pendant 48h à un grossissement de 1 000 × (a), 5 000 × (b), 10 000 × (c) et 15 000 × (d)	23
Figure 13 : formation de biofilm par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> au niveau d'une sonde urinaire	24
Figure 14 : Biofilm de <i>Staphylococcus spp.</i> à la surface d'un implant médical. Image obtenue par microscopie confocale	25
Figure 15 : Images obtenues par microscope électroniques de cellules de <i>S. aureus</i> adhérentes et format des biofilms chez l'hôte sur valves cardiaques (à gauche) un tube endotrachéal (à droite)	36
Figure 16 : les différentes parties de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> : (A) : L'écorce, (B) : Fleurs, (C) : fleurs et fruits	27
Figure 17 : (A) les feuilles (Grand, 2009), (B) Les fruits (Anonyme) de <i>Lavandula officinalis</i>	29
Figure 18 : Répartition des prélèvements selon les services du CHU de Tlemcen	37

Figure 19 : identification de <i>klebsiella pneumoniae</i> par la galerie API 20 E (biotype 5217772)	41
Figure 20 : identification d' <i>Escherichia coli</i> par la galerie API 20 E (biotype 7545532)	41
Figure 21 : Identification d' <i>Enterobacter cloacae</i> par la galerie API 20 E (biotype 3305573)	41
Figure 22 : Identification d' <i>Enterobacter cloacae</i> par la galerie API 20 E (biotype 5345532)	42
Figure 23 : Identification de <i>S. aureus</i> par la galerie API Staph (biotype 7715461)	42
Figure 24 : Résultat du test Coagulase	42
Figure 25 : résultat du test oxydase chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	43

Liste des tableaux

Tableau 01 : Différents matières utilisées et leurs complications	4
Tableau 02 : Prélèvements des sondes urinaires	32
Tableau 03 : Résultats de l'aspect macroscopique de 05 souches bactériens isolées des sondes urinaires	38

المخلص

تعد الاغشية الحيوية البكتيرية مصدر العدوى المكتسبة من المستشفيات. فهي تستطيع ان تتشكل على سطح الانسجة الحية كما يمكنها ان تتشكل على الاجهزة الطبية. فمن الصعب القضاء عليها حيث القدرة المحتملة لبعض البكتيريا المسببة لأمراض الجهاز البولي مثل *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebseilla pneumoniae* و *Staphylococcus aureus* لتشكيل الأغشية الحيوية و التي يمكن ان تفسر مقاومتها الكبيرة للمضادات الحيوية بالإضافة الى بقائها في بيئة المستشفيات.

يهدف عملنا في هذه المذكرة الى دراسة الطرق النوعية و الكمية المختلفة لتقييم تكوين الاغشية الحيوية لبعض البكتيريا المسببة لأمراض الجهاز البولي و المعزولة من القسطرات البولية (نوع من الاجهزة الطبية) القادمة من المرضى الذين تم ادخالهم الى المستشفى لأكثر من 48 ساعة في وحدة العناية المركزة, وحدة جراحة العظام, و وحدة الجراحة بولاية تلمسان. و ثانيا سنهتم باختبار تأثير الزيوت الأساسية المستخلصة من ثلاث نباتات طبية و التي هي *Lavandula officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale* على الغشاء الحيوي المشكل من طرف البكتيريا.

نظرا للظروف الحالية (COVID-19) لم يتم تحقيق الجزء الثاني من عملنا, و بالتالي تبين نتائج الدراسات السابقة من جهة ان قدرة السلالات على تكوين الاغشية الحيوية متنوعة وفقا للطرق المستخدمة: TCP, RCA, TM. من ناحية اخرى, تبين ان الزيوت الأساسية ل *Zingiber Officinale* و *Cinnamomum zeylanicum* ذات فعالية جيدة ضد الاغشية الحيوية المشكلة من طرف السلالات البكتيرية, *Lavandula officinalis*.

الكلمات المفتاحية: الغشاء الحيوي البكتيري, القسطرات البولية, *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale*, *Lavandula officinalis*.

Résumé

Les biofilms bactériens sont à l'origine de nombreuses infections nosocomiales (IN). Ils peuvent se former sur des tissus vivants comme ils se forment sur des dispositifs médicaux. Ils sont extrêmement difficiles à éradiquer dont la capacité potentielle de certaines bactéries : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* à former des biofilms, peuvent expliquer leurs grandes tolérances aux antibiotiques ainsi que leurs survies dans l'environnement hospitalier.

L'objectif de notre travail vise à étudier par différentes méthodes qualitatives et quantitatives l'évaluation de la formation de biofilm chez certaines bactéries isolées de sondes urinaires provenant de patients hospitalisés plus de 48 heures au service de réanimation, Traumatologie et Chirurgie – CHU – Tlemcen, et en deuxième lieu on va s'intéresser à tester l'effet anti biofilm des huiles essentielles de trois plantes médicinales : *Lavandula officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Zingiber officinale Roscoe*.

Compte tenu aux conditions actuelles (COVID-19), la deuxième partie n'a pas été réalisée, donc les résultats des travaux antérieurs montrent d'une part que la capacité de souches à former des biofilms est diversifiée en fonction des méthodes utilisés, Technique de microplaque 96 puits (TCP), méthode de rouge Congo agar (CRA) et la méthode en tube (TM). D'autre part, l'huile essentielle et les extraits bruts de *Cinnamomum zeylanicum* et *Zingiber officinale Roscoe* ont révélé une bonne efficacité vis-à-vis des souches formatrices du biofilm, suivi de *Lavandula officinalis*.

Mots clés : Biofilm, Sondes urinaires, *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale Roscoe*, *Lavandula officinalis*.

Abstract

Bacterial biofilms are the cause of many nosocomial infections (IN). They can form on living tissue as it forms on medical devices. They are extremely difficult to eradicate, the potential capacity of certain bacteria: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* to form biofilms, which can explain their high antibiotic tolerances as well as their survival in the hospital environment.

The aim of our work is to study by different qualitative and quantitative methods the evaluation of biofilm formation in certain bacteria isolated from urinary catheters coming from patients hospitalized for more than 48 hours in the service of resuscitation, trauma and surgery - CHU - Tlemcen, and secondly we will be interested in testing the anti-biofilm effect of the essential oils of three medicinal plants: *Lavandula officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale Roscoe*.

Given the current conditions (COVID-19), the second part has not been completed, therefore the results of previous work show on the one hand that the capacity of strains to form biofilms is diversified according to the methods used, Technique 96-well microplate (TCP), Congo red agar (CRA) method and the tube method (TM). On the other hand, the essential oil and the extracts of *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale Roscoe* have shown good efficacy against biofilm-forming strains, followed by *Lavandula officinalis*.

Key words: Biofilm, urinary catheters, *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale Roscoe*, *Lavandula officinalis*

Introduction

Dans l'environnement, les micro-organismes sont attachés à une surface et organisée en communauté structurée et englobés dans une matrice d'exopolymères qui les protège des agressions extérieures [(Khalilzadeh, 2009) ; (Lebeaux *et al.*, 2016)]. Ce mode de développement, appelé biofilm, a pris une importance particulière car ils sont associés à des problèmes majeurs de santé publique et impliqués dans un large éventail d'infections chez l'homme. Environ 60 % des infections nosocomiales sont dues aux biofilms (Roux et Chigo, 2006). Ces derniers peuvent se former à la surface ou à l'intérieur des dispositifs médicaux implantés dans l'organisme (lentilles de contact, cathéter veineux central, sonde endotrachéale, dispositifs intra-utérins, valves cardiaques artificielles, pacemakers, cathéters de dialyse péritonéale, sondes urinaires, prothèses vocales...) (Bezoui, 2016).

L'infection urinaire nosocomiale (IUN) est un véritable problème de santé publique. Elles représentent à elles seules 40% des infections nosocomiales (Hounane, 2011). Elles sont à l'origine de nombreux bactéries que ce soit Gram positives ou Gram négatives et sa capacité de formé un biofilm sur les sondes urinaires. Il s'agit de nombreux genres (*Escherichia*, *Klebseilla*, *Enterobacter*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* et autres).

L'éradication des biofilms pose un réel problème dans le domaine médical à cause de sa grande résistance face aux antibiotiques et aux antiseptiques. Alors, l'efficacité de ces derniers est fortement diminuée durant les 20 dernières années et les bactéries sont devenues de plus en plus résistantes (Matyar *et al.*, 2008). Donc, à cause de l'échec thérapeutiques et les coûts plus élevés des traitements des infections dues aux bactéries résistantes, les chercheurs s'orientent aujourd'hui vers de nouvelles alternatives thérapeutiques qui entraînent moins de résistances bactériennes, et présentant moins d'effets indésirables sur la santé. Des produits d'origine naturelle, issus de plantes médicinales sont parmi ces agents alternatifs.

Selon des statistiques de 2003 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 80% de la population mondiale a recours à la médecine traditionnelle pour satisfaire les soins de santé primaire. Actuellement, la recherche des activités antimicrobiens des huiles essentiels (HE) et différents composants des plantes médicinales est essentiellement mises en parallèle.

Notre travail a pour objectif d'évaluer la formation de biofilm chez quelques bactéries isolées de sondes urinaires par différentes méthodes et en suite de tester l'effet anti-biofilm des huiles essentielles de trois plantes médicinales : *Lavandula officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Zingiber officinale Roscoe*.

Partie

Bibliographique

Chapitre I : Les infections associées aux dispositifs médicaux

1. Définition

Une infection est dite associée aux soins si elle survient au cours ou au décours d'une prise en charge d'un patient, et si elle n'était ni présente, ni en incubation au début de la prise en charge (Coulibaly *et al.*, 2020). Le sens d'une IAS contractée dans un établissement de santé, leur survenue est favorisée par de nombreux microorganismes appartenant à la flore hospitalière dont la majorité sont des staphylocoques et des bacilles à Gram négatif qui présentent parfois des résistances aux antibiotiques et l'on enregistre ainsi une forte prévalence de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), des *Enterococcus* résistant à la vancomycine (ERV), et de *Pseudomonas aeruginosa* multirésistantes (Afle *et al.*, 2018). Ainsi d'autres facteurs sont impliqués, les facteurs liés aux malades, les expositions aux dispositifs médicaux invasifs et les insuffisances dans la qualité des soins [(Durocher, 2005) ; (Espinasse *et al.*, 2010)].

2. Le dispositif médical (DM)

On entend par dispositif médical « tout instrument, appareil, équipement, matière, produit, à l'exception des produits d'origine humaine, ou autre article utilisé seul ou en association, y compris les accessoires et logiciels nécessaires au bon fonctionnement de celui-ci, destiné par le fabricant à être utilisé chez l'homme à des fins médicales et dont l'action principale voulue n'est pas obtenue par des moyens pharmacologiques ou immunologiques (Guillet, 2018).

2.1. La sonde urinaire

La sonde urinaire vésicale est un appareil tubulaire creux destiné à être introduit dans la vessie en passant par l'urètre pour évacuer l'urine (Feistl, 2016). Il consiste en un montage scellé de la sonde urinaire et du sac collecteur destiné au recueil des urines. Ce système ne doit jamais être ouvert, il permet de réduire le nombre des infections urinaires. Il est très fortement recommandé de l'utiliser quelle que soit la durée prévisible du sondage (Brousse *et al.*, 2012).

A noter la partie proximale correspond à la partie de la sonde qui est maniée par le patient. La partie distale est quant à elle la partie qui est introduite dans l'urètre (Cazau, 2017).

2.2. Description générale d'une sonde urinaire

L'extrémité proximale : est la partie qui ne pénètre pas dans l'organisme et qui est en contact direct avec le patient lors du sondage. Grâce aux godets, on peut adapter la poche un dispositif

de recueil des urines, une seringue de drainage ou un Fosset obturateur. Parfois, un dispositif d'introduction de la sonde est présent, afin d'éviter le contact avec les germes située à l'entrée de l'urètre (Villers, 2002) (Figure 01).



Figure 01 : Forme de l'extrémité proximale ou embase (Villers, 2002).

La partie distale : c'est la partie de la sonde qui va dans la vessie. Cette extrémité est de forme variable selon les indications et les fabricants (Villers, 2002). Les sondes peuvent être de longueur, de charrière et de matériaux différents. La taille de la sonde est choisie en tenant compte de l'anatomie du patient et de la prescription médicale. Si des irrigations vésicales sont prévues, la sonde est choisie à double courant. (Roriz, 2018).

2.3. Propriétés et Caractéristiques d'une sonde urinaire

Les sondes urinaires sont caractérisées par leur longueur, leur diamètre, leur nombre de voies, leurs extrémités distale et proximale, les types de matériaux utilisés, leur système de lubrification et leur stérilité. Elles peuvent présenter des spécificités (Cazau, 2017).

2.3.1. Longueur

Elle varie avec celle de l'urètre et est exprimée en centimètres (cm). On retrouve ainsi des tailles de sondes variant environ de 15 à 50 cm. Pour le sondage intermittent, certaines sondes compactes peuvent être plus courtes (Tixier et Carré, 2014).

2.3.2. Diamètre

Le calibre extérieur d'une sonde urinaire est exprimé en charrières (CH). Chaque numéro de charrière correspond à 1/3 de millimètres (mm). Par exemple, la charrière 18 correspond à 18/3, soit 6mm. Le diamètre des sondes varie entre 4 et 26 CH (Deville, 2010). Chaque taille de sonde correspond à une couleur d'embout (Figure 02).

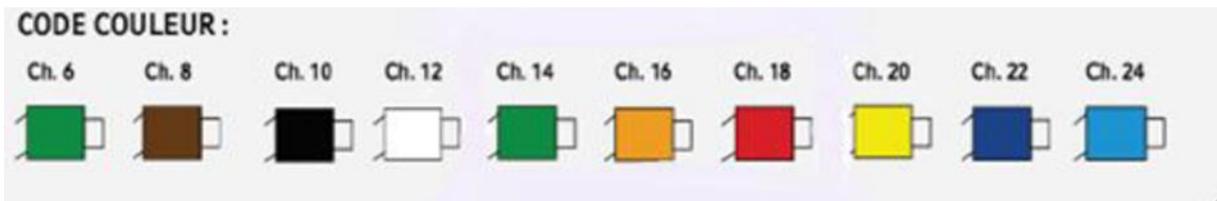


Figure 02 : Les différentes charrières et leurs couleurs (Feistel, 2016).

2.3.3. Le Corps

Le corps de la sonde correspond au conduit de drainage de l'urine. Il possède ou non l'œil pour l'élimination d'urine et dispose ou non d'un ballonnet (CCLIN, 2012) (Figure 03).

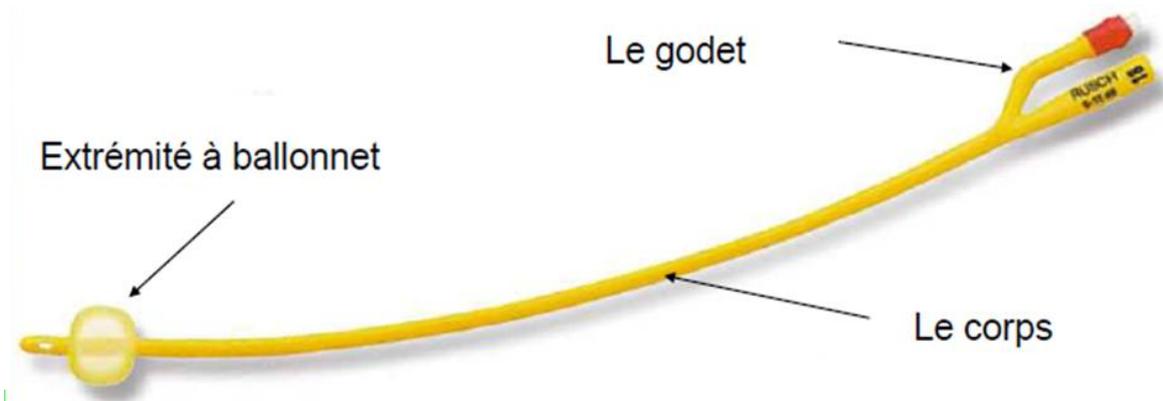


Figure 03 : Forme d'une sonde urinaire [(Frédérique et Michel, 2010) ; (CCLIN, 2012)].

2.3.4. Nombre de voies

Il existe deux types de sondes urinaires vésicales selon le nombre de voies :

- la sonde à une seule voie a comme seule possibilité l'élimination des urines. Elle est utilisée pour les sondages intermittents (Tixier et Carré, 2014) (Figure 04).
- la sonde à deux voies permet par la première voie une élimination de l'urine dans un sac collecteur et par la deuxième voie de gonfler un ballonnet permettant de maintenir la sonde en place. Ce type de sonde est utilisé pour les sondages permanents (Tixier et Carré, 2014) (Figure 05).
- Il existe également des sondes de Foley à double courant, également appelée sonde à trois voies, permettant d'effectuer une irrigation vésicale continue (Tixier et Carré, 2014).

2.3.5. Matériaux

Divers matériaux plastiques sont utilisés pour la fabrication des sondes urinaires vésicales (tableau 01). Ils sont de deux origines possibles :

- semi-synthétique : le caoutchouc (peu utilisé), le latex (très utilisé), le latex enduction téflon, le latex enduction silicone, le latex enduction polyuréthane hydrophile (ou hydrogel).
- synthétique : polychlorure de vinyl (PVC), les résines fluorocarbonées (téflon), polyuréthane (PUR), silicone (Tixier et Carré, 2014).

Tableau 01 : Différents matières utilisées et leur complications (Feistl, 2016).

Matériaux	Durée de sondage	Avantages	inconvenients
Latex		Peu couteuse flexibilité élasticité	Allergisant porosité → irritation muqueuse et obstruction lumière interne
Latex enduite	3 à 4 jours	Cout acceptable Flexibilité De risque d'irritation et d'obstruction	Allergisant Lumière interne
PVC	Sondage intermittent	Drainage efficace Résistance l'écrasement	Allergie rigidité
Silicone	3 à 4 semaines	Tolérance Lumière interne Résistance à la chaleur vieillessement	Flexibilité moindre Cout élevé

3. Les infections nosocomiales associées à la présence d'une sonde urinaire

L'arbre urinaire est normalement stérile, à l'exception des derniers centimètres de l'urètre distal qui sont colonisés par une flore diverse d'origine digestive (entérobactéries, streptocoques, anaérobies), cutanée (staphylocoques à coagulase négative, corynébactéries) et ou génitale (lactobacilles chez la femme) [(Auger, 2012) ; (Ketz, 2016) (Raghu, 2016)].

Les femmes sont en général plus concernées par les infections urinaires que les hommes ; 40 à 50% des femmes ont au moins une infection urinaire au cours de leur existence. Ceci s'explique notamment par la faible longueur de l'urètre et de la faible distance urètre-anus (Teissere, 2011). Si cet obstacle se trouve franchit, les caractéristiques physicochimiques de l'urine normale (osmolarité, pH, teneur en acides organiques) rendent difficile la croissance de la plupart des germes colonisant l'urètre (Caron, 2003).

On parle d'infections urinaires communautaires quand elles sont acquises hors établissement de soins et non liées aux soins (Raghu, 2016).

Les infections liées aux sondes urinaires sont les infections nosocomiales les plus fréquentes avec un impact majeur sur la morbidité et les coûts de la santé (Miranda *et al.*, 2017).

4. Etiologie des infections dues à la présence d'une sonde urinaire

Les germes impliqués dans les infections à la présence d'une sondes urinaires sont dans la majorité des cas des bactéries Gram négatif à savoir des entérobactéries (Espinasse *et al.*, 2010) avec en tête *E.coli* (80%) (Ronald, 2002), *Klebsiella* (entre 2,6% et 3,2%) et *Proteus mirabilis* (7,8%). Plus rarement, d'autres bacilles à Gram négatif peuvent être impliqués (*Pseudomonas* et *Enterobacter* notamment). Les germes de type cocci à Gram positif (streptocoque du groupe B et entérocoque : 4,3%) sont surtout présents chez le nouveau-né et le nourrisson, alors que *Staphylococcus saprophyticus* est identifié majoritairement chez l'adolescente [(Mcgillivray *et al.*, 2005) ; (Etooubleau *et al.*, 2009) ; (Habib, 2012)].

5. Les facteurs de risques liés à la présence d'une sonde urinaire

5.1. Facteurs intrinsèques

sont essentiellement liés aux caractéristiques des patients pris en charge dans le service [(Hounane, 2011) ; (Bruyère et Lafaurie, 2013) ; (Falcou *et al.*, 2018) ; (Mrich, 2018)]. On peut distinguer :

- L'âge : les patients hospitalisés de plus de 60 ans semblent plus exposés au risque d'infection urinaire nosocomiale (IUN).
- Le sexe : les femmes sont plus exposées au risque d'IUN.
- L'existence d'une pathologie neurologique : une vessie avec atteinte neurologique (blessés médullaires BM, sclérose en plaque SEP, accident vasculaire cérébral AVC, ..)
- D'une insuffisance rénale.
- La présence des maladies sous-jacente (Diabète, immunodépression, obésité, ...ect).

5.2. Facteurs extrinsèques

Le sondage urinaire : est un geste invasif qui consiste à l'introduction aseptique d'une sonde stérile par le méat urinaire, suivant l'urètre de façon atraumatique, afin de permettre la vidange vésicale (**Roriz, 2018**). C'est un acte courant en anesthésie-réanimation et en secteur de soins intensifs où la diurèse constitue l'un des éléments du monitoring. Il représente sans doute le premier facteur de risque de l'infection urinaire nosocomiale (IUN) (**Sanou et al., 2012**). plusieurs facteurs de risque y sont liés, on peut citer : la durée de séjour d'hospitalisation (**Lukuke et al., 2017**), non-respect des mesures préventives lors de la pose (**Bruyère et Lafaurie, 2013**).

Outre ces facteurs, les sondes urinaires augmentent le risque d'IUN par altération des moyens de défense vésicale, perturbation du transit urinaire et production d'un biofilm (**Mrich, 2018**).

6. Mécanismes d'acquisition en présence de sonde

La mise en place d'une sonde urinaire perturbe les défenses de l'hôte contre les micro-organismes et rend l'infection ainsi possible. L'espace entre la face externe de la sonde et la muqueuse urétrale est un lieu d'interactions, constituant une porte d'entrée pour les micro-organismes [(**Léone, 2000**) ; (**Zehiri, 2019**)].

Quatre modes d'acquisition des IUN sur sonde ont été décrits, pouvant s'associer chez un même patient, avec deux modes nettement prééminents : la voie endoluminale et la voie extraluminaire périurétrale (**Vilde et al., 2002**).

6.1. Acquisition lors de la mise en place de la sonde

Même lorsque les mesures d'asepsie sont strictement respectées, les bactéries colonisant le périnée et l'urètre sur ses derniers centimètres peuvent être introduites directement dans la

vessie lors du sondage, entraînées par la surface externe de la sonde. De ce fait, on peut qualifier cette voie « d'extraluminale précoce » (**Caron, 2003**)

6.2. Acquisition par voie endoluminale

Il s'agit des IU ou colonisations survenant à cause des bactéries qui gagnent la vessie via la paroi interne de la sonde vésicale. Ces bactéries proviennent du sac collecteur, dont la contamination peut se produire lors des déconnexions de la sonde et du tuyau du sac collecteur ou de la vidange des urines du sac (**Kriouile, 2016**). Il est plus fréquent avec les sondes de Foley qu'avec les « systèmes clos » (c'est à dire possédant un sac collecteur). La contamination est le plus souvent manu-portée. Le non-respect de la déclivité du système de drainage et le défaut dans les mesures d'asepsie lors des manipulations du sac collecteur d'urines sont des erreurs fréquentes ; ces erreurs peuvent être responsables de véritables micro-épidémies (**Gauthier, 2014**).

6.3. Acquisition par voie extraluminale péri-urétrale

Les bactéries d'origine digestive issues de la flore fécale colonisent le méat urinaire puis migrent au niveau de l'urètre et de la vessie par le biais du biofilm se formant à la surface externe de la sonde urinaire. Ce mode d'acquisition est responsable de 70 % de bactériurie chez la femme et 30 % chez l'homme (**Gauthier, 2014**).

6.4 Acquisition par voie lymphatique ou hématogène

C'est la voie descendante qui reste rare, l'hypothèse d'infections d'origine hématogène ou lymphatique à partir d'une source endogène à distance a été formulée après la constatation au cours des études prospectives de suivi quotidien de la flore, que certaines bactériuries sur sonde surviennent en l'absence de toute colonisation préalable de l'urètre et du sac collecteur, malgré un parfait respect du système clos, et après de nombreux jours de sondage innocentant la procédure mis en place (**Hounane, 2011**) (Figure 07).

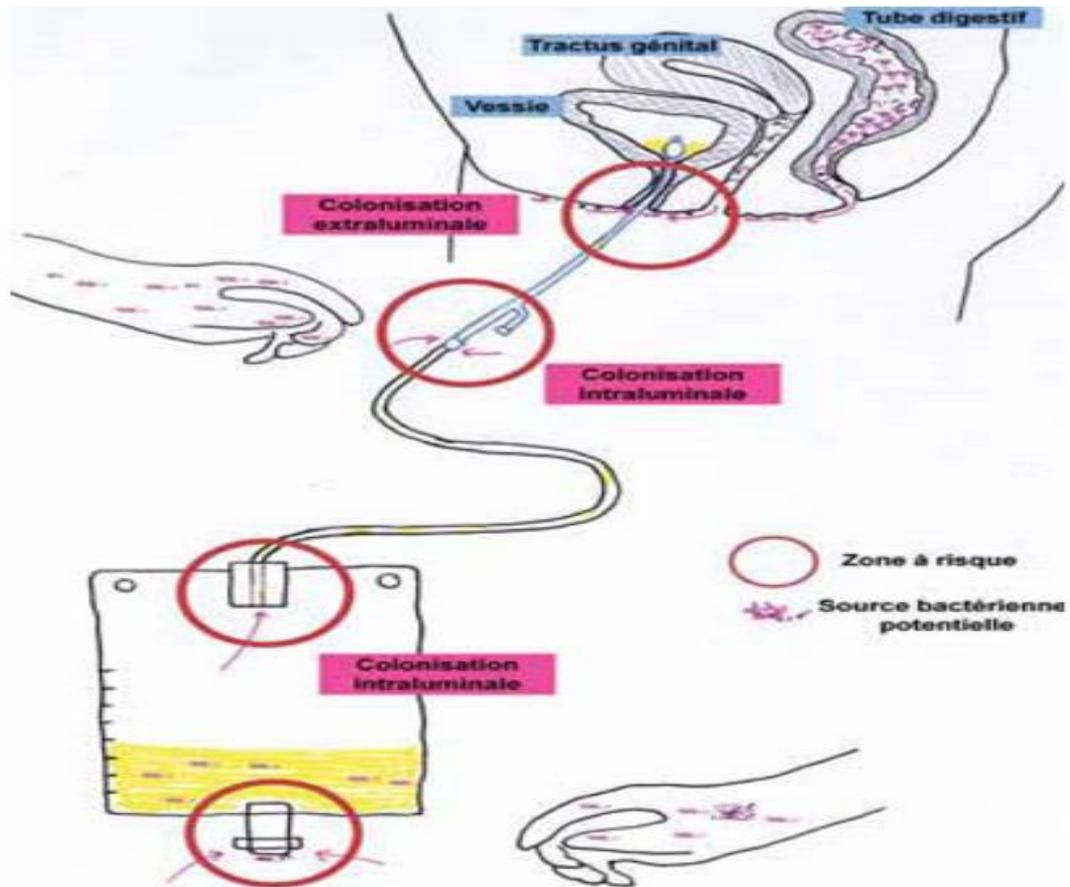


Figure 04 : Sondage vésical : principales voies d'acquisition des microorganismes (Espinasse, 2010).

Chapitre II : Généralités sur le Biofilm

1. Historique et découverte des Biofilms

Les biofilms n'ont rien de nouveau. La première description remonte au 17^{ème} siècle, quand Anton Von Leeuwenhoek - l'inventeur du microscope, a vu des agrégats microbiens sur des raclures de plaque de ses dents (**Chandki *et al.*, 2011**). Ce n'est qu'en 1933, au cours d'une expérience qui vise à observer la croissance des algues sur des lames de verre plaçant dans un aquarium, Arthur Henrici observa un dépôt de microorganismes qui s'épaissit progressivement sur ces lames, il démontra alors que la plupart des bactéries en milieu aqueux sont vivantes sous forme de communautés sessiles fixées à une surface et n'ont pas sous la forme planctonique (**Henrici, 1933**).

En 1935, ZoBell et Allen ont étudié l'adhérence et la croissance des bactéries sur des lames de verre immergées dans l'eau de mer (**Høiby, 2017**). Huit ans plus tard, Zobell a observé que le nombre de bactéries sur les surfaces était considérablement plus élevé que dans le milieu environnant (l'eau de mer) (**ZoBell et Claude, 1943**). Ensuite, en 1969, Jones mit en évidence la présence d'une matrice saccharidique en colorant au rouge de ruthénium et au tétroxyde d'osmium des filtres de stations d'épuration (**Brian-Jaisson, 2014**).

Dès 1973, Characklis a étudié les boues microbiennes dans les systèmes d'eau industriels et a montré qu'elles étaient non seulement très tenaces mais également très résistantes aux désinfectants tels que le chlore (**Donlan, 2002**), dont la matrice d'exopolymères est responsable à cette résistance (**Brian-Jaisson, 2014**).

En 1978, Costerton et al, a présenté une théorie des «biofilms» pour définir le mode de vie sessile des microorganismes adhérant à une surface vivante et non vivante, par opposition à la vie libre, planctonique en milieu liquide (**Favre, 2017**). Puis, il a introduit vers 1985 la croissance du «biofilm» en microbiologie médicale et a démontré l'augmentation de la résistance antimicrobienne de la croissance du biofilm par rapport aux bactéries à croissance planctonique (**Costerton *et al.*, 1985**).

Depuis ce temps, les études des biofilms dans des différents domaines : industriels, écologiques et médical se sont essentiellement mises en parallèle.

2. Qu'est-ce qu'un biofilm et pourquoi s'y intéresser ?

Étymologiquement, le terme biofilm, vient du grec «bios» (vie) et de l'anglais «film» (pellicule) (Simain *et al.*, 2010). Une définition communément admise pour les biofilms est celle établie en 2002 par Donlan et Costerton : « Un biofilm est une communauté microbienne sessile caractérisée par des cellules adhérentes de manière irréversible à un substrat, une interface ou entre elles, enrobées d'une matrice de substances polymériques extracellulaires (EPS pour « extracellular polymeric substances ») auto secrétées et qui présentent un phénotype particulier en terme de taux de croissance et de transcription de gènes. » (Bezoui, 2016). Il s'agit de principale mode de vie des micro-organismes, par opposition à l'état planctonique, libre et isolé dans l'environnement (Espinasse *et al.*, 2010). Il se conçoit comme une entité dynamique constituée pour implanter, structurer et réguler la survie de communautés bactériennes dans un environnement hostile (Kchich, 2018).

Les biofilms peuvent être constitués d'une ou plusieurs espèces de bactéries et se développer sur des interfaces solides ou liquides variées, que l'on rencontre par exemple dans l'environnement : fond de rivières, cailloux, racines...et dans les organismes vivants : tube digestifs, plaies ... (Medeiros, 2016). Donc, les recherches sur les bactéries devraient s'intéresser à ce type de structure plutôt que les formes planctoniques (Karunakaran *et al.*, 2011) (Figure 08).

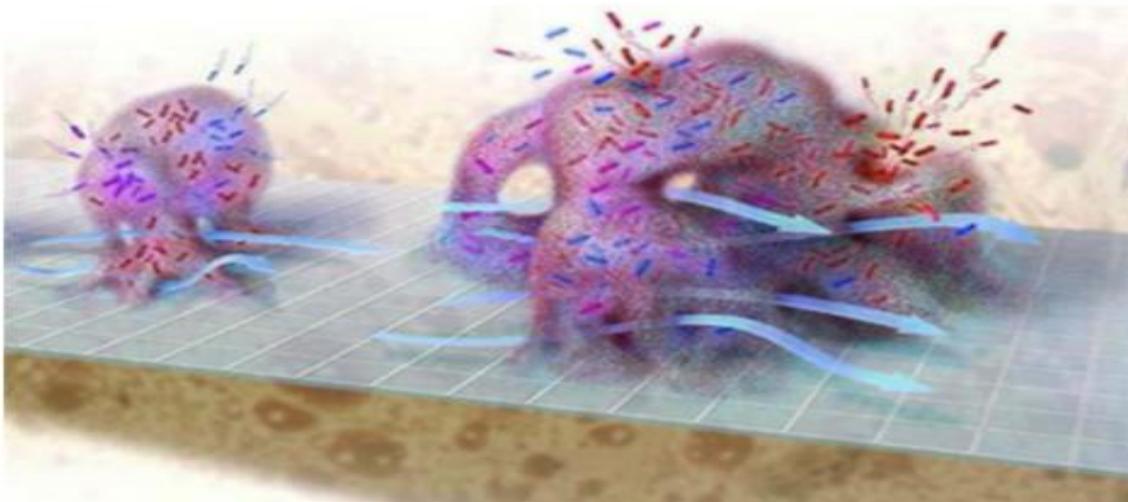


Figure 05 : Représentation schématique de la structure tridimensionnelle d'un biofilm bactérien (Lagrafeuille, 2016). Les flèches bleues indiquent le sens de la circulation du fluide à l'intérieur des canaux hydriques.

3. Structure des Biofilms (Composition et organisation)

L'utilisation de Microscope Confocal à balayage Laser (CSLM) permet de révéler que le biofilm est composé principalement de micro-colonies de différentes espèces de cellules microbiennes (plus de 15%) et de la matrice extracellulaire (plus de 85%) (Zubair, 2014) (Figure 09).

Tout d'abord, Les micro-colonies forment la structure de base d'un biofilm, elles sont incorporées dans la matrice EPS et dans la plupart des cas ont une forme de tige ou de champignon et elles peuvent consister en un ou plusieurs types de bactéries (Marić et Vraneš, 2007). Elles sont séparés par des espaces libres, moins denses, dépourvus de bactéries et parcourus par des courants aqueux appelés « canaux », ceux-ci y assurent la circulation de fluides et permettent à la fois l'apport de nutriments et d'oxygène qui sont nécessaire pour la croissance des microorganismes, ainsi l'élimination des déchets, ce qui crée des microenvironnements très hétérogènes et structurés qui présente souvent une architecture complexe, très variable d'un biofilm à l'autre selon les microorganismes qui le composent et les conditions environnementales (Roux et Ghigo, 2006).

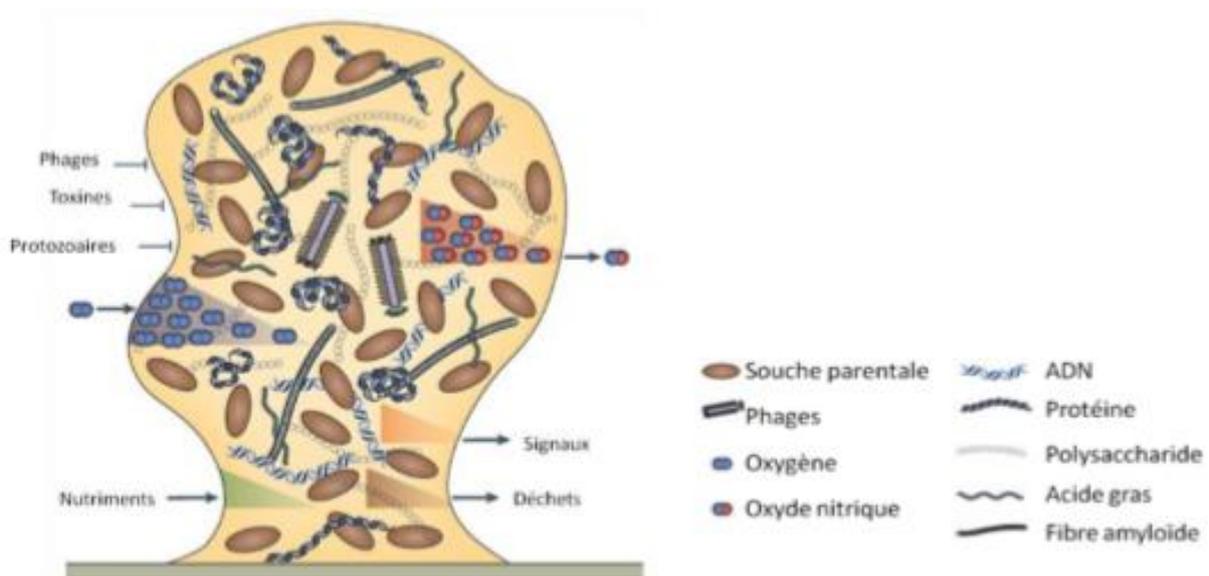


Figure 06 : Structure et composition des biofilms bactériens (McDougald *et al.*, 2012).

Ensuite, l'EPS est la caractéristique commune de tous les biofilms microbiens (Vidakovic, 2018), elle peut être considérée comme "la maison" des cellules du biofilm au sein de laquelle elles organisent leur vie (Flemming, 2011). Souvent, leur composition et leur quantité varient en fonction du type de micro-organismes, de l'âge des biofilms et des différentes conditions environnementales dans lesquelles les biofilms existent (Vu *et al.*, 2009). Elle est hautement

hydratée et peut contenir en majeure partie d'eau (97%) mais aussi de polysaccharides (1 à 2%), de protéines (2%), d'acides nucléiques (ADN : 1%, ARN : 1%), de lipides, de glycolipides et des ions (liés et libres), dont un des exopolysaccharides le plus souvent retrouvés est un polymère de β -1,6-N-acétyl-D-glucosamine (polyglucosamine, PGA ou PNGA) [(Tremblay, 2014) ; (Jamal *et al.*, 2018)]. Elle exerce différents rôles : sert de source de carbone et d'énergie pour le biofilm et peut adsorber et dégrader les composés organiques du milieu environnant (Xiao et Zhao, 2017), elle intervient dans le développement des biofilms en assurant l'adhésion aux surfaces et formant un réseau tridimensionnel de polymères qui fournit une stabilité mécanique aux biofilms et module leur structure, elle immobilise les cellules du biofilm et les maintient à proximité, permettant ainsi des interactions intenses, y compris la communication cellule-cellule, elle joue également un rôle essentiel dans la protection des bactéries contre les stress environnementaux y compris la dessiccation, les biocides oxydants ou chargés, certains antibiotiques et les cations métalliques, le rayonnement ultraviolet [(Flemming et Wingender, 2010) ; (Hall et Mah, 2017)].

4. Le cycle de vie d'un biofilm et sa régulation

4.1. Les étapes de la formation d'un biofilm

La formation des biofilms est souvent indésirable. Ils se forment d'une manière difficilement contrôlable dans les environnements industriels et hospitaliers mais aussi dans les systèmes de distribution d'eau potable (Jamal, 2015). Elle implique des mécanismes physiques, chimiques et biologiques (Pierre, 2010) et se déroule en différentes étapes qui permettent de différencier les cellules planctoniques libres et isolées à des cellules sessiles fixées à une surface. Ces étapes sont résumées dans la figure 07.

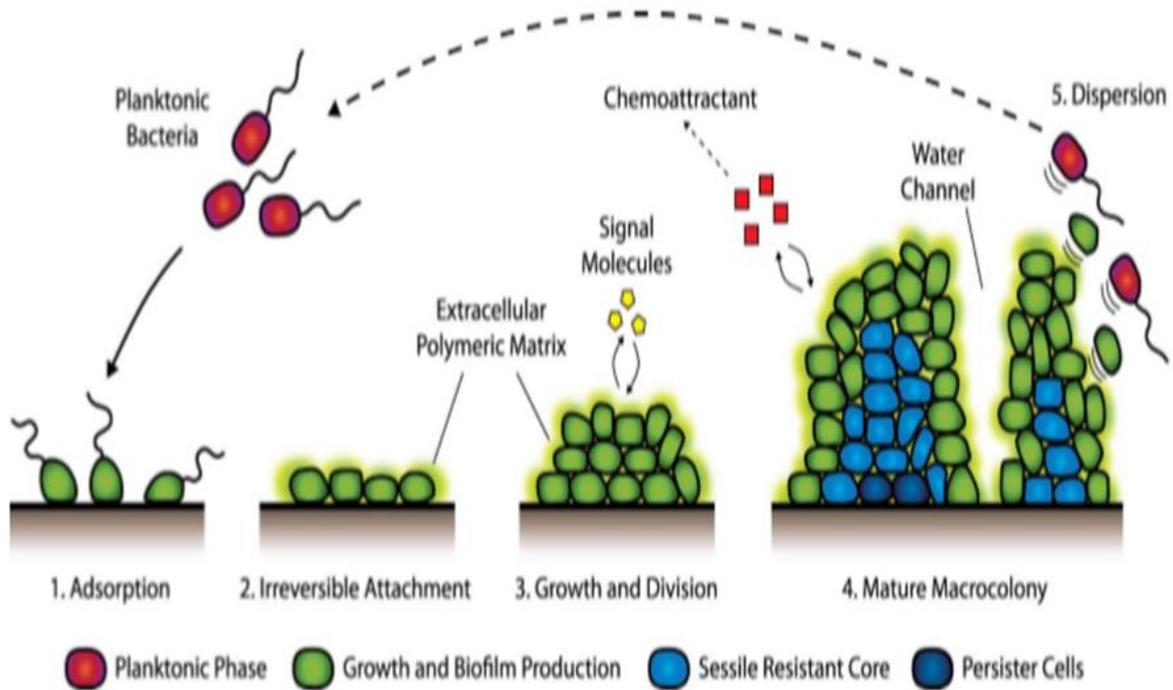


Figure 07 : Etapes de formation d'un biofilm (Gilmore, 2011).

4.1.1. L'adhésion des cellules bactériennes à la surface

4.1.1.1. Mise en place d'un film conditionnant

L'adhésion des cellules bactériennes à la surface est précédée par la formation d'un film primaire qui est le film conditionnant. Ce dernier se forme très rapidement à la surface de matériaux, il renferme des polymères du milieu et des polymères sécrétés par les bactéries elles-mêmes (Donlan, 2002). Ce film conditionnant neutralise la charge de surface qui peut faciliter l'adhésion des bactéries (Kordmahaleh et Shalke, 2013).

4.1.1.2. L'adhésion réversible

Tout d'abord les bactéries s'approchent de la surface solide par des interactions physico-chimiques, ou par le mouvement brownien qui provoque la désorption spontanée de particules adsorbées à une surface si les forces d'adhésion sont faibles [(Van Oss, 1997) ; (Hoiby et al., 2011)]. Cette approche conduit à un attachement transitoire pendant lequel la bactérie va chercher à évaluer la surface sur laquelle elle se trouve. Les cellules bactériennes vont alors interagissent avec le film conditionnant (Filloux et Vallet, 2003). Cette adhésion réversible fait intervenir des interactions faibles non spécifiques de type électrostatiques et les forces de van der Waals, liaison hydrogènes, entre les bactéries et le support, dans ce cas les cellules qui

s'adsorbent sur la surface peuvent se détacher facilement [(Stoodley *et al.*, 2002) ; (Haras, 2005) ; (Chalvet de Rochmonteix, 2009) ; (Pécastaings, 2010)].

4.1.1.3.L'adhésion irréversible

Cette phase correspond à l'ancrage définitif des cellules bactériennes sur la surface (Squinazi, 2013) par la mise en place des liaisons covalentes (les liaisons hydrophobes, interactions acide/base (au sens de Lewis),...ect) (Doghri, 2015), et la production des exopolysaccharides qui se complexent avec les matériaux de surface pour consolider l'adhésion (Dunne, 2002). Ainsi, des structures d'adhésion variables selon les espèces bactériennes sont impliquées, il s'agit des pili, des fimbriae, des curli pour les bactéries à Gram négatives et les acides teichoïques, l'acide mycolique, la capsule, le glycocalix pour les bactéries à Gram positives. [(Van Houdt et Michiels, 2005) ; (Beloin *et al.*, 2008)]. On parle alors de la phase d'adhésion (figure 11).

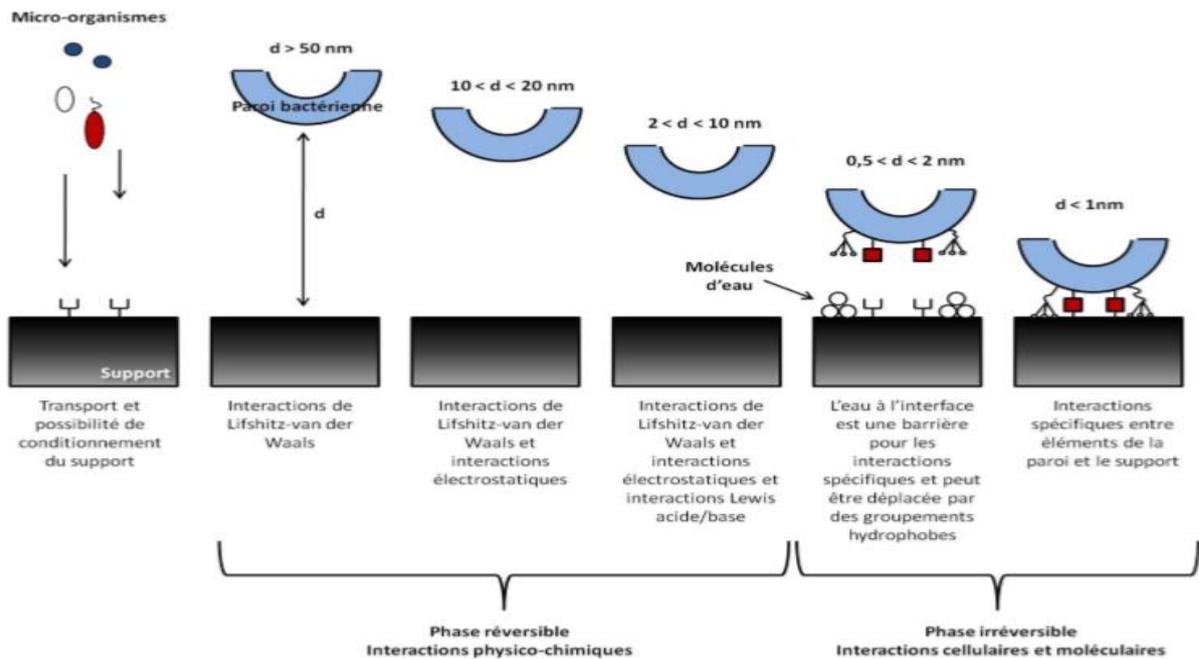


Figure 08 : Schéma descriptif des interactions impliquées dans l'étape d'adhésion initiale (Réversible, Irréversible) (Pierre, 2010).

4.1.2. Formation des micro-colonies

Suite à l'adhésion irréversible, les bactéries commencent de se multiplier et continuent de produire des EPS. Elles s'agrègent entre elles et forment des micro-colonies qui sont protégées par EPS et qui vont recouvrir toute ou une partie de la surface selon les propriétés de surface

des bactéries et des matériaux [(Jacobsen *et al.*, 2008) ; (Bellifa, 2014)]. Ces micro-colonies sont les unités élémentaires d'un biofilm.

4.1.3. Maturation de biofilm

Avec la multiplication bactérienne et la production des EPS, le biofilm augmente son épaisseur jusqu'à former un film hétérogène tridimensionnel (Clutterbuck *et al.*, 2007). Il en résulte l'élaboration d'une architecture complexe du biofilm qui se met en place avec la formation des canaux aqueux et des pores entre les micro-colonies (Auger, 2012). Ces canaux ne contiennent pas une matrice dense d'EPS et permettent la pénétration de facteurs nutritionnels et d'oxygène nécessaire aux bactéries, ainsi le rejet des débris [(Tolker-Nielsen et Molin, 2000) ; (Sauer *et al.*, 2002)].

4.1.4. Dispersion des bactéries

C'est l'étape finale de la croissance de biofilm. Elle est caractérisée par l'augmentation de l'expression des flagelles (comme chez *Pseudomonas aeruginosa*) pour le détachement. Les colonies peuvent aussi se disperser en altérant des liaisons de la matrice extracellulaire environnante. Par exemple, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, une bactérie à l'origine de maladies parodontales, synthétise une enzyme, la Dispersine B, qui hydrolyse les exopolymères du biofilm pour libérer les bactéries (Doghri, 2015). Lorsque l'espace et les nutriments deviennent limités, les bactéries se détachent du biofilm et se dispersent dans le milieu environnant pour repasser dans un mode de vie planctonique afin de trouver des ressources favorables à leur développement en colonisant de nouvelles surfaces et de reformer un biofilm [(O'Toole *et al.*, 2000) ; (Sauer *et al.*, 2004) ; (Kaplan, 2010)]. Elle implique de multiples signaux environnementaux, ainsi la communication entre les bactéries, notamment par le phénomène mieux connu sous le nom de Quorum Sensing (Karatan et Watnick, 2009).

4.2. Les facteurs favorisant la formation d'un biofilm

L'attachement des micro-organismes à une surface est un processus complexe, sous l'influence de nombreux facteurs : caractéristiques du substrat sur lequel les bactéries vont se fixer, forces s'exerçant dans le milieu aqueux (hydrodynamique du fluide), caractéristiques du milieu et propriétés de la surface des cellules (Chalvet de Rochmonteix, 2009).

4.2.1. Caractéristiques de la surface :

Plus une surface est rugueuse, plus la colonisation de cette surface par des micro-colonies est importante, car les forces répulsives sont moindres et la surface de fixation est augmentée, grâce à la présence d'aspérités (**Donlan, 2002**). De plus, les caractères hydrophile/hydrophobe sont considérées comme majeurs, étant les plus influentes dans la phase d'adhésion bactérienne initiale, dont les matériaux les plus hydrophobes (Par exemples, Silicone) favoriseraient l'adhésion bactérienne de façon statistiquement significative comparativement à d'autres biomatériaux tels que l'hydrogel ou l'acrylique hydrophile, polymères les plus hydrophiles (**Baillif, 2010**). D'autre part, la présence d'un film protéique qui modifie les propriétés physicochimiques de surface (tension de surface, polarité, mouillabilité), ce qui favorise la formation de biofilm (**M'Hamedi, 2015**).

4.2.2. Caractéristiques de milieu :

De nombreux facteurs environnementaux affectent l'adhésion bactérienne et initient la formation de biofilm :

Température : Elle affecte l'activité métabolique et enzymatique des bactéries, et influence certains paramètres physico-chimiques (pH, activité ionique, agitation thermique et solubilité des gaz), ainsi que les propriétés de surface des microorganismes (**Boutaleb, 2007**).

PH : Il modifie la charge de surface des microorganismes ainsi que celle des supports solides suite au déplacement des équilibres d'ionisation (protonation/déprotonation) des groupements fonctionnels exposés selon leur pKa ce qui peut avoir comme conséquence une réduction ou une augmentation des interactions électrostatiques répulsives défavorables à l'adhésion (**Bellifa, 2014**).

Concentration en oxygène, concentration en fer, osmolarité, présence d'ions spécifiques, sources de carbone disponibles, concentrations en nutriments [(**Martinez et Casadevall, 2007**) ; (**Spormann, 2008**)], la disponibilité de nutriments (excès ou carence), présence de calcium, magnésium, phosphate (**Marchal, 2010**).

4.2.3. Propriétés des cellules :

Généralement, les bactéries sont chargées négativement et exercent dans leur paroi extracellulaire de nombreuses protéines possédant des régions hydrophobes. Alors, l'hydrophobicité de surface cellulaire joue un rôle important dans l'adhésion cellulaire. Elle

varie en fonction des espèces bactériennes, du stade de croissance et des conditions de culture. Différents composés des parois cellulaires sont impliqués dans cette hydrophobicité bactérienne. Il s'agit des fimbriae, des pili qui portent une forte proportion en acides aminés hydrophobes, dont les pili de type IV sont des fimbriae particuliers retrouvés chez les bactéries Gram négatives et positives et sont impliquées dans l'attachement des bactéries aux surfaces. Ainsi, les flagelles peuvent servir de structures adhésives. De plus, les polysaccharides de la capsules peuvent aussi jouer un rôle dans l'adhésion de la cellule soit en accroissant ses capacités adhésives s'ils sont hydrophobes, soit en les diminuant s'ils sont hydrophiles. Les protéines de la membrane externe, protéines membranaires ou lipoprotéines, des bactéries Gram négatives représentent environ 50% en masse de la membrane externe. Leur synthèse et leur nature affectent directement les propriétés de la surface cellulaire. Chez les bactéries à Gram positif, l'acide lipotéichoïque (LTA) est également impliqué dans les interactions hydrophobes [(Otto et Hermansson, 2004) ; (Goulter *et al.*, 2009) ; Pecastaings, 2010) ; (Marchal, 2010)].

4.3. Régulation d'un biofilm : Quorum sensing

4.3.1. Définition et mécanisme

Le terme de Quorum sensing (QS) utilisé pour décrire la signalisation intercellulaire des bactéries (Parsek et Greenberg, 2005). Il a été initialement décrit par Nealson et ses collaborateurs en 1970 chez une bactérie marine luminescente *Vibrio fischeri* (Nealson *et al.*, 1970), où elle fonctionne comme mécanisme de contrôle de la production de lumière et de nombreux autres traits (Antunes *et al.*, 2010).

L'implication du QS dans la formation du biofilm a été mise en évidence pour la première fois chez *P. aeruginosa* par Davies *et al.* (1998) (Pecastaings, 2010). Il correspond un mode de communication intra et inter espèces bactériennes qui repose sur la production de petites molécules médiatrices appelées 'autoinducteurs' (AI), produites au cours de la croissance bactérienne. Lorsque la concentration de ces petites molécules atteint un seuil critique dans le milieu, ceux-ci pénètrent dans la cellule et interagissent avec un régulateur transcriptionnel qui permet l'expression de gènes spécifiques en réponse à la forte concentration de cet autoinducteur. Ce système implique trois composants majeurs : L'AI, synthase et un récepteur (Ayé, 2015).

Les autoinducteurs sont de nature peptidique chez les bactéries à Gram positives et de nature acide gras (pour AHL : Acyl-Homosérine Lactone) chez les bactéries à Gram négatives (Marić *et Vraneš*, 2007).

4.3.2. Le QS chez les bactéries à Gram négatives

Les bactéries à Gram négatif utilisent les AHL comme molécules de signal pour un système QS qui implique deux protéines clés : LuxI et LuxR. Les AHL sont synthétisés par les enzymes AHL synthase de type LuxI et traversent les membranes bactériennes en grande partie par diffusion, et sont détectés et liés par des protéines régulatrices de type LuxR. Le complexe AHL – LuxR se lie ensuite à un promoteur d'ADN et active la transcription de plusieurs gènes QS dans l'opéron lux. L'expression de gènes de type lux entraîne un large éventail d'activités dans différentes bactéries, telles que la production de lumière, la virulence, la sécrétion d'EPS, la motilité et le transfert de plasmide (Decho *et al.*, 2010) (figure 12).

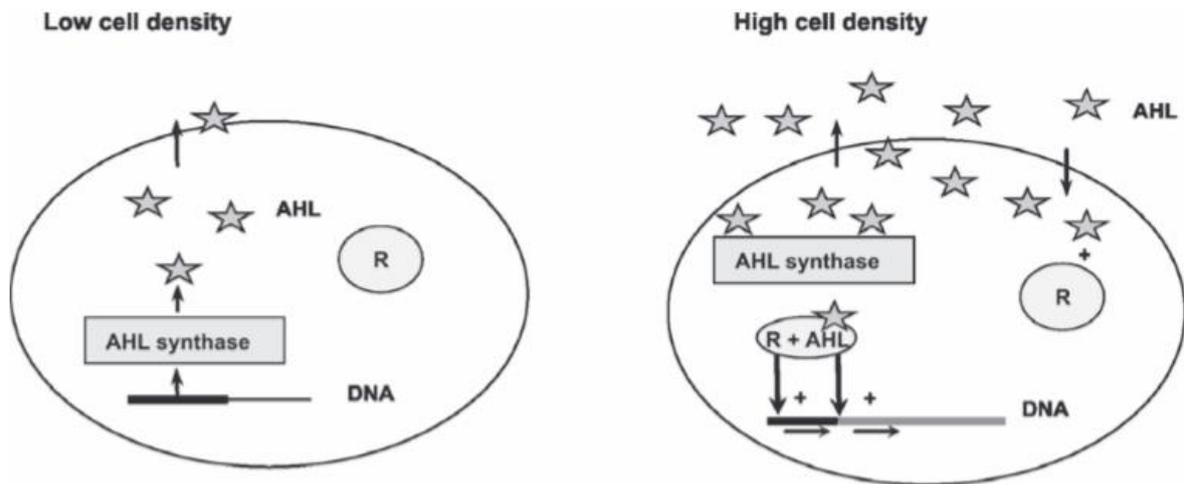


Figure 09 : mécanisme de QS exploité par les bactéries à Gram négatif (Czajkowski et Jafra, 2009).

4.3.3. Le QS chez les bactéries à Gram positives

Les peptides auto-inducteurs (AIP) sont synthétisés ribosomiquement et présentent une variété de structures linéaires et cycliques. L'événement clé impliqué dans la signalisation basée sur les peptides est le traitement des signaux pro-peptidiques dans le cytoplasme. Ils peuvent incorporer des acides aminés inhabituels et modifiés qui ajoutent à leur stabilité et fonctionnalité. Les signaux peptidiques modifiés et entièrement traités sont ensuite exportés de la cellule via des transporteurs membranaires qui transmettent ensuite le signal à un régulateur de liaison à l'ADN. Habituellement, les peptides sont sécrétés par des transporteurs associés à la membrane, par exemple des transporteurs de cassettes se liant à l'ATP. Un système de transduction de signal régulateur à deux composants composé d'une kinase sensorielle située

sur la membrane et d'un régulateur de réponse intracellulaire aide à la transduction et à l'auto-induction du signal. Les peptides interagissent avec les kinases sensorielles associées à la membrane qui traduisent un signal à travers la membrane cellulaire. Dans quelques cas, le transport des AIP dans la cellule est assisté par des perméases oligopeptidiques, suivies d'une interaction avec les récepteurs intracellulaires. La liaison du peptide à un récepteur peut déclencher une série d'événements de phosphorylation qui sont conclus par la phosphorylation de la protéine régulatrice de la réponse apparentée. La phosphorylation active les régulateurs de réponse qui se lient ensuite à l'ADN cible et régulent la transcription du ou des gènes contrôlés par QS (Mangwani *et al.*, 2012).

5. La tolérance aux antibiotiques

De nombreux problèmes associés au développement des biofilms en milieu médical, ont pour origine leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens (antibiotiques et désinfectants) (M'Hamedi, 2015). Cette caractéristique, appelée tolérance (Lebeaux *et al.*, 2014) elle est multifactorielle et dépendante du type de bactérie, de l'antibiotique et des conditions de vie dans Le biofilm (hétérogénéité, accès aux nutriments, oxygène etc.) (Roux et Ghigo, 2006).

Plusieurs hypothèses ont été décrites afin d'expliquer la tolérance des biofilms aux antibiotiques : (figure 13)

- La matrice d'exopolysaccharides pourrait constituer une barrière physique qui expliquerait la pénétration lente et incomplète de certains antibiotiques (Kara Terki, 2014).
- Conditions défavorables à l'action de certains antibiotiques, telles que, L'accès limité aux nutriments, la faible concentration en oxygène et le pH élevé des couches profondes du biofilm induisent un ralentissement de la croissance bactérienne qui pourrait diminuer l'activité des agents antibactériens (Lebeaux et Chiogo, 2012).
- Différents mécanismes génétiques spécifiques sont impliqués. Par exemples, l'accumulation de glucanes qui inhibe la diffusion des antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa* et l'expression de pompes d'efflux d'antibiotiques (Lebeaux et Chiogo, 2012).
- la présence d'une sous-population de bactéries en état de dormance, appelées bactéries persistantes, insensibles à l'action des antibiotiques, explique une grande partie de la

tolérance des biofilms aux antibiotiques (Lebeaux *et al.*, 2014). Elles représentent moins de 1 % de la population originale (Lewis, 2007).

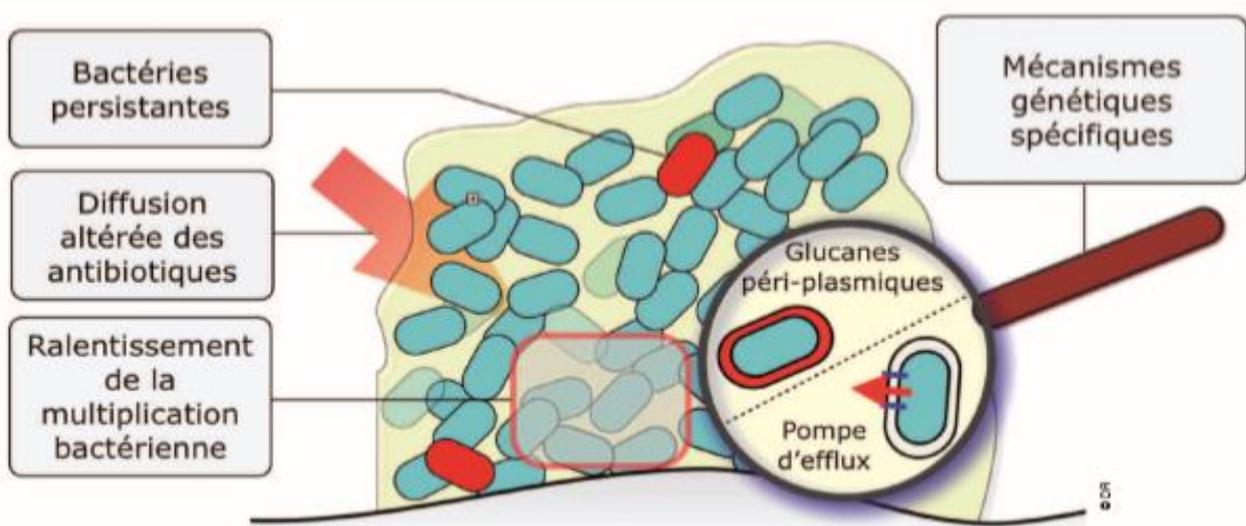


Figure 10 : Hypothèses pour expliquer le phénomène de tolérance du biofilm vis-à-vis des biocides (antibiotiques et antiseptiques) [(Lebeaux *et al.*, 2016) ; (Lebeaux et Ghigo, 2013)].

6. Les principales bactéries formatrices de biofilm sur les sondes urinaires

6.1. *Klebsella pneumoniae*

Klebsella pneumoniae est un agent classique et majeur d'infection nosocomiale en général et néonatale particulièrement. Elle fait partie du groupe KES (*Klebsella*, *Enterobacter*, *Serratia*) qui est d'une grande importance en clinique hospitalière (Daffe, 2018). Elle est l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections urinaires (IU), qui peuvent être due à sa capacité importante à former des biofilms en particulier sur les dispositifs médicaux (Cathéters urinaires) grâce à des fimbriae de type 1 et 3, sont des facteurs de virulence importants qui contribuent à la formation de biofilm chez *K. pneumoniae*. Les fimbriae de type 3 initient la formation de biofilm et sont principalement composées de sous-unités de la protéine MrkA. Un autre composant, MrkD, qui est situé à l'extrémité des fimbriae, confère des propriétés adhésives à l'appendice et détermine la capacité de liaison fimbriale (Chung, 2016) (figure 14).

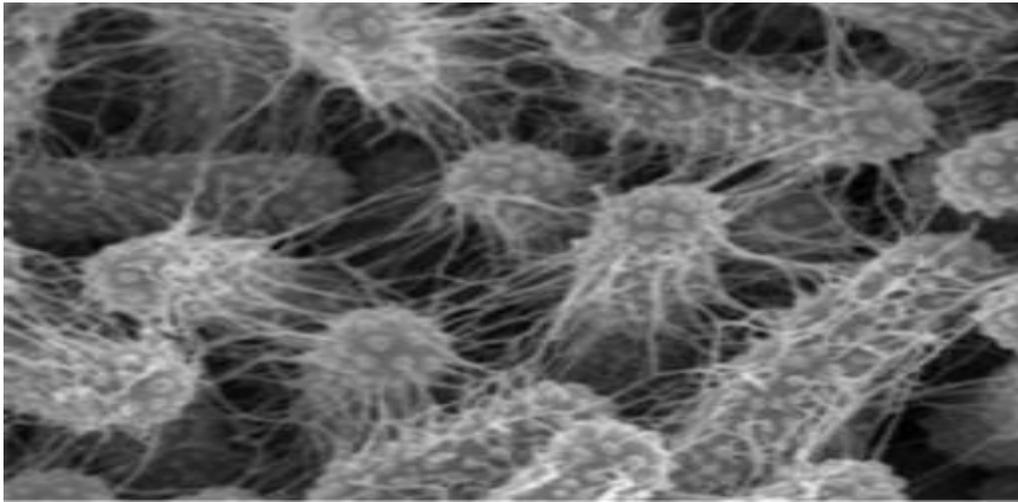


Figure 11 : Biofilm de 48h à *Klebsiella pneumoniae* formé sur lamelle de Thermanox en microfermenteur (Lagrafeuille, 2016).

6.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli est un hôte normal du tube digestif de la partie distale de l'iléon et du colon, mais certaines souches sont dites pathogènes et se différencient de la flore commensale chez l'hôte normale par la présence de facteurs de virulence (Bingen, 1998). Elles sont responsables d'une grande variété de pathologies, notamment les infections urinaires (80%) (Lagha *et al.*, 2019) et sont appelées «Les souches d'*Escherichia coli* uropathogènes (UPEC) » (Habib, 2012), qui possèdent de nombreux facteurs de virulence, tels que : flagelle, curli, fimbriae P, fimbriae de type 1, hémolysine, aérobactine, adhésine, etc... (Fanthou, 2016) qui lui permettent de coloniser les surfaces muqueuses de l'hôte, de blesser et d'envahir les tissus, de surmonter les mécanismes de défense de l'hôte et d'inciter une réponse inflammatoire (Soto, 2007). De plus, des études épidémiologiques ont montré que les souches d'*E.coli* possédant des fimbriae P sont majoritairement à l'origine du développement de 90 % des pyélonéphrites en pédiatrie (Ronald, 2002). Leur migration le long des voies urinaires en dépit du flux urinaire requiert l'attachement de structures spécifiques bactériennes ou fimbriae sur des récepteurs à la surface des cellules épithéliales (Bingen, 1998). Non seulement celles-ci possèdent différents facteurs de virulence mais elles ont aussi la capacité de former un biofilm sur la paroi vésicale (Mulvey, 2001) qui peut être considérée comme un autre déterminant pathogène, ce qui permet aux souches de persister longtemps dans les voies génito-urinaires (Soto, 2011).

6.3. *Enterobacter cloacae*

Enterobacter cloacae est un germe commensal chez l'homme présent au niveau de la flore normale du tractus gastro- intestinal. Il est capable de passer à l'état pathogène opportuniste essentiellement chez les patients ayant une défense immunitaire faible. Il représente environ 7% des microorganismes responsable d'infections chez les patients hospitalisés et plus particulièrement ceux traités par antibiotiques ainsi que ceux en unités de soins intensifs (USI) [(Guérin, 2015) ; (Boudjemaa, 2015)]. C'est l'un des pathogènes entériques nosocomiaux importants qui causent des infections liées au biofilm telles que les infections des voies urinaires associées au cathéter et les infections des voies biliaires. La formation et la morphologie de biofilm chez cette espèce est due à la présence des gènes *csgBAC*. Ainsi une classe de protéines extracellulaires appelées curli, fimbriae sont impliquées (Kim, 2012), lesquelles peut se fixer à de nombreuses protéines de leur hôte et ainsi favoriser leur expansion (Olsen, 1993). En 2012, Kremer et al ont décrit un clone d'*Enterobacter cloacae* responsable d'une épidémie en Allemagne porteur d'un plasmide de type IncHI codant pour des gènes (*sil*) impliqués dans la résistance aux désinfectants à base d'argent (Kremer et Hoffmann, 2012). La conséquence de la présence de ces gènes chez *Enterobacter* peut favoriser sa dissémination dans l'environnement hospitalier et potentiellement au sein de leur hôte (Guérin, 2015) (figure 15).

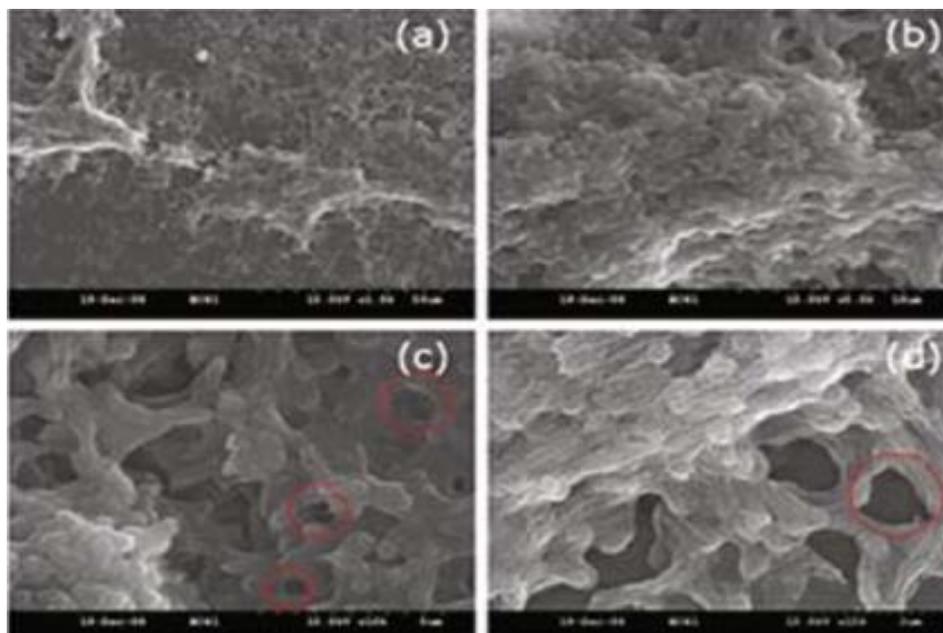


Figure 12 : Analyse au microscope électronique à balayage (MEB) de biofilms produits sur les lamelles en plastique par des isolats cliniques d'*E. Cloacae* après incubation 37 ° C pendant 48h à un grossissement de 1 000 × (a), 5 000 × (b), 10 000 × (c) et 15 000 × (d) (Kim, 2012).

6.4. *Pseudomonas aeruginosa*

P. aeruginosa est l'espèce type la plus importante du genre *Pseudomonas* qui représente à lui seul 90% des bactéries de ce groupe isolées en clinique humaine (Nyaledome, 2016). Le troisième principal agent des infections nosocomiales, juste après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (Sefraoui, 2015). C'est un germe ubiquitaire, vivant dans les sols et en milieu humide (évier, robinets et bouchons), fréquent en milieu hospitalier, entraînant l'apparition de véritables souches d'hôpital. Il peut survivre dans de l'eau distillée ou salée, voire se développer dans certaines solutions antiseptiques ou antibiotiques. L'exploration instrumentale lors d'exams médicaux (cathéter veineux, sondes, endoscopies) favorise la pénétration de ce germe dans l'organisme (Touhami, 2017). Il est considéré comme un micro-organisme opportuniste dont la pathogénicité est multifactorielle et de régulation complexe. Il constitue un important pathogène nosocomial et hospitalier responsable d'infections aiguës et chroniques de localisations diverses et fréquemment impliqué dans les infections en biofilm [(Kerr et Snelling, 2009) ; (Moradali *et al.*, 2017)] comme par exemple, les infections des voies urinaires et des voies respiratoires (You Essoh, 2013). La formation de biofilm chez cette espèce dépend de structures bactériennes impliquant dans la mobilité des bactéries, les pili, flagelles et fimbriae. De plus, la matrice extracellulaire qui englobe trois exopolysaccharides contribuent particulièrement au développement et au maintien de la structure tridimensionnelle du biofilm en favorisant les interactions cellule-cellule (Soares, 2019) (figure 16).



Figure 13 : formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* au niveau d'une sonde urinaire (Mittal *et al.*, 2009) .

6.5. *Staphylococcus aureus*

S. aureus est responsable de nombreux types d'infections chez l'homme et compte parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés des infections hospitalières et communautaires (Bissingou, 2019). La pathogénicité de cette espèce est surtout reliée à l'expression de facteurs de virulence. En plus de facteurs structuraux, il a en effet la capacité de sécréter, après invasion, des facteurs d'adhésion, des toxines ou encore des enzymes (Rebiahi, 2012). Cette pathogénie de l'infection à *Staphylococcus aureus* commence par la fixation de ce microbe sur la peau et les muqueuses. Ces sites comprennent des surfaces revêtues de fibronectine, de cellules endothéliales et de cellules épithéliales nasales (Khadir, 2014).

Staphylococcus aureus est capable d'exprimer de nombreuses protéines qui vont permettre l'adhésion qui représente la deuxième étape de la formation du biofilm. Ces adhésines sont regroupées sous l'appellation de MSCRAMMs pour Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules, elles ont la capacité de lier de nombreuses protéines humaines comme la fibronectine ou le fibrinogène ce qui permet à *S. aureus* de se lier de manière covalente aux surfaces biotiques (Guillaume, 2014) (figure 17, figure 18).

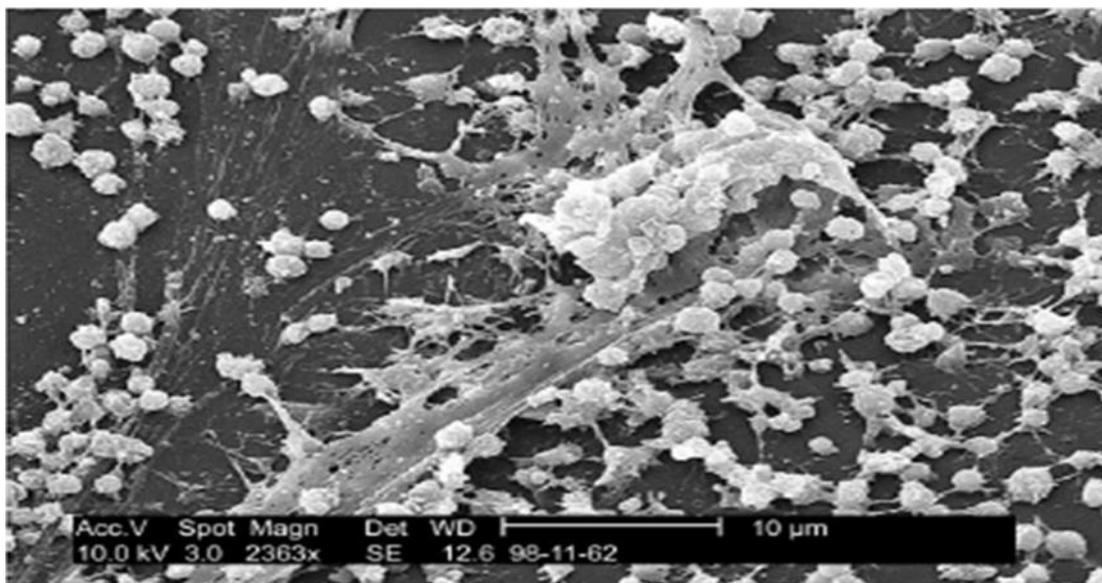


Figure 14 : Biofilm de *Staphylococcus spp.* à la surface d'un implant médical. Image obtenue par microscopie confocale (Chalvet De Rochemonteix ,2009).

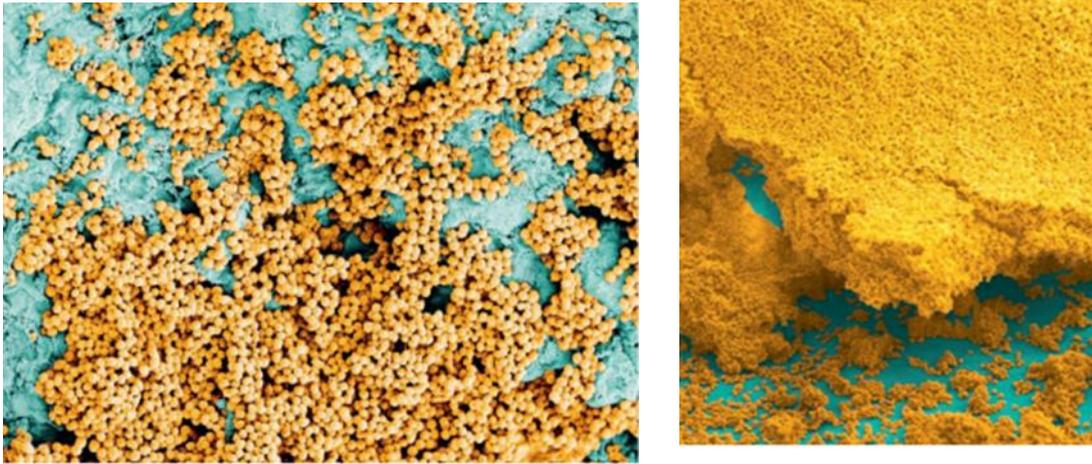


Figure 15 : Images obtenues par microscope électronique de cellules de *S. aureus* adhérentes et format des biofilms chez l'hôte sur valves cardiaques (à gauche) un tube endotrachéal (à droite) (Oubekka, 2012).

Chapitre III : traitement des biofilm par les plantes médicinales

1. *Cinnamomum zeylanicum*

1.1. Nomenclature

Cinnamomum zeylanicum est également connue sous le nom de cannelle de Ceylan ou «vraie cannelle». Son nom latin est : *Cinnamomum zeylanicum* Nees, synonymes *Cinnamomum verum* Presl., *Cinnamomum aromaticum* J.Grah. On trouve aussi sous le nom de Kurundu [(Edet, 2004) ; (Ranasinghe et Galappaththy, 2016)]. Elle connue en arabe sous le nom « El Qarfa » (El Azzouzi et Zidane, 2015).

1.2. Description botanique

C. zeylanicum est un arbre et arbuste tropical, peut atteindre 8 à 17 mètres de haut. Il possède des propriétés aromatiques à la fois dans les feuilles, l'écorce et les racines desquelles peuvent être extraites les huiles essentielles. Les fleurs sont de petite taille, généralement vert jaunâtre ou blanchâtre, en panicules. Ensuite, les feuilles de *Cinnamomum* sont très aromatiques, du fait de la présence d'huiles et de mucilages dans l'épiderme. Elles sont typiquement trinervées, souvent elliptiques et peuvent être opposées ou alternes, ayant une couleur vert jaune, avant de devenir à maturation complète, verte brillante. Le fruit est de couleur bleu-noir à mésocarpe mince, charnu et endocarpe mince, dont la floraison est en janvier et les fruits mûrissent 6 mois plus tard. L'écorce du tronc, rugueuse et épaisse, est d'abord verdâtre puis devient grisâtre à l'extérieur et brun rougeâtre à l'intérieur [(Edet, 2004) ; (Hoff *et al.*, 2017)] (figure 19).



Figure 16 : les différentes parties de *Cinnamomum zeylanicum* : (A) : L'écorce, (B) : Fleurs, (C) : fleurs et fruits (Barbier, 2014).

1.3. Usages thérapeutiques

La poudre de l'écorce, en infusion, est indiquée dans le traitement des maladies de foie et la décoction de l'écorce, est administrée contre les douleurs menstruelles (**El Azzouzi et Zidane, 2015**). Ainsi, l'huile essentielle de cannelle écorce à des propriétés antibactériennes très puissantes à très large spectre, antivirales, antifongiques et antiparasitaires dont le cinnamaldéhyde fait partie des aldéhydes les plus actifs contre les bactéries Gram positives et Gram négatives (**Barbier, 2014**).

2. *Lavandula officinalis*

2.1. Nomenclature

La lavande est le terme, qui vient du mot latin "lavare" qui signifie "se laver" (**Menaceur, 2015**). Son nom latin est *Lavandula angustifolia* L. ou *L. officinalis* Chaix = *L. vera* DC. Elle connue en arabe sous le nom de «Khezama» [(**Elharas et al., 2013**) ; (**Benyagoub et al., 2014**)].

Noms vulgaires : Lavande vraie, Lavande officinale, Lavande fine, Lavande commune, Lavande femelle, Nard d'Italie, Faux Nard, Garde robes (**Belmont, 2013**).

2.2 Description botanique

Lavandula officinalis ou encore lavande vraie, est une plante herbacée vivace de la famille des Lamiacées, étant l'une des plantes aromatiques et médicinales les plus appréciées au monde (**Babaee Khalajee et al., 2017**). Elle pousse à l'état sauvage, sur les terres rocailleux et ensoleillés et s'adapte bien aux hivers plus froids des régions tempérées si le sol est bien drainé. La floraison s'épanouit de Juillet à Août, en dégageant un parfum agréable, frais, léger et fleuri (**Vialard, 2008**) (figure 20).



Figure 17 : (A) les feuilles (Grand, 2009), (B) Les fruits (Anonyme) de *Lavandula officinalis*.

2.3 Usages thérapeutiques

Les fleurs et les huiles essentielles de lavande sont principalement utilisées dans les industries des cosmétiques et des soins personnels (Sadraei *et al.*, 2019). Cette belle plante est couramment utilisée de nos jours dans les parfums, les savons, bain et les poudres de talc, les bougies et les parfums. De petites quantités sont parfois utilisées pour aromatiser les thés et les aliments (Chu, Kemper, 2001). Elle est utilisée aussi dans les médecines traditionnelles et dans différentes parties du monde pour le traitement des troubles gastro-intestinaux, nerveux et rhumatismaux (Hajhashemi *et al.*, 2003). En médecine arabe, la lavande est utilisée pour le traitement des maux d'estomac et des problèmes rénaux. Dans les recherches pharmacologiques et biologiques, les extraits, les fractions et les huiles essentielles de *L. angustifolia* auraient des effets relaxants, hypnotiques, anticonvulsivants, antioxydants, anesthésiques locaux (Sadraei *et al.*, 2019). De plus, elle est employée comme expectorant, antispasmodique, désinfectant des plaies, contre les problèmes dermiques, possède des propriétés antimicrobiennes et anti-carcinogènes, sédatif, antidépresseur, antioxydant, antiinflammatoire et insecticide (Boughendjioua, 2017).

3. *Zingiber officinale* Roscoe

3.1. Nomenclature

Le nom *Zingiber officinale* et sa traduction française « gingembre » proviennent du mot sanskrit shringavera, qui signifie « en forme de bois de cerf », en allusion à la forme des jeunes pousses sortant de son rhizome (**Butin, 2018**).

Apparaît ensuite le nom grec ziggiberis, qui découlerait du nom arabe zangabîl. Le terme latin zingiber apparaît plus tard, et est à l'origine du nom de genre botanique Zingiber. Il est adapté en vieux français en « gingibre », pour finalement s'écrire « gingembre » à partir du XIII^e siècle (**Butin, 2018**).

Le gingembre ou rhizome de *Zingiber officinale roscoe*, est l'une des épices les plus prisées mondialement du fait de son caractère aromatique et de son âcreté (**N'GG et al., 2004**). Il a une saveur légèrement épicée, savoureuse et rhizome peut être utilisé comme l'un des ingrédients de la médecine traditionnelle (**Khuriati et al., 2018**).

On le retrouve présent dans le Coran sourate « الانسان » : versets 17 ... و يسقون فيها كاسا كان مزاجها ... زنجبيل (17)..

3.2 .Usages thérapeutiques

Le *Zingiber officinale* est largement utilisé comme ingrédient dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, cosmétiques et autres. Les propriétés médicinales ont été principalement utilisées pour traiter les symptômes de vomissements, de diarrhée, d'étourdissements, de vision trouble, de dyspepsie, de tremblements, de diminution de la température corporelle et d'hypertension artérielle (**S A- N guanpuag et al., 2011**). Il est utilisé traditionnellement pour traiter le rhume, les céphalées, les troubles musculaires et rhumatismaux (**Mostafa, 2018**). Il est utilisé depuis des siècles pour lutter contre les infections. Les composés de gingembre sont actifs contre une forme de diarrhée qui est la principale cause de décès infantile dans les pays en développement (**Sebiomo et al., 2011**). Il stimule les centres vasomoteur et respiratoire ainsi que la fonction cardiaque. Il aurait une action bénéfique sur la migraine et aurait des effets anti-hyperlipémiant (*in vivo*) (**Nicolas, 2012**). Il est également actif sur les déséquilibres du Vata : ballonnements, gaz, douleurs abdominales, mais aussi douleurs articulaires. Enfin, ses propriétés vasodilatatrices et antitoxines permettent de maintenir un feu digestif efficace, et donc un bon fonctionnement de l'organisme. Il possède également de nombreuses actions au niveau du tube digestif : à la fois spasmolytique, carminatif et protecteur gastrique, il est aussi et surtout employé contre les nausées et vomissements, causés aussi bien par le mal des transports (les marins chinois mâchaient son rhizome afin de prévenir la cinétose) (**Butin,**

2018). Il a été utilisé en médecine ayurvédique et chinoise pour le traitement de l'asthme, du diabète, des nausées et de la douleur. Aux Etats-Unis, 38% des adultes utilisent des traitements médicaux complémentaires et alternatifs (CAM), souvent pour améliorer ou traiter les troubles musculo-squelettiques et autres douleurs (**Black et al., 2010**). Il possède une activité antimicrobienne contre *Mycobacterium avium* et *Mycobacterium tuberculosis* par leur composant : 10-gingerol. Il est active également sur *Aspergillus* qui sont productrice des aflatoxines (**Singh et Singh, 2019**).

Le gingembre possède de multiple activités biologique Il a une activité antioxydant, anticancéreuse, antiobésité, neuroprotective, protège le système cardiovasculaire et le système respiratoire (**Mao et al., 2019**). Il Inhibe de la biosynthèse des prostaglandines et leucotriènes ce qui augmentant ainsi l'aspect anti-ulcéreux et anti- inflammatoire (**Faivre et al., 2006**).

Partie
expérimentale

1. Lieu d'étude

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'Université Abou- Bekr Bel kaid-Tlemcen.

2. Prélèvements

Les sondes ont été collectées au niveau de service de réanimation, Traumatologie et Chirurgie du CHU de Tlemcen, sur une période allant du 23/02/2020 au 01/03/2020.

Les sondes ont été soigneusement prélevées dans des conditions d'asepsie, placées individuellement dans des tubes en verre stériles. Les échantillons sont transportés au laboratoire en glacière et leurs analyse a été aussi rapide que possible (tableau 03).

Tableau 02 : Prélèvement des sondes urinaires.

Services	Patients / L'âge	La durée d'hospitalisation	Maladies /sous traitement
Réanimation	Femme / 19 ans	3 jours	Diabétique, choc septique, résistance aux antibiotiques
	Femme /53 ans	5 jours	Aucune maladie
	Homme / 22 ans	/	Tienam, amiklin
	Homme / 32 ans	/	Ertapénème/amiklin
Traumatologie	Femme / 61 ans	5 jours	Aucunes maladies
	Femme / 61 ans	15 jours	céphacédine
	Femme / 86 ans	5 jours	céphacédine
	Homme / 59 ans	/	Aucune maladie
Chirurgie A	Homme / 47	2 jours	Aucune maladie
	Homme / 49	2 jours	Aucune maladie
	Homme / 50	5 jours	Aucune maladie

3. Ensemencement et isolement

Durant une période de 3 semaines, 10 sondes urinaires ont été soigneusement prélevés de patients hospitalisés plus de 48 heures aux services de réanimation du CHU de Tlemcen, dans des conditions d'asepsies.

Selon la technique quantitative de **Brun Buisson, (1987)**. L'extrémité distale est coupée puis mise dans un tube contenant 5ml de sérum physiologique. Après un traitement avec l'ultrason

et un passage au vortex pendant 1 minute, un volume de 0,1ml est ensemencé par étalement en surface sur les milieux sélectifs suivants :

- **Mac Conkey** : est un milieu d'isolement ordinaire, lactosé et sélectif des bacilles à Gram négatif non exigeants. Le désoxycholate de sodium et le cristal violet inhibe la croissance des bactéries à Gram positif.
- **Chapman** : La gélose Chapman est le milieu sélectif des bactéries halophiles et plus particulièrement fermentant le mannitol. C'est un milieu semi-synthétique. Il est utilisé pour l'isolement des Staphylocoques
- **Cetrimide** : La gélose au cetrimide est utilisée pour l'isolement et l'identification de *Pseudomonas aeruginosa*. Le cétrimide est un ammonium quaternaire qui inhibe la croissance de la plupart des autres espèces bactériennes. *Pseudomonas aeruginosa* colore ce milieu en bleu-vert par production de pyocyanine.

4. Identification

L'identification des souches est contrôlée après vérification de leur pureté par :

- L'étude des caractères macroscopiques (aspects des colonies sur milieux gélosés)
- L'étude des caractères microscopiques (forme des colonies, mobilité, coloration de Gram)
- Identification par galerie API 20 E et API Staph :

La galerie API est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif et les staphylocoques, elle comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification (**Biomérieux, 2010**).

- Test d'oxydase : La recherche d'oxydase est une technique d'identification en bactériologie concernant les bactéries à gram négatif. Les bactéries possédant l'enzyme oxydase peuvent oxyder le N- diméthyl- paraphénylene diamine, ce qui donne des produits violacés.
- Test de coagulase : La coagulase ou staphylocoagulase est une enzyme capable de faire coaguler le plasma sanguin. La mise en évidence d'une activité coagulase libre chez une

souche de *Staphylococcus* est un des critères d'identification de *Staphylococcus aureus* en médecine humaine. Dans un tube à hémolyse stérile :

- Verser 0,5 ml de bouillon cœur-cervelle ;
- Verser 0,5 ml de plasma oxalaté ;
- Homogénéiser et incubé à 35 - 37 °C.

5. Conservation des souches

Toutes les souches identifiées sont conservées en double réplique :

Gélose nutritive inclinée : c'est une technique de conservation à court terme. Une fois que les tubes sont ensemencés et placés dans l'étuve à 37°C pendant 24h, ils sont conservés dans le réfrigérateur à 4°C. La vitalité de la souche se maintient pendant des durées variables, selon la température et l'espèce microbienne.

Le glycérol : c'est une technique de conservation à long terme. Elle consiste à l'ajout du glycérol aux suspensions bactériennes. Le glycérol est un cryoprotecteur permettant d'éviter au maximum les altérations cellulaires dues au refroidissement.

6. Evaluation de la formation du biofilm *in vitro*

6.1. Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

Le test TCP décrit par O'Toole *et al.*, (2000) permet une évaluation quantitative de la formation du biofilm. A partir d'une culture de 24 heures dans le milieu TSB, les puits d'une microplaque de 96 puits (polystyrène) sont inoculés avec 150 µL de la suspension bactérienne ajustée à une DO de 0,1. Les microplaques sont incubées pendant 24 heures à 37°C. Les puits sont lavés trois fois avec l'eau distillée stérile afin d'éliminer les bactéries libres (planctoniques). Les biofilms formés par l'adhérence des organismes sessiles sont colorés avec du cristal violet (0,1%) pendant 15 min. L'excès de colorant est ensuite rincé par un lavage en profondeur avec de l'eau distillée et les plaques sont laissées pour le séchage pendant quelque minute. Les microplaques sont ensuite remplies avec 150 µL d'une solution d'éthanol (95%) afin d'évaluer l'importance de la coloration du biofilm (Stepanovic *et al.*, 2000).

6.1.1. Lecture

La classification des résultats obtenus présente sur la base du DO témoin. Les souches ont été classées comme suit : $DO \leq DO_t$ (Témoin) : non formatrice du biofilm. $DO_t \times 2 \leq DO \leq DO_t \times 4$: Modérément formatrice du biofilm. $DO_t \times 4 \leq DO$: Fortement formatrice du biofilm (Christensen *et al.*, 1985).

6.2. Détection de la production de slime sur milieu Rouge Congo Agar (RCA)

Cette technique qualitative consiste à l'ensemencement des souches testées pour leurs capacités à produire un biofilm sur milieu Rouge Congo (Chaieb *et al.*, 2005). C'est une méthode indirecte qui permet de distinguer entre les souches productrices de slime de celles qui n'en produisent pas, en se basant sur la composition de la couleur de leurs colonies.

Les souches sont ensemencées par stries en surface du milieu Rouge Congo coulé en boîtes pétri et incubé à 37° pendant 24h à 48h (Mathur *et al.*, 2006).

Evaluation de couleur des colonies, selon Satorres et Alcaraz en 2007, les colonies des souches non productrices sont de couleur rose rouges tandis que celle qui ont la capacité à produire un slime sont de couleur noires à surface ou presque noire (Nasr *et al.*, 2012).

Les colonies des souches de phénotype variable donnaient des colonies à centre noir et à contour rouge à centre rouge et à contour noir (Touati *et al.*, 2007).

6.3. La méthode en tube (TM)

C'est une technique qui permet une évaluation qualitative de la formation du biofilm décrite par Christensen *et al.*, (1982).

A partir d'une boîte de culture 18-24 heures, ensemencer une colonie dans 10 mL de BHIB supplémenté de 2% de saccharose puis incubé à 37°C pendant 24 h. Les tubes ont été lavés avec du PBS (pH=7,3) puis séchés. Chaque tube a été ensuite coloré par le cristal violet (0,1%) pendant 15 minutes. L'excès de colorant a été enlevé et les tubes ont été lavés avec de l'eau distillée, puis séchés en position renversée (Mathur *et al.*, 2006).

6.3.1. Lecture

La formation du biofilm est considérée comme positive quand un film visible double et recouvre le mur et le bas du tube. La formation d'un anneau à l'interface liquide n'est pas indicative de la formation du biofilm. La formation de biofilms est notée comme de 0 pour absent, + pour modéré et +++ pour fort (Stepanovic *et al.*, 2000).

7. Activité anti biofilm d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*

Des morceaux de 1 cm² de sondes urinaires préparés et stérilisés sont mis dans des tubes contenant 1ml de la suspension bactérien à une DO de 0.1 et 1ml des substances de huile de *Lavandula officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Zingiber officinale Roscoe* à des concentrations de 50%, 40%, 30% et 10% dilué dans le diméthylsulfoxyde (DMSO) (Ugur *et al.*, 2016) puis incubés à 37°C pendant 24H. Les morceaux sont récupérés, lavés abondamment à l'eau distillée stérile puis placés dans 1ml de l'eau physiologique. La sonication est effectuée

3 fois à l'aide de l'ultrason model WiseClean WUC-D06H pendant 5min intercalée par un passage de 20sec au vortex. Une série de dilutions est effectuée pour chaque échantillon, puis ensemencée sur gélose de Mac Conkey. Le dénombrement des colonies est réalisé après 24h d'incubation à 37°C.

8. L'effet de quelques huiles essentielles sur un biofilm préformé

Après la formation du biofilm sur des morceaux de sonde urinaire (Des coupes de 1cm² sont introduites dans des tubes contenant 1mL d'une suspension bactérienne de chaque souche ajustée à une DO=600 de 0,1 puis incubés à 37°C pendant 24H). Les supports sont récupérés, lavés abondamment à l'eau distillée stérile et placés dans des tubes contenant de substance d'huiles de la *Lavandula officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Zingiber officinale Roscoe* des concentrations de 50% 30% 20% et 10% dilué dans le DMSO, puis incubés à 37°C pendant 24h. Après l'incubation, les morceaux sont rincés, traités par passage successif sur l'ultrason et vortex pour détacher les bactéries adhérees sur le morceau de la sonde. Une série de dilutions est effectuée pour chaque échantillon, puis un ensemencement sur gélose de cétrimide. Le dénombrement des colonies est réalisé après 24h d'incubation à 37°.

*Résultats et
discussion*

1. Prélèvements

Durant une période d'un mois, un total de 11 prélèvements de sondes urinaires a été recueilli chez 11 patients hospitalisés plus de 48 heures dans trois services, le service de réanimation, de chirurgie et de traumatologie du CHU de Tlemcen (Algérie) (figure 18).

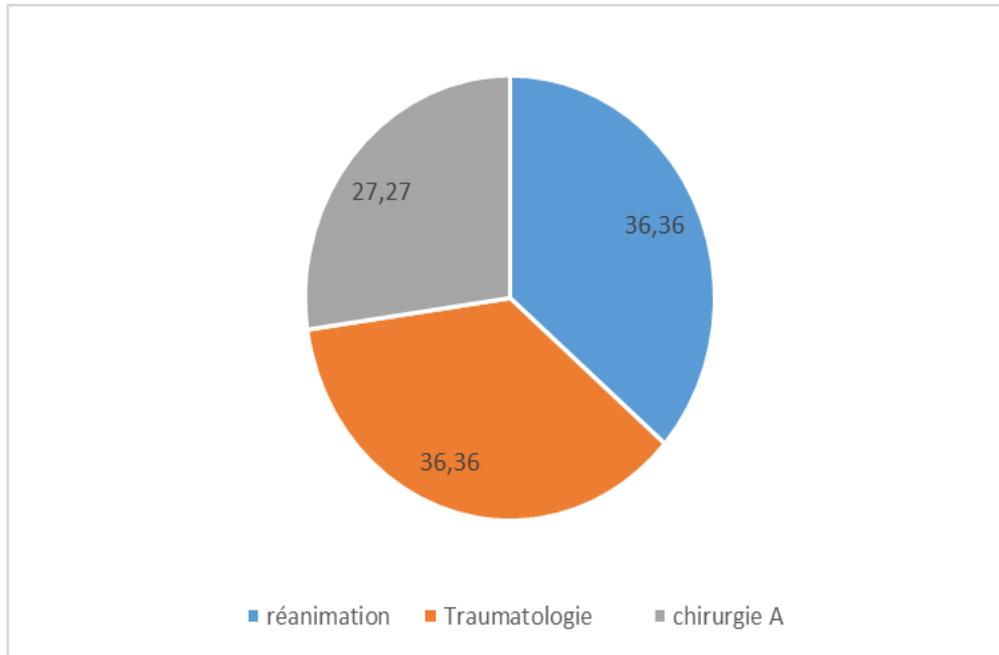


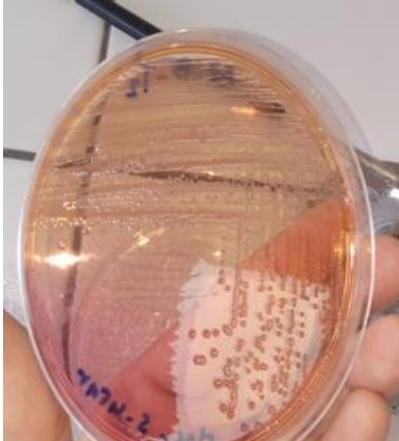
Figure 18 : Répartition des prélèvements selon les services.

2. Identification des souches

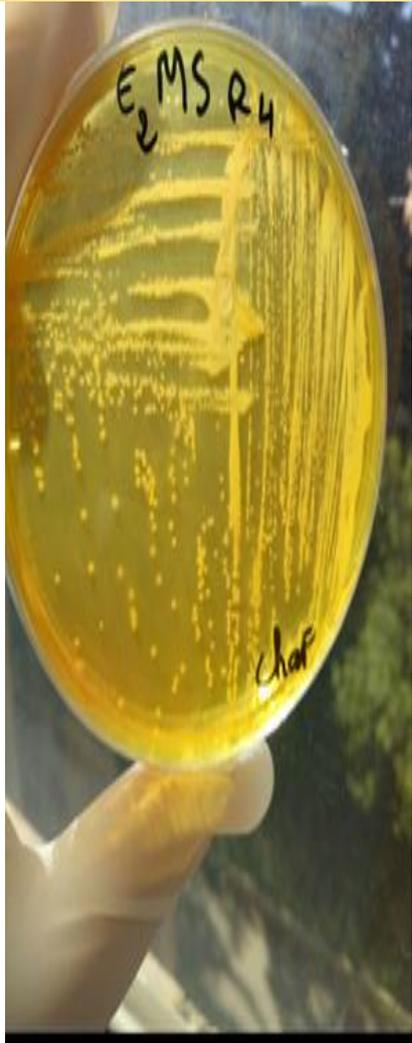
2.1. Aspect macroscopique

L'aspect macroscopique des souches isolées de sondes urinaires est regroupé dans le tableau 4.

Tableau 03 : Résultats de l'aspect macroscopique de 05 souches bactériens isolées des sondes urinaires.

Souches bactériennes	Milieu d'identification	L'aspect macroscopique	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Mac Conkey	Toutes les souches de <i>K. pneumoniae</i> présentent les caractères généraux des entérobactéries. Elles sont cultivées sur des milieux usuels non-enrichis. Après 24h à 37c°, elles forment des colonies arrondies, muqueuses, généralement bombées et brillantes de couleur rose à rouge brique et de croissance visqueuse et confluyente.	
<i>Enterobacter cloacae</i>	Mac Conkey	Sur gélose Mac Conkey, <i>E. cloacae</i> forme des colonies rondes avec un diamètre de 2 à 3 mm et légèrement plates avec des bords irréguliers.	

<p><i>Escherichia coli</i></p>	<p>MacConkey</p>	<p>Elle forme des colonies arrondies, lisses, sèches à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, de couleur rose calière avec un voile violet.</p>	
<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i></p>	<p>Citrimide</p>	<p>Elle développe de grandes colonies plates en tapis à bord irrégulier avec un pigment bleu-vert brillant caractérise cette espèce : il est dû à la production de la pyocyanine (Pigment bleu spécifique de <i>P. aeruginosa</i>). De plus, une odeur caractéristique de raisin ou seringa est souvent présente in vitro.</p>	

<i>Staphylococcus aureus</i>	Chapman	Après 24 à 48h d'incubation à 37°C sur la gélose Chapman, les colonies se disposent en amas irréguliers polyédriques évoquant l'aspect caractéristique de « grappes de raisin ». elles sont apparues de petite taille, souvent pigmentées (Pigment doré) qui dû à la fermentation de mannitol avec le virage de milieu du rouge au jaune orangé.	
------------------------------	---------	--	--

2.2. Caractères biochimiques par le système miniaturisé API

L'identification bactérienne réalisée par galerie API 20 E nous a permis de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques des souches bactériennes et de caractériser les profils numériques (les biotypes).

2.2.1. *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae est souvent la cause d'infections urinaires associées aux soins, cette bactérie possède des pili de type I et III responsable de colonisation de la vessie et par conséquent la formation de biofilm (Zouirchi, 2018). Elle possède les caractéristiques chimiques suivantes :



Figure 19 : identification de *klebsiella pneumoniae* par la galerie API 20 E (biotype 5217772).

2.2.2. *Escherichia coli*

Escherichia coli est la principale espèce bactérienne impliquée dans les infections urinaires (Lemor ,2006). Elle est caractérisée chimiquement par :



Figure 20 : identification d'*Escherichia coli* par la galerie API 20 E (biotype 7545532).

2.2.3. *Enterobacter cloacae*

Enterobacter cloacae est une bactérie pathogène opportuniste impliquée dans des infections nosocomiales chez des patients fragilisés : principalement bactériémies, infections respiratoires et urinaires (Weitz, 2017). Dans cette étude deux biotypes ont été identifié :

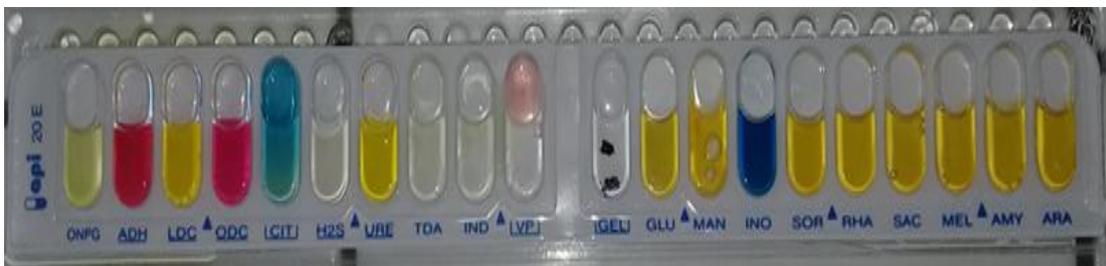


Figure 21 : Identification d'*Enterobacter cloacae* par la galerie API 20 E (biotype 3305573).



Figure 22 : Identification d'*Enterobacter cloacae* par la galerie API 20 E (biotype 5345532).

2.2.4. *Staphylococcus aureus*

S. aureus est responsable de nombreux types d'infections chez l'homme et compte parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés des infections hospitalières et communautaires .elle est responsable de méningites, des infections respiratoires et urinaires (**Bissingou, 2019**).

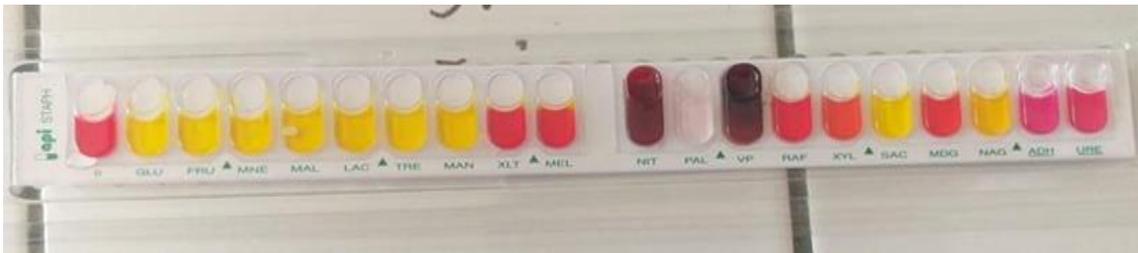
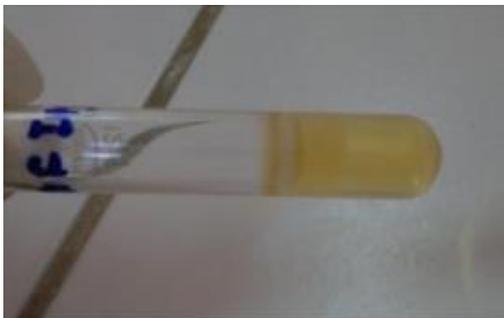


Figure 23 : Identification de *S. aureus* par la galerie API Staph (biotype 7715461).

2.3. Résultat de test Coagulase chez *S. aureus*

Après un temps d'incubation de 01 heure à 37°C de mélange (culture de 24h à 48h de la souche *S. aureus* + plasma sanguin) nous avons remarqué l'apparition d'un caillot qui est observée en inclinant le tube à 90°C ce qui se traduit par la libération d'enzyme « coagulase ».



Coagulase +



Témoin -

Figure 24 : Résultat du test staphylocoagulase.

2.4. Résultat de test Oxydase chez *Pseudomonas aeruginosa*

La présence d'oxydase se traduit par l'apparition d'une coloration violacée après 30 à 50 secondes, puis elle devient noire.



Figure 25 : résultat du test oxydase chez *Pseudomonas aeruginosa*.

3. Résultat de l'évaluation de la formation de biofilm chez les souches isolées

les circonstances actuelles(COVID-19) ont empêché la réalisation de cette deuxième partie expérimentale qui porte sur l'évaluation de la formation du biofilm *in vitro* par différentes techniques, et l'étude de l'effet de quelques huiles essentielles sur l'installation du biofilm et un biofilm préformé. Ce travail reste préliminaire et mérite d'être reconduit. Pour cela dans cette partie on va essayer de justifier notre choix de cette étude, en discutant les résultats de quelques travaux antérieurs.

Des méthodes classiques de la détection de la production de biofilm *in vitro* ont été établies, telles que la méthode quantitative de la microplaque 96puits et la méthode qualitative du Rouge Congo et la technique en tube TM (Mathur *et al.*, 2006).

3.1. La méthode TCP (Technique de microplaque 96 puits)

Plusieurs chercheurs ont étudié la technique en microplaque pour l'évaluation de la formation du biofilm *in vitro*.

Gad *et al.*, (2009) ont trouvé que les souches de *S. aureus* isolées de segments de sondes urinaires étaient des producteurs de biofilm dont 12 souches (66,7%) étaient fortement

formatrices de biofilms, 3 (16,7%) étaient modérément productrices et 3 (16,7%) étaient considérés comme faiblement productrices du biofilm.

D'après (Kaur *et al.*, 2015), sur 62 souches de *Staphylococcus aureus* ils ont trouvé que 32 (51,61%) étaient fortement formatrices de biofilm, 18 (29,03%) faiblement formatrices et 12 (19,35) non formatrice.

Sur un total de 37 de sondes urinaires prélevés, plusieurs souches ont été isolées, une forte formation de biofilm a été révélée par *E.coli* (50%), suivi de *Klebsiella pneumoniae* (33,3%) (Deotale *et al.*, 2015).

Une autre étude réalisée par (Mahmood et Abdullah, 2015) dont 17 souches (58,8%) souches de *Klebsiella pneumoniae* étaient fortement formatrices de biofilm, et 2 souches (11,8%) faiblement formatrice de biofilm et 5 souches (29,4%) non formatrice de biofilm. Pour *E coli*, parmi 28 isolats ils ont trouvé que 14 souches (50%) étaient fortement formatrices de biofilm, 9 (32,1%) faiblement formatrices de biofilm et 5 (17,9%) non formatrices de biofilm.

Selon (Bellifa *et al.*, 2016), La technique TCP a révélé que 69 souches sur 100 (69%) étaient productrices du biofilm avec une DO comprise entre [0,56 - 2,5] ,21 souches (21%) modérément formatrices avec une DO comprise entre [0,28 - 0,56], suivi de 10 souches (10%) faiblement productrices avec une DO allant de 0,15 à 0,28.

Verma et Patil, 2016 ont trouvé à partir de 168 isolats, l'espèce dominante et pathogène est *E coli* qui représente (57%). Sur un total de 96 souches d' *E coli* ,56 sont formatrices de biofilm alors que 40 non formatrices de biofilm. Suivi par *Klebsiella pneumoniae* dont 30 souches étaient formatrices de biofilm. Alors que (3%) de souches d'*Enterobacter cloacae* étaient formatrices du biofilm. *Pseudomonas aeruginosa* représente 4 % (7/5) formatrices de biofilm et 2 non formatrices de biofilm.

Selon (Lobo *et al.*, 2018) parmi 80 isolats de *K. pneumoniae* 55 (68,75%) étaient formatrices de biofilm ,19 parmi eux produisent les BLSE (bêta-lactamases a spectre étendu). Parmi les productrices de BLSE, 14 (73,68%) étaient de fortes formatrices de biofilm et 5 (26,31%) étaient modérément formatrices.

D'après (Karigoudar *et al.*, 2019) sur un total de 100 isolats d' *E. coli* , 49 souches(49%) et 51 souches (51%) provenaient respectivement de patients sondés et non sondés. Parmi les 49 (49%) patients sondés, 44 (89,7%) étaient formatrices du biofilm. Ces chercheurs ont trouvés une corrélation significative entre la production de biofilm et le cathétérisme. De même

(Maharjan *et al.*, 2018) ont trouvés qu'*Escherichia coli* est la plus productrice de biofilm avec un pourcentage de (33,33%), *Klebsiella pneumoniae* (30%), *Pseudomonas aeruginosa* (20%), et *Staphylococcus aureus* (10%).

3.2. Evaluation de la formation de biofilm par la méthode RCA

Cette méthode qualitative se base sur le caractère phénotypique des souches ensemencées sur le milieu Rouge Congo.

D'après (Kara Terki, 2014) la recherche de la production de slime sur milieu rouge Congo a révélé que 111 souches sur 200 isolées de sondes urinaires sont productrices de slime, soit 56,8% souches de *Staphylococcus aureus*, 53,5% souches de *Staphylococcus epidermidis* et 63,4% souches de *Staphylococcus saprophyticus*. Ces résultats se concordent avec ceux retrouvés par Arciola *et al.*, 2001 où la production de slime est beaucoup plus importante chez les *S.aureus* (60.8%).

Ponnusamy *et al.*, 2012 ont trouvé que parmi 100 souches d'*E. Coli* isolées de 166 échantillons d'urine de patients hospitalisés à Coimbatore et l'Inde de sud, 23 souches (23%) se sont révélées très productrices du biofilm, 37 souches (37%) se sont révélées modérément productrices et 40 souches (40%) étaient faiblement productrices.

Pour *P. aeruginosa*, Sambyal *et al.*, 2017 ont trouvé que sur 142 isolats de *P. aeruginosa*, 81 souches sont productrices de biofilm (57.04%) alors que 61 souches étaient non productrices de biofilm (42,9%).

Donc la formation de biofilms est une stratégie importante utilisée par de nombreuses bactéries pour survivre à l'exposition aux composés antimicrobiens et aux réponses immunitaires de l'hôte (El-Ganiny *et al.*, 2017 ; Jabalameli *et al.*, 2012) grâce à une substance polymère extracellulaire (EPS) qui est la principale matrice de biofilm sécrétée par les bactéries (Hou *et al.*, 2012).

Le biofilm pose un problème de santé publique surtout pour les personnes qui ont besoin de dispositifs médicaux à demeure (Niveditha *et al.*, 2012).

3.3. Evaluation de la formation de biofilm par la méthode TM

Selon (Karigoudar *et al.*, 2019), parmi les 100 isolats d'*E. coli*, 49 (49%) souches provenaient de patients sondés étaient productrice du biofilm par la méthode en tube. Ce résultat est en accord avec celle rapporté par Umamageswari et Priya, 2019 qui ont étudié 180 souches d'*E.*

coli isolées à partir de patients sondés et non sondés pour mettre en évidence leurs capacités à produire de biofilm par la méthode en tube, les 80 souches provenaient de patients sondés étaient des productrices de biofilm et 20 étaient non productrices du biofilm.

La méthode TCP détecte mieux les bactéries productrices de biofilm par rapport d'autres méthodes, et plus précisément celle du Rouge Congo agar. C'est une technique pratique et économique pour l'identification des facteurs et des conditions de cultures optimales pour la formation du biofilm (Castro *et al.*, 2013).

4. Résultats de l'effet de quelques huiles essentielles sur un biofilm préformé

4.1. *Lavandula officinalis*

Selon (Chaouche *et al.*, 2018) les résultats expérimentaux montrent que les huiles essentielles de *Lavandula officinalis* inhibent les biofilms (âgé de 24 heures) formés par *Klebsiella pneumoniae* à une concentration de 1/4 et les polyphénols sont actifs à partir de 7.5 mg/ml.

Chez *S. aureus* et *E. coli*, Budzynska *et al.*, 2011 ont montrés que la concentration minimale d'éradication du biofilm de deux composés (Linalyl acetate et linalool) et l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* entraînant une réduction $\geq 90\%$ de l'activité métabolique de la biomasse, mesurée après 4 ou 24 h d'application de composés sur la culture de biofilm

4.2. *Cinnamomum zeylanicum*

Chez *K. pneumoniae*, Sweedan, 2018 a montré que l'extrait d'écorce de *C. zeylanicum* a une bonne activité contre la production de biofilm chez cette espèce avec des différences significatives ($p < 0.05$). De plus Sambyal *et al.*, 2017 ont montré que parmi 40 isolats de *S. aureus*, 24 souches sont sensibles à l'huile de *Cinnamomum zeylanicum* et 16 souches (66.66%) étaient résistantes.

Plusieurs chercheurs ont conclu que l'activité antibactérienne de cet extrait d'écorce méthanolique de cannelle pourrait être utilisée dans le traitement des maladies infectieuses induites par des bactéries (Keskin et Toroglu, 2011).

D'un autre côté, ces résultats ne concordent pas avec les résultats de (AL Shahwany *et al.*, 2016) qui ont rapportés que l'extrait phénolique de cannelle n'avait pas d'activité antibiofilm contre *K. pneumoniae* et *S. aureus*, cela peut être attribué au fait que (AL Shahwany *et al.*, 2016) utilisé des concentrations d'extrait de plante inférieures à celles utilisées dans l'étude

précédente, ou peut-être dû à l'utilisation d'un autre solvant pour l'extraction, ce qui a conduit à des résultats différents. Le type de solvant utilisé pour extraire les herbes et les épices semble avoir un impact majeur sur leur activité antimicrobienne.

Ensuite pour *P. aeruginosa* et *E. coli*, **Kim et al., 2015** ont montré que l'huile d'écorce de cannelle a inhibé la formation de biofilm de *P. aeruginosa* dans les microplaques de polystyrène à 96 puits. Plus précisément, l'huile d'écorce de cannelle à 0,05% a diminué la formation de biofilm chez *P. aeruginosa* de 96%. Ces résultats suggèrent que le cinnamaldéhyde, qui composait environ 65% d'huile d'écorce de cannelle, était largement responsable de son activité antibiofilm. Par contre, L'huile d'écorce de cannelle, le cinnamaldéhyde et l'eugénol ont inhibé la formation de biofilm chez *E. coli* entérohémorragique (EHEC) en fonction de la dose, contrairement au limonène, au linalol et à l' α -pinène.

Dans la même étude et à l'aide de Confocal laser microscopy (CLM) **Kim et al., 2015** ont confirmé que l'huile d'écorce de cannelle, le cinnamaldéhyde et l'eugénol ont clairement réduit la production de fimbriae, qui sont importants pour la formation du biofilm chez EHEC.

Ces résultats concordent avec celle rapporté par **Condò et al., 2020** qui ont observé une réduction significative de la DO à 570 nm pour des biofilms matures de 18, 24, 48, 72 heures chez *E. coli*, contrairement au *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* dont l'activité de l'huile essentiel (HE) n'a été observée que sur le biofilm mature de 72 heures.

Amalaradjou et al., 2011 ont montré que le trans-cannamaldéhyde (composon de la cannelle) a inhibé la formation de biofilm chez *Escherichia coli* uropathogène (UPEC) isolé des cathéters. Dans une autre étude menée par les mêmes chercheurs en 2010, le transcinnamaldéhyde a permis de prévenir les facteurs de virulence des cellules uro-épithéliales en régulant les gènes de formation du biofilm. Ces résultats ont montré que le trans-cinnamaldéhyde peut être utilisé comme antibactérien pour les infections urinaires.

4.3. *Zingiber officinale*

L'étude réalisée par **(Bezalwar et Shuddhalwar, 2013)** a montré que l'extrait éthanolique de *Zingiber officinale* présente une activité anti-biofilm maximum contre *P. aeruginosa* par l'inhibition du quorum sensing.

Selon **(Kumar et al., 2013)**, L'effet de *Zingiber officinale* et de la ciprofloxacine a été déterminé sur des biofilms de 1 à 7 jours. *Zingiber officinale* et la ciprofloxacine ont pu éradiquer efficacement les biofilms formé du 1 au 3ème jour ce qui indique que *Zingiber officinale* a une

activité anti biofilm puissante et peut offrir une stratégie pour réduire le développement du biofilm. *Zingiber officinale* peut inhiber ou retarder le processus de biofilm. La ciprofloxacine pourrait pénétrer plus facilement dans les biofilms, est donc devenu plus efficace pour éradiquer les biofilms de *P.aeruginosa*.

Selon (**Aghazadeh et al., 2016**) les taux les plus faibles de l'extrait de gingembre a un effet anti-biofilm contre *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli* respectivement.

(**Das et al., 2019**) ont montré que l'huile essentielle de gingembre possèdent un pourcentage plus élevé d'inhibition de biofilm contre *S. aureus* suivi par, *K. pneumoniae* et *E. coli*.

Cette activité anti biofilm est due à la présence de terpènes totaux qui représente 99,7% de leur composition chimique.

Une autre étude de (**Hamasalihet et Abdulrahman, 2019**) a montré un pourcentage élevé d'inhibition du biofilm (61,4%) à une concentration de 16% contre *Staphylococcus aureus* alors qu'il n'y a aucun effet sur la formation de biofilm aux concentrations 4, 2, 1 et 0,5%.

Conclusión

L'utilisation des dispositifs médicaux est accompagnée à un risque infectieux, puisque ils offrent un environnement approprié à la colonisation bactérienne. La physiopathologie de ces infections est liée principalement à la formation de biofilm, qui est un problème de santé publique et qui constitue un facteur de virulence chez de nombreuses espèces bactériennes isolées de dispositifs médicaux.

Suite à l'apparition des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques, la phytothérapie a pris une place dans le monde.

L'objectif de ce travail était l'étude de la formation de biofilm par trois techniques (TCP, TM, RCA) et de tester l'effet de quelques plantes médicinales sur des bactéries formatrices du biofilm isolées de sondes urinaires.

A la lumière de cette étude, nous pouvons dire que le sondage urinaire expose à l'infection nosocomiale chez tous les patients étudiés.

Durant une période de 3 semaines 12 souches ont été isolé dont 04 souches d'*Enterobacter cloacae*, 02 d'*Escherichia coli*, 02 de *klebsiella pneumoniae*, 02 de *Pseudomonas aeruginosa* et 02 de *staphylococcus aureus*.

Les travaux antécédents ont montré que la méthode des microplaques était la plus efficace et la mieux indiquée pour une évaluation quantitative de l'adhésion bactérienne sur une surface abiotique.

Plusieurs chercheurs ont prouvé une bonne efficacité de *Cinnamomum zeylanicum*, *Lavandula officinalis* et *Zingiber officinale* contre le biofilm formé par les bactéries uropathogènes soit seule ou en combinaison avec les antibiotique afin d'élargir leurs activité.

En perspective de ce travail, il serait intéressant de :

- ✓ Tester leur effet « in vivo »a des fins thérapeutiques ;
- ✓ D'approfondir nos connaissances sur le mécanisme d'action afin d'inhiber l'installation de biofilm ;
- ✓ En outre, fabriquer des médicaments à base huiles essentielles en remplaçant les antibiotiques.

Références

bibliographiques

A

Adimi L.Z., Guechi A., Laidoudi O., Chelil S., Kicheh I. (2019). Comparative Study: The antibacterial activity of Melissa in relations to other plants in the region of Setif, Algeria.

Afle F.C.D., Quenum K. J., Hessou S., Johnson R.C. (2018). État des lieux des infections associées aux soins dans deux hôpitaux publics du sud Benin (Afrique de l'ouest): Centre Hospitalier Universitaire de Zone d'Abomey-Calavi/Sô-Ava et Centre Hospitalier de Zone de Cotonou 5. *Journal of Applied Biosciences*, 121, 12192-12201.

Aghazadeh, M., Bialvaei, A. Z., Aghazadeh, M., Kabiri, F., Saliyani, N., Yousefi, M., Kafil, H. S. (2016). Survey of the antibiofilm and antimicrobial effects of *Zingiber officinale* (in vitro study). *Jundishapur journal of microbiology*, 9(2).

Amalaradjou M.A.R., Narayanan A., Baskaran S.A., Venkitanarayanan K. (2010). Antibiofilm effect of trans-cinnamaldehyde on uropathogenic *Escherichia coli*. *The Journal of urology*, 184(1), 358-363.

Amalaradjou M.A.R., Narayanan A., Venkitanarayanan K. (2011). Trans-cinnamaldehyde decreases attachment and invasion of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract epithelial cells by modulating virulence gene expression. *The Journal of urology*, 185(4), 1526-1531.

Amara N., Boughérara Y. (2017). Activité Antimicrobienne de l'Huile Essentielle du Cyprés Vert (*Cupressus sempervirens* L.). *Algerian Journal of Natural Products*, 5(2), 455-462.

Antunes L.C.M., Ferreira R.B., Buckner M.M., Finlay B.B. (2010). Quorum sensing in bacterial virulence. *Microbiology*, 156(8), 2271-2282.

Arciola C.R., Baldassarri L., Montanaro L. (2001). Presence of icaA and icaD Genes and slime production in a collection of *Staphylococcal* strains from catheter-associated infections. *Journal of clinical microbiology*, 39(6), 2151-2156.

Auger M. (2012). Formation de biofilm in vitro par des souches cliniques d'*Escherichia coli* (impact de la modification des conditions expérimentales). Thèse de Doctorat: Biologie médicale : Université de Nantes.

Aye A.M. (2015). Mise en évidence du système de communication " Quorum Sensing" impliquant les AHLs chez des bactéries marines isolées de la Méditerranée. Thèse de Doctorat : Microbiologie / Biochimie : Université de Toulon.

B

Babae Khalajee M., Jaimand K., Mozaffari S., Mirshokraie S.A. (2017). Comparative Study on Essential Oils of *Lavandula officinalis L.* from Three Different Sites with Different Methods of Distillation. *Journal of Medicinal plants and By-product*, 6(1), 53-58.

Baillif S., Hartmann D., Freney J., Kodjikian L. (2010). Implant intraoculaire et adhésion bactérienne: influence des conditions environnementales, des propriétés bactériennes et des caractéristiques du biomatériau. *Journal français d'ophtalmologie*, 33(3), 210-221.

Barbier C. (2014). L'huile essentielle de cannelle de Ceylan (*Cinnamomum zeylanicum*). Thèse de Doctorat : Pharmacie : Université de Picardie Jules Verne.

Bellifa S. (2014). Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Thèse de Doctorat : Biologie cellulaire et biochimie : Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen- Algeria.

Bellifa, S., Hassaine, H., Terki, I. K., Didi, W., M'hamedi, I., Lachachi, M., ... & Gaouar, S. (2016). *Klebsiella Pneumoniae* Isolated from Urinary Catheter at the. *American Journal of Microbiology and Biotechnology*, 3(2), 13-17

Belmont M. (2013). *Lavandula angustifolia M., Lavandula latifolia M., Lavandula x intermedia E.*: Etudes botaniques, chimiques et thérapeutiques. Thèse de Doctorat : Pharmacie : Université Joseph Fourier- Faculté de Pharmacie de Grenoble.

Beloin C., Roux A., Ghigo J.M. (2008). *Escherichia coli* biofilms. In *Bacterial Biofilms*. Springer, Berlin, Heidelberg, 249-289.

Benyagoub E., Nabbou N., Sirat M., Dahlis Z. (2014). Propriétés Antibactériennes et constituants phytochimiques des extraits de la Lavande de la région de Tlemcen et leur effet sur quelques espèces bactériennes responsables d'Infection Alimentaire= Antibacterial and Phytochemical Constituents of Lavender Extracts from the Region of Tlemcen and Their Effect

Bezalwar, P. M., & Shuddhalwar, P. P. (2013). A quest of anti-biofilm activity of *Zingiber officinale* root and *Coriandrum sativum* seed extract against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Sci. Res*, 4, 2581.

Bezoui M. (2016). Biofilms bactériens et leur implication en pathologie humaine. Thèse de Doctorat : Pharmacie : Université Mohammed V-Rabat.

- Bingen E. (1998).** Facteurs de virulence d'*Escherichia coli* dans les infections urinaires de l'enfant. Archives de pédiatrie, 5, 279S-281S.
- Bissingou E. (2019).** Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylocoques isolées des infections hospitalière et communautaire, cas de l'hôpital Bamba marie mutombo (hbmm).Thèse de doctorat : Pharmacie : Université de Kinshasa.
- Black, C. D., Herring, M. P., Hurley, D. J., & O'Connor, P. J. (2010).** Ginger (*Zingiber officinale*) reduces muscle pain caused by eccentric exercise. *The Journal of Pain*, 11(9), 894-903.
- Boudjema D. (2015).** Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Enterobacter cloacae*. Thèse de Doctorat : Microbiologie : Université Abou Bekr Belkaid–Tlemcen- Algérie.
- Boughendjioua H. (2017).** Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Lavandula officinalis* cultivées dans la région de Skikda-Algérie. Chemical composition and antibacterial activity of essential oil of *Lavandula officinalis* grown in the region of Skikda-Algeria. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège.
- Brian-Jaisson F. (2014).** Identification et caractérisation des exopolymères de biofilms de bactéries marines. Thèse de Doctora : Microbiologie / Biochimie : Université de Toulon-France.
- Brousse, M. Cachia, F. Chabert, N. Chavaillon, V. Claustres-Bonnet, L. Comparot, N. Delaroziere, J. Desmons. S. Douret-Boutarin, O. Dumas, J. Gardon, M. Jean, E. Joutel, Brun-Buisson C. (2005).** Risques et maîtrise des infections nosocomiales en réanimation: texte d'orientation SRLF/SFAR. *Réanimation*. 14(6): 463-471.
- Bruyère F ; Lafaurie M. (2013).** Infections associées aux soins et infections nosocomiales en urologie. EMC - Urologie - 18 - 080 - A – 10.
- Budzynska A., Wieckowska-Szakiel M., Sadowska B., Kalemba D., Rozalska B. (2011).** Antibiofilm activity of selected plant essential oils and their major components. *Pol J Microbiol*, 60(1), 35-41.
- Burguiere M. (2018).** Etude de pertinence et d'efficience de l'utilisation des dispositifs médicaux en chirurgie urologique. Thèse de doctorat : Pharmacie : Université Toulouse III Paul Sabatier, 2018, pp 23-24

Butin A. (2018). Le gingembre : de son utilisation ancestrale à un avenir promoteur. Thèse de doctorat : Pharmacie : Université de Lorraine.

C

Caron F. (2003). Physiopathologie des infections urinaires nosocomiales. *Médecine et maladies infectieuses*. 33 : 438 –446

Cazau, G. (2017). Les dispositifs médicaux de l'incontinence urinaire délivrent en officine. Thèse de doctorat : Pharmacie : Université Toulouse III Paul Sabatier

CCLIN. (2012). Sondage Urinaire. www.cclin-arlin.fr.

Chandki R., Banthia P., Banthia R. (2011). Biofilms: A microbial home. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(2), 111.

Chaouche Thinina A; Arab K; Laoufi R; Malya M. (2018). Inhibition du biofilm formé par *Klebsiella pneumoniae* responsable d'infection urinaire par l'huile essentielle et les polyphénols de *Lavandula officinalis*. *SAGREN*, 02 (02), pp 39-45.

Christensen GD., Simpson WA., Bisno AL., Beachy EH. (1982). Adherence of biofilm producing strains of *Staphylococci epidermidis* to smooth surfaces. *Infection and Immunity* 37: 318-326

Christensen GD., Simpson WA., Younger JA., Baddour LM., Barrett FF., Melton DM. (1985). Adherence of coagulase negative Staphylococci to plastic tissue cultures: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*. 22:996–1006.

Chu C.J., Kemper K.J. (2001). Lavender (*Lavandula spp.*). Longwood Herbal Task Force, 32.

Chung P.Y. (2016). The emerging problems of *Klebsiella pneumoniae* infections: carbapenem resistance and biofilm formation. *FEMS microbiology letters*, 363(20). 2018.

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(1-2), 1-17.

Condò C., Anacarso I., Sabia C., Iseppi R., Anfelli I., Forti L., Messi P. (2020). Antimicrobial activity of spices essential oils and its effectiveness on mature biofilms of human pathogens. *Natural product research*, 34(4), 567-574.

Czajkowski R., Jafra S. (2009). Quenching of acyl-homoserine lactone-dependent quorum sensing by enzymatic disruption of signal molecules. *Acta Biochimica Polonica*, 56(1).

D

Daffe F.M. (2018). Surveillance de la resistance aux antimicrobiens des souches de *klebsiella pneumoniae* isolees au laboratoire rodolphe merieux de 2016 A 2017. Thèse de Doctorat : Pharmacie : Université de Bamako.

Das, A., Dey, S., Sahoo, R. K., Sahoo, S., & Subudhi, E. (2019). Antibiofilm and antibacterial activity of essential oil bearing *zingiber officinale rosc.*(ginger) rhizome against multi-drug resistant isolates. *journal of essential oil bearing plants*, 22(4), 1163-1171.

Decho A.W., Norman R. S., Visscher P.T. (2010). Quorum sensing in natural environments: emerging views from microbial mats. *Trends in microbiology*, 18(2), 73-80.

Denner S.S. (2009). *Lavandula angustifolia* miller: english lavender. *Holistic Nursing Practice*, 23(1), 57-64.

Deotale, V. S., Attal, R., Joshi, S., & Bankar, N. (2015). Correlation between biofilm formation and highly drug resistant uropathogens (HDRU). *International Journal of Current Research and Review*, 7(2), 61.

Deville S. (2010). La Dispensation des dispositifs médicaux a l'officine quelques exemples. Thèse de doctorat : Pharmacie : Université Henri Poincaré de Nancy 1.

Djelloul Daouadji S. (2010). Détection de biofilm a staphylocoques sur cathéters veineux. Mémoire de Magister. Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen- Algeria.

Doghri I. (2015). Interactions moléculaires entre microorganismes au sein de biofilms en milieu marin: mise en évidence de biomolécules antibiofilm. Thèse de Doctorat : Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie : Université de La Rochelle.

Donlan R. M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*, 8(9), 881.

Dunne W.M. (2002). Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately?. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 155-166.

Dupont F., Guignard J.L. (2007). Systématique moléculaire, Abrégé de botanique. Masson, Issy-les-Moulineaux.

Durocher A. (2005). L'infection nosocomiale comme indicateur de (non) qualité des soins: l'exemple de la réanimation (Commentaire). *Sciences sociales et santé*, 23(3), 59-68.

E

Edet F. (2004). La cannelle de ceylan et ses activités biologiques. Thèse de Doctorat : Pharmacie : Université Joseph Fourier.

El Azzouzi F., Zidane L. (2015). La flore médicinale traditionnelle de la région de Béni-Mellal (Maroc). *Journal of Applied Biosciences*, 91, 8493-8502.

El-Ganiny A.M., Shaker G.H., Aboelazm A.A., El-Dash H.A. (2017). Prevention of bacterial biofilm formation on soft contact lenses using natural compounds. *Journal of ophthalmic inflammation and infection*, 7(1), 11.

Elharas K., Daagare A., Mesifioui A., Ouhssine M. (2013). Activité antibactérienne de l'huile essentielle des inflorescences de *Laurus Nobilis* et *Lavandula Angustifolia*. *Afrique Science: Revue Internationale des Sciences ET Technologie*, 9(2), 134-141.

Encyclopédie des plantes médicinales. Larousse. (2007).

Espinasse F., Page B., Cottard-Bouelle B. (2010). Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue Francophone des Laboratoires* .426, 51-63.

Essouh C .Y. (2013). Étude épidémiologique de souches de *Pseudomonas aeruginosa* responsables d'infections et de leurs bactériophages pour une approche thérapeutique.

Etoubleau C., Reveret M., Brouet D., Badier I., Brosset P., Fourcade L., Guignonis V. (2009). Moving from bag to catheter for urine collection in non-toilet-trained children suspected of having urinary tract infection: a paired comparison of urine cultures. *The Journal of pediatrics*, 154(6), 803-806.

F

Faivre, C., Lejeune, R., Staub, H., & Goetz, P. (2006). *Zingiber officinale* Roscoe. *Phytothérapie*, 4(2), 99-102.

Falcou L., Davido B., Even A., Bouchand F., Salomon J., Sotto A., Dinh A. (2018). Stratégie préventive originale des infections urinaires symptomatiques chez les patients porteurs d'une vessie neurologique: l'interférence bactérienne, état de l'art. *Progrès en Urologie*, 28(6), 307-314.

Fanthou L. (2016). L'étude du biofilm de souches de *Escherichia coli* permet-elle de différencier les infections urinaires des bactériuries non pathologiques en pédiatrie ?. Thèse de Doctorat : Médecine : Université de Limoges.

Favre L. (2017). Caractérisation par analyse métabolomique de biomarqueurs bactériens au sein de biofilms marins. Thèse de Doctorat : Ecologie chimique : Université de Toulon- France.

Feïstl P. (2016). Le point sur les sondes urinaires. 16 ème journée Caennaise de prévention des IAS. Pp 2-6

Filloux A., Vallet I. (2003). Biofilm: mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. M/S: médecine sciences, 19(1), 77-83.

Flemming H.C. (2011). The perfect slime. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 86(2), 251-259.

Flemming H.C., Wingender J. (2010). The biofilm matrix. Nature Reviews microbiology, 8(9), 623-633.

Florence R. (2016). Epidémiologie de la résistance chez les entérobactéries isolées sur les ECBU réalisés dans un service d'urgence .Thèse de doctorat : Médecine : Université Paris

Frédérique I. et Michel G. (2010). Atelier Europharmat « LES SONDES DE FOLEY ».pp 7

G

Gad, G. F. M., El-Feky, M. A., El-Rehewy, M. S., Hassan, M. A., Abolella, H., & Abd El-Baky, R. M. (2009). Detection of *icaA*, *icaD* genes and biofilm production by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from urinary tract catheterized patients. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 3(05), 342-351

Gauthier M. (2014). Evaluation des pratiques professionnelles concernant l'utilisation du sondage vésical chez les personnes âgées aux urgences du chu de Toulouse et du centre hospitalier du val d'Ariège. Thèse de doctorat : Médecine générale

Gilmore B.F. (2011). Antimicrobial ionic liquids. In *Ionic Liquids: Applications and Perspectives*. IntechOpen, pp, 593.

Goulter R.M., Gentle I.R., Dykes G.A. (2009). Issues in determining factors influencing bacterial attachment: a review using the attachment of *Escherichia coli* to abiotic surfaces as an example. *Letters in applied microbiology*, 49(1), 1-7.

Grand P. (2009). *Lavandula angustifolia* Mill et son huile essentiel. Thèse de Doctorat : Pharmacie : Université de Nantes- Faculté de Pharmacie, pp, 19-20.

Guérin F. (2015). Infections à *Enterobacter cloacae* complex: résistance aux antibiotiques et traitement. Journal des Anti-infectieux, 17(3), 79-89.

Guillet C. (2018). L'accès au marché en France du dispositif médical relevant d'une inscription en nom de marque. Thèse de doctorat : Pharmacie : Université de Poitiers

H

Habib S. (2012). Highlights for management of a child with a urinary tract infection. International journal of pediatrics, 2012.

Hajhashemi V., Ghannadi A., Sharif B. (2003). Anti-inflammatory and analgesic properties of the leaf extracts and essential oil of *Lavandula angustifolia* Mill. Journal of ethnopharmacology, 89(1), 67-71.

Hall C.W., Mah T.F. (2017). Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria. FEMS microbiology reviews, 41(3), 276-301.

Hamasalih, R. M., & Abdulrahman, Z. F. A. (2019). Antibiofilm potency of ginger (*Zingiber officinale*) and quercetin against *staphylococcus aureus* isolated from urinary tract catheterized patients. *Applied ecology and environmental research*, 18(1), 219-236.

Haras D. (2005). Biofilms et altérations des matériaux: de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. Matériaux & Techniques, 93, s-27.

Harnist F. (2013). L'huile essentielle de *lavande officinale* (état des connaissances sur ses potentialités thérapeutiques). Thèse de Doctorat : Pharmacie : Université de Strasbourg.

Hatem N.A., Najah Z.M. (2016). Isolation and elucidation of some chemical constituents of *Lavandula officinalis*. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 8(3), 394-401.

Henrici A.T. (1933). Studies of freshwater bacteria: I. A direct microscopic technique. Journal of bacteriology, 25(3), 277.

Hoff M., Deluzarche F. (2020). Index Collectorum Herbarii Strasburgiensis (STR). Inventaire des collecteurs et des séries d'exsiccata de l'Herbier de l'Université de Strasbourg (STR). Bulletin Pro. Herbario, (2), 247.

Høiby N. (2017). A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *Apmis*, vol. 125, no 4, p. 272-275.

Høiby N., Ciofu O., Johansen H.K., Song Z.J., Moser C., Jensen P.Ø., Bjarnsholt T. (2011). The clinical impact of bacterial biofilms. *International journal of oral science*, 3(2), 55-65.

Hou W., Sun X., Wang Z., Zhang Y. (2012). Biofilm-forming capacity of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* from ocular infections. *Investigative ophthalmology & visual science*, 53(9), 5624-5631.

Hounane N. (2011). Acteurs de risque des infections urinaires nosocomiales Etude Cas Témoins. Thèse de Doctorat : Médecine : Université Cadi Ayyad.

J

Jabalameli F., Mirsalehian A., Khoramian B., Aligholi M., Khoramrooz S. S., Asadollahi P., Emaneini M. (2012). Evaluation of biofilm production and characterization of genes encoding type III secretion system among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients. *Burns*, 38(8), 1192-1197.

Jacobsen S.M., Stickler D.J., Mobley H.L.T., Shirliff, M.E. (2008). Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical microbiology reviews*, 21(1), 26-59.

Jamal D. (2015). Influence de stress environnementaux sur les propriétés physicochimiques de jeunes biofilms en cours de formation: étude par spectroscopies vibrationnelles infrarouge-Raman et de force AFM. Thèse de Doctorat : Chimie : Université de Lorraine- France.

Jamal M., Ahmad W., Andleeb S., Jalil F., Imran M., Nawaz M.A., Kamil M.A. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(1), 7-11.

Jouault S. (2012). La qualité des huiles essentielles et son influence sur leur efficacité et sur leur toxicité. Thèse de Doctorat : Pharmacie : Université de Lorraine.

K

Kaplan J.Á. (2010). Biofilm dispersal: mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *Journal of dental research*, 89(3), 205-218.

Kara Terki I. (2014). Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen. Thèse de Doctorat : maîtrise du développement microbien : Université Abou Bekr Belkaid-Algérie.

Karatan E., Watnick P. (2009). Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 73(2), 310-347.

Karigoudar R.M., Karigoudar M.H., Wavare S.M., Mangalgi S.S. (2019). Detection of biofilm among uropathogenic *Escherichia coli* and its correlation with antibiotic resistance pattern. *Journal of laboratory physicians*, 11(1), 17.

Karunakaran E., Mukherjee J., Ramalingam B., Biggs C.A. (2011). “Biofilmology”: a multidisciplinary review of the study of microbial biofilms. *Applied microbiology and biotechnology*, 90(6), 1869-1881.

Kchich O. (2018). Prise en charge des infections ostéo-articulaires sur matériel d’ostéosynthèse (à propos de 22 cas). Thèse de Doctorat en Médecine : Faculté de médecine et pharmacie-Maroc.

Kerr K.G., Snelling A.M. (2009). *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. *Journal of Hospital Infection*, 73(4), 338-344.

Keskin D., Toroglu S. (2011). Studies on antimicrobial activities of solvent extracts of different spices. *Journal of Environmental Biology*, 32(2), 251.

Ketz F. (2016). Infections urinaires hautes aux urgences : Incidence et facteurs associés au bon diagnostic. Thèse de doctorat : Médecine : Université Paris Diderot - Paris 7

Khadir A. (2013). Effet inhibiteur de certains extraits de plantes aromatiques sur des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline SARM isolées du CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat de Tlemcen

Khalilzadeh P. (2009). Formation de biofilm à *Pseudomonas aeruginosa* : Evaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing. Thèse de Doctorat : Microbiologie : Université de Toulouse, III-Paul Sabatier.

Khuriati, A., & Fachriyah, E. (2018). Electrohydrodynamic (edh) drying of ginger slices (*zingiber officinale*). *JPhCS*, 1025(1), 012015.

Kim S.M., Lee H.W., Choi Y.W., Kim S.H., Lee J.C., Lee Y.C., Kim, J. (2012). Involvement of curli fimbriae in the biofilm formation of *Enterobacter cloacae*. *The Journal of Microbiology*, 50(1), 175-178.

Kim Y.G., Lee J.H., Kim S.I., Baek K.H., Lee J. (2015). Cinnamon bark oil and its components inhibit biofilm formation and toxin production. *International journal of food microbiology*, 195, 30-39.

Kim, H. S., & Park, H. D. (2013). Ginger extract inhibits biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* PA14. *PloS one*, 8(9), e76106.

Kim, H. S., Lee, S. H., Byun, Y., & Park, H. D. (2015). 6-Gingerol reduces *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and virulence via quorum sensing inhibition. *Scientific reports*, 5, 8656.

Kordmahaleh F.A., Shalke S. E. (2013). Bacterial biofilms: Microbial life on surfaces. *Journal of Biology*, 2(5), 242-248.

Kremer A.N., Hoffmann H. (2012). Subtractive hybridization yields a silver resistance determinant unique to nosocomial pathogens in the *Enterobacter cloacae* complex. *Journal of clinical microbiology*, 50(10), 3249-3257.

Kriouille M. (2016). Les infections nosocomiales au service d'urologie du CHU du HASSAN II –FES. Thèse de doctorat : Pharmacie

Kumar, L., Chhibber, S., & Harjai, K. (2013). Zingerone inhibit biofilm formation and improve antibiofilm efficacy of ciprofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Fitoterapia*, 90, 73-78.

L

Lagrafeuille R. (2016). Activité anti-biofilm de *Lactobacillus* vis- à- vis de *Klebsiella pneumoniae*. Thèse de Doctorat : Microbiologie : Université d'Auvergne.

Lebeaux D., Ghigo J. M., LUCET J.C. (2014). Physiopathologie et prévention des infections liées aux dispositifs médicaux implantés. *La Revue du praticien*, 64(5), 620-625.

Lebeaux D., Ghigo J.M. (2012). Les infections associées aux biofilms Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale ?. *médecine/sciences*, 28, 727-39.

Lebeaux D., Ghigo J.M. (2013). Des adversaires intraitables...?: Biofilm, la Société des Microbes. *Biofutur* (Puteaux), (341), 34-39.

Lebeaux, D., Lucet, J. C., & Barbier, F. S. (2016). Nouvelles recommandations pour les infections associées au biofilm: implications en réanimation. *Réanimation*, 25(3), 308-317

Lemort, M. L., Neuville, S., Medus, M., Guedet, P., Saada, M., Aumaître, H., & Lecaillon, E. (2006). Évolution comparée de la sensibilité de souches de *Escherichia coli* isolées d'infections urinaires de patients consultant aux urgences et de patients hospitalisés en 2002 et 2004 à l'hôpital de Perpignan. *Pathologie Biologie*, 54(8-9), 427-430.

Léone, M., Arnaud, S., Boisson, C., Blanc-Bimar, M. C., & Martin, C. (2000). Infections urinaires nosocomiales sur sonde en réanimation : physiopathologie, épidémiologie et prophylaxie. In *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation* (Vol. 19, No. 1, pp. 23-34). Elsevier Masson.

Lewis K. (2007). Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nature Reviews Microbiology*, 5(1), 48-56.

Lobo, A. S., Moosabba, M. S., Tellis, R., Roche, R. (2018). Extended spectrum beta-lactamase production and biofilm formation in *Klebsiella pneumoniae* isolates from urinary tract samples: A tertiary care hospital experience.

Lukuke H.M., Kasamba E., Mahuridi A., Ngatu N.R., Narufumi S., Mukengeshayi A.N., Malou V ; Makoutode M ; Kaj, F. M. (2017). L'incidence des infections nosocomiales urinaires et des sites opératoires dans la maternité de l'Hôpital Général de Référence de Katuba à Lubumbashi en République Démocratique du Congo. *Pan African Medical Journal*, 28(1).

M

M. Lory, A. Manzon, C. Pariset, C. (2012). France Ramier, M. Robelus, E. Sitjas, N. Check list sondage urinaire a demeure.

M'Hamedi I. (2015). Evaluation de la formation de biofilms des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées de dispositifs médicaux au CHU de Tlemcen. Thèse de Doctorat : Microbiologie : Université Abou Bekr Belkaid- Algérie.

Maharjan, G., Khadka, P., Siddhi Shilpakar, G., Chapagain, G., Dhungana, G. R. (2018). Catheter-associated urinary tract infection and obstinate biofilm producers. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2018.

- Mahmood, M. T., & Abdullah, B. A. (2015).** The relationship between biofilm formation and presence of fimH and mrkD genes among *E. coli* and *K. pneumoniae* isolated from patients in Mosul. *Mosul Journal of Nursing*, 3(1), 34-42.
- Mangwani N., Dash H.R., Chauhan A., Das S. (2012).** Bacterial quorum sensing: functional features and potential applications in biotechnology. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 22(4), 215-227.
- Mao, Q. Q., Xu, X. Y., Cao, S. Y., Gan, R. Y., Corke, H., & Li, H. B. (2019).** Bioactive compounds and bioactivities of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Foods*, 8(6), 185.
- Marchal M. (2010).** Etudes des biofilms bactériens arsénite-oxydant. Thèse de Doctorat : Science de vivants : Université de Strasbourg.
- Marić S., Vraneš J. (2007).** Characteristics and significance of microbial biofilm formation. *Periodicum Bilogorum*, 109(2), 115-121.
- Martinez L.R., Casadevall A. (2007).** *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on surface support and carbon source and reduces fungal cells susceptibility to heat, cold and UV light. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(14), 4592- 4601.
- Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay D.J., Fatma T., Rattan A. (2006).** Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian journal of medical microbiology*, 24(1), 25.
- Matyar F., Kaya A., Dinçer S. (2008).** Antibacterial agents and heavy metal resistance in Gram-negative bacteria isolated from seawater, shrimp and sediment in Iskenderun Bay, Turkey. *Science of the Total Environment*, 407(1), 279-285.
- McDougald D., Rice S.A., Barraud N., Steinberg P.D., Kjelleberg S. (2012).** Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nature Reviews microbiology*, 10, 39-50.
- McGillivray D., Mok E., Mulrooney E., Kramer M.S. (2005).** A head-to-head comparison: "clean-void" bag versus catheter urinalysis in the diagnosis of urinary tract infection in young children. *The Journal of pediatrics*, 147(4), 451-456.
- Medeiros A.C.D.A.P. (2016).** Etude expérimentale de la formation des biofilms sous conditions hydrodynamiques contrôlées. Thèse de Doctorat : Mécanique des fluides, Energétique, Procédés : Université Grenoble Alpes.

Menaceur F. (2015). Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigéron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier. Thèse de Doctorat : Sciences alimentaires : Ecole Nationale supérieure Agronomique El- Harrach- Alger.

Minérales naturelles. Thèse de Doctorat : Ingénieries Microbienne et Enzymatique : Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier.

Miranda, E., Boillat, C., & Kherad, O. (2017). Eviter l'utilisation inappropriée des sondes urinaires. In *Forum Médical Suisse* (Vol. 17, No. 05, pp. 102-104). EMH Media.

Mittal R., Aggarwal S., Sharma S. (2009). Urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Infection and Public Health*, 2: 101—111.

Mittal, R., Aggarwal, S., Sharma, S., Chhibber, S., & Harjai, K. (2009). Urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*: a minireview. *Journal of infection and public health*, 2(3), 101-111.

Moradali M.F., Ghods S., Rehm B.H. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 39.

Mostafa, N. M. (2018). Antibacterial activity of ginger (*Zingiber officinale*) leaves essential oil nanoemulsion against the cariogenic *Streptococcus mutans*. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 8(09), 034-041.

Mrich H. (2018). Profil de l'antibio-résistance de l'infection urinaire nosocomiale en urologie expérience du service d'urologie CHU Mohammed VI. Thèse de Doctorat : Médecine : Faculté de Médecine et pharmacie- Marrakech.

Mulvey M.A., Schilling J.D., Hultgren S.J. (2001). Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. *Infection and immunity*, 69(7), 4572-4579.

N

N'GG, A., Tetchi, F. A., & Coulibaly, A. (2004). Propriétés physico-chimiques de l'amidon de gingembre (*Zingiber officinale roscoe*) de Côte d'Ivoire. *Tropicultura*, 22(2), 77-83.

Nasr SA., AbuShady H M., Hussein HS. (2012). Biofilm formation and presence of *ica* AD gene in clinical isolates of staphylococci. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics* 1110-8630.

Nealson K.H., Platt T. Hastings J.W. (1970). Cellular control of the synthesis and activity of the bacterial luminescent system. *Journal of Bacteriology* 104(1): 313-322.

Nickel J.C., Ruseska I., Wright J.B., Costerton J.W. (1985). Tobramycin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* cells growing as a biofilm on urinary catheter material. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 27(4), 619-624.

Nicolas J. (2012). Plantes médicinales du Nord de Madagascar. Madagascar :jardin du monde

Niveditha S., Pramodhini S., Umadevi S., Kumar S., Stephen S. (2012). The isolation and the biofilm formation of uropathogens in the patients with catheter associated urinary tract infections (UTIs). *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 6(9), 1478.

Nyaledome A.I. (2016). *Pseudomonas aeruginosa* : Epidémiologie et état actuel des résistances à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed v. Thèse de Doctorat : Pharmacie : Université Mohammed V–Rabat.

O

Olsen A., Arnqvist A., Hammar M., Normark S. (1993). Environmental regulation of curli production in *Escherichia coli*. *Infectious agents and disease*, 2(4), 272-274.

On Some Bacterial Species Responsible for Food Poisoning. *Revue des Bioressources*, 257(3242), 1-11.

O'Toole G., Kaplan H. B., Kolter R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Reviews in Microbiology*, 54(1), 49-79.

Otto K., Hermansson M. (2004). Inactivation of ompX causes increased interactions of type 1 fimbriated *Escherichia coli* with abiotic surfaces. *Journal of bacteriology*, 186(1), 226-234.

Oubekka, S. D. (2012). *Dynamique réactionnelle d'antibiotiques au sein des biofilms de Staphylococcus aureus : apport de la microscopie de fluorescence multimodale* (Doctoral dissertation). Thèse de doctorat : Microbiologie : L'Université Paris Sud XI

P

Parsek M.R., Greenberg E.P. (2005). Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends in microbiology*, 13(1), 27-33.

Pécastaings S. (2010). Apport de modèles de biofilms à *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila* à la maîtrise de la qualité microbiologique des réseaux d'eaux

Pierre G. (2010). Caractérisation biochimique d'exopolymères d'origine algale du bassin de Marennes-Oléron et étude des propriétés physico-chimiques de surface de micro-organismes impliqués dans leur adhésion. Thèse de Doctorat : Biochimie : Université de La Rochelle.

Pilly E. (2020). Maladies infectieuses et tropicales. 6^{ème} édition. Paris : ALLINA

Ponnusamy P., Natarajan V., Sevanan M. (2012). In vitro biofilm formation by uropathogenic *Escherichia coli* and their antimicrobial susceptibility pattern. Asian Pacific journal of tropical medicine, 5(3), 210-213.

R

Raghu F. (2016). Epidémiologie de la résistance chez les entérobactéries isolées sur les ECBU réalisés dans un service d'urgence. Thèse de Doctorat: Médecine: Université Paris Diderot - Paris 7.

RAISIN Working Group. (2009). "RAISIN"—a national programme for early warning, investigation and surveillance of healthcare-associated infection in France. Euro surveillance, 14(46), 19408.

Raksha L., Gangashettappa N., Shantala G.B., Nandan B.R., Sinha D. (2020). Study of biofilm formation in bacterial isolates from contact lens wearers. Indian Journal of Ophthalmology, 68(1), 23.

Ranasinghe P., Galappaththy P. (2016). Health benefits of *Ceylon cinnamon (Cinnamomum zeylanicum)*: a summary of the current evidence. Ceylon Medical Journal, 61(1).

Rebiahi S A. (2014). Caractérisation de souche de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibioresistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat Tlemcen.

Ronald A. (2002). The etiology of urinary tract infection: traditional and emerging pathogens. The American journal of medicine, 113(1), 14-19.

Roriz A. (2018). Le quick audit est-il un gage de prévention des infections urinaires liées à la pose des sondes vésicales ?.

Roux A., Ghigo J.M. (2006). Les biofilms bactériens. Bulletin de l'Académie vétérinaire de France.

S

Sadraei H., Asghari G., Rahmati M. (2019). Study of antispasmodic action of *Lavandula angustifolia* Mill hydroalcoholic extract on rat ileum. *Journal of Herbmed Pharmacology*, 8(1).

Sambyal S.S., Sharma P., Shrivastava D. (2017). Anti-biofilm activity of selected plant essential oils against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*, 6(3).

Sa-Nguanpuag, K., Kanlayanarat, S., Srilaong, V., Tanprasert, K., & Techavuthiporn, C. (2011). Ginger (*Zingiber officinale*) oil as an antimicrobial agent for minimally processed produce: a case study in shredded green papaya. *International Journal of Agriculture & Biology*, 13(6).

Sanou J ; Bonkougou P.Z ; Traoré S.S ; Sanon B.G ; Kan D.C ; Zango B ; Zoungra J. (2012). Évaluation de la pratique du sondage vésical aux urgences viscérales du centre hospitalier universitaire yalgado ouédraogo d'Ouagadougou. SARAF, Société de l'Anesthésie Réanimation d'Afrique Francophone.

Sauer K., Camper A.K., Ehrlich G.D., Costerton, J. W., Davies, D. G. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *Journal of bacteriology*, 184(4), 1140-1154.

Sauer K., Cullen M.C., Rickard A.H., Zeef L.A.H., Davies D.G., Gilbert P. (2004). Characterization of nutrient-induced dispersion in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm. *Journal of bacteriology*, 186(21), 7312-7326.

Sebiomo, A., Awofodu, A. D., Awosanya, A. O., Awotona, F. E., & Ajayi, A. J. (2011). Comparative studies of antibacterial effect of some antibiotics and ginger (*Zingiber officinale*) on two pathogenic bacteria. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 3(1), 18-22.

Sefraoui I. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien. Thèse de doctorat de Tlemcen

Shahwany A.W., Tawfeeq H.K., Hamed S.E. (2016). Antibacterial and anti-biofilm activity of three phenolic plant extracts and silver nanoparticles on *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*. *J. Biomed. Biotechnol*, 4, 12-18.

Simain-Sato F., Rompen E., Heinen E. (2010). Biofilms bactériens et médecine dentaire. *Revue medicale de Liege*, 65, 569-573.

Singh, R., & Singh, K. (2019). *Zingiber officinale*: A SPICE WITH MULTIPLE ROLES.

Soares A. (2019). Exploration de l'adaptation de *Pseudomonas aeruginosa* en biofilm : rôle dans l'échec des traitements antibiotiques. Thèse de Doctorat : Sciences de la Vie et de la Santé : Université de Rouen Normandie.

Soto S.M., Marco F., Guiral E., Vila J. (2011). Biofilm formation in uropathogenic *Escherichia coli* strains: Relationship with urovirulence factors and antimicrobial resistance. *Clinical Management of Complicated Urinary Tract Infection*, 159-70.

Soto S.M., Smithson A., Martinez J.A., Horcajada J.P., Mensa J., Vila J. (2007). Biofilm formation in uropathogenic *Escherichia coli* strains: relationship with prostatitis, urovirulence factors and antimicrobial resistance. *The Journal of urology*, 177(1), 365-368.

Spormann A.M. (2008). Physiology of microbes in biofilms. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 322, 17-36.

Squinazi F. (2013). Biofilm et Matériaux : des réseaux intérieurs de distribution de l'eau, pp, 06.

Stepanovic S., Vukovic D., Dakic I., Savic B.S., Vabic-Vlahovic M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*. 40: 175–179

Sultan A.M., Nabel Y. (2019). Tube method and Congo red agar versus tissue culture plate method for detection of biofilm production by uropathogens isolated from midstream urine: Which one could be better?. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 20(1), 60-66.

Sweedan E.G. (2018). Estimate Antimicrobial activity and Anti-biofilm formation of bark *Cinnamomum zeylanicum* on *Klebsiella pneumoniae* isolated from Urinary Tract Infections. *Iraqi Journal of Science*, 1560-1566.

T

Teissere G. (2011). État des lieux sur une pratique courante : le sondage urinaire évacuateur en salle de naissance. Mémoire de magister. Université Rouen.

Tixier F., Carré E. (2014). Les sondes urinaires vésicales. *Le Moniteur HOSPITAUER*. Avril 2014, n°265

Tolker-Nielsen T., Molin S. (2000). Spatial organization of microbial biofilm communities. *Microbial ecology*, 40(2), 75-84.

Tremblay Y.D., Hathroubi S., Jacques M. (2014). Les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78(2), 110-116.

Trifi A., Abdellatif S., Oueslati M., Zribi M., Daly F., Nasri R., Lakhel S.B. (2017). Infections nosocomiales: état des lieux dans un service de réanimation nosocomial infections: current situation in a resuscitation-unit. *La Tunisie médicale*, 95(03).

U

Umamageswari S.S.M., Priya M.M. (2019). Biofilm formation by uropathogenic *Escherichia coli* and its antibiotic resistance pattern in tertiary care centre. *International Journal of Scientific Research*, 8(10).

V

Van Houdt R., Michiels C.W. (2005). Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Research in microbiology*, 156(5-6), 626-633.

Van Oss C.J., Giese R.F., Wu W. (1997). On the predominant electron-tonicity of polar solid surfaces. *The Journal of Adhesion*, 63(1-3), 71-88.

Verma, S., & Patil, S. S. (2016). In vitro biofilm formation by uropathogenic bacteria and their antibiotic susceptibility pattern. *J Krishna Inst Med Sci Univ*, 5(3), 61-7.

Vialard N. (2008). Remèdes et recettes à la lavande. Edition Rustica.

Vidakovic L., Singh P.K., Hartmann R., Nadell C.D., Drescher K. (2018). Dynamic biofilm architecture confers individual and collective mechanisms of viral protection. *Nature microbiology*, 3(1), 26-31.

Vieu G. (2014). Diversité génétique des isolats de *Staphylococcus aureus* producteurs de toxine de Panton-Valentine isolés au CHU de Toulouse. Thèse de doctorat : Pharmacie : Université de Toulouse, Paul Sabatier

Vildé J.L., Chidiac, C., Mangin, Ph. (2002). Infections urinaires nosocomiales, conférence de consensus co-organisée par la SPILF et l'AFU ; institut Pasteur, Paris. P : 7

Villers N. (2010). Dispositifs médicaux pour abord urinaire et conseils pratiques aux patients. Thèse de doctorat : Pharmacie : Université de Nantes,

Vincent J.L., Rello J., Marshall J., Silva E., Anzueto A., Martin C.D., Reinhart K. (2009). International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *Jama*, 302(21), 2323-2329.

Vu B., Chen M., Crawford R. J., Ivanova E.P. (2009). Bacterial extracellular polysaccharides involved in biofilm formation. *Molécules*, 14(7), 2535-2554.

Weitz J. (2017). Exploration au laboratoire de la résistance aux carbapénèmes chez *enterobacter sp.* Thèse de doctorat : Biologie médicale : Université Toulouse

X

Xiao Y., Zhao F. (2017). Electrochemical roles of extracellular polymeric substances in biofilms. *Current Opinion in Electrochemistry*, 4(1), 206-211.

Z

Zehiri Y. (2019). Sondage vésical sommes-nous conformes aux recommandations. Thèse de doctorat : Médecine : Université de Maroc

ZoBell C.E. (1943). The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *Journal of bacteriology*, vol. 46, no 1, p. 39.

Zobell C.E., Allen E.C. (1935). The significance of marine bacteria in the fouling of submerged surfaces. *Journal of bacteriology*, 29(3), 239.

Zouirch F. (2018). Traitement anti-infectieux non médicamenteux en urologie. Thèse de doctorat : Pharmacie : Université de Rabat

Zubair M., Ashraf M., Arshad M., Raza A., Mustafa B., Ahsan A. (2014). Formation and significance of bacterial biofilms. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(12), 917-923.

Annexes

Annexe 01 : Les milieux de cultures

1. Le milieu de Mac Conkey

Composition théorique (en g/l d'eau distillée).

Peptones bactériologiques.....	20 g
Sels biliaries.....	1.5 g
Chlorure de sodium.....	5 g
Lactose 10 Rouge neutre.....	0.03 g
Cristal violet.....	0.001 g
Agar.....	13.5 g

PH final 7, 1 ± 0, 2

La préparation : 51.5g par 1L d'eau distillée Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

2. Le milieu Chapman

Composition :

La formule théorique de ce milieu de culture en g/l d'eau purifiée est :

Peptone.....	10 g
Extrait de viande de bœuf.....	1 g
Chlorure de sodium.....	75 g
Mannitol.....	10 g
Rouge de phénol.....	0.025 g
Agar.....	15 g

PH final: 7.4 ± 0.2

La préparation : 111g par 1L d'eau distillée Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120 °C.

3. Gélose au Cétrimide

Composition :

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone.....	20.00 g
Chlorure de magnésium.....	1.40 g
Sulfate dipotassique.....	10.00 g
Cetrimide (cetyltrimethylammonium bromide).....	0.30 g
Glycérol.....	10 ml
Agar.....	13.60 g

PH final à 25°C : 7.2 ± 0.2

La préparation : 38g par 1L d'eau distillée Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

4. Gélose Nutritive (GN)

Composition

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

La préparation : 28g par 1L l'eau distillée Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

5. Bouillon cœur cerveau (BHIB)

Composition :

Extrait de cœur.....	5.00 g
Extrait de cerveau	12.50 g
Peptone	10.00 g
Glucose.....	2.00 g
Chlorure de sodium	5.00 g
Phosphate disodique	2.50 g

PH final à 25°C : 7.4 ± 0.2

La préparation : 25g de BHIB par 1L d'eau distillée Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

Annexe 02 : Lecture de la plaque API 20 E

TABLEAU DE LECTURE DE LA GALERIE MINIATURISÉE API 20E						
Microtube	Substrat :	Caractère recherché	Révéléateur	Lecture directe ou indirecte Test (si nécessaire)	Résultat -	Résultat +
ONPG	ONPG = Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	Béta galactosidase		Lecture directe		
ADH LDC ODC	Arginine Lysine Ornithine	Arginine Dihydrolase Lysine Décarboxylase Ornithine Décarboxylase	Rouge de phénol	Lecture directe		
[CIT]	Citrate	Utilisation du citrate	BBT	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Fe III	Lecture directe		
URÉ	Urée	Uréase	Rouge de Phénol	Lecture directe		 
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase		Lecture indirecte		 
IND	Tryptophane	Tryptophanase ou production d'indole		Lecture indirecte	 	 
[VP]	Pyruvate de sodium	production d'acétoïne (3-hydroxybutanone)		Lecture indirecte		 
[GEL]	Gélatine	gélatinase	Particules de charbon	Lecture directe		
GLU à ARA = zymogramme	Substrat carboné (glucide)	Utilisation de substrats carbonés (glucides)	BBT	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃ ⁻)	Nitrate réductase		Lecture indirecte		

Annexe 03 : Lecture de la plaque API STAPH

TABLEAU DE LECTURE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLITol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites		
PAL	β -naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	<u>ZYM A + ZYM B / 10 min</u> incolore, beige-rosé, violet très pâle Violet	
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	<u>VP 1 + VP 2 / 10 min</u> incolore-rose pâle violet-rose	
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFFinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl- α D- glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl- α D- Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
<u>ADH</u>	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	rouge-violet

Résumé

Les biofilms bactériens sont à l'origine de nombreuses infections nosocomiales (IN). Ils peuvent se former sur des tissus vivants comme il se forme sur des dispositifs médicaux. Ils sont extrêmement difficiles à éradiquer dont la capacité potentielle de certaines bactéries uropathogènes : *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* à former des biofilms, peuvent expliquer leurs grandes tolérances aux antibiotiques ainsi que leurs survies dans l'environnement hospitalier.

L'objectif de notre travail vise à étudier par différentes méthodes qualitatives et quantitatives l'évaluation de la formation de biofilm chez certaines bactéries uropathogènes isolées de sondes urinaires provenant de patients hospitalisés plus de 48 heures au service de réanimation, Traumatologie et Chirurgie – CHU – Tlemcen, et en deuxième lieu on va s'intéresser à tester l'effet anti biofilm des huiles essentielles de trois plantes médicinales : *Lavandula officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum* et *Zingiber officinale Roscoe*.

Compte tenu aux conditions actuelles (COVID-19), la deuxième partie n'a pas été réalisée, donc les résultats des travaux antérieurs montrent d'une part que la capacité de souches à former des biofilms est diversifiée en fonction des méthodes utilisés, Technique de microplaque 96 puits (TCP), méthode de rouge Congo agar (CRA) et la méthode en tube (TM). D'autre part, l'huile essentielle et les extraits bruts de *Cinnamomum zeylanicum* et *Zingiber officinale Roscoe* ont révélé une bonne efficacité vis-à-vis des souches formatrices du biofilm, suivi de *Lavandula officinalis*.

Mots clés : Biofilm, Sondes urinaires, Bactéries uropathogènes, *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale Roscoe*, *Lavandula officinalis*.

Abstract

Bacterial biofilms are the cause of many nosocomial infections (IN). They can form on living tissue as it forms on medical devices. They are extremely difficult to eradicate, the potential capacity of certain uropathogenic bacteria: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Staphylococcus aureus* to form biofilms, which can explain their high antibiotic tolerances as well as their survival in the hospital environment.

The aim of our work is to study by different qualitative and quantitative methods the evaluation of biofilm formation in certain uropathogenic bacteria isolated from urinary catheters coming from patients hospitalized for more than 48 hours in the service of resuscitation, trauma and surgery - CHU - Tlemcen, and secondly we will be interested in testing the anti-biofilm effect of the essential oils of three medicinal plants: *Lavandula officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale Roscoe*.

Given the current conditions (COVID-19), the second part has not been completed, therefore the results of previous work show on the one hand that the capacity of strains to form biofilms is diversified according to the methods used, Technique 96-well microplate (TCP), Congo red agar (CRA) method and the tube method (TM). On the other hand, the essential oil and the extracts of *Cinnamomum zeylanicum* and *Zingiber officinale Roscoe* have shown good efficacy against biofilm-forming strains, followed by *Lavandula officinalis*.

Key words: Biofilm, urinary catheters, *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale Roscoe*, *Lavandula officinalis*.

المخلص

تعد الاغشية الحيوية البكتيرية مصدر العدوى المكتسبة من المستشفيات. فهي تستطيع ان تتشكل على سطح الانسجة الحية كما يمكنها ان تتشكل على الاجهزة الطبية. فمن الصعب القضاء عليها حيث القدرة المحتملة لبعض البكتيريا المسببة لأمراض الجهاز البولي مثل *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, و *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* لتشكيل الأغشية الحيوية والتي يمكن ان تفسر مقاومتها الكبيرة للمضادات الحيوية بالإضافة الى بقائها في بيئة المستشفيات.

يهدف عملنا في هذه المذكرة الى دراسة الطرق النوعية و الكمية المختلفة لتقييم تكوين الاغشية الحيوية لبعض البكتيريا المسببة لأمراض الجهاز البولي و المعزولة من القسطرات البولية (نوع من الاجهزة الطبية) القادمة من المرضى الذين تم ادخالهم الى المستشفى لأكثر من 48 ساعة في وحدة العناية المركزة، وحدة جراحة العظام، و وحدة الجراحة بولاية تلمسان. و ثانيا سنهتم باختبار تأثير الزيوت الأساسية المستخلصة من ثلاث نباتات طبية و التي هي *Lavandula officinalis*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale* على الغشاء الحيوي المشكل من طرف البكتيريا.

نظرا للظروف الحالية (COVID-19) لم يتم تحقيق الجزء الثاني من عملنا، و بالتالي تبين نتائج الدراسات السابقة من جهة ان قدرة السلالات على تكوين الاغشية الحيوية متنوعة وفقا للطرق المستخدمة: TCP, RCA, TM. تبين ان الزيوت الاساسية ل *Zingiber Officinale* و *Cinnamomum zeylanicum* ذات فعالية جيدة ضد الاغشية الحيوية المشكلة من طرف السلالات البكتيرية، *Lavandula officinalis*.

الكلمات المفتاحية: الغشاء الحيوي البكتيري، القسطرات البولية، البكتيريا المسببة لأمراض الجهاز البولي، *Cinnamomum zeylanicum*, *Zingiber officinale*, *Lavandula officinalis*.