

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire - Salhi Ahmed - Nâama

Institut des Sciences et de Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Laboratoire de recherche :

Gestion durable des ressources naturelles dans les zones arides et semi-aride



## MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de

**MASTER Académique**

En Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté Par :

**AMARA Haouaria**

**TADJ Asma**

**Thème**

---

**Evaluation du risque d'infection suite à l'utilisation  
répétée et prolongée des mêmes masques  
chirurgicaux "bavoir" pendant la pandémie du  
Covid-19.**

**Cas des étudiants "Centre Universitaire de Nâama"**

---

Soutenu le :

Devant le jury

<b>Président:</b>	M <sup>r</sup> . AMROUCHE Abdelillah	Professeur, Centre universitaire de Nâama
<b>Examineur:</b>	M <sup>r</sup> . GHERIB Mohammed	Professeur, Centre universitaire de Nâama
<b>Encadreur:</b>	M <sup>r</sup> . SEDDIKI Sidi Mohamed Lahbib	Professeur, Centre universitaire de Nâama
<b>Co-Encadreur:</b>	M <sup>elle</sup> . AISSAOUI Nadia	Docteur, Centre universitaire de Nâama

**Année universitaire 2021 / 2022**

# Remerciement



*Nous remercions ALLAH tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté et de nous avoir bénie pour la réalisation de ce travail*

*Nous tenons tout d'abord à remercier notre promoteur, Mr SEDDIKI S.M.L, Professeur au CUN de nous avoir fait confiance tout au long de ce travail et de nous avoir constamment encouragés, notamment durant la correction de ce manuscrit. Merci pour votre gentillesse et votre simplicité. Ce fut vraiment un grand honneur de travailler sous votre direction.*

*Nous remercions chaleureusement, notre co-encadreure M<sup>elle</sup> AISSAOUI Nadia, docteur au CUN pour ses précieux conseils, son soutien, son caractère attentif, sa gentillesse et son amitié.*

*NOS vifs remerciements s'adressent au Pr. AMROUCHE Abdelillah, directeur du laboratoire de recherche GRDN, de nous faire l'honneur d'accepter de présider le jury de ce mémoire et de nous avoir encouragés durant toute les cinq années, Merci pour votre générosité.*

*Nous remercions également Pr. GHERIB Mohammed, responsable de la poste graduation au CUN, de nous avoir fait l'honneur d'examiner le travail.*

*Un énorme merci au Mr. MAHDAD Moustafa Yassine, Docteur au CUN, de nous avoir aidé à avancer et à améliorer notre travail, Merci votre soutien.*

*Un merci particulier à la personne adorable M<sup>elle</sup> « KHIRI Zahia », Doctorante à l'université de Tlemcen, pour son aide, son soutien et son encouragement.*

*Nous sincère remerciement s'adresse à tous les enseignants, pour tous ce qu'ils ont faits durant les cinq années de notre formation.*

*Nous remercions également tous les ingénieurs du laboratoire de microbiologie de CUN pour leurs accueils et leurs contributions dans ce travail.*

*\*Merci\**

*À ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin et surtout les membres de notre promotion.*





## *Dédicaces*

*A Dieu, tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et la Patience de réaliser ce précieux travail*

*A l'âme de mon cœur "Maman "*

*Qui m'a vaillamment soutenu pas à pas tout au long de ma vie*

*Tu es la bougie qui illumine mon chemin et qui m'avait soutenu avec amour et espoir chaque fois que le désespoir envahit mon cœur.*

*A mon école de patience, de confiance "Mon Cher Père"*

*Papa, ce travail est le fruit de ton soutien et de tes sacrifices,*

*J'espère que mon succès soit le témoin de ta fierté.*

*A mes très chers frères et sœurs Khadidja et Fatima*

*Merci d'être toujours présents à mes côtés et de m'avoir continuellement encouragé Je vous souhaite la réussite dans votre vie et d'être comblé de bonheur.*

*A mes belles Rokaya, Warda, Fatna , Amina, Nour el houda*

*A mon adorable binôme « ASMA »*

*A les personnes qui passé avec nous des moments inoubliable, mes collègues je vous souhaite succès et la réussite*

*A la source de mon inspiration et mon courage, à qui je leurs dois de l'amour et de la reconnaissance*



*HAOUARJA*



## Dédicaces

*Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour,  
Le respect et la reconnaissance... ?*

*Ainsi, je dédie ce modeste travail*

*A mon très cher père MAAMAR*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour et le respect que je ressens pour vous. A l'homme qui m'a aidé à comprendre la vie et devenir plus forte ; Merci pour tous ce que vous m'avez appris, vos leçons sont un héritage précieux pour le reste de ma vie.*

*A ma maman DJAMILA « AICHA »*

*L'ange qui me protège pour toujours, à ma source de tendresse, de soutiens et de sacrifices, A la femme qui ne cesse de me combler d'amour, à toi la plus belle MAMAN.*

*A ma deuxième mère ZOËRA*

*A MOHAMED*

*Pour son affection et pour son soutien sans faille.*

*A mes très chères sœurs KOKO, BIZA, HADJER, MAYA et RITADDJ*

*Merci pour votre soutien et vos encouragements tout au long de mes études.*

*A mon unique frère KADIRO*

*A toute ma famille paternelle et maternelle*

*A ma chère copine, mon binôme HAOUARIA*

*Pour les moments vécus ensemble, pour ton amitié et pour ton soutien*

*A tous mes camarades de promotion*

*A mes proches amies HOUDA , FATIMA, ZINEB et WIAM.*



*AOSMA*

## المخلص :

لقد فرضت العديد من البلدان إلزامية ارتداء الأقنعة في الأماكن العامة، من أجل حد وانتقال عدوى فيروس كورونا. و برغم من ذلك، لم يحترم الكثير من الناس البروتوكول الصحي المتعلق باستخدام السليم للأقنعة الجراحية. وبالتالي، فإن الاستخدام المتكرر لنفس القناع قد يؤدي إلى عواقب منها الامراض المعدية.

تم إجراء الاستطلاع باستخدام استبيان شمل ثلاثة عشر طالباً من المركز الجامعي بالنعامة. جميع الطلاب الذين شاركوا في الاستطلاع يستخدمون الأقنعة الجراحية بشكل غير منتظم لمدة تزيد عن أسبوعين. لذلك فإن معظمهم يعانون من الحساسية

في الوقت نفسه، تم أخذ عينات من الأقنعة الجراحية المستعملة. في حين أن التحليل الميكروبيولوجي أدى إلى عزل وتحديد السلالات البكتيرية والفطرية بينت النتائج النسب الأكبر ل *Staphylococcus spp* و *Pseudomonas spp* كانت ملحوظة. *Aspergillus spp* و *Penicillium spp* هما السلالتان الأكثر تواجدا من بين السلالات الفطرية. بالإضافة إلى ذلك، تم عزل *Candida albicans* أيضاً من الأقنعة الجراحية. و بخصوص تشكيل الأغشية الحيوية لوحظت أن أغلبية السلالات المعزولة لها القدرة على ذلك، حيث كانت حساسيتها لمختلف المضادات الحيوية التي تم اختبارها متغيرة. لكن، المضاد الحيوي " الجنتاميسين " كان فعالاً ضد جميع السلالات المدروسة.

الكلمات المفتاحية : كورونا 2019, قناع جراحي, تلوث, غشاء حيوي, مقاومة, خطر العدوى.

## Résumé :

De nombreux pays ont introduit l'obligation de porter des masques dans les lieux publics, afin de limiter et de réduire le taux de contamination et la transmission du virus SARS CoV-2. Cependant, beaucoup de gens n'ont pas respecté le protocole sanitaire relatif au bon usage des masques chirurgicaux. Pourtant, l'utilisation répétée et prolongée des mêmes masques risque d'engendrer des conséquences infectieuses.

Une enquête a été menée à l'aide d'un questionnaire auprès de treize étudiants du centre universitaire de Nâama. Tous les étudiants ayant participé à l'enquête utilisaient de façon irrégulière leurs masques chirurgicaux à une période qui dépasse les deux semaines. Par conséquent, la majorité souffre d'allergie.

En parallèle, des prélèvements de masques chirurgicaux usés ont été effectués. L'analyse microbiologique a mené à l'isolement et l'identification de souches bactériennes et fongiques. La dominance de *Staphylococcus spp.* et de *Pseudomonas spp.* a été remarquable. *Aspergillus spp.* et *Penicillium spp.* ont été les souches fongiques les plus incriminées. De plus, *Candida albicans* a été également isolé des masques chirurgicaux. La majorité des souches a été révélée formatrice des biofilms. La sensibilité aux différentes familles d'antibiotiques testées a été variable; cependant, la gentamicine s'est montrée efficace contre toutes les souches incluses dans cette étude.

Mots-clés : Covid-19, masque chirurgical, contamination, biofilm, résistance, risque infectieux.

## Abstract:

Many countries have introduced the obligation to wear face masks in public places, in order to limit the contamination rate and transmission of the SARS CoV-2 virus. Meanwhile, many people have not respected the sanitary protocol related to the well use of surgical masks. Even though, the repetitive and prolonged use of the same masks can forward the risk of infectious consequences.

An investigation has been done with the help of a questionnaire for thirteen students of the Naama university center. All students who participated in this questionnaire used their surgical masks in an irregular pattern for a period of over two weeks. In consequence, the majority suffered from allergies.

In parallel, a used surgical masks sampling have been done. The microbiological analysis has led to the isolation and identification of bacterial and fungal strains. The dominance of the *Staphylococcus spp* has been noticeable. *Aspergillus spp.* and *Penicillium spp.* have been the most incriminating fungal strains. Furthermore, *Candida albicans* has also been isolated from surgical masks. The majority of the strains have been revealed as generators of biofilms.

The sensitivity to different families of tested antibiotics has been variable; meanwhile, the gentamicin has been shown effective against all strains included in this study.

Keywords: Covid-19, surgical masks, contamination, biofilm, resistance, infectious risk.

# Liste de figures

<b>FIGURE 1:</b> TAXONOMIE DES CORONAVIRUS HUMAINS (HCoV) (LEFKOWITZ ET AL., 2018).....	2
<b>FIGURE 2:</b> SCHEMA DE LA STRUCTURE DU SARS-CoV-2 (CAP ET MORELLO, 2021)..	3
<b>FIGURE 3:</b> SCHEMA DES DIFFERENTES PARTIES D'UN MASQUE CHIRURGICAL .....	7
<b>FIGURE 4:</b> STRUCTURE DE PROPYLENE (NATTA ET CORRADINI, 1967) .....	8
<b>FIGURE 5:</b> BIOFILM BACTERIEN DE <i>LISTERIA MONOCYTOGENES</i> X6400 (A) ET FONGIQUE DE <i>CANDIDA ALBICANS</i> × 1100 (B) VISUALISES PAR MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE [(SAA-IBUSQUIZA ET AL., 2012) ; (SEDDIKI ET AL., 2013)]......	11
<b>FIGURE 6:</b> DEVELOPPEMENT ET STRUCTURE D'UN BIOFILM BACTERIEN (LEBEAUX ET GHIGO, 2012).....	12
<b>FIGURE 7:</b> BIOFILM DE C. ALBICANS AU SEIN D'UN CATHETER (SEDDIKI, 2014).....	17
<b>FIGURE 8:</b> REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES MECANISMES DE RESISTANCE DES BIOFILMS FONGIQUES (RAMAGE ET AL., 2012).....	18
<b>FIGURE 9:</b> ORGANIGRAME DES DIFFERENTES DEMARCHES EXPERIMENTAL DE L'EQUETE .....	21
<b>FIGURE 10:</b> REPRESENTE LES MASQUES CHIRURGICAUX STERILES. ....	22
<b>FIGURE 11:</b> PREPARATION DES ECHANTILLONS.....	23
<b>FIGURE 12:</b> TECHNIQUE D'EMPREINTE DU MASQUE SUR LA GELOSE.....	24
<b>FIGURE 13:</b> DETECTION ET LECTURE DE BIOFILM PAR METHODE TCP.....	30
<b>FIGURE 14:</b> DISTRIBUTION DES DISQUES D'ATB. ....	31
<b>FIGURE 15:</b> PLOTTELLIPS BASE SUR L'ANALYSE DES CORRESPONDANCES MULTIPLES (ACM), ILLUSTRANT DES ELLIPSES DE CONFIANCE AUTOUR DES MODALITES DE TOUTES LES VARIABLES ETUDIEES.....	36
<b>FIGURE 16:</b> RESULTAT DU DENOMBREMENT SELON LA METHODE DE BRUN-BUISSON ET AL., (1987).....	37
<b>FIGURE 17:</b> RESULTAT DU DENOMBREMENT MICROBIEN SELON LA TECHNIQUE D'EMPREINTE. ....	38

<b>FIGURE 18:</b> OBSERVATION MICROSCOPIQUE DE LA COUCHE INTERNE D'UN MASQUE CHIRURGICAL.....	39
<b>FIGURE 19:</b> OBSERVATION MICROSCOPIQUE DE LA COUCHE INTERMEDIAIRE D'UN MASQUE CHIRURGICAL .....	39
<b>FIGURE 20:</b> REPARTITION DES SOUCHES MICROBIENNES ISOLEES A PARTIR DES MASQUES CHIRURGICAUX USES. ....	40
<b>FIGURE 21:</b> OBSERVATION MICROSCOPIQUE DES SOUCHES ISOLEES APRES COLORATION DE GRAM (GROSSISSEMENT $\times 1000$ ) <b>A:</b> COQUE EN TETRADE GRAM POSITIF ; <b>B:</b> BACILLE GRAM POSITIF. ....	41
<b>FIGURE 22:</b> REPARTITION DES BACTERIES ISOLEES SELON LEURS MORPHOLOGIES ET LA COLORATION DE GRAM.....	42
<b>FIGURE 23:</b> EXAMEN MICROSCOPIQUE DU TEST DE BLASTESE (GROSSISSEMENT $\times 1000$ ) .....	43
<b>FIGURE 24:</b> EXAMEN MICROSCOPIQUE DU TEST DE CHLAMYDOSPORULATION (GROSSISSEMENT $\times 1000$ ). LA FLECHE INDIQUE LE CHLAMYDOSPORE. ....	43
<b>FIGURE 25:</b> REPARTITION DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX ISOLEES DU MASQUES CHIRURGICAUX. ....	44
<b>FIGURE 26:</b> ASPECT MICROSCOPIQUE DES SOUCHES ISOLEES DU MASQUE TEMOIN .....	50
<b>FIGURE 27:</b> ASPECT MACROSCOPIQUE DES COLONIES SUR LE MILIEU CHROMAGAR....	51
<b>FIGURE 28:</b> TEST POSITIF DE COAGULASE CHEZ <i>STAPHYLOCOCCUS AUREUS</i> .....	51
<b>FIGURE 29:</b> RESULTATS DE LA GALERIE API 20E ET ID32 STAPH DES SOUCHES .....	53
<b>FIGURE 30:</b> TAUX DE SOUCHES SUSCEPTIBLES AUX ANTIBIOTIQUES. ....	55
<b>FIGURE 31:</b> RESULTATS DE L'ANTIBIOGRAMME CHEZ LES SOUCHES .....	56

# *Liste de tableau*

<b>TABLEAU 1: CLASSIFICATION DE LA FORMATION DE BIOFILM (STEPANOVIC ET AL., 2007).....</b>	<b>30</b>
<b>TABLEAU 2: ANTIBIOTIQUES UTILISES DANS LE TEST D'ANTIBIOGRAMME.....</b>	<b>31</b>
<b>TABLEAU 3: CLASSIFICATION DES SOUCHES EN FONCTION DES DIAMETRES DES ZONES D'INHIBITIONS (EUCAST, 2020).....</b>	<b>32</b>
<b>TABLEAU 4: DONNEES DE L'ENQUETE SUR LE PORT DES MASQUES CHIRURGICAUX PAR LES ETUDIANTS DU CENTRE UNIVERSITAIRE DE NAAMA. ....</b>	<b>36</b>
<b>TABLEAU 6: CARACTERISTIQUES MACROSCOPIQUES ET MICROSCOPIQUE DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX ISOLÉS DES MASQUES UTILISES. ....</b>	<b>46</b>
<b>TABLEAU 7: RESULTATS DES DIFFERENTS TESTS BIOCHIMIQUES CHEZ LES SOUCHES FORTEMENT FORMATRICES DE BIOFILMS.....</b>	<b>52</b>
<b>TABLEAU 8: IDENTIFICATION DES SOUCHES FORTEMENT FORMATRICE DE BIOFILM....</b>	<b>54</b>

# SOMMAIRE

## Résumé

Liste de figures.....	I
Liste de tableaux.....	III

## REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

### *SARS-CoV-2 & Masques de prévention*

<b>I. SARS-COV-2.....</b>	<b>2</b>
I.1. HISTORIQUE.....	2
I.2. TAXONOMIE ET EPIDEMIOLOGIE.....	2
I.3. MORPHOLOGIE ET GENOME.....	3
I.3.1. Morphologie.....	3
I.3.2. Génome.....	3
I.4. CYCLE DE REPLICATION.....	4
I.5. TRANSMISSION DU VIRUS ET SYMPTOMES D'INFECTION.....	5
<b>II. MASQUES DE PREVENTION.....</b>	<b>6</b>
II.1. MASQUES CHIRURGICAUX.....	6
II.2. CONCEPTION DU MASQUE CHIRURGICAL.....	7

### *Biofilm & Infectiosité*

<b>I. BIOFILM.....</b>	<b>10</b>
I.1. QU'EST-CE QU'UN BIOFILM.....	10
I.2. COMPOSITION.....	10
I.2.1. Micro-organismes.....	11
I.2.2. Matrice exo-polymérique.....	11
I.3. FORMATION DES BIOFILMS.....	12

I.3.1. Phase d'adhésion.....	12
I.3.2. Phase de croissance et de maturation.....	13
I.3.3. Phase de dispersion et recolonisation .....	13
I.4. REGULATION DE LA FORMATION DE BIOFILM .....	14
I.4.1. Facteurs environnementaux .....	14
I.4.2. Communication intercellulaire « Quorum Sensing ».....	15
<b>II. INFECTIOSITE DES BIOFILMS.....</b>	<b>16</b>
II.1. ORIGINE BACTERIENNE .....	16
II.2. ORIGINE FONGIQUE .....	17
II.3. RESISTANCE DES BIOFILMS.....	18

## *Matériel et Méthodes*

<b>I. LIEU DES PRELEVEMENTS ET POPULATION CIBLEE .....</b>	<b>21</b>
<b>II. PRELEVEMENTS.....</b>	<b>22</b>
<b>III. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES .....</b>	<b>23</b>
III.1. DENOMBREMENT .....	23
III.2. ENRICHISSEMENT .....	24
III.3. ISOLEMENT ET PURIFICATION .....	24
III.4. CONSERVATION .....	25
III.5. IDENTIFICATION DES BACTERIES .....	25
III.5.1. Observation macroscopique .....	25
III.5.2. Coloration de Gram.....	25
III.5.3. Test catalase .....	25
III.5.4. Test oxydase.....	26
III.5.5. Test de Coagulase.....	26
III.5.6. Tests Chromogéniques .....	26
III.5.7. Tests biochimiques .....	26
III.6. IDENTIFICATION DES LEVURES .....	27
III.6.1. Test blastèse (test de germination).....	27

III.6.2. Test de chlamydosporulation .....	27
III.7. IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS FILAMENTEUX .....	28
<b>IV. EVALUATION <i>IN VITRO</i> DE LA FORMATION DES BIOFILMS ...</b>	<b>29</b>
IV.1. METHODE DE PLAQUE DE CULTURE DE TISSUS (TCP) .....	29
<b>V. ANTIBIOGRAMME .....</b>	<b>31</b>
<b>VI. ANALYSES STATISTIQUES.....</b>	<b>32</b>

### *Résultats & Discussion*

<b>I. PRELEVEMENTS.....</b>	<b>34</b>
<b>II. ANALYSES MICROBIOLOGIQUES .....</b>	<b>37</b>
<b>III. ISOLEMENT, PURIFICATION ET CONSERVATION .....</b>	<b>40</b>
<b>IV. IDENTIFICATION DES BACTERIES .....</b>	<b>41</b>
<b>V. IDENTIFICATION DES LEVURES.....</b>	<b>43</b>
<b>VI. IDENTIFICATION DES CHAMPIGNONS.....</b>	<b>44</b>
<b>VII. FORMATION DE BIOFILM <i>IN VITRO</i> .....</b>	<b>49</b>
<b>VIII. IDENTIFICATION BIOCHIMIQUE .....</b>	<b>51</b>
<b>IX. SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES.....</b>	<b>55</b>
<i>Conclusion</i> .....	58
<i>Références</i> .....	61

### *Annexes*

*REVUE BIBLIOGRAPHIQUE*

*SARS-CoV-2 & Masques de prévention*

## I. SARS-CoV-2

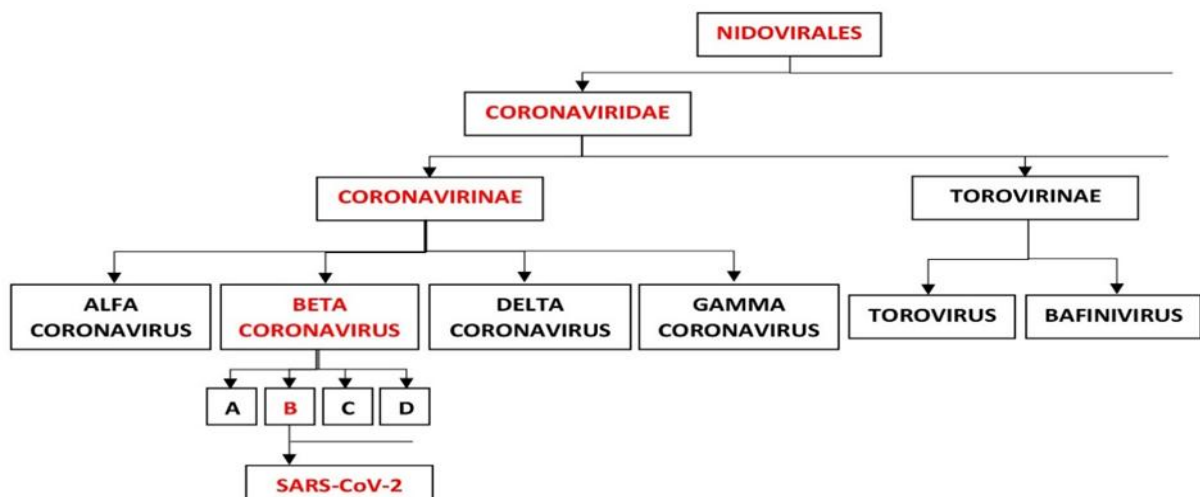
### I.1. Historique

L'humanité a connu de nombreuses pandémies à travers le temps tels que la peste, le choléra, la variole, le typhus, la fièvre jaune, la grippe espagnole le virus Zika, la fièvre Ebola et actuellement le Covid-19. En novembre 1968, Almeida et ses collègues ont utilisé pour la première fois le terme « coronavirus ». En juin 2012, un nouveau coronavirus dénommé Middle East Respiratory Syndrome coronavirus (Mers-CoV) a été diagnostiqué pour la première fois en Arabie Saoudite (Zaki et al., 2012). Selon Li et ses collègues en 2005, le SARS était une zoonose transmise par les chauves-souris.

SARS-CoV-2 apparue en décembre 2019, dans la ville de Wuhan, en Chine (Ahn, 2020), il a été nommé 2019-nCoV par l'organisation mondiale de la santé (OMS), le 11 février 2020. Ce virus se propage rapidement dans le monde et cause de nombreux handicaps et décès (Gorbalenya et al., 2020 ; Tadj et Seddiki, 2021).

### I.2. Taxonomie et épidémiologie

Les virus CoV appartiennent à l'ordre *Nidovirales*, à la famille *Coronaviridae* ; Celle-ci est subdivisée en *Coronavirinae* et *Torovirinae*. Ces virus sont répartis en quatre grands genres, *Alpha-CoV*, *Bêta-CoV*, *Gamma-CoV*, et *Delta-CoV* (Figure 1).



**Figure 1:** Taxonomie des coronavirus humains (HCoV) (Lefkowitz et al., 2018).

### I.3. Morphologie et génome

#### I.3.1. Morphologie

Le SARS-CoV-2 est un virus sphérique, de 60-220 nm, à ARN monocaténaire, non segmenté positivement polarisé (Velavan et Meyer, 2020). Il est entouré d'une capsidie protéique hélicoïdale. À la surface des particules, sont enchâssées quatre protéines structurales ; la protéine de membrane M, la protéine d'enveloppe E, la protéine hémagglutinine estérase HE et la protéine S « Spike » (Figure 2).

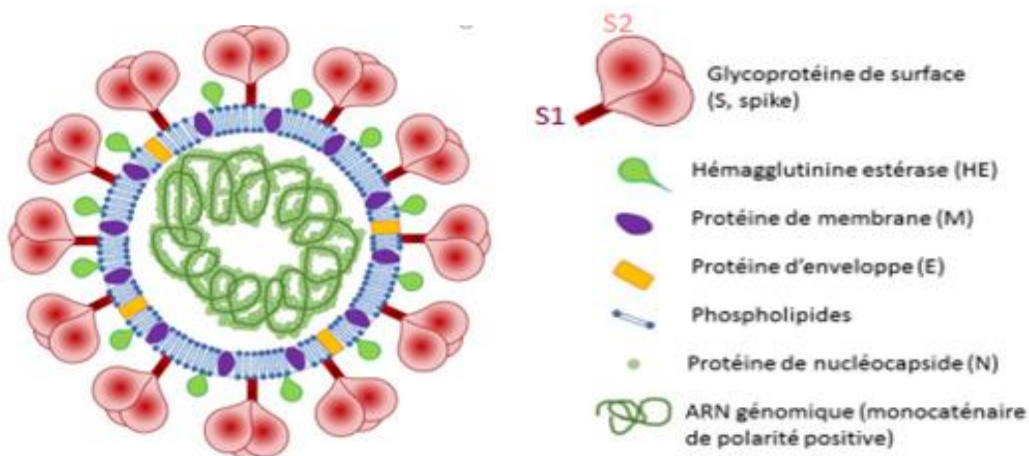


Figure 2: Schéma de la structure du SARS-CoV-2 (Cap et Morello, 2021)

#### I.3.2. Génome

Le génome de Sars-CoV-2 a une longueur de 30 kb, il code pour 27 protéines (Wu et al., 2020). Ce génome comprend deux extrémités non codantes 5' et 3' qui contiennent une région non traduite. Deux grandes régions chevauchantes, ORF1a située à l'extrémité 5' UTR qui code les protéines de 1 à 11 et ORF1b, située à côté de l'ORF1a, code pour les protéines non structurales (12 à 16). Ces régions chevauchantes occupent les deux premiers tiers du génome qui sont nécessaires à la répllication et à la transcription. Le dernier tiers du génome code pour des protéines de structure S, M, N et E. D'autres gènes ORFs, codant pour d'autres protéines sont répartis entre des gènes structuraux (Cleemput et al., 2020 ; Junejo et al., 2020).

#### I.4. Cycle de réplication

Le cycle de réplication du CoV 2 regroupe des étapes successives impliquant des interactions entre le virus et les différentes cellules de l'organisme humain, notamment les cellules pulmonaires (**Jungreis et al., 2020**).

L'activation de la protéine S résulte de son clivage suite à l'intervention d'une protéase transmembranaire sérine 2 (TMPRSS2), présente sur la surface de la cellule cible pour donner les deux sous-unités S1 et S2. La reconnaissance et la fixation sont assurées par la sous-unité S1 au récepteur ACE2 (Enzyme de conversion de l'angiotensine 2) de la cellule hôte. La fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de l'endosome se réalise par la sous-unité S2 ; cette étape est suivie par la décapsulation et la libération de l'ARN génomique dans le cytoplasme de la cellule infectée (**Pagliaro et Penna, 2020**).

Une fois le génome viral dans le cytoplasme, les gènes ORFs sont traduits en polyprotéines et les nouveaux virions sont formés à partir de l'encapsulation du génome viral par la protéine N et des protéines structurales néoformées au niveau du réticulum endoplasmique et de l'appareil de Golgi. Ces derniers sont acheminés vers la surface de la cellule hôte puis libérés par exocytose (**Bonny et al., 2020 ; Zhou et al., 2020**).

## I.5. Transmission du virus et symptômes d'infection

Le SARS-CoV-2 est transmis principalement par le contact direct avec une personne infectée, essentiellement par voie aérienne, tels que les gouttelettes émises suite aux toux ou bien lors de discussion, qui peuvent être inhalés par les personnes à proximité (1 à 2m) (**Van Doremalen et al., 2020**). Une transmission indirecte est aussi possible, il s'agit de l'émission d'aérosols lorsque les gouttelettes respiratoires se dispersent dans l'air, celles-ci sont capables de propager sur une large distance et de provoquer une infection (**Adhikari, 2020 ; Umakanthan et al., 2020**).

L'OMS a partagé un large éventail de symptômes chez les personnes atteintes de covid-19. Après une période d'incubation variant de deux à quatorze jours, les symptômes sont généralement bénins tels que la fièvre, toux sèche, fatigue, douleurs, écoulement nasale, diarrhée...etc. Certains patients souffrent également de symptômes graves, au niveau de cerveau. La maladie peut fluctuer selon le sexe, les tranches d'âge, la présence de maladies chroniques telles que l'hypertension, diabète, problème cardiaque ou pulmonaire...etc (**Gondouin, 2020 ; Manus, 2020**).

Pour limiter la circulation et la transmission du virus entre personnes, l'OMS recommande l'utilisation des masques dans les lieux publics.

## II. Masques de prévention

L'utilisation des masques primitifs est connue depuis longtemps, notamment lors de la guerre chimique associée à la première guerre mondiale comme un moyen de protection contre les gaz combat. À la fin des années 1897, le chirurgien Paul Berger enfile le premier masque lors de son intervention à l'hôpital Tenon à Paris (**Lowry, 1947**).

Les masques sont largement utilisés pour empêcher l'inhalation des particules virales du SARS-CoV-2 et d'autres virus respiratoires, ils servent de filtre, de protection contre la transmission du virus.

L'usage des masques rentre dans le cadre de la protection contre la pandémie covid-19. Les masques de protection respiratoire FFP (Feltring Face Pièce) à usage unique, selon la norme NF EN 149, protègent l'individu contre l'inhalation des gouttelettes ou des particules en suspension dans d'air (**AFNOR, 2009**).

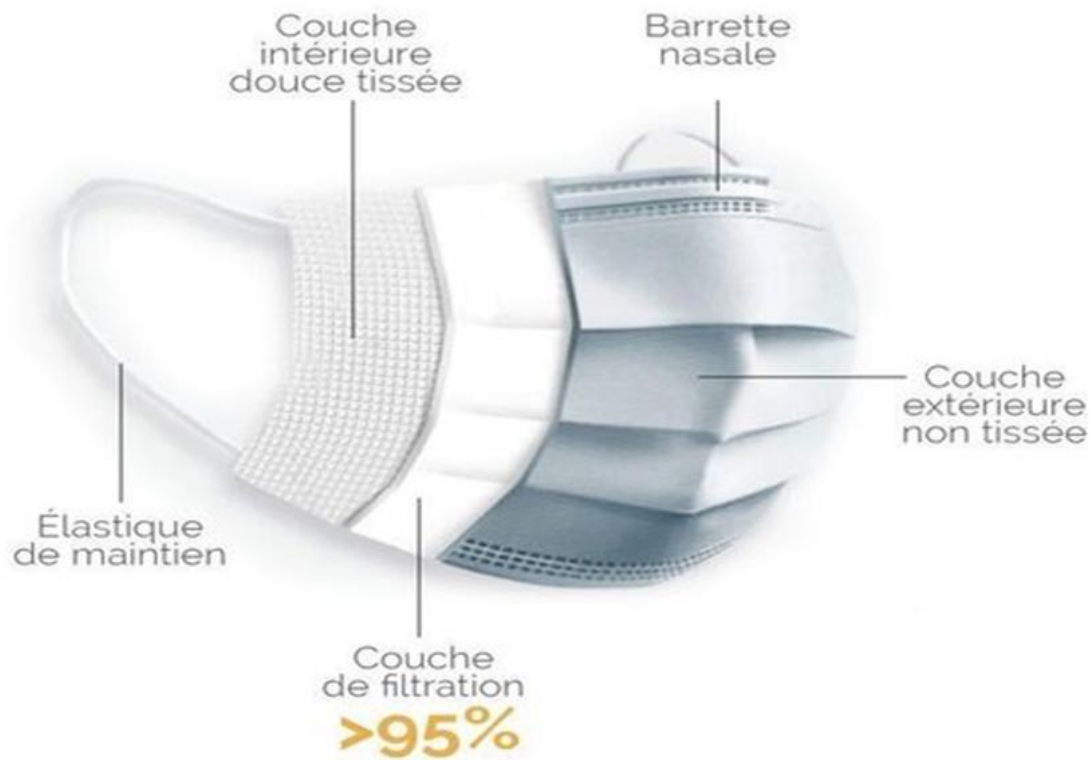
Un autre type comprend des masques en tissu, lavables et réutilisables, ayant des propriétés de filtration supérieure à 90%. En outre, un autre type de masque est largement utilisé dans cette pandémie, il s'agit du type chirurgical (**OMS, 2020**).

### II.1. Masques chirurgicaux

Un masque chirurgical est un dispositif médical (norme EN 14683), il empêche la projection des gouttelettes du porteur lui-même et limite la contagion par d'autres personnes. Selon l'OMS, ces masques ne doivent en aucun cas, être utilisés plus de 4 heures. Cependant, trois types sont distingués selon différent degré d'efficacité de filtration bactérienne : Type I > 95 %, Type II > 98 %, Type IIR > 98 % (**Delaval et Bertrand, 2021**).

## II.2. Conception du masque chirurgical

Un masque chirurgical se compose de trois feuillets superposés, à l'intérieur, un deuxième au milieu, lequel est recouvert par un autre de l'extérieur (**Figure 3**).

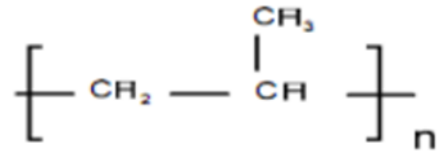


**Figure 3:** Schéma des différentes parties d'un masque chirurgical

<https://www.prevarice.com/masque-de-protection-chirurgical-jetable.htm>

Celui de l'intérieur est de couleur blanche, il est formé par des fibres de coton hydrophiles responsables d'absorber l'humidité puisque cette partie du masque reste en contact avec les orifices nasaux et buccaux (**Donovan et Skotnicki-Grant, 2007**).

Le feuillet intermédiaire est fabriqué à partir des fibres non tissées, le polypropylène, de propriété thermoplastique et hydrophobe, ce feuillet sert à la filtration (**Donovan et Skotnicki-Grant, 2007**). Selon **Natta et Corradini en 1967**, la structure du propylène est une série répétée du C<sub>3</sub>H<sub>6</sub> (**Figure 4**).



**Figure 4:** Structure de propylène (**Natta et Corradini, 1967**)

Les deux premiers feuillets sont recouverts par une couche extérieure en polyester, non absorbante, qui empêche la pénétration des gouttelettes ; celle-ci être coloré (Blue, vert...etc.). Chaque extrémité du masque chirurgical porte un élastique de fixation en caoutchouc et une barrette nasale métallique pour l'ajustement du masque.

## *Biofilm et infectiosité*

## I. Biofilm

Les biofilms sont responsables d'un large éventail d'infections chez l'homme. En effet, 65% des infections sont dues à des biofilms (**De Chalvet De Rochemonteix, 2009**). En effet, l'équipe de William Costerton a mis l'accent en 1999 sur le lien entre le risque infectieux et le pouvoir de formation des biofilms.

### I.1. Qu'est-ce qu'un biofilm

Les biofilms sont des communautés organisées de microorganismes adhérents à des surfaces biotiques ou abiotiques et caractérisés par la sécrétion d'une matrice polymérique (**Costerton et al., 1978**). Contrairement à l'état planctonique, où les microorganismes sont libres et isolés dans l'environnement, l'état sessile représente le mode de vie microbien majoritaire (**Costerton, 1999**).

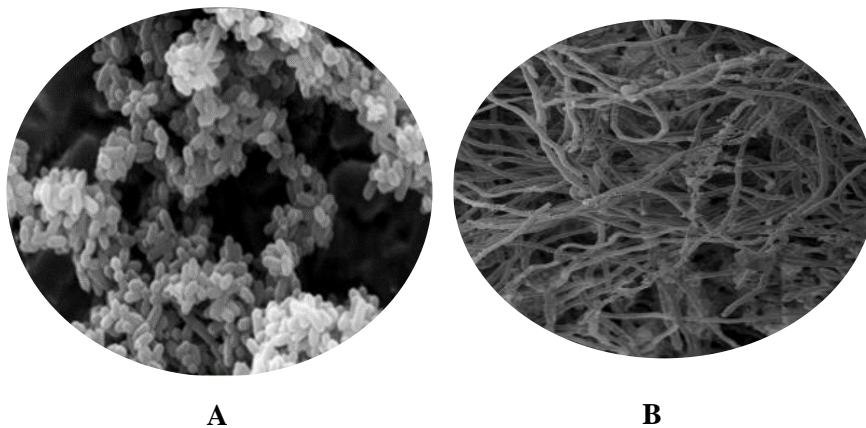
Selon **Nicolas et Lavoie, (2011)**, le support sur lequel les biofilms se forment peut-être un support solide ou une interface, telles que les muqueuses.

### I.2. Composition

Le biofilm est composé de microorganismes enrobés dans une matrice exo-polymérique. Selon l'espèce impliquée, les microorganismes ne représentent que 2 à 5 % de la masse du biofilm alors que 50 à 90 % de celui-ci est occupé par la matrice (**Costerton et al., 1995 ; Evans, 2000**).

### I.2.1. Micro-organismes

Les microorganismes inclus dans un biofilm forment des communautés complexes au sein desquelles on peut trouver des espèces multiples ou parfois des mono espèces. Cependant, la majorité des biofilms sont composés de différents types de microorganismes ; bactéries, champignons, protozoaires, algues (Baveye et al., 1998 ; Akbas, 2015).



**Figure 5:** Biofilm bactérien de *Listeria monocytogenes* x6400 (A) et fongique de *Candida albicans* × 1100 (B) visualisés par microscope électronique à balayage [(Ibusquiza et al., 2012) ; (Seddiki et al., 2013)].

### I.2.2. Matrice exo-polymérique

La matrice exo-polymérique est hautement hydratée, elle est constituée non seulement de polysaccharides, mais aussi de protéines, de lipides, d'acides nucléiques, de cations et d'agents tensioactifs (Tremblay et al., 2014). Cette composition diffère en fonction des microorganismes formateurs du biofilm et des facteurs de croissance (Liu et Tay, 2002 ; Stoodley et al., 2002).

Par ailleurs, la matrice ex-polymérique est considérée comme une source de nutriments, elle joue également un rôle primordial dans l'intégrité structurale et fonctionnelle des biofilms (Azeredo et al., 1999).

### I.3. Formation des biofilms

Les biofilms peuvent se développer sur différentes surfaces incluant les supports biotiques et abiotiques retrouvé dans le sol ou dans les milieux aquatiques (Kathleen, 2017). La formation des biofilms suit une succession de quatre phases principale (Figure 6) (Donlan et Costerton, 2002).

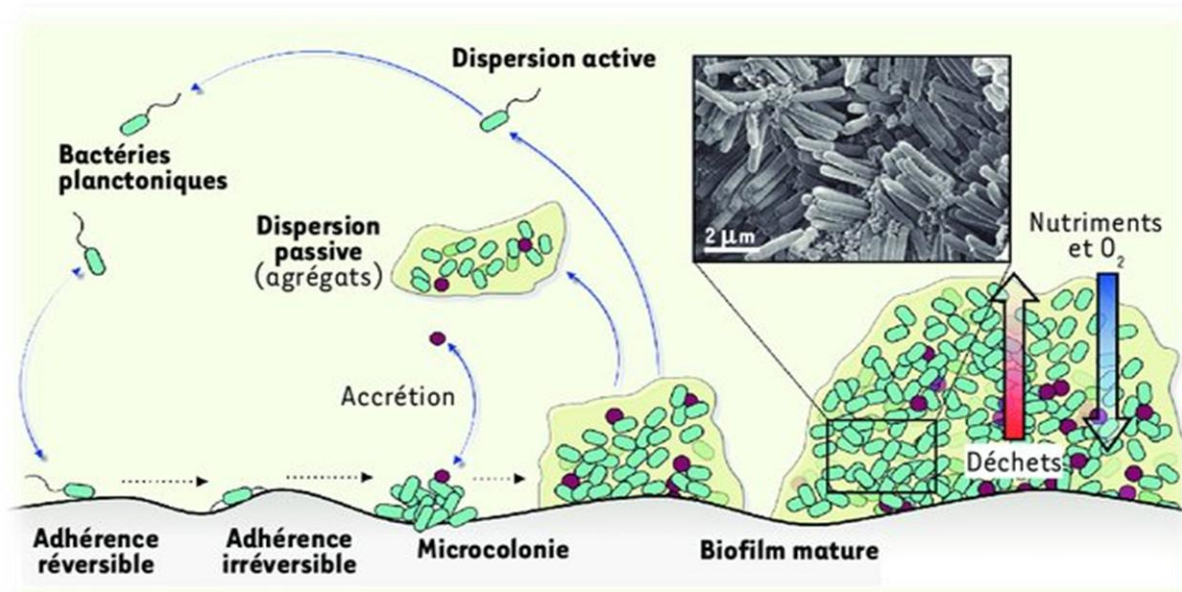


Figure 6: Développement et structure d'un biofilm bactérien (Lebeaux et Ghigo, 2012)

#### I.3.1. Phase d'adhésion

C'est la phase d'initiation de la formation du biofilm, elle se déroule en deux temps ;

➤ *Adhésion réversible (non spécifique)*

L'adhésion réversible est une étape au cours de laquelle les bactéries planctoniques viennent en contact avec une surface suite à l'intervention des forces d'attractions. Celles-ci sont observées à partir de distances longues entre les surfaces des supports et celles des bactéries. Cette adhésion est placée par des mouvements browniens, la mobilité active et par l'agrégation des cellules bactériennes (Høiby et al., 2011).

A ce stade les microorganismes sont facilement à éliminer à cause des interactions chimiques non covalentes (Beloin et al., 2008).

➤ *Adhésion irréversible (spécifique)*

L'adhésion irréversible des microorganismes est caractérisée par des interactions fortes et covalentes grâce à des structures d'adhésion particulières, les adhésines, celles-ci permettent d'établir le contact cellule-surface à de courtes distances ainsi que le contact cellule-cellule (**Manandhar et al., 2018**).

### **I.3.2. Phase de croissance et de maturation**

Une fois les microorganismes sont attachés de manière irréversibles sur le support, ils s'engagent dans la croissance qui conduit à la formation des micro-colonies, cette croissance va être accompagnée par une production intense des exopolysaccharides qui vont interagir avec des molécules organiques et inorganiques du milieu environnant pour former la matrice extracellulaire, ce qui donne son architecture tridimensionnel (**Rumbaugh et Sauer, 2020**).

### **I.3.3. Phase de dispersion et recolonisation**

La dispersion des cellules d'un biofilm peut être due à une réponse à des conditions défavorables ; il s'agit de l'épuisement des nutriments, la limitation de la disponibilité d'oxygène, relâchement d'EPS et des forces de cisaillement dues aux conditions hydrodynamiques (**Haras, 2005**).

Les cellules détachées vont migrer pour adhérer à d'autres surfaces afin de pouvoir recommencer un nouveau cycle de vie (**Rambelomamonjy, 2017**).

## I.4. Régulation de la formation de biofilm

### I.4.1. Facteurs environnementaux

La formation d'un biofilm est un phénomène complexe et dynamique, elle est sous l'influence de nombreux facteurs (**Donlan et Costerton, 2002**).

#### ➤ *Propriétés du milieu*

Regroupent des conditions externes dont ; la disponibilité des nutriments (excès ou épuisement) et les différents propriétés physico-chimiques (pH, température, les cations, présence d'agent antimicrobiens...) (**Pemán et al., 2008**).

#### ➤ *Propriétés des microorganismes*

L'attachement cellulaire est influencée par l'hydrophobicité de la surface cellulaire ; il existe une relation inversement proportionnelle, entre la polarité et les liaisons hydrophobes (**Donlan et Costerton, 2002**).

D'autre part, la majorité des bactéries sont chargées négativement et possèdent des éléments structuraux qui interviennent dans l'adhésion à la surface tels que : flagelles, fimbriaes, polysaccharides.... (**Briandet et al., 2012**).

#### ➤ *Propriétés du support*

La colonisation et l'adhésion des microorganismes deviennent importantes sur un support rugueux (**Characklis et Marshall, 1990**).

Les propriétés physico-chimiques peuvent intervenir positivement ou négativement sur la formation d'un biofilm ; d'une part l'hydrophobicité, ou les microorganismes adhérents facilement à des surfaces hydrophobes, non polaire notamment le plastique (polypropylène), et d'autre part la présence d'un film protéique sur le support comme le salive, les sécrétions respiratoires et les larmes, etc. (**Mittelman, 1996 ; Bendinger et al., 2003**).

**I.4.2. Communication intercellulaire « Quorum Sensing »**

La formation des biofilms est contrôlée par des molécules de signalisation, celles-ci sont désignées par le terme quorum sensing (QS). Il s'agit d'une communication cellule-cellule qui permet de réguler les gènes en réponse à la densité cellulaire, initier la dispersion des formes planctonique et peut être réprimés ou stimules l'expression de certain caractères (**Martinez et Fries, 2010**).

Le quorum sensing implique des molécules, selon l'espèce, ce système est fondé, chez la plupart des bactéries à Gram négatif, la production des acyl-homosérines lactones (AHL). En revanche, la majorité des bactéries à Gram positif utilisent des oligopeptides. Il a été indiqué que les deux groupes bactériens utilisant l'auto-inducteur 2 (AI2) comme molécule commune de signalisation (**Hentzer et al., 2003 ; Irie et Parsek, 2008**).

## II. Infectiosité des biofilms

L'OMS a estimé que 60% des infections humaines seraient liées à la présence des microorganismes sous forme de biofilm dans le milieu hospitalier (**Espinasse et al., 2010**). Ce sont des infections localisées provoquant chez les patients de graves conséquences sanitaires. (**Lebeaux et Ghigo, 2012**).

En fait, la dangerosité d'un biofilm est liée aux espèces constitutives de celui-ci, elle peut donc être d'origine bactérienne et/ou fongique (**Jaballah et al., 2006 ; Seddiki et al., 2015**).

Selon **Parsek et Singh (2003)**, l'apparition d'une infection induite par un biofilm dépend de quatre critères ; le microorganisme adhéré doit être pathogène et l'examen direct des tissus infectés doit montrer une gamme de microorganismes inclus dans une matrice. De plus, l'infection doit être localisée et la résistance aux traitements antibiotiques s'accroît.

### II.1. Origine bactérienne

Les bactéries pathogènes formatrices du biofilm peuvent engendrer des infections graves. Parmi celles-ci on trouve en premier lieu : *Staphylococcus spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. D'autres espèces bactériennes sont également impliquées dans l'infection aux biofilms.

#### ➤ *Staphylocoques*

*Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus pyogenes* sont les principaux agents causaux des infections cutanées à pyogènes (**Safi, 2021**). En outre, **Fey et Olson (2010)**, ont montré que *Staphylococcus epidermidis* devient un pathogène opportuniste après avoir formé un biofilm mucoïde sur la peau.

#### ➤ *Pseudomonas aeruginosa*

La présence de *P. aeruginosa* sous forme sessile provoque une infection chronique et grave au niveau des tissus pulmonaires (**Singh et al., 2020**). Cette bactérie opportuniste touche essentiellement les gens immunodéprimés et fragiles (**Stenotrophomas, 2016**).

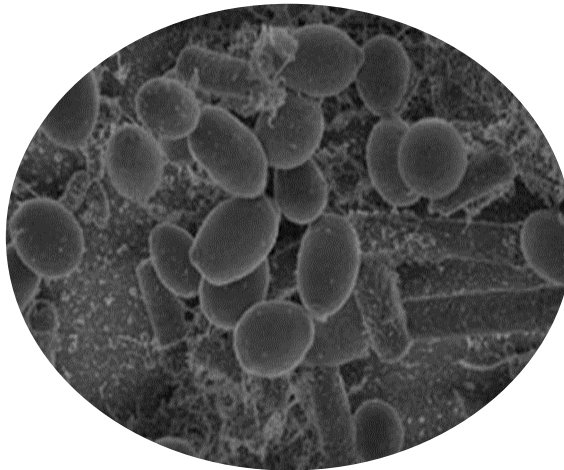
➤ *Escherichia coli*

Le biofilm formé par *E. coli* est renforcé par les appendices présents sur leur surface ; par conséquent l'augmentation des risques infectieux, notamment des colites chroniques (Sherlock et al., 2006).

## II.2. Origine fongique

Des résultats cliniques ainsi que des études ciblées ont montré que non seulement les espèces bactériennes ayant la capacité de coexister de manière sessile, mais les espèces fongiques peuvent également former des biofilms (Figure 7).

Dans ce contexte, l'étude de Seddiki et al., (2015), a corroboré que les levures de genre *Candida* jouent un rôle important en pathologie humaine, la candidose.

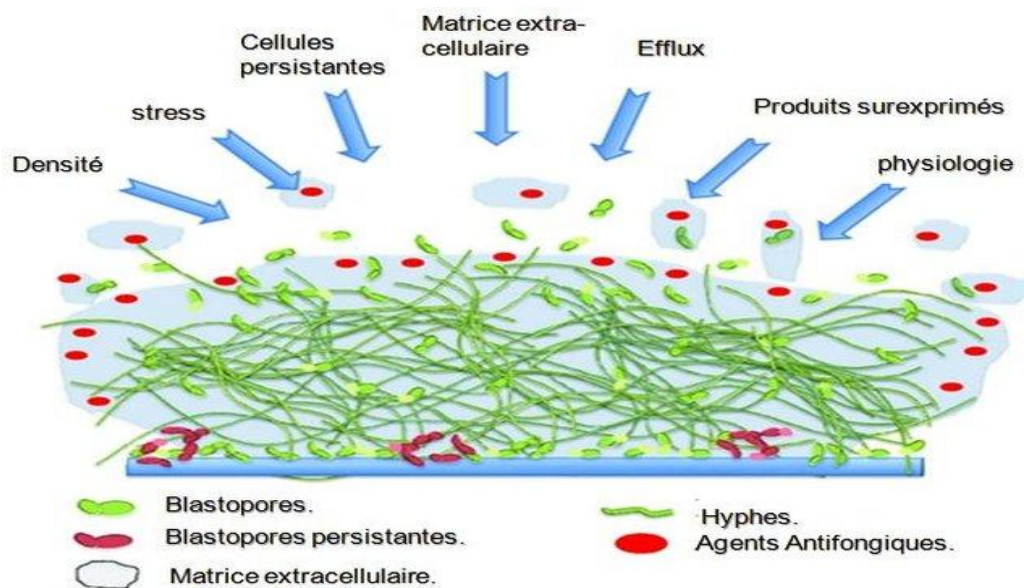


**Figure 7:** Biofilm de *C. albicans* au sein d'un cathéter (Seddiki, 2014)

Par ailleurs, *Aspergillus fumigatus* est un champignon opportuniste responsable de l'aspergillose pulmonaire et ce, suite à une contamination environnemental (Desoubeaux et Chandener, 2010). De plus, des données ont montré que *A. fumigatus* à la capacité de former un biofilm *In Vitro* (Kaur et Singh, 2014).

### II.3. Résistance des biofilms

La résistance est l'une des propriétés qui caractérise les biofilms microbiens (**Hawser et Douglas, 1995**). Selon **Ramage et al., (2012)**, les microorganismes au sein d'un biofilm développent une résistance contre les différentes agressions (**Figure 8**) mieux que leurs homologues planctoniques. De plus, les travaux de **Seddiki et al., 2013**, ont montré que les germes hospitaliers sessiles augmentent leur capacité à résister aux agents antimicrobiens.



**Figure 8:** Représentation schématique des mécanismes de résistance des biofilms fongiques (**Ramage et al., 2012**).

Différents facteurs sont impliqués dans la résistance des biofilms ; en effet, la matrice exopolymérique qui représente une gangue stabilisatrice des biofilms, entrave le passage des molécules antibiotiques en constituant une barrière physique et chimique (**Hall-Stoodley et Stoodley, 2009 ; Richards et Melander, 2009**).

Les arguments expérimentaux suggèrent que les cellules sessiles présentent une plasticité génétique qui va augmenter leur résistance ; celle-ci implique, en effet, la surexpression des gènes de résistance (**Oubekka, 2012**).

D'autres études ont montré que la densité cellulaire et la modification de la perméabilité renforcent le processus de résistance des cellules sessiles (**Haras, 2005 ; Perrin, 2009**).

Pour échapper à la pandémie, la population mondiale a changé beaucoup de ces habitudes ; celles-ci comprennent en premier lieu l'obligation du port des masques dans les lieux publics, cette attitude est devenu impérative dans beaucoup de pays (**Tadj et Seddiki, 2021**).

Étant donné le peu d'études disponibles traitant de cet aspect afin de trouver une solution pour contrer le risque infectieux encouru et, compte tenu de l'importance préventive du port du masque chirurgical dans les lieux publics ; considérant également le risque d'infection que peuvent engendrer les micro-organismes sessiles suite à la contamination de ces dispositifs, qui sont généralement mal entretenus, nous nous sommes intéressés par cet axe de recherche.

Vu toutes les données précitées et, afin de mieux appréhender la problématique du risque infectieux des biofilms microbiens et de mieux identifier leur résistance, nous nous sommes fixés les objectifs suivants, dans le but de :

- Recenser, identifier et réaliser une enquête sur l'utilisation des masques chirurgicaux par les étudiants du Centre Universitaire de Nàama,
- Dénombrer, isoler et identifier les germes impliqués,
- Évaluer le potentiel de la formation des biofilms chez les souches bactériennes isolées,
- Évaluer la sensibilité des germes isolés aux antibiotiques.

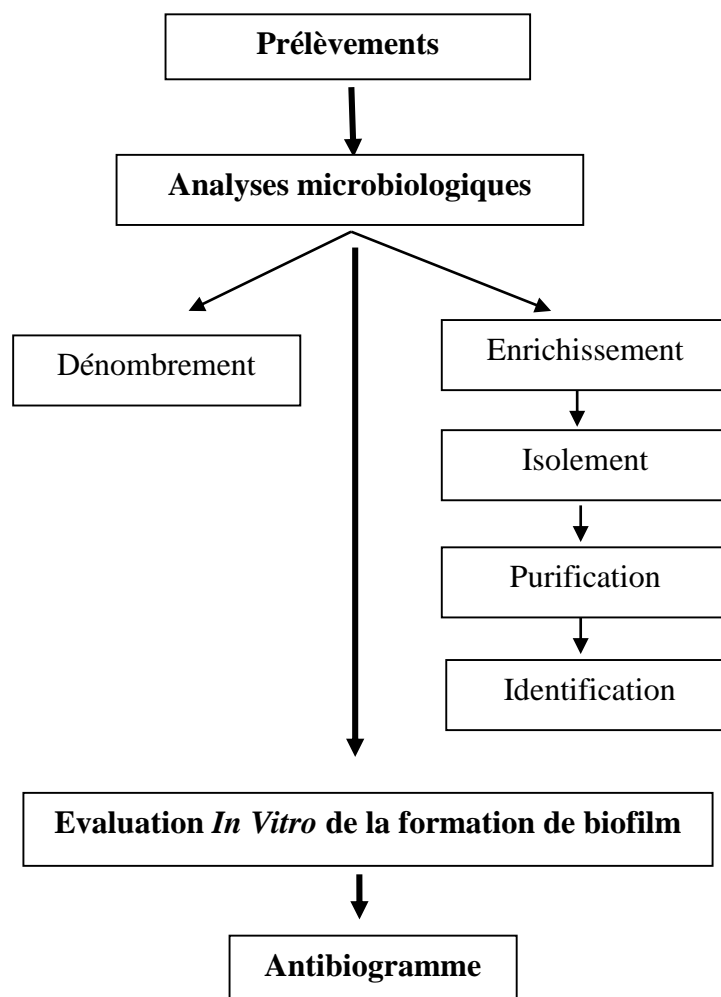
# *Matériel et Méthodes*

## I. Lieu des prélèvements et population ciblée

Cette étude est réalisée aux laboratoires pédagogique de microbiologie et dans celui de recherche GRDN "Laboratory for the Sustainable Management of Natural Ressources in Arid and Semi-arid Zones" du Centre Universitaire de Nâama. Sa thématique s'articule autour de l'évaluation des risques infectieux suite à la contamination microbiologique des masques chirurgicaux et ce, suite à leur utilisation répétée et prolongée pendant la pandémie Covid 19.

L'échantillonnage consiste à récupérer les masques utilisés par les étudiants du centre et ce, lors de leur présence au sein du centre.

La population ciblée comprend une mosaïque d'étudiants, filles et garçons, appartenant aux différents instituts de l'établissement. L'organigramme suivant résume les différentes démarches expérimentales de cette étude (**Figure 9**).



**Figure 9:** Organigramme des différentes démarches expérimentales de l'étude .

## II. Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués durant les mois de Février et Mars 2022. Les masques usés ont été récupérés dans des sacs stériles, directement après leur retrait. Ils ont ensuite été acheminés ensuite au laboratoire. Une bavette neuve a été remise à chaque étudiant participant contre celle récupérée comme échantillon.

Une enquête d'évaluation a été réalisée en parallèle avec les prélèvements des masques. Ladite enquête est un questionnaire (**Annexe I**) remis aux étudiants ayant volontairement participé à l'étude. Ce questionnaire est établi selon les recommandations de l'OMS.

Chaque étudiant répond à un nombre de questions concernant les données personnelles des participants (Age, Sexe, Spécialité...) et des questions relatives à la pratique d'utilisation des masques (fréquence d'utilisation, lavage ou non des masques, leur échange avec d'autre personne, l'endroit de conservation, etc).

Parallèlement, sept masques chirurgicaux stériles (**Figure 10**), récupérés du bloc opératoire de l'hôpital de Nâama, ont été examinés comme témoins.



**Figure 10:** Représente les masques chirurgicaux stériles.

### III. Analyses microbiologiques

En prenant des mesures d'asepsie, trois fragments de 1 cm<sup>2</sup> ont été coupés à partir de la zone adjacente à la cavité buccale de la couche intermédiaire du masque. Ces fragments servent de support pour le dénombrement, l'enrichissement et le test du contact direct.

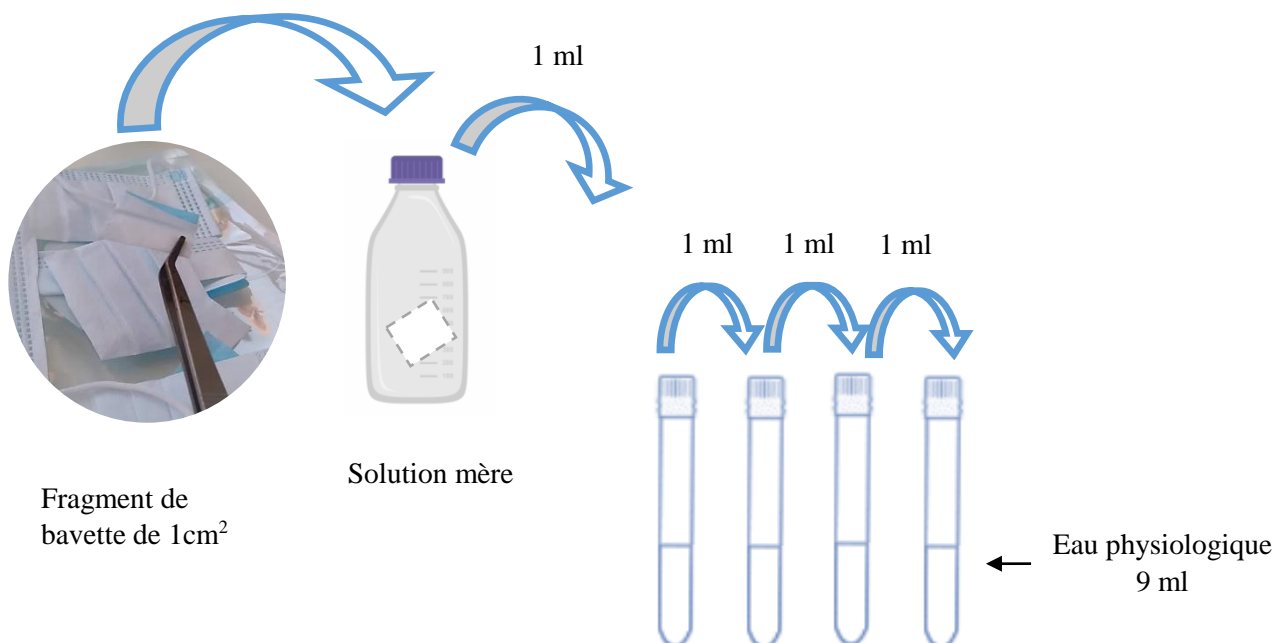
#### III.1. Dénombrement

Afin de dénombrer les particules microbiennes attachées aux tissus des bavettes, deux protocoles différents ont été réalisés en parallèle.

Le premier consiste à adapter les techniques de **Brun Buisson et al., (1987)** et de **Delarras, (2007)** aux échantillons des fragments intermédiaires des masques.

En bref, un fragment de 1 cm<sup>2</sup> a été placé dans un tube à essai contenant 10 ml d'eau physiologique stérile puis agité au vortex pendant une minute, ceci permet aux cellules microbiennes de se détacher du fragment, par conséquent leur dénombrement.

Une série de dilution a été réalisée (**Figure 11**). 100 µl de chacune d'elles ont été étalés sur la gélose nutritive, préalablement coulée dans les boîtes de Petri. Ces dernières ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.



**Figure 11:** Préparation des échantillons.

Le deuxième, consiste à appliquer la couche interne directement sur la surface de la gélose nutritif (**Figure 12**) et ce, pendant cinq minutes (**Gund et al., 2021**). Ceci permet la croissance et le dénombrement des microorganismes affectant l'échantillon.



**Figure 12:** Technique d'empreinte du masque sur la gélose.

### III.2. Enrichissement

Les échantillons ont été traités selon le protocole de **Monalisa et al., (2017)**. Les fragments ont été aseptiquement plongés dans le bouillon cœur cerveau (BHI). Celui-ci est un milieu d'enrichissement permettant la croissance des bactéries exigeantes.

Les inocula ont été incubés à 37°C pendant 24 heures sous agitation à 120 tr/min.

### III.3. Isolement et purification

La technique d'isolement sert à séparer les différentes souches dans une suspension (**Delarras, 2007**). Selon le protocole de **Monalisa et al., (2017)**, la gélose nutritive ; Chapman ; Mac Konkey et Columbia au sang ont été utilisés.

La gélose nutritive permet la culture des micro-organismes peu exigeants. Chapman est un milieu qui permet la sélection des bactéries Gram positif, celle de Mac Conkey pour les bactéries à Gram négatifs et la gélose Columbia au sang permet la croissance exclusive des bactéries au caractère hémolytique (**Koffi et al., 2010**).

Pour les cellules fongiques, le milieu Sabouraud additionné de 0.5 g/l de chloramphénicol a été utilisé. Les fragments des bavettes ont été directement déposés sur la gélose en s'assurant du contact entre eux. Les boîtes ont été incubées à 25° pendant 7 jours. Pour les champignons filamenteux, chaque souche a été repiquée séparément en prélevant un disque du champignon puis en le disposant au centre d'une boîte de Petri contenant la gélose Sabouraud (**Botton et al., 1990**). Cette purification repose sur l'aspect macroscopique de chaque espèce.

Un repiquage successif, alternant l'ensemencement entre milieu liquide et solide, a été réalisé jusqu'à l'obtention de souches pures.

### **III.4. Conservation**

Les géloses nutritives et le Sabouraud, inclinées en tubes, ont étéensemencées pour la conservation des bactériennes et levures, respectivement. Les souches ont été conservées à 4°C (**Badis et al., 2005**).

Pour la conservation des champignons, on a transféré un fragment de mycélium dans de l'eau physiologie en tube à bouchon visé, les tubes sont conservés à 4°C (**Botton et al., 1990**).

### **III.5. Identification des bactéries**

#### **III.5.1. Observation macroscopique**

Les examens macroscopiques des bactéries reposent sur leurs caractères culturels, à savoir la couleur, la taille, la transparence et le contour des colonies ainsi que le virage de couleur du milieu de culture.

#### **III.5.2. Coloration de Gram**

La coloration de Gram a été effectuée afin de déterminer les bactéries Gram positif et Gram négatif. Cette coloration permet également la distinction de la morphologie et des spores, d'où les bactéries sporulantes.

#### **III.5.3. Test catalase**

Ce test est basé sur la détection de la production de l'enzyme catalase par les bactéries ayant un métabolisme respiratoire qui détruit le peroxyde d'hydrogène et libère de l'oxygène (**Vitolo, 2021**).

La technique consiste à prélever une colonie et l'émulsionner dans une goutte d'eau oxygénée. Le dégagement des bulles de gaz signifie qu'il y a une production de catalase (test positif) (Vitolo, 2021).

#### III.5.4. Test oxydase

Le test oxydase est basé sur la détection de l'enzyme oxydase produit par les bactéries, en présence de l'oxygène atmosphérique et le cytochrome (Delarras, 2007).

Pour déterminer l'activité oxydase, un disque d'oxydase a été imbibé avec une goutte d'eau physiologie stérile, puis un étalement d'une colonie prélevé sur le disque. Le développement d'une couleur violette signifie que le test est positif et que la souche possède l'enzyme oxydase (Delarras, 2007).

#### III.5.5. Test de Coagulase

*Staphylococcus aureus* à coagulase positif est une espèce pathogène qui présente un sérieux risque infectieux. La capacité de *Staphylococcus aureus* à coaguler le plasma est dû à la sécrétion d'une protéine extracellulaire, la Staphylocoagulase (Sperber et Tatini, 1975).

La recherche de cette espèce sur les masques de protections permet de déterminer ce risque vis-à-vis de la population estudiantine.

Pour se faire, quelques colonies de la souche ciblée ont été ensemencées dans un tube contenant du plasma humain stérile. L'incubation a été effectuée à 37°C pendant 24 heures. Le témoin positif a été réalisé en utilisant la souche de référence *Staphylococcus aureus* ATCC6538.

#### III.5.6. Tests Chromogéniques

Le chromAgar est un milieu d'orientation, il présente une grande capacité de différenciation entre les espèces sur la base de leurs couleurs et leurs morphologies (Stefaniuk, 2018).

#### III.5.7. Tests biochimiques

Afin d'obtenir une identification précise, une séries des tests biochimiques a été réalisée en utilisant des galeries d'identification API 20<sup>E</sup> et Id 32 Staph (Biomerieux, Lyon - France). Ces galeries constituent un système miniaturisé et standardisé de tests biochimiques, elles sont conçues pour l'identification respective des *Entérobactéries* et des bacilles Gram négatif ainsi que les souches de genre *Staphylococcus*, *Micrococcus* et genre apparentés, *Rothia* et *Aerococcus*.

La galerie API 20E comporte 20 microcupules contenant des substrats déshydratés avec lesquels les bactéries réagissent différemment. Les métabolites produits lors de l'incubation se traduisent par des virages de couleur spontanés ou révélés par l'addition de réactifs spécifiques, traduisant ainsi la présence ou l'absence de certains enzymes.

Le système ID 32 Staph comporte quant à lui, 32 microcupules, dont 26 contiennent un substrat déshydraté.

La traduction de ces réactions a été réalisée en se référant au tableau de lecture de la matrice d'identification fournit avec les galeries, celle-ci permet d'établir un biotype de l'isolat en question.

### **III.6. Identification des levures**

L'identification des levures a été réalisée selon l'aspect morphologique et de culture des souches. Deux examens ont été effectués, le test de germination et celui de chlamydosporulation.

#### **III.6.1. Test blastèse (test de germination)**

Des recherches scientifiques ont montré que certaines levures germinent lorsqu'elles sont cultivées dans le sang (**Taschdjian et al., 1960**). Quelques colonies ont étéensemencées dans 1 ml du sérum humain, puis incubée à 37°C pendant 4 heures.

L'observation a été faite sous le microscope optique (Grossissement × 1000) ; le test positif se traduit par une révélation des tubes germinatifs que se prolonge à partir des corps cellulaires (**Bouchet et al., 1989**).

#### **III.6.2. Test de chlamydosporulation**

Le milieu PCB (pomme de terre, carotte, bile de bovin) a été utilisé pour la réalisation de ce test. Les souches de levures ont étéensemencées par stries en créant une fente dans la surface de la gélose. Une lamelle est déposée sur la fente puis les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 48 heures.

La révélation des résultats a été réalisée par l'observation des chlamydospores sous le microscope optique au grossissement × 1000 (**Drochey et Vieu, 1957**).

### III.7. Identification des Champignons filamenteux

L'identification des champignons est basée sur l'étude des caractères macroscopiques et microscopiques des colonies. L'étude macroscopique repose sur une description de la texture (duveteuses, laineuse poudreuse, etc), la couleur et la présence des pigments diffusibles ainsi que la vitesse de croissance (**Chabasse et al., 2002**).

Alors que, l'étude microscopique des champignons filamenteux fait appel aux caractères morphologiques des hyphes et des organes de la fructification, à savoir la localisation, la couleur, la taille et la forme. Elle repose également sur la structure et la disposition des spores (**Chabasse et al., 2002**).

Pour ceux-ci un prélèvement non destructif a été réalisé sur la surface des moisissures à l'aide d'un ruban adhésif. Celui-ci a été déposé sur une goutte de bleu de méthylène, laquelle se trouve sur une lame. Une lamelle couvre-objet est déposée sur le ruban, puis transférer sous le microscope optique pour l'observation.

## IV. Evaluation In Vitro de la formation des biofilms

Le risque infectieux augmente considérablement avec la formation des biofilm (**Peeters et al., 2008**). L'évaluation de cette capacité chez les souches isolées est indispensable afin de déterminer ce risque.

### IV.1. Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

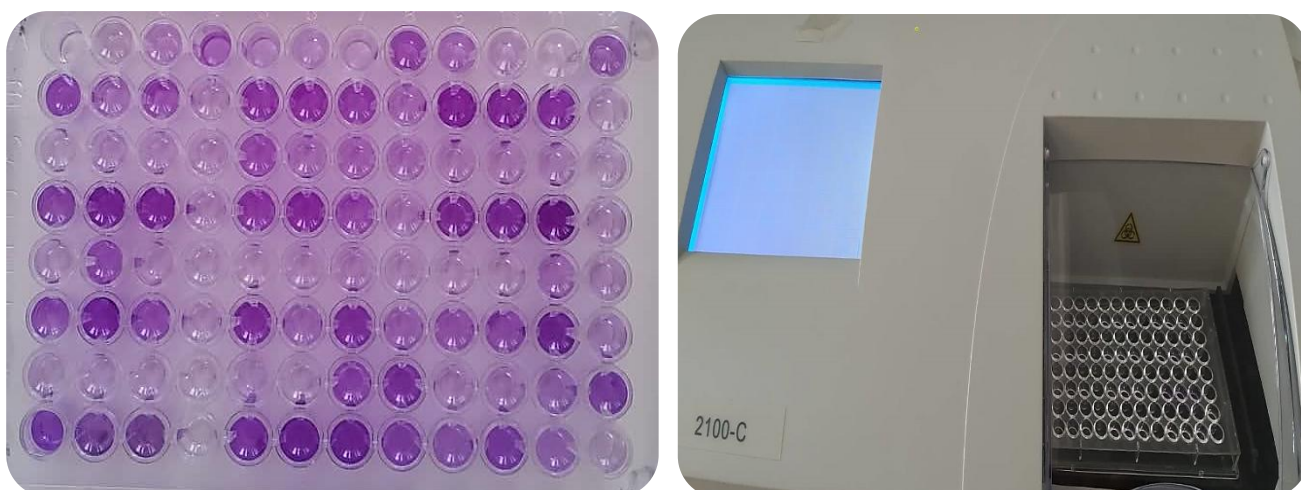
C'est une technique décrite en 1982 par **Christensen et al.**, elle permet une évaluation quantitative de la formation des biofilms. La technique modifiée de **O'toole et al., (2000)** a été utilisée sur des supports en polystyrènes des microplaques à 96 puits.

L'inoculation des puits des microplaques a été effectuée à partir d'une suspension jeune de 18 heures. L'inoculum bactérien a été ajusté à une opacité de 0.08 à 0.1 McFarland. Pour les levures, elle a été ajustée à 0,12 à 0,18 ; chaque puits a été inoculé par 300 µl. L'incubation a été effectuée, par la suite, à 37°C pendant 48 heures.

Les puits ont été débarrassés de leurs contenus, puis ont été rincés deux fois avec l'eau de robinet (**O'toole et al., 2000**). Une solution au cristal violet à 0.1% (p/v) a été ajoutée aux puits à raison de 300 µl, ceux-ci ont été laissés agir pendant 45 min à la température ambiante du laboratoire 23°. Les microplaques ont été renversées pour se débarrasser de l'excès du colorant, puis ont été soumises à un deuxième rinçage.

L'éthanol (96%) a été ajouté aux puits à raison de 300 µl pendant 10 min ; après avoir se débarrasser du surnageant, un troisième rinçage a été réalisé. Une première évaluation du potentiel de formation des biofilms a été effectué à l'œil nu.

Le colorant contenu dans le biofilm a été re-solubilisé après l'ajout de 300µl de l'acide acétique (33%) dans chaque, les microplaques ont été laissées à la température ambiante du laboratoire pendant 20 min. Un volume de 200 µl a été transféré dans les puits d'une nouvelle microplaque et ce, afin de mesurer l'absorbance à l'aide d'un lecteur de microplaque (OPTIC IVYMEN SYSTEM 2100C) (**Figure 13**).



**Figure 13:** Détection et lecture de biofilm par méthode TCP.

La quantité de la formation de biofilm est proportionnelle à l'absorbance mesurée dans chaque puits. Celle-ci a été réalisée à 630 nm, pour les bactéries et 492 nm pour les levures.

Ce test a été répété 3 fois pour chaque souche. Les valeurs de l'absorbance sont présentées en moyenne  $\pm$  l'erreur standard des moyennes. Les souches sont classées, selon leurs potentiels de formation des biofilms, en quatre classes (**Tableau 1**).

**Tableau 1:** Classification de la formation de biofilm (Stepanović et al., 2007).

Moyenne des valeurs de DO	Formation de biofilm
$DO_{lue} \leq DO_t$	-
$DO_t < DO_{lue} \leq 2X DO_t$	$\pm$
$2X DO_t < DO_{lue} \leq 4X DO_t$	+
$DO_{lue} > 4X DO_t$	++

**Notes :** - : Absence /  $\pm$  : Faible / + : Modérée / ++ : Forte /  $DO_t$  : la moyenne des DO des contrôles négatifs.

## V. Antibiogramme

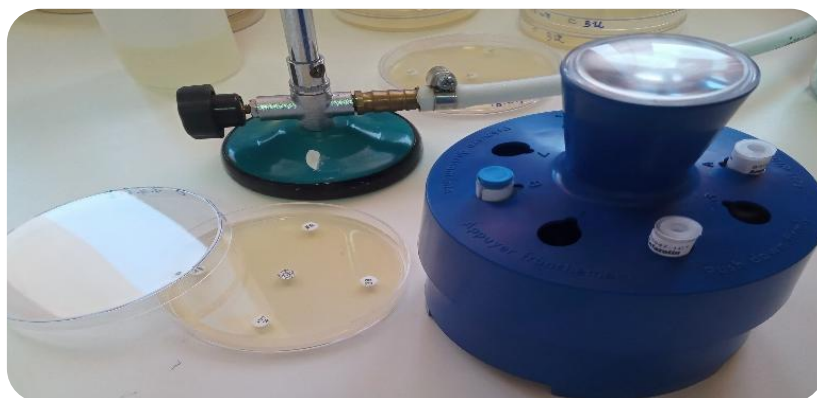
L'antibiogramme est un test biologique *In Vitro* qui renforce la décision thérapeutique contre une infection donnée (Garrabé et al., 1998). La susceptibilité de nos souches ont été testé vis-à-vis de cinq antibiotiques par la méthode diffusion sur milieu solide (méthode des disques), ces antibiotiques appartenant à 3 familles, ont été choisi (Tableau 2) selon leur fréquence d'utilisation dans les services hospitaliers de la région de Nâama.

**Tableau 2:** Antibiotiques utilisés dans le test d'antibiogramme.

Antibiotique	Charge du disque	Famille
Amoxicilline / Acide clavulanique	30 µg	β-lactamines
Ampicilline	30µg	
Cefazolin	10 µg	
Gentamicine	10µg	Aminosides
Vancomycine	30µg	Glycopeptides

Selon le comité européen, EUCAST (2020), les tests de sensibilités aux antimicrobiens sont réalisés à partir des pré-cultures de 18 heures. Pour se faire, les souches bactériennes ont été suspendues dans l'eau physiologie, l'absorbance de la suspension a été ajustée à 0.08-0.1 McFarland.

L'ensemencement de la gélose Mueller-Hinton a été effectué par écouvillonnage. Les disques ont été distribués ensuite sur la gélose à l'aide d'un distributeur de disques (Figure 14).



**Figure 14:** Distribution des disques d'ATB.

Les boîtes ont été laissées 20 min à la température ambiante pour une pré-diffusion de l'antibiotique, puis ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

La révélation des résultats a été réalisée en mesurant les diamètres des zones d'inhibitions autour des disques d'ATB ; Celles-ci ont été comparées à celles des concentrations critiques inférieure d (CCinf) et supérieure D (CCsup) mentionnées dans le prospectus fourni avec les disques (EUCAST, 2020).

Les souches ont été classées ensuite dans trois catégories ; sensible, Résistant ou Intermédiaire (Tableau 3).

**Tableau 3:** Classification des souches en fonction des diamètres des zones d'inhibitions (EUCAST, 2020).

$\emptyset$ mesuré $\geq$ d(CCinf)	Sensible (S)
$\emptyset$ mesuré $<$ D(CCsup)	Résistant (R)
$D(CCsup) \leq \emptyset$ mesuré $<$ d(CCinf)	Intermédiaire (I)

$\emptyset$  : diamètre de la zone d'inhibition.

## VI. Analyses statistiques

Les résultats de l'étude ont été analysés grâce au logiciel R-studio. Une analyse des correspondances multiples (ACM) ainsi qu'une description statistique des résultats a été réalisés.

Les statistiques descriptives ont été utilisées pour classer les microorganismes présents dans les masques chirurgicaux et pour évaluer la formation des biofilms. L'analyse des correspondances multiples a été utilisée pour illustrer des ellipses de confiance autour des modalités de toutes les variables étudiées.

## *Résultats & Discussion*

## I. Prélèvements

Sur un totale de treize (13) étudiants du Centre Universitaire de Nâama, six (6) hommes et sept (7) femmes ont fait l'objet de cette étude. Selon l'enquête réalisée, la tranche d'âge des participants varie entre de 19 et 38 ans (**Figure 15**).

Tous les étudiants ayant participé à l'enquête utilisaient de façon irrégulière leurs masques chirurgicaux, dont 70% des participants les utilisaient à l'intérieur du centre ainsi qu'à l'extérieur. Les endroits publics sont souvent fréquentés par ces étudiants, tandis que certains font partie du staff de l'hôpital, par conséquent l'utilisent des mêmes masques dans l'environnement hospitalier ainsi que celui du Centre Universitaire de Nâama (**Figure 15**).

**Tableau 4:** Données de l'enquête sur le port des masques chirurgicaux par les étudiants du Centre Universitaire de Nâama.

Variables		Résultats
Genre	Homme	6
	Femme	7
Tranche d'âge		19 – 38
Fréquence d'utilisation (%)	Très fréquemment	46.15
	Fréquemment	53.85
Lavage des masques (%)	Oui	7.69
	Non	92.31
Utilisation des mêmes masques hors CUN(%)	Oui	69.23
	Non	30.77
Allergie (%)	Oui	61.54
	Non	38.46
Victime de SARS (%)	Oui	69.23
	Non	30.77
Vacciné contre Covid 19 (%)	Oui	46.15
	Non	53.85
Maladie respiratoire/inflammation dentaire (%)	Oui	53.85
	Non	46.15
Tabagisme (%)	Oui	7.69
	Non	92.31
Utilisation du dentifrice (%)	Oui	76.92
	Non	23.08
Endroit où sont jetés les masques(%)	Indéterminé	69.23
	Poubelle	30.77

Selon les cercles de confiance obtenus dans le plotellips basé sur l'analyse des correspondances multiples (ACM), illustrant des ellipses de confiance autour des modalités de toutes les variables étudiées (**Figure 15**), la catégorie homme de la tranche d'âge adulte a été victime de SARS-Cov-2 plus que celle adolescent, voire la catégorie femme.

Selon le tableau précédent, la fréquence d'utilisation est variable ; 53.85% de la population soumise à l'étude portent les mêmes masques durant une semaine, tandis que 46.15% d'entre elle les portent au-delà de deux semaines.

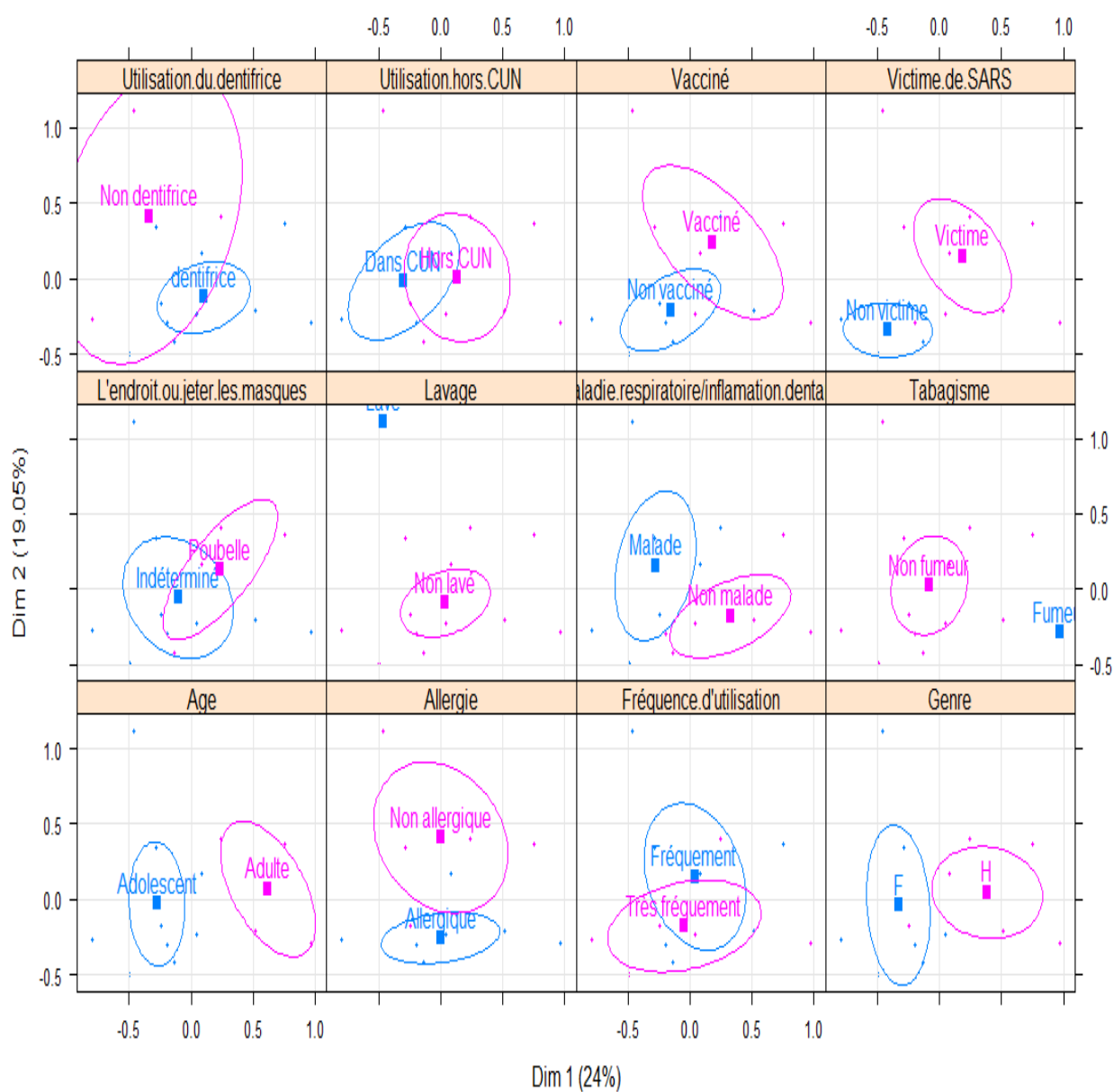
Etant donné qu'un grand nombre d'étudiants aient fréquemment utilisé leurs masques sans qu'ils soient lavés, 7.69% ont utilisé des produits chimiques tels que l'eau de javel et le savon. L'ACM a révélé un lien entre l'utilisation très fréquente des masques et l'atteinte d'une l'allergie à celui-ci (**Figure 15**). De plus, les étudiants non allergique ont été victime d'atteintes respiratoire/inflammatoires Malgré que plus de la moitié des étudiants n'être pas vaccinés contre le SARS CoV-2 lors de l'enquête, la majorité des participants (61.54%) souffrent d'allergie, d'essoufflement et des inflammations dentaires durant la période du port du masque (**Tableau 4**).

Etonnamment, selon la même enquête, 69.23% des étudiants ont indiqué qu'ils se débarrassaient de leurs masques dans des endroits indéterminés après leur retrait.

L'analyse des données du questionnaire a révélé que les la majorité des participants ne respectait pas le protocole sanitaire relatif au bon usage des masques chirurgicaux. Ainsi, l'utilisation irrégulière des masques peut être l'une des raisons responsables du risque infectieux ; cette étude a consolidé ce constat.

Contrairement à nos résultats, **Monalisa et al., (2017)**, ont trouvé que 16% des étudiants d'un établissement dentaire privé portent les mêmes masques durant toute la journée. Néanmoins, l'endroit où les masques sont jetés ont été semblables à ceux où les étudiants du CUN jetaient les leurs.

La **Figure 15** représente le plotellips des résultats de l'enquête menée au Centre Universitaire de Nâama durant la période d'étude.

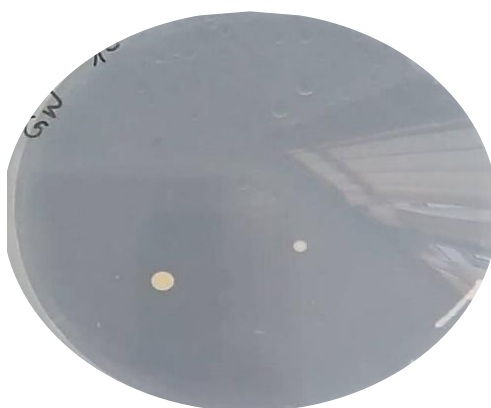


**Figure 15:** Plotellips basé sur l'analyse des correspondances multiples (ACM), illustrant des ellipses de confiance autour des modalités de toutes les variables étudiées.

## II. Analyses microbiologiques

Afin de dénombrer les microorganismes présents dans les masques chirurgicaux utilisés par la population estudiantine, la méthode de **Brun-Buisson et al., (1987)**, basée sur l'agitation de l'échantillon pendant une minute, a révélé la présence de colonies microbiennes sur la surface des géloses. La totalité des résultats, relatifs aux différents échantillons, a présenté un nombre inférieur ou égale à cinq colonies par boîte de Petri (**Figure 16**).

Malgré la pertinence médicale de ces résultats, un nombre inférieur à cinq UFC ne peut être considéré pour une évaluation de la charge microbienne (**Jean-Louis, 2011**).

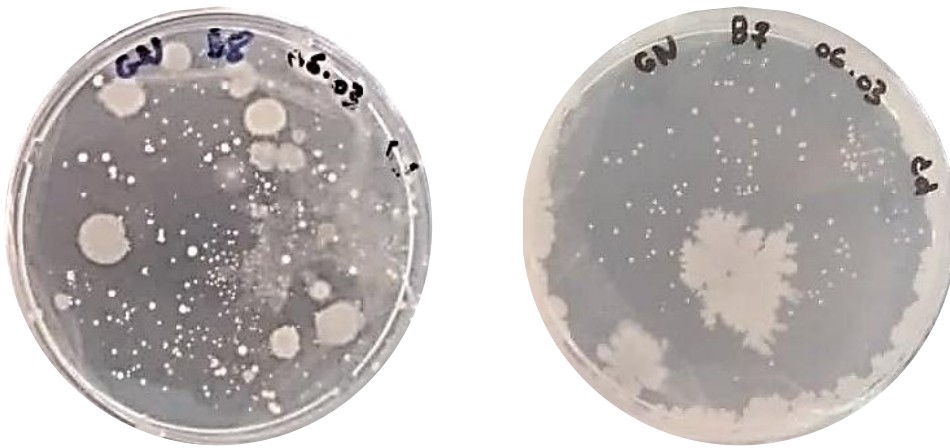


**Figure 16:** Résultat du dénombrement selon la méthode de **Brun-Buisson et al., (1987)**

La nature polypropylène de la couche intermédiaire des masques chirurgicaux est l'un des facteurs qui favorise l'adhésion covalente des microorganismes (**Tadielo et al., 2022**); ceci explique en partie le nombre réduit de colonies formées sur la gélose nutritive par la technique de **Brun-Buisson et al., (1987)**. De plus, l'agitation de l'échantillon pendant une minute ne permet pas le détachement de toutes les formes sessiles (**Boucherit-Atmani et al., 2011**).

En parallèle, la technique d'empreinte du **Gund et al., (2021)** a été utilisée en appliquant la couche interne des masques sur la surface de la gélose nutritive.

Bien que les parties des masques concernées par l'étude ne sont pas les mêmes, la méthode de **Gund et al., (2021)**, contrairement à celle de **Brun-Buisson et al., (1987)**, a permis d'obtenir une croissance microbienne importante ; le nombre de colonies formées sur la gélose nutritive s'est révélé innombrables (**Figure 17**).



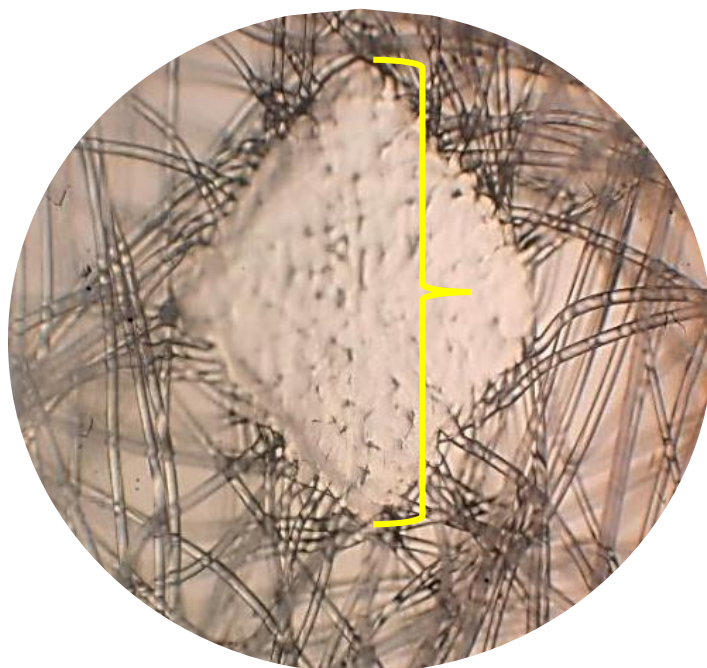
**Figure 17:** Résultat du dénombrement microbien selon la technique d’empreinte.

Outre leur nombre élevé, différentes formes et tailles des colonies ont été observées dans les boîtes de Petri. Ce résultat témoigne de la diversité microbienne retenue par le masque chirurgical.

Par ailleurs, en examinant la partie interne des masques par la microscopie optique (**Figure 18**), des pores de diamètres d’environ  $0.086 \pm 0.004$  mm ont été observés. L’aspect ultra-architectural de cette partie laisse à penser que les microorganismes peuvent passer à travers ces pores et regagner. Par conséquent, la couche intermédiaire des masques. Celle-ci, conçue en polypropylène (**Figure 19**), empêche l’inhalation des gouttelettes et des aérosols, d’où l’adhésion des microorganismes (**Donovan et Skotnicki-Grant, 2007**).

De plus, la partie interne des masques chirurgicaux rentre en contact avec certaines parties du visage de la personne qui le porte. **Nejatidanesh et al., (2013)** ont précisé que les zones autour du nez, ainsi que le coin interne des yeux sont les plus contaminés que les autres zones du visage. Ceci suscite l’intention des personnes lors de l’utilisation de ce type de masques, notamment à long termes.

Il est à signaler que l’étude menée par **Gund et al., (2021)** a révélé que tous les masques utilisés par les dentistes pendant le traitement dentaire présentaient une contamination microbienne de leur couches internes ; ce constat confirme l’importance de cette couche.



**Figure 18:** Observation microscopique de la couche interne d'un masque chirurgical (Grossissements  $\times 1000$ ). Le crochet désigne le diamètre du port



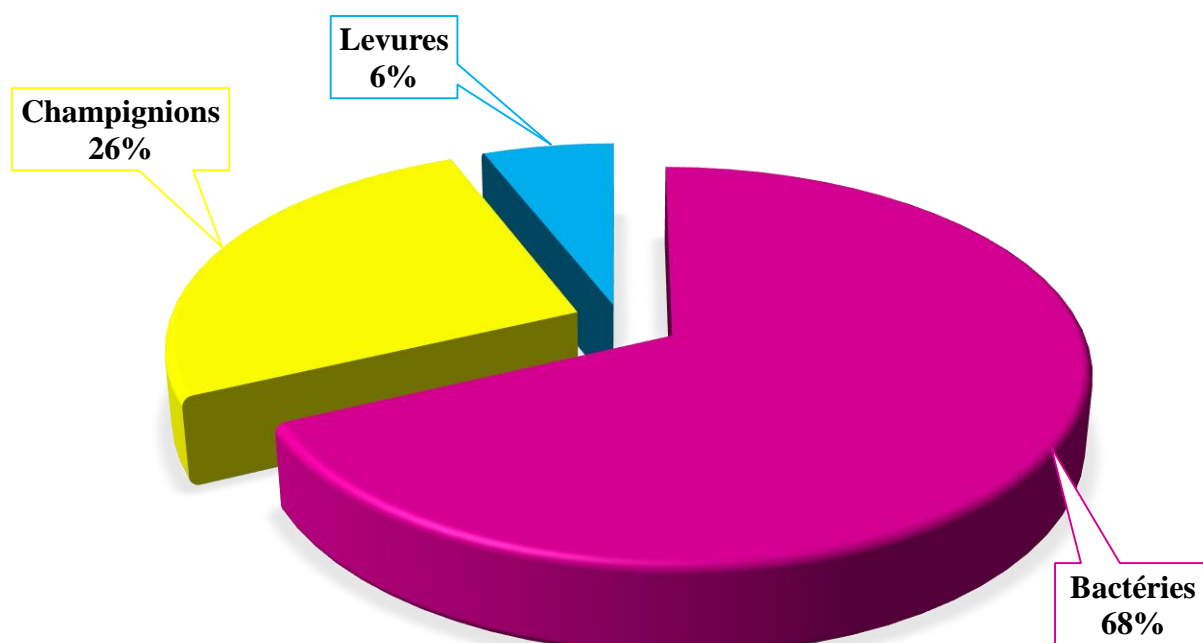
**Figure 19:** Observation microscopique de la couche intermédiaire d'un masque chirurgical (Grossissements  $\times 1000$ ).

### III. Isolement, purification et conservation

Sur les treize (13) échantillons, 34 souches bactériennes et 15 souches fongiques, dont trois levures et 12 champignons filamenteux ont été isolés. Il ressort une nette dominance des souches bactérienne, plus de 69% des particules cellulaire isolées ont été des formes bactériennes comme le montre **Figure 20**.

Les champignons filamenteux ont occupé le deuxième rang avec un taux d'isolement de 26%. Les cellules levuriennes, quant à elles, ont été moins nombreuses ; trois souches seulement ont été isolées.

Dans une étude antérieure, les résultats ont montré que les masques provoquent la rétention d'humidité, créant ainsi un microclimat chaud et humide propice pour une croissance idéale de divers agents microbiens, tels que les bactéries et les champignons (**Jamjoom et al., 2009**).



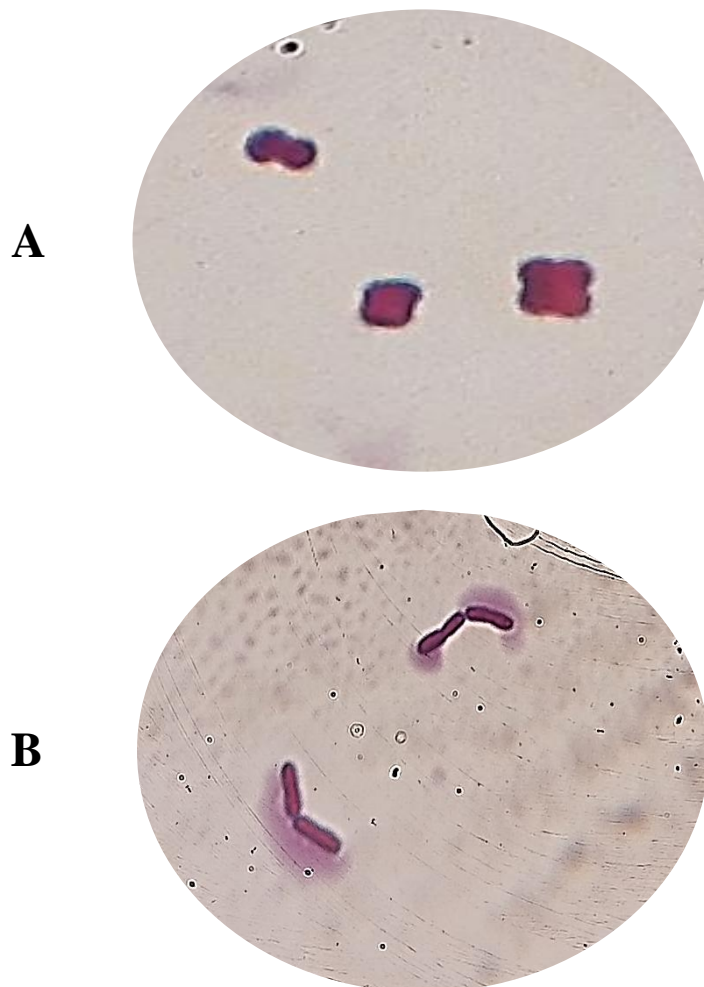
**Figure 20:** Répartition des souches microbiennes isolées à partir des masques chirurgicaux usés.

#### IV. Identification des bactéries

En s'appuyant sur leur aspect macroscopique et microscopique, les souches pures ont fait l'objet d'une première identification.

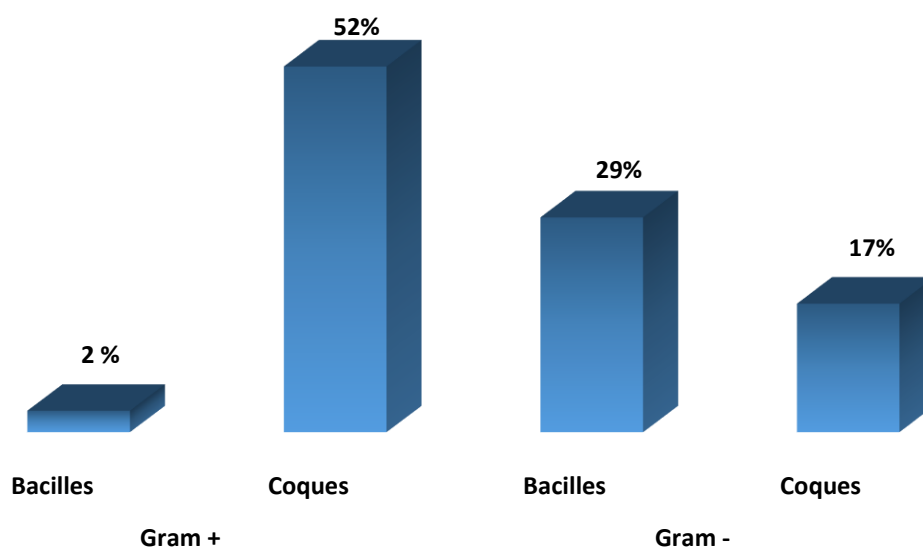
Les résultats obtenus ont révélé des morphotypes différents (**Annexe II**). La taille des colonies (petites et grande), leur aspect général (rond, bombé et aplatis) et leur contour régulier ou irrégulier ont été pris en considération dans cette partie.

La coloration de Gram a permis de distinguer des bactéries isolés de formes cocciques et des coccobacille Gram négatif. De plus, des coques en amas, des tétrades et bactéries en chainettes Gram positif ont été également observés. Des particules de diplocoques Gram positif et Gram négatif ont fait leur apparition. Des bacilles sporulés et non sporulés ayant un Gram positif et négatif ont été également observés (**Figure 21**).



**Figure 21:** Observation microscopique des souches isolées après coloration de Gram (Grossissement  $\times 1000$ ) **A:** Coque en tétrade Gram positif ; **B:** Bacille Gram positif.

Selon les résultats obtenus (**Figure 22**), la moitié des bactéries isolées à partir des masques chirurgicaux sont des coques Gram positif. Le reste comprend plus d'un quart de bacilles et environ 18% de cocci Gram négatif. En parallèle, un faible taux (2%) pour les bacilles Gram positif a été enregistré.



**Figure 22:** Répartition des bactéries isolées selon leurs morphologies et la coloration de Gram.

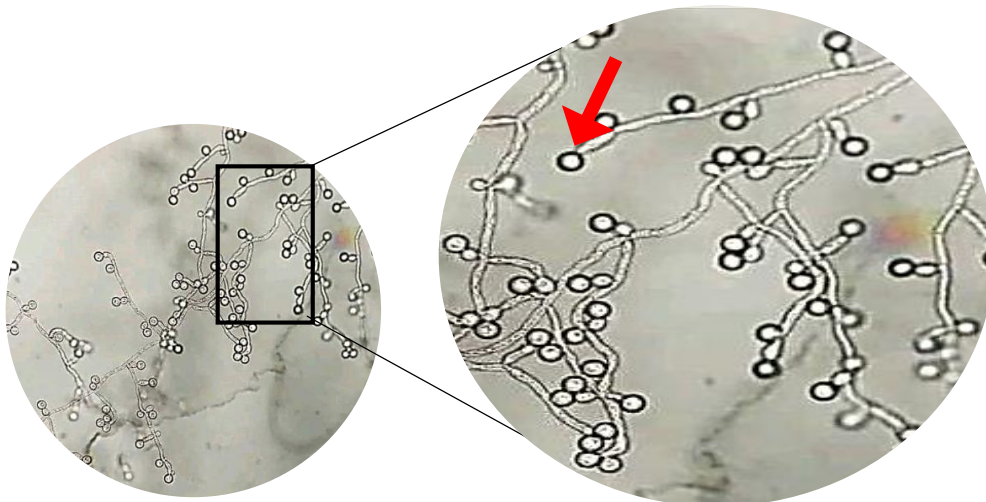
## V. Identification des levures

L'examen macroscopique des trois souches levuriennes montre des colonies lisses blanches crémeuse. Les trois levures isolées se sont avérées positive au test de blastèse, suite à l'apparition d'un tube germinatif après culture (**Figure 23**).



**Figure 23:** Examen microscopique du test de blastèse (Grossissement  $\times 1000$ )

La chlamydosporulation était positive par l'apparition des pseudo-filaments chez les levures. Par conséquent, l'ensemble de ces résultats oriente vers l'identification de *Candida albicans* (Jan et al., 2022).



**Figure 24:** Examen microscopique du test de chlamydosporulation (Grossissement  $\times 1000$ ).  
La flèche indique le chlamydo-spore.

L'espèce *Candida albicans* est responsable des principales pathologies bucco-dentaires (Malbos, 2022). De ce fait, son isolement à partir des masques chirurgicaux semble être logique.

## VI. Identification des champignons

L'identification des champignons filamenteux repose sur leur aspect macroscopique et microscopique (Tableau 5).

Selon les résultats obtenus (Figure 25), quatre champignons filamenteux (34%) appartiennent au genre *Aspergillus spp.*. Il faut rappeler que cette espèce a été isolée des masques chirurgicaux portés par les étudiants du CUN.

*Penicillium spp.* et *Mucor spp.* ont partagé le même taux (25%) et, ont occupé le deuxième rang. En effet, Luksamijarulkul et al., (2014) et Sachdev et al., (2020) ont documenté l'importance de la contamination des masques chirurgicaux, ils ont isolé *Aspergillus spp.* et *Penicillium spp.* à partir des masques usés utilisés par le staff médical.

En outre, *Curvularia spp.* et *Alternaria spp.* ont été isolés avec un faible taux, estimé à 8%.

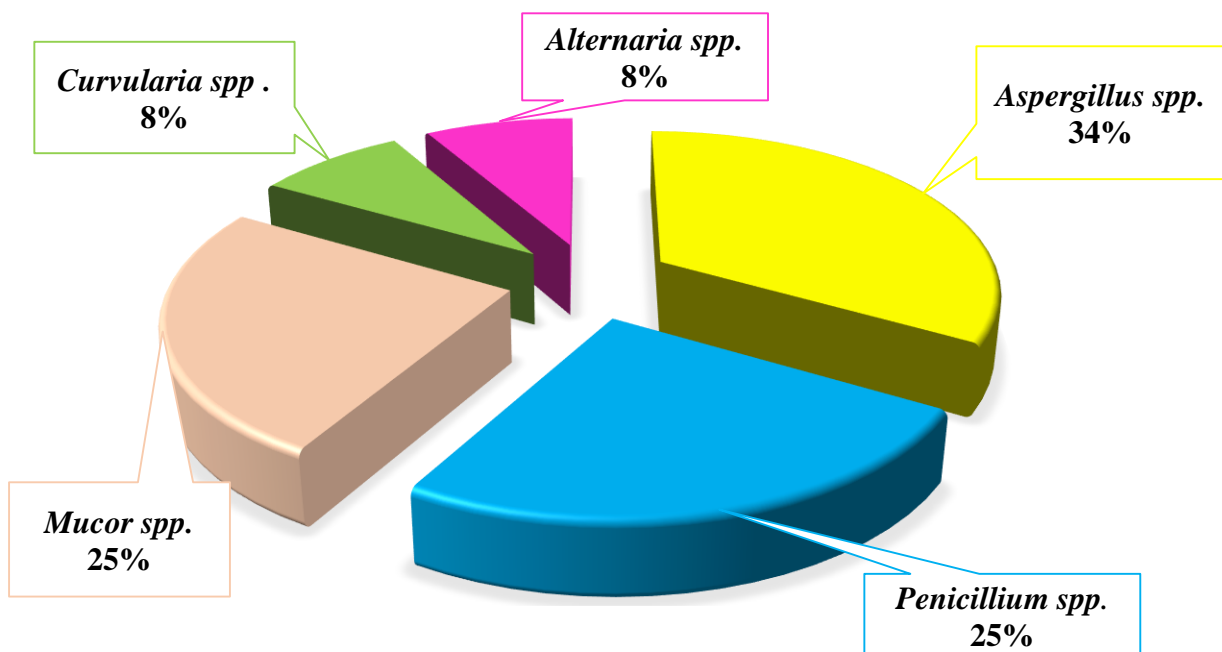


Figure 25: Répartition des champignons filamenteux isolés du masques chirurgicaux.

Les résultats de **Kappstein, (2020)** ont montré que les agents pathogènes du nasopharynx s'accumulent excessivement à l'extérieur et à l'intérieur du masque pendant la respiration. Dans ce contexte, la présence des champignons filamenteux témoigne, en partie d'une contamination par voie aérienne.

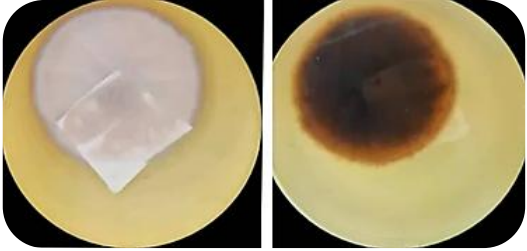

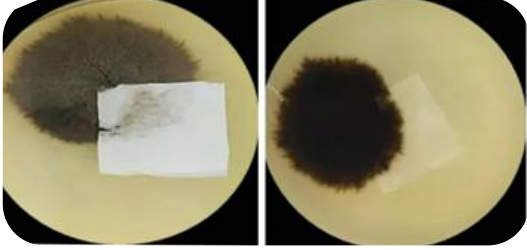
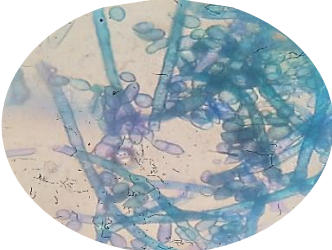
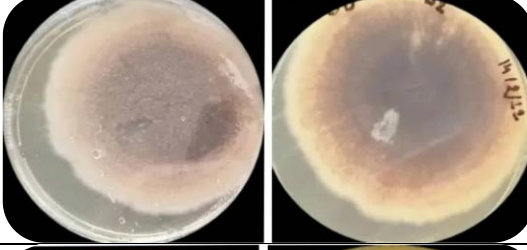

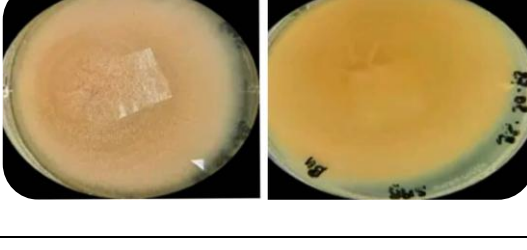
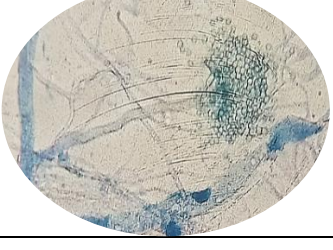
En effet, **Bassetti et al., (2020)**, **Lai et al., (2021)** et **Marr et al., (2021)** ont démontré que *Aspergillus spp.* provoque des sur-infections chez les patients atteints de Covid 19 ; ceci peut corroborer, en partie, les résultats de cette étude. En fait, deux tiers (2/3) des étudiants inclus dans l'enquête ont été victime de Covid 19, tandis que plus de la moitié ont souffère d'allergie et d'essoufflement.

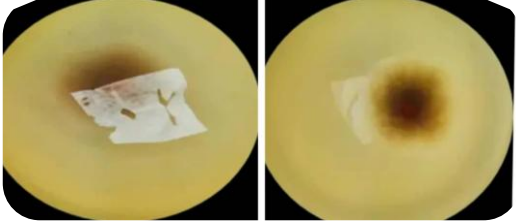
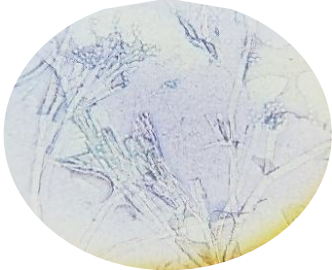
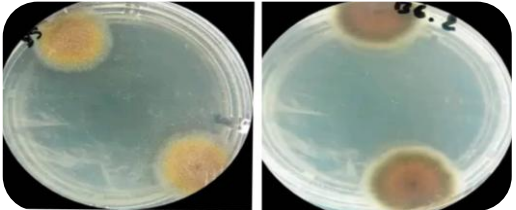

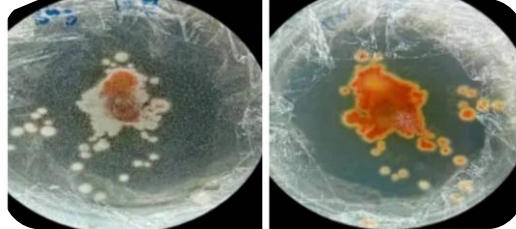

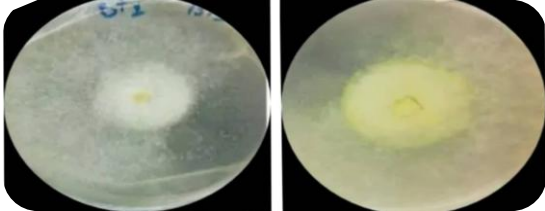
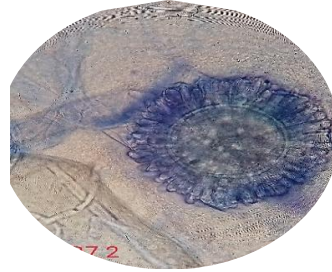
En revanche, le champignon *Mucor*, isolé également des masques utilisés par les étudiants de CUN, est responsable de la mucormyose, une infection rare qui peut atteindre les poumons et la peau des patients (**Lakhdar et al., 2016 ; Aboulhassane, 2020**).

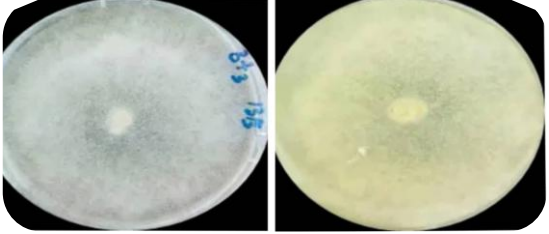
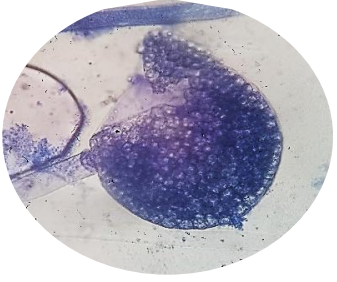
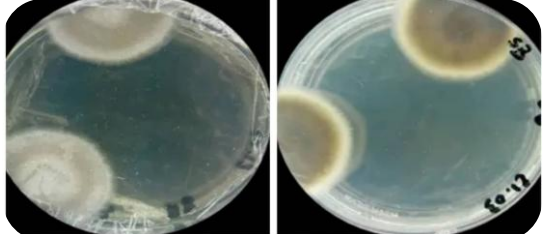
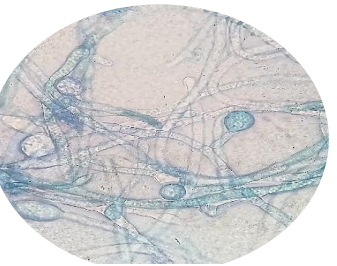
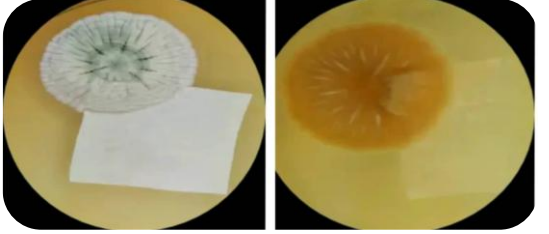
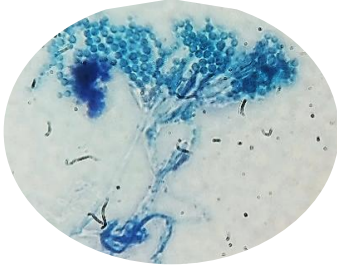

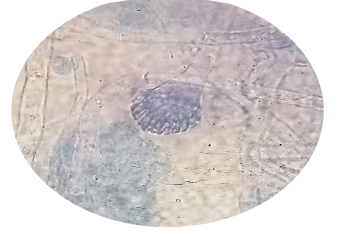
De plus, les champignons du genre *Penicillium spp.* peuvent engendrer des manifestations clinique sur la santé humaine, *P. chrysogenum* est considéré comme une mycète très allergènes (**Reboux et al., 2019**).

Les espèces de *Alternaria spp.* sont considérées comme des aéro-allergènes, elles sont impliqués dans la survenue des asthmes et des rhinites allergiques (**Fung et al., 2000 ; Thibaudon et Lachasse, 2006**). Cependant, *Curvularia spp.*, l'un des champignons isolés dans cette étude, est responsable des infections cutanées (**Gunathilake et al., 2014**).

**Tableau 5:** Caractéristiques macroscopiques et microscopique des champignons filamenteux isolés des masques chirurgicaux.

Références	Aspects macroscopiques		Aspects microscopiques	Genre	
BC <sub>1</sub>		Colonie plate de couleur blanc-grise, le verso est brun.		Un thalle végétatif non cloisonné, la tête porte de nombreux conidiophores porter sur des phialides les conidies sont lisse globuleuse.	<i>Aspergillus spp.</i>
BC <sub>2</sub> <sub>1</sub>		Colonies laineuse de couleur brun foncé, le verso est noir.		Les hyphes septés, les conides sont brunes, cloisonnées transversalement.	<i>Curvularia spp.</i>
BC <sub>2</sub> <sub>2</sub>		Colonie à texture laineuse de couleur blanc au départ puis foncé au brun. le verso comme le recto.		Le mycélium est non cloisonné avec une tête ovoïde.	<i>Mucor spp</i>
BC <sub>4</sub>		Colonie duveteuse de couleur beige, le verso est jaune.		Un mycélium végétatif associe à une tete en colonne évasée ,les conidiphores sont incolore. Les conidies globuleuse à petite taille	<i>Aspergillus spp.</i>

BC5		<p>Colonie duveteuse, poudreuse de couleur jaune au départ devient brun foncé, le verso comme le recto.</p>		<p>plusieurs branches de métules qui, elles, portent les phialides. Les phialides présentent un aspect de bouteilles allongées, Les conidies sont rondes .</p>	<i>Penicillium spp.</i>
BC61		<p>La colonie est duveteuse à laineuse de couleur blanc-gris dans leur l'extrémité, devient rapidement brune à noire foncé au centre le verso comme Le recto.</p>		<p>Hyphes septés , les conidies sont de couleur brune d'aspect ovoïde ; arrondie dans la partie basale et allongée dans l'extrémité apicale . avec des cloisons transversale.</p>	<i>Alternaria spp.</i>
BC62		<p>Colonie duveteuse, poudreuse de couleur blanche à l'extrémité et orange au centre, le revers est orange</p>		<p>Les hyphes sont septés portent des conidiophores ramifiés Les phialides sont disposées sur les conidiophores a partir des métules avec des conidies rondes à ovoïdes lisse.</p>	<i>Penicillium spp.</i>
BC71		<p>Colonies poudreuse blanche, le revers de couleur jaune pale.</p>		<p>Les conidiophores sont lisse incolore, la présence d'une vésicule globuleuse et une tete radiée Les phialides sont portent sur des métules.</p>	<i>Aspergillus spp.</i>

BC7 <sub>2</sub>		Un mycélium aérien cotonneux de couleur blanche, le verso est jaune.		Filaments large non septés, sporocystes sont globuleux, contient un nombre important des spores rondes et lisses (état d'éclatement du sporange).	<i>Mucor spp.</i>
BC8		Colonies d'aspect laineuse avec une couleur blanche au départ puis foncé rapidement au gris-brun. Le verso brun au centre et gris à l'extrémité.		Filaments non septés, avec une tete globuleuse.	<i>Mucor spp.</i>
BC9 <sub>1</sub>		Colonie duveteuse, poudreuse avec une prédominance de la couleur blanche, Bien qu'il y ait des tâches verts au centre Le revers est jaune-orange.		Hyphes septés portent des conidiophores ramifiés donne l'aspect pinceaux , les conidies disposées en chaines	<i>Penicillium spp.</i>
BC9 <sub>2</sub>		Colonies duveteuse à poudreuse de couleur blanche à l'extrémité puis varie vert – jaune Le verso est jaune.		Conidiophores incolore, la présence d'un vésicule sphérique .	<i>Aspergillus spp.</i>

## VII. Formation de biofilm *In Vitro*

La formation des biofilms est considérée comme étant un facteur de risque infectieux (Costerton, 1999), la croissance de ces structures à la surface du matériel médical a été rapportée dans la littérature (Johani et al., 2018 ; Kord et al., 2018). Il est donc essentiel de savoir si les souches isolées étaient capables de former les biofilms.

La méthode utilisée pour l'évaluation du potentiel de formation des biofilms a permis la révélation de ce pouvoir chez toutes les souches bactériennes. D'après, les résultats de Aye, (2015) et Lozano et al., (2022), la technique des microplaques conserve sa place privilégiée pour le dépistage de la formation du biofilm *In Vitro*.

Parmi trente-quatre (34) bactéries isolées, les résultats obtenus ont révélé dix souches (29.41%) avec un fort potentiel de formation des biofilms ; alors que, plus de la moitié (55.88%) d'entre elles ont présenté un potentiel modéré. Cependant, seulement cinq isolats (14.7%) souches ont été classées faiblement biofilmogènes.

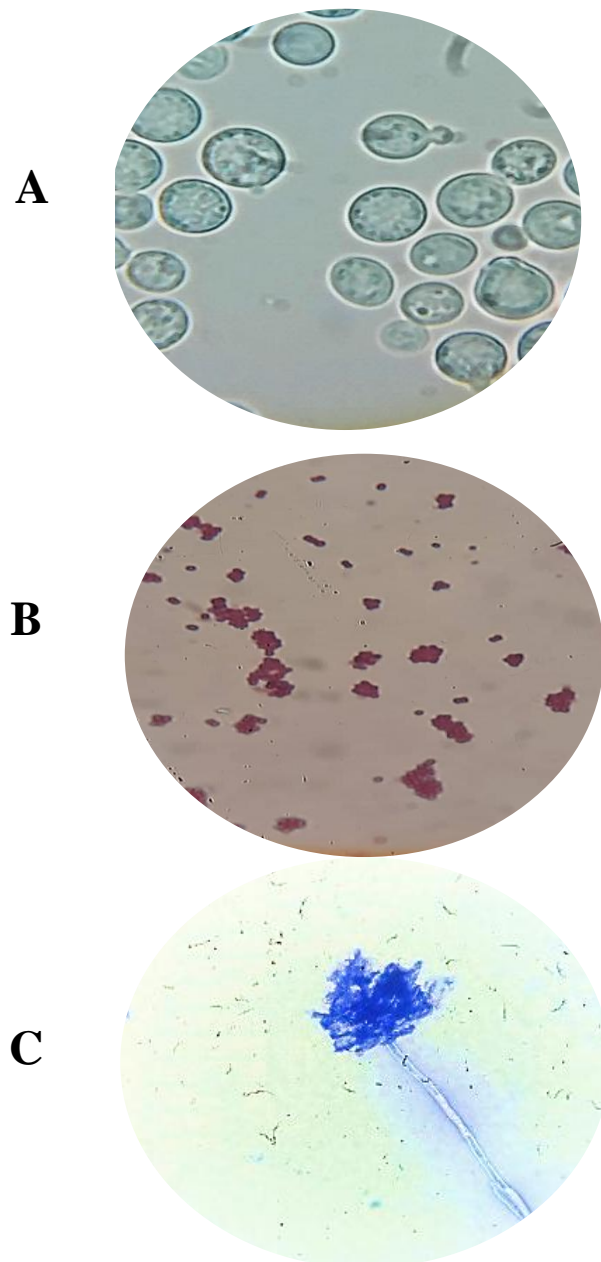
La formation des biofilms est, effectivement, un caractère intrinsèque chez de nombreuses espèces bactériennes (Donlan et Costerton, 2002). Cependant, ce potentiel peut changer au sein d'une même espèce selon son environnement (Seddiki, 2021).

D'autre part, les résultats de cette étude ont révélé trois souches de *Candida albicans* bonnes formatrices de biofilm. En effet, cette espèce forme facilement le biofilm sur des matériaux en polypropylène (Wang et al., 2021). Étant donné que le genre *Candida* a été classé parmi les dix groupes de microorganismes potentiellement pathogènes pour l'homme (Baghad et al., 2021) ; cette levure peut présenter un risque infectieux suite à l'utilisation prolongée des masques chirurgicaux contaminés.

Luksamijarulkul et al., (2014) et Zhiqing et al., (2018) ont mentionné que le microclimat chaud et humide crée suite à l'utilisation des masques chirurgicaux favorise l'accumulation des micro-organismes. De plus, Tadielo et al., en 2022, ont enregistré des résultats évoquant une synergie entre les cellules sessiles de bacilles Gram positif et Gram négatif sur des surfaces en polypropylène, le constituant de la couche interne des masques chirurgicaux.

En outre, malgré que les masques chirurgicaux témoins aient été traités au moyen de l'oxyde d'éthylène, 5/7 d'entre eux se sont révélés non stériles. En fait, cinq souches bactériennes, quatre champignons filamenteux et une levure ont été isolés à partir de ces dispositifs médicaux, censés être stériles.

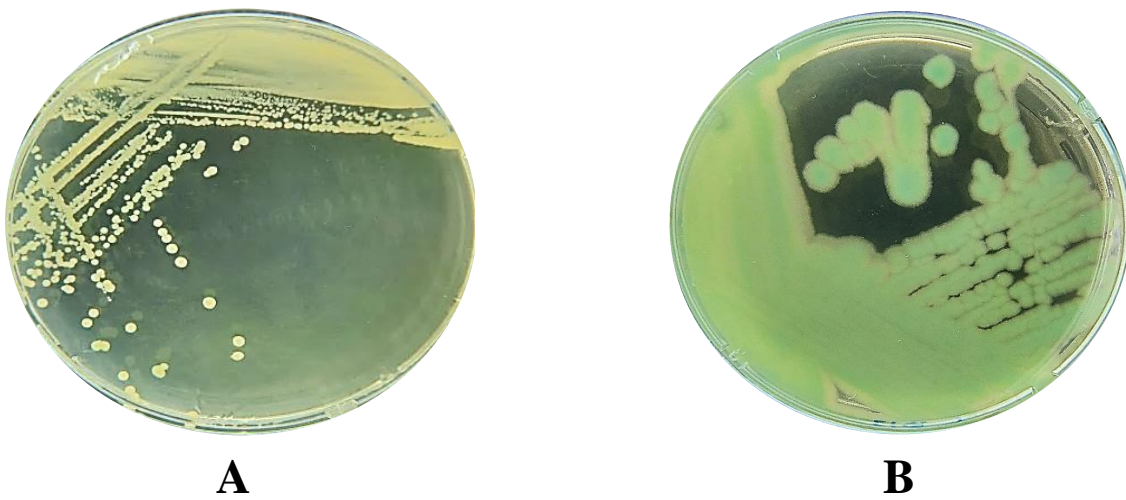
Selon ces résultats, la majorité des souches bactériennes et de champignons isolés possèdent ont le pouvoir de la sporulation. Cette fréquence élevée dans de tels masques chirurgicaux, destinés à être utilisés en milieu hospitalier, pourrait être attribuée, selon **Gerding et al., (2008)**, à la résistance de leurs spores au processus de désinfection et de stérilisation.



**Figure 26:** Aspect microscopique des souches isolées du masque témoin  
A: Levure; B: Bactérie Gram positif; C: Champignons filamenteux (*Aspergillus spp*).

## VIII. Identification biochimique

Puisque la formation des biofilms est un facteur de risque infectieux en soit (Costerton, 1999) l'identification des souches fortement formatrices de biofilms a été complétée par d'autres tests. La technique chromogénique (Figure 27), ainsi que les tests de coagulase, de catalase et d'oxydase ont révélé des bactéries qui appartiennent aux *Entérobactéries*, *Staphylocoques* et *Pseudomonas* (Annexe III) Les résultats des différents tests biochimiques sont présentés dans le Tableau 6.



**Figure 27:** Aspect macroscopique des colonies sur le milieu chromagar

**A :** *Staphylococcus aureus* ; **B :** *Pseudomonas spp.*

La majorité des cocci Gram positif, isolées sur le milieu Chapman, ont présenté la capacité de coaguler le plasma humain. Les bactéries capables de convertir le fibrinogène en fibrine sont coagulase positifs, dont l'espèce *Staphylococcus aureus* est l'une d'elles (Denis et al., 2011).



**Figure 28:** Test positif de coagulase chez *Staphylococcus aureus*.

Selon le **Tableau 6**, les résultats ont dévoilé une catalase positive chez toutes les souches fortement formatrices de biofilms. Par ailleurs, la quasi-totalité d'entre elles (9/10), a présenté une oxydase négative ; cette enzyme a été néanmoins, mise en évidence chez la souche B102.

**Tableau 6:** Résultats des différents tests biochimiques chez les souches fortement formatrices de biofilms.

Références	Aspect Chromogénique	Oxydase	Catalase	Coagulase
<b>B12</b>	Bleu métallique	Négatif	Positif	/
<b>B41</b>	Bleu métallique	Négatif	Positif	/
<b>B62</b>	Vert	Négatif	Positif	/
<b>B102</b>	Vert	Positif	Positif	/
<b>B23</b>	Crème, colonies très petites	Négatif	Positif	Négatif
<b>B15</b>	Jaune doré, opaque, petit	Négatif	Positif	Positif
<b>B42</b>	Jaune doré, opaque, petit	Négatif	Positif	Positif
<b>B53</b>	Jaune doré, opaque, petit	Négatif	Positif	Positif
<b>B63</b>	Jaune doré, opaque, petit	Négatif	Positif	Positif

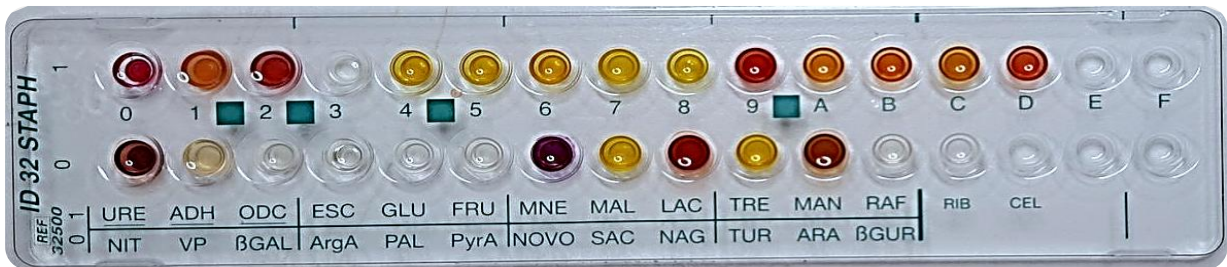
Les souches suscitées (**Tableau 6**) ont été soumises à l'identification en utilisant les galeries API 20E et ID32 STAPH.

La mise en évidence des principaux caractères biochimiques des souches se traduit par un virage de couleur des cupules ou suite à l'ajout de réactif qui reflète la positivité ou la négativité des tests (**Figure 29**).

Les résultats détaillés de l'identification biochimiques sont rassemblés dans (Annexe IV et Annexe V).



*Pseudomonas aeruginosa* (Biotype : 2202000)



*Staphylococcus epidermidis* (Biotype : 767030210)

**Figure 29:** Résultats de la galerie API 20E et ID32 STAPH des souches *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus epidermidis* respectivement.

Les résultats obtenus ont révélé une prédominance des souches du genre *Staphylococcus*. Cette bactérie représente, en fait, la moitié des souches isolées fortement biofilmogènes. Quatre souches de *Staphylococcus aureus* et une seule *Staphylococcus epidermidis* ont pu être identifiées.

Selon le **Tableau 8**, *Pseudomonas spp.* a été représenté par deux espèces, *P. aeruginosa* et *Pseudomonas fluorescens*. Concernant l'espèce *Serratia plymuthica*, deux souches sont identifiées (B1<sub>2</sub> et B4<sub>1</sub>). En revanche, une seule souche représentative de l'espèce *Proteus vulgaris* a été identifiée grâce à la galerie API 20E.

**Tableau 7:** Identification des souches fortement formatrices des biofilms.

Références	Espèces
B15	<i>Staphylococcus aureus</i>
B42	
B53	
B63	
B23	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
B12	<i>Serratia plymuthica</i>
B41	
B31	<i>Proteus vulgaris</i>
B62	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
B102	<i>Pseudomonas fluorescens</i>

En accord avec les résultats de **Idrees et al., (2021)**, **Semai et al., (2021)** et **Zammuto et al., (2022)** qui ont montré que *Staphylococcus aureus*, *Serratia plymuthica*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Proteus vulgaris* présentent tous la capacité à former les biofilms sur différentes surfaces ; la présente étude a révélé l'identité de ces mêmes espèces bactériennes. Ces dernières étaient en effet de bonnes formatrices des biofilms.

Conformément à nos résultats, d'autres études ont rapporté une contamination des masques chirurgicaux par une diversité d'agents pathogènes où elles stipulent leur appartenance aux genres *Staphylococcus*, *Pseudomonas* et *Candida* (**Luksamijarulkul et al., 2014 ; Monalisa et al., 2017**).

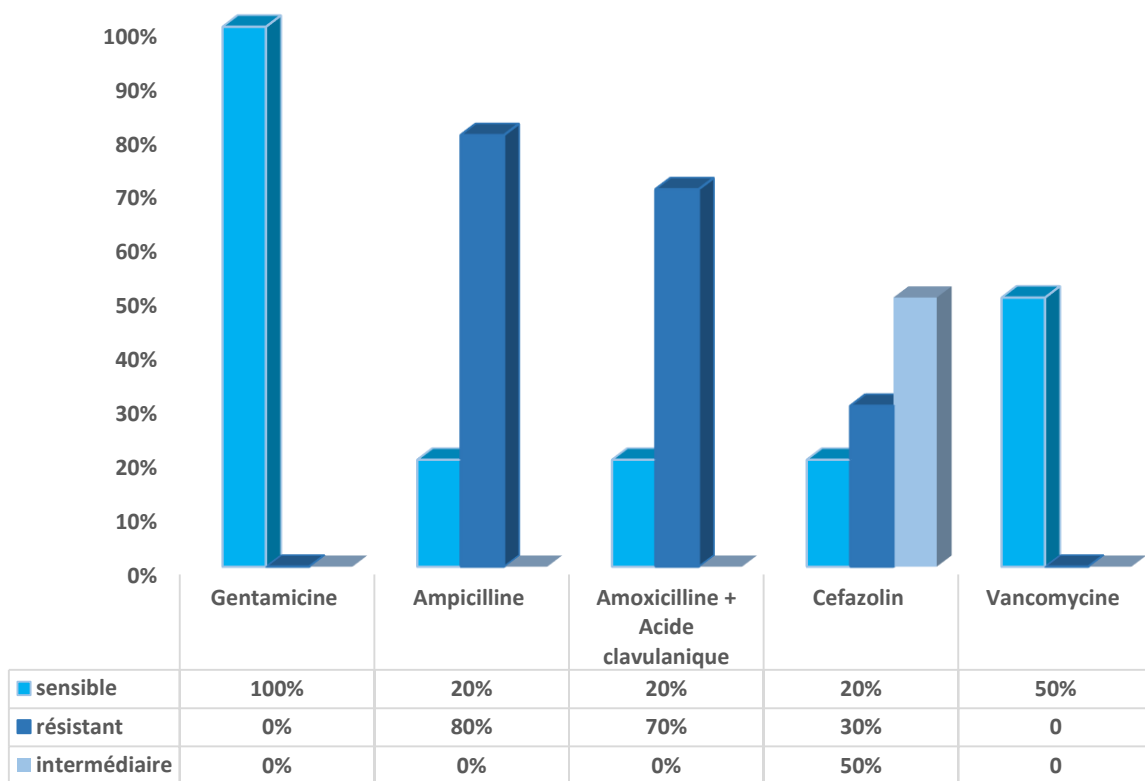
**Reśliński et al., (2011)**, ont constaté que *Staphylococcus aureus* est considéré comme étant une souche fortement formatrice de biofilm sur un implant médical en polypropylène. Cette structure microbienne est capable de causer des infections aiguës et chroniques (**Liesse Lyamba, 2012**).

Par ailleurs, l'Institut Pasteur de Paris a indiqué que certains Staphylocoques produisent des toxines telle que l'exfoliatine, ce qui peut causer de sérieuses pathologies.

Les résultats de **Benslimani et Meieddine, (2012)** et **Amrouni et al., (2014)** ont révélé que *Pseudomonas spp.* se classe parmi les trois agents pathogènes les plus incriminés dans les infections liées aux soins en Algérie. Ces bactéries provoquent également des infections chroniques en raison de leur capacité biofilmogène et, par conséquent la résistance aux traitements antibiotiques (**Taylor et al., 2014**).

### IX. Sensibilité aux antibiotiques

L'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques des souches fortement formatrices de biofilm a été réalisée via la mesure des diamètres des zones d'inhibition selon les recommandations **EUCAST (2020)**. La **Figure 30** montre les niveaux variables de résistance et/ou de sensibilité des souches isolées. Les résultats en détails sont regroupés dans **Annexe VI**.



;

**Figure 30:** Taux de souches susceptibles aux antibiotiques.

Selon les résultats obtenus, toutes les souches bactériennes ont présenté une sensibilité vis-à-vis de la Gentamicine (aminosides) ; 100% des souches testées se sont avérées sensibles.

Un résultat identique a été enregistré vis-à-vis de l'Ampicilline et de l'Amoxicilline / Acide clavulanique chez *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus epidermidis*, et *Staphylococcus aureus*. Les mêmes constatations ont été soulignées pour les deux souches de l'espèce *Serratia plymuthica*, où elles présentaient une sensibilité aux antibiotiques testées (**Figure 31**).

Une exception a été enregistrée pour *Pseudomonas fluorescens* ; cette espèce présentait un intervalle indéterminé pour l'Amoxicilline / Acide clavulanique.



**Figure 31:** Résultats de l'antibiogramme chez les souches

**A :** *Staphylococcus epidermidis* ; **B :** *Serratia plymuthica*.

De plus, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens* et *Proteus vulgaris* ont exprimé une résistance marquée vis-à-vis de la Cefazolin.

Et ce qui concerne la Vancomycine, nous avons remarqué des zones d'inhibitions avec un diamètre entre 10 à 22 mm. Cet intervalle est qualifié indéterminés par EUCAST, (2020). Cependant *S. aureus* et *S. epidermidis* ont enregistré une sensibilité.

Les résultats de sensibilité à la Gentamicine, obtenus dans cette étude, semblent être en accord avec ceux de **Elhamzaoui et al., (2009)**, **Hamidechi et Meziani, (2011)** et **De Ouagadougou, (2012)**. Ceci suggère le manque de l'acquisition d'un mécanisme de résistance qui soit exprimé *In Vitro* (**El haimer, 2019**).

A contrario, **Abassor, (2021)** a démontré tout de même que *P. aeruginosa* présente une résistance à la Gentamicine. Ceci peut être expliquer, selon **Mérens et al., (2011)**, par la production d'enzymes empêchant les molécules d'aminosides de se fixer sur le ribosome et ce, suite à la modification de ses fonctions - NH<sub>2</sub> ou -OH.

Les résultats de cette étude corroborent avec à ceux de **Balasoïu et al., (2014)** et **Pirvanescu et al., (2014)** qui ont signalé la résistance de *P. aeruginosa* et *P. fluorescens* à l'Ampicilline et Amoxicilline/Acide clavulanique.

Concernant les glycopeptides, **Gross, (2001)** a discuté l'effet probant de la Vancomycine face aux infections à *S. aureus*. En contrepartie, les résultats de **Rebiahi et al., (2012)** ont révélé la résistance de *S. aureus* à la Vancomycine ; leur utilisation systémique a conduit probablement à une diminution de leur sensibilité aux glycopeptides. En fait, la Vancomycine est un **antibiotique** de réserve, utilisés exclusivement en milieu hospitalier en France (**Acquier et al., 2022**).

# *Conclusion*

De nos jours, le risque d'infection implique non seulement les personnes immunodéprimées ou alors ceux qui souffrent de pathologies diverses, il peut atteindre celles qui utilisent des masques chirurgicaux de façon prolongée et répétée pendant la pandémie Covid-19.

L'enquête réalisée au niveau du centre universitaire de Nâama a révélé que les étudiants, dans l'ensemble, ne respectaient pas les consignes sanitaires relatives au bon usage des masques chirurgicaux. La majorité d'entre eux souffraient d'allergies relatives à l'utilisation de ces dispositifs, notamment pendant une période qui dépasse une semaine.

Cette utilisation indisciplinée n'affecte pas uniquement les utilisateurs, mais a un impact négatif qui peut provoquer des effets indésirables sur l'environnement. L'étude a montré que la plupart des participants se débarrassaient de leurs masques dans des endroits indéterminés.

A travers notre étude, nous avons pu dénombrer, isoler, identifier et évaluer la formation des biofilms. De plus, la susceptibilité des souches a été testée vis-à-vis des antibiotiques fréquemment utilisées dans les services hospitaliers de Naâma.

Globalement, la couche intérieure des masques chirurgicaux utilisés, incluses dans cette étude, ont été contaminé par une charge microbienne innombrable. En revanche, la technique de **Brun-Buisson et al., (1987)**, utilisée pour l'évaluation de la couche intermédiaire, conçu de polypropylène, n'a pas révélé le nombre réel quant au dénombrement microbien.

Cependant, la majeure partie des souches bactériennes isolées appartenait aux coques Gram positif. En plus, des souches fongiques telles les *Aspergillus spp.* et *Candida albicans*, ont été isolées.

Par ailleurs, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia plymuthica* et *Proteus vulgaris* ont été les espèces fortement formatrices des biofilms. Ces bactéries ont présenté une résistance à l'Ampicilline et l'Amoxicilline/Acide clavulanique (80%). Elles ont présenté une sensibilité totale à la gentamicine (100%), ceci dit que cet agent antibiotique doit être conservé pour les traitements des infections sévères.

En guise de conclusion, cette étude qui se veut pionnière en Algérie, cadre la problématique du risque infectieux induit par l'utilisation répétée et prolongée des mêmes masques chirurgicaux.

Ce n'est qu'une contribution à l'étude de la contamination microbiologique de ces masques, elle doit être complétée par des études futures. De ce fait, il serait intéressant de compléter ce travail :

- En utilisant la méthode de **Gund et al., (2021)**, pour la partie intermédiaire des masques,
- En combinant la sonication à la technique de **Brun-Buisson et al., (1987)** afin de détacher les formes sessiles.

Il serait également intéressant de ;

- Déterminer les gènes de résistances des souches isolées et déduire le niveau de pathogénie des souches.
- Etudier l'impact du rejet des masques dans l'environnement.
- Mener une étude similaire sur le port du masque dans les établissements de soin, chez les dentistes par exemple.

# *Références bibliographique*

- [1] Abassor, T. (2021). Etude de la résistance aux carbapénèmes chez *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* : expérience du service de bactériologie de l'HMIMV.
- [2] Aboulhassane, K. (2020). Etude prospective de la flore fongique de cinq plages du Maroc (Doctoral dissertation).
- [3] Acquier, M., De Précigout, V., Delmas, Y., Dubois, V., M'Zali, F., Zabala, A., ... et Kaminski, H. (2022). Diagnostic et prise en charge des bactériémies liées au cathéter d'hémodialyse : 10 ans après les dernières recommandations. *Néphrologie et Thérapeutique*, 18(2), 80-88.
- [4] Adhikari, S. P., Meng, S., Wu, Y. J., Mao, Y. P., Ye, R. X., Wang, Q. Z., ... et Zhou, H. (2020). Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. *Infectious diseases of poverty*, 9(1), 1-12.
- [5] Ahn, D. G., Shin, H. J., Kim, M. H., Lee, S., Kim, H. S., Myoung, J., ... et Kim, S. J. (2020). Current status of epidemiology, diagnosis, therapeutics, and vaccines for novel coronavirus disease 2019 (COVID-19).
- [6] Akbas, M. Y. (2015). Bacterial biofilms and their new control strategies in food industry. *The Battle Against Microbial Pathogens: Basic Science, Technological Advances and Educational Programs*, Badajoz: Formatex, 383-394.
- [7] Almeida, J. D., & Berry, D. M. (1968). CH CUNNINGHAM, D. HAMRE, MS HOFSTAD, L. Mallucci. K. McIntosh, and DAJ TYRRELL: *Coronaviruses*. *Nature* (Lond.), 220, 650.
- [8] Amrouni S., Touati M., Hadeif Y., et Djahoudi A. (2014). Effet de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et de *Thymus ciliatus* sur *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 carbapénémase. *Phytothérapie*, 12(5), 309-313.
- [9] Aye, A. M. (2015). Mise en évidence du système de communication " Quorum Sensing" impliquant les AHLs chez des bactéries marines isolées de la Méditerranée (Doctoral dissertation, Toulon).
- [10] Azeredo, J., Visser, J., et Oliveira, R. (1999). Exopolymers in bacterial adhesion: interpretation in terms of DLVO and XDLVO theories. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 14(1-4), 141-148.
- [11] Badis, A., Laouabdia-Sellami, N., Guetarni, D., Kihal, M., et Ouzrout, R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de

- chèvre de deux populations caprines locales « ARABIA ET KABYLE ». *Sciences & Technologie. C, Biotechnologies*, 30-37.
- [12] Baghad, B., Bousfiha, A. A., Chiheb, S., & Ailal, F. (2021). Prédiposition génétique aux infections fongiques cutanéomuqueuses. *La Revue de Médecine Interne*, 42(8), 566-570.
- [13] Balasoui M., Balasoui A.T., Manescu R., Avramescu C. and Ionete O. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* Resistance Phenotypes and Phenotypic Highlighting Methods. *Current Health Sciences Journal*, 40(2), 85-92.
- [14] Bassetti, M., Kollef, M. H., et Timsit, J. F. (2020). Bacterial and fungal superinfections in critically ill patients with COVID-19. *Intensive care medicine*, 46(11), 2071-2074.
- [15] Baveye, P., Vandevivere, P., Hoyle, B. L., DeLeo, P. C., et de Lozada, D. S. (1998). Environmental impact and mechanisms of the biological clogging of saturated soils and aquifer materials. *Critical reviews in environmental science and technology*, 28(2), 123-191.
- [16] Beloin, C., Roux, A., & Ghigo, J. M. (2008). *Escherichia coli* biofilms. *Bacterial biofilms*, 249-289.
- [17] Bendinger B., Rijnaarts H. H., Altendorf K., Zehnder A. J. (2003). Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain length of mycolic acids. *Applied and environmental microbiology*. 59(11): 3973-3977.
- [18] Benslimani A., Meieddine C. (2012). État de la résistance aux antibiotiques, d'autres espèces bactériennes et surveillance des bactéries multirésistantes (BMR) : SARM, entérobactéries BLSE, *Acinetobacter sp*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas aeruginosa* résistants à l'imipénème, à la ceftazidime et à la ciprofloxacine. In: Réseaux algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques (ed) 13e rapport d'évaluation, pp. 65–88
- [19] Bonny V. , A. Maillard, C. Mousseaux, L. Plaçais, et Q. Richier. 2020. COVID-19 : physiopathologie d'une maladie à plusieurs visages. 41(6): 375–389.
- [20] Botton, B., Breton, A., Fèvre, M., Guy, P. H., Larpent, J. P., et Veau, P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle.
- [21] Boucherit-Atmani, Z., Seddiki, S. M., Boucherit, K., Sari-Belkharoubi, L., et Kunkel, D. (2011). Les biofilms de *Candida albicans* formes dans des catheters et des

- sondes et leur resistance a l'amphotericine B. *JOURNAL DE MYCOLOGIE MEDICALE*, 21(3), 182-187.
- [22] Bouchet P., Guignard J.L., Madulo-Leblond G. et Regli P. (1989) Mycologie générale et médicale. Ed Masson. Paris; 107-120.
- [23] Briandet, R., Fechner, L., Naïtali, M., & Dreanno, C. (2012). Biofilms, quand les microbes s'organisent. Quae.
- [24] Brun-Buisson, C., Abrouk, F., Legrand, P., Huet, Y., Larabi, S., et Rapin, M. (1987). Diagnosis of central venous catheter-related sepsis: critical level of quantitative tip cultures. *Archives of Internal Medicine*, 147(5), 873-877.
- [25] Cap, H., et Morello, D. (2021). Covid-19: from recklessness to questioning the origin of SARS-CoV-2.
- [26] Chabasse, D., Bouchara, J. P., De Gentile, L., Brun, S., Cimon, B., et Penn, P. (2002). Les moisissures d'intérêt médical. *Cahier de formation*, (25).
- [27] Characklis WG, Marshall K.C. (1990). Biofilms. John Wiley et Sons, Inc., New York, N.Y.
- [28] Christensen, G. D., Simpson, W. A., Bisno, A. L., & Beachey, E. H. (1982). Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infection and immunity*, 37(1), 318-326.
- [29] Cleemput, S., Dumon, W., Fonseca, V., Abdool Karim, W., Giovanetti, M., Alcantara, L. C et De Oliveira, T. (2020). Genome Detective Coronavirus Typing Tool for rapid identification and characterization of novel coronavirus genomes. *Bioinformatics*, 36(11), 3552-3555.
- [30] Costerton J. W., Geesey G.G. and Cheng K.J., (1978) How bacteria Stick. *Scientific American*; 2385 (1), 86-95
- [31] Costerton, J. W. (1999). Introduction to biofilm. *International journal of antimicrobial agents*, 11(3-4), 217-221.
- [32] Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R., et Lappin-Scott, H. M. (1995). Microbial biofilms. *Annual Reviews in Microbiology*, 49(1), 711-745.
- [33] De Chalvet De Rochemonteix, A. (2009). Les biofilms et la peau. Thèse Doctorat, Université Paris, France.
- [34] De Ouagadougou, G. A. U. L. L. E. (2012). Infection du tractus urinaire chez l'enfant : Aspect épidémiologiques et bactériologiques au centre hospitalier universitaire pediatrique charles de Mali, 27(4).

- [35] Delarras Camille. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Edition Lavoisier. Paris :,pg 67-68-76-90-92-95-96-101-247.
- [36] Delaval, A., et Bertrand, C. (2021). Protection des professionnels de santé: moyens de protection faciale. *Médecine de Catastrophe-Urgences Collectives*, 5(2), 123-127
- [37] Denis, F., Bingen, E., Martin, C., Ploy, M. C., & Quentin, R. (2011). Bactériologie médicale Techniques usuelles. Elsevier Masson. Paris, France.
- [38] Desoubeaux, G., & Chandener, J. (2010). Aspergillus et maladies aspergillaires. *Feuillets de Biologie*, 51(293), 53-63.
- [39] Donlan, R. M., et Costerton, J. W. (2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*, 15(2), 167-193.
- [40] Donovan, J., et Skotnicki-Grant, S. (2007). Allergic contact dermatitis from formaldehyde textile resins in surgical uniforms and nonwoven textile masks. *Dermatitis*, 18(1), 40-44.
- [41] Drochey E et Vieu M. (1957) Biology of Candida infections Laboratory diagnosis; study of 342 strains of Candida isolated from pathologic specimens). *Seem Hop*; 33:793-807.
- [42] El Haimer, F. Z. (2019). Stratégies de traitement antibiotique des infections à bactéries multi résistantes (Doctoral dissertation).
- [43] Elhamzaoui, S., Benouda, A., Allali, F., Abouqual, R., et Elouennass, M. (2009). Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylocoques aureus* isolées dans deux hôpitaux universitaires à Rabat, Maroc. *Médecine et maladies infectieuses*, 39(12), 891-895.
- [44] Espinasse, F., Page, B., et Cottard-Boulle, B. (2010). Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires*, 2010(426), 51-63.
- [45] European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST), (2020). Recommandation de Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, V1.1 [En ligne]. disponible sur : <https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url>. (Consulté le 02/05/2022).
- [46] Evans, L. V. (2000). Biofilms: recent advances in their study and control. CRC press.
- [47] Fey, P. D., et Olson, M. E. (2010). Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Future microbiology*, 5(6), 917-933.

- [48] Fung, F., Tappen, D., et Wood, G. (2000). *Alternaria*-associated asthma. *Applied Occupational and Environmental Hygiene*, 15(12), 924-927.
- [49] Garrabé, É., Cavallo, J. D., Fabre, R., et Hernandez, E. (1998). Antibiogramme par diffusion en gélose: essai de standardisation de l'inoculum par la méthode «Presto ABG®». *Revue Francaise des Laboratoires*, 1998(307), 65-69.
- [50] Gondouin, B. (2020). COVID-19. *Néphrologie & Théraputique*, 16(7), 7S2.
- [51] Gorbalenya, A. E., Baker, S. C., Baric, R. S., de Groot, R. J., Drosten, C., Gulyaeva, A. A., ... et Ziebuhr, J. (2020). Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat. Microbiol*, 5(4), 536-544.
- [52] Gross, P. A. (2001). Pour une utilisation rationnelle des antibiotiques en milieu hospitalier. *Rev Med Brux*, 1, 15-25.
- [53] Gunathilake, R., Perera, P., & Sirimanna, G. (2014). *Curvularia lunata*: a rare cause of black-grain eumycetoma. *Journal de mycologie médicale*, 24(2), 158-160.
- [54] Gund, M., Isack, J., Hannig, M., Thieme-Ruffing, S., Gärtner, B., Boros, G., et Rupf, S. (2021). Contamination of surgical mask during aerosol-producing dental treatments. *Clinical Oral Investigations*, 25(5), 3173-3180.
- [55] Hall- Stoodley, L., et Stoodley, P. (2009). Evolving concepts in biofilm infections. *Cellular microbiology*, 11(7), 1034-1043.
- [56] Hamidechi, M. A., et Meziani, M. (2011). Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentes phylogénétiques : cas des *Enterobacteriaceae* et *Pseudomonas spp.* Sciences & Technologie. C, Biotechnologies, 24-31.
- [57] Haras D. (2005). Biofilms et altérations des matériaux : de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. *Materiaux et Techniques* 93,s-27.
- [58] Hawser, S. P., et Douglas, L. J. (1995). Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 39(9), 2128-2131.
- [59] Hentzer, M., Eberl, L., Nielsen, J., et Givskov, M. (2003). Quorum sensing. *BioDrugs*, 17(4), 241-250.
- [60] Høiby, N., Ciofu, O., Johansen, H. K., Song, Z. J., Moser, C., Jensen, P. Ø., ... et Bjarnsholt, T. (2011). The clinical impact of bacterial biofilms. *International journal of oral science*, 3(2), 55-65.

- [61] Ibusquiza, P. S., Herrera, J. J., Vázquez-Sánchez, D., et Cabo, M. L. (2012). Adherence kinetics, resistance to benzalkonium chloride and microscopic analysis of mixed biofilms formed by *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas putida*. *Food Control*, 25(1), 202-210.
- [62] Idrees, M., Sawant, S., Karodia, N., et Rahman, A. (2021). *Staphylococcus aureus* biofilm: Morphology, genetics, pathogenesis and treatment strategies. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(14), 7602.
- [63] Institut de Pasteur (2021). Le Staphylocoque doré. Disponible sur : <https://www.pasteur.fr/fr/centremedical/fichesmaladies/staphylocoque#:~:text=Certaines%20souches%20de%20staphylocoques%2C%20produisant,Lors%20d'interventions%20chirurgicales>. Consulté le 05/06/2022. (Paris).
- [64] Irie, Y., et Parsek, M. R. (2008). Quorum sensing and microbial biofilms. *Bacterial biofilms*, 67-84.
- [65] Jaballah, N. B., Bouziri, A., Kchaou, W., Hamdi, A., Mnif, K., Belhadj, S., et Kazdaghli, K. (2006). Epidémiologie des infections bactériennes nosocomiales dans une unité de réanimation néonatale et pédiatrique tunisienne. *Médecine et maladies infectieuses*, 36(7), 379-385.
- [66] Jamjoom, A. A. B., Nikkar-Esfahani, A., et Fitzgerald, J. E. F. (2009). Operating theatre related syncope in medical students: a cross sectional study. *BMC Medical Education*, 9(1), 1-6.
- [67] Jan, A., Bashir, G., Altaf, I., Fomda, B. A., Hamid, S., et Jan, K. (2022). Evaluation of various phenotypic methods for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Journal of Microbiological Methods*, 193, 106400.
- [68] Jean-Louis, C. (2011). Microbiologie alimentaire. *Contrôle microbiologique des aliments*.
- [69] Johani, K., Hu, H., Santos, L., Schiller, S., Deva, A.K., Whiteley, G., Almatroudi, A., Vickery, K. (2018). Determination of bacterial species pre-sent in biofilm contaminating the channels of clinical endoscopes. *Infection Disease and Health*, 23(4), 189-196.
- [70] Junejo, Y., Ozaslan, M., Safdar, M., Khailany, R. A., Rehman, S., Yousaf, W., et Khan, M. A. (2020). Novel SARS-CoV-2/COVID-19: origin, pathogenesis, genes and genetic variations, immune responses and phylogenetic analysis. *Gene reports*, 20, 100752.

- [71] Jungreis I, Sealfon R, Kellis et M.Sarbecovirus. Comparative genomics elucidates gene content of SARS-CoV-2 and functional impact of COVID-19 pandemic mutations. bioRxiv 2020.
- [72] Kappstein, I. (2020). Mund-Nasen-Schutz in der Öffentlichkeit: Keine Hinweise für eine Wirksamkeit. *Krankenhaushygiene up2date*, 15(03), 279-295.
- [73] KATHLEEN, P. T. (2017). Foundations in microbiology: basic principles. MCGRAW-HILL US HIGHER ED.
- [74] Kaur, S., et Singh, S. (2014). Biofilm formation by *Aspergillus fumigatus*. *Medical mycology*, 52(1), 2-9.
- [75] Koffi, S., Anné, B., et Bamba, L. (2010). Evaluation de la gélose au sang hémolyse de mouton et sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* au cotrimoxazole. *J. sci*, 11(1-2010), 65-72.
- [76] Kord, M., Ardebili, A., Jamalana, M., Jahanbakhsh, R., Behnampour, N., Ghaemi, E.A. (2018). Evaluation of biofilm formation and presence of icagenes in *Staphylococcus epidermidis* clinical isolates. *Osong public health and research perspectives*, 9(4), 160.
- [77] Lai, C. C., et Yu, W. L. (2021). COVID-19 associated with pulmonary aspergillosis: A literature review. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 54(1), 46-53.
- [78] Lakhdar, K., Houari, N., Elbouazzaoui, A., Ameuraoui, T., Boukatta, B., Sbair, H., et Kanjaa, N. (2016). Une mucormycose faciale compliquant une angiocholite grave: à propos d'un cas. *The Pan African Medical Journal*, 25.
- [79] Lebeaux, D., et Ghigo, J. M. (2012). Infections associées aux biofilms-Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale?. *Medicine/sciences*, 28(8-9), 727-739.
- [80] Lefkowitz, E. J., Dempsey, D. M., Hendrickson, R. C., Orton, R. J., Siddell, S. G., et Smith, D. B. (2018). Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic acids research*, 46(D1), D708-D717.
- [81] Li, W., Shi, Z., Yu, M., Ren, W., Smith, C., Epstein, J. H., et Wang, L. F. (2005). Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. *Science*, 310(5748), 676-679.
- [82] Liesse Iyamba, J.M. (2012). Etude de l'interaction des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* avec une surface abiotique. Thèse de doctorat : Université libre de Bruxelles, Faculté de Pharmacie, Ecole Doctorale en Sciences Pharmaceutiques. 226p.

- [83] Liu, Y., et Tay, J. H. (2002). The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. *Water research*, 36(7), 1653-1665.
- [84] Lowry, H. C. (1947). Some landmarks in surgical technique. *The Ulster medical journal*, 16(2), 102.
- [85] Lozano, P., Peña, M., Herrero-Climent, M., Rios-Santos, J. V., Rios-Carrasco, B., Brizuela, A., et Gil, J. (2022). Corrosion behavior of titanium dental implants with implantoplasty. *Materials*, 15(4), 1563.
- [86] Luksamijarulkul P, Aiempradit N, Vatanasomboon P. (2014). Microbial Contamination on Used Surgical Masks among Hospital Personnel and Microbial Air Quality in their Working Wards: A Hospital in Bangkok. *Oman Med J*. 29(5),346.
- [87] Malbos, D. (2022). Les principales pathologies bucco-dentaires. *Actualités Pharmaceutiques*, 61(614), 17-20.
- [88] Manandhar, S., Singh, A., Varma, A., Pandey, S., & Shrivastava, N. (2018). Evaluation of methods to detect in vitro biofilm formation by staphylococcal clinical isolates. *BMC research notes*, 11(1), 1-6.
- [89] Manus, J. M. (2020). Symptômes gastro-intestinaux initiaux, autres signes de Covid-19. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2020(522), 16.
- [90] Marr, K. A., Platt, A., Tornheim, J. A., Zhang, S. X., Datta, K., Cardozo, C., et Garcia-Vidal, C. (2021). Aspergillosis complicating severe coronavirus disease. *Emerging infectious diseases*, 27(1), 18.
- [91] Martinez, L. R., et Fries, B. C. (2010). Fungal biofilms: relevance in the setting of human disease. *Current fungal infection reports*, 4(4), 266-275.
- [92] Mérens, A., Delacour, H., Plésiat, P., Cavallo, J. D., et Jeannot, K. (2011). *Pseudomonas aeruginosa* et résistance aux antibiotiques. *Revue francophone des laboratoires*, 2011(435), 49-62
- [93] Mittelman, M. W. (1996). Adhesion to biomaterials. *Bacterial adhesion: molecular and ecological diversity*. New York: Wiley-Liss, Inc, 89-127.
- [94] Monalisa, A. C., Padma, K. B., Manjunath, K., Hemavathy, E., et Varsha, D. (2017). Microbial contamination of the mouth masks used by post-graduate students in a private dental institution: An In-Vitro Study. *IOSR J. Dent. Med. Sci*, 16, 61-67.
- [95] Natta, G., et Corradini, P. (1967). Structure and properties of isotactic polypropylene. In *Stereoregular Polymers and Stereospecific Polymerizations* (pp. 743-746). Pergamon.

- [96] Nejatidanesh, F., Khosravi, Z., Goroohi, H., Badrian, H., et Savabi, O. (2013). Risk of contamination of different areas of dentist's face during dental practices. *International journal of preventive medicine*, 4(5), 611.
- [97] NF EN 149/IN1 Septembre 2009 [<https://www.boutique.afnor.org/norme/nf-en-149-in1/appareils-de-protection-respiratoire-demi-masques-filtrants-contre-les-particules-exigences-essais-marquage/article/716420/fa158002>] (Consulté le 17/02/2022).
- [98] Nicolas, G. G., et Lavoie, M. C. (2011). *Streptococcus mutans* et les streptocoques buccaux dans la plaque dentaire. *Canadian journal of microbiology*, 57(1), 1-20.
- [99] O'Toole, G., Kaplan, H. B., et Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual review of microbiology*, 54, 49.
- [100] Oubekka, S. D. (2012). Dynamique réactionnelle d'antibiotiques au sein des biofilms de *Staphylococcus aureus*: apport de la microscopie de fluorescence multimodale (Doctoral dissertation, Université Paris Sud-Paris XI).
- [101] Pagliaro, P., et Penna, C. (2020). ACE/ACE2 ratio: a key also in 2019 coronavirus disease (Covid-19)?. *Frontiers in medicine*, 7, 335.
- [102] Parsek, M. R., et Singh, P. K. (2003). Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. *Annual Reviews in Microbiology*, 57(1), 677-701.
- [103] Peeters.E., Nelis, H. J. & Coenye, T. (2008). Compaaison of multiple méthodes for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. *J Microbiol Methods* 72,157- 165.
- [104] Pemán, J., Cantón, E., et Valentín, A. (2008). Actividad de l'anidulafungina sobre biopelículas de *Candida*. *Revista iberoamericana de micología*, 25(2), 124-128.
- [105] Perrin, C. (2009). Implication et régulation de la production des curli dans la résistance au nickel au sein de biofilms d'*Escherichia coli K-12* (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I).
- [106] Pirvanescu, H., Balasoïu, M., Ciurea, M. E., Balasoïu, A. T., et Manescu, R. (2014). Wound infections with multi-drug resistant bacteria. *Chirurgia*, 109(1), 73-9.
- [107] Ramage, G., Rajendran, R., Sherry, L., et Williams, C. (2012). Fungal biofilm resistance. *International journal of microbiology*, 2012.
- [108] Rambelomamonjy H. (2017). Evaluation de la formation du biofilm sous différentes conditiond de culture (milieu de croissance, acidite et temperatue) chez :

- Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*s. Mémoire de Master : biotechnologie. Antananarivo : Université d'Antananarivo, 32
- [109] Rebiahi S.A., (2012). Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibiorésistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Université de Tlemcen. Algérie.
- [110] Reboux, G., Rocchi, S., Vacheyrou, M., et Millon, L. (2019). Identifying indoor air *Penicillium* species: a challenge for allergic patients. *Journal of medical microbiology*, 68(5), 812-821.
- [111] Reśliński A, Mikucka A, Kwiecińska-Piróg J, et al., (2011). Evaluation of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* biofilm formation on the surface of polypropylene mesh]. *Medycyna Doswiadczalna i Mikrobiologia.* ; 21-27.
- [112] Richards JJ, Melander C. (2009). Controlling bacterial biofilms. *ChemBioChem.* ;10:2287–2294.
- [113] Rumbaugh, K. P., et Sauer, K. (2020). Biofilm dispersion. *Nature Reviews Microbiology*, 18(10), 571-586.
- [114] Sachdev, R., Garg, K., Singh, G., et Mehrotra, V. (2020). Is safeguard compromised? Surgical mouth mask harboring hazardous microorganisms in dental practice. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 9(2), 759.
- [115] Safi, M. (2021). Infection bactériennes cutanées : épidémiologie et nouvelles recommandations de prise en charge.
- [116] Seddiki S.M.L. (2021). Introduction aux biofilms microbiens, France : *Connaissances et savoirs*, P : 71.
- [117] Seddiki S.M.L., Boucherit-Otmani Z., Boucherit K., Badsı-Amir S., Taleb M., Kunkel D. (2013) Assessment of the types of catheter infectivity caused by *Candida* species and their biofilm formation. First study in an intensive care unit in Algeria. *International journal of general medicine*, 6, 1
- [118] Seddiki, S. M. L. (2014). Évaluation de la formation des biofilms de *Candida* sp. isolé des dispositifs médicaux au CHU de Sidi Bel Abbès.
- [119] Seddiki, S. M. L., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., et Kunkel, D. (2015). Infectivités fongiques des cathéters implantés dues à *Candida* sp. Formation des biofilms et résistance. *Journal de Mycologie Médicale*, 25(2), 130-135.
- [120] Semai, A., Plewniak, F., Charrié-Duhaut, A., Sayeh, A., Gil, L., Vandecasteele, C., et Bertin, P. N. (2021). Characterisation of hydrocarbon degradation, biosurfactant production, and biofilm formation in *Serratia* spp. Tan611: a new strain isolated from

- industrially contaminated environment in Algeria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 114(4), 411-424.
- [121] Sherlock, O., Dobrindt, U., Jensen, J. B., Munk Vejborg, R., et Klemm, P. (2006). Glycosylation of the self-recognizing *Escherichia coli* Ag43 autotransporter protein. *Journal of bacteriology*, 188(5), 1798-1807.
- [122] Singh, A., Shaikh, A., Singh, R., et Singh, A. K. (2020). COVID-19: From bench to bed side. *Diabetes et Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 14(4), 277-281.
- [123] Sperber, W. Z., et Tatini, S. R. (1975). Interpretation of the tube coagulase test for identification of *Staphylococcus aureus*. *Applied microbiology*, 29(4), 502-505.
- [124] Stefaniuk, E. M. (2018). The usefulness of chromogenic media for qualitative and semi-quantitative diagnostic of urinary tract infections. *Polish Journal of Microbiology*, 67(2), 213-218.
- [125] Stenotrophomas, B. (2016). Tableau à Gram négatif 30. 22 Principales non fermentants espèces autres de bacilles que *Pseudomonas spp.* et apparentés isolées en clinique. *Bactériologie médicale: Techniques usuelles*, 331.
- [126] Stepanović, S., Vuković, D., Hola, V., BONAVENTURA, G. D., Djukić, S., Ćirković, I., et Ruzicka, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by *staphylococci*. *Apmis*, 115(8), 891-899.
- [127] Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J.W., (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual review of microbiology* 56(1), 187–209.
- [128] Tadielo, L. E., Bellé, T. H., dos Santos, E. A. R., Schmiedt, J. A., Cerqueira-Cézar, C. K., Nero, L. A., et dos Santos Bersot, L. (2022). Pure and mixed biofilms formation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* on polypropylene surfaces. *LWT*, 162, 113469.
- [129] Tadj, A., et Seddiki, S. M.L. (2021). Our Overall Current Knowledge of COVID 19: An Overview. *Microbes, Infection and Chemotherapy*, 1, e1262-e1262.
- [130] Taschdjian C.L., Burchall J. J. and Kozinn P. J. (1960) Rapid identification of *Candida albicans* by filamentation on serum and serum substitutes *AMA journal of diseases of children*, 99(2), 212-215.
- [131] Taylor, P. K., Yeung, A. T., et Hancock, R. E. (2014). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: towards the development of novel anti-biofilm therapies. *Journal of biotechnology*, 191, 121-130.

- [132] Thibaudon, M., et Lachasse, C. (2006). *Alternaria, Cladosporium*: dispersion atmosphérique, rythmes nyctéméral et saisonnier. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*, 46(3), 188-196.
- [133] Tremblay, Y. D., Hathroubi, S., et Jacques, M. (2014). Les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78(2), 110-116.
- [134] Umakanthan, S., Sahu, P., Ranade, A. V., Bukelo, M. M., Rao, J. S., Abrahao-Machado, L. F., ... et Dhananjaya, K. V. (2020). Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgraduate medical journal*, 96(1142), 753-758.
- [135] Van Doremalen, N., Bushmaker, T., Morris, D. H., Holbrook, M. G., Gamble, A., Williamson, B. N., ... et Munster, V. J. (2020). Aerosol and surface stability of SARS-CoV-2 as compared with SARS-CoV-1. *New England journal of medicine*, 382(16), 1564-1567.
- [136] Velavan, T. P., et Meyer, C. G. (2020). The COVID- 19 epidemic. *Tropical medicine & international health*, 25(3), 278.
- [137] Vitolo, M. (2021). Decomposition of hydrogen peroxide by catalase. *World J. Pharm. Pharm. Sci*, 10, 47.
- [138] Wang, Y., Pei, Z., Lou, Z., & Wang, H. (2021). Evaluation of anti-biofilm capability of cordycepin against *Candida albicans*. *Infection and Drug Resistance*, 14, 435.
- [139] World Health Organization. (2020). Advice on the use of masks in the context of COVID-19: interim guidance. World Health Organization. ) <https://apps.who.int/iris/handle/10665/332293>.(Consulté le 10/02/2022.
- [140] Wu, A., Peng, Y., Huang, B., Ding, X., Wang, X., Niu, P., ... et Jiang, T. (2020). Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. *Cell host et microbe*, 27(3), 325-328.
- [141] Zaki, A. M., Van Boheemen, S., Bestebroer, T. M., Osterhaus, A. D., et Fouchier, R. A. (2012). Isolation of a novel coronavirus from a man with pneumonia in Saudi Arabia. *New England Journal of Medicine*, 367(19), 1814-1820.
- [142] Zammuto, V., Rizzo, M. G., Spanò, A., Spagnuolo, D., Di Martino, A., Morabito, M., et Gugliandolo, C. (2022). Effects of crude polysaccharides from marine macroalgae on the adhesion and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Algal Research*, 63, 102646.

- [143] Zhiqing, L., Yongyun, C., Wenxiang, C., Mengning, Y., Yuanqing, M., Zhenan, Z., ... et Zanjing, Z. (2018). Surgical masks as source of bacterial contamination during operative procedures. *Journal of orthopaedic translation*, 14, 57-62.
- [144] Zhou, P., Yang, X. L., Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., et Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *nature*, 579(7798), 270-273.

# *Annexes*

## Annexe I : Un questionnaire sur le port des masques chirurgicaux



## Fiche technique

(Port des masques chirurgicaux)

Référence N°:.....

Etudiant en : .....

1. Genre :  Homme.  Femme. 2. Age :..... ans.3. Utilisation régulière du masque :  Oui.  Non.

**Si** oui : \* Fréquence d'utilisation :  Une seule fois  + Deux fois.  
 Fréquemment.  Très fréquemment.

\*Lavage / Rinçage des masques :  Oui.  Non.**Si** oui ; fréquence du lavage :..... Moyen(s) :.....4. Utilisez-vous les masques d'autrui :  Oui.  Non.5. Utilisation hors CUN :  Oui.  Non.

\* Endroits fréquentés en utilisant le même masque;.....

6. Conservation du masque entre les utilisations multiples :.....

7. Souffrez-vous d'allergie/grippe :  Oui.  Non. \***Si** Oui ; Traitement.....8. Etiez-vous victime du SARS-CoV-2 :  Oui.  Non.\* Vacciné(e) ;  Oui.  Non.9. Souffrez-vous de maladies respiratoires / inflammation dentaire :  Oui.  Non.10. Antibiothérapie :  Oui.  Non. \***Si** Oui ; ATB..... Depuis;.....11. Tabagisme :  Oui.  Non.

12. Machez-vous le Chewing-gum lors du port du masque :.....

13. Utilisation du dentifrice / Bain de bouche :  Oui.  Non.14. L'endroit où jeter le masque :  Indéterminé.  Poubelle.

**Annexe II : Aspects macroscopiques et microscopique des colonies isolées.**

Références	Milieu de culture	Aspect macroscopique	Aspect microscopique	
			Forme	Coloration de Gram
B11	Gélose nutritif	Petites taille de couleur blanc	Coccobacille	Gram -
B12	Gélose nutritif	Moyenne, de forme convexe, pigment en rouge	Bâtonnets	Gram -
B13	Mac conkey	Moyenne, bombé, muqueuse de couleur rose	Bâtonnets arrondie	Gram -
B14	Mac conkey	Moyenne, sèche et en forme de beignet, rose	Bâtonnets allongés	Gram -
B15	Chapman	Petites, un grand halo jaune autour des colonies (mannitol+), crémeuses	Coques en amas (grappes de raisin)	Gram +
B21	Gélose au sang	Petites, un halo claire autour des colonies ( $\beta$ hémolytique)	Coques en chaînettes	Gram +
B22	Gélose au sang	Petites, verdâtre, visqueuse	Diplocoque	Gram -
B23	Chapman	Petites, rose (mannitol -), crémeuses	Diplocoque	Gram +
B24	Gélose nutritif	Moyenne, rondes, à bord réguler, jaune avec aspect opaque	Coques en tétrades	Gram +
B31	Mac conkey	Moyenne, sèche et en forme de beignet, rose	bâtonnets allongés	Gram -
B32	Gélose nutritif	Petites, verts, crémeuses, plates	Bacille	Gram -
B33	Gélose nutritif	Moyenne, rondes, à bord réguler, jaune avec aspect opaque	Coques en tétrades	Gram +
B41	Gélose nutritif	Moyenne, de forme convexe, pigment en rouge	Bacille	Gram -
B42	Chapman	Petites, un grand halo jaune autour des colonies (mannitol+), crémeuses	Coque en amas (grappes de raisin)	Gram +
B51	Gélose au sang	Grandes de couleur gris- blanc, lisse	Coques en amas (grappes de raisin)	Gram +
B52	Gélose nutritif	Petites, crémeuse, blanc, plates	Coques isolés	Gram -

<b>B5<sub>3</sub></b>	Chapman	Petites, un grand halo jaune autour des colonies (mannitol+), crémeuses	Coques en amas (grappes de raisin)	Gram +
<b>B6<sub>1</sub></b>	Gélose nutritif	Petites, crémeuse, blanc, plates	Coques isolés	Gram -
<b>B6<sub>2</sub></b>	Gélose nutritif	Petites, verts, crémeuses, plates	Bacille	Gram -
<b>B6<sub>3</sub></b>	Chapman	Petites, un grand halo jaune autour des colonies (mannitol+), crémeuses	Coques en amas (grappes de raisin)	Gram +
<b>B7<sub>1</sub></b>	Gélose nutritif	Petites taille de couleur blanc	Coccobacille	Gram -
<b>B7<sub>2</sub></b>	Gélose nutritif	Moyenne, de forme convexe, pigment en rouge	Bacille	Gram -
<b>B8<sub>1</sub></b>	Gélose nutritif	Grandes, irrégulière avec des bords ondulés, texture mate, blanc	Bacilles, extrémité carrée avec des spores	Gram +
<b>B8<sub>2</sub></b>	Gélose nutritif	Moyenne, rondes, à bord régulier, jaune avec aspect opaque	Coques en tétrades	Gram +
<b>B9<sub>1</sub></b>	Gélose au sang	Petites, un halo verdâtre autour des colonies ( $\alpha$ hémolytique)	Coques en chaînettes	Gram +
<b>B9<sub>2</sub></b>	Gélose au sang	Grandes de couleur gris- blanc, lisse	Coques en amas (grappes de raisin)	Gram +
<b>B10<sub>1</sub></b>	Gélose au sang	Petites, un halo verdâtre autour des colonies ( $\alpha$ hémolytique)	Coques en chaînettes	Gram +
<b>B10<sub>2</sub></b>	Gélose nutritif	Petites, verts, crémeuses, plates	Bacille	Gram -
<b>B11<sub>1</sub></b>	Chapman	Petites, rose (mannitol -), crémeuses	Diplocoque	Gram +
<b>B11<sub>2</sub></b>	Chapman	Petites, rose (mannitol -), crémeuses	Diplocoque	Gram +
<b>B12<sub>1</sub></b>	Gélose nutritif	Petites taille de couleur blanc	Coccobacille	Gram -
<b>B12<sub>2</sub></b>	Chapman	Petites, rose (mannitol -), crémeuses	Diplocoque	Gram +
<b>B12<sub>3</sub></b>	Chapman	Petites, rose (mannitol -), crémeuses	Diplocoque	Gram +
<b>B13</b>	Chapman	Petites, un grand halo jaune autour des colonies (mannitol+), crémeuses	Coques en amas	Gram +

## Annexe III : Lecture du test chromogénique.

Microorganismes	Apparence des colonies typiques
<b>Gram (-)</b>	
<i>E. coli</i>	Rose foncé à rougeâtre
<i>Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia</i>	Bleu métallique (+/- halo rougeâtre)
<i>Proteus, Morganella, Providencia</i>	Halo marron
<i>Proteus vulgaris</i>	Bleu avec halo marron
<i>Pseudomonas</i>	Translucide (+/- pigmentation naturelle couleur crème à vert)
<i>Acinetobacter</i>	Crème
<i>Stenotrophomonas</i>	Incolore
<b>Gram (+)</b>	
<i>S. agalactiae</i>	Bleu clair
<i>Enterococcus</i>	Bleu turquoise
<i>S. aureus</i>	Jaune doré, opaque, petit
<i>S. epidermidis</i>	Crème, colonies très petites
<i>S. saprophyticus</i>	Rose, opaque, petit

## Annexe IV : Résultats du test par la galerie API20E.

Tests Références	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	OX	Code d'identification	Résultats
	<b>B3</b>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<b>2202000</b>
<b>B6</b>	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	<b>0476021</b>	<i>Proteus vulgaris</i>
<b>B1</b>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	<b>1007763</b>	<i>Serratia plymuthica</i>
<b>B10</b>	-	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	<b>2203046</b>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<b>B4</b>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	<b>1007763</b>	<i>Serratia plymuthica</i>

## Annexe V: Résultats du test par la galerie ID32 STAPH.

Tests Références	URE	ADH	ODC	ESC	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	RAF	NIT	VP	$\beta$ GAL	ArgA	PAL	PyTA	NOVO	SAC	NAG	TUR	ARA	$\beta$ GLUR	RIB	CEL	Code d'identification	Résultats
	<b>B2</b>	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	367336610
<b>B1</b>	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	367336610	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>B4</b>	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	367336610	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>B5</b>	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	367336610	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>B6</b>	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	767030210	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

Annexe VI: Diamètre d'inhibition (mm) du test d'antibiogramme vis-à-vis des souches testées.

ATB ( $\mu\text{g/ml}$ ) Références	Gentamicine	Ampicilline	Amoxicilline / Acide clavulanique	Vancomycine	Cefazolin
<b>B41</b>	24 $\pm$ 2.0	17.5 $\pm$ 1.0	13.5 $\pm$ 1.0	/	30 $\pm$ 2.0
<b>B12</b>	21.5 $\pm$ 1.0	17.5 $\pm$ 1.0	12.5 $\pm$ 1.0	/	30.5 $\pm$ 3.0
<b>B62</b>	22 $\pm$ 2.0	0	0	/	19 $\pm$ 2.0
<b>B10</b>	20 $\pm$ 2.0	9.5 $\pm$ 1.0	/	/	16.5 $\pm$ 1.0
<b>B31</b>	21.5 $\pm$ 1.0	0	0	/	0
<b>B23</b>	27.5 $\pm$ 1.0	0	0	16.5 $\pm$ 1.0	16.5 $\pm$ 1.0
<b>B15</b>	27 $\pm$ 0.0	8 $\pm$ 0.0	0	20 $\pm$ 0.0	17 $\pm$ 0.0
<b>B42</b>	28 $\pm$ 0.0	9 $\pm$ 0.0	0	19 $\pm$ 0.0	16 $\pm$ 0.0
<b>B53</b>	29 $\pm$ 0.0	9 $\pm$ 0.0	0	18 $\pm$ 0.0	16 $\pm$ 0.0
<b>B63</b>	27 $\pm$ 0.0	10 $\pm$ 0.0	0	20 $\pm$ 0.0	17 $\pm$ 0.0

Résistance
  Sensible
  Intermédiaire

