

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Centre Universitaire Salhi Ahmed – NAAMA

Institut des Sciences et de Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de MASTER Académique

En : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté Par :

DJELLOULI Asma

LAIREDJ Rahima

Thème

Contribution à l'étude des biofilms des bactéries cliniques isolées du matériel non médical dans l'EPH de Naâma

Soutenu, devant le jury composé de :

Président	M ^f . MAHDAD Yassine Moustafa	M.C.A	CU- Naâma
Encadreur	M ^f . SEDDIKI Sidi Mohammed Lahbib	M.C.A	CU- Naâma
Examineur	M ^f . GHERIB Mohammed	M.C.A	CU- Naâma

Année universitaire 2020 / 2021

Nous remercions ALLAH tout puissant

De nous avoir donné

La patience

La volonté

La force

La foi

REMERCIEMENTS

A notre Encadrant Monsieur

SEDDIKI Sidi Mohammed Lahbib

Merci pour vos encouragements, votre gentillesse, vos conseils avisés, et la

large compréhension dont vous avez fait preuve à notre égard.

Vos grandes qualités humaines, scientifiques et pédagogiques sont connues et

reconnues de tous.

Vous avez toujours été présent pour les bons conseils.

Sans vos aides, vos conseils, vos encouragements, vos corrections méticuleuses,

votre clairvoyance ce travail n'aurait vu le jour.

Nous espérons, à l'avenir, faire bon usage de ce que nous avons pu apprendre à

vos côtés.

Veillez trouver ici l'expression de nos remerciements les plus sincères.

*A monsieur **Mahdad Yassine Moustafa***

Nous sommes particulièrement reconnaissantes pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider ce jury.

Merci pour vos connaissances scientifiques, confiance, gentillesse et votre générosité.

*A monsieur **Gherib Mohammed***

Votre présence au sein de ce jury nous honore tout particulièrement.

Merci pour votre collaboration, votre disponibilité, vos connaissances scientifiques très précieuses, et d'avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

*Mes remerciements vont également à **Mme Basinoussi Shéhérazade** pour son aide.*

*Nous remercions l'ingénieur de laboratoire : **Benatta Fatima zohra** pour nous avoir soutenues et encouragés tout le Long de notre travail.*

Dédicaces

*Je dédie ce travail à mes précieux parents **Habiba** et **Said**
pour leur appui, leur encouragement et leur soutien infini.*

*Ainsi qu'à mes sœurs **Meryem**, **Sara**, **Bassmala**, **Sadja** et mon frère
Oussama que dieu vous garde et vous protège que votre chemin soit
plein succès.*

*A mes chéries **Safae**, **Wahiba**, **fatima**, **Imane**, **Nourhane**, **Halima** et
Fahima.*

*A mes camarades **Asma**, **Nabil** et **Zakaria**.*

Djellouli Asma

Dédicaces

Je dédie ce travail ...

A mon très cher père Djillali

A ma très chère mère Fatima

A ma chère sœur Chaimaa

A ma source de bonheur Aroua

*A tous ce qui m'ont apporté l'aide de près ou de loin, et m'ont
donné le courage de continuer...*

LAIREDJ RAHIMA

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
Synthèse bibliographique	
Chapitre I: Infection nosocomiale.....	2
I.1 Définition	2
I.2. Mode de transmission des germes.....	2
I.2.1. Transmission par contact direct.....	2
I.2.2. Transmission par contact indirect	3
I.3. Mécanismes de transmission.....	3
I.3.1. Auto-infection	3
I.3.2. Hétéro -infection	3
I.3.3. Xéno-infection.....	3
I.3.4. Exo-infection.....	3
I.4. Hygiènes de l'environnement hospitalier.....	4
I.5. Germes responsables d'infection hospitalière.....	4
I.5.1. Bactéries	4
1.5.2. Virus et Champignons	5
Chapitre II: Généralités sur les biofilms.....	6
II.1. Historique.....	6
II.2.Définition	6
II.3.Formation de biofilm	7
II.3.1. Adhésion	7
II.3.2.Croissance	8
II.3.3. Maturation.....	8
II.3.4. Dispersion	9
II.4. Organisation et composition des biofilms	9
II.4.1. Organisation.....	10
II.4.2.Composition.....	11
II.4.3. Quorum Sensing	11
II.5. Facteurs favorisant la formation d'un biofilm	12
II.5.1. Facteur surface	12
II.5.2.Facteur environnement.....	12
II.5.3.Facteur microorganismes	12
II.6. Domaines d'intervention des biofilms	12

II.7. Résistance des biofilms aux Antimicrobiens	13
La partie pratique	
Matériel et Méthodes.....	15
I.1. Identification	15
I.1.1.Principe	15
I.1.2. Préparation des galeries.....	15
I.1.3. Préparation de l'inoculum	15
I.1.4. Ensemencement de la galerie API 20 E	16
I.1.5. Révélation des résultats.....	16
I.2. Evaluation de formation de biofilm	16
I.3. Evaluation de l'hydrophobicité des souches	17
Résultats et Discussions.....	19
II.1. Identification.....	19
II.2. Evaluation de formation de biofilm	21
II.2.1 Méthode quantitative au cristal violet.....	21
I.2.2 Evaluation de l'hydrophobicité des souches bactériennes	25
Conclusion.....	29
Références bibliographiques.....	30
Annexes	40
Résumé	42

Liste des abréviations

TCP : Plaque de Culture de Tissus.

MATS: Microbial Adhesion to Solvents.

UFC: Unité(s) formant colonie(s).

ADNe: ADN extracellulaire.

P : *Pseudomonas*.

Liste des figures

Figure 1: Phase de formation du biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i> sur cathéters.	7
Figure 2: Représentation schématique des étapes de la formation d'un biofilm mature.....	9
Figure 3: Représentation schématique des mécanismes de résistance des biofilms.	14
Figure 4: Résultats de l'identification biochimique par la galerie API 20E des souches S10 (<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>), S20 (<i>Pseudomonas fluorescens</i>).....	19
Figure 5: Taux d'identification des souches prélevées des surfaces de téléphones portables du personnel soignant dans l'EPH de Naâma.....	20
Figure 6: Evaluation de formation de biofilm à l'œil nu.....	22
Figure 7: Aspect macroscopique du biofilm de <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> (S10).	23
Figure 8: Quantification des biofilms formés par des souches prélevées de l'EPH de Naâma selon la méthode au cristal violet	24
Figure 9: Résultats du test de l'hydrophobicité des souches bactériennes. Séparation des phases organique et aqueuse.....	26
Figure 10: Evaluations de hydrophobicité des souches prélevées de l'EPH de Naâma selon la méthode MATS.	27

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification bactérienne formatrice de biofilms selon leur absorbance (Mathur et al., 2006).....	17
Tableau 2: le pourcentage d'adhésion (%) des bactéries au solvant (Krepsky et al., 2003).	18

Introduction

L'infection hospitalière ou nosocomiale, constitue un problème important de santé publique par sa fréquence et son retentissement humain et économique. Elle se définit comme une infection acquise dans un établissement de santé dont les manifestations cliniques apparaissent habituellement après les 48 heures d'hospitalisation (**Zeroual, 2012**).

Les téléphones portables des personnels soignants pourraient constituer un risque nosocomial de transmission des bactéries multi résistantes dans les établissements de santé, ce qui peut conduire à des infections graves associées à une morbidité et une mortalité élevée et à un surcoût médical supplémentaire (**Brady et al., 2011; Ustun et al., 2012**).

Par ailleurs, les biofilms ont une importance particulière car ils sont associés aux problèmes de santé publique et sont impliqués dans un large éventail infection chez l'homme. Environ 65 % des infections sont dues aux biofilms dans les pays dits développés. (**Roux et Ghigo., 2006**).

Les biofilms sont aussi impliqués dans 60 % des infections nosocomiales et dans toutes les infections prothétiques (**Roux et Ghigo., 2006**).

Dans l'EPH de Naâma, le personnel soignant utilise fréquemment les téléphones portables, ce qui peut servir de vecteur des germes pathogènes entre services et entre L'environnement extérieur et l'intérieur de l'hôpital.

Le présent travail consiste à l'étude des biofilms des bactéries cliniques isolées du matériel non médical dans l'EPH de Naâma. Pour cela, notre étude se devise en deux parties.

La première partie est consacrée à l'étude bibliographique et comporte deux chapitres :

- La première traite des généralités sur les infections nosocomiales ;
- La deuxième traite les biofilms bactériens, ainsi que la résistance aux agents antimicrobiens.

La deuxième partie de ce mémoire est consacrée à la partie expérimentale et comporte :

- Identification biochimiques des souches cliniques préalablement isolées ;
- Evaluation de formation des biofilms par deux méthodes (TCP, MATS) ;
- Discussion des résultats.
- Conclusion.

Synthèse
bibliographique

I.1 Définition

On appelle infection nosocomiale une maladie infectieuse bactérienne, fongique, parasitaire ou virale, identifiable par la clinique et/ou le laboratoire et acquise dans une structure du soin. Elle concerne soit un patient hospitalisé ou celui qui a subi des soins en ambulatoire dans une structure de soins (**Eric, 2002**).

Elle concerne, également, le personnel soignant dans le cadre de son activité professionnelle. Il est habituellement admis qu'un minimum de 48 heures entre l'admission et les premiers symptômes est nécessaire pour qualifier l'infection de nosocomiale (**Pichard, 2002**). De plus, une infection est dite nosocomiale dans le site d'opération si elle survient dans les 30 jours après l'acte opératoire, même si le patient n'est plus hospitalisé (**Denis et al., 2007**).

L'environnement hospitalier est le réservoir le plus important de microorganismes résistants. La présence de plus de 5 UFC/cm² sur une surface, pouvant être en contact avec les mains, indique qu'il pourrait y avoir un risque accru d'infection pour le patient (**Dancer, 2004**), d'où le risque de l'utilisation des téléphones portables personnel par l'équipe soignant.

I.2. Mode de transmission des germes

Les germes pathogènes sont transmis d'un service à l'autre et entre patients ; les moyens de transmissions sont multiples et impliquent plusieurs facteurs.

En milieu hospitalier la transmission des germes pathogènes par contact direct ou indirect est largement le mode de transmission prépondérant (**Conly et al., 1989**).

I.2.1. Transmission par contact direct

Les mains du personnel soignant jouent un rôle important dans le transfert passif des microorganismes d'un malade à l'autre. En effet, les mains du personnel peuvent contenir 100 à 1000 bactéries/cm² deux types de flores sont considérées (**Conly et al., 1989**).

- Une flore résidente ; retrouvée constamment et constituée en général de bactéries inoffensives.
- Une flore transitoire de germes de l'ambiance hospitalière, tels qu'*E.coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp*, *Klebsiella spp*.

I.2.2. Transmission par contact indirect

Les objets et les matériaux présents à l'hôpital peuvent servir de support de transmission, ou de vecteur de micro-organisme. Les instruments de chirurgie, le matériel destiné au sondage, aux injections, les endoscopes, les stéthoscopes... Ces objets peuvent être contaminés par le personnel ou par les malades (**Conly et al., 1989**).

I.3. Mécanismes de transmission

I.3.1. Auto-infection

L'infection est dite Auto lorsque le malade s'infecte par ses propres germes. Il s'agit de la contamination par les germes endogènes ou à partir de l'environnement immédiat.

Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes (**Berche et al., 1991**).

I.3.2. Hétéro -infection

L'hétéro-infection concerne le transport d'agent infectieux d'un malade à un autre, provoquant ainsi une infection dite croisée ou hétéro-infection. L'agent infectieux est rarement transmis par contact direct ou par voie aérienne ; il est véhiculé, le plus souvent, par le personnel soignant. Il s'agit d'infection manu-portée ou d'infection transmise par le matériel de soin. C'est le mode de contamination majeure lors de nombreuses épidémies et, probablement, le plus sensible aux mesures prophylactiques (**Tasseau et al., 1989**).

I.3.3. Xéno-infection

Ces infections sévissent sous forme endémique ou épidémique dans la population extrahospitalière. Les agents infectieux sont importés à l'hôpital par les malades, le personnel soignant ou les visiteurs qui en sont atteints ou qui sont en phase d'incubation. Les microorganismes se transmettent par voie aérienne, par contact direct ou indirect et trouvent à l'hôpital des victimes particulièrement réceptives et des conditions de transmission facilitées (**Tasseau et al., 1989**).

I.3.4. Exo-infection

Ce type d'infection est lié à des avaries techniques (stérilisation inefficace, filtre à air non stérile, eau polluée...etc.). Les matériaux à usage paramédical ou domestique sont utilisés auprès des malades ; ils sont susceptibles d'être contaminés et peuvent provoquer des infections nosocomiales souvent épidémiques (**Ouhibi, 2015**).

I.4. Hygiènes de l'environnement hospitalier

Le respect de bonnes conditions de santé environnementale dans les structures de soins permet de réduire la transmission des infections associées aux soins de santé (**John et al., 2010**). L'hygiène des locaux est l'action antimicrobienne réalisée avec un désinfectant pour traiter l'air ambiant, les surfaces, l'eau et la literie (**Hota, 2004**).

L'hygiène de l'environnement désigne l'ensemble des actions qui visent à préserver au malade un lieu d'hospitalisation propre et non dangereux pour lui (**Alain, 2004**).

Il est important de rappeler que le lavage des mains est l'une des mesures les plus efficaces que chacun peut prendre pour réduire la propagation des agents pathogènes et prévenir les infections (**OMS, 2020**).

I.5. Germes responsables d'infection hospitalière

Il s'agit souvent de bacilles Gram négatif et de levures, tel que *Candida spp.*

I.5.1. Bactéries

Les bactéries Gram négatif, les Entérobactéries sont les plus représentés, *Pseudomonas spp* et *Acinetobacter spp* ont, également, un impact conséquent (**Monnet, 2011**), représentent la majorité des pathogènes responsables d'infections nosocomiales.

A. *Escherichia*

Le genre *Escherichia* compte 5 espèces, *E.coli* est le germe commensal de la microflore digestive de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud, il est considéré comme pathogène opportuniste fréquemment incriminé dans les infections nosocomiales (**Diallo, 2013**).

B. *Klebsiella*

Klebsiella est une bactérie immobile dotée d'une capsule. Son isolement est considéré comme marqueur épidémiologique. *K.Pneumonia* est l'espèce type, elle est responsable d'infections urinaires et respiratoires (**khayar, 2011**).

C. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est imposé comme un pathogène hospitalier très important du fait du nombre et de la gravité des infections causées. En France, 10% de l'ensemble des infections nosocomiales ont été attribuées à cette espèce en 2006 (**Cholley, 2010**).

D. Staphylocoque

Le genre *Staphylococcus* appartient à la famille des *Micrococcaceae*, il comprend plus de 30 espèces qui peuvent être pathogènes pour l'homme. *Staphylocoque* est une bactérie Gram positif, aéro-anaérobie facultative, elle se présente le plus souvent sous l'aspect de coques rassemblées en amas irréguliers. *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus fréquemment rencontré dans l'hôpital (**Birgand, 2014**).

E. Streptocoque

Les espèces du genre *Streptococcus* sont des cocci Gram positif. L'espèce la plus impliquée en pathologie humaine est *Streptococcus pyogenes*. Elle est rencontrée chez l'homme dans le pharynx et sur la peau (**Denis et al., 2007**).

1.5.2. Virus et Champignons

Malgré leur importance réduite par rapport aux bactéries, les virus et les champignons jouent un rôle important dans les infections nosocomiales. Il est admis que 5% de toutes les infections hospitalières sont causées par les virus. Les virus de l'hépatite B, le cytomégalo virus et le virus de l'immunodéficience humaine sont transmis à partir du sang et d'autres liquides biologiques et peuvent être responsables d'infections nosocomiales (**Lemsanni, 2016**). De nombreux champignons et parasites sont des agents opportunistes provoquant des infections. En cas de traitement antibiotique prolongé et d'immunodépression sévère, *Candida albicans*, *Aspergillus spp*, *Cryptococcus neoformans*, *Cryptosporidium* peuvent causer des infections généralisées (**Ducel, 2002**).

II.1. Historique

L'inventeur du microscope, Antoni Van Leeuwenhoek est le premier qui a observé, vers 1683, des communautés microbiennes adhérentes à la surface des dents (**Roux et Chigo., 2006**).

En 1933, lors d'expériences visant à observer la croissance d'algues sur des lames de verre placées dans un aquarium, Henrecia observé des communautés bactériennes fixées sur ces lames. Il émit alors l'hypothèse que la plupart des bactéries vivant en milieu aqueux sont organisées sous forme de communautés sessiles fixées à une surface, et non pas sous forme planctonique (**Henrici, 1933**).

En 1943, Zobell a été l'un des premiers chercheurs à observer des biofilms ; il a conclu que la charge bactérienne adhérente aux parois des équipements utilisés était plus importante par rapport à celle dans les suspensions (**Zobell, 1943**).

En 1973, Characklis démontre que les matrices d'exopolymères des bactéries adhérentes à une surface leur confèrent une résistance avérée contre l'action des désinfectants, notamment ceux à base de chlore (**Characklis, 1973**).

Juste à la fin du XIX^{ème} siècle, Costerton propose pour la première fois le terme de «**biofilms**», en suggérant qu'il serait le mode de vie naturel adopté par la plupart des micro-organismes (**Costerton et al., 1973**). Depuis, un nombre croissant d'études ont été consacrées aux biofilms, aussi bien dans les domaines industriel et environnemental que dans le domaine médical.

II.2. Définition

Le biofilm est un ensemble de microorganismes, formé de la même espèce ou d'espèces différentes, qui vivent en symbiose et forment une communauté. Les cellules forment des micro-colonies adhérentes à des surfaces biotiques ou abiotiques (**Dunne, 2002**). Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles (**Yannick et al., 2014**).

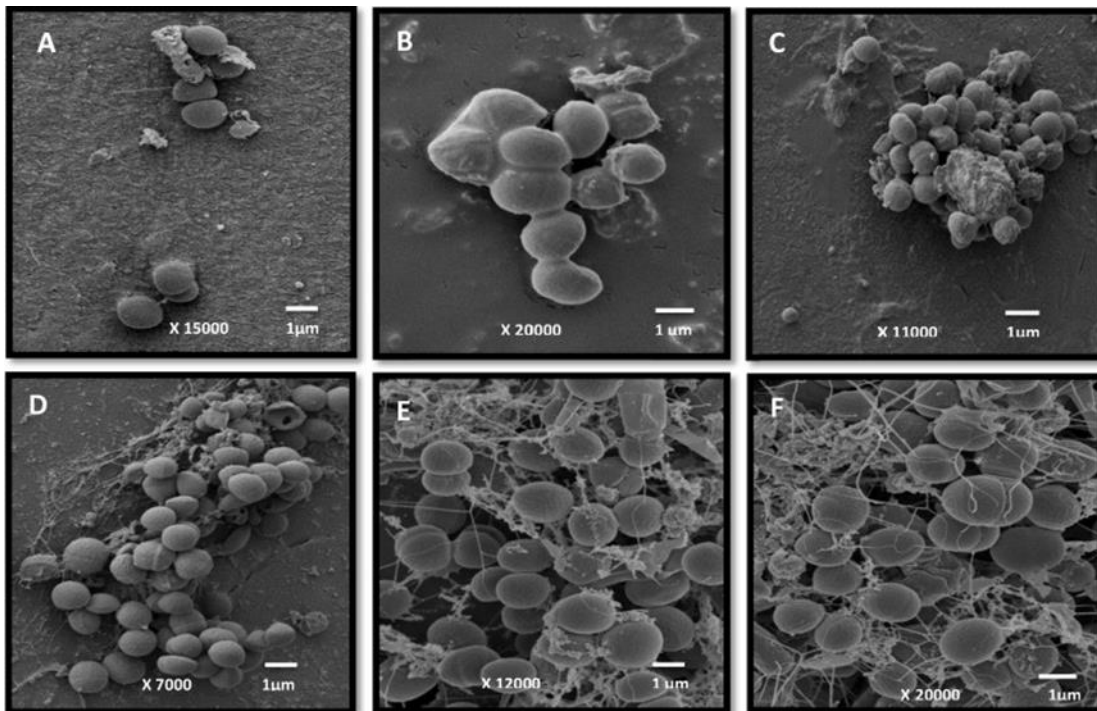


Figure 1: Phase de formation du biofilm de *Staphylococcus aureus* sur cathéters (**Rebiahi et al., 2014**).

A : adhésion des cellules sur une surface.

B : regroupement des cellules en structure tridimensionnelle.

C : synthèse visible de la matière polysaccharidique.

D : réticulation entre les différentes cellules par la matière polysaccharidique.

E et F : maturation du biofilm.

II.3. Formation de biofilm

La formation des biofilms est un phénomène dynamique extrêmement complexe ; c'est le résultat d'un ensemble de processus physique, chimique et biologique (**Figure 2**). Les différentes études montrent que les biofilms se forment de la même manière quel que soit l'environnement qu'ils colonisent. La formation se fait généralement en quatre phases, adhésion, croissance, maturation, dispersion (**Haras, 2005**).

II.3.1. Adhésion

A. Adhésion réversible

L'étape préliminaire de la formation de biofilm est le résultat de l'interaction entre les bactéries et un support (**Figure 2**). Elle correspond aux forces de Van der Waals et

électrostatiques. Les cellules s'adsorbent sur une surface pendant un certain temps, mais peuvent facilement se détacher (**Branger et al., 2007; Pecastaings, 2010; Muller, 2014**).

B. Adhésion irréversible

Dans un deuxième temps, l'adhésion devient irréversible grâce à la sécrétion d'exopolymères par les bactéries permettant de consolider leur fixation au support (**Figure 2**). Dans ce cas, des interactions fortes s'établissent entre la bactérie et la surface grâce aux liaisons de type hydrophobe (**Spiers et al., 2003 ; Kuchma et al., 2005**).

II.3.2. Croissance

Une fois que la bactérie est irréversiblement adhérente à la surface, sa multiplication conduit à la formation de micro-colonies qui vont recouvrir toute ou une partie de la surface (**Stanley et al., 2003 ; Klausen et al., 2006**). Par la suite, le biofilm a une croissance exponentielle (**Figure 2**) se traduisant par une augmentation importante de son épaisseur jusqu'à former un film hétérogène tridimensionnel (**Costerton et al., 1995; Davey et al., 2000 ; Sauer et al., 2002**).

II.3.3. Maturation

L'architecture complexe du biofilm (**Figure 2**) se met en place avec la formation de canaux aqueux et de pores entre les micro-colonies (**Folkesson et al., 2008**), permettant ainsi l'acheminement d'oxygène et de nutriments nécessaires à la croissance des micro-organismes, ainsi que l'élimination des déchets (**Tenke et al., 2006**). La production et la sécrétion d'enzymes ou de toxines provoquent la dégradation des résidus présents dans les surfaces environnantes et permettent ainsi la libération de nutriments (**Jacolsen et al., 2008**).

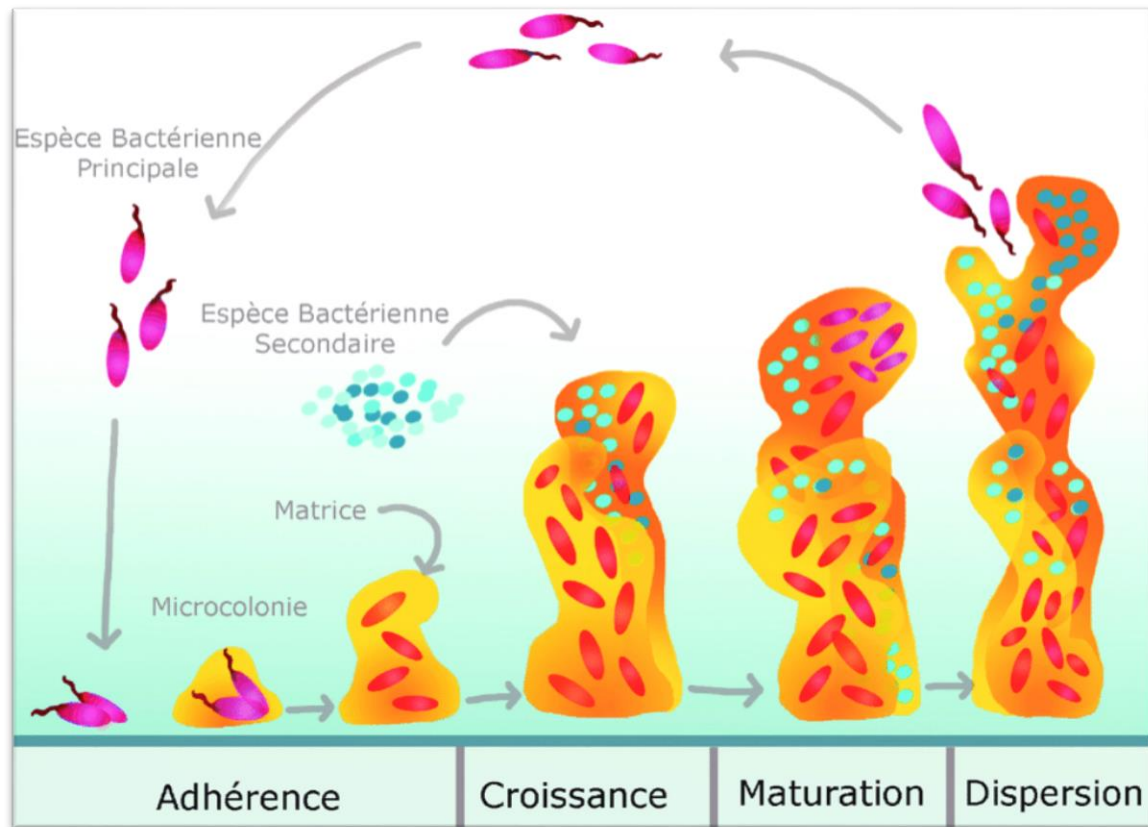


Figure 2: Représentation schématique des étapes de la formation d'un biofilm mature (Yannick et al., 2014).

II.3.4. Dispersion

Le détachement et la dispersion de cellules bactériennes d'un biofilm jouent un rôle important dans la transmission de bactéries et la propagation de l'infection (Kaplan, 2010). (Figure 2).

Le détachement des cellules associées aux biofilm intervient lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables. Les bactéries peuvent alors migrer afin de trouver un environnement plus favorable à leur développement. Ce phénomène n'est pas restreint au dernier stade du développement du biofilm mais peut avoir lieu, soit par lyse cellulaire soit par le départ de cellules viables, tout au long de la formation du biofilm et en réponse à un changement d'environnement (Haras, 2005 ; Parot, 2007).

II.4. Organisation et composition des biofilms

Les biofilms ont des structures tridimensionnelles avec un échafaudage complexe. Leur organisation et leur architecture ainsi que leur composition sont variables selon l'espèce constitutive et leur environnement (Flemming, 2010).

II.4.1. Organisation

Les biofilms microbiens peuvent être homogènes, constitués d'une seule espèce, ou alors hétérogènes, constitués de plusieurs espèces (**Tolker, 2000**).

Ce sont des agrégats de microorganismes séparés par des canaux aqueux, assurant la circulation de fluides et permettant, à la fois, l'apport de nutriments aux individus sessiles et l'élimination de leurs produits de dégradation. Le biofilm n'est pas un environnement homogène, il présente des zones à teneurs variables en oxygène et en nutriments ; ceux-ci présentent des valeurs de pH différents. Les régions au centre des agrégats bactériens sont généralement anaérobies et pauvres en nutriments, alors que celles situées près des canaux ou de l'interface (**Roux et Ghigo., 2006**).

Les nutriments présents dans le milieu extérieur diffusent en plus grande quantité dans les couches superficielles du biofilm. Plus on avance vers les couches profondes du biofilm, moins la diffusion est efficace et plus les concentrations en éléments nutritifs sont basses. Ces gradients permettent d'expliquer la présence de zones de croissance différentes des micro-organismes (**Bury, 2007**).

En effet, la couche la plus profonde du biofilm est constituée de cellules fixées au support. Celles-ci sont petites, leur métabolisme est anaérobie et leur croissance est lente. La couche superficielle du biofilm est constituée de cellules plus grandes à croissance rapide (**Bury, 2007**).

En revanche, tous les biofilms n'ont pas la même épaisseur ; les biofilms des eaux naturelles oligotrophes sont plus fins que ceux des milieux aqueux riches (**Bury, 2007**). Les biofilms récemment formés sont souvent monocouches, à l'inverse des biofilms plus anciens qui sont stratifiés (**Bury, 2007**).

D'un point de vue structural, les biofilms ont des épaisseurs différentes ; ils sont constitués d'une fine monocouche de cellules fixées à la surface du substrat surmontée de plusieurs couches épaisses de cellules. Il s'agit d'une organisation spatiale stratifiée, permettant une coopération entre microorganismes (**Stoodley, 1997 ; Tolker, 2000**).

II.4.2. Composition

Les biofilms bactériennes sont souvent composés d'une matrice expolymérique dans laquelle sont confinées les cellules sessiles. Cette matrice extracellulaire représente 50 à 90 % de la masse organique carbonée du biofilm (**Clutterbuck et al., 2007**).

La matrice est hautement hydratée et peut contenir jusqu'à 97 % d'eau. Elle est formée également de polysaccharides, de protéines, d'acides nucléiques, de lipides, de glycolipides et d'anions (**Karatan et al., 2009 ; Flemming et al., 2010**).

La composition de la matrice varie selon l'espèce bactérienne et les conditions de croissance. Les poly glucosamine, polymère de β -1,6-N-acétyl-D-glucosamine, sont souvent retrouvés chez les biofilms de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Yersinia pestis*, *Bordetella spp* et *Actinobacillus spp*. La cellulose est également retrouvée chez diverses germes bactériennes telles que *Pseudomonas*, *E. coli*, *Salmonella* et *Enterobacter*. Le glucane chez *Streptococcus mutans* et l'alginate chez *Pseudomonas* ; l'ADN_e, ADN extracellulaire, fait partie de la matrice des biofilms, il semble jouer un rôle structural et de résistance des biofilms (**Bury, 2007**).

Les microorganismes, quant à eux ne représentent que 2 à 5 % du volume du biofilm. Ces individus sessiles constitutifs d'un biofilm peuvent communiquer entre eux grâce à un système de communication biochimique appelé Quorum Sensing (**Branger et al., 2007 ; Alnnasouri, 2010**).

II.4.3. Quorum Sensing

C'est un système de communication des cellules sessiles, il permet une adaptation particulière des microorganismes à une modification de l'environnement et ce, par la régulation coordonné de l'expression de gènes (**Bricha et al., 2009**).

Le Quorum sensing régule la physiologie du biofilm en modulant la taille de la population du biofilm, il initie les phénomènes de dispersion des bactéries planctoniques à partir du biofilm (**Irie et Parsek, 2008**). Le quorum sensing peut réprimer ou stimuler l'expression de certains caractères, comme certains facteurs de virulence (**Irie et Parsek, 2008**).

II.5. Facteurs favorisant la formation d'un biofilm

La formation d'un biofilm est un phénomène complexe, elle est sous l'influence de nombreux facteurs tels que la surface, l'environnement et les microorganismes (**Branger et al., 2007**).

II.5.1. Facteur surface

Selon le type de support sur lequel se forme le biofilm, l'organisation structurale de ce dernier sera différente (**Donlan, 2002**). La rugosité, les propriétés physicochimiques et la formation préalable d'un film protéique sur une surface influencent l'attachement des bactéries à cette surface, par conséquent la formation d'un biofilm (**Klein, 2011**).

II.5.2. Facteur environnement

Les conditions environnementales telles que la disponibilité des nutriments, les différents stress physicochimiques et la présence de composés bactéricides jouent un rôle sur la formation des biofilms (**Marchal, 2010**).

II.5.3. Facteur microorganismes

Toutes les souches bactériennes n'ont pas la même capacité à coloniser une surface. D'une espèce à l'autre, de grandes différences existent quant à la formation des biofilms (**Kukavica, 2007**).

En fait, l'hydrophobicité de la surface de la cellule, la présence de fimbriae et de flagelles et la production d'exopolysaccharides influencent l'attachement des bactéries sur une surface. Cette hydrophobicité est importante dans l'adhésion des micro-organismes. La plupart des bactéries sont chargées négativement et présentent à leur surface des zones hydrophobes. Moins les matériaux sont polarisés, plus les liaisons hydrophobes deviennent importantes (**Donlan, 2002**). L'association stable avec la surface s'établit grâce à des structures adhésives telles que des adhésines filamenteuses (**Perrin, 2009 ; Elyajouri, 2012**).

II.6. Domaines d'intervention des biofilms

Les biofilms peuvent avoir des effets positifs ou négatifs sur l'homme ou ses activités. Les réacteurs à biofilms ont été utilisés dans la production d'antibiotiques, de vinaigre et d'autres produits. Les biofilms sont également utilisés pour le traitement biologique des eaux résiduaires. De plus, les biofilms sont responsables d'un large éventail d'infections chez

l'homme ; plus de 80 % des infections bactériennes chroniques sont associées à la présence de biofilms (**Chalvet de Rochemonteix, 2009**).

Par contre, la formation des biofilms est un problème majeur rencontré dans les réseaux de distribution d'eau et les équipements de l'industrie agroalimentaire (**Alnnasouri, 2010**).

II.7. Résistance des biofilms aux Antimicrobiens

Les biofilms sont résistant aux biocides utilisés dans les procédés de nettoyage et de désinfection (**Costerton et al., 1999**).

La résistance des bactéries planctoniques aux antibiotiques peut atteindre un niveau plus élevé si elles se présentent sous la forme de bactéries sessiles (**Rebiahi et al., 2014**).

En effet, les bactéries sessiles sont moins sensibles aux antibiotiques et aux désinfectants par comparaison à leurs homologues planctoniques (**Haras, 2005**).

Les concentrations d'antibiotiques nécessaires pour inhiber les bactéries au sein d'un biofilm peuvent être 10 à 1000 fois plus élevées que celles utilisées pour inhiber les mêmes bactéries à l'état planctonique (**Auger, 2012**).

Certes, cette résistance est multifactorielle ; elle est liée aux conditions de vie dans le biofilm. La modification des propriétés physiologiques des microorganismes induit des mécanismes de résistance puissants (**Roux et Ghigo., 2006**).

Plusieurs facteurs peuvent expliquer cette résistance accrue aux agents antimicrobiens. En fait, la matrice polymérique agit comme une barrière réduisant ou empêchant la diffusion des agents antimicrobiens. Les charges électrostatiques à la surface de cette matrice peuvent lier certains agents antimicrobiens. Le métabolisme des bactéries d'un biofilm joue également un rôle très important ; étant donné la faible concentration de certains nutriments et du gradient en oxygène, certaines cellules du biofilm présentent un métabolisme peu actif et peuvent passer à la dormance. Par conséquent, ces cellules sessiles sont responsables d'une grande partie de la tolérance des biofilms aux antimicrobiennes (**Lewis et al., 2008**).

Les surfaces de téléphones portables du personnel soignant peuvent abriter des microorganismes hospitaliers. Ceux-ci peuvent former des biofilms et être véhiculés entre services et à l'extérieur de l'hôpital, d'où leur importance pathologique.

De plus, les biofilms sont connus par leur résistance aux antibiotiques (**Figure 3**).

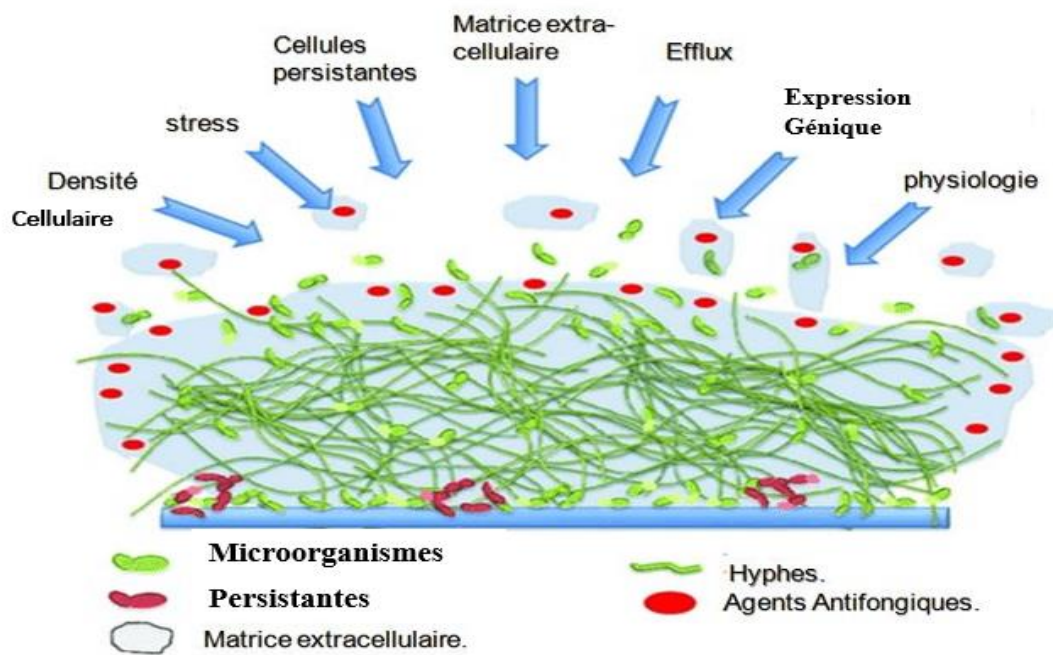


Figure 3: Représentation schématique des mécanismes de résistance des biofilms (**Ramage et al., 2012**).

C'est pourquoi nous sommes intéressés à l'identification des espèces bactériennes prélevées à partir de téléphone portable du personnel soignant de l'EPH de Naâma. Cette étude a également pour objectif l'évaluation du potentiel de formation des biofilms de ces souches bactériennes.

La partie pratique

Cette étude est réalisée dans le laboratoire de Microbiologie, département de biologie-CUN NAAMA. Elle vient compléter celle de M^{elle} GHANDOUR O, du mémoire de master de Microbiologie Appliquée (2020).

I.1. Identification

Les prélèvements et l'isolement des bactéries à partir de matériel non médicaux (téléphones portables), utilisés par le personnel soignant (62% médecins et 38% infirmiers) dans le service de chirurgie de l'EPH de Naâma sont préalablement effectuées. Les souches isolées sont conservées à 6 °C.

Cette étude concerne 25 souches appartenant aux entérobactéries et une souche de référence, *Proteus mirabilis* ATCC 35659. Leur identification est réalisée par les galeries d'identification biochimique, API 20 E.

I.1.1.Principe

API 20 E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles Gram négatif, c'est une galerie miniaturisé comprenant 20 tests biochimiques. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

A. Repiquage et conservation des souches

Les souches sont repiquées dans du bouillon nutritif, puis incubées à 37C° pendant 24 heures. Ces souches sontensemencées ensuite sur une gélose nutritive inclinée en tubes avant d'être incubées à 37°C pendant 24 heures. Elles sont conservée par la suite à 6°C.

I.1.2. Préparation des galeries

Cinq ml d'eau distillée stérile sont répartis dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, les références de chaque souche sont écrites sur la languette latérale de la boîte. Chaque galerie est ensuite inoculée par une seule souche à identifier.

I.1.3. Préparation de l'inoculum

La suspension bactérienne est préparée dans 10 ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure et jeune de 18 heures, l'inoculum est ajusté environ à 10⁸ cellules/ml (0.8 -1 McFarland).

I.1.4. Ensemencement de la galerie API 20 E

A l'aide d'une micropipette stérile, la suspension bactérienne est introduite dans chaque cupule, ponte appuyée à l'intérieur et sur les côtés pour éviter la formation de bulles d'air :

Pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et URE, l'anaérobiose est créée en ajoutant aux cupules l'huile de paraffine stérile. Les boîtes sont refermées puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

I.1.5. Révélation des résultats

En se référant au tableau fourni avec les galeries, la révélation de l'identité des souches est réalisée. Un signe positif est attribué aux réactions positives et le signe négatif pour celles négatives. L'ensemble de chaque trois test successif fournis un chiffre qui est reporté sur l'étiquette des galeries. Un code final de 7 chiffres correspond à une espèce déterminée sur le tableau d'identification.

I.2. Evaluation de formation de biofilm

L'évaluation de la formation des biofilms des souches utilisées est réalisée par la méthode quantitative ou cristal violet.

A. Principe

Cette méthode a été décrite en 1985 par **Christensen** et al. Elle permet de quantifier la biomasse des biofilms formé par les microorganismes en se basant sur la coloration par le cristal violet. Celui-ci se lie aux molécules extracellulaires chargé négativement, tels que les polysaccharides de la matrice exo polymérique des biofilms.

B. Mode opératoire

Nous avons utilisé la technique de **Christensen et al., (1985)**, modifiée par **O'toole et al., (2000)**. A partir d'une culture microbienne de 24 heures, une opération de centrifugation est réalisée à 3000 g pendant 5 min. Ensuite, 300 µl de la suspension bactérienne sont mis dans les puits d'une microplaque stérile (96puits). Après incubation de 48 heures à 37°, le milieu liquide est éliminé et les puits sont lavés trois fois avec de l'eau physiologie stérile pour écarter les cellules planctoniques et/ou non adhérentes. 300 µl d'une solution au cristal Violet à 0.5% (P/V) sont ajoutés dans les puits, puis laissés pendant 40 min à la température ambiante.

La microplaque est lavée 3 fois à l'aide d'eau de robinier. 300 µl d'acide acétique (33%) sont mis ensuite dans les puits et sont laissés agir pendant 15 min. Le contenu de chaque puits est transféré dans une nouvelle microplaque stérile, à raison de 250 µl. Celle-ci est ensuite introduite dans un lecteur de plaque pour mesurer l'absorbance à 492 nm. Le cristal violet absorbe la lumière dans cette longueur d'onde, cependant l'acide acétique n'en peut pas absorber.

Les résultats de l'évaluation pour chaque souche sont reportés dans le **tableau 1**. La souche de référence est utilisée pour le contrôle positif des résultats, un test de contrôle négatif est également réalisé. Cinq répétitions sont effectuées pour chaque souche.

Les biofilms sont classés en trois catégories en fonction de leur valeur d'absorbance et ce, selon la classification de **Mathur et al., (2006)**.

Tableau 1: Classification bactérienne formatrice de biofilms selon leur absorbance (**Mathur et al., 2006**).

Valeur d'absorbance	Formation de biofilm
<0.120	Absence
0.120 < A < 0.240	Modérée
>0.240	Forte

I.3. Evaluation de l'hydrophobicité des souches

La technique d'adhésion microbienne aux solvants (MATS) est utilisée pour l'évaluation de l'hydrophobicité (**Krepsky et al., 2003**).

Les souches bactériennes sont mises en culture à 37°C durant 20 heures dans le bouillon nutritif pour avoir une culture jeune. Les suspensions bactériennes sont ensuite centrifugées pendant 15 minutes à 1000 g. Le culot ainsi obtenu est lavé deux fois à l'aide de l'eau physiologique stérile, l'inoculum est ajusté à 10⁸ cellules/ml.

Trois ml de la suspension bactérienne obtenue sont introduits dans un tube à essai stérile additionnés de 250 µl d'hexane, solvant apolaire. Le mélange est agité au vortex pendant une minute.

Le mélange est laissé à décanter pendant 15 minutes pour avoir une séparation complète entre deux phases, organique et aqueuse. Parallèlement, un test de contrôle est effectué.

L'absorbance (A) de la phase aqueuse est ensuite mesurée à 570 nm. Le pourcentage d'adhésion au solvant est donné par la relation suivante.

$$A(\%) = (A_0 - A_1/A_0) \times 100$$

A₀ : absorbance du contrôle.

A₁ : absorbance de l'échantillon.

L'hydrophobicité des souches est évaluée selon (Krepsky et al., 2003) tableau 2.

Tableau 2: le pourcentage d'adhésion (%) des bactéries au solvant (Krepsky et al., 2003).

Pourcentage d'adhésion (%)	Hydrophobicité
<20	Hydrophile
20<A<50	Moyennement hydrophobe
> 50	Hydrophobe

II.1. Identification

L'identification biochimique des souches pures est réalisée par la galerie API 20 E. Le changement des couleurs dans les cupules indique la positivité ou la négativité des tests (Figure 4). Les résultats obtenus ont permis l'identification de huit espèces.

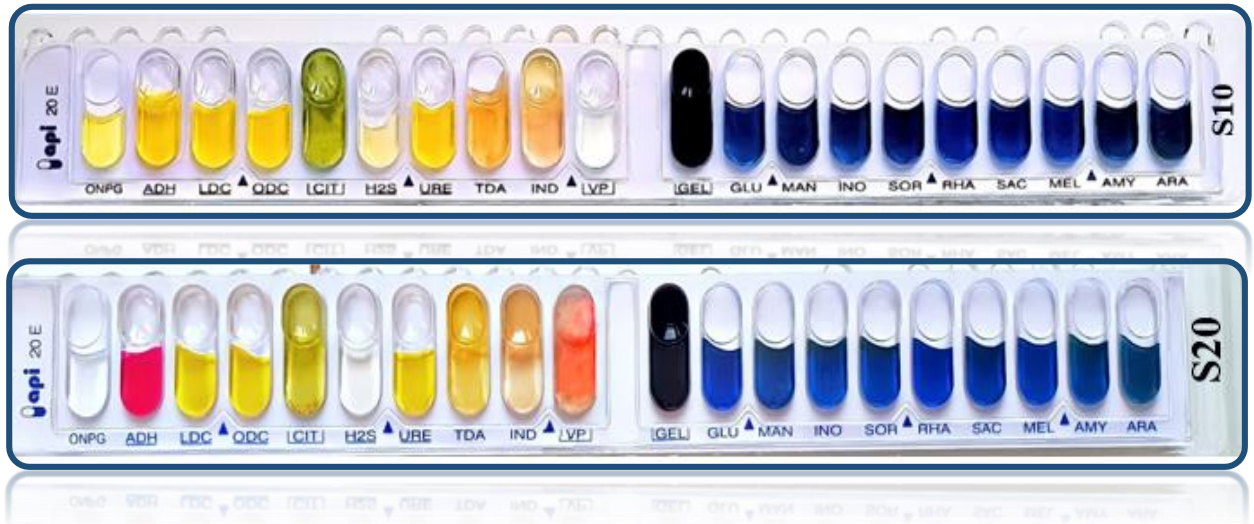


Figure 4: Résultats de l'identification biochimique par la galerie API 20E des souches S10 (*Stenotrophomonas maltophilia*), S20 (*Pseudomonas fluorescens*).

Sur 25 souches identifiées, le genre *Pseudomonas* s'est révélé le plus fréquent 48%. *Pseudomonas fluorescens*, avec 8 souches et *Pseudomonas aeruginosa* (4 souches) sont les deux espèces identifiées pour ce genre.

Enterobacter cloacae est l'espèce qui a occupé le deuxième rang avec 20 %, elle est suivie d'*Aeromonas salmonicida ssp. Salmonicida* avec trois souches puis de *Cronobacter spp.* Avec deux souches. Par ailleurs, les espèces *Stenotrophomonas maltophilia*, *Vibrio fluvialis* et *Chryseobacterium indologenes* sont représentés, chacune, par une seule souche seulement (Figure 5).

Ces résultats sont regroupés en détails dans l'annexe I.

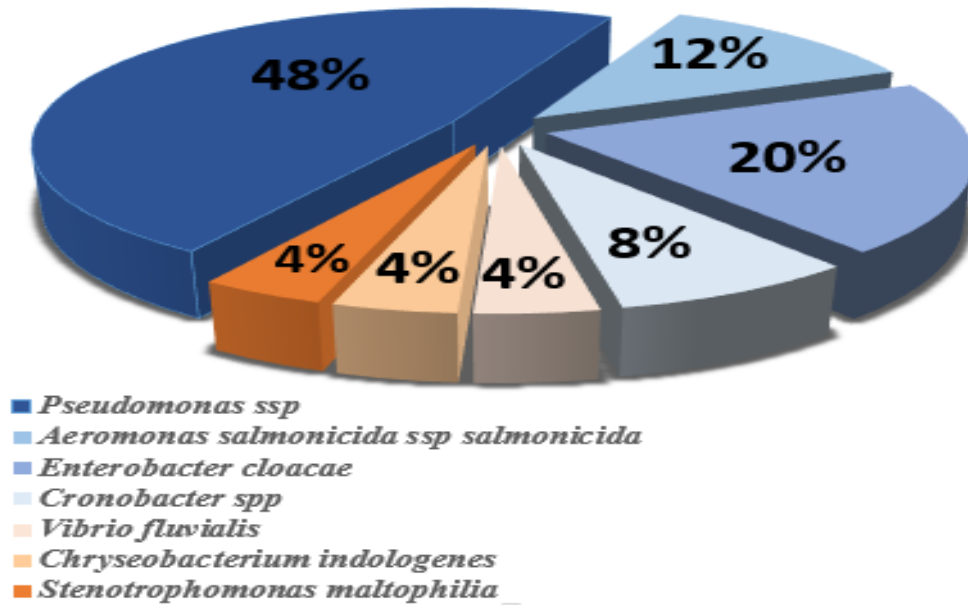


Figure 5: Taux d'identification des souches prélevées des surfaces de téléphones portables du personnel soignant dans l'EPH de Naâma.

Selon **Rossello et al.**, la prévalence des infections nosocomiales en Algérie était de 6,3% en 2010. De plus, *P. aeruginosa* est l'agent pathogène le plus incriminé dans les infections associées aux soins dans ce pays (**Benslimani et Meieddine., 2012; Amrouni et al., 2014**). Parmi les 25 souches, provenant de l'EPH de Naâma, *Pseudomonas spp.* Est le genre dominant. Ces souches ont été prélevées à partir de téléphones portables du personnel soignant.

En effet, ces appareils sont considérés comme vecteur de germes pathogènes (**Brady et al., 2009 ; Bhoonderowa et al., 2014**). Les germes les plus fréquemment isolées à partir des téléphones portables sont ceux liés à la peau, tels que *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Proteus*, *Escherchia coli*, *Klebsiella* et *Enterococcus* (**Singh et al., 2010; Miriagou et al., 2010**).

P. aeruginosa est une espèce pathogène opportuniste (**Leclerc, 2002**), elle se classe en troisième position après *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* (**Amazian et al., 2010**).

En milieu hospitalier, environ 40 à 50% des bactéries isolées appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* (**Eyquem et al., 2000; Avril et al., 2000**).

Dans l'ensemble, les bactéries Gram-négatif ont été décrites pour persister plus longtemps que les bactéries Gram positif (**Hirai, 1991**).

D'après **williams et al., (2005)**, les conditions humides améliorent la persistance pour la plupart des types de bactéries, comme *Pseudomonas aeruginosa*, également signalé parmi les souches les plus fréquentes, dans notre étude.

Les bactéries du genre *Pseudomonas* sont présentes dans des environnements naturels. Leur capacité à résister à de nombreux antibiotiques et antiseptiques explique leur présence en milieu hospitalier (**Eyquem et al., 2000; Avril et al., 2000**).

Le genre *Stenotrophomonas* (appelé anciennement *Xanthomonas*) appartient à la famille des *Pseudomonadaceae* ; *Stenotrophomonas maltophilia* est l'espèce type du genre, elle est également retrouvé dans nos travaux (**Avril et al., 2000**).

Les résultats obtenus vont dans le même sens que ceux de **Abbott et al., 2015**. Ils ont en effet montré que *S. maltophilia* ne soit pas un organisme virulent mais peut compliquer le traitement chez les personnes immunodéprimées.

Le genre *Aeromonas* comporte au moins sept espèces. *Aeromonas salmonicida*, identifiée dans cette étude, est une bactérie aéro-anaérobies qui donne des colonies translucides de 1 à 3 mm, cette espèce peut être isolée du milieu hospitalier (**Eyquem et al., 2000; Brenner et al., 2005**).

Vibrio fluvialis, isolée et identifiée dans l'EPH de Naâma, est une espèce connue pour la synthèse de plusieurs substances comme les entérotoxines et les cytolysines (**Dupray, 1986**).

II.2. Evaluation de formation de biofilm

Pour l'évaluation de la formation des biofilms, nous avons utilisées la méthode d'**O'Toole et al., (2000)** qui repose sur la coloration des biofilms par le cristal violet ainsi que celle de l'hydrophobicité.

II.2.1 Méthode quantitative au cristal violet

Cette méthode permet d'évaluer la capacité des biofilms formés par les souches bactériennes en fonction des densités optiques et ce, suite à la révélation par un lecteur de microplaque. Celle-ci est précédée par la révélation à l'œil nu (**Figure 6**).

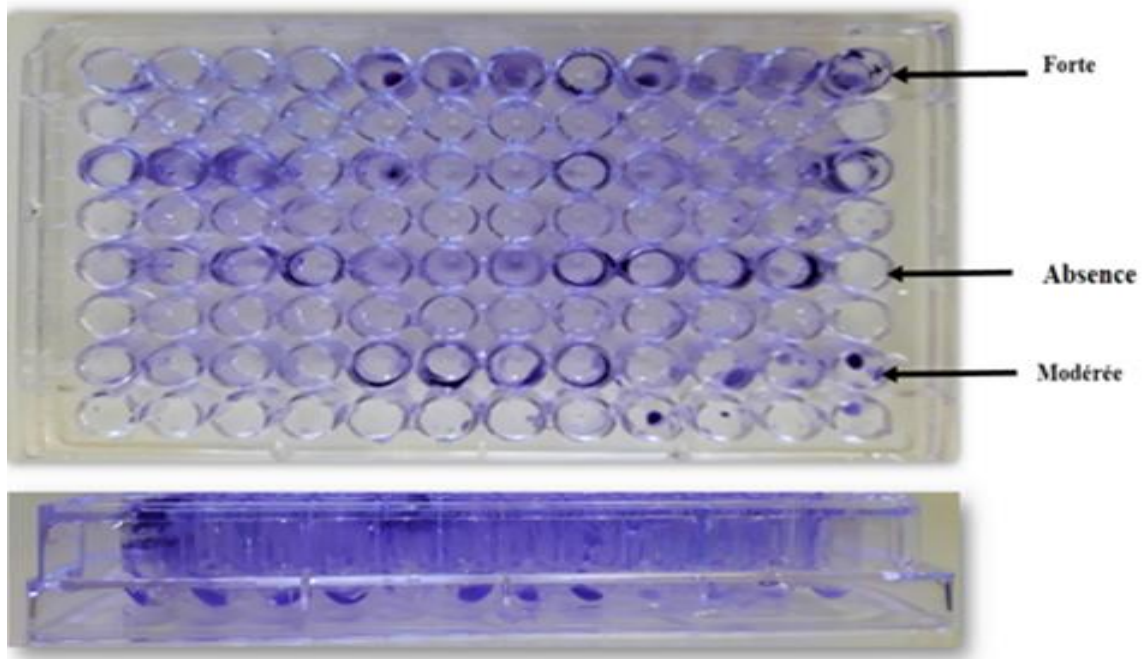


Figure 6: Evaluation de formation de biofilm à l'œil nu.

L'intensité de la couleur violette reflète le potentiel de la formation des biofilms ; la **figure 6** présente des couleurs violettes dans les puits avec des intensités variables. Selon **Djordjevic et al., (2002)** plus la couleur est foncée, plus la formation des biofilms est forte.

De plus, *Stenotrophomonas maltophilia*, malgré sa fréquence réduite (4%), présente probablement un facteur de virulence représenté dans son haut potentiel de formation de biofilm (**Figure 7**). Selon **PASSERINI DE ROSSI, (2007)**, cette espèce a une forte capacité de former le biofilms.



Figure 7: Aspect macroscopique du biofilm de *Stenotrophomonas maltophilia* (S10).

Les flèches indiquent le biofilm tapissant la surface de milieu de culture.

Selon cette étude, *Pseudomonas ssp.*, le genre dominant des souches identifiées, a présenté un potentiel modéré quant à la formation des biofilms. Cependant, seules les trois espèces, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Chryseobacterium indologenes*, qui ne sont représentées que par un seul individu chacune et *Enterobacter cloacae* (EC12), se sont révélées fortement formatrices de biofilm (**Figure 8**). Les résultats détaillés sont regroupés dans l'**annexe II**.

Par ailleurs, les résultats obtenus sont marqués par la présence d'un cluster de trois groupes de bactéries. Celles qui forment fortement les biofilms avec un taux de 12%. Le deuxième groupe, majoritaire (76%), est celui des bactéries qui forment modérément les biofilms. Cependant, trois souches non présentées aucune aptitude à former les biofilms. Pour *Proteus mirabilis* ATCC 35659, la souche de référence, le potentiel de former le biofilm s'est révélé très réduit (**figure 8**).

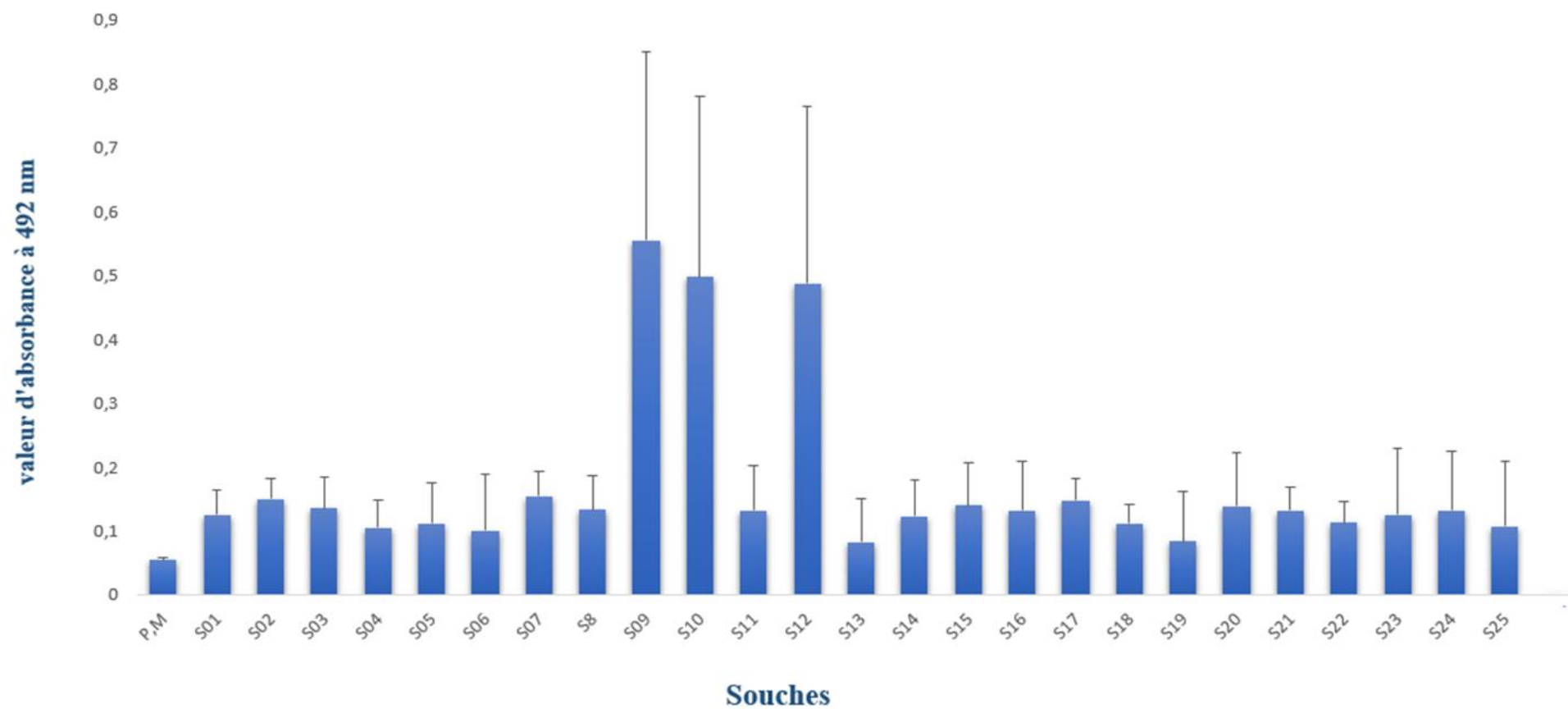


Figure 8: Quantification des biofilms formés par des souches prélevées de l'EPH de Naâma selon la méthode au cristal violet

Les biofilms médicaux sont associés à des problèmes majeurs de santé publique et sont impliqués dans un large éventail de maladies infectieuses qui touchent majoritairement les personnes immunodéprimées (Tasse, 2017). Le lien entre la capacité d'une souche à former un biofilm et sa virulence est souvent établi (Roux et Ghigo., 2006). Une fois dans un environnement adapté, les bactéries peuvent s'implanter et persister sur une surface via l'expression de facteurs impliqués dans la formation des biofilms et dans la virulence (Roux et Ghigo., 2006).

Selon Nagant, (2013), les bactéries résident de manière prédominante sous la forme de biofilms. En effet, les biofilms agissent comme des réservoirs dans lesquels certaines espèces sont capables de persister plusieurs années et d'émerger plus tard dans des conditions favorables (Donlan et al., 2002).

Pseudomonas aeruginosa est considérée comme une bactérie qui forme des biofilms de façon élevée (Musk et al., 2005). Les *Enterobacter*, quant eux, sont responsables de la grande majorité des infections chez l'homme (Michael, 2015). Selon l'étude de Nargis et al., (2017) *Enterobacter cloacae* présente une production de biofilm très élevée.

Selon Yuichi et al., (2013) et Yi-Chang et al., (2015), *Chryseobacterium indologenes*, est une espèce qui a la capacité de former les biofilms. De plus, certaines études ont investigué la formation de biofilm par les espèces de *Vibrio* (O'Toole et al., 2000 ; Yildiz et al., 2009).

I.2.2 Evaluation de l'hydrophobicité des souches bactériennes

La méthode MATS consiste à évaluer le degré d'affinité des suspensions bactériennes avec l'hexane, un hydrocarbure hydrophobe. Deux phases sont distinguées dans les tubes après l'interaction des bactéries avec l'hexane (Figure 9).

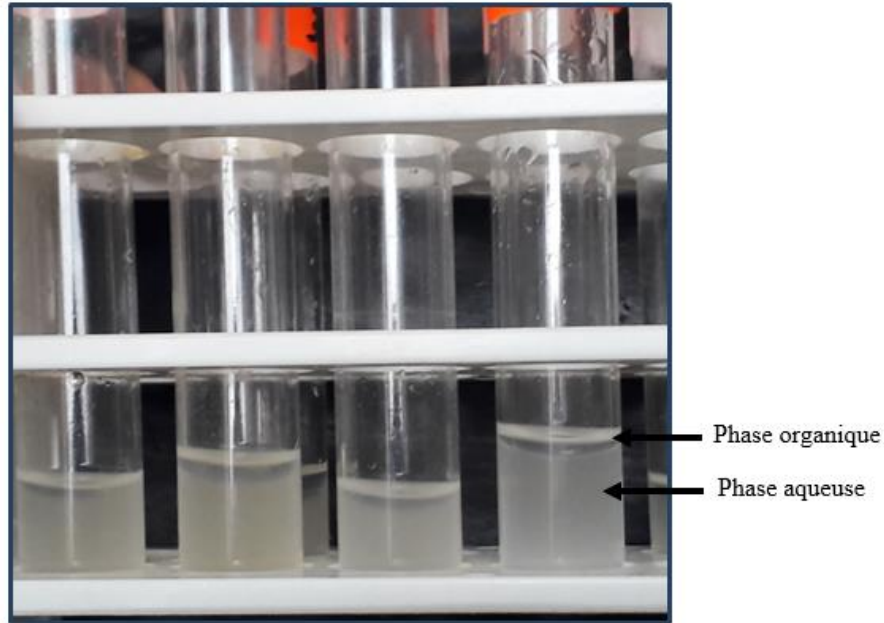


Figure 9: Résultats du test de l'hydrophobicité des souches bactériennes. Séparation des phases organique et aqueuse.

Les résultats de cette étude n'ont enregistré que 7/25 souches au caractère hydrophobe. En fait, ces souches ont présenté une valeur d'adhésion supérieure à 50%. Cependant, 10 souches sont relativement hydrophobes, avec des valeurs d'adhésion comprises entre 50% et 20%. En revanche, 8 souches ont une surface très hydrophile avec une valeur d'adhésion inférieure à 20% (**Figure 10**). Un résultat similaire est enregistré pour *Proteus mirabilis* ATCC 35659.

La plupart des bactéries à Gram négatif ont de longues chaînes de polysaccharides exposées, ayant pour résultat une surface hydrophile, tandis que les bactéries à Gram positif ont la partie de lipide d'acide lipotéichoïques que se prolonge à l'extérieur de la cellule, ayant pour résultat une surface hydrophobe (**Frank, 2001**).

Selon les résultats de cette étude, le facteur espèce n'a pas présenté une influence quant à l'hydrophobicité des surfaces microbienne. En effet, l'hydrophobicité est variable au sein d'une même espèce.

De plus, la formation des biofilms, chez les souches isolées des surfaces des téléphones portables du personnel soignant de l'EPH de Naâma, ainsi que le caractère d'hydrophobicité des surfaces bactériennes ne sont pas reliés entre eux.

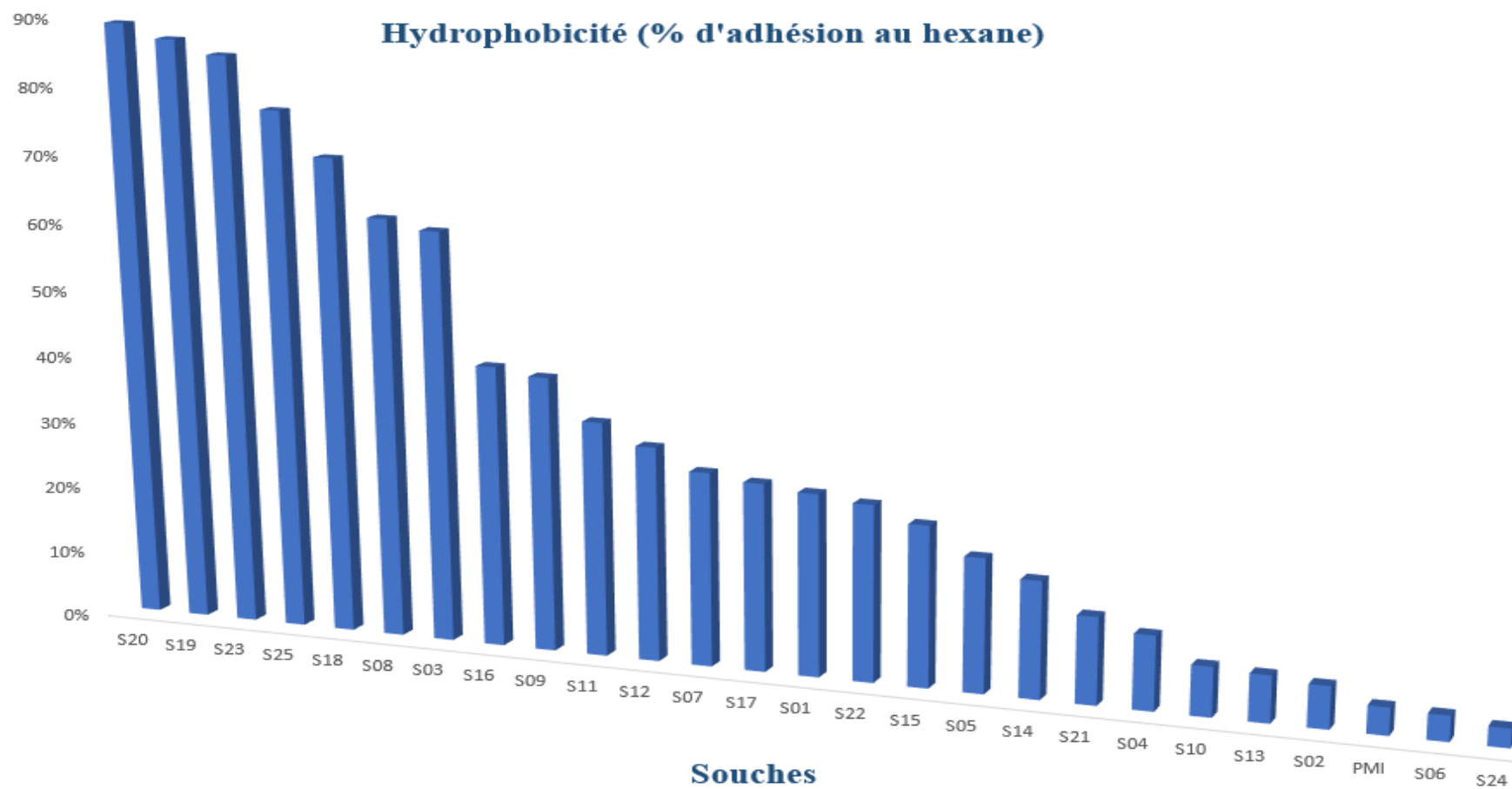


Figure 10: Evaluations de hydrophobicité des souches prélevées de l'EPH de Naâma selon la méthode MATS.

Certains auteurs ont observé que l'adhésion des bactéries hydrophobes est plus importante sur les supports hydrophobes, alors que celle des bactéries hydrophiles est plus importante sur les supports hydrophiles (**Bellon et al., 1990**).

L'hydrophobicité varie avec la température et le stade de croissance (**Chavant et al., 2002**). En 1998, **Smoot et Pierson** ont montré que l'hydrophobicité augmente quand la température de croissance diminue.

Pseudomonas sp. cultivée à 37 C° et déterminée par le test cinétique d'adhérence microbienne aux hydrocarbures (MATH) est considérée comme étant entièrement hydrophiles, tandis que les cellules cultivées à 28 C° sont hautement hydrophobes (**Katsutoshi et al., 2008**).

En revanche, **Zulfigar et al., (2018)** ont précisé qu'en raison des propriétés hydrophobes de la surface et de la vitesse de croissance lente, leurs souches ont montré une forte formation de biofilm.

Conclusion

L'utilisation des téléphones portables peut constituer un risque sanitaire majeur de transmission des bactéries multi-résistantes dans les établissements de santé. Les surfaces des téléphones portables du personnel soignant peuvent, en effet, abriter des microorganismes hospitaliers ; ceux-ci y adhèrent et forment les biofilms. Ces agrégats de cellules bactériennes peuvent être véhiculés d'un service à l'autre et/ou à l'extérieur de l'hôpital.

Cette étude est réalisée dont l'objectif vise l'identification et l'évaluation du potentiel de formation des biofilms ainsi que l'hydrophobicité des souches bactériennes isolées. Elle concerne 25 souches pures et une souche de référence, *Proteus mirabilis* ATCC 35659.

Parmi les 25 souches identifiées, le genre *Pseudomonas* est le plus fréquent avec une proportion voisine de la moitié. *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas aeruginosa* sont les deux espèces identifiées pour ce genre. *Enterobacter cloacae* est l'espèce qui a occupé le deuxième rang, suivie d'*Aeromonas salmonicida ssp. Salmonicida* puis de *Cronobacter spp.* Par ailleurs, les espèces *maltophilia*, *Vibrio fluvialis* et *Chryseobacterium indologenes* sont chacune représentés par une seule souche.

Selon cette étude, *Pseudomonas ssp*, le genre dominant parmi les souches identifiées, a présenté un potentiel modéré quant à la formation des biofilms. Cependant, seules les trois espèces, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Chryseobacterium indologenes* et *Enterobacter cloacae* (EC12), se sont révélées fortement formatrice de biofilm.

Concernant la formation des biofilms, trois groupes de bactéries sont distingués ; le groupe de bactéries qui forment modérément les biofilms domine avec un taux de 76%. Par ailleurs, 40% des souches sont relativement hydrophobes. Selon ces résultats, le facteur espèce n'a pas présenté une influence quant à l'hydrophobicité des surfaces microbiennes.

Comme perspective à cette étude, il serait souhaitable de :

- Utiliser les résultats de cette étude afin d'optimiser l'utilisation des téléphones portables du personnel soignant de l'EPH de Naâma.
- Mener une étude élargie et plus profonde dans toutes les structures hospitalière de la wilaya de Naâma.

*Références
bibliographiques*

A

- [1] Abbott I.J. et Peleg A.Y. (2015). *Stenotrophomonas, Achromobacter, and Nonmelioid Burkholderia* Species: Antimicrobial Resistance and Therapeutic Strategies". National center for biotechnology information, 36(1), 99 –110.
- [2] Alain R. (2004). Hygiène et soins infirmier, pp, 57-98-188-200, 205.
- [3] Alnnasouri M. (2010). " Etude du développement de biofilms dans des réacteurs de traitement d'eau". Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, France.
- [4] 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 carbapénèmase". *Phytothérapie*, 12, 309 –313.
- [5] Auger M. (2012). "Formation de biofilm in vitro par des souches cliniques d'*Escherichia coli* : impact de la modification des conditions expérimentales". Thèse de doctorat, Université de Nantes, France.
- [6] Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H. (2000). "Bactériologie clinique". Ellipses, Paris : 3ème édition, 602.

B

- [7] Bellon M.N., Mozes N., et al. (1990). "A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy microorganisms to solid substrata". *Cell Biophysics*, 17, 93 106.
- [8] Benslimani A., Meieddine C. (2012). " État de la résistance aux antibiotiques, d'autres espèces bactériennes et surveillance des bactéries multirésistantes : 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) 13^e rapport d'évaluation, 140, 65–88.
- [9] Berche P., Gallard J.L., Simonnet M. (1991). "Les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. Bactériologie des infections humaines de la biologie à la clinique. Flammarion", Paris, 64-71.
- [10] Bhoonderowa A., Gookool S., Biranjia-Hurdoyal SD. (2014). "The Importance of Mobile Phones in the Possible Transmission of Bacterial Infections in the Community". *J Community Health*, 39 (5), 965-7.

- [11] Birgand G. (2014). "Infection de site opératoire : Approche originales du diagnostic et de la prévention. Thèse de doctorat en épidémiologie". Paris : université PIERRE ET MARIE CURIE, 213.
- [12] Brady R.R., Verran J., Damani N.N., Gibb A.P. (2009). "Review of mobile communication devices as potential reservoirs of nosocomial pathogens". *Journal of hospital infection*, 71, 295- 300.
- [13] Brady R.R., Hunt A.C et al. (2011). "Mobile phone technology and hospitalized patients: a cross-sectional surveillance study of bacterial colonization and patient opinions and behaviors". *Clinical Microbial Infection*, 17(6), 830–5.
- [14] Branger A., Richer M.M., Roustel S. (2007). "Quelque système microbien: les biofilms. Dans : Micro biochimie et alimentation". Educagri éditions, dijon. p.131-164.
- [15] Brenner D.J., Farmer J.J et al. (2005). "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (The Proteobacteria), Part B (The Gamma proteobacteria)", 2ème Edition vol. 2. Springer-Verlag, New York.1106 p.
- [16] Bricha S., Ounine K et al. (2009). "Facteurs de virulence et épidémiologie liés au *Pseudomonas aeruginosa*". *Revue Tunisienne d'infectiologie*, 2, 7–14.
- [17] Bury-Moné S., (2007). "Les biofilms. Polycopié. Ecole Normale Supérieure de Cachan", 17 p.

C

- [18] Chalvet de Rochemonteix A. (2009). "Les biofilms et la peau. Thèse Pour le Doctorat vétérinaire", École Nationale Vétérinaire D'alfort, Paris, 160.
- [19] Characklis W.G. (1973). "Attached microbial growths-II. Frictional resistance due to microbial slimes". *Water Research*, 7, 1249-1258.
- [20] Chavant P., Martinie B et al. (2002). "*Listeria monocytogenes* LO28: Surface Physicochemical Properties and Ability to Form Biofilms at Different Temperatures and Growth Phases". *Applied and environmental microbiology*, 68(2), 728-37.
- [21] Christensen G.D., Simpson W.A et al. (1985). "Adherence of coagulase negative *Staphylococci* to plastic tissue cultures: a quantitative model for the adherence of *Staphylococci* to medical devices". *Journal of Clinical Microbiology*, 22, 996–1006.

- [22] Cholley P. (2010). "Analyse génétique des souches multi-résistantes de *Pseudomonas aeruginosa* dans l'est de la France: apport prédictif potentiel sur le risque infectieux". Thèse de doctorat en science de la vie et de la santé, Université de Franche –compte. Besancon, 21.
- [23] Clutterbuck AL., Woods EJ et al. (2007). Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Veterinary Microbiology* 121 (1-2), 1-17
- [24] Conly J.M., HILL S., POSS J. (1989). "Hand washing practices in ICU: the effects of an educational program and its relationship to infection routes". *American journal of infection control*, 17(6), 330-9.
- [25] Costerton J.W., Geesey G.G., Cheng K.J. (1978). "How Bacteria Stick Scintifique American", 238, 86-95.
- [26] Costerton J.W., Lewandowski Z et al. (1995)." Microbial biofilms". *Annual Reviews in Microbiology*, 49(1), 711-745.
- [27] Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. (1999). "Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*", 284, 1318–1322.

D

- [28] Dancer S. J. (2004)." How do we assess hospital cleaning a proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals ".*Journal Hospital Infection*, 56.
- [29] Davey M.E., O'Toole G. (2000). Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbial and Molecular reviews*, 64, 847-867.
- [30] Djordjevic D., Wiedmann M., And Mclands L.A. (2002). "Microtiter Plate Assay for Assessment of *Listeria monocytogenes* biofilm formation". *Applied and environment al microbiology*, 68(6), 2950– 2958.
- [31] Denis F., Edouard B., Christian M et al. (2007)."Bactériologie médical : technique usuelles". Elsevier Masson : 2 end édition ,274.
- [32] Diallo A. (2013). "*Eschréchia coli* pathogène et résistantes aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animales: prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire". Thèse de doctorat en Microbiologie, Toulouse, 4.
- [33] Donlan R.M., Costerton, J.W. (2002). "Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms". *Clinical microbial rev*, 15,167-193.

[34] Duce G. (2002). "Prévention des infections nosocomiales .Organisation mondial de la santé". Genève, suisse: 2ème édition Fondation Hygiène, 80.

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

[36] Dupray E. (1986). " Hétérogénéité phénotypique et pouvoir pathogène de *Vibrio naceae* isolées de zones littorales bretonnes". Thèse de doctorat en sciences pharmaceutiques, Université Paris-Sud, 159.

E

[37] Elyajouri A. (2012). "Actualités des infections à *Pseudomonas aeruginosa*". Thèse de doctorat. Université Mohammed V- Souissi faculté de médecine et de pharmacie – Rabat, 92.

[38] Eric P. (2002).Manuels de maladie infectieuse pour l’Afrique. Paris,John Libbey Euro text, 332.

[39] Eyquem A., Alouf J., Montagnier JL. (2000). "Traité de microbiologie clinique : deuxièmes mises à jour et compléments", 238.

F

[40] Folkesson A., Haagen J et al. (2008). "Biofilm induced tolerance towards antimicrobial peptides". Public Library of Science, 3(4), 1-11.

[41] Flemming H.C, Wingender J. (2010). "The biofilm matrix. Nature reviews microbiology", 8,623–633.

[42] Frank J.F. (2001). "Microbial attachment to food and food contact surfaces". Advances in Food and Nutrition Research, 43,319-369.

J

[43] Jacobsen S.M., Stickler D.J et al. (2008). "Complicated Catheter associated urinary tract infections due to *Echerichia coli* and *Proteus mirabilis*. Clinical Microbial Reviews, 21, 26-59.

[44] John A., Jamie B., Yves C. (2010). "Normes essentielles en matière de santé environnementale dans les structures de soins". Organisation mondiale de la Santé, 90, 6-90.

H

- [45] Haras D. (2005). "Biofilms et altérations des matériaux : de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention". *Matériaux & Techniques*, 93, 27–41.
- [46] Henerici A.T. (1933). "Studies of Fresh Water Bacteria: I.A Direct Microscopic Technique". *Journal of bacteriology*, 25(3), 277.
- [47] Hirai Y. (1991). "Survival of bacteria under dry conditions from a viewpoint of nosocomial." *Infection. Journal of Hospital Infection*, 19,191-200.
- [48] Hota B. (2004). Contamination, Disinfection, and Cross-Colonization: Are Hospital Surfaces Reservoirs for Nosocomial Infection? *Clinical Infection Diseases*, 39, 1182-9.

I

- [49] Irie Y., Parsek M.R. (2008). "Quorum sensing and microbial biofilms". *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 322, 67- 84.

K

- [50] Kaplan J.B. (2010). "Biofilm dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses". *Journal of dental research*, 89, 205–218.
- [51] Karatan E., Watnick P. (2009). "Signals, regulatory networks, and materials that build and break bacterial biofilms". *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 73,310–347.
- [52] Katsutoshi H., Naoto H et al., (2009). Drastic change in cell surface hydrophobicity of a new bacterial strain, *Pseudomonas sp.* TIS1-127, induced by growth temperature and its effects on the toluene-conversion rate. *Journal of Bioscience and Bioengineering* .107, 250-255.
- [53] khayar Y. (2011). "Comportement des entérobactéries isole des urines vis-à-vis de l'Amoxiciline –Acide clavulanique l'imipeneme et l'ertapeneme". Thèse de doctorat. Pharmacie .Université Mohammed V. Rabat, Pp 10-15.
- [54] Klausen M., Gjermansen J.U., Kreft T., Tolker-Nielsen. (2006). "Dynamics of development and dispersal in sessile microbial communities: examples from *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas putida* model biofilm". *FEMS Microbial. Letters*. 261, 1-11.
- [55] Klein G. (2011). "Nouvelles molécules naturelles inhibitrices du développement de biofilms de bactéries marines". Thèse de doctorat. Université de Bretagne occidentale, Bretagne, 198.

[56] Krepsky N., Rocha Ferreira R.B et al., (2003). " Cell surface hydrophobicity and slime production of *Staphylococcus epidermidis* Brazilian isolates". *Current Microbiology*, 46,280-286.

[57] Kuchma S.L., Connolly J.P et O'Toole G.A. (2005). "A three-component regulatory system regulates biofilm maturation and type iii secretion in *Pseudomonas aeruginosa*", *Journal of Bacteriology*, 187, 1441-1454.

[58] Kukavica-Ibrulj I. (2007). " Chapitre 1. Introduction. Collection mémoires et thèses électroniques" .Université Laval. Québec, Canada.

L

[59] Leclerc H. (2002). Presse thermo climat ; "BACTERIOLOGIE DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ". Service de bactériologie. Centre hospitalier de Lille, 139, 9-13.

[60] Lemsanni M. (2016). "L'infection nosocomiale en réanimation pédiatrique .Thèse de doctorat en médecine, Université de Kaddy Ayyad" .Faculté de médecine et de pharmacie .Marrakech ,117.

[61] Lewis K. (2008). "Multidrug tolerance of biofilms and persisted cells". *Curry Top Microbial Immunology*, 322,107–131.

M

[62] Marchal M. (2010). "Etude des biofilms bactériens arsénite-oxydants". Thèse de doctorat. Université de Strasbourg, France.

[63] Mathur T., Singhal S et al. (2006). "Detection of biofilm formation among the clinical isolates of Staphylococci: an evaluation of three different screening methods". *Indian Journal of Medical Microbiology*, 24 (1), 25- 9.

[64] Michael S., Donnenberg., in Mandell, Douglas, and Bennett's. (2015). "Principles and Practice of Infectious Diseases", (Eighth Edition).

[65] Miriagou V., Cornaglia G et al., (2010). "*Acquired carbapenemases* in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues". *Clinical Microbiology Infection*, 16, 112–122.

[66] Monnet T. (2011). " L'infection nosocomiale : L'importance d'un suivi épidémiologique et de l'identification rapide des bactéries en cause". Thèse de doctorat en Pharmacie, Grenoble : Université Joseph Fourier. 21.

[67] Muller A., Guaguere E. (2014). " L'Antibiothérapie n'est pas la seule source d'antibiorésistance : notion de biofilm". Conflits AFVAC. Médecine interne / maladies infectieuses. Paris, la Défense, 6.

[68] MUSK D.J., BANKO D.A., HERGENROTHER P.J. (2005). "Iron salts perturb biofilm formation and disrupt existing biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*". Chemistry & Biology; 12, pp, 789– 796.

N

[69] Nagant C. (2013). "Contribution à la recherche de nouveaux agents antibactériens actifs sur les biofilms de *P. aeruginosa*". Thèse de doctorat. Université Libre de Bruxelles d'Europe, France.

[70] Nargis S., Amer I et al., (2017). "Bacterial biofilm-based catheter-associated urinary tract infections: Causative pathogens and antibiotic resistance". American Journal of Infection Control, 45, 1101-1105.

O

[71] Organisation mondiale de la santé. (2020). " Personnel infirmier et sages-femmes, les soins propres sont entre vos mains". OMS, Méditerranée orientale, 3. Journée mondiale de l'hygiène des mains

[72] O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. (2000). " Biofilm formation as microbial development". The Annual Review of Microbiology, 54, 49- 79.

[73] Ouhibi B. (2015). "Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation". Thèse de doctorat en médecine, Université de Cadi Ayyad .Jerrada, 50.

P

[74] Parot S. (2007). "Biofilms électroactifs: formation, caractérisation et mécanismes". Thèse de doctorat. L'institut national polytechnique de Toulouse, France.

[75] Passerini de Rossi B. N., Calenda M., Franco M. (2007). "Biology, Medicine Revista Argentina de microbiologia Biofilm formation by *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from device-associated nosocomial infections", pp, 204 -212.

[76] Pecastaings S. (2010). "Apport de modèles de biofilms à *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila* à la maîtrise de la qualité microbiologique des réseaux d'eaux minérales naturelles". Thèse de doctorat. Université de Toulouse, 264.

[77] 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". L'Université Lyon I - Claude Bernard, France.

[78] Pichard E. (2002). "Manuels de maladie infectieuse pour l'Afrique". Paris: John Libbey Eurotext, 332.

R

[79] Ramage G., Rajendran R, Sherry L., Williams C. (2012). Fungal Biofilm resistance. International Journal of Microbiology, "<https://doi.org/10.1155/2012/528521>".

[80] Rebiahi S.A., Rahmouna M., Seddiki S.M.L et al., (2014). "Nosocomial infections caused by *staphylococcus aureus* biofilm producer in the neonatal unit of the hospital specialist mother-child of Telemcen, Algeria". Journal de pédiatrie et de puériculture, 27, 228-235.

[81] Rossello J, Amazian K, Castella A et al., (2010). "Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne", Eastern Mediterranean Health Journal. Rev de Santé de la Méditerranée orientale, 16, 1074.

[82] Roux A., Chigo J.M. (2006). "Les biofilms bactériens. Communication, Bull". Acad. Vét. France .Tome 159.

S

[83] Sauer K., Camper A.K et al., (2002). " *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm". Journal Bacteriol, 184, 1140-1154.

[84] Saussereau E. (2013). "Utilisation des bactériophages comme thérapie lors d'une infection à *Pseudomonas aeruginosa* dans le cadre de la mucoviscidose : efficacité et innocuité". Thèse de doctorat d'Université Pierre et Marie Curie, Paris VI.

[85] Singh S., Acharya S et al., (2010). " Mobile Phone Hygiene: Potential Risks" Posed by Use in the Clinics of an Indian Dental School, 4, 1153-1158.

[86] Smoot L.M., Pierson M.D. (1998). "Influence of environmental stress on the kinetics and strength of attachment of *Listeria monocytogenes* Scott A to Buna-N rubber and stainless steel". Journal of food protection, 61, 1286–1292.

[87] Spiers A.J., Bohannon J et al., (2003). " Biofilm formation at the air-liquid interface by the *Pseudomonas fluorescens* SBW25 wrinkly spreader requires an acetylated form of cellulose". Mol. Microbiol, 50, 15-27.

[88] Stanley N.R., Lazazzera B.A et al., (2003)." Identification of catabolite repression as a physiological regulator of biofilm formation by *Bacillus subtilis* by use of DNA microarray". J. Bacteriol, 185, 1951-1957

[89] Stoodley P., Boyle J.D et al., (1997). "Consensus Model of Biofilm Structure. Biofilms: community interactions and control", pp. 1-9.

T

[90] Tasseau F., Baron D. (1989)." Infections nosocomiales. eds Santé publique". Paris, Ellipses, 478-79.

[91] TASSE J. (2017)." Apport de l'antibiofilmogramme et de la mesure de la capacité de formation du biofilm dans la prise en charge des infections osteo-articulaires aux *staphylocoques*". Thèse de doctorat Microbiologie. Lyon : Université Claude Bernard, Lyon, 1, 210.

[92] Tenke P., Kovacs B et al. (2006)."The role of biofilm infection in urology ".World J Urol 24, 13-20.

[93] Tolker-Nielsen T., Molin S. (2000). "Spatial organization of microbial biofilm communities". Microb. Ecol, 40, 75-84.

U

[94] Ustun C., Cihangiroglu M. (2012)." Health care workers' mobile phones: a potential cause of microbial cross-contamination between hospitals and community". J Occup Environ Hyg, 9(9), 538–42.

W

[95] Williams A.P., Avery L.M et al., (2005). "Persistence of *Escherichia coli* O157 on farm surfaces under different environmental conditions". Journal of Applied Microbiology 2005, 98, 1075-1083.

Y

- [96] Yannick D.N., Tremblay., Skander., Mario J. (2014). " Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique". Canadian Veterinary Medical Association, 78(2), 110–116.
- [97] Yi-Cheng C., Hsueh-Hsia L et al., (2015). "Identification, epidemiological relatedness, and biofilm formation of clinical *Chryseobacterium indologenes* isolates from central Taiwan" Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 48, 559-564.
- [98] Yildiz F., Visk KL. (2009). "*Vibrio* biofilm: so much the same yet so different trends Microbiol", 17, 109-118.
- [99] Yuichi K., Miho N et al., (2013). " Central intravenous catheter-related bacteremia due to *Chryseobacterium indologenes* after cord blood transplantation". The Japanese journal of clinical hematology, 54(3), 305-10.

Z

- [100] Zeroual Z. (2012). " Profil épidémiologique et Bactériologique des infections nosocomiales" .Thèse de doctorat en Pharmacie, Université de Mohammed, 52.
- [101] Zobell C.E. (1943). The Effect of Solid Surfaces upon Bacterial Activity. Journal of Bacteriology. Journal of Bacteriology, 46, 39–56.
- [102] Zulfiqar A., Aiman F et al., (2018). "Relationship of cell surface hydrophobicity with biofilm formation and growth rate: A study on *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Escherichia coli*". Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 21(7), 760–769.

Annexes

Annexe I Tableau d'identification des souches prélevées des surfaces de téléphones portables du personnel soignant dans l'EPH de Naâma.

L'espèce identifiée	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
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	PA06/PA07 PA17/PA 22	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2202000
<i>Aeromonas Salmonicida ssp. Salmonicida</i>	AS01/AS02/ AS03	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	2006300
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	PF13/PF16/PF19/ PF20/PF21/PF23/ PF24/PF25	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2003000
<i>Chryseobacterium indologenes</i>	CI09	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1252000
<i>Vibrio fluvialis</i>	VF15	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	3046001
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	SM10	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1002000
<i>Cronobacter spp</i>	CS04	+	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	3345773
	CS14	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	3307133
<i>Enterobacter cloacae</i>	EC05	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	3307773
	EC08	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	2307773
	EC11	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	3306773
	EC12	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	3307573
	EC18	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	3306373

Annexe II Tableau de quantification des biofilms formés par des souches prélevées de l'EPH de Naâma selon la méthode au cristal violet.

souches	répétition 1	répétition 2	répétition 3	répétition 4	répétition 5	moyenne	écart-type	erreur Moyenne , min
P,M	0,056	0,056	0,0521	0,05	0,0559	0,054	0,003	0,054 ± 0,003
S01	0,093	0,11	0,105	0,145	0,172	0,125	0,039	0,125 ± 0,0395
S02	0,156	0,107	0,146	0,171	0,169	0,1498	0,031	0,1498 ± 0,031
S03	0,15	0,171	0,157	0,122	0,073	0,1346	0,049	0,1346 ± 0,049
S04	0,147	0,12	0,13	0,065	0,06	0,1044	0,043	0,1044 ± 0,0435
S05	0,092	0,078	0,063	0,131	0,192	0,1112	0,064	0,1112 ± 0,0645
S06	0,033	0,02	0,06	0,197	0,191	0,1002	0,088	0,1002 ± 0,0885
S07	0,164	0,191	0,166	0,137	0,11	0,1536	0,04	0,1536 ± 0,0405
S8	0,041	0,26	0,147	0,129	0,084	0,1322	0,053	0,1322 ± 0,053
S09	0,58	0,79	0,645	0,2	0,555	0,554	0,295	0,554 ± 0,295
S10	0,685	0,841	0,682	0,118	0,158	0,4968	0,283	0,4968 ± 0,2835
S11	0,075	0,119	0,109	0,139	0,216	0,1316	0,07	0,1316 ± 0,0705
S12	0,665	0,81	0,67	0,108	0,18	0,4866	0,278	0,4866 ± 0,2785
S13	0,055	0,006	0,142	0,106	0,101	0,082	0,068	0,082 ± 0,068
S14	0,104	0,105	0,076	0,19	0,14	0,123	0,057	0,123 ± 0,057
S15	0,156	0,207	0,145	0,118	0,072	0,1396	0,067	0,1396 ± 0,0675
S16	0,104	0,083	0,069	0,179	0,224	0,1318	0,077	0,1318 ± 0,0775
S17	0,162	0,173	0,16	0,139	0,104	0,1476	0,034	0,1476 ± 0,0345
S18	0,105	0,121	0,077	0,138	0,113	0,1108	0,03	0,1108 ± 0,0305
S19	0,053	0,107	0	0,159	0,096	0,083	0,079	0,083 ± 0,0795
S20	0,123	0,085	0,056	0,201	0,225	0,138	0,084	0,138 ± 0,0845
S21	0,145	0,121	0,177	0,111	0,101	0,131	0,038	0,131 ± 0,038
S22	0,115	0,118	0,134	0,127	0,068	0,1124	0,033	0,1124 ± 0,033
S23	0,253	0,114	0,139	0,044	0,076	0,1252	0,104	0,1252 ± 0,1045
S24	0,073	0,091	0,059	0,189	0,246	0,1316	0,093	0,1316 ± 0,0935
S25	0,026	0,101	0,019	0,221	0,169	0,1072	0,101	0,1072 ± 0,101
Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0

Résumé

Dans le milieu hospitalier, le personnel soignant pourraient véhiculer des germes pathogènes suite à l'utilisation du matériel non médical tels que les téléphones portables personnels. Cette étude concerne 25 souches qui ont été prélevées et isolées à partir de ce type de matériel dans l'EPH Naâma. L'identification des souches est réalisée par les galeries API 20 E. Pour l'évaluation de la formation des biofilms, la méthode d'OTOole, qui repose sur la coloration des biofilms par le cristal violet, est utilisée. L'hydrophobicité des surfaces des souches est évaluée selon la technique MATS. Le genre *Pseudomonas* est le plus identifié par les souches isolées (48%), il est suivi par *Enterobacter cloacae* avec un taux de 20 %. Concernant la formation du biofilms, les résultats obtenus sont marqués par la présence d'un cluster de trois groupes de bactéries. Le premier est celui des bactéries qui forment fortement les biofilms, un autre groupe de celles qui les forment modérément et celui de celles qui n'en forment pas. Quant à l'hydrophobicité des souches bactériennes, 40% se sont présentées relativement hydrophobes.

Mots clés : Téléphones portables, EPH Naâma, Biofilm, Hydrophobicité.

ملخص

في المحيط الاستشفائي، يمكن أن يحمل العاملون في الرعاية الصحية الجراثيم المسببة للأمراض من خلال استخدام المعدات غير الطبية مثل الهواتف المحمولة الشخصية. تضمنت هذه الدراسة 25 عينة تم جمعها وعزلها من هذا النوع من المعدات بالمؤسسة العمومية الاستشفائية بالنعامة. تم التعرف على العينات بواسطة API 20 E. لأجل تقييم تشكل الاشرطة الحيوية. تم استخدام طريقة O'Toole التي تعتمد على تلوين الاشرطة الحيوية باللون البنفسجي البلوري. تم تقييم كره الماء لأسطح العينات وفق تقنية MATS. النوع *Pseudomonas* الاكثر تواجدا في العينات بنسبة (48%)، يتبعه *Enterobacter cloacae* بنسبة 20%. بالنسبة لتشكل الاشرطة الحيوية، النتائج المتحصل عليها تتميز بوجود تجمع لثلاث مجموعات من البكتيريا. تلك التي تشكل الاشرطة الحيوية بقوة، مجموعة أخرى تشكل اشرطة حيوية بشكل معتدل ومجموعة أخرى لا تشكلها. أما بالنسبة للكرهية المائية للعينات البكتيرية، فقد تبين أن 40% كارهة للماء نسبياً.

الكلمات المفتاحية: الهواتف المحمولة، المؤسسة العمومية الاستشفائية النعامة، شريط حيوي، كره الماء.

Abstract

In the hospital environment, healthcare workers could carry pathogenic germs following the use of non-medical equipment such as personal mobile phones. This study involves 25 strains that were collected and isolated from this type of material in the hospital of Naama. The identification of strains was carried out using API 20 E galleries. For the evaluation of biofilm formation, the OToole method was used. It's based on the staining of biofilms with crystal violet. The hydrophobicity of the surfaces of the strains is evaluated according to the MATS technique. *Pseudomonas* spp. was the most identified (48%); *Enterobacter cloacae* with a rate of 20% followed it. Regarding the formation of biofilms, the results obtained were marked by the presence of a cluster of three groups of bacteria. Those that strongly form biofilms, another group moderately forms biofilms and one that does not. As for the hydrophobicity of bacterial strains, 40% were shown to be relatively hydrophobic.

Keywords: Mobile phones, the hospital of Naama, Biofilm, Hydrophobicity.

Préparé par : DJELLOULI Asma LAIREDJ Rahima	Année universitaire 2020 / 2021
--	--

Thème : Contribution à l'étude des biofilms des bactéries cliniques isolées du matériel non médical dans l'EPH de Naâma.

Résumé :

Dans le milieu hospitalier, le personnel soignant pourraient véhiculer des germes pathogènes suite à l'utilisation du matériel non médical tels que les téléphones portables personnels. Cette étude concerne 25 souches qui ont été prélevées et isolées à partir de ce type de matériel dans l'EPH Naâma. L'identification des souches est réalisée par les galeries API 20 E. Pour l'évaluation de la formation des biofilms, la méthode d'OTOole, qui repose sur la coloration des biofilms par le cristal violet, est utilisée. L'hydrophobicité des surfaces des souches est évaluée selon la technique MATS. Le genre *Pseudomonas* est le plus identifié par les souches isolées (48%), il est suivi par *Enterobacter cloacae* avec un taux de 20 %. Concernant la formation du biofilms, les résultats obtenus sont marqués par la présence d'un cluster de trois groupes de bactéries. Le premier est celui des bactéries qui forment fortement les biofilms, un autre groupe de celles qui les forment modérément et celui de celles qui n'en forment pas. Quant à l'hydrophobicité des souches bactériennes, 40% se sont présentées relativement hydrophobes.

Mots clés : Téléphones portables, EPH Naâma, Biofilm, Hydrophobicité.

Membre de jury :

Président	M^r. MAHDAD Yassine Moustafa	M.C.A	CU- Naâma
Encadreur	M^r. SEDDIKI Sidi Mohammed Lahbib	M.C.A	CU- Naâma
Examineur	M^r. GHERIB Mohammed	M.C.A	CU- Naâma