



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



Université Abbès LAGHROUR-Khenchela
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

MÉMOIRE

Présenté en vue de l'obtention d'un diplôme de

MASTER ACADEMIQUE

Filière : Sciences Biologiques

Option: Microbiologie appliquée

Thème

Évaluation du pouvoir adhésif d'une collection de bacilles à Gram négatif d'origine clinique

Présenté par :

Amani AFOUFOU, Rabab AISSAOUI

Soutenu le 19/ 06 / 2024

Devant le jury composé de :

Présidente :	Dr. Nassima LEULMI (MCB)	Univ. Abbès Laghrour – Khenchela
Examinatrice :	Dr. Ryma MERABTI (MCB)	Univ. Abbès Laghrour – Khenchela
Encadrant :	Dr. Zakaria BOUTARFI (MCA)	Univ. Abbès Laghrour – Khenchela

Année universitaire 2023/ 2024

Remerciements

Louage à dieu tout puissant pour ses innombrables dons, ALLAH qui nous donné, la Force, la volonté et le moral pour accomplir nos études.

Nous remercions du fond du cœur Dr Zakaria BOUTARFI pour nous avoir proposé le thème de ce mémoire et nous avoir dirigés tout le long de notre travail, pour ses critiques, ses encouragements et ses conseils qui nous ont été précieux.

Nous adressons nos sincères remerciements au Dr Nassima LEULMI pour l'honneur qu'elle nous à fait en acceptant de présider ce travail.

Nous tenons à remercier vivement le Dr Ryma MERABTI, pour avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous tenons également à remercier l'ensemble du personnel des laboratoires pédagogiques pour leur aide dans la réalisation de la partie pratique de notre étude.

Il est important pour nous de remercier notre famille : nos parents, nos sœurs, nos frères qui ont toujours été une source inépuisable d'encouragements.

Egalement, nous remercions tous nos collègues de la promotion 2024 pour les bons moments que nous avons passé ensemble.

MERCI

Dédicace

Tout d'abord, je tiens à remercier DIEU de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je tiens à dédier cet humble travail :

A ma tendre mère et mon très cher père pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.

A ma chère sœur Ikhlasse

A mes chers frères Moussaab, Elouardi et Habib, pour leur appui et leurs encouragements

A mon fiancé Aymen

A mes meilleures amies, spécialement Widad et Khaoula

A Tous ceux qui m'aiment et que j'aime

Merci d'être toujours là pour moi

Amani Afoufou

Dédicaces

Avec la grâce de Dieu, j'ai réussi à achever cet humble travail de fin d'études, et j'aimerais le dédier avec gratitude aux personnes suivantes :

A ma chère mère et mon cher père, merci d'être la lumière de mon chemin à chaque instant, pour vos sacrifices et votre soutien tout au long de mes études.

*A mes chères sœurs **Roufaïda** et **Lina***

*A mes chers frères **Nour**, **Taha**, **Zeyad**, **Yahya**, **Ismail**. Pour leurs encouragements et leur soutien pour moi.*

A mon cher oncle et ma chère tante

*A mon cher mari **Fouad** pour ses conseils et sa motivation*

*A mes cousins **Abir**, **Ikram***

*A mon cher binôme **Amani***

*A mes meilleures amies **Achouak**, **Sabiha**, **Khawla**, **Hiba***

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire. Je vous dis merci.

Rabab Aïssaoui

Résumé

Les bactéries sont capables d'adopter deux modes de vie distincts. Elles peuvent être libres, flottantes en suspension ou attachées à différents types de surfaces biotiques ou abiotiques, comme les tissus vivants ou les dispositifs médicaux. Ce dernier est appelé biofilm qui est organisé en une communauté structurée et incrusté dans une matrice d'exopolymères. Il participe à la propagation des bactéries dans différents environnements et dans des conditions défavorables, les biofilms ont un impact significatif dans divers domaines de la vie quotidienne, y compris l'agroalimentaire en raison de problèmes de contamination alimentaire, l'industrie à cause de leur capacité à couvrir les matériaux, ainsi que dans le domaine médical où la majorité des infections bactériennes chez l'homme sont liées à cette forme particulière de vie microbienne.

L'objectif de la présente étude est d'évaluer le pouvoir adhésif des bacilles à Gram négatif d'origine clinique ainsi que leurs profils de résistance aux antibiotiques.

Les souches ont été isolées à partir de différents prélèvements cliniques et identifiées par des techniques conventionnelles.

Aux cours de la présente étude, une microflore importante et diversifiée de bacilles à Gram négatif a été identifiée dont *E. coli* était l'espèce la plus prédominante suivie de *K. pneumoniae*. Ces isolats ont montré un intéressant pouvoir de formation de biofilm accompagné de profils de résistance touchant principalement les bêta-lactamines.

Ces résultats nous incitent à la bonne pratique des mesures d'hygiène et au bon usage des antibiotiques afin de préserver les différentes molécules encore efficaces.

Mots clés : Bacilles à Gram négatif, Résistance aux antibiotiques, Biofilm.

Abstract

Bacteria are able to adopt two distinct lifestyles. They can be free, floating in suspension or attached to different types of biotic or abiotic surfaces, such as living tissues or medical devices. The latter is called biofilm, which is organized into a structured community and embedded, in a matrix of exopolymers. It participates in the spread of bacteria in different environments and under adverse conditions, biofilms have a significant impact in various areas of daily life, including the food industry due to food contamination problems, industry because of their ability to cover materials, as well as in the medical field where the majority of bacterial infections in humans are linked to this particular form of microbial life.

The objective of the present study is to evaluate the adhesive power of Gram-negative bacilli of clinical origin as well as their antibiotic resistance profiles.

The strains were isolated from different clinical samples and identified by conventional techniques.

During the present study, an important and diversified microflora of Gram-negative a bacillus was identified of which E.coli the predominant species was followed by K. pneumoniae. These isolates showed an interesting power of formation of biofilm accompanied by resistance profiles mainly affecting betalactamines.

These results encourage us to practice good hygiene measures and the proper use of antibiotics in order to preserve the various molecules that are still effective.

Key words: Gram-negative bacilli, Antibiotic resistance, Biofilm.

ملخص

البكتيريا قادرة على تبني أسلوب حياة متميز حيث يمكن أن تكون حرة أو عائمة في التعليق أو متصلة بأنواع مختلفة من الأسطح الحيوية أو اللاحيوية ، مثل الأنسجة الحية أو الأجهزة الطبية. ويسمى هذا الأخير بيوفيلم التي يتم تنظيمها في مجتمع منظم وجزء لا يتجزأ من مصفوفة من البوليمرات الخارجية. وتشارك في انتشار البكتيريا في بيئات مختلفة وتحت ظروف معاكسة ، وللأغشية الحيوية تأثير كبير في مختلف مجالات الحياة اليومية ، بما في ذلك صناعة الأغذية بسبب مشاكل تلوث الأغذية ، والصناعة بسبب قدرتها على تغطية المواد ، وكذلك في المجال الطبي حيث ترتبط غالبية الالتهابات البكتيرية في البشر بهذا الشكل الخاص من الحياة الميكروبية.

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم القوة اللاصقة للعصيات سالبة الجرام ذات الأصل السريري وكذلك ملامح مقاومة المضادات الحيوية.

تم عزل السلالات من عينات سريرية مختلفة وتحديدتها من خلال التقنيات التقليدية.

خلال هذه الدراسة ، تم تحديد البكتيريا الهامة والمتنوعة من عصيات سالبة الجرام والتي كانت *E. coli* هي الأنواع السائدة تليها *K. Pneumoniae*. وأظهرت هذه العزلات قوة مثيرة للاهتمام من تشكيل بيوفيلم يرافقه ملامح المقاومة التي تؤثر بشكل رئيسي بيتالاكتامينات.

تشجعنا هذه النتائج على ممارسة تدابير النظافة الجيدة والاستخدام السليم للمضادات الحيوية من أجل الحفاظ على الجزيئات المختلفة التي لا تزال فعالة.

الكلمات المفتاحية: عصيات سالبة الجرام ، مقاومة للمضادات الحيوية ، بيوفيلم.

Liste des abréviations

%: Pourcent.

Ac: Acide.

ADN: Acide Désoxyribo Nucléique.

AHL: Acyl Homosérine Lactone.

AMC: Amoxicilline + Acide clavulanique.

AMX: Amoxicilline.

BGN: Bacilles Gram Négatif.

BHIA: Brain Heart Infusion Agar.

BHIB: Brain Heart Infusion Bouillon.

BNF: Bactéries Non Fermentaires.

°C: Degré Celsius.

C: Chloramphénicol.

CAZ: Céfazoline.

CIP: Ciprofloxacine.

CLSI: Clinical Laboratory Standard Institute.

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.

CT: Colistine.

CTX: Céfotaxime.

DO: Densité Optique.

EPS: Exopolysaccharides.

F: Furanes.

FOS: Fosfomycine.

FOX: Céfoxitine.

g: gramme.

GN: Gentamycine.

I: Intermédiaire.

LPS: Lipopolysacharides.

ME: Membrane Externe.

MI: Membrane Interne.

min: Minute.

NA: Acide nalidixique.

nm: Nanomètre.

PRL: Piperacilline.

QS: Quorum sensing.

R: Résistant.

RCA: Rouge Congo Agar.

S: Sensible.

spp: Espèce.

SXT: Sulfaméthoxazole + triméthoprim.

TIC: Ticarcilline.

TM: Méthode de Tube.

μL: Microlitre.

Liste des figures

Figure 01. Structure de la paroi cellulaire des bactéries à Gram négatif.....	4
Figure 02. Etapes de formation d'un biofilm.....	6
Figure 03. Schéma de détection du quorum sensing	7
Figure 04. Modes d'action des antibiotiques.....	10
Figure 05. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	12
Figure 06. Mécanismes moléculaire de l'acquisition de la résistance aux antibiotiques	13
Figure 07. Représentation schématique du protocole de la conservation à -80 °C	15
Figure 08. Répartition des isolats en fonction de l'espèce	19
Figure 09. Répartition des isolats en fonction de la nature des prélèvements	20
Figure 10. Répartition des isolats en fonction de l'âge	22
Figure 11. Prévalence de la résistance aux antibiotiques	24
Figure 12. Evaluation de la formation de biofilm par Rouge Congo Agar	25
Figure 13. Evaluation de la formation de biofilm par TM	27
Figure 14. Evaluation de la formation de biofilm par la méthode de microplaque.....	28

Liste des tableaux

Tableau 01. Classification des antibiotiques et leur mode d'action	11
Tableau 02. Répartition des isolats selon le sexe	21
Tableau 03. Répartition des isolats en fonction de l'âge.....	21
Tableau 04. Prévalence de la résistance aux antibiotiques.....	23
Tableau 05. Evaluation de la formation de biofilm par Rouge Congo Agar.....	25
Tableau 06. Matrice de corrélations statistiques	30

Liste des Photos

Photo 01. Lecteur de microplaque	18
Photo 02. Résultats de la formation de biofilm par RCA.	26
Photo 03. Technique de formation de biofilm sur TM.	27
Photo 04. Technique de microplaque.....	29

Sommaire

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des photos

Introduction

Introduction..... 1

Synthèse bibliographique

I. Bacilles à Gram négatif	3
1. Structure des bacilles à Gram négatif.....	3
2. Les entérobactéries	3
3. Les bactéries Gram négatif non fermentaires.....	4
II. Bacilles à Gram négatif et formation de biofilm	5
1. Définition d'un biofilm.....	5
2. Les étapes pour formation un biofilm.....	5
2.1. Adhérence.....	5
2.1.1 Réversible	5
2.1.2. Irréversible.....	9
2.2. Croissance.....	9
2.3. Maturation.....	6
2.4. Dispersion.....	6
3. Quorum sensing et communication cellulaire.....	6
4. Facteur favorisant la formation d'un biofilm.....	7
4.1. Facteur liée à la surface.....	7
4.1.1. La rugosité.....	8
4.1.2. Les propriétés chimiques d'une surface.....	8
4.1.3. La présence préalable de film organique.....	8
4.2. Factures liée aux microorganismes	8
4.3. Autres facteurs.....	8

5. Résistance des biofilms à divers agents antimicrobiens	8
6. Biofilm comme facteur de virulence.....	9
III. Les antibiotiques.....	9
1. Définition.....	9
2. Mécanisme d'action des antibiotiques.....	9
3. Classification des antibiotiques	10
3.1. Selon l'origine.....	10
3.2. Selon le mode d'action.....	10
4. Mécanismes de résistances aux antibiotiques.....	12

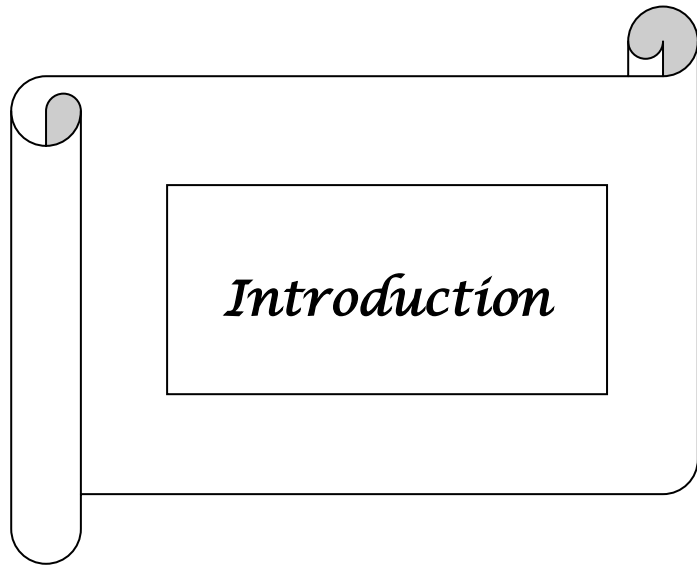
Matériel et Méthodes

1. Cadre d'étude.....	14
2. Echantillonnage.....	14
3. Isolement et identification.....	14
3.1. Coloration de Gram.....	14
3.2. Test d'oxydase.....	14
3.3. Identification par la galerie API 20 ^E	15
4. Conservation des souches.....	15
5. L'antibiogramme.....	15
6.Évaluation de l'aptitude de formation de biofilm.....	16
6.1. Méthode de Rouge Congo Agar.....	16
6.2. Méthode de tube (TM)(Modifier).....	17
6.3. Technique de microplaque.....	17
7. Étude statistique.....	18

Résultats et Discussion

1. Répartition des isolats en fonction de l'espèce.....	19
2. Répartition des isolats en fonction de la nature des prélèvements.....	19
3. Répartition des isolats selon le sexe.....	20
4. Répartition des isolats selon l'âge.....	21
5. Prévalences de la résistance aux antibiotiques.....	22
6. Evaluation de la formation de biofilm.....	24
6.1. Technique de Rouge Congo Agar.....	24
6.2. Technique des tubes.....	26

6.3. Technique de microplaque.....	28
7. Corrélation entre la résistance aux antibiotiques et la formation de biofilm.....	29
Conclusion.....	31
Références bibliographiques.....	32
Annexes	



Introduction

Naturellement, les bactéries sont capables d'adopter, exclusivement et en fonction des conditions environnementales, deux modes de vie distingués. Elles peuvent soit être libres, flottantes en suspension (forme planctonique) (Mahamat et al., 2013), soit attachées à différents types de surfaces biotiques ou abiotiques (forme sessile), telles que les tissus vivants ou les dispositifs médicaux (Tremblay et al., 2014). Cette dernière est organisée en communautés structurées et englobées dans une matrice d'exopolymères formant ainsi un biofilm (Khalilzadeh, 2009).

En participant à la dissémination des bactéries dans les différents milieux et sous des conditions déverses, les biofilms ont un impact significatif dans divers domaines de la vie quotidienne, notamment l'agroalimentaire en raison des problèmes de contamination des aliments, l'industrie en raison de leur capacité à recouvrir les matériaux, ainsi que dans le domaine médical où la majorité des infections d'origine bactérienne chez l'homme sont liées à cette forme particulière de vie microbienne (Lebeaux & Ghigo, 2012).

La lutte contre les biofilms et le contrôle de leur participation à la propagation des pathogènes dans le domaine clinique commence par la compréhension de leur physiologie ainsi que de la capacité des souches, d'origine clinique, d'installer ce mode de vie. Bien que le phénomène de la formation de biofilm soit une évidence et que le pouvoir de sa formation par les souches hospitalières a été bien démontré par plusieurs études, un débat est engagé aujourd'hui à l'échelle mondiale sur l'effet des propriétés de différents types de support sur la capacité d'adhésion des bactéries et que cette adhésion pourrait être accompagnée ou non d'une insensibilité aux antibiotiques, en plus du manque de données sur la capacité des souches d'origine clinique de la région de Khenchela à la formation des biofilms.

Pour réaliser cette étude, on a opté pour une démarche méthodologique composée de deux niveaux d'analyse, une recherche bibliographique dont l'objectif était de décrire tous les aspects théoriques de notre thème d'étude, en complément et dans le souci de compléter les aspects théoriques et de les étayer d'avantage, on a jugé utile de présenter une partie pratique axée sur :

- ✓ Étude de la distribution des bacilles à Gram négatif dans les différentes infections communautaires.
- ✓ La détermination de la capacité des souches isolées à adhérer à différents types de support.
- ✓ L'exploration d'une possible corrélation entre la formation de biofilm et la résistance aux antibiotiques.



Synthèse bibliographique

I. Bacilles à Gram négatif

Les bacilles à Gram négatif (BGN) sont des microorganismes ubiquitaires, certains d'entre eux sont commensaux et sont présents dans la flore intestinale normale de l'homme et des animaux. Cependant, ils peuvent dans de nombreux cas être responsables de pathologies infectieuses graves (**Larry, 2022**). Généralement, deux grands groupes sont isolés en pratique clinique, à savoir les entérobactéries et les bacilles à Gram négatif non fermentaires (**Liassine, 2000**).

Les infections causées par les BGN présentent des caractéristiques particulièrement préoccupantes, où elles présentent un risque majeur pour la santé publique dans le monde entier en raison de leur résistance élevée aux antibiotiques. Ces microorganismes ont une importance clinique significative et entraînent une morbidité et une mortalité significativement élevées (**Oliveira & Reygaert, 2023**).

1. Structure des bacilles à Gram négatif

Les bactéries à Gram négatif ont une enveloppe composée de trois couches (**Figure 01**). La première couche est la membrane externe (ME), une caractéristique protectrice et unique qui différencie les bacilles à Gram négatif des bactéries à Gram positif. La membrane externe a des phospholipides qui sont liés à la foliole interne de la membrane, et des lipopolysaccharides (LPS) liés à la foliole externe. De plus, la ME contient des protéines membranaires externes telles que les porines et autres, qui permettent le passage de petites molécules comme les acides aminés et les petits saccharides. La deuxième couche est la paroi cellulaire composée de peptidoglycane, qui est un exosquelette rigide déterminant de forme cellulaire et constitue, d'une unité répétée de disaccharide N-acétyl glucosamine-acide N-acétylmuramique. La troisième couche est la membrane interne (MI) qui est une bicouche phospholipidique responsable de processus multifonctionnels tels que la structure, le transport et les fonctions de biosynthèse et la respiration. (**Breijyeh et al., 2020**).

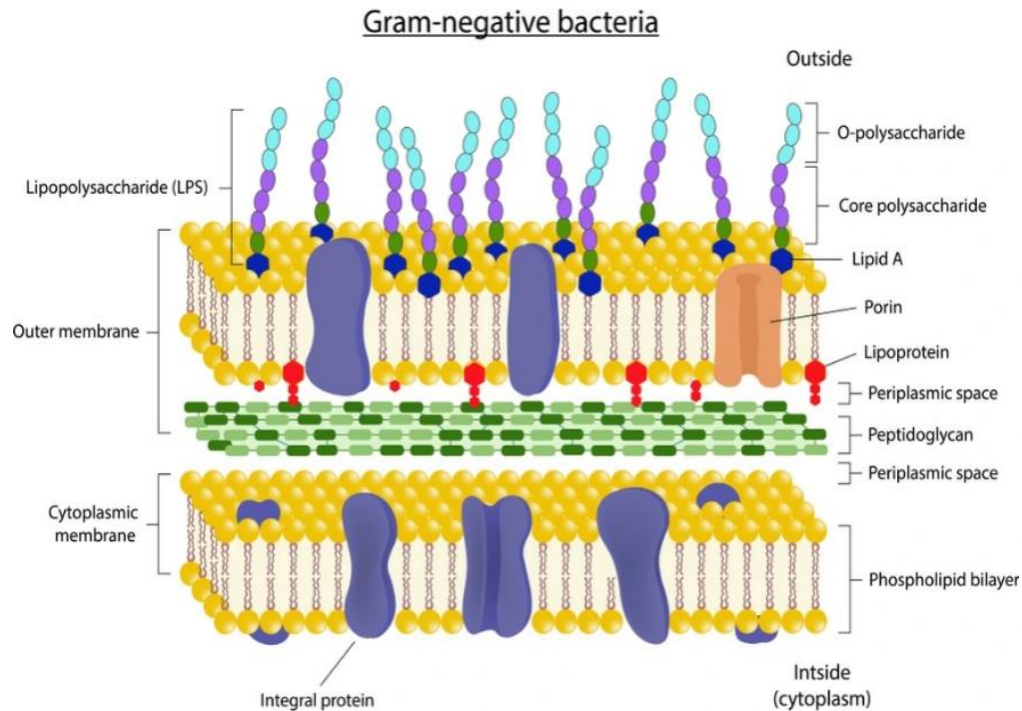


Figure 01. Structure de la paroi cellulaire des bactéries à Gram négatif (Kallayane, 2018).

2. Les entérobactéries

Les entérobactéries appartiennent à une grande famille qui regroupe des bacilles à Gram négatif (BGN). Cette famille comporte plusieurs genres, espèces et sérotypes. La classification récente (hybridation ADN-ADN) recense 31 genres et plus de 140 espèces. Parmi tous les genres et espèces décrits, une vingtaine est impliquée en pathologie humaine : *Escherichia coli*, *Shigella* spp, *Salmonella* spp, *Citrobacter* spp, *Klebsiella* spp, *Entérobacter* spp, *Proteus* spp... (Bouskraoui, 2017).

3. Les bactéries Gram négatif non fermentaires

Les bacilles à Gram négatif non fermentaires (incapables de fermenter le glucose) occupent une place importante parmi les acteurs majeurs des infections nosocomiales. Les bactéries Gram négatif non fermentaires (BNF) ont une incidence inférieure à celle des *Enterobacteriaceae* spp ; cependant, ces bactéries suscitent des inquiétudes en raison de leurs taux élevé de morbidité et de mortalité (Ozenen et al., 2021). *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et *Stenotrophomonas maltophilia* sont les BNF les plus fréquemment isolées en pratique clinique (Ozenen et al., 2021).

II. Bacilles à Gram négatif et formation de biofilm

1. Définition d'un biofilm

Un biofilm est une association entre différents types de cellules bactériens et une matrice extracellulaire majoritairement secréter par les bactéries elles-mêmes, cette matrice est composée de polysaccharides, de protéines, d'enzyme et d'acides nucléique; permettant ainsi leurs ancrages sur toutes types de surfaces de manière irréversible (Dumaru *et al.*, 2019).

Au sein d'un biofilm, la matrice constitue un milieu homéostatique, avec un accès important aux éléments nécessaires à la survie de la bactérie, favorisé par un système de circulation grâce à la présence de canaux élémentaires dans le biofilm. Ce mode de vie est donc une réponse adaptative des microorganismes favorisant leur persistance dans l'environnement (El Khoury, 2021).

2. Les étapes pour formation un biofilm

2.1. Adhérence

Durant cette première étape, les bactéries doivent tout d'abord adhérer à une surface qui peut être biotique ou abiotique (Figure 02), grâce à l'intervention de molécules ou de structures particulières présentes à la surface de la cellule bactérienne telles que les flagelle et les fimbriae (Tremblay *et al.*, 2014). Cette étape comporte deux phases :

2.1.1. Réversible

Les bactéries en suspension gagnent d'une surface et forment des liaisons réversibles avec cette dernière grâce à l'intervention des forces d'interaction non spécifique (Høiby *et al.* 2011).

2.1.2. Irréversible

La fixation à la surface solide devient permanente en raison de la production des exopolysaccharides par les bactéries (Høiby *et al.*, 2011). Ainsi que grâce à diverses structures d'adhérence propres à chaque espèce bactérienne, telles que les fimbriae chez *E. coli* (Beloin *et al.*, 2008).

2.2. Croissance

À la fin de l'étape d'adhérence, les cellules bactériennes commencent à se multiplier, conduisant à la formation de colonies qui vont conquérir une partie de la totalité de la surface d'adhésion, conduisant à une augmentation importante de l'épaisseur jusqu'à la formation d'un film hétérogène tridimensionnel. Finalement, l'épaisseur du biofilm se

Stabilise lorsque les phénomènes détachements du biofilm compensent sa croissance (Développer plus loin) (Bellifa, 2014).

2.3. Maturation

Le développement et la maturation du biofilm impliquent une communication entre ces cellules par la détection de molécules signal produites par les microorganismes eux-mêmes et transportées par les micro-canaux présents dans la matrice. Ces molécules donnent une indication sur la densité des cellules présentes dans le milieu (Développer plus loin) (Baudin, 2017).

2.4. Dispersion

Les cellules planctoniques se détachent de la matrice du biofilm et démarrent un nouveau processus de colonisation de surfaces. (Liaqat et al., 2019) (Figure 02).

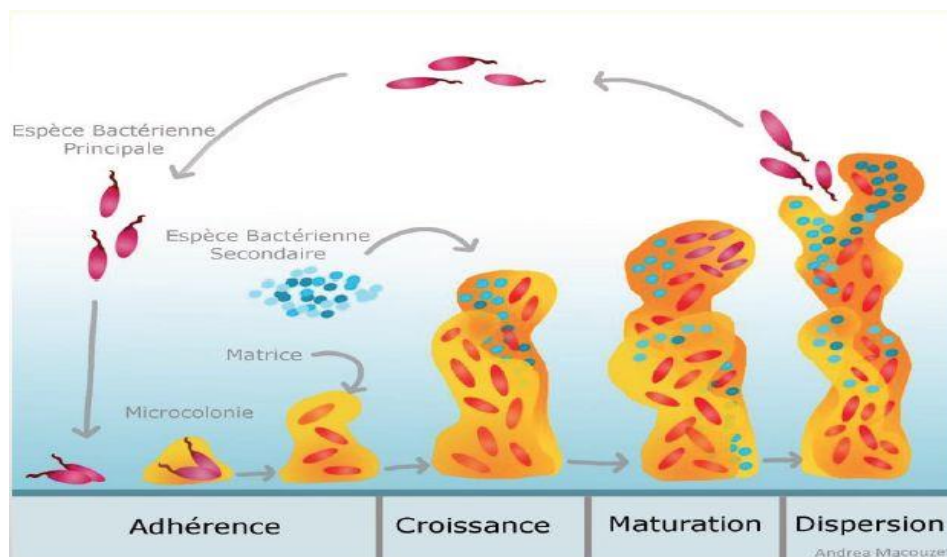


Figure 02. Etapes de formation d'un biofilm (Tremblay et al., 2014).

3. Quorum sensing et communication cellulaire

Les cellules au sein d'un biofilm communiquent entre elles via un mécanisme de régulation appelé Quorum sensing (QS) impliquant l'intervention des molécules de signalisation transportées par les micro-canaux de la matrice extracellulaire, cette communication va permettre l'échanger d'informations entre les bactéries au sein d'une dynamique collective de la population du biofilm ainsi que, d'évaluer la densité cellulaire locale (Gad, 2018), le QS déclenche le phénomène de dispersion des bactéries planctoniques à partir du biofilm ce qui permet de moduler la taille de la population (Irie & Parsek, 2008). Les acyl homosérines lactones (AHL) sont la plus grande classe des

molécules de signal autoinducteur utilisées par les bactéries à Gram négatif (**Figure 03**) (**Wai-Leung & Bassler, 2009**), dont leur synthèse dépend du couple de molécules de nature protéique Lxul/LuxR (**Yung-Hua & Xiaolin, 2012**).

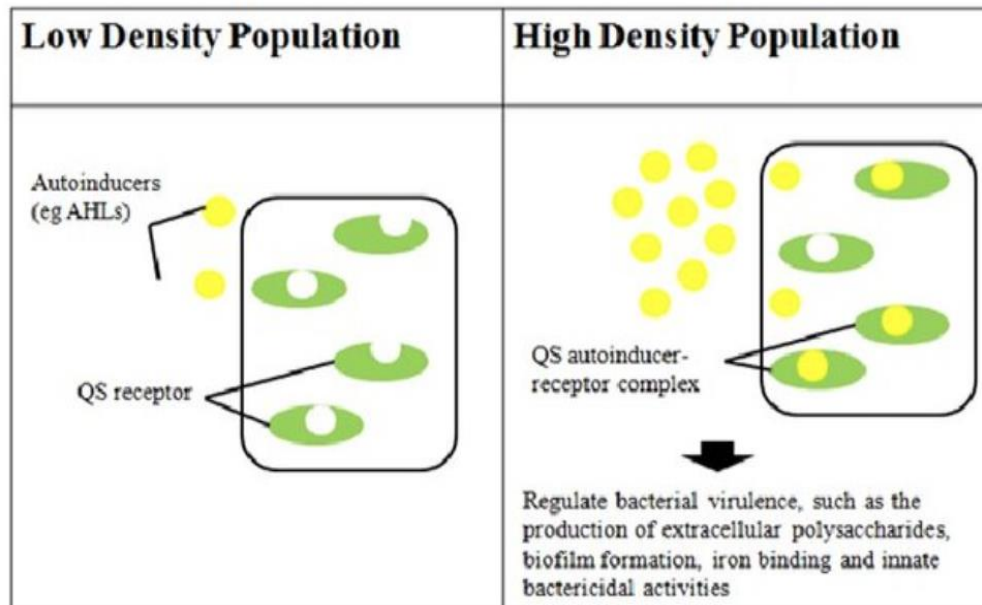


Figure 03. Schéma de détection du quorum sensing (**Ngeow et al, 2013**).

L'implication du QS dans le processus de formation de biofilm a été décrite pour la première fois en 1988 (**Davies et al., 1998**) ; ce processus est très complexe chez *P. aeruginosa* et nécessite deux circuits de régulation liés entre eux et qui dépendent de la N-acyl homosérine lactone modulée par de nombreux régulateurs agissant à la fois au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel (**Yung-Hua & Xiaolin, 2012**). Ainsi, les mutants dont la production de l'autoinducteur 3-oxo-C12-HSL est défectueuse ont tendance à former des biofilms plus modérés que ceux des souches sauvages (**Yung -Hua & Xiaolin, 2012 ; Davies et al., 1998**).

4. Facteurs favorisant la formation d'un biofilm

Dans l'environnement, les bactéries existent principalement sous forme sessile, influencées par de nombreux facteurs (**Simoes et al., 2020**) :

4. 1. Facteur lié à la surface

Divers facteurs liés aux propriétés de la surface peuvent influencer l'adhésion bactérienne (**Alotaibi & Bukhari, 2021 ; Ansari et al., 2017**).

4.1.1. La rugosité

La rugosité d'une surface permet une meilleure adhésion aux bactéries qui vont coloniser (Song *et al.*, 2015).

4.1.2. Les propriétés chimiques d'une surface

Le taux d'attachement des cellules bactériennes ainsi que son ampleur sont étroitement liés aux propriétés physico-chimiques de la surface. De ce fait, les micro-organismes se fixent plus facilement sur des surfaces hydrophobes et non polarisées comme le téflon ou d'autres matières plastiques, que sur des matériaux hydrophiles comme le verre ou les métaux (Donlan, 2002).

4.1.3. La présence préalable de films organiques

La présence de protéines, de lipides ou de polysaccharides influence positivement l'attachement des bactéries à cette surface et favorise ainsi la formation de biofilm (Bellifa, 2014).

4.2. Facteur lié aux microorganismes

La densité de l'inoculum a une relation proportionnelle avec le nombre de cellules adhérentes. De plus, la composition de la surface microbienne contribue à l'adhésion des microorganismes aux supports à travers la présence de protéines, de fimbriae et de lipopolysaccharides. (Simoes *et al.*, 2020 ; Saulou-Berion, 2009).

4.3. Autres facteurs

Plusieurs autres facteurs environnementaux ont un impact important, soit négatif ou positif, sur la formation de biofilms en activant les processus d'adhésion ou de dispersion (Donlan, 2002 ; Goller & Romeo, 2008), ces facteurs tels que la température, le pH et la présence de certains oligo-éléments dans le milieu affectent non seulement l'activité métabolique des bactéries, mais aussi les propriétés de la surface cellulaire et de la surface d'adhésion (Hamadi *et al.*, 2004 ; Goller & Romeo, 2008).

5. Résistance des biofilms à divers agents antimicrobiens

Il a été rapporté que la population bactérienne en forme sessile peut être 100 fois plus résistante à l'action de destruction par des agents antimicrobiens (Olson *et al.*, 2002), cette hyper-résistance est multifactorielle et est liée aux conditions de vie dans le biofilm (Roux et Ghigo, 2006) où la matrice polymérique intervient comme facteur clé en agissant comme barrière réduisant ou empêchant la diffusion des agents antimicrobiens (Tremblay *et al.*, 2014), l'hétérogénéité de la population bactérienne au sein du biofilm facilite le transfert horizontal de gènes de résistance, en plus de l'induction de certains de ces

mécanismes via des systèmes de signalisation tel que le QS (**Roux & Ghigo, 2006**). Autre, la présence de concentrations élevées d'enzymes hydrolysant les antibiotiques au sein d'un biofilm peut augmenter considérablement la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Tremblay et al., 2014**).

6. Biofilm comme facteur de virulence

Le biofilm peut être un mécanisme important pour la modulation immunitaire de l'hôte et il peut réguler négativement ces défenses (**Irie & Parsek, 2008**). Ainsi, **Roux & Ghigo (2006)** ont rapporté l'existence de corrélations positives entre la capacité d'une souche à former un biofilm et sa virulence, qui est souvent représentée par des mécanismes de régulation qui offrent aux bactéries une plus grande adaptabilité vis-à-vis des stress environnementaux.

Des auteurs ont rapporté que des analyses de puces à ADN ont révélé que la croissance dans un biofilm provoque des changements significatifs dans l'expression des gènes de *P. aeruginosa*. Parmi les gènes affectés, plusieurs sont impliqués dans la virulence, tels que les gènes contrôlant la production d'alginate et l'homéostasie du fer (**Antunes & Ferreira 2011**).

III. Les antibiotiques

1. Définition

Le terme antibiotique, issu du grec anti-biotikos qui signifie contre la vie, est utilisé pour la première fois en 1889, en référence à une substance synthétisée par un organisme pour détruire un autre (**Muylaert & Mainil, 2012**). Plus récemment, il a été défini comme étant une substance d'origine biologique ou de synthèse qui agit sur les bactéries. Cette molécule entre en interaction avec l'un de leurs processus cellulaires indispensables à la vie. Cette interaction peut conduire soit à la destruction de la cellule bactérienne (effet bactéricide) soit à l'inhibition de sa croissance (effet bactériostatique) (**Demay, 2023**).

2. Mécanisme d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent sur les bactéries en interférant avec différents niveaux du métabolisme cellulaire (**Figure 04**). Selon le type de molécules, on peut distinguer les antibiotiques qui inhibent la synthèse protéique, l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane, l'inhibition de la réplication de l'ADN... (**Bedrane et al., 2020**).

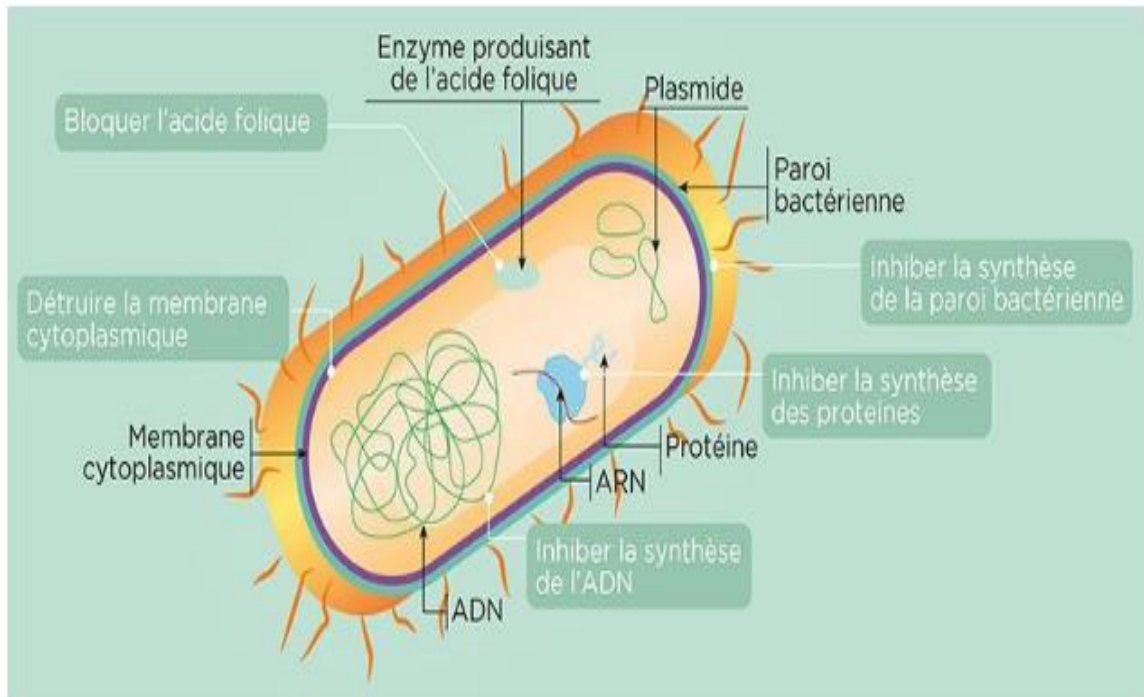


Figure 04. Modes d'action des antibiotiques (Koullikoff, 2017).

3. Classification des antibiotiques

Plusieurs modèles de classification des antibiotiques sont adoptés en se basant sur différents critères (L'origine, le mode d'action et la structure chimique) (Adzitey, 2015).

3.1. Selon l'origine

Les antibiotiques peuvent être classés selon leur origine en deux catégories.

- Les antibiotiques dits **naturels** : sont des molécules élaborées principalement par les microorganismes et qui n'ont subi aucune modification (Ex. Streptomycine) (Kichou et al., 2020).

- Les antibiotiques dits **synthétiques ou semi-synthétiques** : sont des molécules produites par synthèse chimique ou qui ont subi de modifications chimiques de leur structure moléculaire après leur sécrétion par les microorganismes (Ex. Ciprofloxacine) (Kichou et al., 2020).

3.2. Selon le mode d'action

La classification des antibiotiques selon le mode d'action est représentée dans le (tableau 01).

Tableau 01. Classification des antibiotiques et leur mode d'action (Domínguez & Meza-Rodríguez, 2019).

Classe d'antibiotique	Antibiotiques	Mode d'action
Bêtalactamines	Pénicilline Céphalosporines Carbapénèmes Monobactames	Inhibition de la synthèse de peptidoglycane
Aminoglycosides	Amikacine Gentamicine Kanamycine Streptomycine Tobramycine	Inhibition de la synthèse protéique
Fluoroquinolones	Ciprofloxacine Ofloxacine Levofloxacine Sparfloxacine	Inhibition de la réplication d'ADN
Glycopeptides	Vancomycine Teicoplanine	Inhibition de la synthèse de Peptidoglycane
Macrolides	Erythromycine Clarithromycine Azithromycine	Inhibition de la synthèse protéique
Tétracyclines	Tétracycline Doxycycline Minocycline Tigecycline	Inhibition de la synthèse protéique
Rifamycines	Rifampicine	Inhibition de la synthèse d'ARN
Inhibiteurs de Folate	Trimethoprim	Inhibition de la synthèse d'acide

4. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les bacilles à Gram négatif peuvent déclencher plusieurs mécanismes leur permettant de résister à l'action des antibiotiques (**Figure 05**) (**Koné, 2023**).

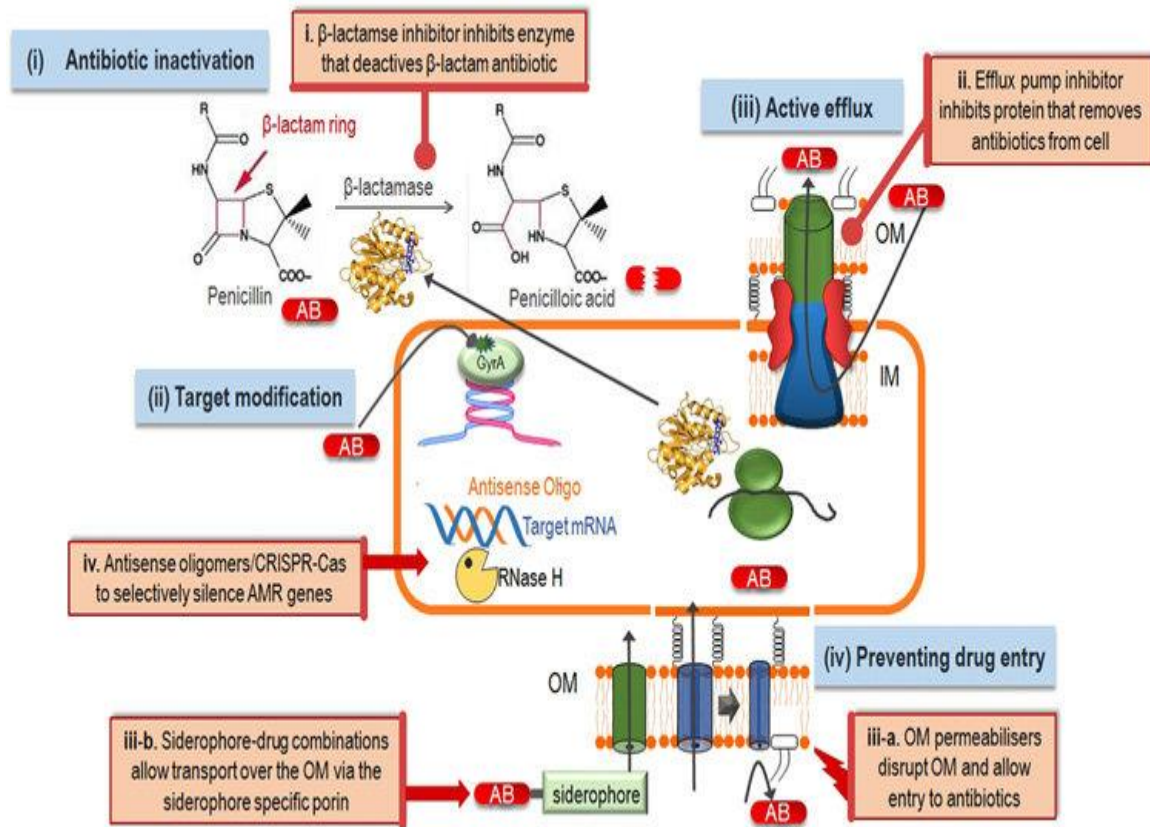


Figure 05. Mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Venter, 2019**).

Cette résistance peut être d'origine intrinsèque faisant partie du patrimoine génétique habituel de l'espèce ou acquise (**Figure 06**) soit par mutation soit par l'acquisition de gènes de résistance, symbole du pouvoir adaptatif des bactéries aux conditions de stress (**Mekadem et al., 2023**). Ces mécanismes sont codés par des gènes qui peuvent être portés sur différents types de supports génétiques, à savoir le chromosome bactérien ou les éléments transférables dont, les plasmides (**Coulibaly, 2022**), les intégrons (**Aiche, 2022**) et les transposons (**Zidouh & Arsalane, 2019**).

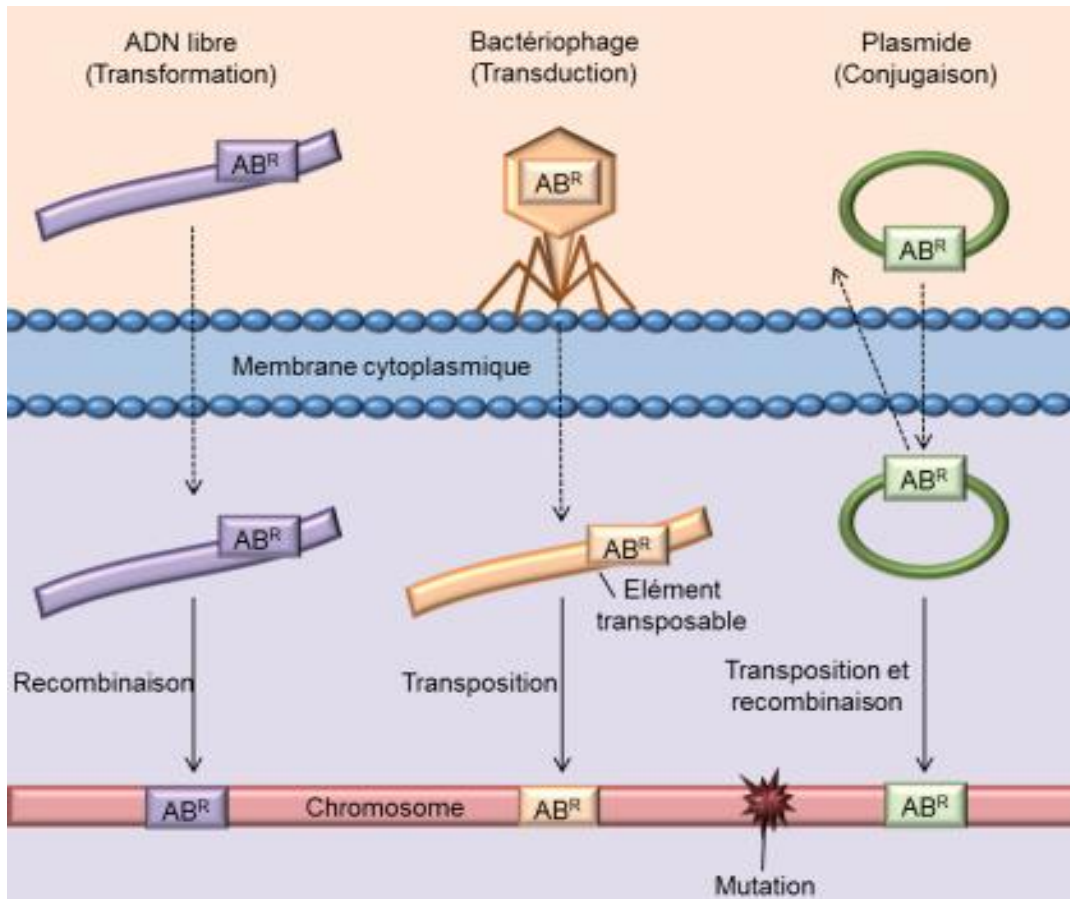
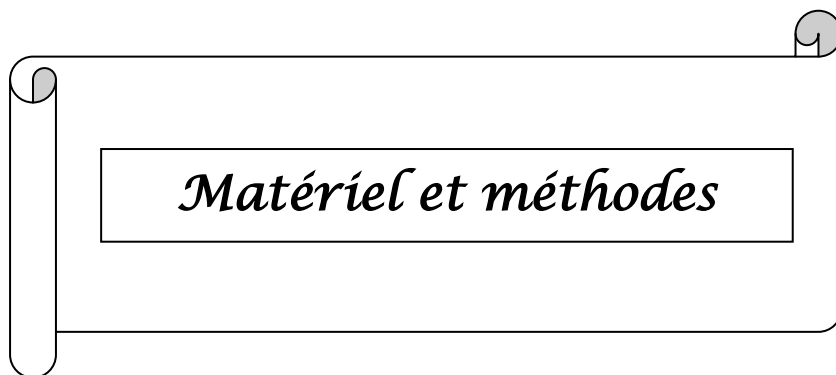


Figure 06. Mécanismes moléculaire de l'acquisition de la résistance aux antibiotiques (Muylaert & Mainil, 2012).



Matériel et méthodes

1. Cadre d'étude

Il s'agit d'une étude multicentrique réalisée durant la période allant du 29 Janvier jusqu'à 07 Mars 2024, visant les souches de BGN isolées au niveau de plusieurs laboratoires dans la région de Khenchela, les établissements concernés sont :

- Laboratoire Elhikma Khenchela.
- Laboratoire Eltafwik Khenchela.
- Laboratoire Ibn-Sina Khenchela.
- Laboratoire d'exploration biologique clinique Elwalid Kais.
- Laboratoire Chelia Kais.

2. Echantillonnage

Les souches ont été isolées à partir de prélèvements des différents produits pathologiques (Urines, pus, spermes et abcès hépatiques).

3. Isolement et identification

L'identification des isolats comporte une série d'étape, les souches isolées sur milieu Mac Conkey (**Annexes 01**) ont été identifiées par des techniques microbiologiques conventionnelles (Coloration de Gram, Test d'oxydase, Galerie classique et Galerie API 20^E).

3.1. Coloration de Gram

La coloration est réalisée en plusieurs étapes. La coloration primaire se fait par le violet de gentiane pendant 60 secondes. Cette étape est suivie par un mordantage à lugol pendant une minute, puis une décoloration à l'éthanol 70%, cette étape est suivie d'une deuxième coloration à la fuchsine pendant 60 secondes. Un rinçage à l'eau distillée a été effectuée après chacune des étapes citées.

L'observation microscopique se fait avec une goutte d'huile à immersion sous objectif x 100. Les bactéries à Gram négatif apparaissent colorées en rose.

3.2. Test d'oxydase

Ce test permet la mise en évidence d'une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries aérobies strictes, dans notre cas, ont à utilisé ce test pour faire un diagnostique différentiel d'un côté entre les entérobactéries (oxydase-) et *Pseudomonas* spp et *Acinetobacter* spp d'un autre côté (oxydase+). Ce test a été réalisé en ajoutant un disque d'oxydase à une suspension bactérienne. Le test positif se manifeste par l'apparition d'une couleur violette sur le disque utilisé.

3.3. Identification par la galerie API 20^E

Principe

API 20^E est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif, comprenant 20 tests biochimiques miniaturisés ainsi qu'une base de données.

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs.

Techniques

La galerie a été déposée aseptiquement dans une boîte d'incubation dont les alvéoles ont été préalablement inondés par de l'eau distillée stérile afin de créer une atmosphère humide, puis elle a été inoculée par une suspension bactérienne préparée dans de l'eau physiologique à partir d'une culture pure et jeune (18-24 h) conformément aux recommandations du producteur.

Lecture et interprétation

Après 18-24 h d'incubation dans une température de 37 °C, la lecture et l'interprétation a été effectuée via l'algorithme API Web BioMérieux®.

4. Conservation des souches

Après identification, les isolats ont été conservés à -80 °C dans du BHIB additionné de 30% de glycérol conformément à la norme NF EN 12353 comme présenté dans la (Figure 07) (Boutarfi, 2021).

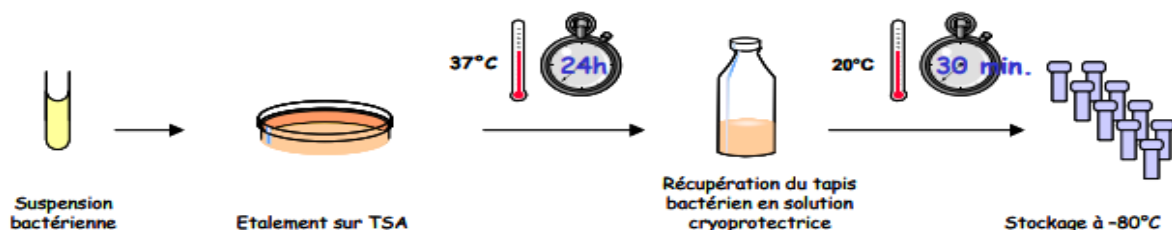


Figure 07. Représentation schématique du protocole de la conservation à -80 °C (Allion et al., 2004).

5. L'antibiogramme

Principe

L'antibiogramme est un test qui permet d'évaluer le niveau de sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'une gamme d'antibiotique préalablement sélectionnée. Cette technique se base sur la diffusion de l'antibiotique contenu dans le disque dans un

milieu gélosé de type Mueller-Hinton préalablement ensemencé par écouvillonnage d'une suspension bactérienne ajustée à une densité de 0,5 McFarland (CLSI, 2022).

La sensibilité des isolats vis-à-vis des antibiotiques suivantes : Amoxicilline , Amoxicilline + Acide clavulanique, Ticarcilline, Piperacilline, Céfazoline, Céfoxitine, Céfotaxime, Imipenème, Gentamicine, Sulfaméthoxazole + triméthoprim, Amikacine, Chloromphénicol, Acide nalidixique, Furanes, Ciprofloxacine, Fosfomycine, Colistine, a été testées par la technique du diffusion sur milieu gélosé (Mueller-Hinton) conformément aux recommandations du CLSI (Clinical and laboratory standard institute) (CLSI, 2022). Pour s'assurer que la diffusion des disques se fait dans des conditions optimales, la gélose Mueller-Hinton doit être coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm et séchée avant l'emploi.

Préparation de l'inoculum

L'inoculum est préparé dans 5 ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture pure et jeune (18-24 h) sur le milieu d'isolement Mac Conckey avec une opacité équivalente à une 0.5 McFarland.

Ensemencement des boites

Les boites sont ensemencées par écouvillonnage en frottant l'écouvillon sur la surface du milieu en stries serrées. L'opération est répétée trois fois, en tournant la boîte de 60 °C afin d'avoir une culture en tapis homogène.

Application des disques d'antibiotiques

Les disques d'antibiotiques correspondants ont été appliqués à l'aide d'un distributeur à raison de 06 disques par boite.

Lecture et interprétation

Après une incubation à 37 °C pendant 18-24 h, les diamètres des zones d'inhibition provoquées par les disques d'antibiotique ont été mesurés avec précision à l'aide d'un pied à coulisse et comparés aux valeurs critiques du CLSI afin de les classer dans l'une des trois catégories sensible S, résistant R ou intermédiaire I.

6. Évaluation de l'aptitude de formation de biofilm

6.1. Méthode de Rouge Congo Agar (RCA)

Cette méthode, a était décrit par **Freeman et al. (1989)** et consiste à déterminer qualitativement le pouvoir de production de biofilm en se basant sur la spécificité de l'interaction du rouge Congo avec la matrice de composent extracellulaire qui donne une couleur noire caractéristique des colonies formatrices de biofilm.

Les isolats ont été ensemencés par stries sur gélose rouge Congo. Cette dernière est préparée par l'addition de 50 g/l de saccharose et de 0,08 % de rouge Congo dans un 1 L de BHIA.

La lecture des résultats est effectuée après incubation à 37 °C pendant 24 heures. La formation d'un biofilm s'est traduite par l'apparition des colonies noires qui indiquent une forte production de biofilm, contrairement aux colonies rouges qui signifient une faible production de celui-ci, voire le non formation de biofilm. (Afreenish et al., 2011).

6.2. Méthode de tube (TM) (Modifier)

Dans la présente étude, une légère modification à été apporté à la technique décrite par O'Toole (2011).

Cette méthode se base sur le pouvoir d'adhésion des bactéries à un support en verre (la paroi des tubes à essais). Cette technique est réalisée en cultivant une colonie de la souche étudiée pendant 18 heures dans 5 ml du BHIB (Bouillon Cœur-cerveille) à une température de 37 °C. Après l'incubation, les tubes ont fait l'objet de trois lavages successifs à l'eau physiologique. Puis, les tubes ont été colorés au cristal violet 0,1 % pendant 15 min. Cette coloration est suivie d'un deuxième lavage afin d'éliminer le surplus du colorant. Après séchage à l'aire libre 5 ml d'acide acétique 30 % ont été ajoutés dans l'objectif de dissoudre le colorant incorporé au film bactérien adhérent à la paroi du tube.

Une lecture de l'absorbance de la solution de cristal violet dissous dans l'acide acétique à une DO 570 nm contre un témoin (acide acétique à 30%) nous a permis de classer nos isolats en trois catégories selon leur pouvoir adhésif.

6.3. Technique de microplaque

10 µL d'une culture jeune de (18- 24 h) dans du BHIB ont été ajoutés au puits d'une microplaque de titration préalablement remplie de 160 µL de BHIB stérile à raison de trois répétitions pour chaque souche. Après une incubation de 18-24 h à une température de 37 °C, la microplaque a subi trois lavages successifs dans des bacs remplis d'eau, suivie d'une coloration au cristal violet 0,1 % pendant 15 min. Le surplus de colorant a été éliminé par une deuxième série de lavages. Enfin, une lecture de l'absorbance de la solution de cristal violet dissous dans l'acide acétique à une DO 570 nm sur un lecteur de microplaque de type Biotek instrument ELX 800 (**Photo 01**) contre un témoin nous a permis de classer nos isolats en trois catégories selon leur pouvoir adhésif. (Thibeaux et al., 2020).



Photo 01. Lecteur de microplaque.

7. Étude statistique

L'analyse statistique, y compris la corrélation, a été réalisée à l'aide du logiciel IBM SPSS Statistics®.

Les corrélations positives ont été définies comme très faibles (0.00-0.19), faibles (0.20-0.39), modérées (0.4-0.59), fortes (0.60-0.79), ou encore très fortes (0.80-0.99).



Résultats et discussion

1. Répartition des isolats en fonction de l'espèce

Durant notre étude, un total de 100 souches ont été isolées à partir de différents produits pathologiques, dont *E.coli* a été la plus fréquemment isolée (64%) suivie de *K. Pneumoniae* (23%). Cependant, les autres BGN ont été moins impliquées dans les infections qui ont fait l'objet de notre étude, leurs taux d'isolement varient entre 6% pour *P. aeruginosa* jusqu'à 2% pour *Entérobacter spp* (**Figure 08**), **Haber et al. (2007)** ont été rapporté que les bacilles à Gram négatif représentaient 88,5% des souches isolées à ne partir de personnes atteinte d'une infection d'origine bactériens ainsi, *E. coli* était l'espèce majoritairement retrouvée avec un taux de 51,6% suivis de *P. aeruginosa* (8,4%) et *K. pneumoniae* (5,3%). Certains des résultats annoncés par cette étude sont proches des nôtres.

La fréquence d'isolement de nos souches est comparable à celle de **Perrin et al. (1998)** qui ont avancé un taux d'isolement de 60% pour *E.coli*, par contre ils ont trouvé d'autres espèces différentes de nous telles que *Acinetobacter spp* et *Serratia...*

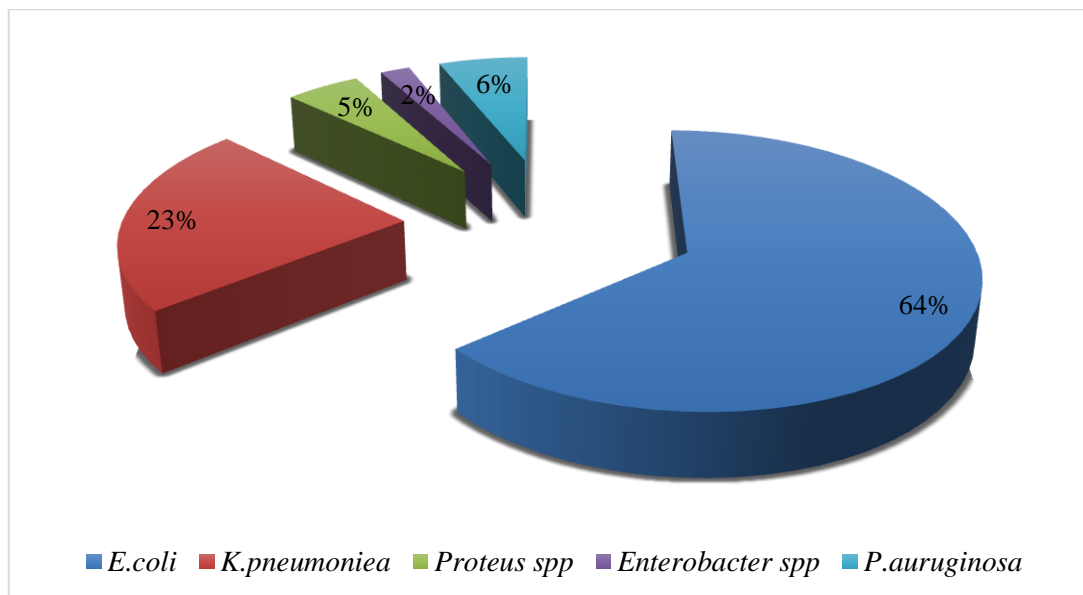


Figure 08. Répartition des isolats en fonction de l'espèce.

2. Répartition des isolats en fonction de la nature des prélèvements

La répartition des isolats selon la nature des prélèvements présentée dans la (**Figure 09**) montre que le prélèvement le plus trouvé était les urines, avec un taux de (90%). Suivis des pus, des prélèvements de sperme et des abcès hépatiques dont les BGN sont beaucoup moins impliqué. Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Canton et al. (2008)** qui signalent que la majorité des souches d'entérobactéries proviennent des urines.

Les prélèvements urinaires viennent en tête des prélèvements. Il a été montré que l'infection urinaire est très fréquente dans le milieu communautaire (Aspevall et al., 2001).

Ainsi, différents facteurs favorisant le développement d'une infection urinaire sont ; la grossesse, le diabète, l'anomalie congénitale ou fonctionnelle du tractus urinaire. (Aspevall et al., 2001).

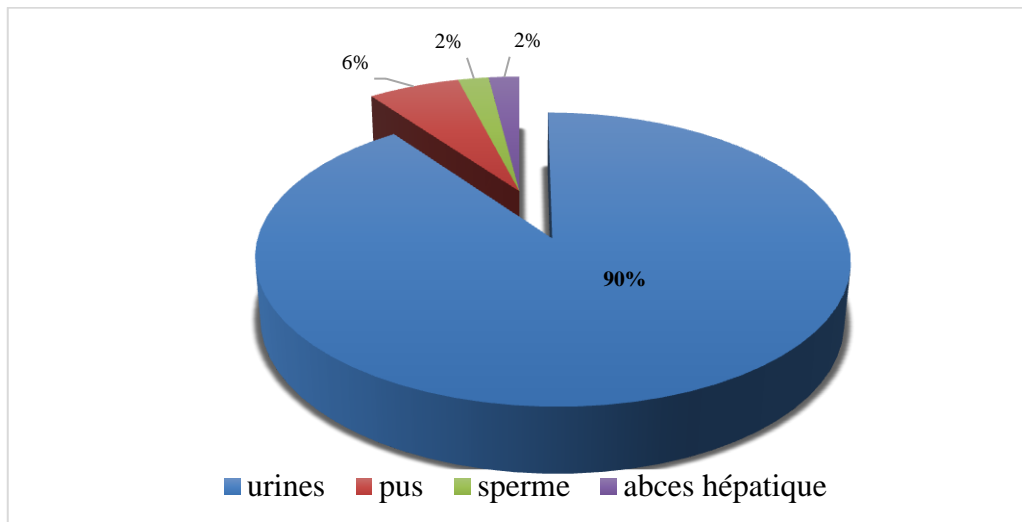


Figure 09. Répartition des isolats en fonction de la nature des prélèvements.

3. Répartition des isolats selon le sexe

Dans notre étude, on a observé une nette prédominance du sexe féminin de 72% (Tableau 02) dont le rapport de masculinité (Sexe Ratio) a été de 0,388 [Sex-Ratio=M/F=28/72=388], ce qui est nettement inférieur au principe de Fisher (Hamilton, 1967 ; Charlat et al., 2007). Ceci peut être expliqué par le taux très important des échantillons d'urine par rapport aux autres types de produits pathologiques étudiés.

Deltourbe et al. (2022) Ont été rapportés que les maladies infectieuses, les infections des voies urinaires présentent l'une des disparités les plus importantes entre les sexes, les femmes préménopausées étant 20 à 40 fois plus susceptibles de souffrir d'une infection urinaire que les hommes du même âge. Cela peut être attribué aux différences anatomiques entre les deux sexes.

Tableau 02. Répartition des isolats selon le sexe.

Sexe	Effectifs	Pourcentage
Masculin	28	28%
Féminin	72	72%
Totale	100	100%

4. Répartition des isolants selon l'âge

La répartition des isolats en fonction des tranches d'âge (**Figure 10**) révèle que les sujets les plus touchés sont les personnes âgées de 26-65 ans avec un taux de 46%. Ce taux diminue pour atteindre 25% pour la tranche des patients les plus âgés et 20% pour les enfants. Cependant, seulement 5% des souches isolées proviennent de chez les nourrissons (**Tableau 03**).

Tableaux 03. Répartition des isolats en fonction de l'âge.

Tranche d'âge	Effectifs	Taux
Nourrisson (0-2)	5	5%
Enfant (2-16)	20	20%
Jeune adulte (17-25)	4	4%
Adulte (26-65)	46	46%
Agé (plus de 65)	25	25%

Nos résultats montrent que les adultes sont les plus touchés par les infections à BGN. Ceci peut être expliqué par le fait que cette tranche d'âge refferme un plus grand nombre de personnes ce qui rejoint les résultats d'étude faite à Dakar où les auteurs ont constaté que les personnes les plus touchées sont âgées entre 30 et 60 ans (**Dia et al., 2015**). La présente étude a montré que 92% des sujets âgés de plus de 65 ans sont touchés par des infections d'origine urinaire, contre 8 % qui sont infectés à d'autres localisations de l'organisme, **Eveillard (2014)** suggère que les infections urinaires sont les infections les plus fréquemment rencontrées chez les personnes âgées (plus de 65) du fait de la présence de plusieurs facteurs de risque tels que la diminution physiologique des défenses immunitaires et les maladies sous-jacentes.

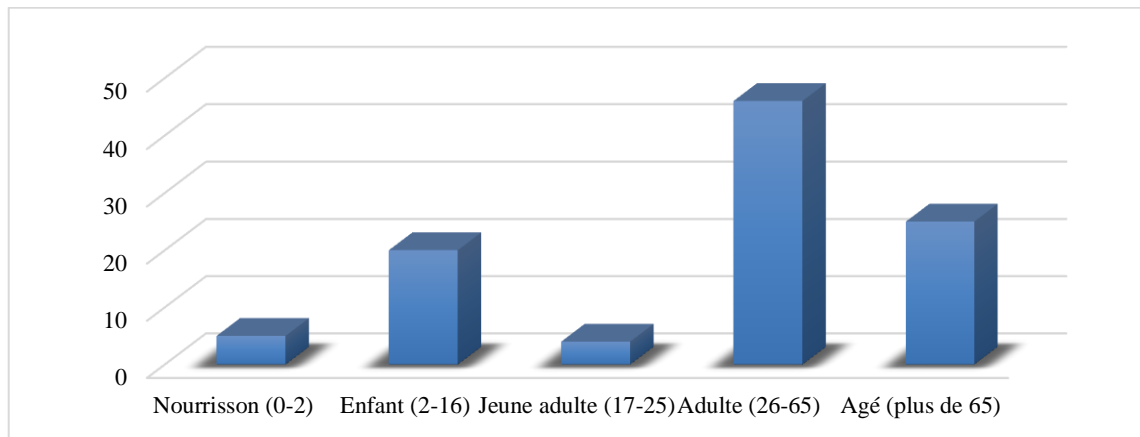


Figure 10. Répartition des isolats en fonction de l'âge.

5. Prévalence de la résistance aux antibiotiques

Le test de sensibilité aux antibiotiques vis-à-vis une molécule sélectionnée arrive avec des taux de résistance significatif élevés vis-à-vis de certaines β - lactamines allant de 77,6% pour l'amoxicilline à 70,66% pour la ticarcilline et 67,64% pour la piperacilline, l'association d'AMX + Ac clavulanique à l'amoxicilline permet de récupérer légèrement l'activité de ce dernier. Cependant, l'imipénème et la cefoxitine en conservent une activité spectaculaire vis-à-vis des souches isolées durant ce travail. Concernant les autres molécules testées, elle a montré une activité satisfaisante, allant jusque 98% pour la colistine et 92,22% pour la fosfomycine. Cependant, les deux souches résistantes à colistine, il s'agit d'une résistance naturelle. **Tableau 04.**

Tableau 04. Prévalence de la résistance aux antibiotiques.

	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Amoxicilline	20,21	2,1	77,6
AMX+AC	32,97	6,38	60,63
Clavulanique			
Ticarcilline	29,33	0	70,66
Piperacilline	32,35	0	67,64
Cefazoline	60,91	1,14	37,93
Cefoxitine	91,3	1,07	7,52
Céfotaxime	82,6	1,08	16,3
Imipenème	97,91	0	2,08
Amikacine	75	0	25
Gentamicine	87,36	1,05	11,57
Fosfomycine	92,22	0	7,77
Ciprofloxacine	69,04	11,9	19,04
AC Nalidixique	61,79	2,24	35,95
Furanes	84,93	0	15,06
SXT	68,29	0	31,7
Chloramphenicol	92,5	0	7,5
Colistine	98	0	2

Gangoue -pieboji et al. (2006) ont rapporté des taux de résistance des BGN plus élevés que les nôtres vis-à-vis les bêtalactamines, ces taux varient de 87% pour l'amoxicilline et 74% pour la piperacilline. En Algérie, l'étude menée par **Souna et al. (2011)** sur des entérobactéries d'origine hospitalière a révélé des taux de résistance aux bêtalactamines plus importants que les nôtres, idem pour l'amikacine et les aminosides.

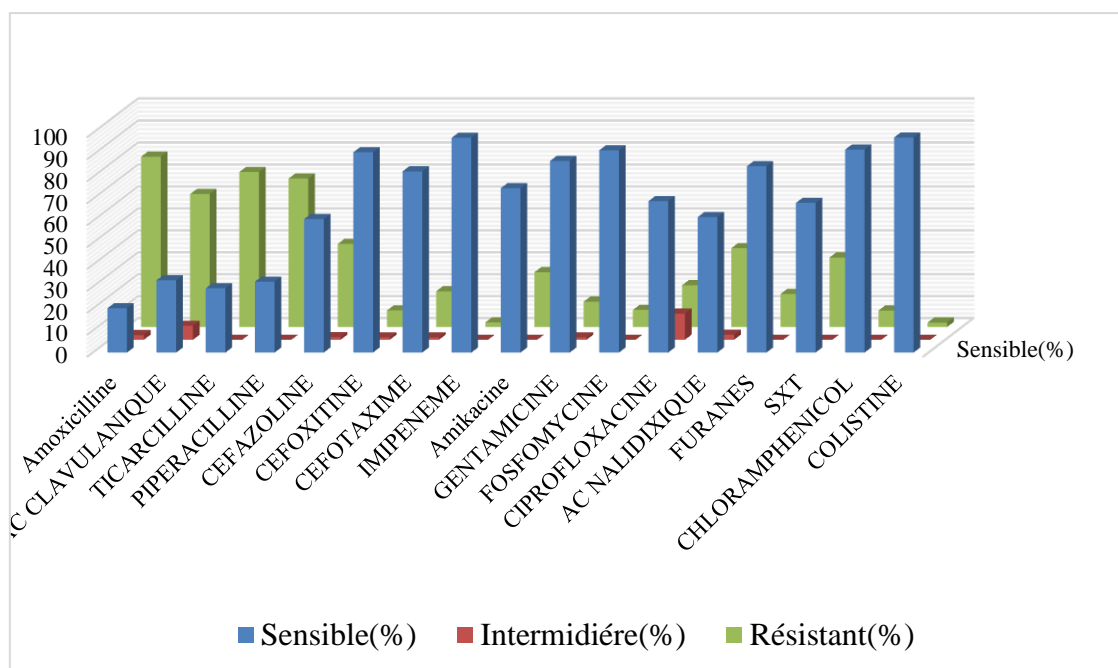


Figure 11. Prévalence de la résistance aux antibiotiques.

L'imipénème, la fosfomycine et la colistine semblent avoir conservé une excellente activité vis à-vis des bacilles à Gram négatif ce qui converge partialement vers les résultats rapportés par **Ebongue et al. (2015)**.

6. Evaluation de la formation de biofilm

Dans notre étude, les souches isolées ont été testées pour leur capacité à former des biofilms avec trois méthodes différentes.

6.1. Technique de Rouge Congo Agar

Il s'agit d'une évaluation qualitative de l'aptitude de formation de biofilm. Ainsi, Le criblage de la production de biofilm par la méthode RCA (**Figure 12, Photo 02**) a montré que 48% souches étudiées étaient formatrices de biofilm, tandis que 52 souches s'est révélée incapable d'élaborer une matrice extracellulaire et par conséquent non formatrices de biofilm, ce qui peut être un bon indicateur de la virulence des souches formatrices (**Roux & Ghigo, 2006 ; Irie & Parsek, 2008**), ce résultat est nettement inférieur que rapporté **Subramanian et al. (2012)** ou ils ont signalé un taux de 90% de souches positives pour le test de RCA.

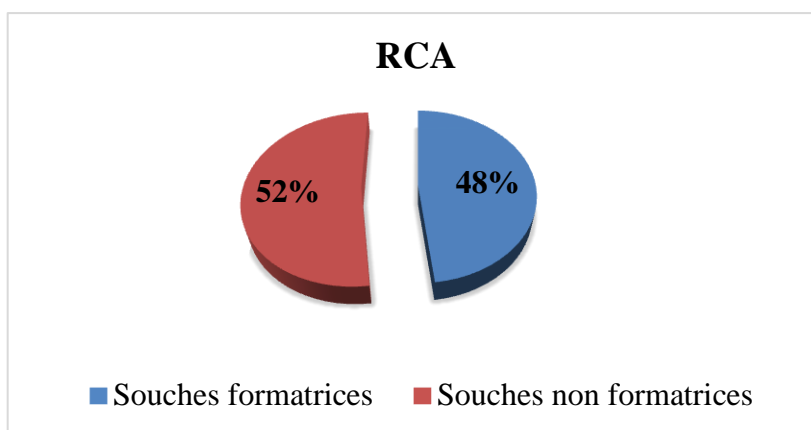


Figure 12. Evaluation de la formation de biofilm par Rouge Congo Agar.

Ces résultats sont déferents de ceux de **Sultan & Nabel (2019)** où ils ont rapporté un taux de 33% des souches productrices de biofilm contre 67% de souches non productrices de biofilm sur un total de 115 souches de BGN uropathogènes. Cependant, **Ruchi et al. (2015)** ont signalé un taux détection par la méthode RCA de 40.88%.

Tableau 05. Evaluation de la formation de biofilm par Rouge Congo Agar.

	Souches formatrices	Souches non formatrices
<i>E. coli</i>	39	26
<i>K. pneumonie</i>	7	17
<i>Proteus spp</i>	0	5
<i>Enterobacter spp</i>	2	0
<i>P. aeruginosa</i>	0	4

Les souches *E. coli* et *K. pneumonie* étudiées dans le présent travail (**Tableau 05**) ont montré une aptitude distinguée à la formation du biofilm avec respectivement des taux de 60% et 29% ce qui est nettement plus élevé par rapport à une étude indienne (**Ruchi et al., 2015**) ; en Revanche, ils ont signalé qu’aucune des souches de *Proteus spp* n’est révélé formatrice, c’est le cas de notre étude.

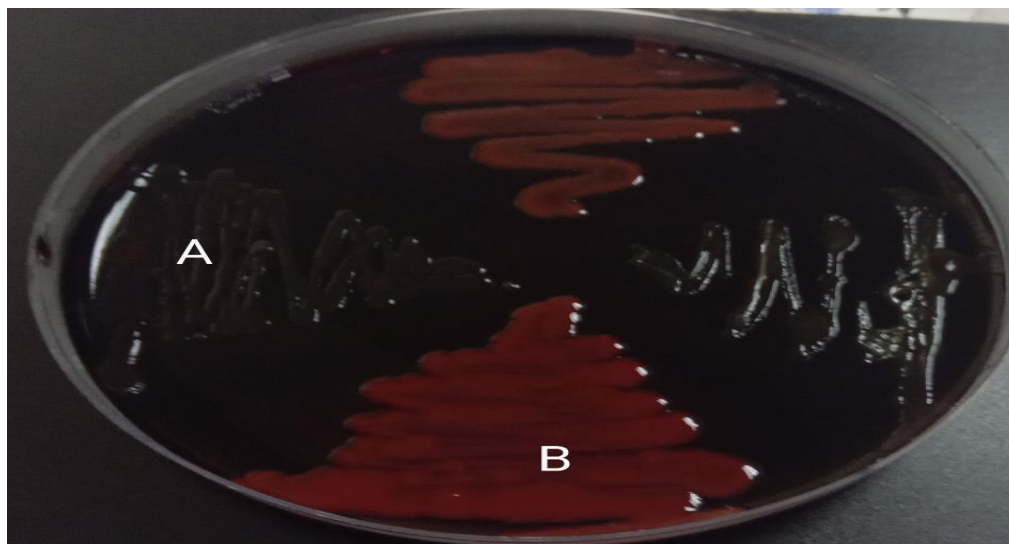


Photo 02. Résultats de la formation de biofilm par RCA.

A : souche formatrice de biofilm ; **B** : Souche non formatrice de biofilm.

6.2. Technique des tubes

L'évaluation du pouvoir adhésif des souches isolées sur un support en verre (paroi des tubes à essais) a démontré que parmi les 100 souches étudiées, 53 avaient la capacité d'adhérer aux parois des tubes, dont 66% étaient modérément adhérente et 33% souches montrèrent une forte capacité d'adhésion (**Figure 13**). Une équipe de chercheurs égyptiens a signalé un taux d'adhésion de 40,7% des souches de BGN étudiées, dont 25% ont été qualifiées de souches fortement formatrices de biofilm (**Sultan & Nabil 2019**). Pareillement, **Niveditha (2012)** ont révélé un taux de formation de 48% en utilisant la technique TM.

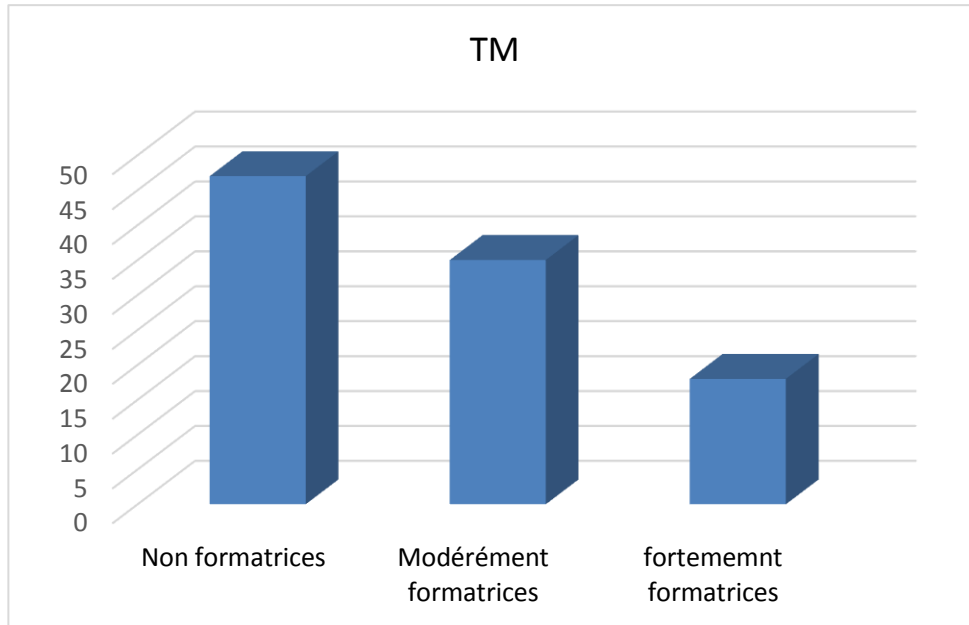


Figure 13. Evaluation de la formation de biofilm par TM.

La capacité des souches à adhérer à de tels types de surface pourrait avoir un effet positif sur la dissémination et la propagation de ces germes dans les différents types d'environnement (hospitalier ou communautaire), du fait que le biofilm confère aux bactéries une capacité importante de persister dans l'environnement et par conséquent, est facilement transmissible (El khoury, 2021).



Photo 03. Technique de formation de biofilm sur TM.

6.3. Technique de microplaque

L'étude de l'aptitude de production de biofilm par la méthode de microplaque a montré que 41 des isolats étaient incapables d'adhérer au polymère de synthèse des microplaques (plastique), contre 38 souches qui ont dévoilé une capacité d'adhésion modérée alors que 21 souches étaient fortement formatrices de biofilm (**Figure 14**).

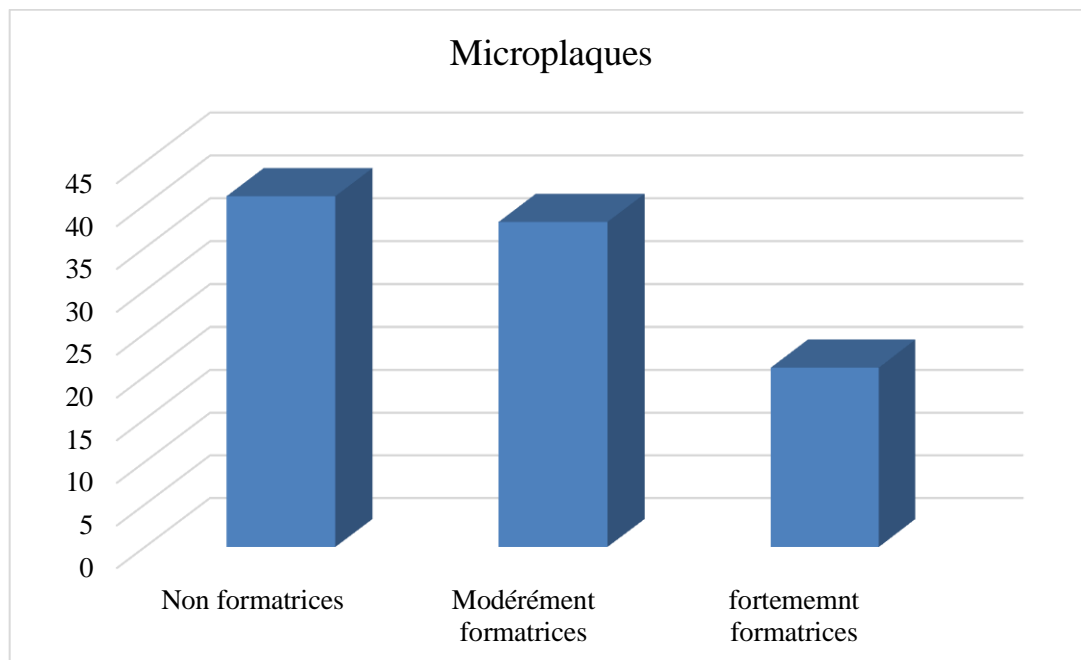


Figure 14. Evaluation de la formation de biofilm par la méthode de microplaque.

Nos résultats se rapprochent de ceux d'**Afreenish et al. (2011)** qui ont rapporté 22% de souches frottement formatrices et 40 % de souches modérément formatrices de biofilm. Cependant, elles sont largement supérieures à celles de signalées par une autre étude qui a communiqué 26,5% de souches formatrices (**Sultan & Nabel, 2019**) contre 59% trouvés durant le présent travail.

L'aptitude de formation de biofilm chez les BGN apparais légèrement supérieur à celles des Cocci Gram positif, ceux-ci peuvent être dû à la présence de certaines structures sur la paroi des BGN tel que les LPS et les fimbriae qui favorisent l'adhésion initiale aux différents types de surfaces (**Simoès et al., 2020 ; Saulou-Berion, 2009**) ; cette situation a été signaler par plusieurs auteurs (**Afreenish et al., 2011 ; Sultan & Nabel, 2019**) en plus (**Knobloch et al., 2002 ; Mathur et al., 2006**) ont rapportées respectivement 28,9 et 54% de taux de formation de biofilm ce qui est en discordance avec pour résultats.

La déférence des résultats entre les deux méthodes TM et microplaques peut dû au facteur type de surface qui peut influencer positivement ou négativement l'étape d'adhésion initiale sur laquelle repose tout le processus de formation de biofilm (**Donlan, 2002 ; Ansari et al., 2017 ; Tremblay et al., 2014**).

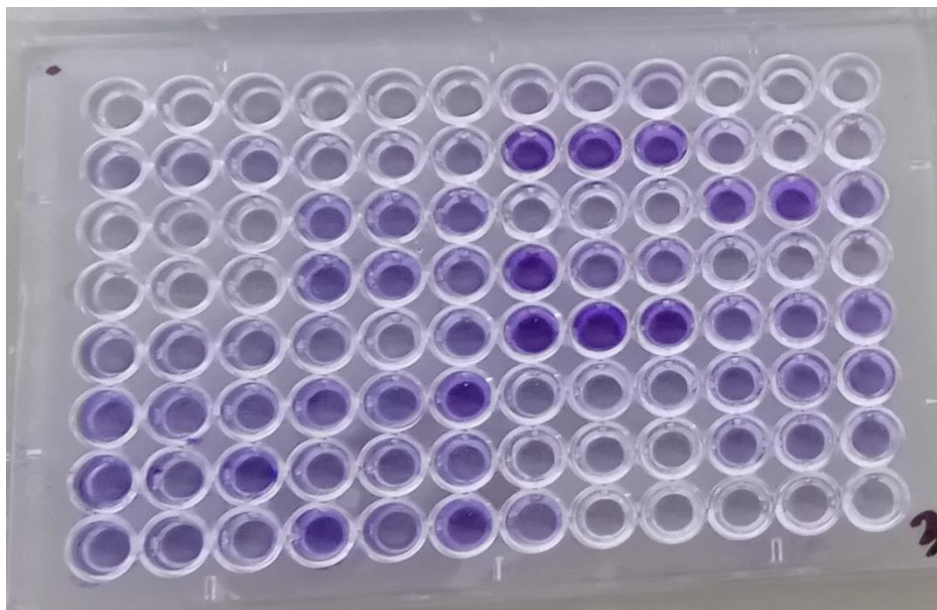


Photo 04. Technique de microplaques.

7. Corrélation entre la résistance aux antibiotiques et la formation de biofilm

Plusieurs études ont rapporté que la CMI des formes sessiles peut être jusqu'à 100 fois supérieur à celle des formes planctoniques (**Olson et al., 2002 ; Tremblay et al., 2014**), ce qui suggère l'existence de fortes corrélations positives entre la résistance aux antibiotiques et l'aptitude de formation de biofilm.

Dans la présente étude, la matrice de corrélation (**Tableau 06**) entre la résistance aux différents antibiotiques d'un côté et la résistance aux antibiotiques et le pouvoir adhésif des isolats étudiés par la technique TM d'un autre côté a montré une faible corrélation négative, qui varie de -0,01 jusqu'à -0,3, entre la résistance au furane et la résistance à toutes les molécules testées sauf l'acide nalidixique, le chloramphénicol et la colistine, cette dernière est qualifiée de modérée. **Sarkis et al. (2017)** ont constaté un taux de résistance de 17% au furane et cette résistance a été associée à celle de certains antibiotiques comme la gentamicine et la SXT. Par ailleurs, la résistance à la furane a montré une corrélation très faible avec la formation de biofilm par les différentes souches étudiées.

Amanatidou *et al.* (2019) ont démontré que la résistance aux bêta-lactamines était fortement liée au pouvoir de formation de biofilm chez les souches de *E.coli*, quant à nos souches la résistance aux bêta-lactamines était en corrélation très faible avec l'aptitude de formation de biofilm, voire négative pour la piperacilline. Pour la corrélation entre l'insensibilité aux autres molécules testées et la formation de biofilm, nos résultats ont montré une probable corrélation positive qui était qualifiée de faible.

Tableau 06. Matrice de corrélations statistiques.

	AMX	AMC	TC	PRL	CAZ	FOX	CTX	GN	FOS	CIP	NA	F	SXT	C	CT	TM
AMX	1,00															
AMC	0,70	1,00														
TC	0,56	0,33	1,00													
PRL	0,46	0,21	0,87	1,00												
CAZ	0,24	0,38	0,28	0,22	1,00											
FOX	0,06	0,15	-0,04	-0,05	0,41	1,00										
CTX	0,08	0,21	0,01	-0,07	0,56	0,56	1,00									
GN	0,09	0,11	-0,26	-0,26	0,16	0,20	0,25	1,00								
FOS	0,01	0,02	0,08	-0,01	0,11	-0,01	0,20	0,23	1,00							
CIP	0,17	0,20	0,16	0,19	0,53	0,24	0,33	0,32	0,29	1,00						
NA	-0,05	0,07	0,00	0,00	0,48	0,14	0,24	0,15	0,12	0,68	1,00					
F	-0,30	-0,25	-0,12	-0,15	-0,20	-0,11	-0,07	-0,01	-0,05	-0,04	0,11	1,00				
SXT	0,24	0,18	0,43	0,39	0,35	0,06	0,17	-0,07	0,20	0,31	0,28	-0,05	1,00			
C	-0,02	0,05	0,09	0,11	0,17	0,13	0,20	-0,07	0,23	0,15	0,07	0,09	0,13	1,00		
CT	-0,12	-0,18	-0,02	-0,04	-0,13	-0,03	-0,07	-0,04	0,02	-0,08	-0,05	0,53	0,15	-0,05	1,00	
TM	0,16	0,13	0,00	-0,07	0,03	0,15	0,06	0,13	0,03	-0,06	0,00	0,16	0,10	-0,01	0,06	1,00

A decorative scroll graphic with a central text box. The scroll is oriented horizontally and has a light gray shadow on its top edge. The text box is a simple black rectangle centered within the scroll's body.

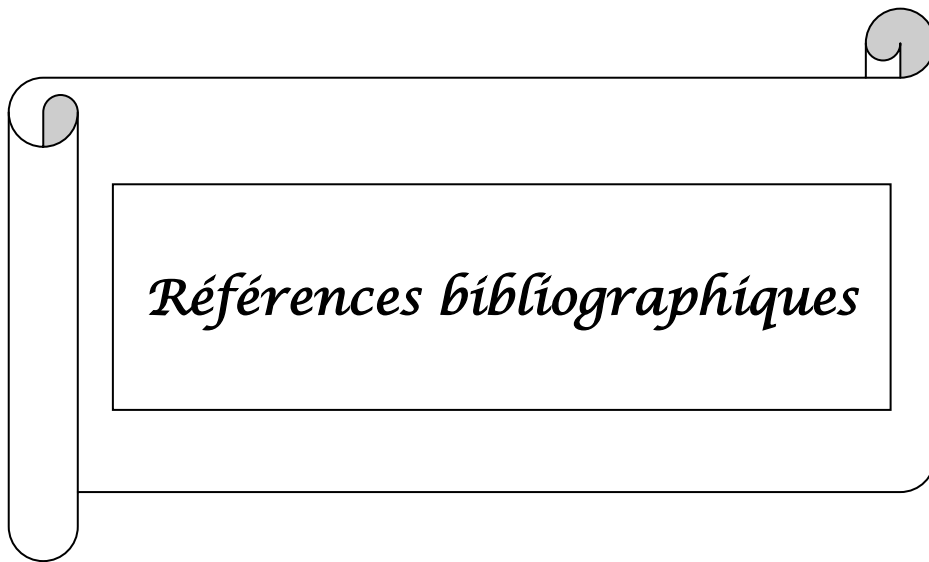
Conclusion et perspectives

Conclusion

Les bacilles à Gram négatif sont une catégorie importante de bactéries pathogènes rencontrées en milieu clinique. Parmi les plus préoccupantes figurent des espèces telles que *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces bactéries sont capables de former des biofilms qui les protègent contre les défenses immunitaires et les traitements antibiotiques.

Au terme de ce travail, un instantané a été développé décrivant en partie l'état actuel de la résistance aux antibiotiques chez les souches de bacilles à Gram négatif au niveau de la région de Khenchela ainsi que leur pouvoir adhésif à différents types de supports. Nos résultats montrent dans certains cas une possible corrélation positive entre la résistance à certaines molécules chimio thérapeutiques et le pouvoir de formation de biofilm, ce qui nous incite à la bonne pratique des mesures d'hygiène et au bon usage des antibiotiques afin de préserver les différentes molécules encore efficaces.

En perspective de ce travail, il serait intéressant de pouvoir approfondir l'aspect moléculaire de la formation des biofilms tout en étudiant les mécanismes biochimiques et génétiques qui sont responsables ainsi que leur relation avec les différents mécanismes de résistance aux antibiotiques. Il convient également, d'élargir l'étude vers d'autres groupes bactériens et d'autres régions en vue d'une meilleure compréhension de ce phénomène. Ceci nous permettra, dans le futur, d'adapter les moyens et les protocoles de lutte contre les différents types d'infection d'origine bactérienne.



Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

1. Adzitey, F. (2015). Antibiotic classes and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from selected poultry; a mini review. *6*(1), 36. <https://doi.org/10.5455/wvj.20150853>
2. Afreenish, H., Usman, J., Kaleem, F., Omair, M., Khalid, A. & Iqbal, M. (2011). Évaluation de différentes méthodes de détection de la formation de biofilms dans les isolats cliniques. *Revue brésilienne des maladies infectieuses*, *15*, 305-311.
3. Aiche, N. (2022). Bactériémies au CHU de Tizi-Ouzou: Aspect bactériologique et résistance aux antibiotiques. (Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou).
4. Allion, A. (2004). Environnement des bactéries et sensibilité aux biocides: mise au point d'une technique rapide pour déterminer in situ l'efficacité bactéricide d'agents antimicrobiens (Thèse de doctorat, ENSIA (AgroParisTech)).
5. Alotaibi, G. F., & Bukhari, M. A. (2021). Factors influencing bacterial biofilm formation and development. *American journal of biomedical science & research*, *12*(6), 617-626. <https://doi.org/10.34297/ajbsr.2021.12.001820>
6. Amanatidou, E., Matthews, A. C., Kuhlicke, U., Neu, T. R., McEvoy, J. P., & Raymond, B. (2019). Biofilms facilitate cheating and social exploitation of β -lactam resistance in *Escherichia coli*. *NPJ biofilms and microbiomes*, *5*(1), 36. <https://doi.org/10.1038/s41522-019-0109-2>.
7. Ansari, F. A., Jafri, H., Ahmad, I., & Abulreesh, H. H. (2017). Factors affecting biofilm formation in vitro and in the rhizosphere. *Biofilms in plant and soil health*, 275-290. <https://doi.org/10.1002/9781119246329.ch15>
8. Antunes, L. C. M., & Ferreira, R. B. (2011). Biofilms and bacterial virulence. *Reviews in medical microbiology*, *22*(1), 12–16. <https://doi.org/10.1097/mrm.0b013e3283410d22>
9. Aspevall, O., Hallander, H., Gant, V., & Kouri, T. (2001). European guidelines for urinalysis: a collaborative document produced by European clinical microbiologists and clinical chemists under ECLM in collaboration with ESCMID. *Clinical microbiology and infection*, *7*(4), 173-178. <https://doi.org/10.1046/j.1198-743x.2001.00237.x>

B

10. Baudin, M. (2017). Couplage de rapporteurs génétiques et d'une molécule active pour l'étude de la dispersion de biofilms (Thèse de doctorat, Université Paris Saclay (COMUE)).
11. Bedrane, R., Delleci, H., Labaci, A., & Kehloul, K. (2020). Antibiorésistance des souches d'*Escherichia coli* chez les patients hospitalisés au niveau du service de réanimation polyvalente du CHU Nedir Mohamed Tizi-Ouzou–Unité Balloua. (Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou).
12. Bellifa, S. (2014). Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen (Thèse de doctorat. Université abou bekr belkaid de Tlemcen).
13. Beloin, C., Roux, A., & Ghigo, J. M. (2008). *Escherichia coli* biofilms. *Bacterial biofilms*, 249-289.
14. Bouskraoui, M., Zouhair, S., Soraa, N., Benaouda, A., Zerouali, K., & Mohmoud, M. (2017). Guide pratique des bactéries pathogènes. Marrakech: Société Marocaine d'infectiologie pédiatrie et de vaccinologie.
15. Boutarfi, Z. (2021). Étude de la résistance aux antimicrobiens d'une collection de bacilles à Gram négatif isolée du CHU de Tlemcen (Thèse de doctorat, Université abou bekr belkaid de Tlemcen).
16. Breijyeh, Z., Jubeh, B., & Karaman, R. (2020). Resistance of Gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. *Molecules*, 25(6), 1340. <https://doi.org/10.3390/molecules25061340>

C

17. Canton, R., Novais, A., Valverde, A., Machado, E., Peixe, L., Baquero, F., & Coque, T. (2008). Prevalence and spread of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in europe. *Clinical microbiology and infection*, 14, 144–153. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01850.x>
18. Coulibaly, D. (2022). Prescriptions des Antibiotiques dans le service d'Accueil des urgences du CHU Gabriel Touré (Thèse de doctorat, USTTB).

19. Charlat, S., Hornett, E. A., Fullard, J. H., Davies, N., Roderick, G. K., Wedell, N., & Hurst, G. D. D. (2007). Extraordinary flux in sex ratio. *Science*, 317(5835), 214–214. <https://doi.org/10.1126/science.1143369>

D

20. Davies, D. G., Parsek, M. R., Pearson, J. P., Iglewski, B. H., Costerton, J. W., & Greenberg, E. P. (1998). The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*, 280(5361), 295-298. <https://doi.org/10.1126/science>.

21. Deltourbe, L., Lacerda Mariano, L., Hreha, T. N., Hunstad, D. A., & Ingersoll, M. A. (2022). The impact of biological sex on diseases of the urinary tract. *Mucosal immunology*, 15(5), 857–866. <https://doi.org/10.1038/s41385-022-00549-0>

22. Demay, F. (2023). Mécanismes moléculaires impliqués dans la protection du ribosome contre les antibiotiques (Thèse de doctorat, Université de Rennes).

23. Dia, M. L., Chabouny, H., & Diagne, R. (2015). Profil antibiotypique des bactéries uropathogènes isolées au CHU de Dakar. *Revue africaine d'urologie et d'andrologie*, 1(4).

24. Domínguez, D. C., & Meza-Rodriguez, S. M. (2019). Development of antimicrobial resistance: Future challenges. In *pharmaceuticals and personal care products: Waste management and treatment techno biology* (pp. 383-408). Butterworth -Heinemann.

25. Donlan, R. M. (2002). Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging infectious diseases*, 8(9), 881–890. <https://doi.org/10.3201/eid0809.020063>

26. Dumaru, R., Baral, R., & Shrestha, L. B. (2019). Study of biofilm formation and antibiotic resistance pattern of Gram-negative Bacilli among the clinical isolates at BPKIHS, Dharan. *BMC research notes*, 12, 1-6. <https://doi.org/10.1186/s13104-019-4084-8>

E

27. Ebongue, C. O., Tsiatok, M. D., Nda, J. P., Ngaba, G. P., Beyiha, G., & Adiogo, D. (2015). Evolution de la résistance aux antibiotiques des *entérobactéries* isolées à l'Hôpital général de douala. *Pan African medical journal*, 20. <https://doi.org/10.11604/pamj.20.227>

28. El Khoury, N. (2021). Intégration des bactéries planctoniques dans le biofilm et étude fonctionnelle du gène plasmidique Bthur62720 chez *Bacillus thuringiensis* (Thèse de doctorat, Université Paris-Saclay; Université Saint-Joseph (Beyrouth)).

29. Eveillard, V., & Eveillard, M. (2014). Infections urinaires chez la personne âgée : difficultés du diagnostic microbiologique et impact de la prescription des ECBU pour la prise en charge des personnes âgées CHU d'Angers (Thèse de doctorat).

F

30. Freeman, D. J., Falkiner, F. R., & Keane, C. T. (1989). New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of clinical pathology*, 42(8), 872-874. <https://doi.org/10.1136/jcp.42.8.872>

G

31. Gad, S. (2018). Assessment of biofilm advantages and disadvantages. *Journal of scientific and engineering research*, 5 (4): 231-237.

32. Goller, C. C., & Romeo, T. (2008). Environmental influences on biofilm development. *Current topics in microbiology and immunology*, 37–66. https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_3

33. Gangoue-Pieboji, J., Koulla-Shiro, S., Ngassam, P., Adiogo, D., & Ndumbe, P. (2006). Antimicrobial activity against Gram negative bacilli from Yaoundé central hospital, Cameroon. *african health sciences*, 6(4).

H

34. Haber, N., Paute, J., Gouot, A., Sevali Garcia, J., Rouquet, M. L., Sahraoui, L., Gamard, M. N., Jarlier, V., Chaibi, P., & Cambau, E. (2007). Incidence et caractéristiques cliniques des infections urinaires symptomatiques dans un hôpital gériatrique. *Médecine et maladies infectieuses*, 37(10), 664–672. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2006.12.004>

35. Hamadi, F., Latrache, H., El Ghmari, A., Ellouali, M., Mabrouki, M., & Kouider, N. J. A. O. M. (2004). Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and

acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Annals of microbiology.*, 54, 213-226

36. Hamilton, W. D. (1967). Extraordinary Sex Ratios: A sex-ratio theory for sex linkage and inbreeding has new implications in cytogenetics and entomology. *Science*, 156(3774), 477-488. <https://doi.org/10.1126/science.156.3774.477>

37. Høiby, N., Ciofu, O., Johansen, H. K., Song, Z. J., Moser, C., Jensen, P. & Bjarnsholt, T. (2011). The clinical impact of bacterial biofilms, *International journal of oral sciences*. 3(2), 55-65. <https://doi.org/10.4248/ijos11026>

I

38. Irie, Y., & Parsek, M. R. (2008). Quorum sensing and microbial biofilms. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 67-84. https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_4

K

39. Kallayane, N. (2018). Structure de la paroi cellulaire des bactéries Gram-négatives. Disponible sur : <https://www.shutterstock.com/fr/image-vector/cell-wall-structure-gram-negative-bacteria-1164058252>.

40. Khalilzadeh, P. (2009). Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*: évaluation d'inhibiteurs potentiels du quorum sensing (Thèse de doctorat, Toulouse 3).

41. Kichou, A. O., MANCEUR, K., & OUYED, M. (2020). Profil de la consommation des antibiotiques à usage systémique en milieu hospitalier: Expérience du CHU de Tizi-Ouzou. (Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou).

42. Koulikoff, (2017). Résistance aux antibiotiques un phénomène massif et préoccupant. Disponible sur : <http://www.inserm.fr/inforlation-en-sante/dossiers-information/resistance-antibiotiques>.

43. Knobloch, J., Horstkotte, M., Rohde, H., & Mack, D. (2002). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Medical Microbiology and Immunology*, 191(2), 101–106. <https://doi.org/10.1007/s00430-002-0124-3>

44. Koné, B. (2023). Profils de résistance aux antibiotiques des souches *Escherichia coli* et *Salmonella spp* isolées dans des infections entériques chez les enfants de 0 à 15 ans en milieu communautaire: cas du CSCCom de Yirimadjo, Bamako. (Thèse de doctorat, USTTB).

L

45. Larry, M. Bush. (2022). Introduction aux bacilles Gram négatifs. Disponible sur : <https://www.msmanuals.com/fr/professional/maladies-infectieuses/bacilles-gram-n%C3%A9gatifs/introduction-aux-bacilles-gram-n%C3%A9gatifs>.

46. Lebeaux, D., & Ghigo, J. M. (2012). Infections associées aux biofilms. *Médecine/Sciences*, 28(8–9), 727–739. <https://doi.org/10.1051/medsci/2012288015>

47. Liassine, N. (2000). Probleme des pathogens Gram negative resistants aux antibiotiques en milieu hospitalier [Antibiotic-resistant gram-negative pathogens in the hospital environment]. *Schweizerische medizinische wochenschrift*, 130(50), 1930-1936.

48. Liaqat, I., Liaqat, M., Ali, S., Ali, N. M., Haneef, U., Mirza, S. A., & Tahir, H. M. (2019). Biofilm formation, maturation and prevention: a review. *J Bacteriol Mycol*, 6(1), 1092. <https://doi.org/10.26420/jbacteriolmycol.2019.1092>

M

49. Mahamat, O. O., Tidjani, A., Savadogo, A., Mahamat, A. A., Somda, M. K., & Traore, A. S. (2013). Isolement et caractérisation des bactéries productrices des biofilms issues des produits alimentaires. *Review of industrial microbiology sanitary and environmental*, 7(2), 187-210.

50. Mathur, T., Singhal, S., Khan, S., Upadhyay, D., Fatma, T., & Rattan, A. (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of *Staphylococci*: An evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 24(1), 25. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.19890>

51. Mekadem, S., Mellouki, S., Boubekour, R., & Hadeif, K. (2023). Caractérisation des souches *Streptocoque* et *Klebsiella* impliquées dans les infections au niveau de l'hôpital d'ADRAR (Doctoral dissertation, université ahmed draia-adrar).

52. Muylaert, A., & Mainil, J.G. (2012). Résistance bactériennes aux antibiotiques, les mécanismes et leur " contagiosité". In annales de medecine vétérinaire. 156 (2), 109-123.

N

53. Ngeow, Y., Cheng, H., Chen, J., Yin, W. F., & Chan, K. G. (2013). Short chain- acyl homosérine lactone production by clinical multidrug resistant *Klebsiella pneumoniae* strain csg20. Sensors, 13(11), 15242–15251. <https://doi.org/10.3390/s131115242>

54. Niveditha, S. N. (2012). The isolation and the biofilm formation of uropathogens in the patients with catheter associated urinary tract infections (utis). Journal of clinical and diagnostic research. <https://doi.org/10.7860/jcdr/2012/4367.2537>

O

55. Oliveira, J., & Reygaert, W. C. (2023). Gram-negative bacteria. statpearls-ncbi bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538213>

56. Olson, M. E., Ceri, H., Morck, D. W., Buret, A. G., & Read, R. R. (2002). Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. Canadian journal of veterinary research, 66(2), 86.

57. O'Toole, G. A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. Journal of visualized experiments, (47), 2437. <https://doi.org/10.3791/2437-v>

58. Ozenen, G. G., Bal, Z. S., Umit, Z., Avcu, G., Tekin, D., Kurugol, Z., & Ozkinay, F. (2021). Nosocomial non-fermentative gram negative bacteria bloodstream infections in children; Risk factors and clinical outcomes of carbapenem resistance. Journal of infection and chemotherapy, 27(5), 729-735. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2020.12.024>

P

59. Perrin, M., Le Garzic, J., Tas, A., & Avril, J. L. (1998). Infections urinaires communautaires et nosocomiales à bacilles à Gram négatif en milieu gériatrique. Médecine et maladies infectieuses, 28(6-7), 505-510. [https://doi.org/10.1016/s0399-077x\(98\)80020-6](https://doi.org/10.1016/s0399-077x(98)80020-6)

R

60. Rimsha, B. (2022). Gram negative cell wall – its composition, function, and structure. Disponible sur : <https://microbialnotes.com/>.
61. Roux, A., & Ghigo, J. M. (2006). Les biofilms bactériens. Bulletin De L'Académie Vétérinaire De France, 159(3), 261–268. <https://doi.org/10.4267/2042/47842>
62. Ruchi, T., Sujata, B., & Anuradha, D. (2015). Comparison of phenotypic methods for the detection of biofilm production in uro-pathogens in a tertiary care hospital in India. Int J Curr Microbiol App Sci, 4(9), 840-49.

S

63. Sarkis, P., Assaf, J., Sarkis, J., Zanaty, M., & Rehban, R. (2017). Profil de résistance aux antibiotiques dans les infections urinaires communautaires au Liban. Progrès en Urologie, 27(13), 727.
64. Saulou-Berion, C. (2009). Evaluation des propriétés antiadhésives et biocides de films nano composites avec inclusions d'argent, déposés sur acier inoxydable par procédé plasma (Doctoral dissertation, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse).
65. Simoes, M., Borges, A., & Simoes, L. C. (2020). Recent trends in biofilm science and technology. Academic press. <http://books.google.ie/books?>
66. Song, F., Koo, H., & Ren, D. (2015). Effects of material properties on bacterial adhesion and biofilm formation. journal of dental research, 94(8), 1027–1034. <https://doi.org/10.1177/0022034515587690>
67. Souna, D., Sefraoui, I., & Drissi, M. (2011). Résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Sidi Bel Abbes (Algérie). Microbiol hyg alim, 23, 37-41.
68. Subramanian, P., Shanmugam, N., Sivaraman, U., Kumar, S., & Selvaraj, S. (2012). Antibiotic resistance pattern of biofilm-forming uropathogens isolated from catheterised patients in Pondicherry, India. The Australasian medical journal, 5(7), 344. <https://doi.org/10.4066/amj.2012.1193>
69. Sultan, A. M., & Nabel, Y. (2018). Tube method and Congo red agar versus tissue culture plate method for detection of biofilm production by Uropathogens isolated from

midstream urine: Which one could be better? *African journal of clinical and experimental microbiology*, 20(1), 60. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v20i1.9>

T

70. Tremblay, Y. D., Hathroubi, S., & Jacques, M. (2014). Les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian journal of veterinary research*, 78(2), 110-116.

71. Thibeaux, R., Kainiu, M., & Goarant, C. (2020). Formation et quantification de biofilm à l'aide de la plaque de 96 microtitres. *Methods in Molecular Biology*, 2134, 207-214. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0459-5_19

W

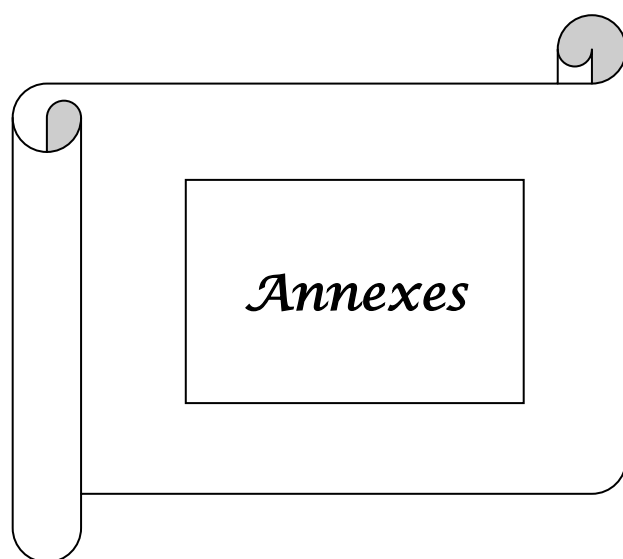
72. Wai-Leung, N., & Bassler, B. L. (2009). Bacterial quorum-sensing network architectures. *Annual review of genetics*, 43(1), 197-222. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102108-134304>

Y

73. Yung-Hua, L., & Xiaolin, T. (2012). Quorum sensing and bacterial social interactions biofilms. *Sensors* 12(3), 2519-2538 <https://doi.org/10.3390/s120302519>.

Z

74. Zidouh, A., & Arsalane, L. (2019). Le profil bactériologique des bactériémies et l'état de résistance aux antibiotiques (Thèse de doctorat, Université Cadi Ayyad de Marrakech).



Annexes 01. Milieux de culture utilisés

Gélose Mac Conkey :

Composition

- Peptone de caséine 7g
- Peptone de viande 3g
- Lactose 10g
- Mélange de sels biliaires 1.5g
- Chlorure de sodium 5.0
- Rouge neutre 0.03g
- Cristal violet 0.001g
- Agar agar 13.5g
- pH final 7,1

Gélose Mueller-Hinton :

Composition

- Infusion de viande de boeuf 3g
- Hydrolysate de caséine 17.5g
- Amidon 1.5g
- Gélose 17g
- pH final 7,4

BHIB :

Composition

- Infusion de cerveau et de cœur 200 g/L
- Peptone de soja 17.5 g/L
- Peptone de viande 10 g/L
- Glucose 2 g/L
- Chlorure de sodium 5g/L

- Phosphate dsodique 2.5 g/L

BHIA :

Composition

- Infusion de cerveau et de cœur 200 g/L

- Peptone de soja 17.5 g/L

- Peptone de viande 10 g/L

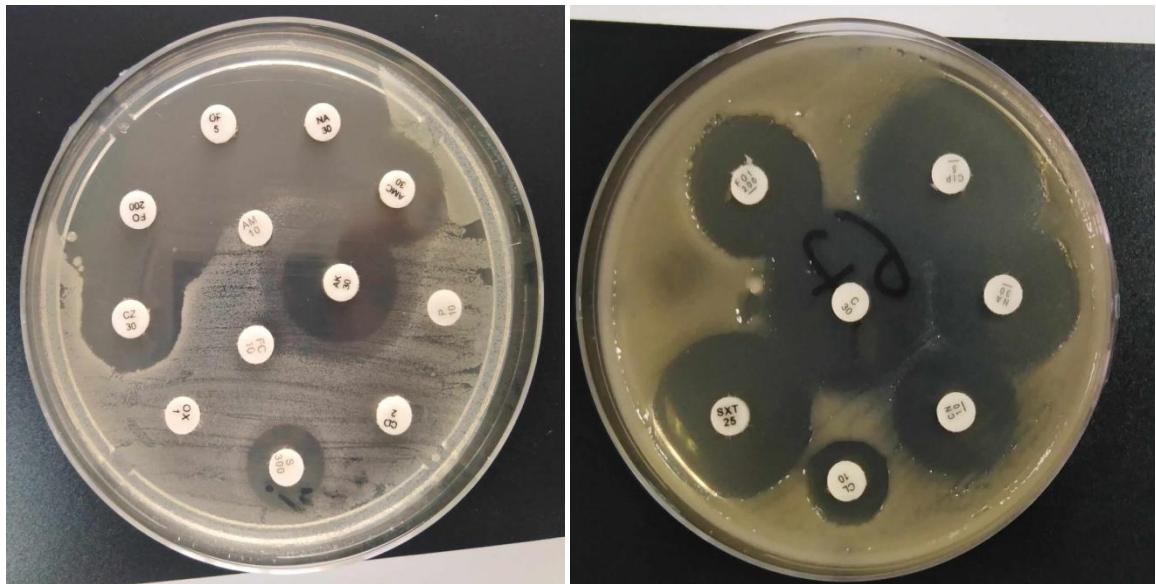
- Glucose 2 g/L

- Chlorure de sodium 5 g/L

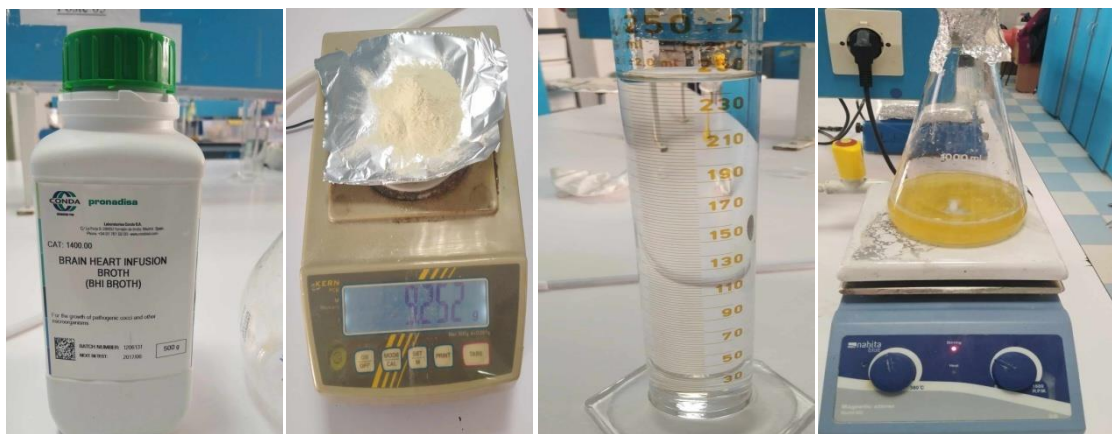
- Phosphate dsodique 2.5 g/L

- Agar 15 g/L

Annexes 02. Antibiogramme.



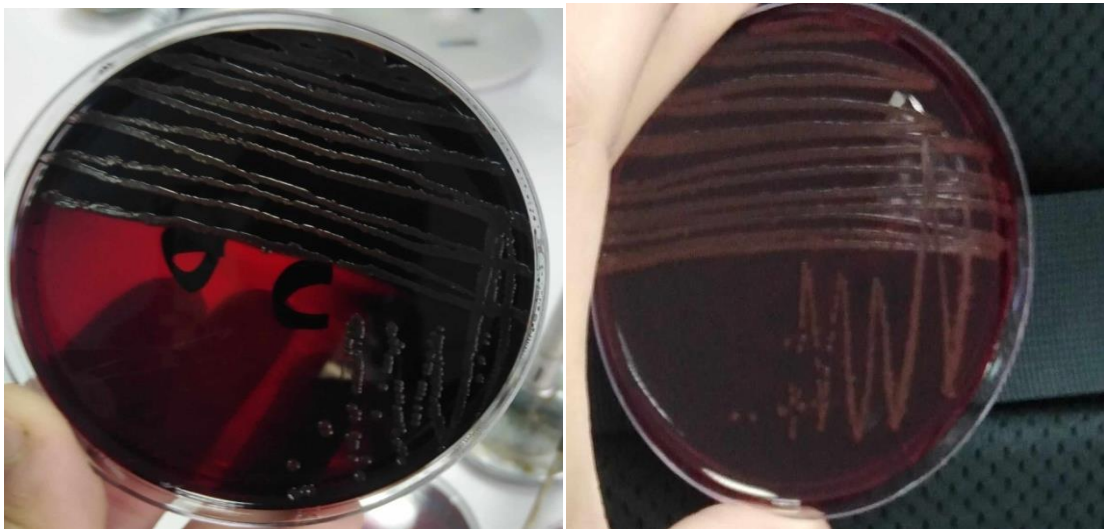
Annexes 03. Préparation d'un milieu de culture BHIB.



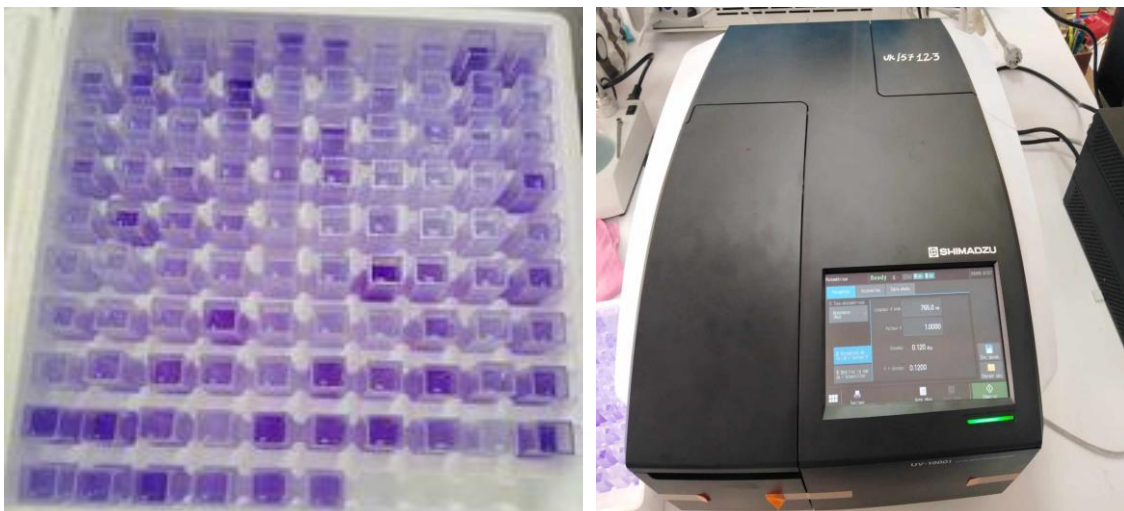
Annexes 04. Préparation de RCA.



Annexes 05. Résultats de biofilm par RCA.



Annexes 06. Résultats de biofilm en tube.



Annexes 07. Préparation de microplaque.

