



République Algérienne Démocratique et Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La recherche Scientifique

Université Abbès Laghrou – Khenchela

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département De Biologie Moléculaire et cellulaire

Mémoire en vue de l'Obtention du Diplôme de

Master académique

Filière : Science biologique

Option : Microbiologie

Thème

**Evaluation de la Sensibilité de la Flore
Bactérienne ; isolée des Smart-phones ;
aux Antibiotiques**

Présenté par : BOUTEBBA Manel & ATHMANI Nour El Houda

Devant le jury

- | | | |
|------------------|------------------------|-----------------------------|
| * Présidente: | Dr. DOUAOUYA L. | MCB. Univ. Khenchela |
| * Examinatrice : | Dr. YAKHLEF W. | MCB. Univ. Khenchela |
| * Promotrice: | Dr. KHEDDOUMAA. | MCB. Univ. Khenchela |

Remerciement

Avant tout, Nous remercions ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la volonté, la patience et le courage pour mener à terme notre formation de Master et pouvoir réaliser ce travail de recherche.

Nous Remercions les Membres de Jury :

Dr. DOUAOUIA LILIA (maître de conférences classe B) à l'université de Khenchela, qui nous a fait l'honneur de présider le jury.

Dr. YAKHLEF WAHIBA (Maître de conférences classe B) à l'université de Khenchela, d'avoir accepté d'examiner et juger ce travail.

Nous tenons à exprimer nos profonds Remerciements à notre promotrice Dr. KHEDDOUMA ASMA (Maître de conférences classe B), qui nous a guidé, de ses précieux conseils et suggestions, et la confiance qu'elle nous a données tout au long de ce travail. C'était un honneur pour nous de travailler avec une enseignante aussi émérite.

Nous adressons nos Remerciements à monsieur FELLOUS S. et à M^{elle} CHORFI K. pour leurs aides.

Un très grand Merci à M^{me} SARA l'ingénieur de laboratoire de microbiologie (labo 04) d'avoir été disponible pour nous durant notre séjour au laboratoire.

Un immense Merci à monsieur ATHMANI E. H. pour son aide précieuse.

Finalement, nous Remercions toute personne ayant contribué de prêt ou de loin à la réalisation de ce mémoire surtout le professeur KASAH, monsieur BOUYOUCEF S. , monsieur KHALED et monsieur YAZID.



Dédicace

Je dédie le fruit de mes efforts à :

Celui qui travaille le jour et la nuit, à celui qui rêve toujours qu'on soit parmi les cadres du pays, mon père 'El Hadi' que je suis fière de lui.

Celle qui m'a donné l'envi de rêver, et le souffle pour travailler très dur pour réaliser mon rêve, ma mère 'Samia' que j'admire énormément.

A :

La prunelle de mes yeux **Younes**

Mon frère : **Khaled** que j'adore et je respecte

La fleur de mon cœur et ma chère sœur : **Rayane**

Mes intimes : **Rahima , Imen et Sabrina**

Et plus particulièrement à **Manel**, Tu as été pour moi durant ces années plus qu'une amie, une sœur. Toute ma gratitude et ma sympathie.

A : Mon fiancé : **NABIL**

Spécialement à toute la famille « **ATHMANI** » et « **CHEKHRIT** »

Sans oublier tous mes collègues de travail de lycée
« **Bouzaher Mouhamed** »

HOUDA



Dédicace

Je dédie ce mémoire :

À ma très chère grande mère qui a été toujours présente pour moi, sans toi je n'aurais pas pu atteindre cette étape de ma vie, puisse dieu t'accorder longue vie, sante, bonheur.

A ma chère mère et mon père monsieur **Boutebba Rezki** à leur dévouement et à leur amour infini.

A mes chères sœurs : **Ines, Yasmine et Yousra.**

A celle que j'aime et j'admire, ma meilleure amie **Houda** tu es pour moi plus qu'une sœur tu es l'exemple de l'amitié et de la fidélité.

A toute ma famille, mes proches, mes amis et surtout mon oncle **Reda** qui était et qui est toujours à mes cotés.

Ainsi à toute personne qui m'as tenu aide et m'as soutenu, merci pour votre présence.

MANEL

Introduction	1
Etude Bibliographique	
I. Ecologie des cellules bactériennes	3
I.1. Les débuts de l'écologie microbienne	3
I.2. L'écologie microbienne aujourd'hui	4
I.3 Les écosystèmes et les bactéries	5
I.3.1. Les bactéries dans l'eau	6
I.3.2. Les bactéries dans le sol	6
I.3.3. Les bactéries dans les aliments	7
I.3.4. Les bactéries sur les surfaces	8
<i><u>I.3.4.1. Les bactéries sur les bureaux</u></i>	8
<i><u>I.3.4.2. Les bactéries sur les éviers</u></i>	9
<i><u>I.3.4.3. Les bactéries sur les ordinateurs et les mobiles</u></i>	10
<i><u>I.3.4.4. L'adhésion bactérienne en biofilm</u></i>	12
II. Les antibiotiques	13
II.1 Définition	13
II.2 Historique	13
II.3 Le choix d'un antibiotique	14
II.4. Mode d'action	14
<i><u>II.4.1. toxicité sélective</u></i>	14
<i><u>II.4.2. Inhibition compétitive</u></i>	15
II.5 Classification	15
II.6. L'antibiothérapie	17
II.7. Effets secondaires des antibiotiques	18

III. Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques	18
III.1. Définition	19
III.2. Types de résistance bactérienne	19
III.3. L'émergence et la propagation des résistances bactériennes	20
III.4. Mécanisme de résistance bactérienne	21
III.5. Détermination de la sensibilité d'une bactérie à un antibiotique	22
<i><u>III.5.1. Concentration minimale inhibitrice</u></i>	22
<i><u>III.5.2. Catégorisation clinique d'une souche ou interprétation des résultats des tests de sensibilité</u></i>	23
<i><u>III.5.3. Concentration minimale bactéricide</u></i>	23
<i><u>III.5.4. Concentration de prévention de mutant résistant</u></i>	23
III.6. Stratégies de lutte contre la résistance bactérienne	23
<i><u>III.6.1. Amélioration de la structure des anciens antibiotiques</u></i>	24
<i><u>III.6.1. Amélioration de la structure des anciens antibiotiques</u></i>	24
<i><u>III.6.2. Association avec des inhibiteurs des bêta-lactamases</u></i>	24
<i><u>III.6.3. Inhibition du transfert des plasmides</u></i>	24
<i><u>III.6.4. Utilisation des peptides antimicrobiens</u></i>	24
<i><u>III.6.5. Le contrôle de l'activité du riborégulateur</u></i>	25
<i><u>III.6.6. L'inhibition de l'ATP synthase mycobactérien</u></i>	25
<i><u>III.6.7. L'utilisation de la nanotechnologie</u></i>	25
<i><u>III.6.8. L'utilisation des ARN interférents</u></i>	25
<i><u>III.6.9. Phagothérapie</u></i>	26

Etude Expérimentale

I. L'échantillonnage	28
II. Isolement et purification microbienne	30
III. Identification des souches bactériennes	30
III.1. Tests préliminaires	30
III.2. Identification Biochimique	31
<i>III.2.1. La recherche de l'oxydase</i>	31
<i>III.2.2. La recherche de la Catalase</i>	31
<i>III.2.3. Identification (Test des galeries API®)</i>	32
IV. Test de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme standard)	34

Résultats et Discussion

I. Isolement et identification	36
II. Test de sensibilité aux antibiotiques	41
Conclusion	44
Références Bibliographiques	46

	Page
Figure 01 : Mode d'action des antibiotiques. (Mohammedi, 2012)	15
Figure 02 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques. (Site 13)	22
Figure 03 : Stratégies et les cibles bactériennes utilisées pour lutter contre la résistance aux antibiotiques. (Lemaoui <i>et al.</i> , 2017)	26
Figure 04 : Photographie des étapes de prélèvement par écouvillonnage	29
Figure 05 : Conservation et transport des échantillons dans une glacière à 4°C	29
Figure 06 : Tests biochimiques (recherche de la catalase et l'oxydase)	31
Figure 07 : Ensemencement des galeries API®	33
Figure 08. Méthode de l'antibiogramme standard, par diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH).	34
Figure 09. Présentation de pourcentage des souches isolées à partir des Smartphones des filles et des garçons.	36

	Page
Tableau I. Classification des antibiotiques (Mohammedi, 2012)	16
Tableau II. Les catégories choisis pour le prélèvement des échantillons	27
Tableau III. Les antibiotiques testés	34

ADH	Arginine DiHydrolase
API	Appareillage et Procédé d'Identification
ATB	Antibiotiques
CIT	Trisodium citrate
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
GEL	Gélatine
H ₂ S	Sodium thiosulfate
LDC	Lysine DéCarboxylase
NIT	Nitrate réductase
ODC	Ornithine DéCarboxylase
PAL	Phosphatases Alcalines
VP	Hydroxyde de potassium

Les microorganismes extrêmement diversifiés repartis dans les trois domaines du vivant, se distinguent les uns des autres par leur forme, leur taille et leur mode de vie (**Emmanuel, 2012**). Actuellement, l'étude de ces organismes microscopiques prend de l'ampleur dans la littérature scientifique en raison de leur co existence continue avec l'être humain ce qui a mené à la science de s'intéresser à ce monde pour connaître la relation entre les microorganismes et avec leur environnement dans lequel ils peuvent vivre de façon pacifique sans danger ou bien engendrer des effets néfastes pouvant nuire à la santé de l'homme .

Les bactéries sont les microorganismes vivants les plus concernées à ce type d'études, souvent considérées comme la cause principale de maladies plus ou moins graves chez l'homme. Elles ont été découvertes à la fin du 17^{ème} siècle par Anthoni Van Leeuwenhoek naturaliste hollandais, qui inventa la microscopie (**Philippe et al., 2019**).

Les bactéries se caractérisent d'une grande diversité écologique, elles se trouvent partout dans l'air, l'eau, le sol, les aliments, et sur les différentes surfaces biotiques et abiotiques. Dans Le corps humain les bactéries constituent la « flore commensale». Par exemple, au niveau du système digestif, le microbiote intestinal, largement impliqué dans les processus de digestion et de défense de l'organisme, est composé d'environ mille milliards de bactéries. Certaines de ces bactéries sont utilisées dans l'alimentation ou dans certains médicaments pour rééquilibrer le microbiote et rétablir une fonction digestive normale (**Site 01**).

Les bactéries peuvent aussi coloniser des objets, des outils qu'on utilise au quotidien et qui sont utiles au service de l'homme comme le téléphone portable, tablette tactile, télécommande....etc.

Le Smartphone qui est devenu indispensable, son utilité varie selon l'intérêt et le service qui l'offre. Vue l'implication de la technologie dans tous les domaines, l'homme est à présent accro à cette invention qui semble pratique et utile. Le Smartphone, que l'on emporte partout avec soi, est un nid qui abrite le plus de bactéries. Certaines études ont examiné la contamination microbienne des téléphones mobiles et le taux de contamination bactérienne des téléphones mobiles variait de 32 % à 97,8% (**Ustun et Cihangiroglu, 2012 ; Gholamreza et al., 2006**).

Pour cela il est important de mettre en valeur le risque d'utiliser le Smartphone qui peut être l'origine de graves infections et pathologies. Durant chaque appel téléphonique, le Smartphone est en contact étroit avec le corps humain sachant que des milliers de bactéries résident dans la peau (flore cutanée), les yeux, les oreilles comme flore commensale et qui peuvent être transférées au téléphone portable (**Uwingabiye *et al.*, 2015**).

Le Smartphone est donc un réservoir de bactéries potentiellement pathogènes dont la conséquence conduit à des maladies dangereuses et à thérapie nécessitant l'étude de ces bactéries et leurs réponses aux produits thérapeutiques tels que les antibiotiques.

A notre connaissance, aucune étude concernant l'étude bactériologique des téléphones mobiles n'est réalisée en Algérie. Cette étude visait à évaluer la contamination microbienne des téléphones mobiles utilisés par les étudiants de différents niveaux éducatifs et de tester la sensibilité des germes isolés vis-à-vis certains antibiotiques. Dans cette étude, on a choisi comme catégorie pour nos échantillons des élèves du CEM et des étudiants universitaires.

Ce travail est composé de trois parties principales et d'une conclusion générale. Le premier chapitre est l'étude bibliographique consacrée à l'étude du monde bactérien et l'antibiogramme. Le deuxième chapitre est une présentation des moyens, des appareillages et les méthodes spécifiques utilisés lors de l'expérimentation. Le dernier chapitre regroupe l'ensemble des résultats obtenus avec différentes séries d'expériences pour l'isolement bactérien et l'étude de la sensibilité des germes isolés et identifiés vis-à-vis différents antibiotiques.

I. Ecologie des cellules bactériennes

Ecologie ou science de l'habitat est une science qui étudie les relations réciproques entre les organismes vivants eux-mêmes et entre eux et leurs milieux (environnements). Elle a été créée en 1866 par l'allemand Ernest Haeckel (**Odum, 2016**)

Avec la découverte des microorganismes il s'est avéré essentiel d'étudier leur écologie ce qui a participé à la naissance de l'écologie microbienne, qui est une discipline au carrefour de l'écologie et de la microbiologie. Elle consiste à caractériser la biodiversité microbienne d'un écosystème et permet d'étudier la place et le rôle des micro-organismes dans un habitat (environnement, écosystème) ainsi que les interactions des micro-organismes entre eux et avec leurs milieux (**Boulila, 2001**).

I.1. Les débuts de l'écologie microbienne

Pendant longtemps, les recherches en microbiologie étaient focalisées essentiellement sur les cultures pures. Les difficultés ont négligé les recherches écologiques sur les microorganismes. En outre, l'écologie microbienne a eu à faire face à de grandes difficultés méthodologiques du fait de la petite taille de micro-organisme (**Boulila, 2001**).

Néanmoins les travaux pionniers ont montré, déjà au XIX^{ème} siècle, toute l'importance de la connaissance des microorganismes en rapport avec leurs environnements. En effet au début de XIX^{ème} siècle, Nicolas-Théodore de Saussure (1767-1845) mit en évidence la capacité de sol à oxyder l'hydrogène. De même, Jacques-Théophile Schloesing et Achile Muntz (1877) montrèrent l'oxydation de l'ammonium des eaux usées en nitrate à travers une colonne de sable, le fait que cette activité soit détruite par des vapeurs de chloroforme et par des ajouts d'inoculum de sol, leur permit de conclure à une activité par des micro-organismes (**Naili, 2018**).

A la même époque, Pasteur avait clairement établi le rôle des micro-organismes dans la biodégradation des substances organiques. Mais il faudra attendre les découvertes de Sergei Winogradsky à partir de 1887 pour réellement mettre en évidence le rôle fondamental des micro-organismes dans les voies de transformation des composés minéraux. En effet, il est le premier à parler de « la microbiologie des milieux naturels » (**Site 02**).

En 1950, il développa le concept de «microbiologie écologique » et présenta la synthèse de ses travaux sur la microbiologie des milieux naturels ; sols et eaux dans un ouvrage publié en 1949 intitulé « microbiologie des sols, problèmes et méthodes» qui restera un ouvrage de référence en écologie microbienne (**Boulila, 2001**).

Une autre école de microbiologie du sol se développa en parallèle en Hollande. Le microbiologiste hollandais Martinus Beijerinck (1851-1931) fut à l'origine de la découverte des bactéries symbiotiques et non symbiotiques de la fixation du di-azote et fut le premier à isoler des bactéries sulfato-réductrices (**Naili, 2018**). Ses travaux contribuèrent à la connaissance des cycles biogéochimiques des biotransformations microbiennes. D'après certains auteurs les travaux de Beijerinck associés à ceux de Winogradsky montrèrent grandement le rôle important des micro-organismes dans le recyclage des éléments et l'équilibre des écosystèmes nécessaires à la maintenance de la qualité des environnements et au maintien de la vie sur terre (**Boulila, 2001**).

I.2. L'écologie microbienne aujourd'hui

Dés 1970, l'écologie microbienne s'est fortement popularisée non seulement en niveau scientifique mais aussi au niveau social et politique. Depuis le XIXème siècle l'écologie microbienne concerne les interactions entre les micro-organismes et leur environnement ou bien entre les microorganismes et les autres composants biologiques des écosystèmes. Cette discipline est utile aussi pour l'étude des micro-organismes et de leurs rôles dans leurs environnements (**Boulila, 2001**).

L'écologie microbienne est également concernée par des problèmes de santé publique comportement des micro-organismes dans l'environnement, maladies infectieuses émergentes, demande en eau potable accrue contamination des aliments.

L'avancée des méthodes de biologie moléculaires, depuis les années 1980, a contribué à la connaissance de la diversité et des adaptations des communautés microbiennes dans les écosystèmes. Ceci a permis d'expliquer les interactions microbiennes par les flux de gènes et de la capacité de réponses de communautés microbiennes aux stress environnementaux (**Ranjard, 2012**).

I.3. Les écosystèmes et les bactéries

L'écosystème est défini comme un système dynamique constitué par un grand nombre d'individus vivant dans un même milieu et qui se maintient et se régularise grâce à de très nombreuses relations entre ses composants parmi les individus vivants se trouvent les bactéries comme microorganismes procaryotes, Leur génome est constitué d'ADN circulaire (un seul chromosome et éventuellement des plasmides). Les bactéries sont capables de synthétiser leurs propres macromolécules et constituants cellulaires à partir de nutriments. Leur taille est comprise entre 0,1 et 10 micromètres et leur morphologie est très diversifiée ; leur cellules peuvent être rondes (coques), allongées (bacilles, bâtonnets), intermédiaires (coccobacilles) ou encore spiralées (**Burtin 2013**).

Les bactéries sont présentes presque partout à la surface de la Terre : dans le sol, les milieux aquatiques, dans les êtres vivants ou même dans des écosystèmes extrêmes ; ceux-ci peuvent être un milieu très salé (bactéries halophiles), glaciaire ou une source thermale (bactéries thermophiles) (**Site 03**).

Chacun de ces biotopes possède sa propre flore bactérienne qui diffère qualitativement et quantitativement, ainsi que du point de vue des interactions entre les différentes bactéries.

Divers types d'interaction correspondent à différentes situations :

- La symbiose (croissance de deux espèces bactériennes dans un même biotope, à leur profit mutuel) ;
- Le commensalisme, situation dans laquelle le produit du métabolisme d'une espèce (l'hôte) avantage l'autre espèce (espèce commensale), sans dommage pour l'hôte ;
- Neutralisme (aucune interaction ne se manifeste entre les deux espèces cohabitant dans le même biotope) ;
- Antagonisme (une des espèces excrète une substance à activité antibiotique active sur l'autre espèce) ;
- Synergie (une des espèces synthétise un produit favorable au métabolisme de l'autre espèce) (**Site 04**).

I.3.1. Les bactéries dans l'eau

L'eau recouvre plus de deux tiers de la planète, dont plus de 97% sont mobilisés dans les océans et les mers, les microorganismes que l'on trouve dans l'eau ont des origines très variés : les océans constituent une source de matière organique pratiquement inépuisable, les formes bactérienne les plus fréquentes sont des bacilles à Gram négatif des genres *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Achromobacter*, *Vibrio*, *Cellvibrio*. Les espèces à Gram positif sont plus faiblement représentés : *Bacillus*, *Clostridium* (Naili, 2018).

I.3.2. Les bactéries dans le sol

Le sol est l'un des plus importants réservoirs de biodiversité de notre planète. On estime qu'un gramme de sol abrite plusieurs milliards de bactéries et champignons, avec plus de 1000 espèces différentes et que plusieurs centaines d'espèces faunistiques (protozoaire, nématodes, insectes, vers de terre) vivent également dans un petit volume de sol (quelques cm³). Cette grande diversité varie en termes de richesse taxonomique, d'abondance et de distribution en fonction du type de sol, des conditions climatiques, de la végétation et de l'utilisation des terres (Vincent, 2014).

Le manque de connaissance sur l'implication de la diversité microbienne dans le fonctionnement biologique du sol s'explique notamment par le fait que l'écologie microbienne est une science jeune qui s'est longtemps heurtée à des difficultés techniques, dues en majeure partie aux caractéristiques des microorganismes et du sol. En effet, les microorganismes, comme leur nom l'indique, sont de taille microscopique (de l'ordre du micromètre pour les bactéries). Leur diversité au sein du sol est immense, et peut compter près d'un million d'espèces de bactéries, archées et champignons pour un gramme de sol (Vincent, 2014).

La plupart des bactéries du sol sont situées sur les surfaces des particules du sol et nécessitent de l'eau et des éléments nutritifs qui doivent être situés dans leur voisinage immédiat, les bactéries à gram positif sont une partie importante de la communauté microbienne du sol, comprennent les *Corynebacteria*, les *Nocardia*, les actinomycètes qui jouent un rôle majeur dans la dégradation des hydrocarbures, des végétaux âgés, et l'humus du sol. En outre certains membres de ces groupes dégradent activement les pesticides .les actinomycètes principalement du genre *Streptomyces* produisant un composé aromatique appelé géosmine, qui donne au sol son odeur terreuse caractéristique (Mezaache-Aichour et Arif, 2011).

Certaines bactéries telles que *Pseudomonas* métabolisent rapidement les substances facilement utilisables telles que le sucre et les acides aminés. La cellulose est dégradée par des bactéries possédant la cellulase tels que : *Pseudomonas*, *Streptomyces*, *Bacillus*. Les microorganismes tels que : *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Acetobacter* fixant l'azote sont présents dans la surface des racines des plantes (**Mezaache-Aichour et Arif, 2011**).

I.3.3. Les bactéries dans les aliments

Les micro-organismes sont présents sur les plantes, les animaux, les Hommes, mais aussi partout dans l'environnement, c'est-à-dire l'eau, le sol et l'air. C'est la raison pour laquelle les aliments ne sont pas stériles, ils contiennent des micro-organismes dont le nombre varie d'un produit à l'autre. La plupart du temps, ces micro-organismes sont peu nombreux et donc ne provoquent pas d'intoxication alimentaire. En revanche, dans certaines conditions, la quantité de micro-organismes peut dépasser le seuil de tolérance de l'organisme et être responsable de toxi-infections. Il est donc indispensable de prendre certaines précautions pour réduire la vitesse de prolifération de ses micro-organismes et ainsi éviter la détérioration des aliments.

Ces aliments peuvent être contaminés par des microorganismes (**Boulboul , 2015**) d'origine:

- Exogène, c'est-à-dire que les aliments qui ont été contaminés l'ont été par des microorganismes qui provenaient de milieux naturels, comme l'air, l'eau ou le sol, ou bien par des microorganismes qui provenaient d'un contact avec la peau du consommateur. Les aliments peuvent également avoir été contaminés après avoir été utilisés en cuisine ou en usine. On peut citer comme exemple le lait, stérile dans la mamelle de l'animal (sain). Une fois la traite effectuée, lorsqu'on teste le lait en effectuant une analyse biologique, on trouve pratiquement à chaque fois la présence de divers microorganismes. Ces microorganismes sont essentiellement des bactéries ou des champignons provenant des eaux ou du sol. Ils ont pour origine l'extérieur de la mamelle, l'herbe ou l'eau servant au nettoyage de l'appareil de traite.

- Endogène, c'est-à-dire que les microorganismes proviennent de l'organisme à partir duquel l'aliment est produit.

Les bactéries naturellement présentes dans la flore des aliments sont capables de contrer ou de freiner le développement bactérien pathogène (**Boulboul , 2015**) :

- La flore intestinale : bactéries probiotiques
- agents antimicrobiens permettant la conservation des aliments : la bactérie occupe l'aliment et par un effet de compétition inhibe la croissance d'autres bactéries.
- utilisation des bactéries dans la fabrication des aliments : les bactéries lactiques.

Les bactéries présentes partout peuvent se trouver aussi sur tous types de surface biotique ou abiotique par contact direct ou indirect.

I.3.4. Les bactéries sur les surfaces

Le corps humain est investi par des bactéries diverses et variées, qui lorsque l'on est en bonne santé ne posent aucun problème, voire même constituent une «flore» qui nous protège contre les infections. Dans la bouche, le nez, le tube digestif et sur la peau, une multitude de bactéries vivent en bonne harmonie avec nous, sont nos alliées, nous défendent. En général, nous égrenons ces bactéries «saprophytes» dans notre environnement, notamment sur les objets que nous touchons le plus, bureaux, éviers, ordinateurs et téléphones mobiles. (Site 05)

I.3.4.1. Les bactéries sur les bureaux

Le bureau ; ce meuble peut en effet contenir plus de 6.000 bactéries par centimètre carré. (Site 06). Nombre d'entreprises sont soucieuses de l'apparence de leurs locaux et cherchent à offrir un environnement qui soit stimulant, sain et productif. Mais à y regarder de plus près, l'hygiène de certains bureaux nous réserve des surprises non visibles à l'œil nu. (Site 07). En effet, aussi propre et hygiénique qu'un bureau puisse paraître, en réalité, un monde de germes et de bactéries florissant peut prospérer, là où nous passons le plus clair de nos journées.

Dans n'importe quel bureau, des échanges de bureaux finissent toujours par avoir lieu à un moment donné ou à un autre. Cela contribue encore à la propagation des bactéries et lorsqu'on sait que certains types d'*E. coli* peuvent survivre pendant plus d'un an, tout devrait être fait pour contenir et combattre la présence des bactéries de manière générale. En plus de l'entretien régulier, la création de zones d'échange peut permettre de pallier au problème (Site 07).

On estime qu'environ 87 % d'entre nous mange à son bureau, soit parce que nous manquons de temps, soit parce qu'il n'y a pas d'autre alternative (la présence d'une cantine ou d'une salle de repos). Non seulement cela peut donner l'impression que l'on n'a pas de vraie pause de toute la journée mais, en plus, les miettes tombées et liquides renversés durant le repas créent un terrain favorable à la prolifération des bactéries. Une solution évidente est de mettre une salle commune à la disposition des employés, nettoyée de fond en comble en fin de journée (Site 07).

Liée au problème du déjeuner à son bureau, la vaisselle sale laissée sur son bureau l'après-midi, elle aussi, favorise la prolifération des bactéries. Qui plus est, les résidus de nourriture attirent les nuisibles qui, à leur tour, s'accompagnent aussi de bactéries. La seule réponse possible : une tolérance zéro (**Site 07**).

Selon l'enquête américaine, 60 % des travailleurs mangent sur leur bureau. Un très mauvais point puisque les miettes de pain sont souvent vectrices de bactéries. De manière générale, le bureau est cinq fois moins propre qu'une table classique et seul un employé sur cinq prend le temps de laver son espace de travail avant de déjeuner dessus (**Site 08**).

Le bureau est l'endroit parfait pour permettre aux bactéries de se développer. En vrai, on peut retrouver des traces de norovirus de grippe mais aussi de microbes bien plus dangereux : hépatites, virus et *E. coli*.

Bien sûr, rien de tout cela n'est irrémédiable mais cet état de fait demande un certain sens de l'organisation et surtout une hygiène irréprochable. Un nombre de conseils peut être donné pour éviter de transformer nos bureaux en zone contaminée. Le plus évident est de laver régulièrement l'espace de travail, le clavier et tous les autres composants informatiques à notre disposition. C'est en effet sur eux que la plus importante concentration de bactéries a été repérée. Il est également fortement conseillé de bien se laver les mains avant et après le repas, mais surtout après avoir été aux sanitaires (30 % des employés interrogés ne le feraient pas) (**Site 08**).

I.3.4.2. Les bactéries sur les éviers

De nombreuses familles passent la plupart de leur temps dans la cuisine. C'est un endroit favorable au développement des bactéries. En réalité, la plupart des cas d'intoxication alimentaire sont dus à une mauvaise hygiène dans la cuisine. L'évier, élément incontournable et indispensable pour l'aménagement de notre cuisine mérite de prendre un temps de réflexion pour trouver celui qui répond à toutes nos attentes (**Site 09**). Il peut être contaminé si les aliments crus (la volaille, les fruits crus, les légumes crus par exemple) sont rincés dans l'évier avant d'être cuisinés. L'évier peut également être contaminé lorsque certains ustensiles le sont déjà, tels que les éponges et les chiffons de nettoyage qui vont, par conséquent, favoriser la contamination bactérienne.

I.3.4.3. Les bactéries sur les ordinateurs et mobiles

I.3.4.3.1. Les ordinateurs

Des chercheurs américains ont découvert plus de 500 types de bactéries sur les claviers et souris d'ordinateurs. On estime que 80 % des infections sont transmises par le toucher, donc pas étonnant que toute zone en contact fréquent avec les mains est sujette à problème. Les deux objets que votre personnel touche le plus au bureau sont souvent leur clavier et leur souris (**Site 07**).

La pratique du « hot desking », qui consiste à travailler au poste de quelqu'un d'autre, se faisant de plus en plus courante, certains de vos employés partagent peut-être même leur équipement, ce qui augmente encore les risques de propagation microbienne. Mais, alors que le risque de contracter une infection à partir d'un clavier ou d'une souris est réel, le problème n'est pas difficile à résoudre. La combinaison : lavage des mains régulier plus nettoyage des appareils électroniques à l'aide de lingettes antibactériennes permet de considérablement réduire ces risques (**Site 07**).

I.3.4.3.2. Les téléphones mobiles

Pour beaucoup d'entre nous, l'époque du téléphone personnel au bureau est bien révolue alors que l'utilisation croissante du téléphone portable et des emails s'est chargée de remplacer la ligne fixe. Cela dit, le partage d'un téléphone fixe (interdépartemental) est de plus en plus courant dans les entreprises d'aujourd'hui et cela pose un risque évident pour la santé (**Site 07**)

En effet, la proximité de la bouche et des mains lors de la manipulation d'un combiné facilite grandement la transmission des germes. Encore une fois, en associant : lavage des mains réguliers et nettoyage du combiné à l'aide d'un produit antibactérien, les risques à la santé peuvent être considérablement minimisés (**Site 07**).

L'adhésion bactérienne sur une surface peut être décrite comme un processus en deux étapes successives :

- une première étape physique, instantanée et réversible : c'est l'étape d'attachement des bactéries sur la surface. Les microorganismes vont pouvoir adhérer à la surface par des liaisons physicochimiques (interactions électrostatiques, de van der Waals ou hydrophobes lorsque les interactions sont gouvernées par l'entropie) et par des interactions liées au mouvement brownien (mouvements incessants et aléatoires en solution).

- une seconde étape non instantanée liée à la physiologie des bactéries (nécessitant que les liaisons créées entre les bactéries et la surface durant l'étape d'attachement soient maintenues et consolidées), irréversible du point de vue chimique et cellulaire. Elle consiste en une adaptation de la bactérie à la surface. En résumé, « l'adhésion bactérienne » est une situation dans laquelle la bactérie adhère à une surface par des interactions physico-chimiques, adapte sa physiologie et sa conformation (Emilie, 2012).

L'adhérence aux surfaces offre de nombreux avantages aux bactéries. L'attachement aux surfaces horizontales stimule la croissance bactérienne (en particulier dans les environnements pauvres en éléments nutritifs) car la matière organique en suspension dans le liquide se dépose, se dépose sur les surfaces et augmente la concentration locale en éléments nutritifs. De même, l'augmentation de la surface du substrat (par exemple en ajoutant des billes de verre dans un récipient de culture) offre plus de surface sur laquelle les nutriments peuvent être adsorbés, permettant ainsi aux cellules de se développer à des concentrations de nutriments qui seraient normalement trop faibles pour soutenir la croissance.

Caulobacter crescentus est un exemple fascinant de bactérie qui tire parti de l'attachement à la surface pour optimiser l'absorption des nutriments. *C. crescentus* oscille entre les cellules pédonculées qui adhèrent étroitement aux surfaces en utilisant des cellules retenues protéiques et des cellules mobiles dépourvues de cet organite et qui possèdent plutôt un flagelle polaire. Ce changement phénotypique permet aux cellules de s'adapter aux environnements riches en nutriments (favorisant la motilité) et pauvres en nutriments (favorisant l'adhésion) (Tuson, 2013).

L'adhérence aux surfaces présente également plusieurs inconvénients, notamment l'inhibition de la motilité, souvent due à un «commutateur» dans l'activation des gènes impliqués dans la motilité et l'adhérence: par exemple, les gènes codant pour flagelles peuvent être désactivés par le même régulateur de transcription sur les gènes pour la production de matrice extracellulaire. L'inhibition de la motilité cellulaire empêche les cellules de rechercher des environnements optimaux lorsque les nutriments s'épuisent (Tuson, 2013).

I.3.4.4. L'adhésion bactérienne en biofilm

La plupart des espèces bactériennes ne vivent pas individuellement en suspension, mais en communautés complexes adhérant à des surfaces (**Site 10**). Suite à l'adhésion bactérienne, les bactéries peuvent proliférer et changer de mode de vie, formant une « communauté bactérienne », appelé biofilm bactérien, présent sur toutes les surfaces de notre quotidien. Dans le biofilm, elles renforcent leur protection vis-à-vis des agents extérieurs et peuvent devenir par exemple beaucoup plus résistantes aux antimicrobiens (**Emilie, 2012**).

Antonie Van Leeuwenhoek observe la présence de microorganismes (animalcules) issus d'un échantillon de grattage de sa propre surface dentaire. Il peut être considéré comme le découvreur des biofilms (**Site 10**)

Les bactéries attachées aux surfaces existent souvent sous forme de biofilms, qui jouent plusieurs rôles protecteurs. La substance polymère extracellulaire (PSE) sécrétée par les cellules des biofilms fixés aux surfaces assure la protection contre les dommages mécaniques et le cisaillement causés par l'écoulement du fluide. De plus, les biofilms présentent souvent une résistance au traitement antibiotique (**Tuson, 2013**).

II. Les antibiotiques

II.1. Définition

Par opposition au phénomène de symbiose, le mot antibiotique dérive du terme "*antibiose*" créée en 1889 par Vuillemin pour désigner les phénomènes d'antagonisme entre les micro-organismes vivants (**Chenouf et Nafti, 2008**).

Un antibiotique est une substance produite par des micro-organismes vivants ou substance analogue obtenue par synthèse, capable d'inhiber *in vivo*, la multiplication de micro-organismes pathogènes (action bactériostatique) ou capable de provoquer leur destruction (action bactéricide) (**Hallouët, 2016**).

II.2. Historique des antibiotiques

Alexander Fleming découvre les antibiotiques en 1928 : Fleming laisse des cultures de la bactérie *Staphylococcus aureus* dans son laboratoire. À son retour, il observe que certaines de ces cultures ont été accidentellement contaminées par une moisissure appelée *Penicillium* (champignons), ce qui a tué les bactéries, la pénicilline est donc le premier antibiotique découvert.

En 1944, Selman Abraham Waksman (1878-1973) découvre un puissant antibiotique, la streptomycine, actif, en particulier, sur le bacille de la tuberculose. C'est une des principales découvertes dans l'histoire de la médecine et de l'humanité (**Chenouf et Nafti, 2008**).

Il faut dire que la généralisation de l'usage des antibiotiques dans les années cinquante a permis de diminuer fortement les taux de morbidité et mortalité dues aux bactéries.

Cependant, au fil des ans les bactéries ont commencé à devenir plus ou moins résistantes à l'action des antibiotiques. Pour pallier l'émergence rapide de souches bactériennes résistantes, de nouvelles molécules comme la méticilline et l'oxacilline seront obtenues en 1960, la dicloxacilline en 1965 et la Fluocloxacilline en 1970.

L'acide clavulanique sera obtenu à partir d'une souche de *Streptomyces clavuligerus* en 1976. Quelques 10.000 antibiotiques d'origine naturelle sont connus à ce jour dont environ 80% proviennent de bactéries et 20% de moisissures. Tous ne sont pas employés, les effets toxiques de certains d'entre eux empêchant leur utilisation en médecine humaine et vétérinaire (**Diakite, 2009**).

II.3. Le choix d'un antibiotique

Le choix d'un antibiotique dépend de l'antibiogramme qui permet de déterminer la sensibilité ou la résistance de chaque famille de germe à tel antibiotique (application de différents antibiotiques sur la colonie retrouvée et observation de leur efficacité), les associations d'antibiotiques élargissent le spectre antibactérien, et diminuent le risque de résistance. Leur action peut être synergique (**Hallouët, 2016**).

Il est prudent de vérifier leur compatibilité physicochimique. Les prescriptions d'antibiotiques doivent être mesurées car leur utilisation massive est source de résistance des germes (l'agence du médicament demande de rationaliser les prescriptions).

Le choix Dépend aussi des signes cliniques de la personne, du site d'infection ou des potentiels effets secondaires... et de l'écologie bactérienne hospitalière et aussi doit être le plus efficace tout en étant le moins nocif possible. Le spectre d'activité est actif sur la bactérie responsable de l'infection; et diffuse dans l'organe où les bactéries responsables de l'infection sont présentes (**Jean-Marc, 2012**).

II.4. Mode d'action des antibiotiques

II.4.1. toxicité sélective

Quatre catégories d'antibiotiques peuvent être distinguées par rapport à leur mode d'action (**Jacque , 2014**):

- Les antibiotiques inhibant la synthèse de la paroi bactérienne : bêtalactamines, glycopeptides, fosfomycine ;
- Les antibiotiques inhibant la synthèse des protéines : aminosides, macrolides, rifampicine, tétracyclines ;
- Les antibiotiques inhibant le fonctionnement de l'ADN : quinolones, sulfamide/triméthoprime ;
- Les antibiotiques entraînant la destruction de la membrane cytoplasmique.

II.4.2. Inhibition compétitive

Dans ce cas l'antibiotique est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (Mohammedi, 2012)

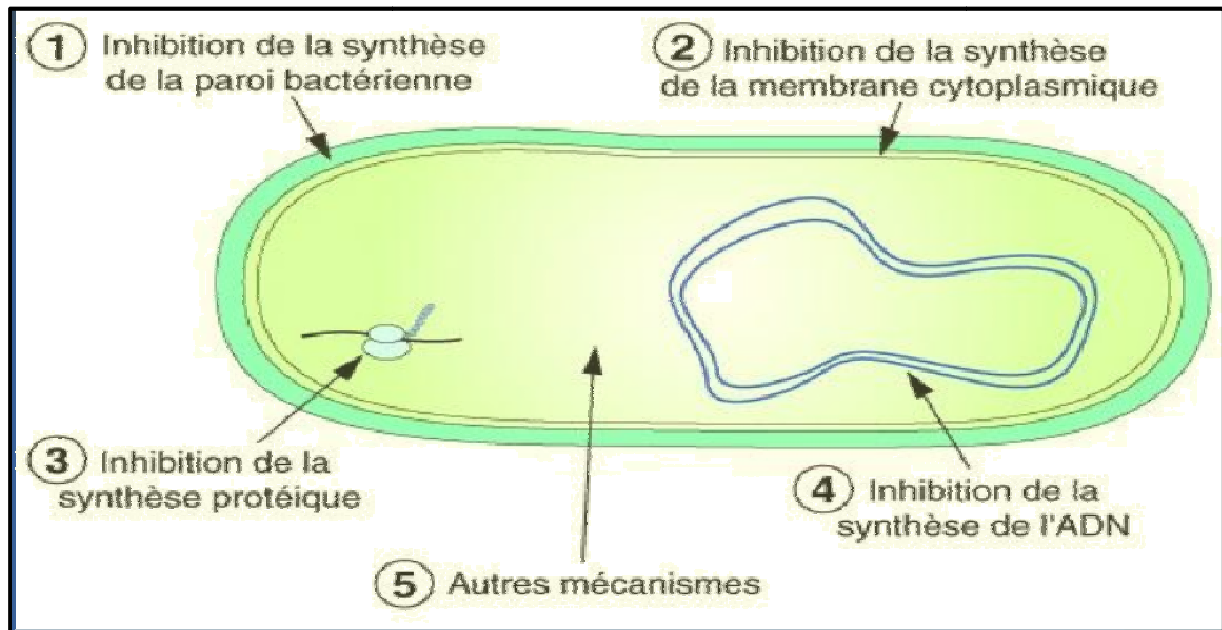


Figure 01. Mode d'action des antibiotiques (Mohammedi, 2012)

II.5. Classification (Mohammedi, 2012)

La classification des antibiotiques peut se faire selon :

- Origine : élaboré par un organisme (naturel) ; Champignons : *Penicillium notatum* : Pénicilline ; Actinomycètes : *Inyoensis streptomycetes* : Sisomycine . Ou produit par synthèse (synthétique ou semi synthétique) ;

- Mode d'action : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques ;

- Spectre d'activité : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large) ;

- Nature chimique : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle β lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse. La classification selon la nature chimique nous permet de classer les antibiotiques en familles (β lactamines, aminosides, tétracyclines.....etc.) Nous adopterons la classification selon le mode d'action.

Nous disposons aujourd’hui d’une panoplie assez large d’antibiotiques permettant de trouver le produit adapté à chaque type d’infection et à chaque patient. Les principales familles d’antibiotiques prescrites sont : les bêta-lactamines (pénicilline, céphalosporine et autres), les tétracyclines, les aminosides, les macrolides et apparentés, les fluoroquinolones, les antibiotiques glycopeptidiques, les sulfamides et les antibiotiques divers (acide fusidique, fosfomycine, thiampénicol, polymyxine, linézolide, rifampicine...) (Jacques, 2014).

Tableau I. Classification des antibiotiques (Mohammedi, 2012)

Famille d'Antibiotiques	Classe d'Antibiotiques	Modes d'Action	Spectre d'Activité	Exemples des molécules
Beta-lactamines	Bactéricides	Inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne	large spectre Bactéries : Gram+, Cocci Gram-	Pénicilline, Ampicilline, Carbapénèmes, Céphalosporines
Polymyxines	Bactéricides	Perturbation de la structure de la membrane interne des bactéries (membrane plasmique)	Spectre active contre les bactéries aérobies à Gram négatif, alors que les bactéries à Gram positif et les anaérobies sont usuellement résistants	Colistine, PolymyxinesB
Aminosides	Bactéricides	Inhibition de la synthèse des protéines bactériennes	Spectre étroit Cocci et bacilles à Gram+, Cocci et bacilles à Gram-	Streptomycines, Kanamycines, Amicacines,...
Macrolides	Bactériostatiques		Spectre étroit	Erythromycines, Kétolides
Cyclines	Bactériostatiques		actif sur <i>Helicobacter pylori</i>	Dérivés des tétracyclines
Quinolones	Bactéricides	Perturbation de la structure de l'ADN bactérien	large spectre actif sur bacille gram négatif et staphylocoque	Ofloxacine, Ciprofloxacines, Norfloxacines, lévofloxacines

Sulfamides	Bactériostatiques	inhibent la synthèse des folates, acides puriques et acides nucléiques en se fixant sur la dihydroptéroate synthétase (DHPS)	Bactéries à Gram -	Sulfapyridine, Sulfafurazole, Sulfaméthoxydiazine, Sulfaméthoxypyridazine, Sulfaméthoxazole, Sulfaméthizole, Sulfaguanidine
Antibiotiques glycopeptidiques	Bactéricides	paroi bactérienne en bloquant la polymérisation du peptidoglycane par un mécanisme complexe	spectre étroit actif sur les staphylocoques méti- résistants qui résistent au B lactamines	Vancomycine, Teicoplanine
Antituberculeux	Bactéricide et Bactériostatique	L'inhibition de la synthèse des acides mycoliques	actif sur les mycobactéries et quelques Cocci à Gram positif	les bactériostatiques (éthambutol, éthionamide) les bactéricides: (isoniazide, rifampicine, streptomycine, pyrazinamide)

II.6. L'antibiothérapie (Site 11)

- L'antibiothérapie peut être :
- Préventive
- Curative : l'antibiothérapie probabiliste est celle que l'on administre, pour une pathologie donnée, en fonction de la bactérie qui a le plus de chance d'en être la cause. On utilise des antibiotiques de première intention. On change d'antibiotique en deuxième intention :
- Quand le germe est connu
- Quand on rencontre un phénomène de résistance ;
- En cas d'effets indésirables.

II.7. Effets secondaires des antibiotiques

Selon la toxicité de chaque produit et la tolérance de chaque personne, l'effet secondaire peut s'agir d'un risque majeur ; un choc anaphylactique, urticaire, œdème de Quincke (risque d'œdème laryngé) ou encore d'autres réactions cutanées bénignes ou générales (fièvre, douleurs des articulations...). Comme il peut être sous forme d'une toxicité de certains antibiotiques qui peuvent avoir des effets graves : syndrome néphrotique, troubles hépatiques, digestifs, cochléovestibulaires de l'oreille, encéphalopathies (à forte dose), trouble de la conscience et convulsions (**Hallouët, 2016**).

Face au développement des phénomènes de résistance dans le monde, la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques sont insuffisants. La plupart des nouvelles molécules commercialisées ou en cours d'évaluation ne présentent pas d'innovation thérapeutique et n'ont pas démontré de supériorité en terme d'efficacité. Il n'existe pas d'antibiotique universel et les nouvelles molécules n'apportent au plus qu'une réponse à un seul des mécanismes de résistance existants. Alors qu'aujourd'hui, des patients meurent d'infections à germes toto-résistants, la poursuite des investissements dans le domaine de l'infectiologie est nécessaire en particulier dans la recherche de nouveaux mécanismes d'action (**Matthieu et Olivier, 2018**).

III. Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques

Déterminer la sensibilité et/ou la résistance aux antibiotiques d'une bactérie isolée dans un prélèvement, suppose de la considérer comme responsable d'un processus infectieux.

Il s'agit donc d'une aide au choix du traitement d'une infection qui ne doit être proposée qu'à bon escient, c'est-à-dire lorsqu'il existe une forte probabilité d'implication de la bactérie isolée dans le processus infectieux. Effectuer cette démarche pour une bactérie non pathogène engage la responsabilité du biologiste car elle peut à inciter le clinicien à un traitement inutile, voire dangereux pour le patient. Il est relativement aisé d'identifier les situations où l'antibiogramme est utile, voire obligatoire, il est parfois beaucoup plus délicat d'identifier celles où il est inutile (**Jehl et Twizeyimana, 2015**).

Cependant, l'utilisation massive et répétée d'antibiotiques en santé humaine et animale génère au fil du temps une augmentation des résistances bactériennes. En effet, les antibiotiques agissent non seulement sur la bactérie responsable de l'infection à traiter, mais également, pour la majorité d'entre eux, sur les bactéries utiles et non pathogènes de notre organisme et de l'environnement.

Toutes les bactéries sont ainsi susceptibles d'acquérir de nouveaux mécanismes de résistance aux antibiotiques, en complément de ceux que certaines d'entre elles possèdent naturellement **(Brun-Buisson, 2016)**.

III.1. Définition de la résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques est un phénomène aussi ancien que l'apparition des antibiotiques. Aujourd'hui, souvent d'origine synthétique et produits par l'homme, les antibiotiques sont au départ des substances naturelles générées par des champignons mais aussi par certaines bactéries pour se "défendre" contre les autres bactéries. Les bactéries n'étant pas suicidaires, les premières qui ont appris à synthétiser des antibiotiques ont développé dans le même temps les moyens de s'en protéger. Il s'agit là de résistance naturelle aux antibiotiques **(Lozniewski et al., 2010)**.

Il existe un grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques », qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques) et qui ne se recoupent pas forcément. Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance *in vitro*) et sur les critères cliniques (résistance *in vivo*). Selon la définition microbiologique du terme, une souche est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées.

Par conséquent, la résistance est une propriété qui ne peut être étudiée que par comparaison d'au moins deux souches, dont l'une de référence souvent appelée souche sauvage et développée en laboratoire à partir d'individus prélevés dans la nature, d'une même espèce ou d'un même genre, cultivées dans les mêmes conditions. Selon la définition clinique, une souche est qualifiée de résistante lorsqu'elle survit à la thérapie antibiotique mise en place **(Muylaert et Mainil, 2012)**

III.2. Types de résistance bactérienne

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable, transmise à la descendance (elle a pour support génétique le chromosome bactérien) mais elle n'est pas ou peu transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes) **(Lozniewski et al., 2010)**.

A côté de la résistance naturelle existe aussi des résistances acquises ; il s'agit d'un caractère qui ne concerne alors que quelques (ou parfois de nombreuses) souches d'une espèce donnée. La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien. La résistance acquise résulte d'une modification du capital génétique de la bactérie, lui permettant de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce (**Lozniewski et al., 2010**).

Résistance par mutation chromosomique : Les résistances bactériennes par mutation chromosomique sont induites par des modifications structurales pouvant se traduire soit par un problème de perméabilité à un ou plusieurs antibiotiques, soit en rendant les cibles spécifiques des antibiotiques indifférentes. La résistance chromosomique est un phénomène qui présente plusieurs caractères exceptionnels. Il s'agit premièrement de sa rareté puisqu'il intervient en moyenne tous les 10⁵ à 10¹⁰ divisions de la bactérie. Ensuite elle possède un caractère aléatoire car l'antibiotique n'est par une molécule mutagène donc n'induit pas de mutation. Cependant l'antibiotique participe à la sélection des bactéries mutantes. On note aussi son caractère spécifique (affecte un antibiotique ou une famille d'antibiotiques qui ont le même mécanisme d'action), son indépendance et son absence de transmissibilité (**Jean-Luc, 2013**).

La résistance par acquisition de gènes : Elle s'agit ici de la résistance par un gain d'ADN extra-chromosomique le plus souvent un plasmidique. A travers ce mécanisme, on se trouve face à une facilité d'acquisition de résistance et même de multi-résistance contrairement à celle acquise par mutation d'ADN chromosomique. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente) (**Jean-Luc , 2013**).

III.3. L'émergence et la propagation des résistances bactériennes

L'augmentation des résistances bactériennes est étroitement corrélée à l'usage des antibiotiques. Leur mauvaise utilisation telle qu'un traitement mal adapté, arrêté trop tôt, ou trop peu dosé, va tuer essentiellement les bactéries les plus sensibles, et favoriser la sélection des plus résistantes. Mais le facteur clé favorisant le développement des résistances est la surconsommation d'antibiotiques, chez l'homme comme chez l'animal. Dans les pays en développement, la contrefaçon de médicaments sous-dosés et la vente libre d'antibiotiques contribuent aussi au renforcement des résistances (**Site 12**).

III.4. Mécanismes de résistance bactérienne

Les conditions de l'activité d'un antibiotique peuvent être schématisées de la manière suivante : l'antibiotique doit pénétrer dans la cellule bactérienne trouver la cible moléculaire de son action y parvenir sous forme active et se maintenir au contact de cette cible à une concentration suffisante pour inhiber l'agent pathogène. Les mécanismes de la résistance peuvent concerner une ou plusieurs de ces conditions.

Trois principaux mécanismes sont connus (**Diakite, 2009**):

- **Inactivation enzymatique** La bactérie synthétise des enzymes qui agissent en inactivant les molécules d'antibiotiques, c'est le cas des beta-lactamines, du chloramphénicol et des aminosides.

- **Modification de la cible** Ceci se produit par une altération de la cible de l'antibiotique; ou par simple déviation de la cible appelé By-pass. Ce By-pass entraîne une duplication de la cible de l'antibiotique.

- **Diminution de la concentration de l'antibiotique dans la bactérie** Ceci se fait par deux mécanismes :

- ✓ Soit une imperméabilité des membranes cellulaires bactériennes à l'antibiotique ce qui empêche sa pénétration.
- ✓ Soit par le phénomène d'efflux qui correspond à une sortie de l'antibiotique en dehors de la bactérie.

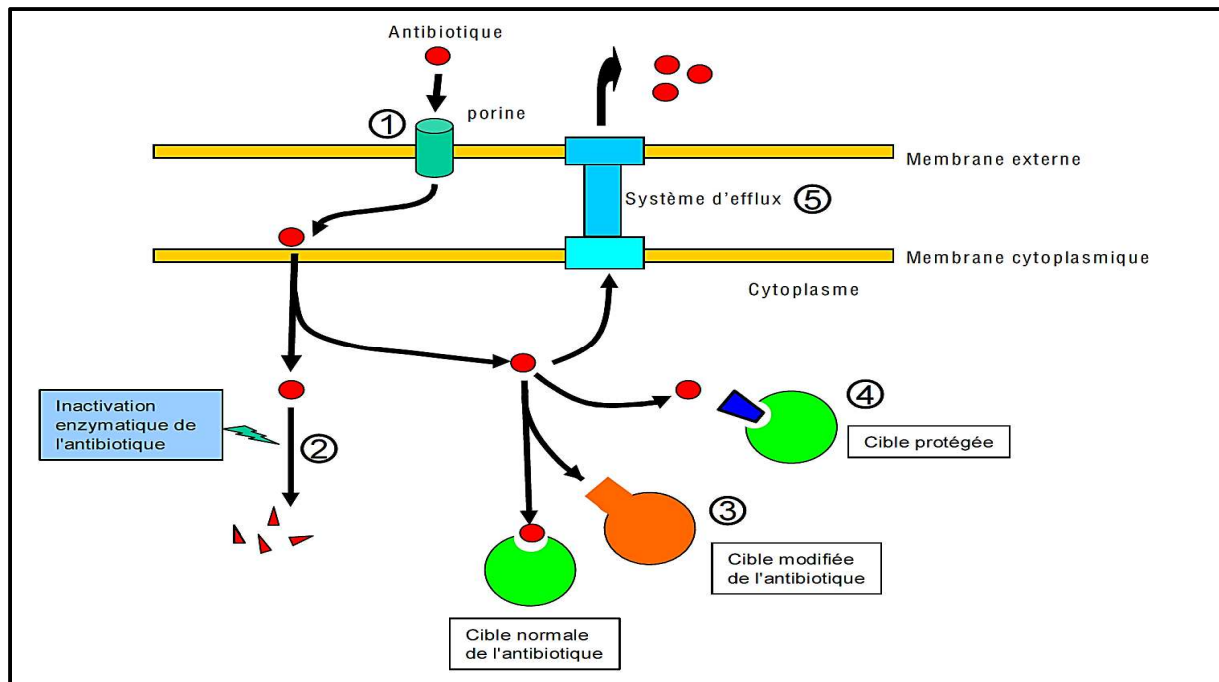


Figure 02. Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques (Site d'internet 13)

(1) La perte de porines entrave la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie (impermeabilité membranaire des bactéries à Gram -), (2) L'antibiotique peut être inactivé par l'action d'une enzyme, (3) La modification de la cible empêche la fixation de l'antibiotique (\downarrow de l'affinité), (4) La protection de la cible empêche la fixation de l'antibiotique (une nouvelle protéine vient protéger la protéine cible de l'ATB en se fixant sur elle), (5) Les systèmes d'efflux (transporteurs) provoquent une excrétion de l'antibiotique hors de la cellule.

III.5. Détermination de la sensibilité d'une bactérie à un antibiotique

III.5.1. Concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) d'un antibiotique correspond à la plus faible concentration capable d'inhiber toute croissance visible des bactéries d'un inoculum dont la taille est prédéfinie (10^4 à 10^5 bactéries) dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées (18 à 24 heures d'incubation, à pression atmosphérique et à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéro-anaérobie (Muylaer et Mainil, 2012).

III.5.2. Catégorisation clinique d'une souche ou interprétation des résultats des tests de sensibilité

La catégorisation clinique d'une souche bactérienne au sein du système SIR pour « Sensible, Intermédiaire, Résistante » vis-à-vis d'un antibiotique repose sur, d'une part, la détermination *in vitro* de sa CMI, et d'autre part, la confrontation de la valeur de la CMI mesurée à deux valeurs de concentrations critiques proposées par des comités d'experts nationaux et internationaux. On établit une concentration critique inférieure « c » et une concentration critique supérieure « C » à partir de différentes données, Une souche sera déclarée sensible à l'antibiotique lorsque sa CMI est inférieure à c, résistante si la CMI est supérieure ou égale à C et intermédiaire si elle est comprise entre ces deux valeurs (mais supérieure ou égale à c). (Muylaer et Mainil, 2012)

III.5.3. Concentration minimale bactéricide

La concentration minimale bactéricide (CMB) d'un antibiotique correspond à la plus faible concentration capable de tuer 99,99 % des bactéries d'un inoculum prédéfini dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées (18 à 20 heures d'incubation, à pression atmosphérique et à une température comprise entre 35 et 37°C pour les bactéries aérobies et aéro-anaérobies) (Muylaer et Mainil, 2012)

III.5.4. Concentration de prévention de mutant résistant

Les mutations, conséquence d'altérations au niveau de l'ADN existant ou d'erreurs survenant au cours du processus de réplication, se produisent naturellement au sein de tout organisme vivant. Face à ces mutations, les bactéries ont été contraintes de développer des mécanismes de correction et de réparation de l'ADN. Créant ainsi des bactéries dites « super mutantes », dotées de capacité d'adaptation plus élevées lorsqu'elles sont confrontées à un environnement hostile tel qu'en présence d'antibiotiques (Muylaer et Mainil, 2012).

III.6. Stratégies de lutte contre la résistance bactérienne

Depuis la découverte du premier cas de résistance aux antibiotiques dans les années 1940, les laboratoires pharmaceutiques n'ont pas cessé de développer des solutions et des stratégies, en particulier pharmacologiques, afin de limiter sa survenue.

III.6.1. Amélioration de la structure des anciens antibiotiques

La vancomycine, découverte en 1960, reste le traitement de la première intention des infections sévères à *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), malgré un effet bactéricide lent, un index thérapeutique étroit, une diminution de l'efficacité lorsque les CMI (concentration minimale inhibitrice) dépassent 1 mg/L, ce qui provoque une proportion croissante des souches. Par ailleurs, la résistance des *S. aureus* à la méticilline est à interpréter comme une résistance à l'ensemble des anciens bêta-lactamines. Des nouvelles molécules de cette classe ont été récemment proposées pour contourner les mécanismes impliqués dans la résistance (Lemaoui *et al.*, 2017).

III.6.2. Association avec des inhibiteurs des bêta-lactamases

Les bêta-lactamases sont des enzymes qui neutralisent l'activité des antibiotiques. Elles sont synthétisées par les bactéries résistantes aux bêta-lactames. Depuis plusieurs décennies, de nombreux inhibiteurs de bêta-lactamases spécifiques pour chaque classe ont été synthétisés et utilisés en association avec des antibiotiques sensibles au phénomène de la résistance (Lemaoui *et al.*, 2017).

III.6.3. Inhibition du transfert des plasmides

Les bactéries possèdent des mécanismes permettant le transfert de gènes à d'autres bactéries sous forme de plasmides, des molécules d'ADN surnuméraire distincte de l'ADN chromosomique. Ainsi, l'acquisition d'une résistance aux antibiotiques chez une bactérie peut être transmise aux autres en raison de la croissance rapide. De ce fait, l'inhibition du transfert de matériel génétique entre les souches bactériennes a été discutée comme une stratégie afin de limiter la résistance aux antibiotiques (Lemaoui *et al.*, 2017).

III.6.4. Utilisation des peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens (PAMs) sont synthétisés par tous les organismes vivants, de la bactérie à l'homme en passant par les végétaux. Ils représentent l'une des familles d'anti-infectieux les plus prometteuses qui ont été découverts au cours de ces dernières décennies. Avec leur large spectre d'activité, leurs effets bactéricides ainsi que leurs propriétés anti-inflammatoires et immunomodulatrices, ces molécules présentent de nombreux avantages par rapport aux anti-infectieux disponibles sur le marché. Le mode d'action des PAMs fait toujours appel à des interactions électrostatiques et hydrophobes et dépend du peptide lui-même et de sa concentration.

III.6.5. Le contrôle de l'activité du riborégulateur

Les riborégulateurs agissent soit en stoppant la synthèse de molécules essentiels qui sont en excès, soit en activant leur synthèse lorsque celles-ci sont en manque. L'idée de contrôler l'activité des ribosomes impliqués dans la synthèse des protéines de résistance a été proposée en 2007 comme une stratégie de lutte contre cette résistance (Lemaoui *et al.*, 2017).

III.6.6. L'inhibition de l'ATP synthase mycobactérien

Le traitement antituberculeux est souvent limité par la résistance des bactéries, notamment celui de la rifampicine et l'isoniazide. Afin de contourner cette résistance, une nouvelle molécule de la classe des antituberculeux a été récemment développée. Il s'agit de la bédaquiline qui présente la propriété de résister à l'action de l'ATP synthase impliquée dans la résistance par l'inhibition de celle-ci (Lemaoui *et al.*, 2017).

III.6.7. L'utilisation de la nanotechnologie

Les nanomédicaments constituent une approche intelligente dans l'amélioration des traitements de nombreuses maladies sévères. Il s'agit d'une administration de médicaments à l'aide des nanovecteurs. Ces derniers permettent de transporter et de libérer le principe actif au niveau de sa cible pharmacologique. Cette approche augmente par conséquent l'efficacité des médicaments et limite leurs effets indésirables en modulant le parcours pharmacocinétique ainsi que la biodisponibilité. Des études récentes ont montré que des constituants des nanoparticules comme l'argent (Ar), l'oxyde de zinc (ZnO), l'oxyde de cuivre (CuO) et l'oxyde ferrique (Fe₂O₃) ont des propriétés antibiotiques en particulier contre les bactéries Gram négatif comme le *S. aureus* et le *Bacillus subtilis* et contre les bactéries Gram positif comme le *P. aeruginosa* et l'*E. coli*. (Lemaoui *et al.*, 2017).

III.6.8. L'utilisation des ARN interférents

Une autre stratégie prometteuse de lutte contre la résistance aux antibiotiques fait appel à l'utilisation des courts fragments d'ARN de synthèse. Le principe consiste à trouver dans l'ADN ou l'ARN d'une bactérie certains sites qui contrôlent la synthèse des protéines responsables de la résistance aux antibiotiques, comme par exemple, les gènes qui codent pour les bêta-lactamases. On synthétise alors des segments d'ARN d'une vingtaine de paires de bases capables de se lier exclusivement avec ces sites. Cette liaison spécifique aboutit au blocage la synthèse des protéines impliquées dans la résistance. . L'administration de ce type d'ARN a permis d'améliorer l'efficacité de la méticilline contre l'infection pulmonaire à *Staphylococcus aureus* (Lemaoui *et al.*, 2017) .

III.6.9. Phagothérapie

Le concept de la phagothérapie a été envisagé pour le traitement des maladies infectieuses avant même l'apparition des antibiotiques. L'idée est d'utiliser des virus qui neutralisent les bactéries pathogènes par le processus de la bactériophagie. Cette méthode n'a pas abouti à des effets thérapeutiques en raison de ses effets indésirables en particulier immunitaires. Cependant, cette stratégie pourrait être prometteuse si on arrive dans le futur de limiter ces effets (Lemaoui *et al.*, 2017).

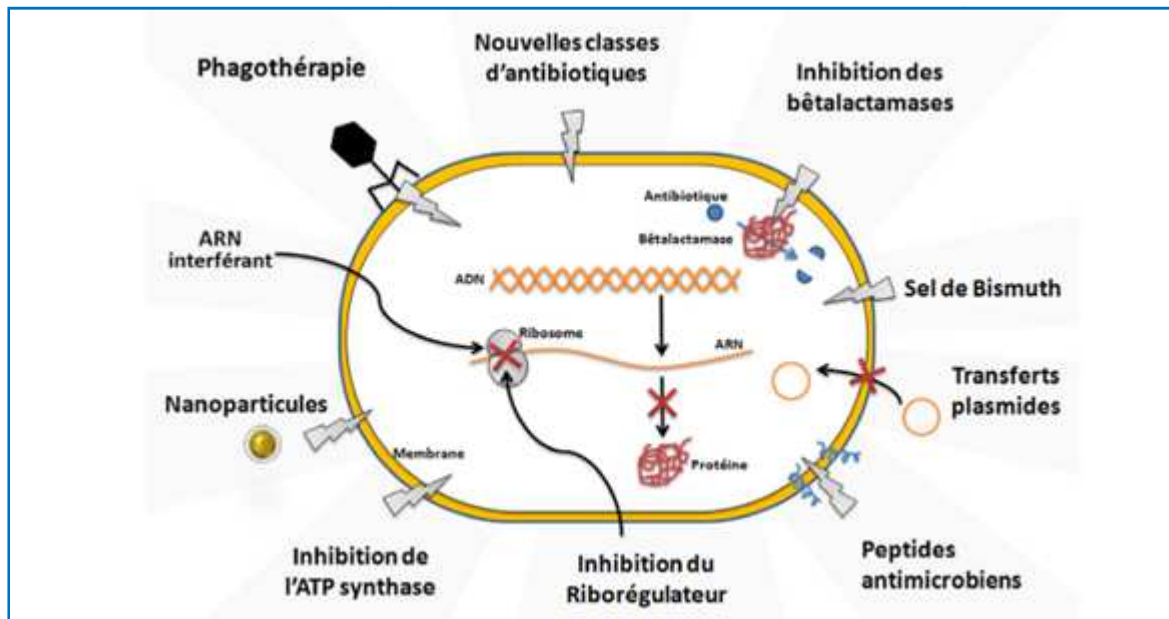


Figure 03. Stratégies et les cibles bactériennes utilisées pour lutter contre la résistance aux antibiotiques (Lemaoui *et al.*, 2017)

La diversité des mécanismes de résistance aux antibiotiques contribue au développement de souches multi résistantes et rend les antibiotiques classiques inefficaces pour le traitement des infections. Les approches thérapeutiques non antibiotiques, en particulier l'inhibition du quorum sensing, la thérapie par phage et l'utilisation de nanoparticules, ont montré des effets antimicrobiens importants contre les souches résistantes aux antibiotiques *in vitro* ou chez l'animal modèle, et ils sont considérés comme des alternatives ou des compléments aux antibiotiques conventionnels mais peu de ces nouvelles approches ont été converties à la pratique clinique en raison des coûts élevés, des effets secondaires et des problèmes de sécurité.

Cette étude a été réalisée dans une période de 30 jours, au niveau de laboratoires pédagogiques de l'université Abbes Laghrour (El- Hamma, Khenchela).

I. L'échantillonnage

Pour réaliser notre travail, des prélèvements ont été effectués par écouvillonnage (**figure 04**), à partir de 30 Smartphones appartenant à 3 catégories choisis aléatoirement (**tableau II**).

Tableau II. Les catégories choisis pour le prélèvement des échantillons

Catégories	Sexe	Age	Nombre des échantillons
Etudiants universitaires	Masculin	19-24 ans	10 prélèvements
Etudiants universitaires	Féminin	21-26 ans	10 Prélèvements
Elèves du CEM	Masculin et féminin	11-17 ans	10 prélèvements

Pour l'échantillonnage, on utilise des écouvillons stériles, l'écouvillon est fixé au couvercle et ne comporte pas de suremballage. Ceci facilite les manipulations et limite les déchets.

La méthode d'écouvillonnage consiste à :

- Dévisser le bouchon pour sortir l'écouvillon du tube ;
- Ecouvillonner la surface sur un carré de 10 cm de côté en inversant les sens d'écouvillonnage (horizontal, vertical, diagonal) ;
- Remettre l'écouvillon dans le tube, revisser le bouchon : l'échantillon est prêt pour l'analyse. (ONTARIO, 2012).



Figure 04. Photographie des étapes de prélèvement par écouvillonnage

Afin d'éviter les transformations physiques, chimiques et/ou microbiologiques entre le prélèvement et l'analyse, les échantillons (les écouvillons bien fermés) sont conservés à 4°C (**Hammadi *et al.*, 2008**) dans une glacière (**figure 05**) et transportés au laboratoire le plutôt possible.

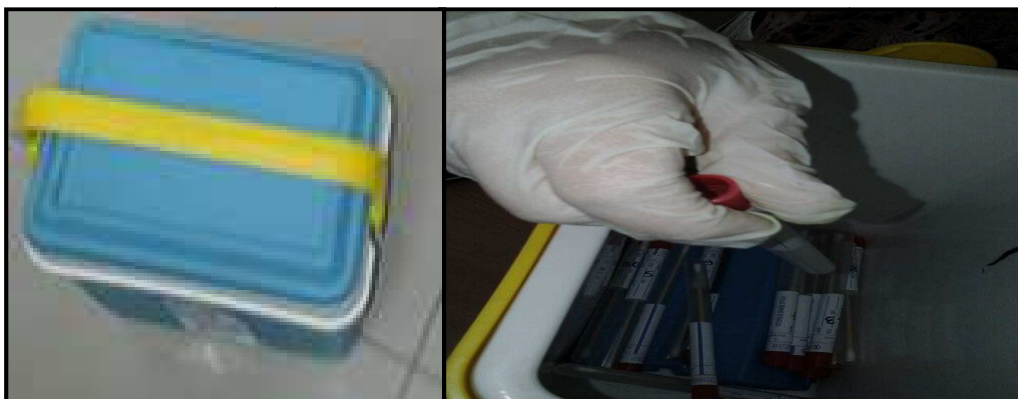


Figure 05. Conservation des échantillons dans une glacière à 4°C

II. Isolement et purification microbienne

C'est l'étape de base, il permet s'il est bien réalisé, d'obtenir des colonies isolées, donc d'obtenir des cultures pures d'une espèce bactérienne.

En premier lieu, une suspension bactérienne a été réalisée à partir des écouvillons chargés de bactéries, dans des tubes contenant 5ml d'eau physiologique stérile. Un échantillon de chaque tube est ensemencé (à l'aide d'une anse de platine) à la suite sur une gélose nutritive préalablement coulée dans les boîtes de Pétri. Les boîtes sont à la suite, incubées à 37°C pendant 24h.

Les colonies isolées ont été repiquées sur des nouvelles boîtes de différents milieux de culture (Chapman, Sabouraud, Hektoen, Mac Conckey, gélose au sang). Cette procédure permet d'obtenir des cultures pures (**Sharifi-Yazdi *et al.*, 2001**). Ces cultures sont identifiées à la suite par des tests physiologiques et biochimiques.

III. Identification des souches bactériennes

III.1. Tests préliminaires

- **L'état frais** : c'est une étape qui permet de mettre en évidence la forme des bactéries ainsi que le type de leur mobilité et leur regroupement (**Boussaboua, 2002**). L'observation est réalisée avec une petite goutte d'eau distillée stérile déposée au centre d'une lame stérile.

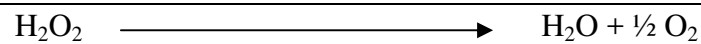
Une partie d'une colonie bactérienne pure est prélevée à l'anse et dissociée dans la goutte. Une lamelle stérile est ensuite appliquée sur la goutte en évitant la formation de bulles d'air, puis une observation microscopique est effectuée.

- **La Coloration de Gram** : c'est une coloration différentielle permettant la division des bactéries en deux grands groupes, Gram positif et Gram négatif. Un frottis est réalisé avec une goutte de suspension bactérienne déposée sur une lame stérile et ensuite étalée sur la lame de façon à obtenir un étalement mince, homogène, fixé à la suite par dessiccation en chauffant fortement deux à trois fois une demie seconde le frottis tenu à la pince. La coloration est enfin, opérée selon le protocole technique de **Prescott *et al.*, 2003**.

III.2. Identification Biochimique

III.2.1. La recherche de la Catalase

Le peroxyde d'hydrogène est toxique, mais certaines bactéries ont la capacité de le dégrader grâce à l'enzyme catalase (Guiraud, 1998). Pour cela, ce critère est utilisé dans la systématique pour l'identification des bactéries.



Pour tester la présence de cette enzyme chez les bactéries, il faut mettre une colonie à une petite tache sur une lame puis ajouter une goutte de H_2O_2 sur place (figure 06). Un dégagement de gaz indique l'activité de catalase (Rene *et al.*, 2003).

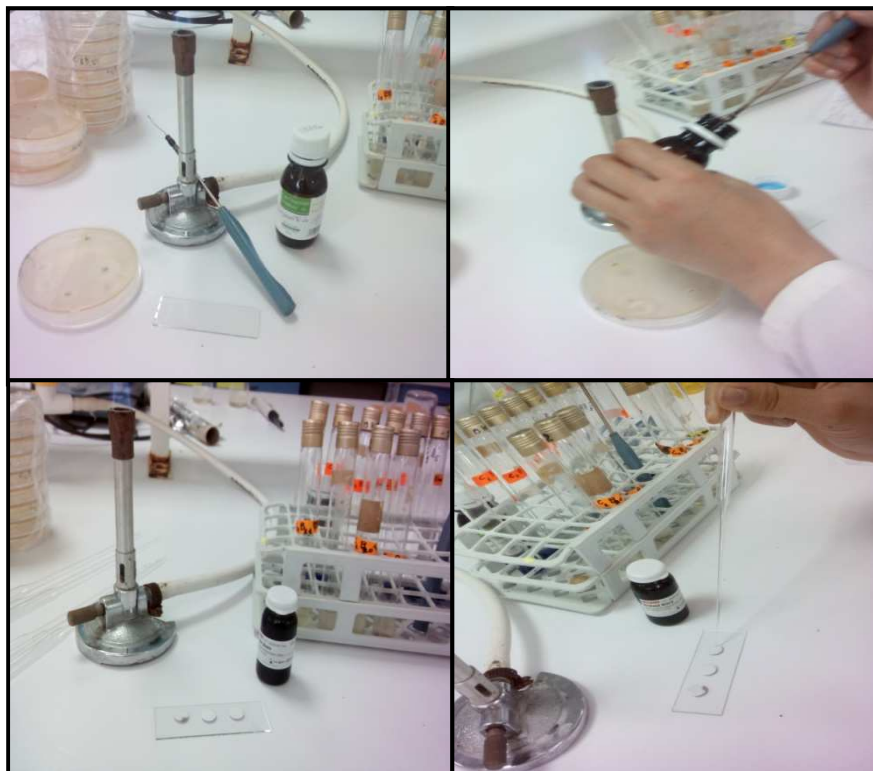


Figure 06. Tests biochimiques (recherche de la catalase et l'oxydase)

III.2.2. La recherche de l'oxydase

Les cytochromes sont des protéines qui appartiennent à la chaîne respiratoire, composée d'une succession de transporteurs d'électrons.

La recherche de l'oxydase est un des critères les plus discriminatifs et les plus employés pour l'identification des bactéries, surtout celle des bacilles à Gram négatif.

Cette recherche consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée à oxyder la forme réduite incolore de dérivés méthylés du paraphénylène diamine, en leur forme oxydée semi-quinonique rose violacé.

Cette enzyme est recherchée par la méthode des disques (**figure 06**). A partir d'un milieu solide, une colonie est déposée sur un disque oxydase placé sur une lame, à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée. Une réaction positive est révélée par l'apparition d'une tache violette.

III.2.3. Identification (Test des galeries API®)

Le système API (Appareillage et Procédé d'Identification) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des souches bactériennes, contient un ensemble de petits tubes prêts à l'emploi par la réalisation rapide et facile. Elle comprend 20 tests biochimiques, ainsi qu'une base de données.

Les tests du système API se sont révélés plus reproductibles que les tests classiques. Une taxonomie basée sur les tests API est en bon accord avec celles obtenues par d'autres méthodes (**Logan et Berkeley, 1984**).

Lorsqu'une suspension bactérienne de densité convenable est répartie dans les différentes alvéoles qui composent la micro galerie (contenant de substrats déshydratés), les métabolites produits durant la période d'incubation se traduisent par des changements de couleur spontanés ou révélés par addition des réactifs.

Dans cette étude, on a utilisé 02 types de galeries :

➤ **Galerie API 20 E (bioMérieux®)** : pour l'identification des Entérobactéries ; ce système est décrit aussi pour l'identification rapide et précise d'isolats de *Bacillus* (**Logan et Berkeley, 1984**).

A partir d'une culture fraîche sur milieu gélosé une suspension bactérienne dense est préparée en dissociant 4-5 colonies dans 5ml d'eau physiologique stérile. Les microtubes sont remplis soigneusement par cette suspension à l'aide d'une Micropipette. Le remplissage des microtubes est effectué en évitant la formation de bulles d'air qui empêcheraient le contact entre les bactéries à identifier et le réactif ou substrat à tester. Les cupules ont été remplies en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe pour les trois tests CIT, VP et GEL. Les cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent engendrer des résultats incorrects. Afin de créer les conditions d'anaérobiose requises pour les tests biochimiques de la

transformation des acides aminés arginine, lysine et Ornithine, respectivement, par les enzymes ADH, LDC et ODC. La libération d'ammoniac à partir de l'urée grâce à la présence de l'enzyme uréase d'ammoniac (urée) et la production d' H_2S . Les cupules correspondantes ont été recouvertes d'huile de vaseline.

Après incubation à 37°C pendant 24 heures, on note sur la fiche des résultats de toutes les réactions spontanées puis on révèle les tests nécessitant l'addition de réactifs (TDA, VP et Kovacs). L'identification est ensuite obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification et confirmée sur le site UPBM.org.

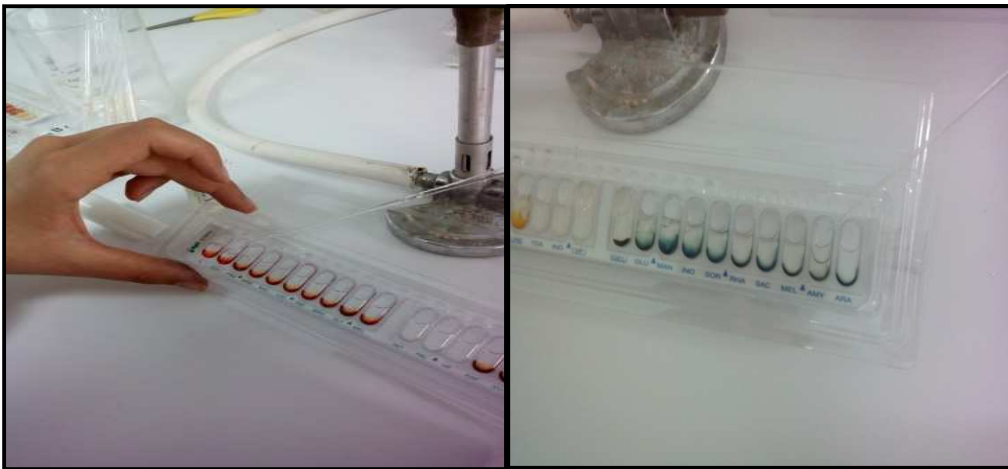


Figure 07. Ensemencement des galeries API®

➤ **Galerie API 20 Staph. (bioMérieux®):** pour l'identification des Staphylocoques.

La galerie API Staph® comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne réalisée dans API Staph Medium qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du Tableau de Lecture et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel d'identification et confirmée sur le site UPBM.org.

Après incubation, lire les résultats des réactions en ajoutant une goutte de chacun des réactifs suivants :

- Test VP : VP 1 et VP 2. Attendre 10 minutes : une couleur rose franche ou violette indique une réaction positive, une couleur rose pâle ou rose claire obtenue après 10 minutes doit être considérée négative.

- Test NIT : NIT 1 et NIT 2. Attendre 10 minutes : une coloration rouge indique une réaction positive.
- Test PAL : ZYM A et ZYM B. Attendre 10 minutes : une coloration violette indique une réaction positive.

IV. Test de sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme standard)

Nous avons testé la sensibilité de toutes les souches identifiées vis-à-vis différents antibiotiques (**tableau III**), par la méthode de l'antibiogramme standard, par diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH).

3 à 5 colonies sont prélevées et dissociées dans 5ml d'eau distillée stérile. Le milieu MH estensemencé par stries très serrées en 3 passages en faisant pivoter les boîtes de Pétri de 60°.

Les disques d'antibiotiques sont disposés sur la gélose, manuellement, avec une pince métallique stérile (**figure 08**).

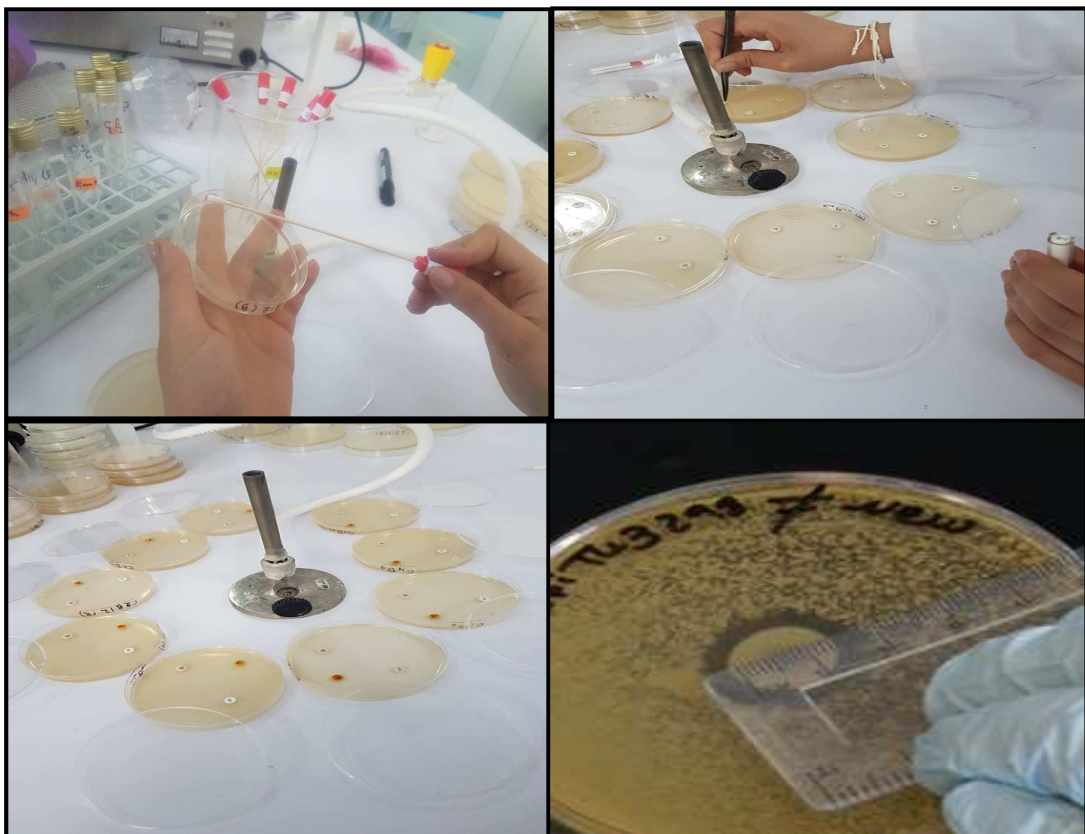


Figure 08. Méthode de l'antibiogramme standard, par diffusion sur gélose Mueller Hinton (MH).

Les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C. La lecture se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition obtenu autour des disques d'antibiotiques à l'aide d'une règle.

La mesure de ce diamètre permet de classer la bactérie après comparaison des diamètres à 02 catégories:

- **Sensible (S):** signifie que la probabilité de succès thérapeutique est forte, à condition que les autres paramètres pharmacologiques (diffusion au site de l'infection), toxicologique et clinique soient pris en compte ;
- **Résistant (R):** signifie que le risque d'échec thérapeutique est grand quelque soit le traitement.

Tableau III. Les antibiotiques testés

Antibiotique	Abréviation	Famille
Pénicilline	P	Bêta-lactamines
Oxacilline	OX	Bêta-lactamines
Pepiraciline	RL	Bêta-lactamines
Aztreonam	ATM	Bêta-lactamines
Ofloxacin	OFX	Quinolones
Nitrofurantoine	F	Nitrofuranes
Acide Fusidique	FA	Fusidanines
Pristinamycine	PT	Streptogramines
Vancomycine	VA	Glycopeptides
Erythromycine	E	Macrolides
Tétracycline	TE	Cyclines
Céfotaxime	CTX	Bêta-lactamines

I. Isolement et identification bactérienne

Cette étude visait à enquêter sur la contamination microbiologique des téléphones mobiles des étudiants universitaires et des élèves de CEM. Environ **84%** des téléphones portables étaient contaminés.

Par ailleurs, le téléphone portable est un immense réservoir de bactéries, ces dernières peuvent être transférés par un simple contact avec le corps humain (la bouche, le nez, les oreilles). (Ulger *et al.*, 2009) ont montré que durant chaque appel téléphonique le Smartphone est en contact étroit avec les parties hautement contaminés du corps humain les mains et autre organes. Par contre, certaines espèces isolées appartiennent à la flore normale de la peau et des mains.

La culture des bactéries isolées à partir des Smartphones des participants du sexe masculin était plus dense que celle isolée à partir des appareils des étudiantes et élèves du sexe féminin (**figure 09**) ; ce qui prouve le manque d'hygiène chez les garçons. Tout les participants du sexe masculin ont déclaré l'absence total de la désinfection de leurs mobiles, ils ont indiqué qu'ils répondaient toujours à leurs appels de téléphone portable lorsqu'ils se trouvaient dans la rue et les toilettes et la majorité des participants à cette étude ont déclaré avoir utilisé leur téléphone portable pour rechercher des informations et / ou prendre des photos. Par contre, **40%** des étudiants universitaires ont déclaré avoir déjà désinfecté leurs téléphones portables.

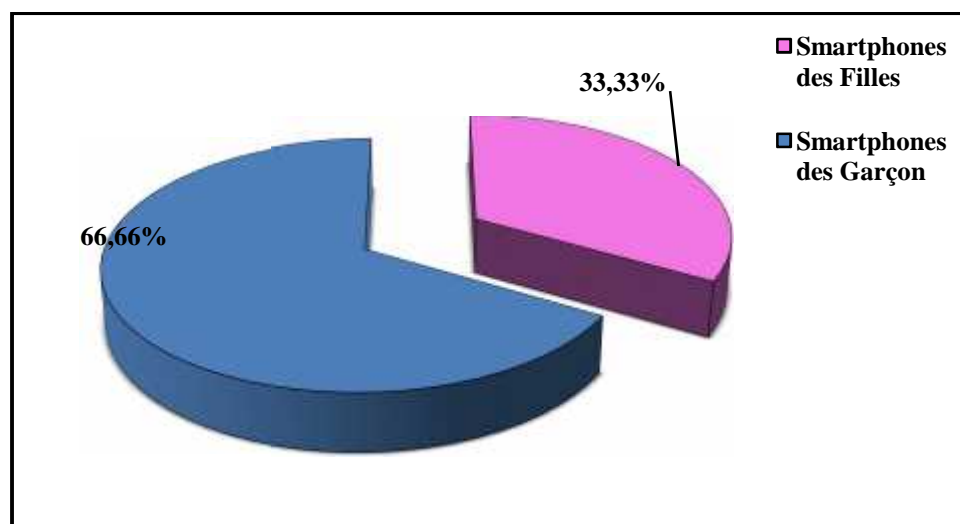


Figure 09. Présentation de pourcentage des souches isolées à partir des Smartphones des filles et des garçons.

Les étudiants qui ont déclaré nettoyer ou désinfecter leurs téléphones portables ont été interrogés sur la manière dont ils utilisaient pour la désinfection des téléphones portables, les filles ont déclaré utiliser des lingettes imbibées d'alcool et seulement une étudiante (5%) a utilisé un désinfectant personnel liquide pour les mains. Il y avait quelques étudiants qui avaient deux téléphones portables et d'autres qui utilisaient souvent des pochettes pour protéger leurs téléphones ce qui diminue leurs contaminations.

La désinfection des claviers et des téléphones mobiles (ou le nettoyage, s'il est retenu par les professionnels) doit être faite selon une technique très simple et efficace et doit être répétée de façon périodique ; la procédure ne doit pas détériorer le matériel (**Baron et al., 2016**).

Les lingettes pré-imprégnées d'isopropanol pourraient être efficaces selon plusieurs auteurs qui obtiennent ainsi une réduction d'un logarithme décimal de la contamination bactérienne initiale (**Palenik et Hughes, 2008 ; Patel et al., 2010**). La technique est facile à utiliser, très pratique pour une application quotidienne et ne laisse pas de résidu. D'autres alcools sont aussi fréquemment proposés avec les mêmes avantages (**Wilson et al., 2006 ; Anderson et Palombo, 2009**).

D'autres auteurs ont proposé une désinfection quotidienne avec un ammonium quaternaire ou avec le profecton duit détergent/désinfectant habituellement utilisé pour les surfaces ou les dispositifs médicaux. (**Rutala et al., 2006**) ont comparé, sur une contamination réelle, l'effet immédiat et prolongé de lingettes pré-imprégnées de détergent/désinfectant, de lingettes imprégnées d'alcool ou d'eau stérile.

Tous les procédés testés permettaient d'obtenir une réduction de 2 log en effet immédiat mais seuls les détergents/désinfectants permettaient d'obtenir un effet prolongé. (**Jones et al., 2015**) ont testé avec succès un spray à base de chlorhexidine alcoolique pour la désinfection quotidienne des claviers.

La décontamination montrait une réduction de deux logarithmes décimaux de la charge bactérienne. La contamination résiduelle restait faible 4 à 24 heures après l'application du produit, contrairement à la désinfection par du dioxyde de chlore en lingettes pour laquelle la recolonisation du clavier augmentait dès la quatrième heure. Les auteurs précisent que le matériel n'était pas altéré par l'application quotidienne de ce désinfectant.

Il semble préférable de privilégier les lingettes pré-imprégnées aux « chiffonnettes » que l'on trempe dans une solution détergente et/ou désinfectante. Les lingettes sont généralement

moins « imbibées » de produit et il n'y a pas de risque d'inondation du clavier donc de détérioration (**Vande Putte et Leuven, 2006**).

En conclusion, la méthode la mieux validée actuellement pour réduire la contamination des claviers et autres périphériques informatiques est l'utilisation des lingettes pré-imprégnées de détergent-désinfectant.

Après repiquage sur les milieux sélectifs et incubation pendant 24h, Les boîtes ensemencées à partir des échantillons montrent un aspect macroscopique et microscopique différent. Les résultats obtenus sont représentés dans **le tableau IV**.

Les résultats montrent la présence d'une grande diversité de bactéries qui se diffèrent selon l'aspect macroscopique et microscopique, la grande partie a été isolée du milieu sélectif Chapman, une seule souche a été isolée sur Hektoen par contre sur milieu Sabouraud aucune culture microbienne n'a été poussé.

90 % des souches sont des bactéries à Gram positif et à mobilité négative, tandis que ; **10 %** des souches sont des bactéries à Gram négatif avec une mobilité positive. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés dans une étude publiée dans un journal intitulé The Pan African Medical Journal (**Uwingabiye et al., 2015**); dont les données témoignent la prédominance des bactéries à Gram positifs; les cocci à Gram positif et les bacilles à Gram positif représentaient **76,7%** et **21,1%** des microorganismes isolés des téléphones portables respectivement, tandis que les bacilles à Gram négatif ne représentaient que **1,3%**.

Dans une étude de (**Palenik et al., 2008**) sur la flore bactérienne des claviers des ordinateurs, tous les claviers prélevés étaient contaminés. Dans **90 %** des prélèvements, des bactéries à Gram positif étaient identifiées, dont **60 %** de staphylocoques. Des bactéries à Gram négatif étaient aussi retrouvées.

D'autre part ; l'identification des souches isolées basée sur l'identification biochimique tenant compte la réponse au test catalase et oxydase ainsi une identification à l'aide des galeries API 20 E et API 20 Staph. (biomerieux®) a mené l'identification de **55%** de *Bacillus sp.* (comme souches prédominante), **21%** sont des streptocoques, **12%** des souches appartiennent aux entérobactéries telle que *Escherichia coli* et **10%** de *Staphylococcus sp.* tandis que l'espèce *Aeromonas hydrophila* présente le pourcentage le plus faible (**2%**).

Dans une étude comparative de la flore bactérienne contaminant les téléphones portables des professionnels soignants de l'hôpital militaire d'instructions Mohammed V de Rabat et des témoins avant et après désinfection; ce pourcentage est différent selon le nombre

d'échantillon et les conditions de prélèvement : Les bactéries isolées du personnels étaient représentées par staphylocoque à coagulase négatif (50,7%), *S. aureus* (18,1%), *Corynebacterium sp.* (18,8%) et *Bacillus sp.* (3,1%). (Uwingabiye *et al.*, 2015)

Par ailleurs, les microorganismes le plus souvent retrouvés lors de l'étude de (Fukada *et al.*, 2008) sont issus de la flore cutanée : *S. aureus*, *S.* à coagulase négative dont *S. epidermidis*, corynebactéries et microcoques et de l'environnement avec notamment la présence de *Bacillus sp.*

Dans cette étude la majorité des portables (90%) étaient contaminés par des microorganismes potentiellement pathogènes (Annexe 03). Cette fréquence est supérieure à celle rapportée dans des études antérieures menées au Koweït (Heyba *et al.*, 2015) et en Croatie (Kotris *et al.*, 2017), qui indiquaient un taux de téléphones portables de 73,7%, 77,3%, respectivement.

Ces résultats confirment que des objets contaminés tels que les téléphones portables pourraient servir de réservoirs de bactéries avec des conséquences cliniques potentiellement importantes. Lors de chaque appel téléphonique, les téléphones mobiles entrent en contact étroit avec des zones contaminées du corps humain telles que la bouche, le nez et les oreilles (Michelow *et al.*, 2004). En effet, une étude menée au Taïwan montre que 94,3% des travailleurs possédant un téléphone portable contaminé étaient colonisés par la même bactérie dans leurs narines ou leurs mains. En particulier, *Staphylococcus aureus* était l'agent pathogène le plus souvent isolé dans les narines (19,9%) (Chang *et al.*, 2017).

Staphylococcus aureus est considéré comme un agent pathogène conduisant à des infections de la peau et d'autre organes (Pérez-Cano *et al.*, 2019). Dans notre cas, Ce genre a été isolée d'un Smartphone appartenant à une étudiante en médecine qui était en stage pratique fermé dans un hôpital expliquant sa présence donc c'est le résultat d'une contamination nosocomiale. La littérature démontre que les Smartphones constituent un risque potentiel de colonisation et d'infections nosocomiales.

La présence des entérobactéries commensales (*Proteus mirabilis*, *Enterobacter sakazakii*) est non négligeable car elle représente 12% des germes isolés, cette fraction réside dans les cavités buccales, les régions humides de la peau ainsi que les fosses nasales. (Loyola *et al.*, 2016) affirment que 53.5% des téléphones portables ont été colonisés par au moins un *Enterobacteriaceae*, un total de 105 entérobactéries ont été isolés incluant 12.4% *Escherichia coli*, 9.5% *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca* et 32.4% *Enterobacter spp.*

La présence d'*Escherichia coli* présente un risque de contamination fécale, isolé d'un seul téléphone mobile, ce qui est peut être lié à un faible niveau d'hygiène puisque ce germe fait partie de la flore intestinale cela est expliqué dans une étude réalisée au Kuwait (**Heyba et al., 2015**).

Bien que les résultats varient, la plupart des études indiquent des croissances contaminées divergentes des téléphones portables aux entérobactériacées (**Beckstrom et al., 2013; Haghbin et al., 2015; Heyba et al., 2015 et Daoudi et al., 2017**).

Kirkby et Biggs (2016) n'indiquent pas quels types de bactéries ou d'organismes ont été trouvés mais ils indiquent une croissance de 100% des bactéries sur les mobiles. (**Loyola et al., 2016**) ont constaté que les *Enterobacteriaceae* étaient la croissance la plus commune.

D'autre part, la présence des bactéries du genre *Bacillus* qui peut se développer sur les sols tel que *Bacillus mycoides* explique que le téléphone portable a probablement dû tomber plusieurs fois sans être nettoyé.

Bacillus pumilus est une bactérie naturelle présente dans le sol et est considérée comme faisant partie intégrante de la microflore normale épiphyte de plantes. En général, *Bacillus pumilus* est omniprésent dans les écosystèmes terrestres et marins (**Kovaleva et al., 2015**).

Par ailleurs, *Bacillus sphaericus* est un bacille Gram-positif, aérobic strict, mésophile, à métabolisme oxydatif et qui forme une spore sphérique et déformante en position terminale ou subterminale. Ubiquiste, cette bactérie est un saprophyte naturel des sols, des sédiments marins et de l'eau douce (**Sinègre et al., 1990 ; Park et al., 2008**).

L'isolement d'*Aeromonas hydrophila* sur les téléphones portables est très rare mais une fois identifiée, cette espèce appartient à la famille complexe des *Aeromonadaceae*. Cette famille évolue constamment 21 espèces ont été décrites correspondant à 18 espèces génomiques. Ce sont des bactéries de l'eau douce, notamment des eaux souillées. Elles peuvent persister dans les amibes libres de l'eau et elles résistent à la chloration (**Leblanc et al., 1988**).

Sa présence indique une contamination alimentaire puisque *Aeromonas hydrophila* peut être observé dans les fruits et légumes frais, la viande et les produits laitiers. L'infection se transmet par voie fécale-orale lors de l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Ces bactéries sont aussi présentes dans le sol. (**Horneman et al., 2007**).

Des travaux récents suggèrent que les *Aeromonas spp.* seraient fréquemment isolées à partir des selles dans les cas de gastro-entérite, tant chez l'adulte que chez l'enfant. (**Burke et al., 1983 ; Hunter et Atkinson, 1968**).

II. Test de sensibilité aux antibiotiques

Les résultats présentés dans le **tableau V** montrent des diamètres de zones d'inhibition différents d'une souche bactérienne à une autre (Gram positif et Gram négatif) et d'un antibiotique à un autre (famille d'antibiotique différente). D'autre part deux souches *Bacillus firmus*, *Enterobacter sakazakii* ont montrés un résultat négatif (pas de zone d'inhibition).

Parmi les antibiotiques testés, seules la pénicilline, la pristinamycine, l'ofloxacine et la tétracycline ont inhibé la croissance de toutes les souches de *Bacillus* isolées (**tableau V**); (**Garnotel et al., 2015**) affirment que les bactéries du genre *Bacillus* sont généralement sensibles à la pénicilline et aux fluoroquinolones dont leur action est la réduction des groupements NO₂ entraînant une lésion de l'ADN bactérien. D'autre part, *Bacillus megaterium* résiste à **60%** des antibiotiques testés. Les bactéries du genre *Bacillus* sont très difficiles à combattre à cause de leur capacité de sporulation, et donc d'adaptation aux conditions défavorables à leur croissance (**Benjama et al., 1996**).

Cependant, toutes les espèces de *Bacillus* isolées sont résistantes à la PRL et CTX ; ces résultats sont en accord avec les résultats de l'étude de (**Medts et al., 2018**) qui ont trouvé que tous les isolats de *Bacillus* étudiés sont résistants à la méropénem, à la piperacilline et à la cefotaxime.

Une forte sensibilité est observée chez les streptocoques contre la Nitrofurantoïne et la tétracycline. Par contre un pourcentage élevé de résistance à l'acide fusidique et à la -lactamines. La souche streptocoque hémolytique présente une résistance importante à la -lactamines, à la Vancomycine, à l'Erythromycine, à l'Ofloxacine et à la Pristinamycine.

Drancourt, 2016 a montré que les streptocoques sont sensibles à la tétracycline, la nitrofurantoïne mais résistants aux -lactamines ; 16/40 bactéries détectées dans des échantillons de plaque dentaire d'époque antique ont montré la présence de gènes de résistance à la -lactamines, Également, il a été montré que certains de ces gènes étaient supportés par des éléments génétiques mobiles qui sont connus pour vectoriser les épidémies de gènes de résistance.

Pour les staphylocoques, une forte activité antibiotique de résistance à la famille des β -lactamines a été observé, ces souches apparaissent sensibles à l'acide fusidique, la vancomycine, à la tétracycline et à l'ofloxacine. Par contre *Staphylococcus aureus* semble avoir une résistance à la pénicilline. La pénicilline a montré une faible activité antibactérienne envers la plupart des souches isolées tel *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp. à hémolyse. Cet antibiotique de la famille des β -lactamines, bactéricide, ayant une action sur la paroi bactérienne est administré pour traiter la majorité des infections bactériennes, cependant la mutation des germes et l'utilisation fréquentes des β -lactamine mettent en cause l'apparition croissante de résistance à la pénicilline qui peut être naturelle le cas d'*Escherichia coli* productrice de β -lactamases ou bien acquise. (Baba Ahmed-Kazi et Arlet, 2014)

La description de la première β -lactamase fut en 1942 chez une souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la pénicilline. Cette souche avait acquis un plasmide portant un gène codant pour une β -lactamase dite pénicillinase. (Boyer et al., 2013) D'autre part, *Aerococcus viridans* présente une sensibilité à la β -lactamines, macrolides, nitrofurantoïne et à la tétracycline. (Rouff, 2007) a montré que *A. viridans* présente une faible résistance aux aminosides; une résistance de certaines de ses souches à la pénicilline a aussi été décrite dans la littérature. Cette souche est très dangereuse pouvant causer des méningites, des bactériémies ; d'où l'importance d'étudier sa sensibilité aux antibiotiques prend de l'ampleur de nos jours.

Pour les bactéries à Gram négatifs ; les entérobactéries identifiées montrent une résistance importante à l'acide fusidique, la piperacyline, la vancomycine et quelque antibiotiques de la classe des β -lactamines (PRL, OX). *Escherichia coli* semble avoir une résistance naturelle à la pénicilline contrairement à *Proteus mirabilis*.

La vancomycine est un antibiotique peptidique ciblant la synthèse de la paroi bactérienne et la résistance à cet antibiotique est due à une modification de la machinerie de synthèse de la paroi aboutissant à la modification de la cible de la vancomycine. Les déterminants génétiques de cette résistance ont été identifiés chez les VRE (Entérocoques Résistants à la Vancomycine) comme codés par trois gènes nommés vanA, vanH et vanX (Cetinkaya et al., 2000).

La résistance à la tétracycline est observé uniquement chez *Proteus mirabilis* comme le montre le tableau V ; les taux de résistance pour les tétracyclines sont restés supérieurs à 30%, en partie en raison des résistances naturelles de certaines entérobactéries (*Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*), (Picot et al., 2010).

D'autre part, *Aeromonas hydrophila* montre une forte résistance à un grand nombre d'antibiotiques incluant la vancomycine, l'acide fusidique et les β -lactamines ce qui affirme son potentiel pathogène. Un document intitulé *Aeromonas hydrophila* (Edition 2010) explique que les *Aeromonas* présentent une variété importante de résistance naturelle aux β -lactamines par production de plusieurs types de β -lactamases, qui peuvent être faiblement exprimées : d'où la difficulté pour les mettre en évidence. Sauf pour la pénicilline et pour l'ofloxacine de la classe des fluoroquinolones qui gardent leurs activités antibactériennes. **(Danielle, 2010)**

Ce travail, nous a permis d'établir une étude profonde sur l'activité des antibiotiques sur des souches bactériennes isolées et identifiées des Smartphones. L'étude est basée sur l'isolement de 30 échantillons dont 20 isolées des téléphones mobiles des étudiants universitaires et 10 des téléphones des élèves du CEM.

A Partir des résultats obtenus, on constate que les bactéries étaient d'une grande diversité morphologique et biochimique, environ 84% des téléphones portables étaient contaminés. La grande partie isolée prélevée des Smartphones des étudiants et des élèves de sexe masculin (66%) incluant celles de la flore commensale de l'homme ainsi autres étaient le résultat d'une contamination d'origine différente. D'autre part, cette étude a confirmé que l'utilisation des lingettes pré-imprégnées de détergent-désinfectant peut réduire la charge microbienne sur les Smartphones.

L'isolement bactérien nous a permis d'identifier 15 souches bactériennes dont **90 %** des sont des bactéries à Gram positif et à mobilité négative et **10 %** des souches sont des bactéries à Gram négatif avec une mobilité positive. Dans **90%** des bactéries à Gram positif ; **60 %** appartiennent aux staphylocoques qui peuvent être des agents pathogènes conduisant à des infections de la peau et d'autres organes.

Par ailleurs, la présence des entérobactéries commensales (*Proteus mirabilis*, *Enterobacter sakazakii*) est non négligeable ; elles représentent **12%** des germes isolés, cette fraction réside dans les cavités buccales, les régions humides de la peau ainsi que les fosses nasales. L'espèce type *Escherichia coli* est isolée d'un seul mobile ; elle présente un risque de contamination fécale ; les participants à cette étude ont indiqué qu'ils répondaient toujours à leurs appels de téléphone portable lorsqu'ils se trouvaient dans la rue et les toilettes. La contamination par *Bacillus* a été aussi déterminée ; la contamination des téléphones par les bactéries de ce genre revient à le fait que ce dernier est souvent présent dans le sol.

Le test de la sensibilité des bactéries aux différents antibiotiques nous a permis de déduire que la majorité de la flore bactérienne isolée était sensible à la pénicilline ce qui explique que cet antibiotique reste une antibiothérapie de choix. Cependant, on observe de plus en plus de résistance vis-à-vis les -lactamines, ce qui mérite d'autres avancées et études. D'autre part, *Bacillus megaterium* résiste à **60%** des antibiotiques testés. Les bactéries du genre *Bacillus* sont très difficiles à combattre à cause de leur capacité de sporulation, et donc d'adaptation aux conditions défavorables à leur croissance.

Notre étude mène à confirmer que le Smartphone est un véritable nid à microbes qui peut être la cause de maladies plus au moins graves, d'où l'importance de le nettoyer demeure nécessaire. Il pourrait jouer un rôle dans la transmission des infections nosocomiales et communautaires. Il serait difficile d'interdire l'utilisation des téléphones mobiles au sein des services. Mais nous pourrions facilement éviter la propagation des infections bactériennes en utilisant simplement les agents de nettoyage régulier et en réorganisant notre environnement.

Pour cela, on peut citer quelques précautions à suivre pour diminuer le risque de contamination de nos téléphones portables :

- ✓ Nettoyez la coque du téléphone à l'aide d'une lingette désinfectante sans alcool ou d'un chiffon imbibé d'eau savonneuse et bien essoré.
- ✓ Si votre téléphone comporte des touches, utilisez une brosse à dents ou des cotons-tiges pour enlever la saleté qui se trouve entre les touches.
- ✓ Pour enlever les traces de doigts sur l'écran, utilisez un chiffon antistatique en microfibras (celui avec lequel on nettoie les lunettes de vue), une compresse ou un linge en coton.
- ✓ Si vous avez une coque en silicone, retirez la et plongez la dans une eau savonneuse bien chaude, ce qui la nettoiera sans la décolorer.

Cependant, les résultats présentés dans ce manuscrit nécessitent une analyse plus détaillée qui dépasse le cadre d'un projet de fin d'étude. Néanmoins, certains points soulevés peuvent faire l'objet d'un travail expérimental intéressant.

- Tester l'effet d'autres antibiotiques sur les souches bactériennes isolées des Smartphones.
- Une identification plus approfondie des souches bactériennes par les techniques moléculaires peut avoir lieu.
- D'autres analyses sur d'autres surfaces telles que les claviers des ordinateurs seront intéressantes.
- Tester la flore bactérienne et levurienne présentes à la surface des téléphones mobiles des personnels de différents secteurs.

- Anderson G., Palombo EA., 2009.** Microbial contamination of computer keyboards in a university setting. *Am. J. Infect. Control.* 6, 507-509.
- Boulila F., 2001.** Ecologie microbienne. Polycopier de cours, département des sciences biologiques de l'environnement .Univ. De Bejaia, P. 87.
- Burtin H., Cheruel A., Collu E., Dudognon E., Moureau C., Schmitt C., Pace H., Plessis M., 2013.** Sécurité sanitaire des aliments. Page bibliographique, Univ. De Lorraine, P. 54.
- Boulboul A., Frère-Jacques N., Hegarat E., Ottan Y., Pochet L., Souque Julie, Steinmetz Q., 2015.** L'hygiène alimentaire. Compte-rendu bibliographique, Univ.de Lorraine, P. 23.
- Brun-Buisson C., 2016.** Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée et durable. *Dir. de la comm, Uni. de valo. Sci.* 1-17.
- Bousseboua H., 2002.** Techniques d'étude des bactéries. Dans *Microbiologie générale*. Ed. de l'université Mentouri, Constantine (Algérie), pp.145-157.
- Boyer A., Mzali F., Clouzeau B., GRUSON D., 2013.** Bactéries multi résistantes dans les unités d'Urgences C'est au pied du mur qu'on voit mieux le mur. *Urg.* 35, 1-17.
- Baba Ahmed-Kazi T., Z., et Arlet, G., 2014.** Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathol. Biol.*, 62, 169-78
- Baron R., Pascale C., Raphaële G., Marie-Gabrielle L., Olivier M., Loïc S., 2016.** Limiter le risque infectieux associé aux claviers et ordinateurs en secteur de soins. *Hyg.* 6, 301-307.
- Beckstrom, A., Cleman, P., Cassis-Ghavami, F., Kamitsuka, M., 2013.** Surveillance study of bacterial contamination of the parents cell phone in the NICU and the effectiveness of an anti-microbial gel in reducing transmission to hands. *J. Perinatol.* 33, 960-963.
- Burke V., Gracey M., Robinson J. et al., 1983.** The microbiology of childhood gastroenteritis: *Aeromonas species* and other infective agents. *J. Infect. Dis.* 148, 68-74.

- Benjama A., Cherkaoui B. et Samson R., 1996.** Effets de certains antibiotiques et antiseptiques sur la *Bacillus* contaminant les cultures *in vitro* de tissu de palmier dattier. Al. Awa. 93, 53-61.
- Chenouf A., Nafti Y., 2008.** Contribution à l'étude de la cinétique de libération d'un principe actif: Oxacilline sodique encapsulé en vue de déterminer les conditions de conservation. Mémoire d'ingénieur d'état. Univ. Ziane Achour de Djelfa.
- Chang, C.H., Chen, S.Y., Lu, J.J., Chang, C.J., Chang, Y., Hsieh, P.H., 2017.** Nasal colonization and bacterial contamination of mobile phones carried by medical staff in the operating room. Plos. One. 12, 1–11.
- Cetinkaya, Y., Falk, P., and Mayhall, C.G., 2000.** Vancomycin-resistant *enterococci*. Clin. Microbiol. Rev. 13, 686-707.
- Diakite O.K., 2009.** Etude de la sensibilité aux antibiotiques des germes isolés dans les infections ostéo-articulaires. Thèse de doctorat Univ. de Bamako.
- Danielle C., 2010.** Fiche Technique Bactériologie : *Aeromonas hydrophila*. Laboratoire de Bactériologie Hygiène. CHU Toulouse.
- Drancourt M., 2016.** Thérapeutiques Cliniques et Expérimentales des Infections. CHU Nantes.
- Daoudi, A., Idrissi Slitine, N., Bennaoui, F., Mekkaoui Aloui, M., Soraa, N., Rabou Maoulainine, F., 2017.** Study of bacterial contamination of mobile phones and stethoscopes in neonatal intensive care units. Int. J. Pediatr. 5 (11), 6139–6142.
- Emmanuel D., 2012.** Le monde Microbien : Partie 1 : Microbes et Microbiologie. UE Pharmacie : Microbiologie. Univ. Joseph Fourier de Grenoble.
- Emilie B., 2012.** L'adhésion bactérienne sondée à l'échelle moléculaire. Thèse de doctorat. Univ. Paris-Sud. P.21.
- Fukada T., Iwakiri H., Ozaki M., 2008.** Anaesthetists' role in computer keyboard contamination in an operating room. J. Hosp. Infect. 2, 148-153.

Gholamreza S., Nooshin T., Ali M., Touraj-Reza M. and Ehsan S., 2009. Bacterial Contamination and Resistance to Commonly Used Antimicrobials of Healthcare Workers' Mobile Phones in Teaching Hospitals, Kerman, Iran. *Am. J. Applied. Sci.* 6, 806-810.

Guiraud J.P., 1998. Microbiologie alimentaire. Dunod, Paris, p. 615.

Garnotel E., Hélène A., Corinne Surcouf J.B., Aurélie B., Alexandre D., Jean-Louis G., Pierre H., Gérard P., Jacques T., Danny de Mouy, 2015. Sensibilité aux antibiotiques d'*Escherichia coli* isolé des infections urinaires communautaires. *Rev. Franc. Des Lab.* 496, 66-73.

Hallouët P., 2016. Antibiotiques. *Még. Mém. IFSI.*, 1050– 1056.

Hammadi L., Ponton A. et Belhadri M., 2008. Effet de traitement thermique sur le comportement physico-chimique et rhéologique des boues activées de station d'épuration. *Rev. Ener. Renouv.*, 11,465 – 472.

Horneman A. J., Ali A., Abbott, S. L., 2007. *Aeromonas*. *Manual of Clinical Microbiology*, 9th ed, pp. 715-722.

Heyba, M., Ismaiel, M., Alotaibi, A., Mahmoud, M., Baqer, H., Safar, A., Al-Sweih, N., Al-Taiar, A., 2015. Microbiological contamination of mobile phones of clinicians in intensive care units and neonatal care units in public hospitals in Kuwait. *BMC Infect. Dis.* 15, 1-9.

Haghbin, S., Pourabbas, B., Serati, Z., Alborzi, A., 2015. Bacterial contamination of mobile phones and pens in pediatric and neonatal intensive care units. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.* 4 (2), 75–81.

Hunter WF., Atkinson HM., 1968. Infection due to *Aeromonas hydrophila*. *Med. J. Aust.* 1, 565.

Jehl, F., Twizeyimana, E., 2015. Sensibilité des bactéries aux antibiotiques: les CMI sont complémentaires de l'antibiogramme. *R.F.L.*, 476, 47-61.

Jacque B., 2014. Les antibiotiques. *Act. Pharm.* 53, S1– S5.

Jean-Luc A.M., 2013. Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Sciences agricoles. Univ. de Bretagne occidentale.

Jean-Marc J., 2012. Les septicémies nosocomiales en néonatalogie: influence de l'antibiothérapie et vers un bon usage des antibiotiques. Thèse de Doctorat. Univ. De Lorraine, P. 248

Jones R., Hutton A., Mariyaselvam M., Hodges E., Wong K., Blunt M., Young P., 2015. Keyboard cleanliness: a controlled study of the residual effect of chlorhexidine gluconate. *Am. J. Infect. Control.* 3, 289-291.

Kanavaki, S., Mantadakis, E., Karabela, S., Anatoliotaki, M., Makarona, M., Moraitou, H., Pefanis, A., Samonis, G. 2005. Antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolates in Athens, Greece. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.* Europ. Soc. of Clin. Micro. 24(10), 693-696.

Kirkby, S., Biggs, C., 2016. Cell phones in the neonatal intensive care unit: how to eliminate unwanted germs. *Advances in neonatal care. Off. J. Natl. Assoc. Neonatal. Nurses.* 16 (6), 404–409.

Kotris, I., Drenjancevic, D., Talapko, J., Bukovski, S., 2017. Identification of microorganisms on mobile phones of intensive care unit health care workers and medical students in the tertiary hospital. *Med. Glas. (Zenica)* 14, 85-90.

Kovaleva V., Y.I. Shalovylo, Y.N. Gorovik, A.L. Lagonenko, A.N. Evtushenkov, R.T. Gout, 2015. *Bacillus pumilus* – a new phytopathogen of Scots pine– *J. Fores. Sci.* 61, 131–137.

Lozniewski A., Rabaud C., Nancy, 2010. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux – Infections associées aux soins, p.4.

Lemaoui, C.E., Layaida, H., Badi, A., Foudi, N., 2017. Stratégies actuelles de lutte contre la résistance aux antibiotiques. *J.A.I.*, 19(1), 12–19.

Logan N. A. Et Berkeley R. C. W., 1984. Identification of *Bacillus* Strains Using the API System. *J.Gen. Micr.*, 130, 1871-1882.

- Loyola, S., Gutierrez, L., Horna, G., Petersen, D., Agapito, J., Osada, J., Rios, P., Lecano, A., Tamariz, J., 2016.** Extended-spectrum lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in cell phones of health care workers from Peruvian pediatric and neonatal intensive care units. *Am. J. Infect. Contr.* 44 (8), 910–916.
- Leblanc M., Gilles D., Elisabeth R., Otilia D., Anne-Claude B., 1988.** Prévalence d'*Aeromonas spp.* dans les gastro-entérites de l'enfant. *CMAJ.*, 138, 714-717.
- Mohammedi D., 2012.** Classification et mode d'action des antibiotiques. P.10.
- Mezaache-Aichour S. et Arif F., 2011.** Polycopié de microbiologie Environnementale. Univ. Ferhat Abbas. Sétif 1.
- Muylaert A., Mainil J.G., 2012.** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét.*156, 109- 123
- Matthieu B., Olivier M., 2018.** Les nouveaux antibiotiques : qu'apportent-ils aux cliniciens? *Le Pratic. en anesth. Réani.* 22, 289-295
- Morice V., 2002.** Bactériologie. Rapport bibliographique, Faculté de médecine, Univ. Pierre et Marie Curie. Paris-France, P. 122.
- Medts R., E. Kolwijck , M.F. Corsten , B. Gõraj , J. Schouten, 2018.** *Bacillus cereus* bacteraemia and cerebral lesions in two patients with haematological malignancies. *Neth. J. Crit. Care.* 26, 230-233.
- Michelow, I.C., Olsen, K., Lozano, J., Rollins, N.K., Duffy, L.B., Ascp, M.T., Ziegler, T., Kauppila, J., Leinonen, M., 2004.** Epidemiology and Clinical Characteristics of Community-Acquired Pneumonia in Hospitalized Children. *Ped.* 113, 701-707.
- Naili O., 2018.** Polycopier d'écologie microbienne. Univ. de Khenchela.
- Odum E.P., 2016.** Cours d'écologie générale. 2^{ème} édition, de Delhi, Bombay Calcutta .p224.
- ONTARIO, 2012.** Protocole d'échantillonnage et d'analyse. Ministère de l'agriculture, de l'alimentation et des affaires rurales, California.
- Philippe L., Corinne D., Jean-Michel P., 2019.** Microbiologie . Ency. Univer. (en ligne).

Prescott, Harley et Klein, 2003. Microbiologie. 2^{ème} édition, de boeck, Bruxelles, P. 1014.

Palenik C., Hughes E., 2008. Microbial contamination of computer keyboards and mice present in dental clinics. AJIC. 36, 23-24.

Patel S., Porter K., Sammons R., 2010. Are computer keyboards a cross-infection risk in a dental clinic? Infect. Prevent. 11, 206-211.

Pérez-Cano H.J., M.F. Reyes Santos, B.M. César Moreno, 2019. Microbiota in mobile phones of medical ophthalmologist's arch. Socesp. of talmol. 94(2):55–59.

Park, H.-W., S.R. Hayes et C.M. Mangum. 2008. Distribution of Mosquitocidal *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus sphaericus* from Sediments Samples in Florida. J. of Asia-Pacific Entom. 11, 217-220.

Picot S., Rakotomalala R. S., Farny K., Simac C., Michault A., 2010. Évolution de la résistance aux antibiotiques de 1997 à 2005 à la Réunion. Méd.et Mal. Infec. 40(11), 617-624.

Ranjard L., 2012. L'apport des techniques de la biologie moléculaire à la connaissance de la biodiversité microbienne dans les sols et de ses fonctions. Innov. Agro.21, 31-43.

Rene S.H., Jaap A., Marcel V., 2003. Identification of thermotolerant *Campylobacter*. A global *Salmonella* surveillance and laboratory support project of the World Health Organization. Global. Salm-Surv., 5^{ème} édition.

Rutala WA., White MS., Gergen MF., Weber DJ., 2006. Bacterial contamination of keyboards: efficacy and functional impact of disinfectants. Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 4, 372-377.

Rouff K.L., 2007. *Aerococcus*, Abiotrophia, and other Aerobic Catalase-Negative, Gram-Positive Cocci. Washington. 9th ed., pp. 443-454.

Sharifi-Yazdi M., Azimi C., Khalili M., 2001. Isolation and Identification of Bacteria Present in the Activated Sludge Unit, in the Treatment of Industrial Waste Water. Iranian J. Publ. Health., 30, 91-94.

Sinègre, G., B. Gaven, J.L. Julien et O. Moussiégt, 1990. Utilisation de *Bacillus sphaericus* dans la lutte contre les moustiques : présentation, performances et limites d'emploi. Document E.I.D.L.M. n°57, Montpellier, France.

Tuson, H. H., Weibel, D.B., 2013. Bacteria–surface interactions . *Soft. Mat.* 9(17),43-68.

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, 538-542.

Uwingabiye J., Moustanfii W., Chadli M., Sekhsokh Y., 2015. Etude de la flore bactérienne contaminant les téléphones mobiles avant et après la désinfection: comparaison entre les professionnels soignants de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat et les témoins. *Pan. Afr. Med. J.* 22, 326- 334.

Ulger F., Saban E., Ahmet D., Keramettin Y., Murat G.,Hakan L., 2009. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials.* Bio. Med. Cent. 8, 1-4.

Vincent T., 2014. Lien entre la diversité microbienne, la stabilité des communautés microbiennes et le turnover des matières organiques du sol. *Sciences de la Terre.* Thèse de doctorat. Univ. de Bourgogne.

Vande Putte M., Leuven U., 2006. Nettoyage et désinfection de l'ordinateur au lit du patient. *NOSO-Info.* 3, 12-13.

Wilson AP., Hayman S., Folan P., Ostro PT., Birkett A., Batson S., Singer M., Bellingan G., 2006. Computer keyboards and the spread of MRSA. *Hosp. Infect.* 3, 390-392.

Sites d'internet

- (Site 1) <https://www.antibio-responsable.fr/bacteries/classification>
- (Site 2) www8.umoncton.ca/umcm-filion_martin/cours/microbiologie/Chapitre%201.pdf
- (Site 3) http://mon.ftp.a.moi.chez-alice.fr/Ecole/DEUG_SV1/BioCell/MicroBi4.pdf
- (Site 4) <https://www.universalis.fr/encyclopedie/bacteries/>
- (Site 5) <http://sante.lefigaro.fr/actualite/2012/06/08/18342-bacteries-nos-invisibles-voisines-bureau>
- (Site 6) https://www.maxisciences.com/bacterie/ces-10-choses-que-vous-touchez-tous-les-jours_mais-qui-sont-de-vrais-nids-a-bacteries_art33928.html
- (Site 7) <https://www.staplesavantage.be > ... > Inspiration > Gestion des risques>
- (Site 8) <https://www.pourquoidoctor.fr/Articles/Question-d-actu/11291-Travail-manger-sur-son-bureau-expose-a-des-millions-de-bacteries>
- (Site 9) <https://www.staplesavantage.lu/inspiration/sante-et-hygiene-sur-le-lieu-de-travail/la-verite-sur-lhygiene-de-nos-bureaux-et-comment-resoudre-le-probleme/>
- (Site10) <https://www.college-de-france.fr/media/philippesansonetti.pdf>
- (Site11) <https://www.infirmiers.com/pdf/cours-en-vrac/antibiotiques.pdf>
- (Site12) <http://archives.strategie.gouv.fr/cas/content/bacteries-resistantes-antibiotiques-na299.html#les-ressources>
- (Site13) <http://m.20-bal.com/other/11941/index.html>
- (Site14) <https://pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/antibiotiques-les-points-essentiels>

Annexe 01 : Résultats des galeries API 20 (API 20 E et API 20 Staph.)



Figure 01. Galerie API 20 Staph. identifiant *Staphylococcus aureus*



Figure 02. Galerie API 20 E identifiant *Bacillus sphaericus*



Figure 03. Galerie API 20 E identifiant *Enterobacter sakazakii*

Annexe 02 : Résultats du test de sensibilité des souches identifiées aux antibiotiques

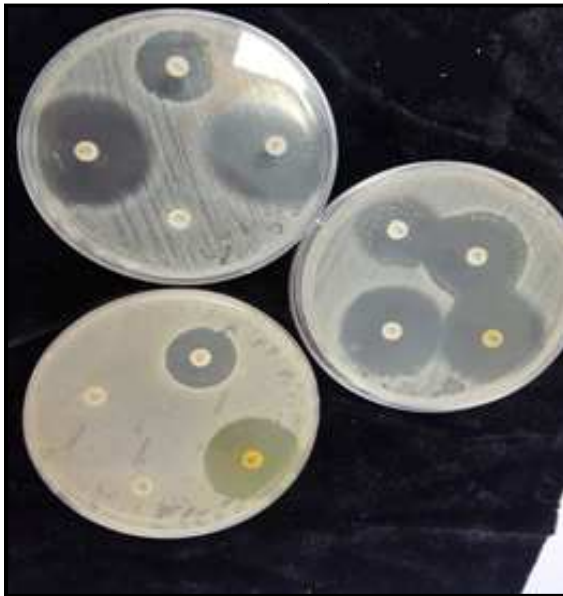


Figure 04. *Staphylococcus aureus*



Figure 05. *Bacillus pumilus*

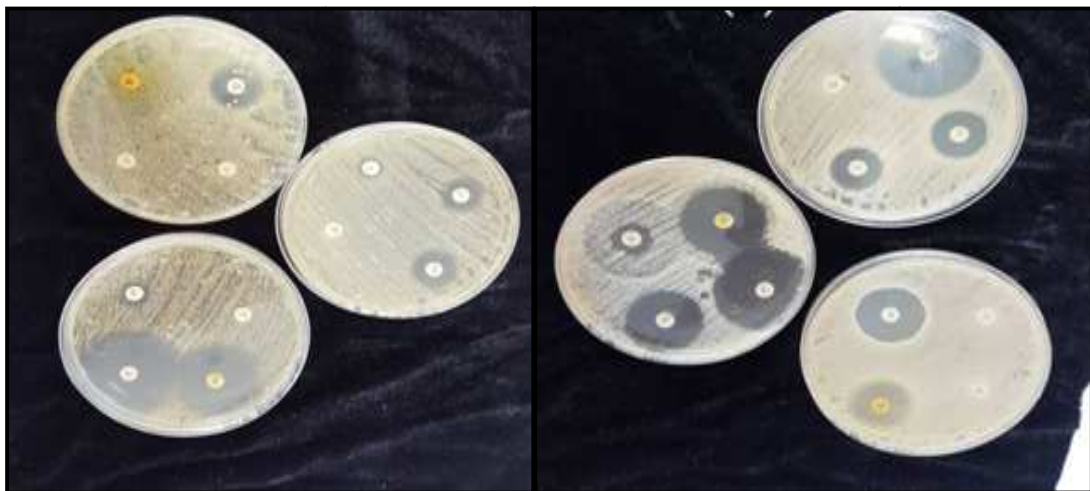


Figure 06. *Bacillus megaterium*

Figure 07. *Aerococcus viridans*



Figure 08. *Streptococcus spp*

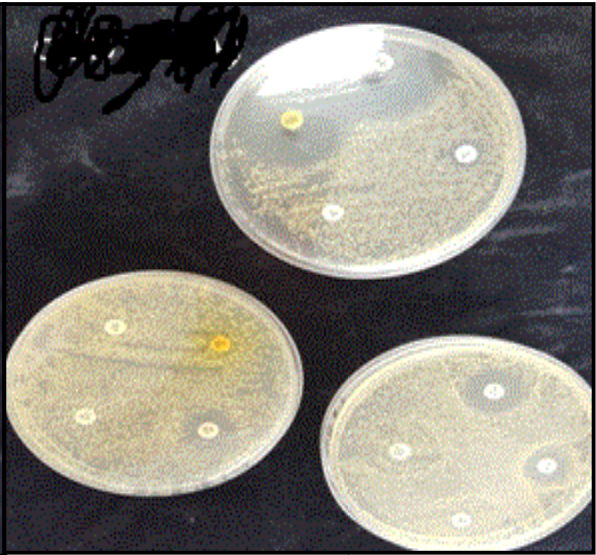


Figure 09. *Aeromonas hydrophila*

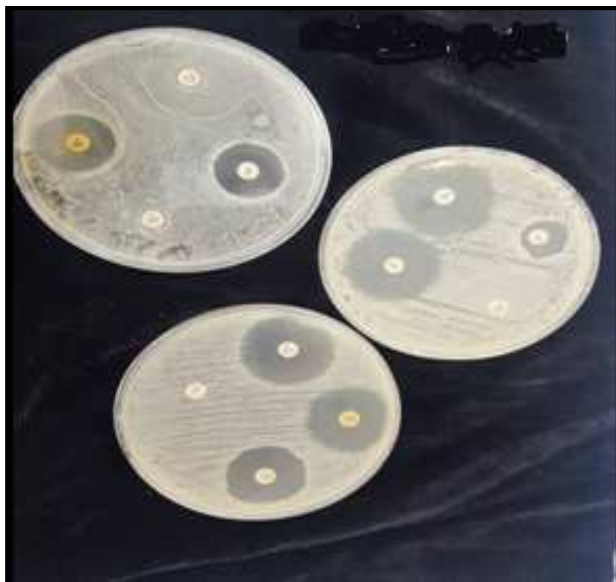


Figure 10. *Streptococcus spp*

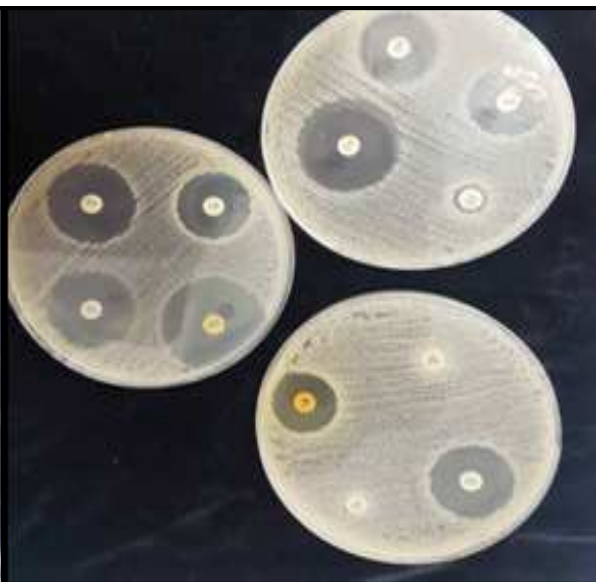


Figure 11. *Bacillus mycoides*



Figure 12. *Escherichia coli*



Figure 13. *Proteus mirabilis*



Figure 14. *Streptococcus spp*



Figure 15. *Staphylococcus warneri*

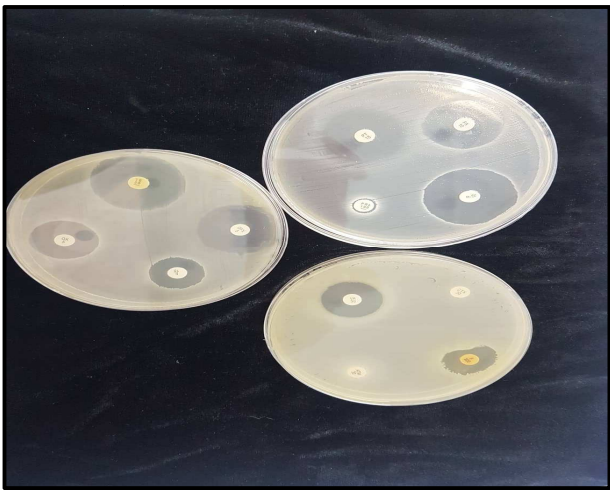


Figure 16. *Bacillus sphaericus*

Annexe 03 : Souches isolées, pathologies causées et réponse aux antibiotiques (Site 14)

Souches	Maladies infectieuses	Habitats	Sensibilité aux antibiotiques
<i>Aerococcus viridans</i>	responsable de meningite, de septicémie, bactériémie, arthrites ou infections urinaires	Air, végétation, individu sains (prélèvements cutanés, oculaires)	Les connaissances sur leur sensibilité aux antibiotiques progressent. Mais il n'existe pas encore à ce jour, de recommandation sur la prise en charge de ces infections. Sensibilité naturelle à la pénicilline, aux macrolides, aux tétracyclines. L'option thérapeutique est la pénicilline en cas d'allergies on utilise la vancomycine.
<i>Bacillus sp.</i>	Infection opportuniste chez les immunodéprimés	le sol	Sensible à l'érythromycine, aux macrolides, quinolones, vancomycine
<i>Staphylococcus aureus</i>	infections cutanées et ostéoarticulaires	Commensale de la peau et des muqueuses de l'homme	Plus de 80 % des souches produisent une pénicillinase. L'oxacilline reste active contre ces souches
<i>Staphylococcus wernerii</i>	responsable de nombreuses infections humaines à type de septicémie et d'endocardite. ce qui favorise ces infections l'immunodépression, la présence de cathéters veineux ou de matériaux prothétiques, la multirésistance des SCN aux antibiotiques	Environnement Peau humaine	Les antibiotiques de choix sont représentés par les glycopeptides, l'acide fusidique.
<i>Proteus mirabilis</i>	Infections urinaires, septicémie	Commensale du tube digestif	Résistance naturelle aux cyclines, nitrofuranes Souches sauvages sensibles à toutes les bêta-lactamines
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Gastro-enterites, infections extra-digestives, bactériémie	trouvée dans les eaux, le sol, les aliments.	naturellement résistante à amoxicilline, les fluoroquinolones sont les molécules à conseiller dans l'antibiothérapie
<i>Enterobacter sakazakii</i>	méningites, septicémies, bactériémies, entérocolites nécrisantes spécialement chez les prématurés	dans l'intestin d'humains, d'animaux ou dans l'environnement Transmission par voie alimentaire	résistance importante à l'acide fusidique, la piperacilline, la vancomycine et quelques antibiotiques de la classe des β -lactamines
<i>Escherichia coli</i>	infections urinaires, abcès des <u>gastro-entérites</u> , <u>méningites</u> , ou <u>sepsis</u> .	aliments, eau, fèces	Résistance naturelle à la pénicilline Sensibilité aux aminosides et aux quinolones.
<i>Streptococcus spp</i>	infections à streptocoque infections localisées.	Bactérie strictement humaine les mucosités, les cavités orales, les tractsus respiratoires hauts, les tractsus digestifs	La pénicilline G est active sur les streptocoques, mais à des degrés divers selon les espèces.

Résumé

De nos jours, Le Smartphone à pris une place très importante dans notre vie quotidienne, son utilité varie selon l'intérêt et le service qui l'offre. Vue l'implication de la technologie dans tous les domaines, l'homme est à présent accro à cette invention qui semble pratique et utile, tout en négligeant le fait que le téléphone portable est un réservoir de bactéries pouvant nuire à sa santé.

Notre travail consiste à étudier la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées a partir de 30 Smartphones appartenant à trois catégories (10 étudiants universitaires de sexe masculin, 10 étudiantes universitaires de sexe féminin et 10 élèves du CEM) afin d'isoler et d'identifier les bactéries suivant les caractères bactériologiques usuels. L'identification basée sur les critères macroscopiques et microscopiques ainsi que biochimiques portant sur les tests API 20 a mené d'identifier 15 souches différentes dont la grande partie était isolée des Smartphones du sexe masculin, 90% des souches sont des bactéries à Gram positif tandis 10% des souches étaient à Gram négatif. Le test de sensibilité aux antibiotiques a été réalisé par diffusion sur gélose en testant 12 antibiotiques de familles différentes. Les résultats ont montré des sensibilités variables d'une souche à une autre, parmi les bactéries identifiées, l'espèce *Bacillus megaterium* résiste à 60% des antibiotiques testés, sachant que cette souche peut avoir un degré de pathogenecité plus au moins grave chez l'homme ce qui montre la nécessité d'étudier l'activité antibactérienne afin de prévenir et de diminuer le risque de contamination. Par contre, *Aerococcus viridans* est sensible à 60% des antibiotiques testés permettant ainsi d'optimiser la probabilité du succès thérapeutique en cas d'infection causées par cette espèce.

Notre étude a révélé que le Smartphone n'est pas seulement un moyen de communication mais aussi un véritable nid à bactéries qui peut mettre en danger la santé de l'homme .Pour cela il est nécessaire d'assurer une bonne hygiène surtout que le Smartphone demeure un outil indispensable.

Mots clés : Smartphones, bactéries, antibiotiques, résistance, sensibilité.

ABSTRACT

Nowadays, the smart phone has taken a very important place in our daily life, with the implication of technology in all areas, man is now addicted to this invention that seems practical and useful, but neglecting the fact that the cell phone can harm his health.

our objective is to isolate bacteria from 30 smart phones belonging to three categories (10 male university students, 10 female university students and 10 college pupils), identification of bacteria based on macroscopic and microscopic features, the biochemical identification using API 20 test led to isolate 15 different strains. The majority of which were isolated from male smart phones, 90% of bacteria were positive Gram while only 10% were negative Gram.

Susceptibility test to antibiotics was carried out by agar diffusion, testing 12 different antibiotics; varying results have been mentioned from one strain to another. Among the identified bacteria, *Bacillus megaterium* resists to 60% of tested antibiotics, this strain can have a severe degree of pathogenicity which shows the need to study the antibacterial activity in order to prevent and reduce the risk of contamination. On the other side, *Aerococcus viridians* was sensitive to 60% of tested antibiotics thus making possible to optimize the probability of therapeutic success in case of infection caused by this species.

Our study revealed that the Smartphone is not only a means of communication but also a real nest of bacteria that can harm or health. This is why is necessary to ensure hygiene especially that the cell phone remains an indispensable tool.

Key Words: Smartphone, bacteria, antibiotics, resistance, sensitivity.

ملخص

في الوقت الحاضر احتل الهاتف الذكي مكانا مهما في حياتنا اليومية، ففائدته تختلف باختلاف الخدمة التي يقدمها للمستخدم و بفعل التكنولوجيا و تدخلها المستمر في جميع المجالات أصبح الإنسان مدمنا على هذا الاختراع الذي يبدو عمليا و مفيدا مع إهماله حقيقة أن الهاتف الخلوي يمثل مستودع لجميع أنواع البكتيريا التي يمكن أن تضر بصحته.

هدفنا يتمثل في دراسة حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية، هذه البكتيريا معزولة من 30 هاتف خلوي لثلاث فئات (10 طلاب جامعيين و 10 طالبات جامعات و 10 تلاميذ في الطور المتوسط). أدى تحديد نوع البكتيريا بناء على المعايير المجهرية و الكيمائية الحيوية مع استعمال اختبار إلى عزل 15 سلالة مختلفة معظمها كان معزولا عن الهواتف الذكية للذكور.

تم اختبار الحساسية ل 12 نوع من المضادات الحيوية. أظهرت النتائج نشاط مضاد للبكتيريا الذي يختلف من سلالة إلى أخرى.

من بين البكتيريا التي تم تحديدها؛ *Bacillus megaterium* تقاوم 60% من المضادات الحيوية التي تم اختبارها، مع العلم أن هذا النوع قد يكون له خطرا على صحة الإنسان مما يستوجب ضرورة دراسة النشاط المضاد للبكتيريا من اجل تقليل الخطر.

. من ناحية أخرى ، فإن *Aerococcus viridans* حساسة لـ 60% من المضادات الحيوية التي تم اختبارها ، مما يجعل من الممكن تحسين احتمال النجاح العلاجي في حالة الإصابة التي يسببها هذا النوع من البكتيريا.

كشفت دراستنا أن الهاتف الذكي ليس وسيلة اتصال فحسب ، بل هو أيضاً مخزن حقيقي للبكتيريا و يمكن أن يعرض صحة البشر للخطر مما يستوجب ضرورة نظافة الهاتف الخلوي وكل ما يعد خطرا على صحة المستخدم.

الكلمات الدالة: الهاتف الذكي .ببكتيريا.المضادات الحيوية.مقاومة للمضاد الحيوي .تحسس للمضاد الحيوي.

BOUTEBBA Manel
ATHMANI Nour El Houda

Date de soutenance : 07-07-2019

Diplôme : Master académique en Microbiologie

Thème : Evaluation de la Sensibilité de la Flore Bactérienne ; isolée des Smart-phones ; aux Antibiotiques

Résumé

De nos jours, Le Smartphone à pris une place très importante dans notre vie quotidienne, son utilité varie selon l'intérêt et le service qui l'offre. Vue l'implication de la technologie dans tous les domaines, l'homme est à présent accro à cette invention qui semble pratique et utile, tout en négligeant le fait que le téléphone portable est un réservoir de bactéries pouvant nuire à sa santé.

Notre travail consiste à étudier la sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées à partir de 30 Smartphones appartenant à trois catégories (10 étudiants universitaires de sexe masculin, 10 étudiantes universitaires de sexe féminin et 10 élèves du CEM) afin d'isoler et d'identifier les bactéries suivant les caractères bactériologiques usuels. L'identification basée sur les critères macroscopiques et microscopiques ainsi que biochimiques portant sur les tests API 20 a mené d'identifier 15 souches différentes dont la grande partie était isolée des Smartphones du sexe masculin, 90% des souches sont des bactéries à Gram positif tandis 10% des souches étaient à Gram négatif. Le test de sensibilité aux antibiotiques a été réalisé par diffusion sur gélose en testant 12 antibiotiques de familles différentes. Les résultats ont montré des sensibilités variables d'une souche à une autre, parmi les bactéries identifiées, l'espèce *Bacillus megaterium* résiste à 60% des antibiotiques testés, sachant que cette souche peut avoir un degré de pathogénéicité plus au moins grave chez l'homme ce qui montre la nécessité d'étudier l'activité antibactérienne afin de prévenir et de diminuer le risque de contamination. Par contre, *Aerococcus viridans* est sensible à 60% des antibiotiques testés permettant ainsi d'optimiser la probabilité du succès thérapeutique en cas d'infection causées par cette espèce.

Notre étude a révélé que le Smartphone n'est pas seulement un moyen de communication mais aussi un véritable nid à bactéries qui peut mettre en danger la santé de l'homme. Pour cela il est nécessaire d'assurer une bonne hygiène surtout que le Smartphone demeure un outil indispensable.

Mots clés : Smartphones, bactéries, antibiotiques, résistance, sensibilité.

Promotrice: Dr. KHEDDOUMA A.

(MCB) Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Devant le Jury

Présidente : Dr. DOUAOUYA L.

(MCB) Univ. Abbès Laghrour - Khenchela

Examinatrice: Dr. YAKHLEF W.

(MCB) Univ. Abbès Laghrour - Khenchela