



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



*Université de Tlemcen
Faculté des Sciences de la
Nature et de la Vie et Sciences de
la Terre et de l'Univers*

*Département de
Biologie
Laboratoire de Microbiologie Appliquée à
l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement«
LAMAABE»*

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par :
CHEKROUN Meriem
BENZEMRA Hayat

*En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie
Option : Microbiologie et Contrôle de qualité*

Thème

**Etude de l'adhésion des biofilms sur
différents supports
(Oxyde de Zinc, Or, Silicium, verre)**

Soutenu le 30 Juin 2020

Devant le jury :

<i>Dr Boublenza Lamia</i>	<i>Maitre de conférences A</i>	<i>Présidente</i>
<i>Dr Bellifa Samia</i>	<i>Maitre de conférences B</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>Dr Rebiahi Sid Ahmed</i>	<i>Maitre de conférences A</i>	<i>Promoteur</i>

Année universitaire 2019/2020

Remerciements

A nos très chers parents pour lesquels le remerciement ne sera jamais suffisant pour récompenser leurs immenses sacrifices, leur soutien et appui inconditionnel durant toutes les périodes de notre vie...Ce travail est le fruit de vos efforts, de vos prières incessantes, de votre tendresse, et de votre amour.

On espère rester toujours dignes de votre estime et ne jamais vous décevoir. Puisse Dieu, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur. Nous commençons tout d'abord par remercier le bon Dieu de nous avoir donné le courage et la Volonté de réaliser ce travail.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères à notre cher

Promoteur, Docteur **REBIAHI Sid Ahmed**, Maître de Conférences A, de nous avoir encadrées tout au long de ce travail. Merci pour son soutien, son enseignement, ses précieux conseils, sa confiance, son encouragement, et son aide durant tout notre parcours.

Nos vifs remerciements pour les membres du jury, à commencer par

Docteur **BOUBLENZA Lamia** Maître de Conférences A, à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, qui nous a fait l'honneur de présider notre jury. Nous lui adressons nos sincères remerciements ;

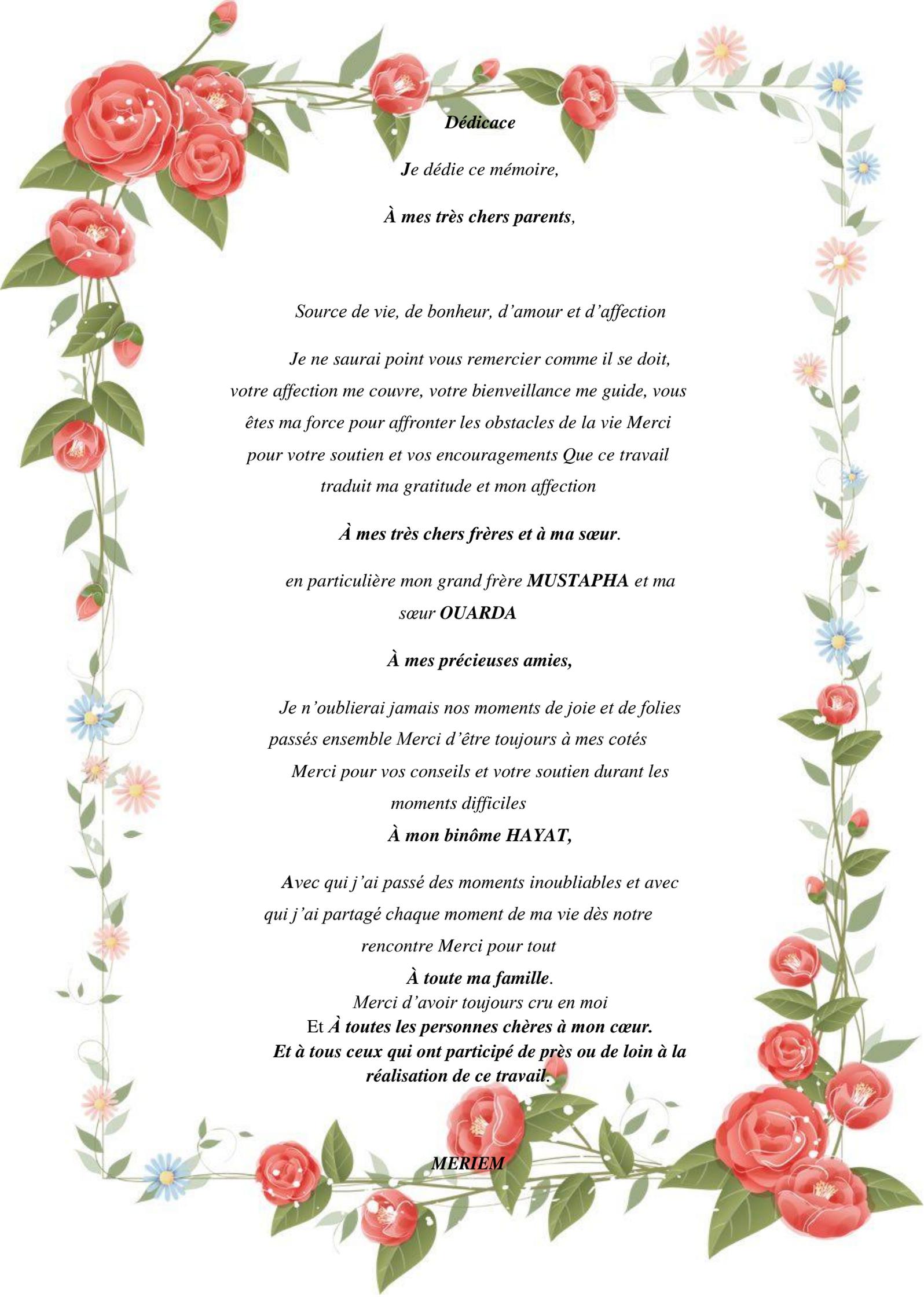
A Madame **BELLIFA Samia** Maître de Conférences B, à l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail, Nous lui adressons nos sincères remerciements

Je n'oserai oublier de remercier tout le corps professoral de l'université de Tlemcen de notre faculté science Biologique, pour le travail énorme qu'il effectue pour nous créer les conditions les plus favorables pour le déroulement de nos études et qui nous ont fait découvrir le monde de la Biologie et qui nous ont donné les bases de la recherche pendant notre parcours universitaire.

Enfin, Dans l'impossibilité de citer tous les noms,

Nos sincères remerciements vont à toutes les personnes, qui de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce modeste travail.

Et à tous ceux qui nous ont donné le courage et qui ont cru en nous.



Dédicace

Je dédie ce mémoire,

À mes très chers parents,

Source de vie, de bonheur, d'amour et d'affection

*Je ne saurai point vous remercier comme il se doit,
votre affection me couvre, votre bienveillance me guide, vous
êtes ma force pour affronter les obstacles de la vie Merci
pour votre soutien et vos encouragements Que ce travail
traduit ma gratitude et mon affection*

À mes très chers frères et à ma sœur.

*en particulière mon grand frère **MUSTAPHA** et ma
sœur **OUARDA***

À mes précieuses amies,

*Je n'oublierai jamais nos moments de joie et de folies
passés ensemble Merci d'être toujours à mes cotés*

*Merci pour vos conseils et votre soutien durant les
moments difficiles*

*À mon binôme **HAYAT,***

*Avec qui j'ai passé des moments inoubliables et avec
qui j'ai partagé chaque moment de ma vie dès notre
rencontre Merci pour tout*

À toute ma famille.

Merci d'avoir toujours cru en moi

Et À toutes les personnes chères à mon cœur.

*Et à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la
réalisation de ce travail.*

MERIEM



Dédicace

A mon cher époux ABDALLAH et à mes enfants

DOUAA, NEDJMEDDINE, KOUNOUZ et SOUDJOU pour leurs multiples encouragements et leur patience.

Qu'ils trouvent ici toute mon affection et tout mon amour.

A ma mère et à mon père

Pour leur soutien, leur aide, leur sacrifice et toutes les valeurs qu'ils ont su m'inculquer. Qu'ils trouvent ici toute ma reconnaissance, ma gratitude et tout mon amour.

A mes beaux parents

A mes Sœurs

Pour leurs conseils

A mon frère MOHAMMED

A mes beaux frères et mes belles sœurs.

En particulier à mon binôme MERIEM

Une sœur qui a toujours veillée à me soutenir

A toute la promotion « **Microbiologie et contrôle de qualité 2019-2020** » en particulier **NACERA et NOUR ELHOUDA.**

HAYAT

ملخص

يطرح الالتصاق الجرثومي مشاكل صناعية وبيئية وطبية والقضاء عليه هو قضية اقتصادية وبيئية (استخدام المبيدات الحيوية يطرح مشاكل بيئية). من أجل المساهمة في فهم آليات الالتصاق البكتيري وتطوير استراتيجيات جديدة لمكافحة تشكيل الأغشية الحيوية مع الدعامات للأحيائية، درسنا قوة التصاق أربعة أنواع من البكتيريا النموذجية، *E. coli*، *P. aeruginosa* و *S. aureus* و *B. subtilis* على أربعة أنواع من الدعم المادي (الذهب وأكسيد الزنك والسليكون والزجاج). تظهر النتيجة أن الدعم المكون من الذهب وأكسيد الزنك يبدو أنه أحد الدعامات الأكثر مقاومة للالتصاق البكتيري، والذي يمكن أن يكون بديلاً ممتازاً لاختيار الدعم المستخدم في المجال الطبي أو الصناعات الغذائية.

الكلمات المفتاحية: التصاق، فيلم حيوي، دعم بدني، بكتيريا

Abstract

Bacterial adhesion poses industrial, environmental and medical problems and its elimination is an economic and ecological issue (the use of biocides poses environmental problems). In order to contribute to the understanding of the mechanisms of bacterial adhesion and to develop new strategies to combat the formation of biofilms with abiotic supports, we studied the adhesion power of four model bacteria: *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *B. subtilis* on 4 types of physical support (gold, zinc oxide, silicon, glass).

The result shows that the support composed of gold and zinc oxide seems to be one of the supports most resistant to bacterial adhesion, which could be an excellent alternative for the choice of support used in the medical field or food industry.

Keyword: Adhesion, biofilm, physical support, bacteria

Résumé

L'adhésion bactérienne pose des problèmes industriels, environnementaux et médicaux et son élimination est un enjeu économique et écologique (l'utilisation de biocides pose des problèmes environnementaux). Dans le but de contribuer à la compréhension des mécanismes de l'adhésion bactérienne et de développer de nouvelles stratégies de lutte contre la formation des biofilms aux supports abiotiques, nous avons étudié le pouvoir d'adhésion de quatre bactéries modèles : *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *B. subtilis* sur quatre types de supports physiques (or, oxyde de zinc, silicium, verre).

Le résultat montre que le support composé d'or et d'oxyde de zinc semble être l'un des supports le plus résistant à l'adhésion bactérienne, ce qui pourrait être une excellente alternative pour le choix de support utilisé dans le domaine médical ou industrie alimentaire.

Mots clé: Adhésion, biofilm, support physique, bactérie.

LISTE DES ABREVIATIONS:

Au : Or.

B. subtilis : Bacillus subtilis.

C°: degrés Celsius.

DLVO: Derjaguin , Landau, Verwey , Overbeek .

EPS : Extracellular polymeric substance.

E. coli : Escherichia coli.

Gram- : Gram négatives

Gram +: Gram positif

HAVL : Le verre est le matériau dans lequel sont confinés les déchets nucléaires de haute activité

HF: Acide fluorhydrique

kV :Kilovolt

MEB : microscopie électronique à balayage.

Min: minutes.

ml: millilitre.

nm : nanomètre.

P. aeruginosa : Pseudomonas aeruginosa.

SCN : staphylocoques à coagulase négative

SEM : Scanning Electron Microscopy

Si : Silicium

S. aureus : Staphylococcus aureus.

µm : micromètre.

UFC: Unité Formant Colonie

ZnO: Oxyde de zinc

Table des matières

INTRODUCTION :	1
CHAPITRE I : L'adhésion bactérienne	
1-L'adhésion bactérienne	3
1-1 Définition :	3
1-2 Mise en place d'un film conditionnant :	3
1-3 L'adhérence réversible :	3
1-4 L'adhérence irréversible (Figure 1)	4
2 Les théories prédictives de l'adhésion bactérienne sur des supports solides :	5
2-1 La théorie de DLVO :	5
2-2 L'approche thermodynamique :	6
3-Le transport des micro-organismes et adhérence :	6
4- Facteurs influençant l'adhésion bactérienne :	7
4-1/Influence des conditions environnementales :	7
4-1-1-Facteurs physicochimiques :	7
4-1-2 Forces hydrodynamiques d'un flux :	8
4-2-3- Température :	8
4-2-4 Le pH du milieu environnant :	9
4-2-5. Composition du milieu :	9
4-3-Influence des propriétés bactériennes :	9
4-3-1-Charge de la surface bactérienne :	9
4-3-2-Caractère hydrophile/hydrophobe de la surface bactérienne :	10
4-4-Les facteurs de mobilité et d'adhérence :	11
4-4-1-Le flagelle:	11
4-4-2- Les pili :	12
4-4-3- Les fimbriae et les curli:	13
4-6 Paroi et capsule :	14
4-7- Caractéristiques de la surface :	14
4-7-1 Géométrie de la surface :	14
4-7-2-Rugosité de la surface du support :	14
4-7-3-Propriétés physico-chimiques de la surface :	15

CHAPITRE II :LES ESPECES BACTERIENNES

1- <i>Escherichia coli</i>	16
1-1- Historique:	16
1-2- Habitat :	16
1-3- Caractéristiques	16
1-4 Le pouvoir pathogène :(Figure 2).....	17
2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
2-1 Historique.....	18
2-2 Habitat.....	18
2-3-Caractéristiques	18
2-4 Pouvoir pathogène :(Tableau 1)	19
3. <i>Staphylococcus aureus</i>	19
3-1 Historique.....	19
3-2 Habitat.....	20
3.3 Caractéristiques	20
3-4 Pouvoir pathogène.....	20
4. <i>Bacillus subtilis</i>	21
4-1 Historique.....	21
4-2 Habitat :	21
4-3 Caractéristiques.....	22
4.4 Pouvoir pathogène	22

CHAPITRE III :Microscope électronique à balayage (MEB)

1-. Définition:.....	24
2-Les composant du microscope électronique a balayage :	26
3-Caractéristiques :.....	27
4-Principe de fonctionnement du MEB :	27
5-Avantages du MEB :.....	27
6-Désavantages de MEB	29

CHAPITRE IV: LES MATERIAUX

1. Oxyde de zinc.....	30
1.1. Définition	30
1.2. Les applications	30
2. Or	30
2.1. Définition	30

2.2. Applications	31
3. Silicium	31
3.1 Définition	31
3.2- Applications	31
4. Le verre	32
4.1 Définition	32
4.2 Applications	32
LES ANALYSES STATISTIQUES	
Conclusion	37
<i>Référence Bibliographique</i> :.....	38

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Les étapes du développement du biofilm D'après (Monroe, 2007).....	5
Figure 2 : Colonisation du métal d'un climatiseur par des bactéries amenées par l'eau au bout de 2 semaines (Gibbon et Donlan., 2002)	10
Figure 3 : Biofilm de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Centre de recherche en microscopie centrale - Université de l'Iowa)	12
Figure 4 : Implants médicaux contaminés dans le corps humain (Montana State Université Center for Biofilm Engineering)	17
Figure 5 : Plaque dentaire causée par trois types de bactéries différentes (Houssin., 2011)	21
Figure 6 : La vue de dessus d'un biofilm de <i>B. subtilis</i> croissant en culture. Les structures variées au sein du biofilm sont liées à des fonctions spécialisées assumées par les cellules dans différentes parties du biofilm	23
Figure 7 : Photo de l'appareil RIGAKU MiniFlex 600	24
Figure 8 : Schéma du microscope électronique à balayage MEB (Frye.,2018)	25
Figure 9 : Photo de l'appareil FEI MEB QUANTA 45	26
Figure 10 : Ultra structure de biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i> vue sous le microscope à balayage électronique Les cellules apparaissent très contrastées dû à la production des protéines et des sucres(dreamstime.com)	28
Figure 11 : Représentations graphique exprimant la comparaison globale par analyse de la variance entre les souches testées.....	34
Figure 12 : Représentations graphique exprimant la comparaison globale par analyse de la variance entre les surfaces.....	35

LISTE DES TABLEAUX

Table 1 : Liste partielle des infections humaines dues aux biofilms	18
Tableau 2: Le nombre de bactéries/cm ² adhérent sur différents supports	33
Tableau 3: Résultat de l'analyse de variance des moyennes de dénombrements selon les souches testées.....	34
Tableau 4 : Moyenne et groupe des dénombrements par espèces	35
Tableau 5 : Résultat de l'analyse de variance des moyennes de dénombrements selon les surfaces.....	36
Tableau 6 : Moyenne et groupe des dénombrements par support	36

INTRODUCTION

INTRODUCTION :

Les matériaux en contact avec des fluides biologiques sont exposés à de nombreux microorganismes (bactéries, levures...). Ces différentes entités peuvent adhérer sur une surface ou un support et le coloniser.

Lorsque les microorganismes impliqués sont pathogènes, les dangers pour la santé humaine sont nombreux : de l'infection intestinale (causée par exemple par *Salmonella*) à l'infection nosocomiale (causée par exemple par *Staphylococcus aureus*) en passant par la listériose (causée par *Listeria monocytogenes*). Néanmoins, lorsque les bactéries sont non pathogènes, la colonisation de la surface par ces bactéries peut être utile. Il s'agit par exemple de l'utilisation de *Brevibacterium linens* ou de *Staphylococcus xylosus* dans les salles d'affinage des fromageries (ces bactéries rendent la croûte de certains fromages rouge et odorante) (*Emilie Bulard., 2012*).

Pendant longtemps, les bactéries ont été étudiées sous forme planctonique en culture liquide en tant que cellules libres, alors que paradoxalement dans la nature la majorité d'entre elles se trouvent sous forme de biofilm. Dans cette structure particulière, les microorganismes se développent en micro colonies adhérentes les unes aux autres et sur une surface solide (*Ziad et Hayoun., 2016*)

Les biofilms colonisent des surfaces très variées et sont particulièrement connus pour leurs effets néfastes dans le domaine environnemental, médical et industriel. La majorité des espèces bactériennes étudiées en laboratoire forment des biofilms. Les bactéries modèles les plus étudiées sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Vibrio cholerae* (*Roux et Ghigo.,2006*).

Pseudomonas aeruginosa a motivé les premières recherches sur les biofilms du fait de son rôle dans les infections respiratoires et surtout parce que sa génétique était plus facile. *Staphylococcus aureus* (Sa) et les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont les causes les plus fréquentes d'infections associées à la présence de biofilm (*Dellamonica., 2012*).

La mise en place d'un biofilm s'effectue en plusieurs étapes, l'adhésion est l'une des premières étapes. Elle est influencée par de nombreux facteurs, qui peuvent être répartis en trois catégories : les caractéristiques des surfaces à coloniser, les conditions environnementales et les propriétés bactériennes (*Branger et al., 2007*).

De nombreuses équipes de recherche s'intéressent au mode de développement des biofilms et aux facteurs d'adhésion bactérienne impliqués dans les différentes étapes de leur formation.

Au cours de cette contribution, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'adhésion des bactéries (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Bacillus subtilis*) à différents supports physiques solides (or, oxyde de zinc, silicium, verre). Il s'agit d'explorer les possibles interactions entre plusieurs supports et différentes espèces bactériennes par la réalisation d'une étude statistique. Pour cette fin, nous avons opté pour l'analyse de variance de l'ANOVA 2 (test de Tukey).

Synthèse

Bibliographique

CHAPITRE I :

L'adhésion bactérienne

1. L'adhésion bactérienne

1-1. Définition :

L'adhésion bactérienne ou microbienne sur un support solide peut être divisée en 3 sous-étapes :

1) Mise en place d'un film conditionnant.

2) La première phase physique, instantanée et réversible

3) La deuxième phase liée à la physiologie des bactéries, non instantanée et irréversible et temps dépendante.

1-2. Mise en place d'un film conditionnant :

Les molécules, organiques ou inorganiques, présentes dans un milieu aqueux, sont attirées vers les surfaces et forment le film conditionnant qui semble nécessaire pour l'adhésion des bactéries sur une surface (**Palmer *et al.*, 2007**).

Ce film peut être constitué de glycoprotéines, phosphoprotéines, albumines ou lipides. Il représente une source de nutriments non négligeable pour les bactéries favorisant ainsi leur chimiotactisme (**Squinazi, 2013**).

1-3. L'adhérence réversible :

En milieu liquide ou exposé à l'humidité et en présence d'un film conditionnant, les bactéries planctoniques s'approchent d'une surface solide par mouvement brownien, par sédimentation ou par mobilité active (présence de flagelles) (**Hoiby *et al.*, 2011**).

Elles s'y attachent de manière réversible par des interactions non spécifiques, électrostatiques et électrodynamiques. Les cellules s'adsorbent sur une surface pendant un certain temps, mais peuvent se détacher. Cette étape est influencée par des conditions environnementales. (**Branger *et al.*, 2007 ; Pecastaings., 2010; Muller *et Guaguere., 2014***).

Cette approche des microorganismes vers le support conduit à un attachement transitoire pendant lequel la bactérie va chercher à évaluer la surface sur laquelle elle se trouve, les cellules bactériennes établissent un premier contact avec la surface et interagissent avec le film conditionnant (*Salatin, 2009*).

L'adhésion initiale des bactéries aux surfaces est principalement un événement physico-chimique qui dépend des forces de longue distance comme les forces électrostatiques et thermodynamiques et des forces à courte distance comme les attractions de van der Waals (*Karunakaran et Biggs, 2011*).

1-4. L'adhérence irréversible (Figure 1)

La fixation à la surface solide devient irréversible et forte en raison de la production d'exo- polysaccharides (EPS) par les bactéries et surtout grâce à des liaisons de type hydrophobe qui s'établissent entre ces deux (*Branger et al., 2007 ; Hoiby et al., 2011 ; Bellifa, 2014*).

Dans un second temps, les structures d'adhérence bactériennes, par exemple les fimbriae et les curli pour *E. coli*, qui interagissent avec des récepteurs spécifiques présents sur la surface, jouent un rôle important dans cette étape (*Beloin et al., 2008*).

L'attachement transitoire est suivi d'une association stable avec la surface. Ce mouvement collectif sur la surface permet aux bactéries de se diriger vers les zones où il est possible d'établir des interactions fortes entre ses molécules de surface et celles de substrat. Ces interactions de haute énergie sont de type covalent. Cette adhésion stable est rendue possible par la sécrétion de polymères extracellulaires formant des ponts de fixation entre la cellule et la surface. Ces exopolymères ont un rôle multiple : ils assurent l'attachement des microorganismes mais également le piégeage des éléments nutritifs nécessaires à la croissance bactérienne et protègent ces mêmes bactéries des différentes agressions (*Salaun, 2009*).

Cette étape est dépendante du temps et nécessite que les microorganismes soient capables d'exprimer un certain nombre de gènes conduisant à l'acquisition de nouvelles structures adhésives (*Khalilzadeh, 2009*).

CHAPITRE I : L'adhésion bactérienne

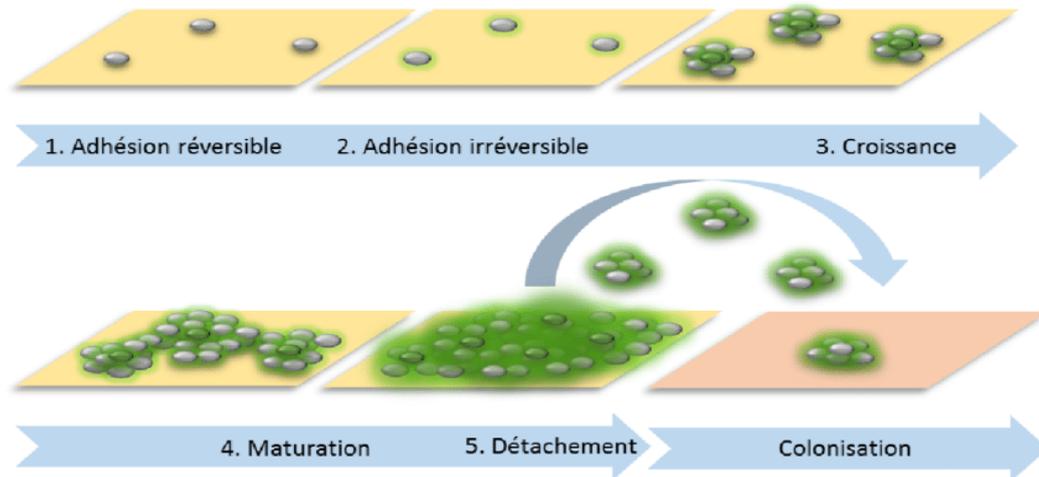


Figure 2 : Les étapes du développement du biofilm D'après (Monroe, 2007).

2. Les théories prédictives de l'adhésion bactérienne sur des supports solides :

Il existe deux théories qui expliquent les mécanismes de l'adhésion bactériennes :

2-1. La théorie de DLVO :

Inspirée des noms de ses fondateurs (Derjaguin, Landau, Verwey et Overbeek) élaborée dès 1948, elle permet de décrire les interactions entre deux particules sphériques (*Verwey et al., 1999*). Cette théorie prend en considération les forces électrostatiques et les forces de Van der Waals, sans tenir compte des interactions de Lewis.

Elle a été utilisée par de nombreux expérimentateurs comme modèle qualitatif, mais aussi dans certains cas d'une manière quantitative pour estimer réellement les changements d'énergie sans adhérence afin d'expliquer l'adhérence microbienne (*Marshall, Cruickshank.,1973*).

Cette théorie a fourni une bonne concordance entre les résultats théoriques et expérimentaux (*Hermansson.,1999 ; Katsikogianni, M., et al 2004*).

2-2. L'approche thermodynamique :

Cette théorie et du a un phénomène d'adhésion microbienne peut être appréhendé sous un angle strictement thermodynamique (**Busscher et al., 1984**).

L'adhésion du microorganisme sur le support solide correspond à un état d'équilibre.

Elle se traduit par la création d'une interface microorganisme-solide et conjointement, par la destruction des interfaces microorganisme-liquide et solide liquide (*Absolom et al., 1983*).

3. Le transport des micro-organismes et adhérence :

Avant que les micro-organismes (sous forme de cellules planctoniques) puissent s'adsorber sur un support, ils sont transportés jusqu'à celui-ci. On distingue différents modes de transport selon le type et la taille des micro-organismes. Les organismes de petite taille (0,01 à 0,1 μm) vont diffuser dans le milieu liquide. Quant aux organismes de plus grandes tailles (0,5 à 10 μm) qui représentent la plupart des micro-organismes, le transport va dépendre des conditions hydrodynamiques. Ils vont pouvoir s'approcher de la surface par différents mécanismes (*Marshall, 1985 ; Characklis et al., 1990*).

Des signaux environnementaux et nutritionnels vont alors attirer ou au contraire repousser les cellules planctoniques. L'approche du support dépend de la nature du milieu dans lequel les micro-organismes évoluent (viscosité et force ionique), et du mouvement de ce milieu (écoulement, flux, sédimentation). Il existe deux types d'approches des micro-organismes vers le support. L'approche de type passive est due à l'environnement dans lequel sont les micro-organismes. Le dépôt sur la surface à coloniser va se faire par gravitation, diffusion ou par la force de projection du flux turbulent. Dans le cas d'un flux nul ou faible, on considère si la distance entre le micro-organisme et la surface est supérieure à 10 nm, les interactions sont faibles. Elles sont plus fortes à une distance inférieure à 10 nm, l'attraction des particules sur le support va être favorisée (*Donlan et Costerton., 2002*).

CHAPITRE I : L'adhésion bactérienne

Les micro-organismes peuvent sédimer, c'est le phénomène de dépôts des particules sous l'action de la pesanteur. Il va être plus important en cas d'agrégation des particules (*Dickson, Daniels, 1991*).

Les micro-organismes peuvent également se déplacer grâce au mouvement brownien. Ce phénomène naturel est le mouvement désordonné et aléatoire de particules, molécules en suspension dans un liquide (ou gaz) entrant en contact avec les particules de ce fluide (ou gaz) (*Van Oss, 1996*).

L'approche de type active met en jeu la mobilité intrinsèque des micro-organismes. Le déplacement va s'effectuer généralement grâce aux appendices générateurs de mouvement ; les flagelles ou les pili. Ces appendices vont aider les bactéries à se déplacer dans les milieux aqueux pour s'approcher de la surface à coloniser (*Thomas et al., 2002*).

Les bactéries n'ayant pas d'appendices peuvent adhérer à la surface par des molécules adhésives (par exemple les curli). Le phénomène de chimiotaxie peut être observé pour certains micro-organismes. Ils se dirigent ou dirigent leurs mouvements en fonction d'un gradient chimique, la concentration de certaines molécules présentes dans leur environnement. En fonction de ce gradient, les bactéries vont être attirées ou repoussées (*Pratt et Kolter, 1998*).

4-. Facteurs influençant l'adhésion bactérienne :

L'adhésion bactérienne est un processus complexe influencé par de nombreux facteurs qui peuvent être répartis en trois catégories. En effet, l'adhésion bactérienne dépend des conditions environnementales, des propriétés bactériennes et des caractéristiques des surfaces à coloniser :

4-1. Influence des conditions environnementales :

4-1-1. Facteurs physicochimiques :

Les facteurs environnementaux tels que la température, la concentration bactérienne, l'existence de flux, la qualité et la quantité des substances nutritives environnantes affectent l'adhésion bactérienne et la formation d'un éventuel biofilm. Ainsi, certaines souches bactériennes incapables de s'organiser en biofilm in vivo,

peuvent présenter cette faculté in vitro dans des conditions expérimentales propices. De même, une souche bactérienne isolée à partir d'un biofilm développé à la surface d'un dispositif biomédical peut, in vitro, perdre cette propriété du fait de conditions expérimentales trop éloignées des conditions physiologiques (*Baillif et al., 2010*).

4-1-2. Forces hydrodynamiques d'un flux :

Les forces hydrodynamiques sont considérées comme étant les facteurs environnementaux les plus susceptibles d'affecter l'adhésion bactérienne (*Baillif et al., 2010 ; Bellifa, 2014*). Ainsi la répartition bactérienne sur un support est modélisée par l'intensité d'un flux : si celui-ci est laminaire, les bactéries auront tendance à s'organiser en agrégats amorphes alors qu'en cas d'écoulement turbulent, elles auront plutôt tendance à adopter une disposition en fins serpentins placés dans le sens du courant (*Baillif et al., 2010*).

La production de slime est aussi modulée en fonction du débit : plus les forces d'écoulement ne sont élevées, plus le slime est abondant, épais et dense permettant une meilleure adhésion des bactéries au support et entre elles, ainsi qu'une meilleure protection mécanique. L'existence d'un courant à la surface d'un support lors de la phase d'adhésion initiale déterminera donc la robustesse de l'attachement bactérien au support (*Baillif et al., 2010*).

4-2-3. Température :

La température demeure un facteur important qui peut modifier fortement l'adhésion des organismes. La température de croissance a un effet significatif sur la mobilité électrophorétique cellulaire et la production de flagelles et, par conséquent sur l'adhésion. La surface de la bactérie, et donc son caractère hydrophobe peut être affectée par la température de croissance (*Briandet et al, 1999*).

L'augmentation de la température favorise la multiplication bactérienne. Elle semble stimuler l'adhésion des micro-organismes et modifier la sécrétion de slime (*Baillif et al., 2010*)

4-2-4. Le pH du milieu environnant :

La modification de la charge de surface des microorganismes et de celle des supports solides est influencée par le pH du milieu environnant ce qui peut avoir comme conséquence une réduction ou une augmentation des interactions électrostatiques répulsives défavorables à l'adhésion microbienne au support (**Hamadial., 2004 ; Boutaleb, 2007**).

4-2-5. Composition du milieu :

La composition du milieu nutritif, tant au niveau qualitatif que quantitatif, est capable de moduler l'adhésion bactérienne (**Bellifa, 2014**). Ainsi la présence de calcium et de magnésium semble faciliter l'adhésion réversible de la bactérie à un support. La synthèse du slime est favorisée par un excès de carbone, une addition de glucose, ou une déplétion en nitrogène, potassium et phosphate (**Baillif et al., 2010**).

La concentration en nutriments joue un rôle majeur : un milieu riche en substrats, elle favorise l'adhésion et la croissance bactériennes. En cas d'appauvrissement du milieu environnant, les bactéries encore planctoniques auront tendance à être attirées par le biofilm qui représente alors une réserve en substrats (**Bellifa, 2014**).

4-3. Influence des propriétés bactériennes :

A un support (une surface) donnée, l'adhésion bactérienne sera fonction de l'espèce bactérienne et même de la souche bactérienne utilisée du fait de caractéristiques physicochimiques différentes (**Baillif et al., 2010**).

L'augmentation ou une diminution de l'adhésion bactérienne dépend de la modification des caractéristiques de surface des microorganismes (**Baillif et al., 2010**).

4-3-1. Charge de la surface bactérienne :

Dans un milieu aqueux la plupart des particules acquièrent une charge électrique du support lorsqu'elles sont plongées en suspension. Cette charge provient de l'ionisation de leurs groupes de surface. Elle est définie par la mesure du point isoélectrique, du potentiel électrocinétique ou de la mobilité électrophorétique.

CHAPITRE I : L'adhésion bactérienne

Les bactéries en solution aqueuse sont en général presque toujours chargées négativement. Une bactérie dont la charge de surface est élevée est presque toujours hydrophile. Cette charge varie en fonction de l'espèce bactérienne et est influencée par le milieu de culture (pH, force ionique), par l'âge de la bactérie ainsi que la structure de sa surface. La contribution relative de la charge bactérienne par rapport à l'adhésion bactérienne n'est cependant toujours pas clairement comprise (*Baillif et al., 2010*).

4-3-2. Caractère hydrophile/hydrophobe de la surface bactérienne :

Habituellement, les bactéries hydrophobes préfèrent des surfaces hydrophobes et les bactéries hydrophiles, les surfaces hydrophiles (*Vacheethasane et al., 1998*).

Vacheethasane et al montrèrent que l'adhésion de souches de *Staphylococcus epidermidis* à du polyéthylène était plus importante, plus les souches étaient hydrophobes. Cette observation fut obtenue après incubation des cellules bactériennes dans un milieu soumis à un courant de faible intensité (*Vacheethasane et al., 1998*).

La corrélation entre l'hydrophobicité de la surface bactérienne et son adhésion disparaissait en cas d'écoulement turbulent. Les bactéries hydrophobes paraissent avoir une capacité d'adhésion supérieure par rapport aux bactéries hydrophiles (**figure 2**) (*van Loosdrecht et al., 1987*).

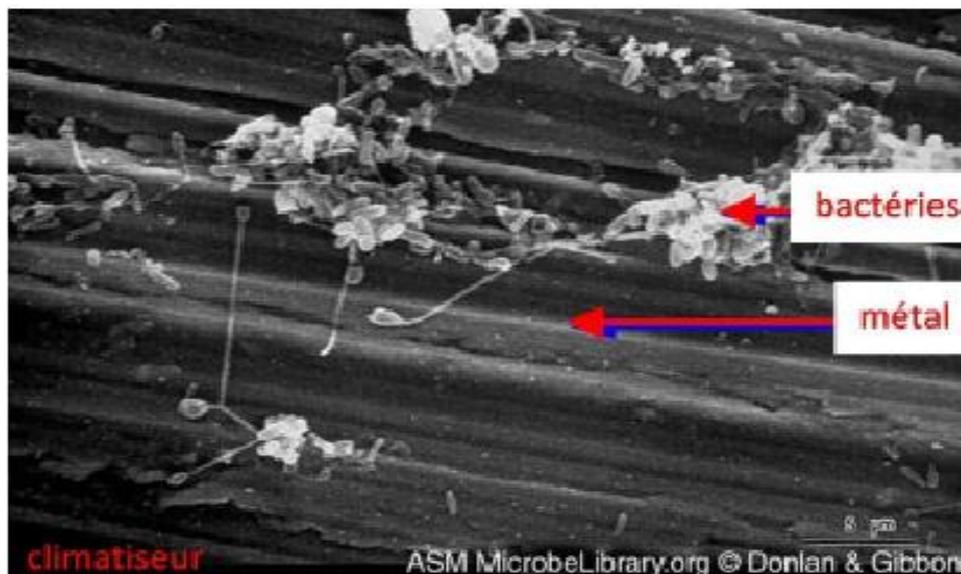


Figure 2 : Colonisation du métal d'un climatiseur par des bactéries amenées par l'eau au bout de 2 semaines (*Gibbon et Donlan., 2002*)

Ainsi, des études diminuant artificiellement l'hydrophobicité des bactéries par de la pepsine ou par des subcultures répétées aboutirent à une décroissance de leurs propriétés adhésives (*Baillif et al., 2010*).

Il semble cependant que l'hydrophobicité de la bactérie jouerait quand même un rôle moindre dans l'adhésion par rapport à celui joué par l'hydrophobicité du support (*Baillif et al., 2010*).

4-4. Les facteurs de mobilité et d'adhérence :

O'Toole et Kolter (1998) ont développé une méthode de criblage génétique qui a permis de caractériser un certain nombre de déterminants importants dans la l'adhérence.

4-4-1. Le flagelle:

Le flagelle est un appendice extracellulaire, permettant à la bactérie de se déplacer en milieu liquide ou semi-solide. Les flagelles peuvent faciliter le contact avec le support en permettant de franchir la zone de répulsion électrostatique (*Herald et al. 1988*).

Ceci favorise l'adhésion des cellules directement en contact avec la surface, **O'Toole et Kolter (1998)** ont confirmé, en utilisant la microscopie, qu'un mutant défectueux dans la formation du flagelle n'adhère que très faiblement au support.

En 2001, **Vallet et al.** ont montré que non seulement la présence du flagelle mais, également, son fonctionnement normal est important pour l'attachement au support. En effet, des mutants, qui codent pour des éléments moteurs du flagelle mais dont l'inactivation n'empêche pas l'assemblage, sont incapables d'adhérer à un support.

Ces observations indiquent que le flagelle est particulièrement important pour l'approche du support.

La première fonction du flagelle dans la formation du biofilm est le rapprochement de la bactérie planctonique vers le support (mécanisme de nage) et dans l'interaction initiale de la cellule avec la surface.

CHAPITRE I : L'adhésion bactérienne

L'absence de mobilité liée aux flagelles chez des mutants de *P. aeruginosa* réduit considérablement l'adhésion de la bactérie sur le polystyrène (*O'Toole and Kolter, 1998*).

Les mêmes constatations ont été obtenues chez *E. coli* et *Vibrio cholerae* (*O'Toole and Kolter, 1998*). Au sein du biofilm en formation, la bactérie réduit ensuite de manière importante la synthèse des flagelles.

4-4-2. Les pili :

La résistance bactérienne en termes de force d'adhérence, peut être due à la présence d'appendices (les pili et les flagelles) ; Plusieurs auteurs ont signalé que la présence de flagelles et la mobilité des bactéries favorisent les premières étapes de formation du biofilm (*Gavin et al. 2003 ; Lejeune 2003 ; Moreira et al. 2003*).

Les pili de type IV sont des structures fibrillaires présentes au pôle de certaines bactéries à Gram négatif, dont *P. aeruginosa*, sont impliquées dans un type particulier de mobilité appelée twitching mobility (**figure 3**) (*Wall et al., 1999*). Qui est un déplacement de la microcolonie sur un support qui peut être également impliqué dans l'adhésion des bactéries à des cellules eucaryotes (*Zolfaghar et al., 2003*).

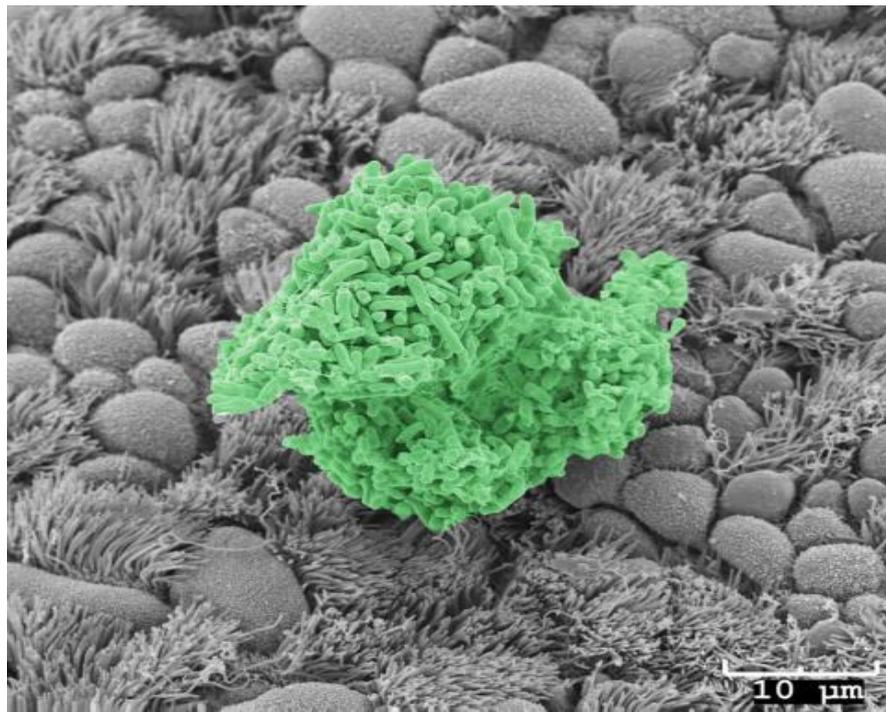


Figure 3 : Biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*
(Centre de recherche en microscopie centrale - Université de l'Iowa)

CHAPITRE I : L'adhésion bactérienne

Ils permettent plus particulièrement des mouvements à l'interface de surfaces solides, mouvements fondés sur la capacité de rétraction de ces pili. La biosynthèse des pili de type IV fait intervenir plus d'une vingtaine de gènes, Contrairement aux mutants dépourvus d'un flagelle fonctionnel, les mutants dont la biogenèse des pili de type IV est affectée peuvent former une monocouche cellulaire sur un support, mais sont en revanche incapables de former les micro-colonies caractéristiques (*O'Toole et al., 1998*).

Cette observation confirme que la formation des micro-colonies est bien un mécanisme d'agrégation cellulaire qui nécessite une mobilité, et non pas seulement une croissance clonale à partir d'une cellule bactérienne donnée, des mutants sur les gènes 'cup' montrent notamment une capacité réduite à former des biofilms (*Vallet et al., 2001*).

Les bactéries sont capables de migrer, grâce au twitching, vers le sommet de la structure pour la faire évoluer (*Klausen et al., 2003*).

Elles possèdent également la capacité de se lier avec de l'ADN (*van Schaik et al., 2005*).

Les pili possèdent au niveau de leur terminaison C-terminale, un domaine récepteur qui agit comme médiateur de liaison avec les surfaces. Une mutation dans cette région conduit à une modification des propriétés de fixation de *P. aeruginosa* sur différents supports : l'adhésion sur un support constitué de fer diminue tandis que l'adhésion sur des cellules de l'épithélium buccal augmente par rapport à la souche sauvage (*Giltner et al., 2006*).

4-4-3. Les fimbriae et les curli:

Chez d'autres organismes, comme *Escherichia coli*, il a été montré que des appendices extracellulaires comme les fimbriae (*Pratt et al., 1998*) ou les « curli » (*Prigent-Combaret et al., 2001*) sont également importants lors de la formation du biofilm.

4-6 Paroi et capsule :

La paroi, une enveloppe rigide assurant l'intégrité de la bactérie. Elle est responsable de la forme des cellules. La structure de la paroi diffère entre les Gram positive (Gram+) et les Gram négative (Gram-).

Quelques bactéries synthétisent des polymères organiques qui se déposent en une couche plus ou moins épaisse et visqueuse au-dessus de la paroi. On appelle cette couche capsule si une frontière bien définie existe entre la paroi et cette couche.

Les composés organiques les plus externes (polysaccharides, protéines) vont permettre à la bactérie d'interagir avec l'environnement et notamment avec les surfaces (*Arciola et al.,2015*)

4-7. Caractéristiques de la surface :

N'importe quelle surface en contact avec un fluide contenant des bactéries est un support potentiel pour la formation d'un biofilm (*Chalvet de Rochemonteix., 2009*).

4-7-1. Géométrie de la surface :

La géométrie de la surface externe du support, à savoir sa forme tridimensionnelle, sa porosité, ses irrégularités de surface, détermine la localisation de l'adhésion bactérienne (*Baillif et al., 2010*).

Les bactéries colonisent préférentiellement les supports poreux et se regroupent en général au niveau des aspérités, des ruptures de courbure, des coins. L'accumulation des biofilms à la surface des supports se réalise de fait dans les zones où la circulation des fluides environnants est freinée par les frottements sur les parois (*Campanac ., 2002*)

4-7-2. Rugosité de la surface du support :

Plus une surface est rugueuse, plus sa colonisation par des micros-colonies est importante (*Alava et al.,2005*). Néanmoins, certaines souches bactériennes colonisent aussi des surfaces lisses (*Characklis, 1990 ; Donlan et Costerton, 2002*).

4-7-3-Propriétés physico-chimiques de la surface :

Les propriétés physico-chimiques de la surface peuvent exercer une influence sur le taux d'attachement et sur son ampleur. Ainsi, les micro-organismes se fixent plus facilement à des surfaces hydrophobes et non polarisées comme le Téflon ou d'autres matières plastiques, que sur des matériaux hydrophiles comme le verre ou les métaux (*Bendinger, 2003*).

CHAPITRE II

LES ESPECES

BACTERIENNES

TESTEE

CHAPITRE II : Les espèces bactériennes

1. *Escherichia coli*

1-1. Historique:

La bactérie est désormais connue sous le nom *Escherichia coli* a été décrite pour la première fois par un pédiatre allemand, Theodore Escherich, à la fin du XIX^{ème} siècle (*Escherich, 1885*), l'espèce *Bacterium coli* commune, isolée des selles de bébés nourris exclusivement au lait maternel (*Ari et Sezonov., 2008 ; Delphine, 2008*).

1-2. Habitat :

E. coli est un hôte normal du tube digestif de l'Homme. Chez l'Homme, elle constitue l'espèce dominante de la flore intestinale.

Par conséquent, *E. coli* se trouve fatalement dans les égouts. Cette niche, Si elle permet de répandre nombre de bactéries dans l'environnement puis vers d'autres animaux hôtes, ne semble pas propice à la propagation d'*E. Coli*. Cela fait de cette bactérie un excellent indicateur de la présence de matière fécale dans les eaux. Cette bactérie est également présente au niveau du revêtement cutanéomuqueux, à proximité des orifices naturels (*Ari et Sezonov ., 2008*).

1-3. Caractéristiques

La famille des *Enterobacteriaceae* regroupe des bacilles droits à Gram négatif, non acido-résistants, mesurant 0,3 à 1,0 µm de diamètre sur 1,0 à 6,0 µm de long. Non sporulés, parfois capsulés, ils possèdent une ciliature péritrice pour les espèces mobiles. Chimio-organotrophes, ils sont aéro-anaérobies, et possèdent à la fois un métabolisme respiratoire et fermentatif. (*Loukiadis, 2007*).

Ces bacilles sont capables de croître sur des milieux ordinaires à base de peptone ou d'extraits de viande et non halophiles (*Loukiadis, 2007*). *E. coli* se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux géloses en donnant de colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactoses, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang elles peuvent être hémolytiques (*Avril et al, 1992*).

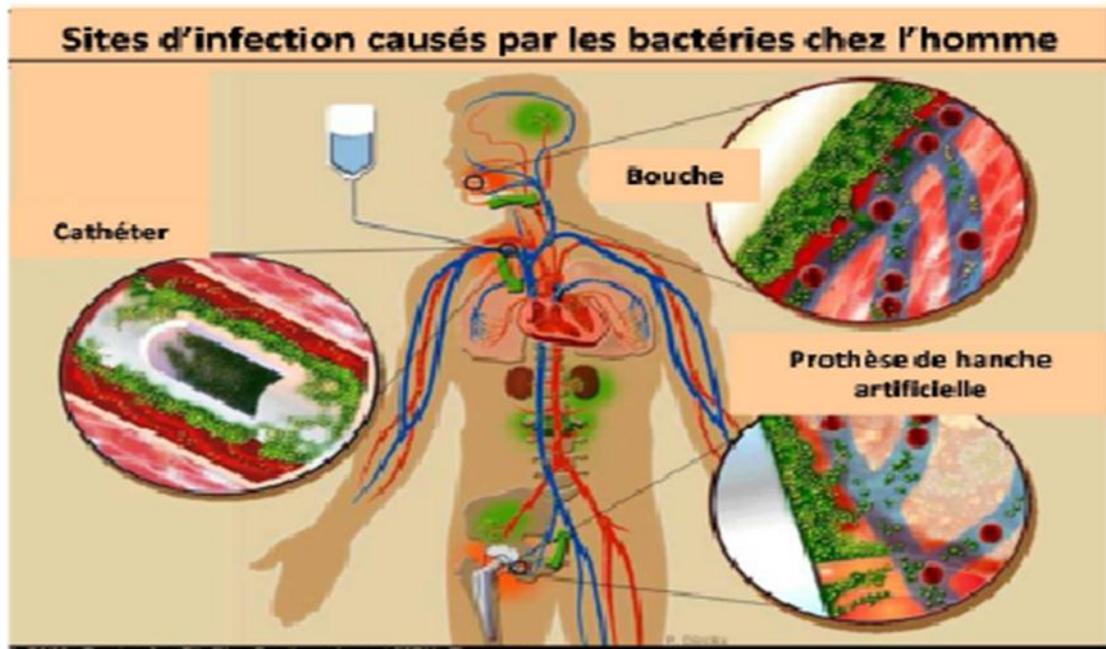
CHAPITRE II : Les espèces bactériennes

1-4. Le pouvoir pathogène : (Figure 4)

E. coli peut non seulement être une bactérie commensale, mais aussi un pathogène. La pathogénèse de ces bactéries se fait par étapes. Tout d'abord elles colonisent une muqueuse. Puis elles se multiplient et causent des dommages à l'hôte tout en essayant d'évader ses défenses (*Kaper, Nataro et al. 2004*).

Possédant de nombreux facteurs de pathogénicité, cette bactérie est responsable de différentes pathologies :

- Infection intestinale
- Infection urinaire : 80 % des infections urinaires primitives
- Suppuration à point de départ intestinal : pus appendicite, péritonite, cholécystite.....
- Septicémie
- Méningite néo-natale
- Autres infections : pulmonaire, ostéo-articulaire(*Danielle, 2015*).



**Figure 4 : Implants médicaux contaminés dans le corps humain
(Montana State Université Center for Biofilm Engineering)**

CHAPITRE II : Les espèces bactériennes

2. *Pseudomonas aeruginosa*

2-1. Historique

C'est Schroeter en 1872 qui décrit pour la première fois un pigment bleuâtre devenant rouge après acidification, réaction attribuée actuellement à la pyocyanine (pigment spécifique de la bactérie). En 1882, Carle Gessard (pharmacien militaire français) identifie le germe et le nomme « bacille pyocyanique ». Mais la description détaillée de la bactérie ; ainsi, la création du genre *Pseudomonas* remonte à Walter Migula (botaniste allemand) en 1900 (*Colwell, 1965*).

2-2. Habitat :

P. aeruginosa est un germe hydro tellurique ubiquitaire, répandu dans les zones humides (eaux polluées, les sols, les lacs, les rivières, les végétaux) où il vit à l'état saprophyte (*Kerr et al., 2009*). Du fait des multiples niches écologiques et surtout d'une forte pression de sélection antibiotique, on le retrouve fréquemment dans l'environnement hospitalier, où il peut contaminer les points d'eau (douches, éviers, lavabos, robinets, siphons, chasses d'eau, vases de fleurs) ainsi que le matériel médical (endoscopes, nébulisateurs, respirateurs artificiels, équipements de dialyse, bains marie, solutions antiseptiques) (*Cabrolier et al., 2014*).

2-3. Caractéristiques

Strictement aérobie, sa température optimale de croissance est comprise entre 30 et 37°C. Les cultures de *P. aeruginosa* dégagent une odeur caractéristique, et produisent le plus souvent des pigments de pyocyanine et de pyoverdine (*Chanfir , 2016*).

Cette bactérie est catalase positive et oxydase positive. Elle possède une versatilité nutritionnelle remarquable pouvant utiliser une variété de sucres simples et complexes, d'alcools et d'acides aminés comme seule source de carbone (*Elmeskini, 2011*).

CHAPITRE II : Les espèces bactériennes

2-4. Pouvoir pathogène : (Tableau 1)

P. aeruginosa est peu virulent pour l'individu normal, mais devient un agent redoutable lorsque les défenses immunitaires du sujet sont altérées (diabète, cancers, brûlures graves, traitements immunosuppresseurs...). En effet, il représente l'exemple type de la bactérie pathogène opportuniste (*Monteil., 2006*) et est à l'origine d'infections principalement broncho-pulmonaires, urinaires, otorhino-laryngologiques, oculaires, cutanées et de septicémies (*Onteniente., 2008*).

Tableau1 : Liste partielle des infections humaines dues aux biofilms

Infection	Espèce(s) impliquée (s)
Infection des cathéters urinaires	<i>Escherichia coli</i>
Infection des sutures	<i>Staphylococcus epidermidis</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>
Infection des cathéters veineux	<i>S. epidermidis</i>
Infection des valves cardiaques	<i>S. aureus</i> et <i>S. epidermidis</i>
Caries dentaires	<i>Cocci Gram + acidogènes (Streptococcus)</i>
Otite	<i>Haemophilus influenzae (non typable)</i>
Mucoviscidose	<i>P. aeruginosa</i> et <i>Burkholderiacepacia</i>
Infection des muscles squelettiques	<i>Cocci Gram + (Staphylococci)</i>

3. *Staphylococcus aureus*

3-1. Historique

Les staphylocoques ont été identifiés dès l'aube de l'ère pasteurienne par Pasteur lui-même, Ogston et Rosenbach, et n'ont jamais cessé de susciter des recherches tant leur importance est grande en pathologie. (*Fleurette et al.,1989*).

Ce sont en effet des bactéries qui peuvent être d'inoffensifs commensaux ou provoquer des infections d'une extrême gravité ; celles-ci peuvent se présenter sous la forme de cas isolés, de petites épidémies familiales ou de graves épidémies dans les collectivités (*Fleurette et al.,1989*).

CHAPITRE II : Les espèces bactériennes

3-2. Habitat :

Les *Staphylococcus aureus* sont des bactéries commensales de la peau des muqueuses de l'homme sur tout la muqueuse nasale , 10% à 40% d'individus porteurs de façon permanente (et environ 60% qui abritent *Staphylococcus aureus* de façon irrégulier) à une densité de 10^3 à 10^4 UFC/cm² (*Foster,2004 ; Sung et al.,2008*).

3.3. Caractéristiques :

Staphylococcus aureus est un germe appartenant au groupe des cocci à Gram positif, aéro-anaérobie facultatif, immobile, regroupe en paire, tétrade ou amas réguliers. Cette bactérie non productrice de spores mais résistante, peut survivre longtemps sur des objets inanimés et secs, elle résiste aussi relativement bien à la chaleur (*Schaechter Et Medoff, 1999*).

C'est est une bactérie qui pousse dans les milieux usuels à une température optimale de 37C° et à un pH optimum de 7,5, le milieu sélectif utilisé pour *Staphylococcus aureus* est le milieu de Chapman (*Potel et Barou., 1990*).

Staphylococcus aureus se distingue des autres espèces de *staphylocoques* par :

- Sa pigmentation dorée.
- Une coagulase positive
- La fermentation de mannitol (*Pechereet al., 1991; Avril et al, 1992*).

3-4 Pouvoir pathogène :

S. aureus, est une bactérie ubiquitaire que l'on retrouve fréquemment sur la peau et les muqueuses de l'Homme (**figure 5**) (*Wertheimet al., 2005*).

Parmi les micro-organismes les plus incriminés dans les infections, *Staphylococcus aureus* occupe une place privilégiée, C'est l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines. La base de la colonisation de *S. aureus* est complexe et mal connue mais semble impliquée dans le contact de la bactérie avec son hôte ainsi que dans son aptitude d'adhésion et d'évasion aux défenses

CHAPITRE II : Les espèces bactériennes

immunitaires. Les patients porteurs ont plus de risque de développer une infection que les autres (*Wertheim et al., 2005*).

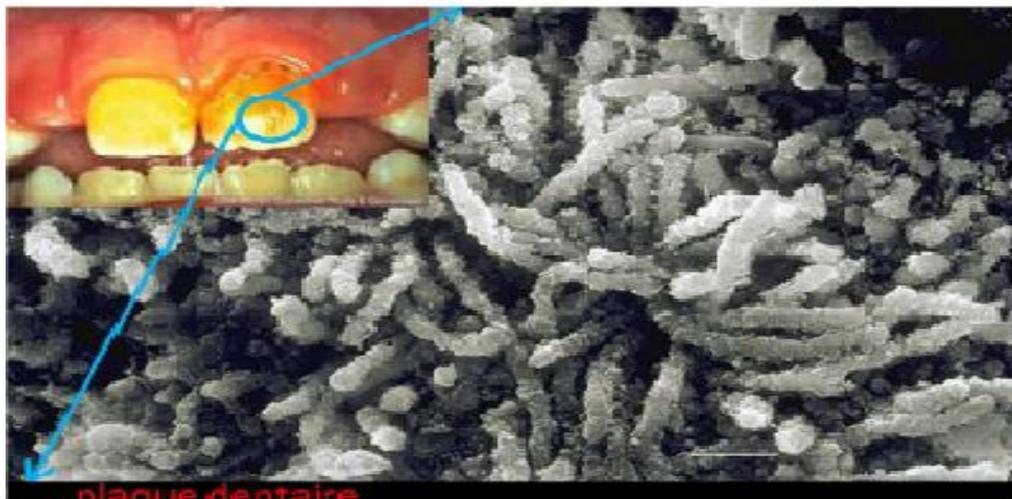


Figure 5 : Plaque dentaire causée par trois types de bactéries différentes (Houssin., 2011)

4. *Bacillus subtilis*

4-1 Historique

Christian Ehrenberg a décrit *Vibrio subtilis* en 1835, ce qui rend subtilis parmi les épithètes des espèces bactériennes toujours utilisé, même si *Vibrio* donne au bactériologiste une image de bacille incurvée, ce terme est dérivé du mot latin voulant dire « agiter ». Ferdinand Cohn l'a renommé *Bacillus subtilis* en 1872 en l'incluant, à côté de deux autres espèces, dans un nouveau genre qu'il a proposé en cette même année : *Bacillus*. La proposition de ces espèces a été basée sur la forme des cellules (**Logan,2011**).

4-2. Habitat :

Cette espèce se trouve couramment dans les couches supérieures du sol et *B. subtilis* est considéré comme un commensal intestinal normal chez l'homme. Une étude de 2009 a comparé la densité des spores trouvées dans le sol (environ 10^6 spores par gramme) à celle trouvée dans les excréments humains (environ 10^4 spores par gramme). (*Sudhagar et Reddy., 2017*).

CHAPITRE II : Les espèces bactériennes

4-3. Caractéristiques

Formant des spores, cette bactérie ubiquitaire à Gram positif, catalase positive, aérobie pouvant se développer en anaérobiose, mobile par des flagelles peritriches, résistantes dont l'élimination efficace nécessite des conditions particulières (*Bouhairi, 2017*).

4.4. Pouvoir pathogène :

Bacillus subtilis n'est pas considérée comme pathogène pour l'homme, mais elle peut contaminer des aliments et peut exceptionnellement provoquer des intoxications alimentaires, elle peut produire des toxines à des températures élevées, impliqués dans des intoxications alimentaires (*Nakano et Peter, 1998*).

Les biofilms des bacilles thermophiles se forment suite à la fixation et l'adhésion des spores et des cellules végétatives (**figure 6**). Toutefois, les spores adhérentes en plus grand nombre que les cellules végétatives. Le nombre de spore adhérente peut atteindre $7,6 \log \text{ UFC /cm}^2$ alors que les cellules végétatives adhérentes et de l'ordre de $4-5 \log 10 \text{ cellules/cm}^2$ (*Burgess et al., 2010*).

Dans l'industrie laitière, la chaleur est le mécanisme le plus probable de l'activation des spores thermophiles, en raison de l'utilisation extensive de la chaleur comme une technologie de conservation. Par exemple, les spores de *Bacillus subtilis* ont une plus faible température d'activation ($65-70^\circ\text{C}$) (*Seale et al., 2008*).

CHAPITRE II : Les espèces bactériennes

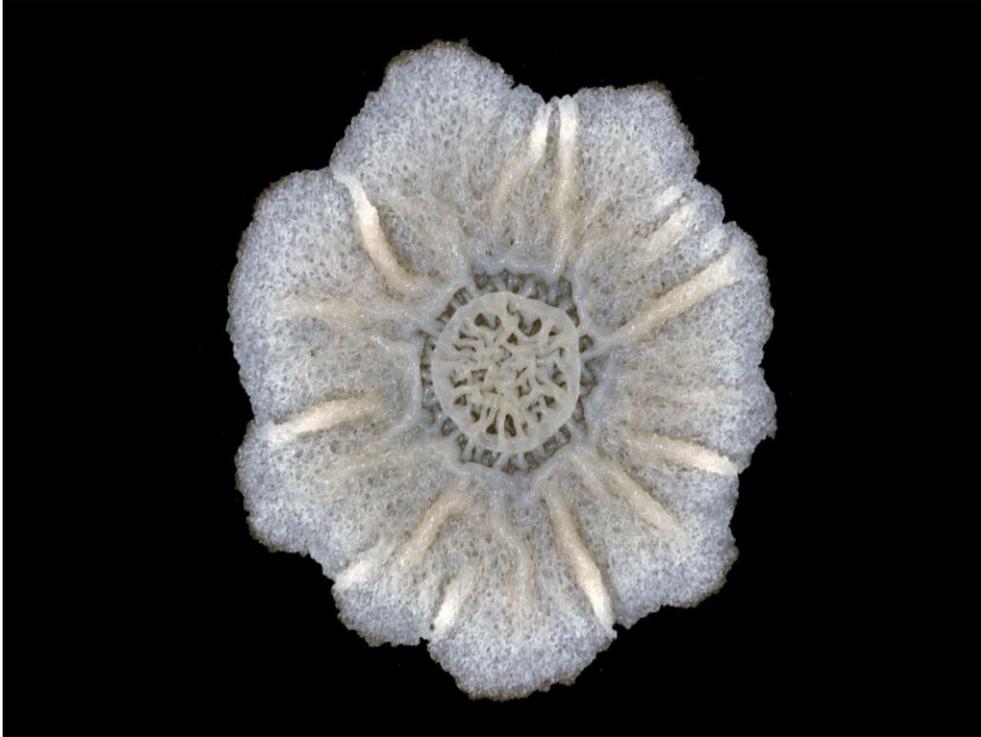


Figure 6 : La vue de dessus d'un biofilm de *B. subtilis* croissant en culture. Les structures variées au sein du biofilm sont liées à des fonctions spécialisées assumées par les cellules dans différentes parties du biofilm.

CHAPITRE III

Microscopie électronique à balayage (MEB)

1. Définition:

1.1 Microscopie électronique à balayage (MEB) :

Le microscope électronique à balayage est un outil de caractérisation permettant de déterminer la topographie de surface et la morphologie de l'échantillon à analyser.

Un MEB nécessite un fin faisceau d'électron généré par un canon d'électrons, focalisé sur l'échantillon à analyser à l'aide de lentilles électromagnétiques.

Lorsque ce faisceau frappe l'échantillon, des électrons secondaires de faible énergie sont générés et détectés par un détecteur. En balayant le faisceau d'électrons, on peut reconstituer l'image de la surface analysée (**Figure 7**).



Figure 7 : Photo de l'appareil RIGAKU MiniFlex 600.

1.2. Le microscope électronique à balayage (MEB) :

Permet d'obtenir des images de surfaces de pratiquement tous les matériaux solides, à des échelles allant de celle de la loupe (10x) à celle du microscope électronique en transmission (500 000 x ou plus) (*Carlton et al., 2004 ; Danilatos ., 2011*).

Le MEB conventionnel fonctionne dans un vide ordinaire (10^{-5} à 10^{-6} mbar).

Les échantillons peuvent être massifs, de dimension allant de quelques mm (particules) à une dizaine de cm de diamètre, voire plus (prélèvements industriels).

CHAPITRE III Microscopie électronique à balayage (MEB)

Ils doivent supporter le vide sans le polluer et être conducteurs ; la préparation est en général simple. Le MEB à pression contrôlée, depuis la fin des années 90, a permis l'observation dans un vide allant jusqu'à 30 mbar, rendant ainsi possible l'examen d'échantillons humides ou gras (échantillons biologiques), d'isolants sans métallisation préalable (céramiques, métaux corrodés), voire en présence de liquide.

Des observations ont été régulièrement publiées sur des échantillons biologiques dans différentes spécialités : les muqueuses intestinales et pulmonaires, l'os, et plusieurs

Microorganismes ont ainsi été étudiés avec ce nouvel outil (*Habold et al., 2003* ; *Gatti et al., 2008*).

Parallèlement au développement du mode environnemental, le microscope conventionnel bénéficiera de plusieurs avancées permettant notamment de faire un séchage à l'air sans passer par la substitution de l'eau à l'alcool et la déshydratation au point critique. La révolution photographique numérique a bénéficié grandement à la microscopie électronique permettant l'obtention et le traitement d'images beaucoup plus facilement (*Danino A et al 2001*).

Le MEB est un équipement complexe dont les différents étages le constituant sont présentés en **Figure 8**.

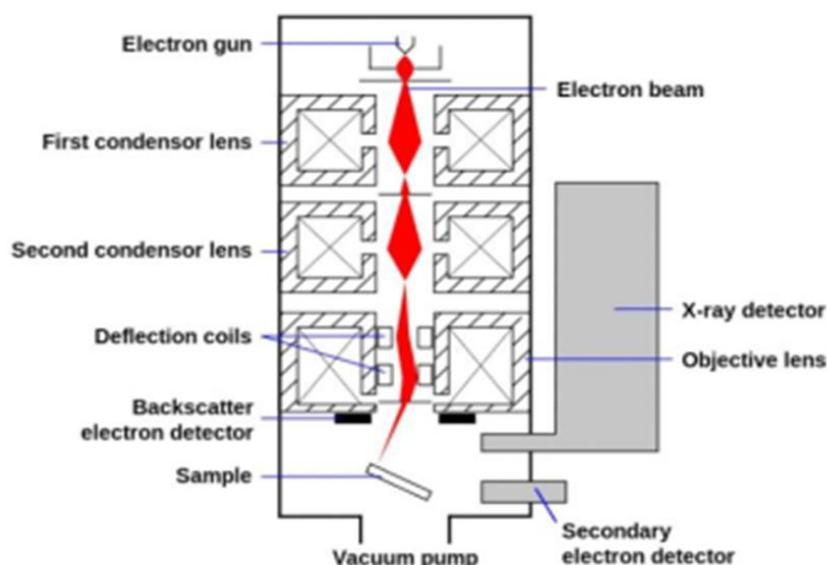


Figure 8 : Schéma du microscope électronique à balayage MEB (Frye., 2018)

2. Les composants du microscope électronique à balayage:

- Canon à électron.
- Lentilles de condensations.
- Support échantillon.
- Détecteurs.
- Ordinateur et logiciel pour l’affichage et le traitement de données.

L’équipement MEB nécessite un environnement de travail particulier impliquant :

Un système d’alimentation, un système de pompage pour la génération du vide, un système de refroidissement, un sol anti-vibration, chambre isolée de tout champ magnétique ou électrique. En général, l’équipement MEB contient au moins un détecteur, le plus souvent un détecteur d’électrons secondaires permettant de visualiser la topographie et la morphologie de surface de l’échantillon à analyser **(Figure 9) (Johnsson et Steuer .,2018).**



Figure 9 : Photo de l’appareil FEI MEB QUANTA 45.

3. Caractéristiques :

Source d'électrons tungstène, tension de 1kV à 30kV, résolution 15nm à 15kV, grossissement allant jusqu'à x 100 000.

La taille de la chambre permet d'insérer des échantillons volumineux. Le MEB dispose de portes échantillons pouvant charger 5 échantillons en même temps dans la chambre, donnant ainsi un débit élevé de caractérisations.

Le MEB est un équipement souple d'utilisation. Il est dédié à la recherche et à l'enseignement (**SerMiEl**).

4. Principe de fonctionnement du MEB :

Le principe du microscope électronique à balayage est de faire correspondre le déplacement d'un faisceau d'électrons focalisé sur un échantillon de façon synchrone avec le déplacement d'un faisceau d'électrons sur un écran cathodique (*Paqueton et Ruste., 2006*).

Lorsque le faisceau d'électrons d'énergie pénètre dans un échantillon solide, il subit un certain nombre d'interactions, élastiques et inélastiques. Les interactions élastiques, principalement avec le noyau, induisent en outre des variations plus ou moins brutales de la direction des électrons incidents « diffusion ». La résultante de ces interactions induit pour chaque électron une « trajectoire électronique », de longueur finie et de forme aléatoire. Les interactions inélastiques provoquent une perte progressive de son énergie, pour une grande part par transfert aux électrons des orbitales atomiques, provoquant excitation et ionisation des atomes présents, et pour une moindre part par perte radiative lors de l'interaction avec le noyau. Les principales émissions électroniques et électromagnétiques dues aux interactions d'un faisceau d'électrons avec un échantillon (*Reimer, 1985*).

5. Avantages du MEB :

La microscopie électronique a plusieurs principaux avantages. Ceux-ci comprennent :

CHAPITRE III Microscopie électronique à balayage (MEB)

- Agrandissement et plus de haute résolution - pendant que des électrons plutôt que des ondes lumineuses sont employés, il peut être employé pour analyser les structures qui ne peuvent pas autrement être vues. La définition des images de microscopie électronique est de l'ordre de jusqu'à 0,2 nanomètres, qui est 1000x plus détaillé que la photomicroscopie.

-Diverses applications - la microscopie électronique a un éventail varié d'applications dans beaucoup de différents domaines de la recherche comprenant la technologie, l'industrie, la science biomédicale et la chimie. Les exemples des applications comprennent l'inspection de semi-conducteur, la fabrication de pommes chips de puce pour ordinateurs, le contrôle qualité et l'affirmation, l'analyse des structures atomiques, et le développement de médicament.

-Images de haute qualité - avec la formation correcte, un conducteur de microscope électronique peut employer le système pour produire des images hautement détaillées des structures qui sont d'un de haute qualité, indiquant les structures complexes et fragiles que d'autres techniques peuvent lutter pour se reproduire (**figure 10**) (*Inkson .,2016*).

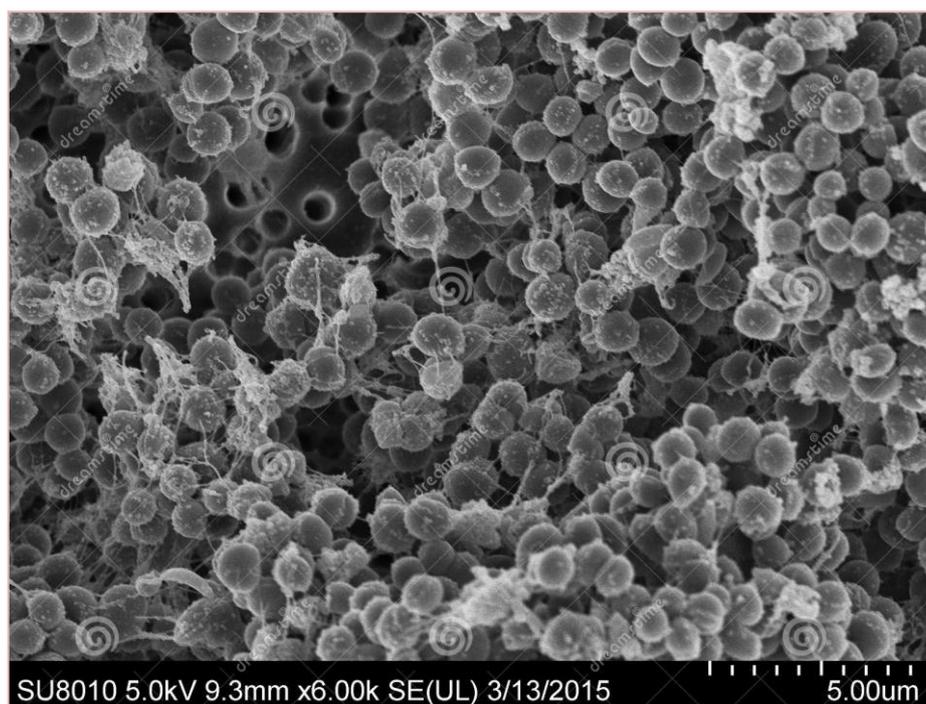


Figure 10 : Ultra structure de biofilm de Staphylococcus aureus vue sous le microscope à balayage électronique Les cellules apparaissent très contrastées dû à la production des protéines et des sucres (dreamstime.com)

6. Désavantages de MEB

Cependant, il y a plusieurs inconvénients qui peuvent signifier que d'autres techniques, particulièrement photo microscopie et microscopie de superbe-définition, sont plus avantageuses au chercheur. Celles-ci comprennent :

-Incapacité d'analyser les spécimens sous tension - pendant que des électrons sont facilement dispersés par d'autres molécules dans le ciel, des échantillons doivent s'analyser dans un aspirateur. Ceci signifie que des spécimens sous tension ne peuvent pas être étudiés par cette technique. Ceci signifie qu'on ne peut pas correctement observer des interactions biologiques, qui limitent les applications de la microscopie électronique dans la recherche biologique.

-Images monochromes - seulement des images monochromes peuvent être produites par un microscope électronique.

Des corps étrangers sont laissés plus de la préparation des échantillons et exigent la connaissance spécialisée des techniques de préparation des échantillons.

-Coût - les microscopes électroniques sont des pièces chères de matériel hautement spécialisé. Car la plupart des projets ont limité des budgets, il peut s'avérer nuisible utiliser un microscope électronique dans la recherche. Cependant, les coûts de fonctionnement peuvent être assimilés aux solutions de rechange telles que les photomicroscopes confocaux, ainsi l'investissement dans un microscope électronique fondamental est toujours intéressant même si les préoccupations budgétaires sont un facteur important dans les décisions contre utiliser la technologie.

-Taille - en dépit des avantages en technologie au cours des années, les microscopes électroniques sont des appareils encore grands et encombrants. En outre, car les microscopes électroniques sont extrêmement sensibles, les champs magnétiques et les vibrations provoquées par l'autre matériel de laboratoire peuvent nuire leur fonctionnement.

-Personnels - Des conducteurs de spécialiste sont requis de faire fonctionner des microscopes électroniques, et ceux-ci peuvent subir des années de formation pour maîtriser correctement cette technologie (*Inkson .,2016*).

CHAPITRE IV:

MATERIAUX

Notre étude concerne la comparaison du pouvoir d'adhésion de quatre bactéries (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* et *S. aureus*) sur différents supports.

1. Oxyde de zinc

1.1. Définition

L'oxyde de zinc (ZnO), se présente à l'état solide sous l'aspect d'une poudre inodore de couleur blanc cassé à jaune pâle.

Il présente certains avantages comme le fait d'être ni combustible ni explosif en cas d'incendie, ou bien d'être relativement inerte vis-à-vis de l'organisme humain (*bedia, 2015*).

1.2. Les applications

Des recherches intenses ont été relancées sur l'étude de l'oxyde de zinc (ZnO), en raison de sa disponibilité à la surface de la terre, sa nontoxicité et de sa propriété fondamentale attractive (**Bouhssira.,2013**)

Le ZnO possède d'excellentes propriétés électriques, catalytiques et optiques, qui lui confèrent un potentiel d'exploitation dans de nombreux domaines d'applications en optoélectronique y compris photodétecteurs (*Bedia et al, 2014*).

Les principales applications de l'oxyde de zinc sont encore aujourd'hui situées dans les domaines de l'industrie du pneu (36%), des céramiques (26%), et chimique (fabrication de stéarates, phosphates) (20%), dans l'alimentation animale (12%) et dans la peinture (3%). Les 3% restant sont employés dans les domaines de l'électronique (bobine ferrite, résistors variables ou varistors), pour le bout des allumettes et l'industrie pharmaceutique (*bedia, 2015*).

2. Or

2.1. Définition

Dans sa forme naturelle (en volume important), l'or est un métal jaune de structure cubique à face centrée, dont le point d'ébullition se situe à 1068°C.

L'or (Au) est un élément chimique inerte caractérisé par sa résistance à l'oxydation, ce qui en fait un métal qui ne se dégrade pas avec le temps (avantage qu'on ne trouve pas avec la plupart des autres métaux, freinant leur exploitation à l'échelle nanométrique) (*Hainfel et al, 2004*).

2.2. Applications

Les applications des nanoparticules d'or sont très nombreuses en électronique, pour la santé, la décoration et la lutte contre la pollution. Plus précisément, les avancées scientifiques concernent la catalyse (pour accélérer et provoquer des réactions chimiques que l'on utilise ensuite à l'échelle industrielle), la fabrication de peintures ou d'enduits et la création de nouvelles couleurs entretenant des effets spéciaux, ainsi que le secteur biomédical (*Hainfeld et al, 2004*).

3. Silicium

3.1 Définition

Le silicium est un élément chimique, de symbole Si et de numéro atomique 14. C'est l'élément le plus abondant sur la terre après l'oxygène (27,6%). Il n'existe pas à l'état libre mais sous forme de composés : sous forme de dioxyde silice (dans le sable, le quartz, la cristobalite, etc.) ou de silicates. C'est un faible conducteur d'électricité. Il est quasiment insoluble dans l'eau. Il est attaqué par l'acide fluorhydrique (HF) ou un mélange acide fluorhydrique/acide nitrique (HNO₃) en fonction de la phase.

Ce semi-conducteur présente en effet, différents avantages : il est facilement extrait à partir du sable ; il n'est pas toxique comme certains semi-conducteurs ; il possède un oxyde naturel (SiO₂) présentant d'excellentes propriétés électroniques et il peut se doper facilement (avec le phosphore ou le bore) (*Rabia, 2017*).

3.2-Applications

Le silicium est utilisé comme semi-conducteur, et reste cependant le matériau le plus utilisé dans le photovoltaïque. Outre les avantages précités, il bénéficie d'une implantation importante et durable dans l'industrie de la microélectronique. Il est retrouvé dans une myriade d'applications : verre, ciment, silicones, huiles, etc. il est présent dans certains aciers et dans les briques (*Rabia, 2017*).

4. Le verre

4.1 Définition

Le verre est amorphe, mais tous les amorphes ne sont pas des verres. Il est un matériau minéral obtenu, à partir d'un liquide, par un refroidissement suffisamment rapide (trempe) pour éviter la cristallisation (**Schittich et al .,1999**)

4.2 Applications

Le verre possède des propriétés qui autorisent des applications dans des domaines de grande diffusion (vitrage...) jusqu'à des applications à très forte valeur ajoutée (bijouterie, optique de précision).

Le verre est utilisé essentiellement en optique pour ses propriétés réfringentes (lentilles, vitres, verres de lunettes).

Il est également utilisé en chimie et dans l'industrie agroalimentaire : il réagit très peu avec la plupart des composés utilisés dans ces domaines, c'est donc un matériau idéal pour les contenants (bouteilles, pots de yaourt, béciers, colonne de distillation, éprouvettes, tubes à essai...). Un des seuls liquides ayant le pouvoir de dissoudre le verre est l'acide fluorhydrique (HF).

Le verre est le matériau dans lequel sont confinés les déchets nucléaires de haute activité (HAVL).

ANALYSE
STATISTIQUE

ANALYSE STATISTIQUE

Compte tenu de la situation actuelle (l'épidémie du coronavirus), nous avons été dans l'incapacité d'assurer un travail expérimental. Nous avons été dans l'obligation de reprendre les données de nos collègues Krim sara et Inal ikram qui ont réalisé sous la direction du Docteur REBIAHI une étude portant sur l'adhésion des bactéries sur différents supports : Silicium, Silicium poli, Verre, oxyde de zinc, Or. Dans le but d'approfondir les recherches et la réalisation de l'étude statistique. Pour cette fin, nous avons opté pour l'analyse de variance de l'ANOVA 2 (test de Tukey).

Ces résultats qui expriment le nombre de bactéries ayant adhéré sur différents supports sont résumés dans le tableau 2.

Tableau 2: Le nombre de bactéries/cm² adhérent sur différents supports

SUPPORTS	CONDUCTEURS	Nombre de bactérie /cm ² x2x10 ⁶			
		<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
Silicium	Si. Normal	0.3	0	33.2	0.26
	Si+ ZnO	0.15	1.40	32.8	6.51
	Si+ OR	0	0.15	25.46	0.26
	Si+ ZnO+ OR	0	0	25	1.3
Silicium POLI	Si. Poli. Normal	0.46	22.03	56.2	1.3
	Si. Poli + OR	0	0.93	38.4	0.78
	Si. Poli+ ZnO + OR	2.03	0	44.2	0.78
Verre	V. Normal	0.78	37.03	46.7	0.06
	V+ ZnO	0.15	0.15	44.8	0.78
	V+ OR	0.15	2.3	31.2	8.07
	V+ ZnO+ OR	0.62	0.46	9.2	0.25

Si : silicium ZnO : oxyde de zinc Or : OR V : Verre

Si Poli :-le silicium poli

L'analyse statistique globale a montré une différence significative entre les espèces bactériennes testées. Ainsi, *Staphylococcus aureus* se démarque avec une P value égale à $1,4275 \times 10^{-11}$ des autres espèces en l'occurrence *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* et *Escherichia coli* (**Figure 11, Tableau 3 et 4**)

ANALYSE STATISTIQUE

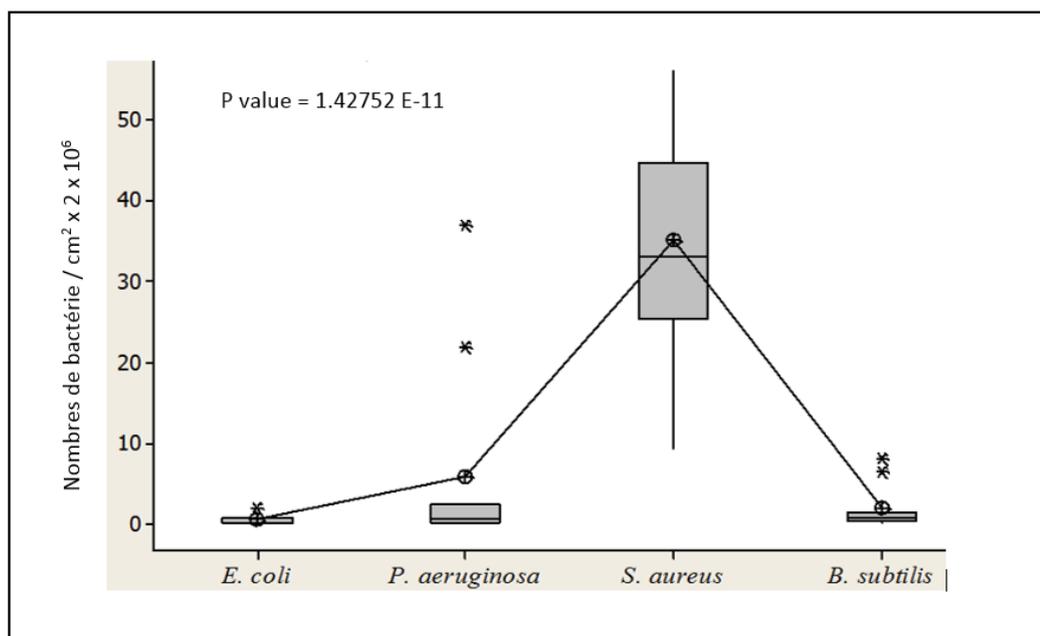


Figure 11 :Représentations graphique exprimant la comparaison globale par analyse de la variance entre les souches testées.

Tableau 3: Résultat de l'analyse de variance des moyennes de dénombrements selon les souches testées

ANALYSE DE VARIANCE						
Source des variations	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne des carrés	F	Probabilité	Valeur critique pour F
Entre Groupes	8881,40275	3	2960,46758	36,737182 2	1,4275E-11	2,8387454
A l'intérieur des groupes	3223,40191	40	80,5850477			
Total	12104,8047	43				

Les informations ont été regroupées par la méthode Tukey (tableau 4)

ANALYSE STATISTIQUE

Tableau 4 : Moyenne et groupe des dénombrements par espèces

Espèce	N	Moyenne	groupe
<i>S. aureus</i>	11	35,196	A
<i>P. aeruginosa</i>	11	5,859	B
<i>B. subtilis</i>	11	1,850	B
<i>E. coli</i>	11	0,422	B

La situation n'a pas changé en prenant en compte chaque support séparément ; ainsi *Staphylococcus aureus* semble adhérer avec une proportion significativement plus élevée que celles des autres espèces testées spécialement sur les supports suivants : le silicium ; le silicium poli ou encore le verre. Les valeurs de probabilité ont toute été inférieures à la valeur seuil ($\alpha < 0.05$).

En revanche, l'analyse statistique comparant les surfaces n'a révélé aucune différence significative enregistrant des P value supérieures à 0.05 (**figure 12**). Un seuil de signification de 0,05 indique un risque de 5 % de conclure à tort qu'une différence existe (**tableau 5**).

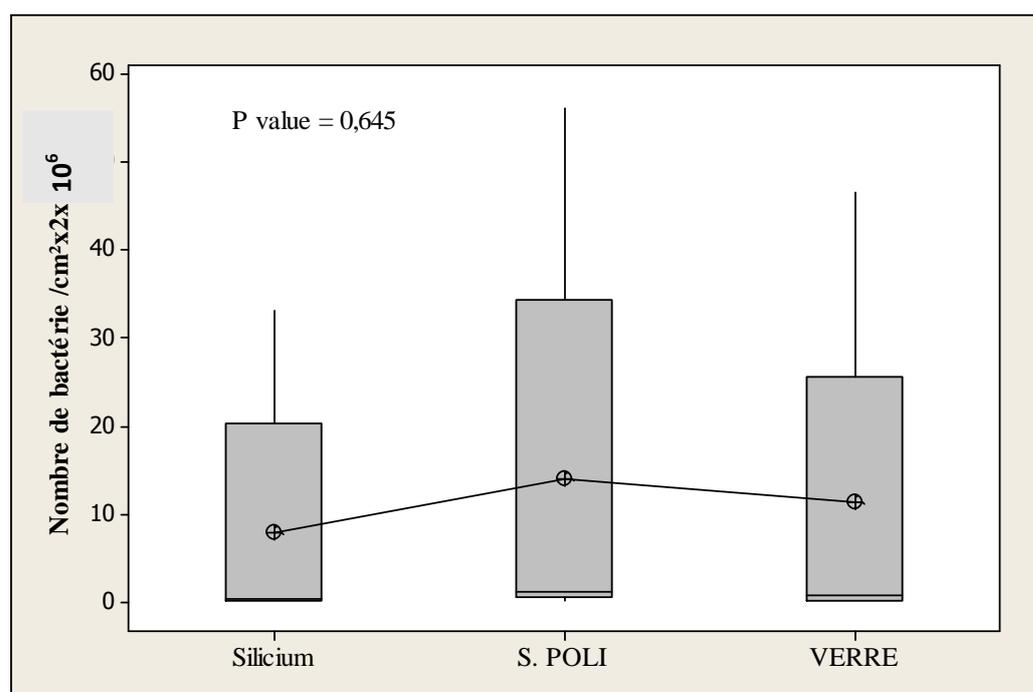


Figure 12 : Représentations graphique exprimant la comparaison globale par analyse de la variance entre les surfaces

ANALYSE STATISTIQUE

Tableau 5 : Résultat de l'analyse de variance des moyennes de dénombrements selon les surfaces

ANALYSE DE VARIANCE						
<i>Source des variations</i>	<i>Somme des carrés</i>	<i>Degré de liberté</i>	<i>Moyenne des carrés</i>	<i>F</i>	<i>Probabilité</i>	<i>Valeur critique pour F</i>
Entre Groupes	255,638594	2	127,819297	0,4422751 1	0,6456022 2	3,2256838 4
A l'intérieur des groupes	11849,1661	41	289,00405			
Total	12104,8047	43				

Les informations ont été regroupées par la méthode Tukey (**tableau 6**)

Tableau 6 : Moyenne et groupe des dénombrements par support :

Support	N	Moyenne	groupe
S. POLI	12	13,93	A
VERRE	16	11,42	A
Silicium	16	7,92	A

Le même constat a été retrouvé en prenant en considération chaque espèce bactérienne différemment ainsi l'analyse de variance des moyennes de dénombrements d'*Escherichia coli* montre qu'il n'y a pas de différences significatives entre le silicium, le silicium poli et le verre.

Il en est de même pour les autres souches testées à savoir *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *Bacillus subtilis*.

Conclusion générale

Conclusion

Au terme de ce travail, la présente étude qui décrit l'adhésion bactérienne sur différents supports (silicium, verre, or, oxyde de zinc), nous a permis de conclure que :

Les espèces testées ont réagi différemment vis-à-vis des supports utilisés. Les bactéries sont capables de modifier leurs propriétés en fonction de leur environnement en adaptant leur métabolisme et leur composition membranaire, et par conséquent leurs propriétés physico-chimiques de surface prises en compte dans l'approche prédictive.

L'analyse statistique semble révéler qu'il y a une différence significative entre les espèces bactériennes testées illustrant un phénomène d'adhésion beaucoup plus prononcé chez *S. aureus*. Par ailleurs, les données montrent qu'il n'y a pas de différence significatives entre certaines surfaces (Silicium, Silicium poli, et verre) lors de l'adhésion par *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *Bacillus subtilis*.

Nous pouvons conclure que pour le choix des supports répulsifs à l'adhésion bactérienne, il est primordial de connaître les caractéristiques et les interactions possibles entre les bactéries et les supports.

En perspective de ce travail, il serait intéressant d'évaluer les concentrations minimales inhibitrices des différents éléments composants ces supports et d'explorer les combinaisons idéales permettant de minimiser le phénomène d'adhésion bactérienne.

Références

Bibliographiques

Références Bibliographiques :

Alava JI, Garagorri N, Mendicute J. Effects of bacterial adhesion with respect to the type of material, structure and design of intraocular lenses. *J Mat Sci Mat Med* 2005;16:313—7.

Absolom D. R, Lamberti F. V, Policova Z, Zingg W, Van Oss C. J, Neumann A.W. (1983). Surface thermodynamics of bacterial adhesion. *Applied and Environmental Microbiology* 46, 90-97.

Ari R, Sezonov G. (2008) .Les organismes modèles : biologie et génétique d'Escherichia coli. Belin. Paris P11.

Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Monteil H. (1992). *Bactériologie clinique*. 2ème édition. Paris : ellipses-marketing.

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

Barakat R. (2012). Etude des propriétés biologiques et antimicrobiennes de la pyocyanine, pigment redox-actif produit par *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Université de la Rochelle.

Bedia F.Z, Bedia M, Aillerie N, Maloufi S, Ould Saad Hamady O, Perroud B. Benyoucef, Optical, electrical and structural properties of nano-pyramidal ZnO films grown on glass substrate by spray pyrolysis technique, *Optical Materials* 36 (2014) 1123–1130.

Bedia A. (2015). Synthèse et caractérisation de la nanostructure d'Oxyde de zinc (ZnO) pour des dispositifs applications biomédicales. Thèse de doctorat .Université aboubekr belkaid, Tlemcen.

Bendinger B, Rijnaarts H. H, Altendorf K, Zehnder A. J. (2003). Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

chain length of mycolic acids. *Applied and environmental microbiology*. 59(11): 3973-3977.

Bouhairi S. (2017). *Bacillus subtilis* :Caractère et application. Thèse de doctorat .Université de Rabat.

Bouhssira N. (2013). Elaboration des films minces d'oxyde de zinc par évaporation et par pulvérisation magnétron et étude de leurs propriétés .Thèse de doctorat. Université de Constantine.

Boutaleb N. (2007). Étude de la formation de biofilms sur les surfaces de matériaux couramment utilisés dans les canalisations d'eau potable. Thèse de doctorat. Universités de Bretagne-Sud, France. 174 pages.

Branger A, Richer M.M, Roustel S. (2007). Quelque système microbien : les biofilms.Dans : *Microbiochimie et alimentation*. Educagri éditions, dijon. p.131-164.

Briandet R, Meylheuc T, Maher C, Bellon-Fontaine M.N.(1999)."Listeria monocytogenes Scott A: cell surface charge, hydrophobicity, and electron donor and acceptor characteristics under different environmental growth conditions." *Appl. Environ. Microbiol.* 12: 5328.

Burgess S, Lindsay D, Flint, S.H. (2010). Thermophilic bacilli and their importance in dairy processing. *International Journal of Food Microbiology* 144(2), 215-22590.

Busscher H.J, Weerkamp, A.H, van der Mei H.C, van Pelt A.W, Jong H.P, Arends, J. (1984). Measurement of the surface free energy of bacterial cell surfaces and its relevance for adhesion.*Appl Environ Microbiol* 48, 980-983.

Cabrolier N, Lafolie J, Bertrand X.(2014). Epidemiology and risk factors of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Journal des anti-infectieux* ;16:8-12.

Carlton RA, Lyman CE, Roberts JE. Charge neutralization in the ESEM for quantitative X-ray microanalysis. *Microsc Microanal.* 2004; 10(6):753—63.

Chalvet de Rochemonteix A. (2009). Les biofilms et la peau. Thèse Pour le Doctorat vétérinaire. École Nationale Vétérinaire D'alfort Paris.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Characklis W.G, McFeters G.A, Marshall K.C. (1990). Physiological ecology in biofilm systems. In: Characklis WG, Marshall KC., eds. Biofilms. New York: John 341-394.

Colwell R.R. (1965). Proposal of a neotype, ATCC 14216, for *Pseudomonas aeruginosa* (Schroeter 1872) Migula 1900 and request for an opinion. International Bulletin of Bacteriological Nomenclature and Taxonomy 15(2): 87-95.

Danielle C.(2015). Bactériologie CHU TOULOUSE Fiche technique Bactériologie 153 EN.FTBAC. 07-09-17.01 Page 2 s.

Danilatos GD. Figure of merit for environmental SEM and its implications. J Microsc 2011;244(2):159—69.

Danino A, Rocher F, Blanchet-Bardon C, Revol M, Servant JM. A scanning electron microscopy study of the surface of porous textured breast implants and their capsules. Description of the ‘Velcro’ effect of porous-textured breast prostheses. Ann Chir Plast Esthet 2001; 46(1):23—30.

Dellamonica P. (2012). Colloque Infections Nosocomiales et Orthopédie : L’adhérence bactérienne.Paris. CHU de Nice.

Delphine D. (2008). Recherche et caractérisation de déterminants génétiques permettant l’adaptation d’une souche d’*Escherichia coli* a la mamelle bovine. Thèse de doctorat. Nancy Université Institut Nationale Polytechnique de Lorraine.

Dickson JS, Daniels EK. (1991). Attachment of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* to glass as affected by surface film thickness. Cell density and bacterial motility. Journal of Industrial Microbiology 8, 281-283.

Donlan RM, Costerton JW. (2002). Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clinical Microbiology Reviews 15, 167-193.

Elmeskini K. (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Université de Mohammed V Rabat.

Emilie Bulard, Bernard BOURGUIGNON. L’adhésion bactérienne sondée à l’échelle moléculaire., 2012. Université Paris Sud - Paris XI THÈSE DE DOCTORAT .

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Fleurette J. Staphylocoques et Microcoques. In Bactériologie médicale. 2ème édition. Paris : Médecine-Sciences. Flammarion 1989 ; p 773.

Foster TJ, Hook M.(1998). Surface protein adhesins of staphylococcus aureus. Trends Microbial, 6(12) : 484-488.

Gatti AM, Kirkpatrick J, Gambarelli A, Capitani F, Hansen T, Eloy R, et al. ESEM evaluations of muscle/nanoparticles interface in a rat model. J Mater Sci Mater Med 2008; 19(4):1515—22.

Gavin R, Merino S, Altarriba M, Canals R, Shaw J. G, Tomas J. M. (2003). "Lateral flagella are required for increased cell adherence, invasion and biofilm formation by Aeromonas spp." FEMS Microbiol. Lett. 224: 77.

Gibbon, D, Donlan, R.(2002). Bacterial population on a metal surface in an industrial condenser. Visual Resources. American Society for Microbiology, Washington, DC. www.microbelibrary.org.

Habold C, Dunel-Erb S, Chevalier C, Laurent P, Le Maho Y. Service de Microscopie Electronique (SerMiEl).Laboratoire S.P.C.T.S.Centre Européen de la Céramique. Site web:<http://www.unilim.fr/sermiel/nos-equipements/microscope-electronique-a-balayage-meb/>

Hainfeld J. The use of gold nanoparticles to enhance radiotherapy in mice Phys. Med 2004 ; Biol. 49 N309.

Hamadi F, Latrache H, El Ghmari A, Ellouali M, Mabrouki M, Kouider N. (2004).Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and electron acceptor characteristics of Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Annals of Microbiology. 54:213-225.

Hermansson M. (1999). The DLVO theory in microbial adhesion. Colloid Surf. B: Biointerf : 14. 105-119.

Højby N., Ciofu O., Johansen H. K., Song Z. J., Moser C., Jensen P. and Bjarnsholt T. (2011).The clinical impact of bacterial biofilms, International Journal of Oral Sciences, Vol. 3 No. 2, pp. 55-65.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Arciola C.R, Campoccia D, Ehrlich G.D, Montanaro L. (2015). Biofilm Based Implant Infections in Orthopaedics. Publication. DOI: 10.1007 / 978-3-319-11038-7_2.

Inkson B.J. (2016). Materials characterizations using nondestructive evaluation (NDE) methods, Elsevier.

Johnson N, Steuer F.(2018) Bioplastic material from microalgae: Extraction of starch and PHA from microalgae to create a bioplastic material, 2018.

Kaper, J. B, Nataro J.P, Mobley H.L. (2004). "Pathogenic Escherichia coli." Nat Rev Microbiol 2(2): 123-140.

Karunakaran, E., Biggs, C.A. (2011). Mechanisms of *Bacillus cereus* biofilm formation: an investigation of the physicochemical characteristics of ceil surfaces and extracellular proteins. Appl Microbiol Biotechnol 89, 1161-1175 27.

Kerr K.G, Snelling AM. (2009). *Pseudomonas aeruginosa*: a formidable and ever-present adversary. J Hosp Infect 73: 338-44.

Khalilzadeh Pouneh. (2009). Formation de Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*: évaluation d'inhibiteurs potentiels du Quorum Sensing. Thèse présenté à l'Université Paul Sabatier Toulouse III.

Lejeune P. (2003). Contamination of abiotic surfaces: what a colonizing bacterium sees and how to blur it. Trends Microbiol. 11: 179.

Leksir C. (2012). Caractérisation et contrôle de la qualité de ferments lactiques utilisés dans l'industrie laitière algérienne. Thèse de Magistère. Université Mentouri de Constantine

Logan N.A. (2011). Genus I. *Bacillus*. In: De Vos P. (eds): *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. Springer Science + Business Media, New York: 21–108.

Loukiadis E. (2007). Facteurs de virulence et dissémination dans l'environnement via les effluents d'abattoirs d'animaux de boucherie d'*Escherichia coli* entérohémorragiques (EHEC). Thèse de Doctorat. Université de Toulouse III – PAUL SABATIER

Marshall K.C, Cruickshank R.H., Arch. Microbiol. 91 (1973) 29.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Marshall KC., (1985). Mechanisms of bacterial adhesion at solid-water interfaces. In : Savage DC. And Fletcher M. eds. Bacterial adhesion. Plenum Publishing Corp., New York, 133-161.

Monteil H. (2006). Bacilles à Gram négatif non fermentants. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris). Encyclopédie Médico-Biologique 90-05-0020.

Moreira C. G, Carneiro S. M, Nataro J. P, Trabulsi L. R, Elias W. P. (2003). Role of type I fimbriae in the aggregative adhesion pattern of enteroaggregative *Escherichia coli*. FEMS Microbiol. Lett. 226: 79.

Muller A, Guaguere E. (2014). L'Antibiothérapie n'est pas la seule source d'antibiorésistance : notion de biofilm. Conflits AFVAC. Médecine interne .maladies infectieuses. Paris - la Défens.

Nakano M. M, & Zuber P. (1998). Anaerobic growth of a "strict aerobe" (*Bacillus subtilis*). Annual Reviews in Microbiology, 52(1), 165-1.

O'Toole GA, Kolter R. (1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. MolMicrobiol ; 30 : 295-304.

Onteniente L. (2008). Etude du polymorphisme associée aux répétitions en tandem pour le typage de bactéries pathogènes : *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* . Thèse Biologie cellulaire et moléculaire. Université d'Evry Val d'Essonne. 196p.

Palmer J, Flint S, Brooks J.(2007). Bacterial cell attachment, the beginning of a

Paqueton H, RUSTE.J.(2006). Microscopie électronique à balayage. Principe et équipement. Techniques de l'Ingénieur, P 865v2.

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

Potel G. et Barou D. (1990) .Les infections à Staphylocoques. Dans Encycl. Med. Chir. Maladies infectieuses. 2. Elsevier. Paris, : 70-88.

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Pratt LA, Kolter R.(1998). Genetic analysis of Escherichia coli biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Molecular Microbiology* 30, 285-293.

Prigent-Combaret C, Brombacher E, Vidal O. (2001). Complex regulatory

Rabia A. (2017). Propriétés Optiques et Électriques du Silicium Amorphe Hydrogéné. Thèse de doctorat. Université Mohamed Boudiaf - M'SILA

REIMER.L.(1985).Scanning Electron Microscopy . Springer Series in Optical Sciences, Springer-Verlag.

Roux A, Ghigo J.M. (2006). Les biofilms bactériens. Académie vétérinaire de France, 159(3), 261-268.

Salatin S. (2009). Interactions entre la macroalgue brune *Laminaria digitata* et ses épibiontes : étude moléculaire et spectroscopiques et capacité d'adhésion et de formation de biofilm. Thèse présenté à Université de Bretagne- Sud.

Saulou Claire. (2009) : Evaluation des propriétés anti-adhésives et biocides de films nanocomposites avec inclusions d'argent, déposés sur acier inoxydable par 58 procédé plasma. Thèse présentés à institut National des Scse.

Schaechter, Medoff. (1999). Microbiologie et Pathologie Infectieuse (2e éd'n). De Boeck & Larcier s.a. Paris, Bruxelles; 234p.

Schittich C, Balkow D, Staib G, Schuller M, Sobek W (1999). Construire en verre.Swisse : Lausanne.

Seale, R.B, Flint, S.H, McQuillan, A.J, Bremer P.J. (2008). Recovery of spores from thermophilic dairy bacilli and affects of their surface characteristics on attachment to différent surfaces. *Applied and Environnemental Microbiology* 74(3), 731- 737.

Squinazi F. (2013). biofilm et matériaux des réseau intérieurs de distribution de l'eau. Laboratoire d'hygiène de la ville de Paris.

Sudhagar S, Reddy R.(2017). Influence de l'élévation dans la structuration des communautés bactériennes intestinales d'Apis cerana Fab. *Journal d'entomologie et de zoologie*. 5 (3): 2, 7 - via entomoljournal.com

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

Sung L. M. J, Lioyd H. D , Lindsay A. J. (2008). Staphylococcus aureus host specificity; comparative genomics oh human versus animal isolates by multi- strain microarray. Microbiology; 154: 1949-1959.

Thomas WE, Trintchina E, Forero M, Vogel V. Sokurenko EV. (2002). Bacterial adhesion to target cells enhanced by shear force. Cell 109, 913-923.

Vallet I, Olson JW, Lory S, Lazdunski A, Filloux A. (2001).The chaperone/usher pathways of Pseudomonas aeruginosa: identification of fimbrial gene clusters (cup) and their involvement in biofilm formation. ProcNatlAcadSciUSA; 98: 6911-6.

Van Loosdrecht MCM, Lyklema J, Norde W, Schraa G, Zehnder A.J.B.(1987) The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. Appl Environ Microbiol; 53:1893-7

Van Oss C.J. (1996). Forces Interfaciales en Milieu Aqueux. Paris: Masson.

Verwey E.J.W, Verbeeck J.Th.G. Theory of the stability of lyophobic colloids. Dover Publications : 1999. ISBN: 0486409295.

Wall D, Kaiser D. (1999). Type IV pili and cell motility. Mol Microbiol; 32: 1-10.

Wertheim H. F, Melles D.C, Vos C.M, Leeuwen V.W, Belkun V.A, Verbrugh A.H, Nouwen L.J. (2005). "The role of nasal carriage in Staphylococcus aureus infections." The Lancet infectious diseases 5(12): 751-762.

ZIAD Yousra , HAYOUN Khadidja , MERGOUD Lilia. L'influence des propriétés physicochimiques sur l'adhésion bactérienne.,2016 Université des Frères Mentouri Constantine Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie ; Constantine thèse de mémoire.

ملخص:

يطرح الالتصاق الجرثومي مشاكل صناعية وبيئية وطبية والقضاء عليه هو قضية اقتصادية وبيئية (استخدام المبيدات الحيوية يطرح مشاكل بيئية). من أجل المساهمة في فهم آليات الالتصاق البكتيري وتطوير استراتيجيات جديدة لمكافحة تشكيل الأغشية الحيوية مع الدعامات اللاأحيائية، درسنا قوة التصاق أربعة أنواع من البكتيريا النموذجية، *E. coli*، *P. aeruginosa* و *S. aureus* و *B. subtilis* على أربعة أنواع من الدعم المادي (الذهب وأكسيد الزنك والسليكون والزجاج).

تظهر النتيجة أن الدعم المكون من الذهب وأكسيد الزنك يبدو أنه أحد الدعامات الأكثر مقاومة لالتصاق البكتيري، والذي يمكن أن يكون بديلاً ممتازاً لاختيار الدعم المستخدم في المجال الطبي أو الصناعات الغذائية.

الكلمات المفتاحية: التصاق، فيلم حيوي، دعم بدني، بكتيريا

Abstract

Bacterial adhesion poses industrial, environmental and medical problems and its elimination is an economic and ecological issue (the use of biocides poses environmental problems). In order to contribute to the understanding of the mechanisms of bacterial adhesion and to develop new strategies to combat the formation of biofilms with abiotic supports, we studied the adhesion power of four model bacteria: *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* and *B. subtilis* on 4 types of physical support (gold, zinc oxide, silicon, glass).

The result shows that the support composed of gold and zinc oxide seems to be one of the supports most resistant to bacterial adhesion, which could be an excellent alternative for the choice of support used in the medical field or food industry.

Keyword: Adhesion, biofilm, physical support, bacteria

Résumé

L'adhésion bactérienne pose des problèmes industriels, environnementaux et médicaux et son élimination est un enjeu économique et écologique (l'utilisation de biocides pose des problèmes environnementaux). Dans le but de contribuer à la compréhension des mécanismes de l'adhésion bactérienne et de développer de nouvelles stratégies de lutte contre la formation des biofilms aux supports abiotiques, nous avons étudié le pouvoir d'adhésion de quatre bactéries modèles : *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* et *B. subtilis* sur quatre types de supports physiques (or, oxyde de zinc, silicium, verre).

Le résultat montre que le support composé d'or et d'oxyde de zinc semble être l'un des supports le plus résistant à l'adhésion bactérienne, ce qui pourrait être une excellente alternative pour le choix de support utilisé dans le domaine médical ou industrie alimentaire.

Mots clé: Adhésion, biofilm, support physique, bactérie.