



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT  
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEM

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

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



## MEMOIRE

Présenté par

**IMAKHLAF Mazigha**  
**SELMOUNI Amina**

En vue de l'obtention du diplôme de master en science biologique

En Microbiologie Fondamentale

# L'inhibition de la formation du biofilm des souches Gram positives d'origine hospitalière par des molécules bioactives

Soutenu le 13/06/2024

Devant le jury

Mme HASSAINE Hafida	Professeur	Présidente	U. de Tlemcen
Mme AYAD Amel	MCB	Examinatrice	U. de Tlemcen
Mme BELLIFA-BENAMAR Samia	MCA	Encadrante	U. de Tlemcen

Année Universitaire : 2023-2024

## Remerciements

*Tout d'abord, on tient à exprimer notre gratitude infinie à Allah tout-puissant, qui nous a accordé la force, la patience et la sagesse nécessaires pour mener à bien ce travail. Sans Sa grâce et Sa miséricorde, rien de tout cela n'aurait été possible.*

*On souhaite également adresser mes remerciements les plus sincères à notre encadrante, **Mme BELLIFA Samia**, pour sa guidance précieuse, ses conseils avisés et son soutien inestimable tout au long de cette recherche. Son expertise et sa bienveillance ont été des sources d'inspiration et de motivation constante.*

*On tient à remercier chaleureusement la présidente du jury, **Pr Hafida HASSAINE**, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider ce jury. Sa rigueur scientifique et son discernement nous ont permis de perfectionner ce travail.*

*Nos remerciements vont également à l'examinatrice, **Mme AYAD Amel**, dont les commentaires et les suggestions constructives ont grandement contribué à l'amélioration de ce mémoire.*

*On est profondément reconnaissantes envers **Mme BOUBLENZIA Lamia**, pour nous avoir proposé ce thème de recherche stimulant et pertinent. Sa vision et son encouragement ont été déterminants dans la réalisation de ce projet.*

*Un remerciement tout particulier à **M. BENAMAR Ibrahim**, pour avoir suivi notre travail avec tant de soin et d'attention tout au long de ce parcours. Son soutien constant, ses retours pertinents et son engagement ont été essentiels à notre réussite.*

*On tient également à exprimer notre gratitude aux membres de **LAMAABE** (Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement) au sein duquel on a réalisé nos expériences, pour leur aide et leur coopération tout au long de cette aventure. Une mention spéciale à **Soufiane**, qui a été comme un frère pour nous. Nous te remercions du fond du cœur pour tous les moments drôles et inoubliables que nous avons partagés ensemble. Ton soutien, ta bonne humeur et ton amitié ont été précieux tout au long de cette aventure.*

*On tient à remercier aussi **Amel** et **Zahra**, avec qui nous avons partagé des moments agréables et enrichissants. Leur amitié et leur soutien ont été d'un grand réconfort.*

*Enfin, on souhaite remercier du fond du cœur notre camarade, **Nedjwa**, qui a été à nos côtés du début jusqu'à la fin de ce projet. Nos fous rires et les moments passés ensemble resteront à jamais gravés dans notre mémoire. Merci pour ton amitié et ta complicité inestimables.*

*Que tous trouvent ici l'expression de notre profonde reconnaissance et de notre sincère gratitude*

## Dédicaces

*Je dédie ce travail :*

*À mon très cher père, **Mohand Saïd IMAKHLAF**, Tu as toujours été pour moi un modèle de dévouement et de bienveillance. Merci pour ton soutien inébranlable, ta patience et tes sacrifices. Grâce à toi, j'ai appris la valeur du travail et de la persévérance. Ton amour et ta générosité ont été des phares lumineux tout au long de ce parcours. J'implore Allah le Tout-Puissant pour qu'il te comble de santé et de bonheur.*

*À ma très chère mère, **Cherifa BENHAMOUCHE**, Mon pilier, ma source de tendresse et de réconfort. Merci pour ton amour infini, tes encouragements et ton soutien indéfectible. Ta douceur et ta compréhension ont toujours su me motiver et me réconforter. Je suis fière d'être ta fille et de réaliser ce que tu as toujours espéré pour moi.*

*À mon frère et à mes trois sœurs, **Juba, Tinhinane, Maci et Houda**, Je vous dédie ce travail en témoignage de notre lien profond et de votre soutien inestimable. Merci pour votre amour fraternel et vos encouragements constants. Vous avez été une source de motivation et de réconfort tout au long de ce parcours.*

*À mon beau-frère et ma belle-sœur, **Yasser et Loullou**, Merci pour votre bienveillance et votre soutien précieux. Vos encouragements et votre présence ont été d'un grand réconfort.*

*À ma nièce unique, **Nilou**, Aucune dédicace ne saurait exprimer tout l'amour que j'ai pour toi. Ton sourire et ta gaieté illuminent mes journées. Je te souhaite un avenir radieux et plein de succès. Qu'Allah te bénisse et te guide toujours.*

*À mes très chères, **Amina, Nedjwa et Fatima**, Votre affection et soutien ont été d'un grand secours. J'espère que notre amitié sera éternelle, car nous avons partagé tant de moments de bonheur et de complicité. Merci pour tout.*

*À mes tendre amies, **Sabrina, Amel, Houda, Manel et Imène**, Merci pour votre soutien et vos encouragements tout au long de ce parcours. Votre amitié a rendu ce voyage plus agréable et supportable. Vous êtes une part précieuse de ma vie.*

*À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail, Merci pour votre aide, vos conseils et votre soutien. Ce mémoire est le fruit de nos efforts communs et de votre bienveillance.*

## **Dédicace**

*Je dédie ce Mémoire :*

### **À mon très cher père**

*Tu es et tu restes toujours pour moi ma référence, la lumière qui illumine mon chemin. Ce travail est le résultat de l'esprit de sacrifice dont tu as fait preuve, de l'encouragement et le soutien que tu ne cesses de manifester. J'espère que tu trouveras le témoignage de ma grande fierté de t'avoir comme père. J'implore Dieu, tout puissant, de t'accorder une bonne santé, une longue vie et beaucoup de bonheur. Je t'aime beaucoup*

### **À Ma très chère mère**

*Je te remercie tout particulièrement pour m'avoir encouragée, et de prier chaque jour pour moi. Tu sais maman aucune dédicace ne serait suffisante pour tous les sacrifices que tu as faits. Je ne pourrais jamais te remercier pour le bonheur et le soutien que tu as consenti depuis ma naissance. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je t'aime du plus profond de mon cœur. Puisse Dieu, le tout puissant, te combler de santé, de bonheur et te procurer une longue vie.*

### **À mon frère et ma sœur**

*Merci à mon frère et ma sœur pour leur soutien indéfectible tout au long période. Leurs encouragements et conseils ont été précieux et ont grandement contribué à son succès. Je suis reconnaissante de les avoir à mes côtés.*

### **Ma meilleur amie Chouikhi Nedjwa Djazia et Zouhiri Samia**

*Je voudrais exprimer ma profonde gratitude envers ma meilleure amie pour sa présence inébranlable et son soutien constant. Sa bienveillance et son amitié ont illuminé chaque étape de ma vie, et je suis infiniment reconnaissante de l'avoir à mes côtés.*

*À mes précieuses amies Je n'oublierai jamais nos moments de joie et de folies passés ensemble. Merci d'être toujours à mes côtés. Merci pour vos conseils et votre soutien durant les moments difficiles.*

### **À mon binôme et ma meilleure amie Imakhlaf Mazigha**

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour t'exprimer mon affection et mes pensées. Tu es pour moi ma sœur et ma meilleure amie sur qui je peux compter. En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je te dédie ce travail et je te souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

## Résumé

---

Les biofilms sont des communautés de micro-organismes en contact avec une surface biotique ou abiotique. Bien que bénéfiques dans la plupart des environnements, les biofilms bactériens se développant sur des implants ou lors d'infections chroniques constituent des réservoirs de pathogènes à l'origine de nombreuses infections nosocomiales. Malgré la mise en œuvre de mesures préventives, les biofilms sont difficiles à éradiquer en raison de leur tolérance caractéristique à des doses élevées d'antibiotiques. Pour contrer cette menace des biofilms et réduire le taux d'infections, une approche verte est privilégiée, exploitant les molécules bioactives produites par des micro-organismes pour la synthèse de nanoparticules.

L'objectif de cette étude était d'isoler les souches bactériennes Gram positives provenant des dispositifs médicaux, déterminer leur aptitude à former des biofilms, et d'examiner l'efficacité des nanoparticules biosynthétisées dans l'inhibition de ces biofilms.

Pour ce faire, des échantillons ont été prélevés sur divers dispositifs médicaux auprès de 24 patients hospitalisés dans différents services. Les souches bactériennes ainsi obtenues ont été purifiées, identifiées par des tests morphologiques et biochimiques. La méthode de plaque de culture de tissus (TCP) a été employée pour évaluer la formation du biofilm. Des nanoparticules d'argent ont été biosynthétisées et purifiées afin d'évaluer leur activité antimicrobienne et antibiofilm.

Dans cette étude, 17 souches bactériennes Gram-positives ont été obtenues à partir de prélèvements cliniques. L'investigation de leur aptitude à former un biofilm a révélé neuf souches faiblement formatrices du biofilm, six souches se sont avérées modérément formatrices, et seulement deux souches ont démontré une forte aptitude à former un biofilm. En outre, des nanoparticules d'argent ont été synthétisées à partir de micro-organismes. Les tests ultérieurs ont mis en évidence une activité antibactérienne et antibiofilm remarquable de ces nanoparticules contre les souches fortement formatrices de biofilm.

Ces résultats démontrent que l'efficacité biologique des nanoparticules biosynthétisées offre la possibilité de les intégrer dans la composition de produits biomédicaux et pharmaceutiques. Leur potentiel en tant qu'alternative prometteuse pour lutter contre les infections liées aux biofilms bactériens sur les dispositifs médicaux est mis en évidence. Cette étude ouvre la voie à des stratégies innovantes pour prévenir et traiter les infections associées aux soins, offrant ainsi de nouvelles perspectives dans le domaine de la santé publique et de la sécurité des patients.

**Mot clés :** Biofilm, Dispositifs médicaux, Bactérie Gram Positive, Nanoparticules

## Abstract

---

Biofilms are communities of microorganisms in contact with a biotic or abiotic surface. Although beneficial in most environments, bacterial biofilms developing on implants or during chronic infections serve as reservoirs of pathogens, causing numerous nosocomial infections. Despite the implementation of preventive measures, biofilms are difficult to eradicate due to their characteristic tolerance to high doses of antibiotics. To counter this biofilm threat and reduce the infection rate, a green approach is favored, utilizing bioactive molecules produced by microorganisms for the synthesis of nanoparticles.

The objective of this study was to isolate Gram-positive bacterial strains from medical devices, determine their ability to form biofilms, and examine the efficacy of biosynthesized nanoparticles in inhibiting these biofilms.

To achieve this, samples were collected from various medical devices from 24 hospitalized patients in different wards. The bacterial strains obtained were purified and identified through morphological and biochemical tests. The Tissue Culture Plate (TCP) method was employed to evaluate biofilm formation. Silver nanoparticles were biosynthesized and purified to assess their antimicrobial and antibiofilm activity.

In this study, 17 Gram-positive bacterial strains were obtained from clinical samples. Investigation of their biofilm-forming ability revealed 9 weak biofilm formers, six moderate biofilm formers, and only two strong biofilm formers. Additionally, silver nanoparticles were synthesized from microorganisms. Subsequent tests demonstrated remarkable antibacterial and antibiofilm activity of these nanoparticles against the strong biofilm-forming strains.

These results demonstrate that the biological efficacy of biosynthesized nanoparticles offers the potential for their integration into biomedical and pharmaceutical products. Their potential as a promising alternative to combat bacterial biofilm-related infections on medical devices is highlighted. This study paves the way for innovative strategies to prevent and treat healthcare-associated infections, thus offering new perspectives in the field of public health and patient safety.

**Keywords:** Biofilm, Medical devices, Gram-positive bacteria, Nanoparticles

## المخلص

البَيوفيلّمات هي مجتمعات من الكائنات الدقيقة التي تكون على اتصال بسطح حيوي أو غير حيوي. على الرغم من أنها مفيدة في معظم البيئات، فإن البَيوفيلّمات البكتيرية التي تتطور على الغرسات أو خلال الالتهابات المزمنة تعمل كخزانات للعوامل الممرضة، مما يسبب العديد من الالتهابات المُكتسبة في المستشفيات. على الرغم من تنفيذ التدابير الوقائية، فإن البَيوفيلّمات صعبة الاستئصال بسبب قدرتها على تحمل الجرعات العالية من المضادات الحيوية. لمواجهة هذا التهديد من البَيوفيلّمات وتقليل معدل العدوى، يتم تفضيل نهج صديق للبيئة، باستخدام الجزيئات النشطة بيولوجيًا التي تنتجها الكائنات الدقيقة لتخليق الجسيمات النانوية.

كان الهدف من هذه الدراسة هو عزل السلالات البكتيرية موجبة الجرام من الأجهزة الطبية، وتحديد قدرتها على تكوين البَيوفيلّمات، وفحص فعالية الجسيمات النانوية المُخلّقة بيولوجيًا في تثبيط هذه البَيوفيلّمات.

لتحقيق ذلك، تم جمع العينات من مختلف الأجهزة الطبية من 24 مريضًا مُنومين في أجنحة مختلفة. تم تنقية السلالات البكتيرية التي (TCP) تم الحصول عليها وتحديدتها من خلال اختبارات مورفولوجية وكيميائية حيوية. تم استخدام طريقة صفيحة زراعة الأنسجة لتقييم تكوين البَيوفيلّمات. تم تخليق الجسيمات النانوية الفضية وتنقيتها لتقييم نشاطها المضاد للميكروبات والمضاد للبَيوفيلّمات.

في هذه الدراسة، تم الحصول على 17 سلالة بكتيرية موجبة الجرام من العينات السريرية. كشف التحقيق في قدرتها على تكوين البَيوفيلّمات عن وجود 9 سلالات ضعيفة التكوين، و6 سلالات متوسطة التكوين، وسلالتين فقط ذات قدرة عالية على تكوين البَيوفيلّمات. بالإضافة إلى ذلك، تم تخليق الجسيمات النانوية الفضية من الكائنات الدقيقة. أظهرت الاختبارات اللاحقة نشاطًا مضادًا للبكتيريا ومضادًا للبَيوفيلّمات ملحوظًا لهذه الجسيمات ضد السلالات ذات القدرة العالية على تكوين البَيوفيلّمات.

تُظهر هذه النتائج أن الفعالية البيولوجية للجسيمات النانوية المُخلّقة بيولوجيًا توفر إمكانية دمجها في المنتجات الطبية والصيدلانية. يتم تسليط الضوء على إمكاناتها كبديل واعد لمكافحة الالتهابات المرتبطة بالبَيوفيلّمات البكتيرية على الأجهزة الطبية. تُمهّد هذه الدراسة الطريق لاستراتيجيات مبتكرة لمنع وعلاج الالتهابات المرتبطة بالرعاية الصحية، مما يقدم أفقًا جديدة في مجال الصحة العامة وسلامة المرضى.

**الكلمات المفتاحية:** الأغشية الحيوية، الأجهزة الطبية، البكتيريا موجبة الجرام، الجسيمات النانوية

## Table des matières

Listes des figures

Listes des tableaux

Listes des Abréviations

**Introduction .....1**

**Synthèse bibliographique .....4**

*Chapitre 1 : Les infections associées aux soins de santé liées aux dispositifs médicaux .....5*

1. Les dispositifs médicaux..... 5
2. Les infections sur les dispositifs médicaux..... 6
3. Les risques infectieux des dispositifs médicaux..... 8

*Chapitre 2 : Biofilm sur les dispositifs médicaux..... 11*

1. Le biofilm bactérien .....11
2. Caractéristique des biofilms .....11
3. Principales étapes de la formation du biofilm .....12
4. Les facteurs influençant la formation de biofilm sur dispositifs médicaux..... 13
5. Résistance des biofilms à divers agents antimicrobien .....14
6. Lutte contre les biofilms..... 15

*Chapitre 3 : Inhibition de biofilm par les nanoparticules..... 18*

1. Généralité sur les nanoparticules .....18
2. Classifications des nanoparticules..... 18
3. Synthèse biologique des nanoparticules par les bactéries..... 20
4. Application des nanoparticules .....22

**Matériel et méthode .....25**

1. *Lieu d'étude*..... 26
2. *Echantillonnage*..... 26
  - 2.1 Ensemencement et isolement des souches .....26
  - 2.2 Identifications des bactéries .....26



3. <i>Détection de la production de biofilm par la méthode de plaque de culture de tissus (TCP)</i> .....	28
3.1 Technique .....	28
3.2 Lecture.....	28
4. <i>La biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs)</i> .....	28
4.1 Origines des souches .....	28
4.2 Test de pureté des souches conservées .....	29
4.3 Préparation des cultures .....	29
4.4 Récupération des nanoparticules .....	29
5. <i>Evaluation de l'activité antimicrobienne et antibiofilm</i> .....	31
5.1 Préparation des suspensions de bactéries testés .....	31
5.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) par méthodes des puits .....	32
5.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice des biofilms (CMIBs) ...	32
<b>Résultat et discussion</b> .....	<b>35</b>
1. <i>Prélèvements</i> .....	36
2. <i>Analyse bactériologique</i> .....	36
2.1 Répartition des échantillons analysés.....	36
2.2 Répartition des bactéries isolées .....	37
3. <i>Caractères bactériologiques des souches</i> .....	37
3.1 Aspect macroscopique .....	38
3.2 Aspect microscopique.....	38
3.3 Caractères biochimiques .....	39
4. <i>Evaluation de la formation de biofilm in vitro par la méthode TCP</i> .....	40
5. <i>La biosynthèse des nanoparticules à partir de biomasse des souches (E2, E4)</i> .....	43
6. <i>La biosynthèse des nanoparticules à partir de surnageant des souches (E2, E4)</i> .....	45
7. <i>Évaluation de l'activité antibactérienne</i> .....	45
8. <i>Activité antibiofilm</i> .....	47
<b>Conclusion</b> .....	<b>50</b>

**Références bibliographiques .....53**

## Listes des figures

<b>Figure 1</b> : Les classes de dispositifs médicaux en fonction du niveau de risques selon Direction des produits thérapeutiques (Ramasamy et Lee, 2016).....	6
<b>Figure 2</b> : principales infections associées aux dispositifs médicaux implantés (Lebeaux et Ghigo, 2012).....	8
<b>Figure 3</b> : Formation des biofilms et mécanismes. (a) Stades de formation des biofilms. (b) Adhésines et fimbriae dans l'attachement cellulaire. (c) Rôle de l'EPS, de l'ADN extracellulaire et des polysaccharides dans les biofilms matures. (d) Processus de dispersion dans les biofilms pour étendre la zone des biofilms (Kumar et al., 2023).....	12
<b>Figure 4</b> : Les composants d'un biofilm associé à un dispositif médical et approches contre les biofilms (Li et al., 2021).....	15
<b>Figure 5</b> : Stratégies nanotechnologiques avancées pour contrôler les biofilms microbiens (Kumar et al., 2023) .....	17
<b>Figure 6</b> : Principes fondamentaux de la manipulation des nanoparticules : Approches Top-down et Bottom-up (Tulli et al., 2022).....	18
<b>Figure 7</b> : Nanoparticules à base de carbone : a– Fullérènes, b– Graphène, c– Nanotubes de carbone, d– Nanofibres de carbone et e- Carbone noir (Ealias et Saravanakumar, 2017).....	19
<b>Figure 8</b> : Nanoparticules organiques : a– Dendrimères, b– Liposomes et c– Micelles (Ealias et Saravanakumar, 2017).....	20
<b>Figure 9</b> : Schéma représentatif des étapes de biosynthèse des nanoparticules d'argents .....	31
<b>Figure 10</b> : Schéma de préparation de microplaque pour la réalisation du test d'activité antimicrobienne.....	32
<b>Figure 11</b> : Schéma de préparation de microplaque pour la réalisation du test d'activité antibiofilm.....	33
<b>Figure 12</b> : Répartition des prélèvements récoltés de différents dispositifs médicaux .....	36
<b>Figure 13</b> : Répartition des bactéries isolées.....	37
<b>Figure 14</b> : Aspect de <i>Staphylococcus aureus</i> (A) et <i>Staphylococcus epidermidis</i> (B) <i>Micrococcus</i> spp. (C) sur gélose Chapman.....	38
<b>Figure 15</b> : Observation microscopique ×100 de <i>Micrococcus</i> spp.....	39
<b>Figure 16</b> : Observation microscopique ×100 des Staphylocoques .....	39
<b>Figure 17</b> Coagulation positive de plasma par <i>S. aureus</i> . .....	39
<b>Figure 18</b> : Identification biochimique des souches isolées par galerie API STAPH.....	40
<b>Figure 19</b> : Evaluation de la formation de biofilm par la méthode TCP. ....	41

<b>Figure 20 :</b> Histogramme représentatif de la formation du biofilm par la technique TCP des souches isolées .....	42
<b>Figure 21 :</b> Les résultats de la biosynthèse des AgNPs par les souches E2 et E4. A) AgNPs de la biomasse (2mmol). B) AgNPs du surnageant (2mmol). C) AgNPs de la biomasse (4mmol). B) AgNPs du surnageant (4mmol). .....	44
<b>Figure 22 :</b> Mécanisme de synthèse extracellulaire et intracellulaire des AgNPs par les actinomycètes (Kumari et al., 2019). .....	45
<b>Figure 23 :</b> Analyse par heat map de la microplaque de <i>S. aureus</i> 2.....	47
<b>Figure 24 :</b> Analyse par heat map de la microplaque de <i>Micrococcus spp.</i> 2.....	48

## Listes des tableaux

<b>Tableau 1</b> : Vue d'ensemble de la littérature sur les différentes nanoparticules synthétisées à l'aide d'espèces bactériennes (Chopra et al., 2022). .....	21
<b>Tableau 2</b> : Résultats des activités antibactériennes d'AgNPs.....	46
<b>Tableau 3</b> : La CMIB des nanoparticules d'argents vis-à-vis au <i>S. aureus</i> selon différents temps d'exposition. ....	47
<b>Tableau 4</b> : La CMIB des nanoparticules d'argents vis-à-vis au <i>Micrococcus</i> spp. selon différents temps d'exposition.....	48

## Listes des Abréviations

<b>AgNPs :</b>	Nanoparticules d'argent
<b>ADN :</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>ATP :</b>	Adénosine Triphosphate
<b>AMPs :</b>	Peptides Antimicrobiens
<b>AuNPs :</b>	Nanoparticules d'or
<b>AgNO<sub>3</sub> :</b>	<b>Nitrate d'argent</b>
<b>Ag<sup>0</sup> :</b>	Argent métallique
<b>Ag<sup>+</sup> :</b>	Ions d'argent
<b>BHIB :</b>	Bouillon cœur cerveau
<b>BGP :</b>	Bactéries gram positives
<b>CMIBs :</b>	Concentrations minimales inhibitrices des biofilms
<b>CMIs :</b>	Concentrations Minimales Inhibitrices
<b>CHU :</b>	Centre Hospitalo-Universitaire
<b>CuNPs :</b>	Nanoparticules de cuivre
<b>CNT :</b>	Nanotubes de carbone
<b>CuO :</b>	Oxyde de cuivre
<b>DPT :</b>	Direction des produits thérapeutiques
<b>DOt :</b>	Densité Optique de témoin
<b>DM :</b>	Dispositifs Médicaux
<b>DO :</b>	Densité Optique
<b>EPS :</b>	Substances polymères extracellulaires
<b>ELISA :</b>	Dosage immuno-enzymatique

<b>FDA :</b>	Food and Drug Administration
<b>EPO :</b>	Epoprosténol
<b>FeNPs :</b>	Nanoparticules de fer
<b>Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> :</b>	Oxyde de fer
<b>GN :</b>	gélose nutritive
<b>HApNPs :</b>	Nanoparticules d'hydroxyapatite
<b>IUAC :</b>	Infections urinaires associées aux cathéters
<b>IAS :</b>	Infection associée aux soins
<b>LecA :</b>	Lectine A
<b>MWCNTs :</b>	Nanotubes de carbone multi-feuillets
<b>MgO :</b>	Oxyde de magnésium
<b>NPs :</b>	Nanoparticules
<b>OMS :</b>	L'Organisation mondiale de la santé
<b>PVC :</b>	Chlorure de Polyvinyle
<b>pH :</b>	Potentiel hydrogène
<b>PAH :</b>	Hypertension artérielle pulmonaire
<b>Rpm :</b>	Tours par minutes
<b>SWCNTs :</b>	Nanotubes de carbone simple feuillet
<b>SeNPs :</b>	Nanoparticules de sélénium

# **Introduction**



Chaque procédure invasive impliquant un corps étranger expose le patient à divers risques de complications, parfois dues à des défaillances des dispositifs, à des dommages aux tissus ou à la technique d'implantation (Safdar & Maki, 2002). Les infections liées aux dispositifs médicaux provoquent un problème grave dans la santé publique souvent associées à la formation de biofilm (Millar et al., 2023).

Les biofilms peuvent entraîner des complications, telles que des infections localisées à l'extrémité du cathéter, des infections de la circulation sanguine et des septicémies potentiellement mortelles. Ces complications peuvent prolonger la durée de l'hospitalisation, augmenter les coûts de soins de santé et causer une morbidité et une mortalité significatives chez les patients (Dicko et al., 2022).

Le biofilm est une structure complexe composée de bactéries enchevêtrées dans une matrice extracellulaire constituée de polysaccharides, de protéines et de composants cellulaires. Cette matrice protège les bactéries du système immunitaire de l'hôte et limite l'efficacité des antibiotiques, ce qui rend, par la suite, les infections à biofilm particulièrement difficiles à traiter (Chadha et al., 2023)

Pour cette raison, des approches innovantes offrant des solutions pour inhiber ou éliminer les biofilms. Parmi ces approches, la nanotechnologie, en évolution rapide offre de nombreux avantages dans divers domaines tels que la médecine, l'industrie, l'agriculture et la biologie (Khatoon et al., 2018). Cette nouvelle discipline a suscité l'intérêt des scientifiques du monde entier pour la production de diverses nanoparticules.

Les nanoparticules sont des structures de petite taille, leur taille varie entre 1 et 100 nm (Silva-Santana et al., 2016). Les nanoparticules à base de métal ont attiré plus d'attention en raison de leurs propriétés exceptionnelles résultant de leur taille et de leur forme. Les nanoparticules à base de métal comprennent les nanoparticules d'oxyde de fer, les nanoparticules de cuivre, les nanoparticules d'argent, les nanoparticules de titane, etc. Parmi celles-ci, les nanoparticules d'argent (AgNPs) ont suscité plus d'intérêt en raison de leurs propriétés uniques notamment leur bio-activité et leur conductivité (Paramanatham et al., 2019).

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) peuvent être synthétisées par différentes méthodes. La synthèse biologique, ou "synthèse verte", est particulièrement recommandée pour son respect de l'environnement et la biocompatibilité élevée des AgNPs produites. Cette méthode utilise les bactéries, agissent comme agents réducteurs pour transformer les ions d'argent en nanoparticules (Malheiro & Simões, 2016).

Les nanoparticules d'argent bio synthétisées présentent diverses applications. Elles sont dotées d'un fort potentiel biologique qui leurs confèrent une forte activité antimicrobienne. Elles peuvent être utilisées pour nettoyer les surfaces et éliminer les biofilms-

Afin de mieux comprendre ce phénomène notre travail a pour objectifs :

- L'isolement des souches bactériennes à Gram positif provenant des dispositifs médicaux de différents services du CHU de Tlemcen.
- L'évaluation de la formation de biofilms par la méthode TCP.
- La biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs).
- L'examinassions de l'efficacité des nanoparticules biosynthétisées dans l'inhibition de ces biofilms.

# **Synthèse bibliographique**

### Chapitre 1 : Les infections associées aux soins de santé liées aux dispositifs médicaux

#### 1. Les dispositifs médicaux

##### 1.1 Définition

L'organisation mondiale de la santé estime qu'entre 5 et 30 % des patients hospitalisés dans le monde contractent une ou plusieurs infections, causant une charge de morbidité et de mortalité extrêmement élevée, dont 10% de ces infections sont associées aux soins de santé (IAS) (Adams et al., 2010). La plupart des infections associées aux soins sont associées aux dispositifs médicaux. Ces derniers englobent divers instruments, équipements et produits destinés à des usages médicaux chez l'homme (Huot, 2012), par exemple : cathéter vasculaire, sonde vésicule, incubation trachéal, valve cardiaque...(Dicko et al., 2022).

##### 1.2 Classification des dispositifs médicaux

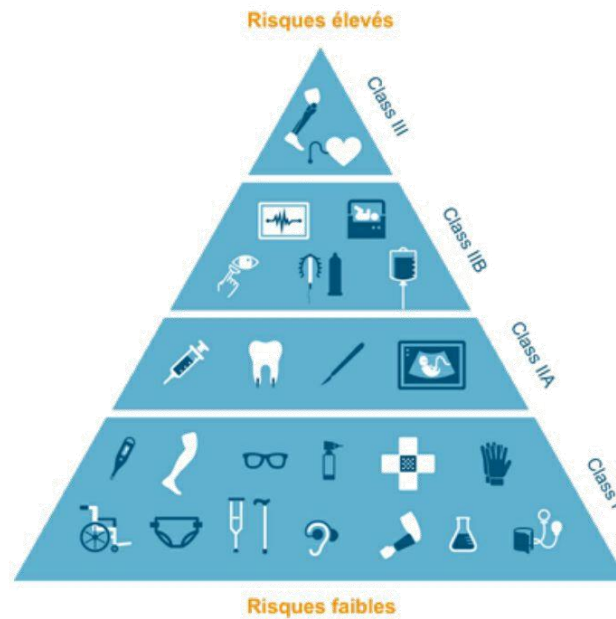
Le Bureau des matériels médicaux de la Direction des produits thérapeutiques (DPT), Santé Canada, a défini quatre classes de dispositifs en fonction du niveau de contrôle nécessaire pour garantir leur sécurité et leur efficacité (Khatoon et al., 2018) (figure 1) :

**Classe I** : Présente un faible risque pour les patients tels que les instruments chirurgicaux ou les matériaux dentaires.

**Classe IIA** : Requiert une déclaration du fabricant sur la sécurité et l'efficacité du dispositif, comme les lentilles de contact, les échographes ou les cathéters médicaux.

**Classe IIB** : Implique un risque plus élevé pour le patient, par exemple avec des implants orthopédiques, les machines d'hémodialyse ou les filets chirurgicaux.

**Classe III** : Présente le plus grand risque potentiel et est donc soumise à un examen approfondi et à une approbation réglementaire préalable à la commercialisation, dispositifs d'assistance ventriculaire



**Figure 1 :** Les classes de dispositifs médicaux en fonction du niveau de risques selon Direction des produits thérapeutiques (Ramasamy et Lee, 2016).

## 2. Les infections sur les dispositifs médicaux

Les dispositifs médicaux sont désormais essentiels dans les soins hospitaliers, mais ils sont également responsables de plus de 850 000 infections liées chaque année (Stamm et Seattle, 1978). Ces infections peuvent être particulièrement graves dans les populations à haut risque, telles que les patients immunodéprimés ou ceux souffrant de maladies chroniques (Azeredo et al., 2017) ils surviennent lorsque les dispositifs endommagent ou traversent les barrières protectrices du corps, provoquant la croissance microbienne en servant de réservoirs (la formation de biofilms), perturbant les défenses naturelles de l'organisme, et peuvent contaminer directement les patients s'ils sont eux-mêmes infectés (Stamm et Seattle, 1978) (figure 2).

### 2.1 Les infections liées à la présence d'un cathéter urinaire

Les infections urinaires associées aux cathéters (IUAC) sont fréquentes (70-95% des infections urinaires) et touchent plus d'un million de patients annuellement. Elles surviennent chez les individus cathétérisés pendant plus de deux jours, posant ainsi un grave problème de santé publique en raison de leur prévalence et de leurs conséquences (Asmare et al., 2024).

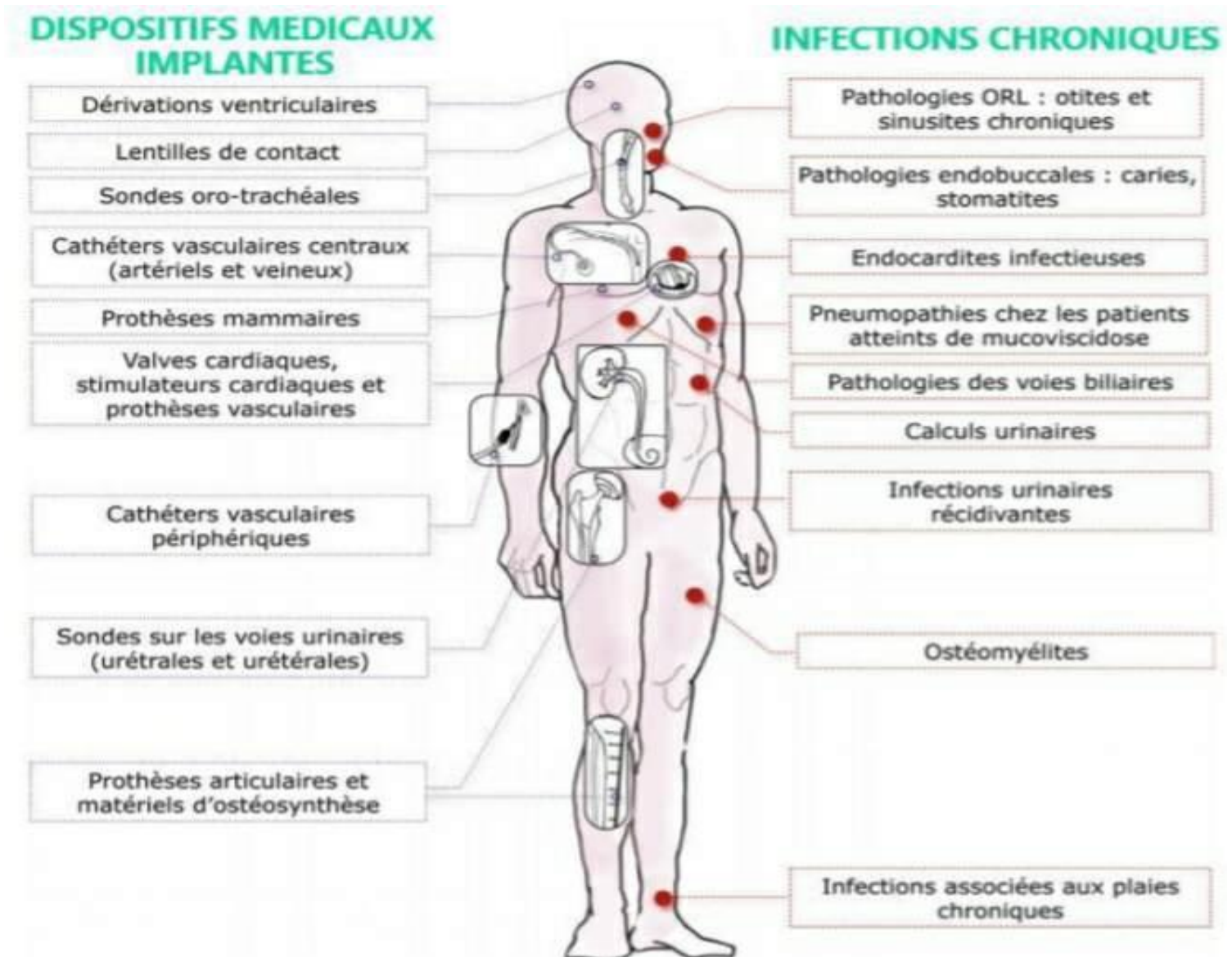
Les infections urinaires associées aux cathéters (IUAC) résultent de l'adhésion des bactéries et de la formation de biofilms sur la surface du cathéter, favorisant des organismes tels que *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*,

*Pseudomonas mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et d'autres (Asmare et al., 2024). Chaque jour de cathétérisme accroît les risques de 10 %. Les cathéters à long terme (>28 jours) présentent un risque d'infection pratiquement certain. Les facteurs de risque incluent l'âge, le sexe, l'immunité, le diabète, les interventions orthopédiques, les troubles neurologiques et les soins inadéquats. Les bactériuries se développent à 3-10 % par jour, atteignant 100 % après 30 jours. Les causes supplémentaires comprennent la colonisation du sac de drainage, les infections ailleurs, la colonisation du méat urétral et les erreurs de soins. La gestion des risques IUAC nécessite une attention particulière aux protocoles d'hygiène, à la surveillance des patients et à la recherche de nouvelles approches pour prévenir ces infections graves (Donlan, 2001).

### 1.1. Les infections liées à la présence d'un cathéter

Les cathéters veineux, essentiels en milieu médical, sont vulnérables aux infections sévères, souvent causées par des microorganismes comme les *Staphylocoques* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ces infections peuvent survenir par diverses voies : migration de la flore cutanée, manipulation ou injections contaminées, et bactériémies secondaires. Pour prévenir ces complications, des protocoles d'hygiène stricts et des pratiques de manipulation rigoureuses des cathéters sont essentiels. Une gestion efficace des risques d'infection exige une vigilance accrue, surtout en cas de longs séjours hospitaliers, pour garantir la sécurité des patients et minimiser les complications associées aux cathéters veineux [(Donlan, 2001) ; (Lebeaux et Ghigo, 2012)].

En plus des infections associées aux sondes urinaires et à la présence de cathéters, d'autres dispositifs médicaux peuvent également être des vecteurs d'infections. Par exemple, les dispositifs intraveineux, tels que les lignes centrales et périphériques, sont souvent associés à des infections sanguines associées au soins. Les ventilateurs mécaniques, utilisés pour aider à la respiration, peuvent provoquer des pneumonies associées à la ventilation. De même, les implants chirurgicaux, comme les prothèses articulaires et les dispositifs cardiaques, peuvent être sujets à des infections, surtout en cas de contamination durant l'intervention chirurgicale. Ces infections nosocomiales représentent un défi majeur pour les établissements de santé, nécessitant des protocoles rigoureux de désinfection et des pratiques d'hygiène strictes pour minimiser les risques.



**Figure 2** : Principales infections associées aux dispositifs médicaux implantés (Lebeaux et Ghigo, 2012)

### 3. Les risques infectieux des dispositifs médicaux

Les biofilms ont une grande importance pour la santé publique en raison de leur rôle dans certaines maladies infectieuses et de leur importance dans diverses infections liées aux dispositifs. En fait, plus de 60% des complications liées à l'hôpital et jusqu'à 80% des décès liés à l'infection sont attribuables aux infections à biofilm, et près de 80% des bactéries pathogènes connues ont été impliquées dans des infections liées aux dispositifs. Ces infections, sont dues respectivement à des agents pathogènes multirésistants, représentant près de 26% et 22% de toutes les infections liées aux soins de santé. Les microorganismes tels que *les corynébactéries* à Gram positif, *Staphylococcus aureus*, *les entérocoques*, ainsi que les

staphylocoques à coagulase négative, y compris aussi les bactéries à gram négatifs les genres *Pseudomonas*, *Serratia* et *Acinetobacter*, sont le plus souvent associées aux infections chroniques liées aux dispositifs médicaux [(Ramamany et Lee, 2016) ; (Anju et al., 2019) ; (Srivastava et al., 2019)] :

### **3.1 *Staphylococcus Spp***

Les staphylocoques comprennent un genre diversifié d'organismes commensaux à Gram positif et non mobiles qui habitent la peau et les muqueuses des humains et d'autres mammifères. *Staphylococcus* peut être classé en espèces coagulase positives et négatives en fonction de leur capacité à produire l'enzyme coagulase. L'enzyme coagulase produite par les Staphylocoques à coagulase positive provoque la coagulation du sang. En général, les staphylocoques sont des membres bénins de la flore naturelle, mais de nombreuses espèces ont la capacité d'être des agents pathogènes opportunistes, infectant principalement les individus qui ont des dispositifs médicaux ou sont autrement immunodéprimés. *S. aureus* et *S. epidermidis* sont une source majeure d'infections associées aux dispositifs médicaux telles que les cathéters intraveineux, aux cathéter urinaires etc.. [(Riedel et al., 2019) ; (Marta Setiabudy et al., 2023)].

#### **3.1.1 *Staphylococcus aureus***

Les infections bactériennes sont la deuxième cause de mortalité mondiale. Parmi les bactéries responsables, cinq, dont *Staphylococcus aureus*, contribuent à plus de la moitié des décès. En effet, il est responsable à lui seul de 1,1 million de décès en 2019 (Peng et al., 2023), *Staphylococcus aureus* est un pathogène opportuniste capable de provoquer des infections superficielles localisées jusqu'à des maladies graves profondes. Est une fréquemment responsable d'infections liées à des corps étrangers comme les cathéters veineux centraux, les valves cardiaques mécaniques et les cathéters urinaires. Sa capacité à produire une matrice extracellulaire et à former des biofilms constitue ses principaux facteurs de virulence. Parmi les principales souches responsables des infections associées aux soins, on retrouve les souches résistantes aux antibiotiques de *Staphylococcus aureus*. Ces infections, tant aiguës que chroniques, des défis importants en matière de traitement et de gestion des infections liée aux soins (Kara Terki et al., 2020).

#### **3.1.2 *Staphylococcus epidermidis***

*Staphylococcus epidermidis* est une espèce de staphylocoque négatif à la coagulase, résidant sur la peau et les muqueuses, telles que les narines, le tractus gastro-intestinal et le tractus reproductif inférieur. En tant que pathogène, *S. epidermidis* est responsable d'une large gamme



de maladies, y compris des infections graves mettant la vie en danger. De plus, *S. epidermidis* est associé aux infections liées aux biofilms sur les implants médicaux, L'aptitude de *S. epidermidis* à provoquer des infections persistantes liées aux dispositifs médicaux est largement attribuée à sa présence ubiquitaire sur la peau humaine et à sa capacité à adhérer rapidement et à former des biofilms robustes sur les dispositifs. Et constitue la cause la plus fréquente d'infections associées aux cathéters veineux centraux et aux infections associées aux cathéters sanguins. Les infections à *S. epidermidis* sont souvent difficiles à traiter en raison de leur croissance robuste de biofilm [(Sureshkumar et al., 2018) ; (Fisher et al., 2024)].

### **3.2 *Micrococcus spp.***

Les espèces du genre *Micrococcus* et d'autres genres étroitement apparentés sont généralement considérées comme des saprophytes inoffensifs qui habitent ou contaminent la peau, les muqueuses et possiblement l'oropharynx. Cependant, elles peuvent devenir des pathogènes opportunistes chez les personnes immunodéprimées. Ces bactéries ont été associées à diverses infections, y compris des bactériémies, des infections liées aux cathéters veineux. Elles ont également été isolées d'échantillons sanguins et chirurgicaux chez certains patients atteints de maladies infectieuses. *M. luteus* a été identifié comme agent responsable dans des cas d'abcès intracrâniens, de pneumonie, d'arthrite septique, d'endocardite et de méningite [(Magee et al., 1990) ; (Martin et al., 2019)].

## **Chapitre 2 : Biofilm sur les dispositifs médicaux**

### **1. Le biofilm bactérien**

En conditions naturelles, les microorganismes peuvent vivre sous forme libre ou planctonique, mais le plus souvent sont retrouvés en communautés pluricellulaires, plus ou moins complexes, à un ou plusieurs types d'organismes. De telles communautés microbiennes peuvent éventuellement adhérer à une surface. La coexistence de ces microorganismes et leurs comportements coopératifs entre eux, ont pour effet l'apparition de nouvelles fonctions au sein de la communauté microbienne. On appelle ces organisations ; des biofilms.

Le biofilm est défini comme des populations de microorganismes adhérees à une surface biotique ou abiotique par l'intermédiaire d'une matrice extracellulaire autoproduite. Cette matrice extracellulaire prend la forme d'un réseau de structure tridimensionnelle complexe, composé d'exopolysaccharides, d'ADN extracellulaire, de protéines et est susceptible de piéger des éléments provenant de l'environnement tel que des particules inorganiques (John et al., 2022).

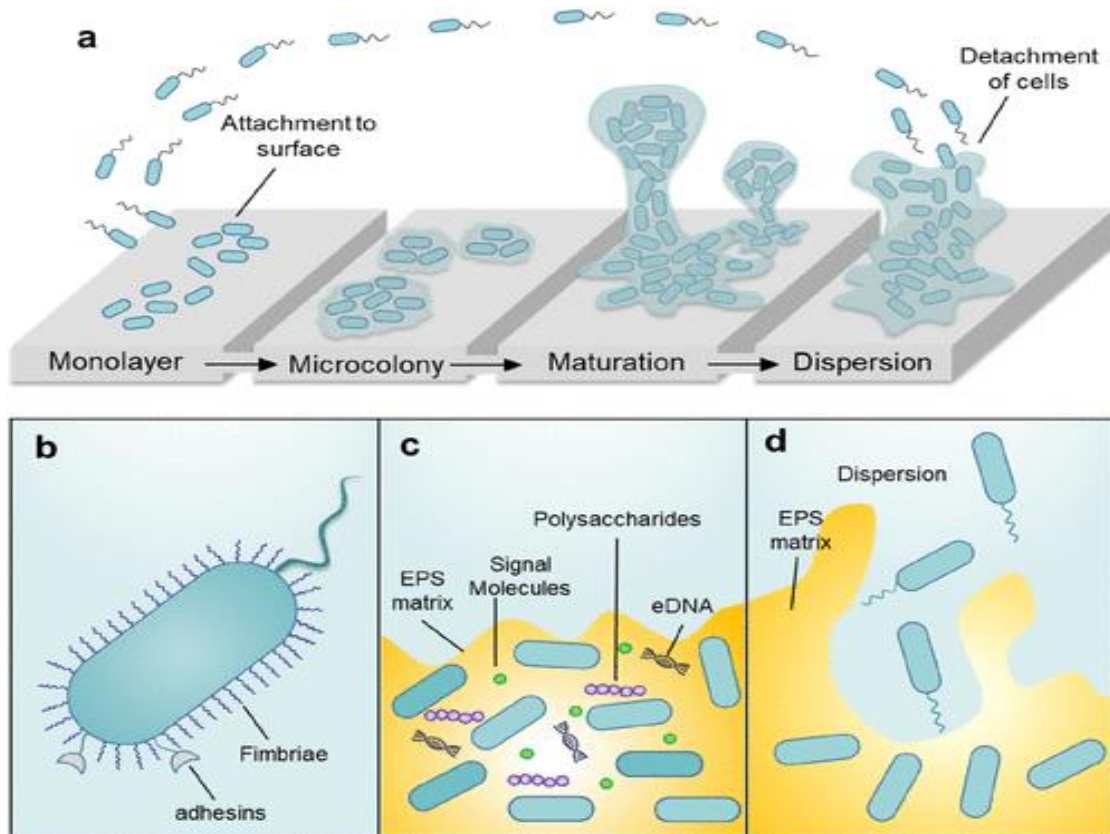
La formation de biofilm semble être un mécanisme de survie ancien qui offre aux microorganismes de meilleures options par rapport à leurs cellules planctoniques, y compris une capacité accrue de croître dans des environnements oligotrophes, un accès plus grand aux ressources nutritionnelles, une survie améliorée aux biocides, une productivité et des interactions d'organismes améliorées, ainsi qu'une plus grande stabilité environnementale. (Muhammad et al., 2020).

### **2. Caractéristique des biofilms**

Les biofilms se distinguent par leur structure tridimensionnelle complexe, composée de microorganismes enchâssés dans une matrice extracellulaire, leur confère une résistance accrue aux conditions environnementales défavorables (Flemming et Wingender, 2010). Ils favorisent les interactions intercellulaires et la communication cellulaire grâce à des mécanismes tels que le quorum sensing, (Nadell et al., 2009). De plus, les biofilms se former sur une grande variété de surfaces, abiotiques (comme les surfaces de dispositifs médicaux) ou biotiques (comme les tissus humains), ce qui les rend omniprésents et difficilement éliminables (Hall-Stoodley et al., 2004). Enfin, les biofilms peuvent moduler leur métabolisme en réponse aux changements environnementaux, passant d'un état de croissance active à un état de dormance (grande adaptabilité et une capacité de survie) (Stewart et Franklin, 2008).

### 3. Principales étapes de la formation du biofilm

La formation du biofilm est un processus complexe qui peut être segmenté en quatre phases distinctes : l'attachement cellulaire ou l'adhésion réversible, la colonisation et la formation du biofilm, la maturation et la dispersion (John et al., 2022). Chaque phase présente des caractéristiques rhéologiques uniques, qui offrent des indices sur les processus biologiques sous-jacents en jeu (John et al., 2022) (Figure 3).



**Figure 3 :** Formation des biofilms et mécanismes. (a) Stades de formation des biofilms. (b) Adhésines et fimbriae dans l'attachement cellulaire. (c) Rôle de l'EPS, de l'ADN extracellulaire et des polysaccharides dans les biofilms matures. (d) Processus de dispersion dans les biofilms pour étendre la zone des biofilms (Kumar et al., 2023).

#### 3.1 L'adhésion réversible

Dans cette phase, des bactéries planctoniques isolées évoluant librement dans un milieu liquide se fixent sur une surface. Cette fixation est d'abord faible et réversible, les bactéries peuvent encore se détacher et retourner à l'état planctonique (Vani et al., 2023).

### **3.2 L'adhésion irréversible et formation de micro-colonies**

Les composants macromoléculaires présents dans les fluides corporels (urine, sang et salive) sont adsorbés à la surface du dispositif médical, créant ainsi un film conditionnant, qui joue un rôle important dans l'adhérence microbienne. Certains de ces macromolécules peuvent agir comme des récepteurs pour l'attachement microbien. L'adhérence bactérienne peut être réalisée par liaison directe des bactéries à la surface du matériau du dispositif médical, ou par interaction avec les protéines du film conditionnant former immédiatement après l'implantation d'un dispositif médical (Stoica et al., 2017). Les bactéries attachées aux dispositifs médicaux peuvent provenir de l'environnement, de la peau du patient et/ou du personnel [(Malheiro et Simões, 2016) ; (Loza-Correa et Ramírez-Arcos, 2017)].

Cet ancrage est rendu possible grâce à des appendices cellulaires et les exopolymères autoproduits. Les exopolymères sont des substances polymériques extracellulaires produites par les bactéries. Ils jouent un rôle important dans la formation et la stabilité du biofilm (Francolini et Donelli, 2010).

### **3.3 Maturation du biofilm**

Le biofilm commence à mûrir. Il acquiert alors une structure tridimensionnelle et des microenvironnements s'instaurent en son sein. Ces microenvironnements sont caractérisés par des gradients de nutriments, d'oxygène et de déchets métaboliques. Ils permettent à différentes espèces de bactéries de coexister au sein du même biofilm (Srinivasan et al., 2021).

### **3.4 Dispersion du biofilm**

En fin de maturation, un certain nombre de cellules retournent à l'état planctonique et peuvent former plus loin un nouveau biofilm. Ce phénomène est appelé la dispersion et permet la propagation des bactéries et la colonisation de nouvelles surfaces (Khatoon et al., 2018).

## **4. Les facteurs influençant la formation de biofilm sur dispositifs médicaux**

### **4.1 Caractéristiques de la surface**

Les caractéristiques de la surface des dispositifs médicaux jouent un rôle crucial dans la formation du biofilm. La rugosité de la surface, son hydrophilie ou hydrophobicité, ainsi que sa charge électrique, influencent l'adhésion des microorganismes et la formation du biofilm. Les biomatériaux avec une surface rugueuse favorisent la formation de biofilm hydrophobe et positivement chargé par rapport aux surfaces lisses, hydrophiles et négativement chargées. Une

étude menée par plusieurs laboratoires a déterminé que la sensibilité des biomatériaux à l'adhérence microbienne est la suivante : latex > silicone > PVC > Teflon > polyuréthane > acier inoxydable > titane (Stoica et al., 2017).

### **4.2 Rugosité de la surface**

La rugosité de la surface est un facteur déterminant dans l'adhésion des microorganismes et la formation du biofilm sur les dispositifs médicaux. Les surfaces rugueuses fournissent des sites de fixation supplémentaires pour les microorganismes, favorisant ainsi la formation de biofilms multicouches. Cette caractéristique peut influencer la stabilité et la densité du biofilm, impactant ainsi sa résistance aux interventions antimicrobiennes (Stoica et al., 2017).

### **4.3 Caractéristiques du milieu**

Les conditions de l'environnement, tel que l'humidité, la température, le pH et la composition chimique, joue un rôle majeur dans la formation et la maturation du biofilm sur les dispositifs médicaux. Les conditions environnementales influencent la croissance des microorganismes et la production de la matrice extracellulaire, éléments essentiels à la formation du biofilm. Des variations dans ces paramètres peuvent modifier la structure et la résistance du biofilm [(Malheiro et Simões, 2016) ; (Stoica et al., 2017)].

### **4.4 Propriété des cellules**

Les propriétés physiques et chimiques des cellules bactériennes, telles que leur charge électrique et leur hydrophobicité, affectent leur capacité à adhérer à la surface des dispositifs médicaux et à former des biofilms. Les interactions hydrophobes et électrostatiques entre les cellules bactériennes et la surface du dispositif médical sont des déterminants clés de l'adhésion bactérienne et de la formation du biofilm (Stoica et al., 2017).

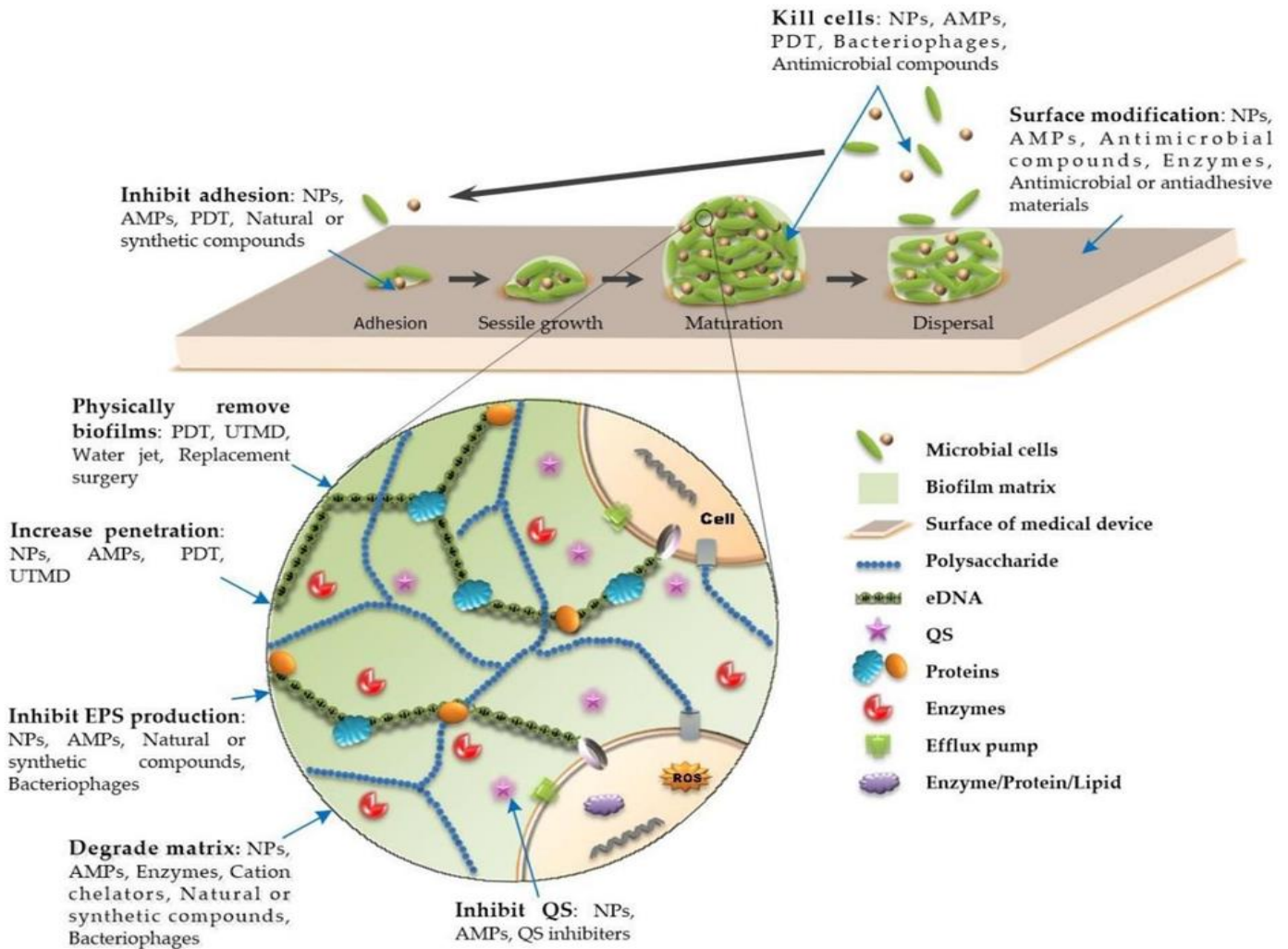
## **5. Résistance des biofilms à divers agents antimicrobien**

La résistance des biofilms à divers agents antimicrobiens constitue un défi majeur en milieu médical. Les biofilms offrent une protection accrue aux microorganismes contre les agents antimicrobiens, rendant leur élimination plus difficile. Cette résistance est due à plusieurs facteurs, notamment la production d'une matrice extracellulaire qui limite la pénétration des agents antimicrobiens, la présence de sous-populations de microorganismes dormants ou métaboliquement inactifs au sein du biofilm, ainsi que la formation de canaux et de pores dans la structure du biofilm, qui permettent une diffusion limitée des agents antimicrobiens. De plus,

la formation de biofilms favorise l'échange de gènes de résistance entre les microorganismes, ce qui peut conduire au développement de souches résistantes. Ces mécanismes complexes rendent les biofilms particulièrement résistants aux traitements antimicrobiens conventionnels (Costerton et al., 1999).

### 6. Lutte contre les biofilms

Pour lutter contre la résistance, des approches incluent l'inhibition et la destruction des biofilms. Des agents antibiofilm naturels, comme extraits de plantes, sont évalués pour traiter les infections chroniques (Pompilio et al., 2015). D'autre part, les progrès continus dans les nanomatériaux permettant le développement d'agents antibiofilm qui détruisent les membranes bactériennes et les matrices de biofilm. Cruciaux contre les infections nosocomiales, ils ont des implications cliniques majeures (Arciola et al., 2018) (Figure 4).



**Figure 4 :** Les composants d'un biofilm associé à un dispositif médical et approches contre les biofilms (Li et al., 2021).

### 6.1 Les huiles essentielles

Dans l'étude de El-Tarabily et al. (2021), les biofilms bactériens, résistants aux antimicrobiens, sont contrôlés par les huiles essentielles. Leur capacité à compléter les désinfectants et antibiotiques, même à faibles concentrations, est soulignée. Leur hydrophobicité augmente la perméabilité des membranes bactériennes, inhibant ainsi la formation du biofilm, comme l'illustre l'huile essentielle de thym (0,2%) contre *Staphylococcus aureus*. De plus, l'article met en évidence que Les huiles essentielles, à des concentrations de 0,1% à 0,5%, perturbent les processus cellulaires internes des bactéries, affectant l'ATP, l'ADN et le quorum sensing, contribuant à la destruction des biofilms et influençant la régulation de la croissance bactérienne. (El-Tarabily et al., 2021).

### 6.2 Les peptides naturels comme agents antibiofilms

Il existe plusieurs peptides naturels qui ont montré une activité inhibitrice contre les biofilms de différentes espèces microbiennes tels que :

- **Les peptides antimicrobiens (AMPs) :** naturels ou synthétiques, ont une activité inhibitrice contre les biofilms microbiens, prévenant leur croissance, éliminant les biofilms matures, et altérant leur structure pour empêcher la colonisation bactérienne (Naaz et al., 2023).
- **Lysostaphine :** une enzyme, dégrade sélectivement la paroi cellulaire des staphylocoques en clivant les ponts de pentaglycine dans le peptidoglycane. La lysostaphine recombinante a prouvé son efficacité en éradiquant les biofilms de *S. aureus* et *S. epidermidis*, y compris les souches résistantes aux médicaments (Blackman et al., 2021).
- **Les dendrimères glycopeptidiques :** ciblant la lectine LecA de *Pseudomonas aeruginosa* ont démontré une inhibition complète et une dispersion des biofilms de cette bactérie, offrant ainsi une stratégie prometteuse contre les infections résistantes aux antibiotiques (Bergmann et al., 2015).

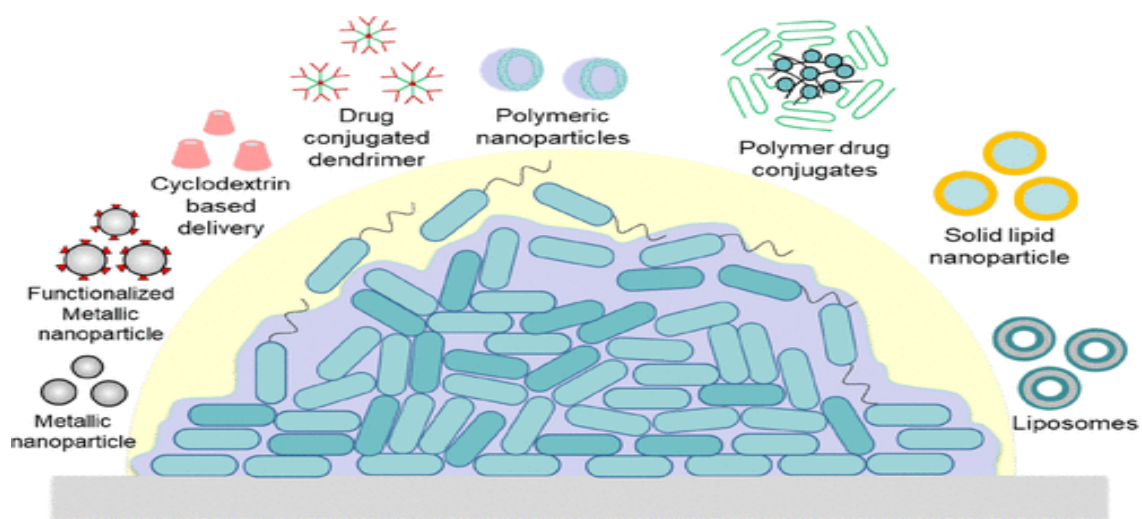
### 6.3 Les bactériophages

Les bactériophages, virus ciblant les bactéries, sont de plus en plus considérés pour contrôler les biofilms, Des recherches récentes ont mis en évidence l'utilisation potentielle de cocktails de phages, de thérapies combinées et de phages génétiquement modifiés dans un contexte

clinique. Ces approches visent à améliorer l'efficacité des phages contre les biofilms et à surmonter les obstacles actuels à leur utilisation (Chang et al., 2022).

#### 6.4 La nanotechnologie

Les infections associées aux biofilms sont devenues un défi majeur pour la santé publique en raison de leur nature persistante et de leur résistance accrue aux méthodes de traitement conventionnelles. Pour relever ce défi, la nanotechnologie a fourni des solutions innovantes pour prévenir et traiter la formation de biofilms par des agents pathogènes cliniquement pertinents. Les avancées récentes dans les stratégies nanotechnologiques, y compris les nanoparticules métalliques, les nanoparticules métalliques fonctionnalisées, les nanoparticules polymériques, la livraison basée sur la cyclodextrine, les nanoparticules lipidiques solides, les conjugués de médicaments polymères et les liposomes (Figure 5), peuvent offrir des solutions technologiques précieuses contre les maladies infectieuses (Kumar et al., 2023).



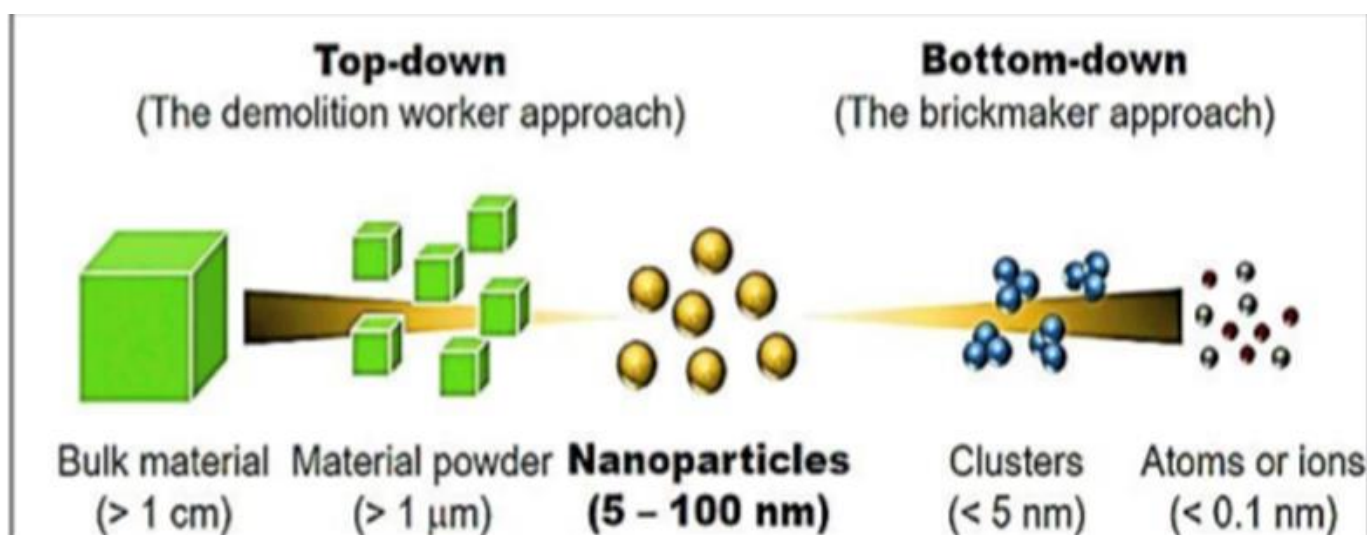
*Figure 5* : Stratégies nanotechnologiques avancées pour contrôler les biofilms microbiens (Kumar et al., 2023)



## Chapitre 3 : Inhibition de biofilm par les nanoparticules

### 1. Généralité sur les nanoparticules

Les nanoparticules, composantes essentielles de la nanotechnologie, varient en taille (1-100 nm) et composition (carbone, métal, oxydes, matière organique). Elles se distinguent par leurs dimensions (0D, 1D, 2D, 3D), leurs formes (sphériques, cylindriques, etc.) et leurs propriétés uniques à l'échelle nanométrique, offrant des avantages en physico-chimie et biologie (Ealias et Saravanakumar, 2017). La biosynthèse produit des nanoparticules via des organismes comme les plantes, bactéries, champignons. Les nanoparticules métalliques telles que l'or, l'argent suscitent un intérêt croissant pour leur importance technologique (Hulkoti et Taranath, 2014), ont été employées dans plusieurs applications biomédicales, incluant les biocapteurs, la bioimagerie, la thérapie photothermique et l'administration ciblée de médicaments (Singh et al., 2014) (Figure 6).



**Figure 6 :** Principes fondamentaux de la manipulation des nanoparticules : Approches Top-down et Bottom-up (Tulli *et al.*, 2022)

### 2. Classifications des nanoparticules

Les nanoparticules sont généralement classées comme organiques, inorganiques et à base de carbone.

#### 2.1 Les nanoparticules à base de carbone

Ils sont des nanomatériaux non métalliques ils peuvent être classés les fullerènes, graphène, nanotubes de carbone (CNT), nanofibres de carbone. Des études ont démontré que grâce aux

propriétés physicochimique et biologiques des nanoparticules à base de carbone, elles sont prometteuses dans les applications biomédicales (Veer et al., 2021)(Figure 7).

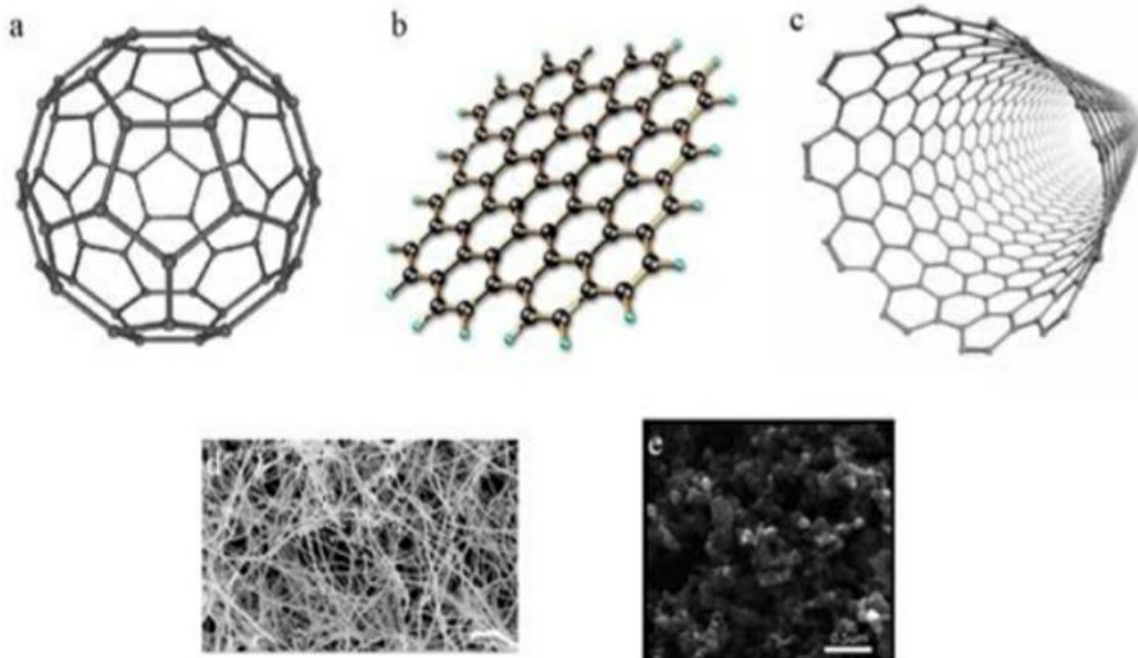
- **Les fullerènes**, composés de 60 atomes de carbone, prennent une forme sphérique, avec des diamètres allant jusqu'à 8,2 nm pour une seule couche (Ealias et Saravanakumar, 2017).

- **Le graphène** est une feuille mince composée d'une seule couche d'atomes de carbone, liés par des liaisons covalentes, formant une structure cristalline en nid d'abeille.

- **Les nanotubes de carbone**, des structures tubulaires composées de carbone, se distinguent par leur diamètre nanométrique et se divisent en nanotubes à paroi unique (SWCNTs) et à parois multiples (MWCNTs), les premiers ayant un diamètre d'environ 1 nm, formant une structure intermédiaire entre les fullerènes et le graphène (Hajishoreh et al., 2023).

- **Les nanofibres de carbone** sont produites à partir des mêmes nanofeuilles que les nanotubes de carbone (CNT), mais elles sont enroulées en forme de cône (Sharifi et al., 2020).

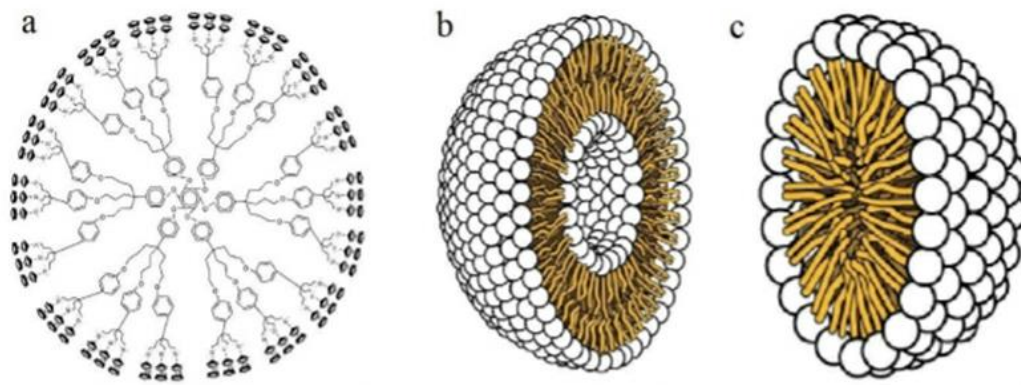
- **Le carbone noir** est un matériau amorphe constitué de particules de carbone d'environ 20 à 70 nm de diamètre, ayant une interaction si forte qu'elles se regroupent pour former des



**Figure 7** : Nanoparticules à base de carbone : a– Fullérènes, b– Graphène, c– Nanotubes de carbone, d– Nanofibres de carbone et e- Carbone noir (Ealias et Saravanakumar, 2017)

## 2.2 Les nanoparticules organiques

Nanoparticules organiques biodégradables, non toxiques, comprenant dendrimères, micelles, liposomes, ferritine. Utiles en biomédical, notamment pour distribution médicaments (Figure 8).



**Figure 8** : Nanoparticules organiques : a– Dendrimères, b– Liposomes et c– Micelles  
(Ealias et Saravanakumar, 2017)

## 2.3 Les nanoparticules inorganiques

Les nanoparticules inorganiques sont des particules qui ne sont pas constituées de carbone (Hajishoreh et al., 2023), issues de divers métaux, avec des tailles variant de 0 à 100 nm. Ces métaux incluent l'argent, l'or, le cuivre, l'oxyde de fer, le platine, le palladium et le zinc.

### 2.3.1 A base de métal

Nanoparticules métalliques et métalloïdes synthétisées jusqu'à des tailles nanométriques, incluant AgNPs, AuNPs, CuNPs, HApNPs, FeNPs, SeNPs, ZnNPs (Hajishoreh et al., 2023). Ils ont une capacité d'adsorption élevée et grande surface de contact (Dos Santos et al., 2024).

### 2.3.2 A base d'oxyde métallique

Nanoparticules métalloïdes créées à partir de métaux, tel que le fer s'oxydant en oxyde de fer ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) en présence d'oxygène. Composés synthétiques courants incluent alumine, oxyde de cérium, oxyde de fer, magnétite, dioxyde de silicium, oxyde de titane, oxyde de zinc (Ealias et Saravanakumar, 2017).

## 3. Synthèse biologique des nanoparticules par les bactéries

La biosynthèse des nanoparticules est une approche prometteuse dans le domaine de la nanotechnologie en raison de sa compatibilité environnementale et de sa rentabilité. Selon Kumar et al. (2016), la méthode utilise des organismes biologiques comme bactéries,

champignons, levures, actinomycètes et extraits de plantes pour synthétiser des nanoparticules de métaux et d'oxydes métalliques. Leur capacité à sécréter des enzymes réductases permet de produire des nanoparticules de tailles et formes spécifiques. [(Habibullah et al., 2021) ; (Rai et al., 2020)]. En particulier, les bactéries qui réduisent les ions métalliques en nanoparticules, pour leurs fabrication aisée et croissance rapide (Chauhan et al. 2020). La fabrication de nanoparticules par les bactéries (tableau 1) peut résulter d'une exposition à des substances toxiques par sécrétion de substances extracellulaires, ou peut être formée par voie enzymatique avec des enzymes extracellulaires ou intracellulaires (Gupta et al. 2016).

**Tableau 1 :** Vue d'ensemble de la littérature sur les différentes nanoparticules synthétisées à l'aide d'espèces bactériennes (Chopra et al., 2022).

Espèces	NPs	Tailles(nm)
<i>Bacillus brevis</i>	Argent	41–68
<i>Lactobacillus fermentum</i>		5–80
<i>Pseudomonas sp.</i>		—
<i>Chitinophaga chungangae</i>		20–70
<i>Sphingobium sp. MAH-11</i>		7–22
<i>Terrabacter humi sp. Nov</i>		6–24
<i>Lysinibacillus xylanilyticus MAHUQ-40</i>		8–30
<i>Massilia sp. MAHUQ-52</i>		15–55
<i>Arthrobacter 21angladeshi sp. Nov</i>		12–50
<i>Paenarthrobacter nicotinovorans MAHUQ-43</i>		13–27
<i>Escherichia coli DH5α</i>	Or	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		15–30
<i>Rhodopseudomonas capsulata</i>		10–20
<i>Streptomyces sp.</i>		90 (avrège)
<i>Streptomyces sp.</i>	Cuivre	78–80 (avrège)
<i>Bacillus megaterium</i>	Zinc	45–95

### 3.1 Biosynthèse extracellulaire

Les bactéries ont été reconnues pour leur capacité à utiliser des enzymes extracellulaires dans la biosynthèse des nanoparticules (NPs), offrant ainsi un mécanisme naturel pour la production de ces matériaux (Bose et Chatterjee, 2016). Les études ont montré que des enzymes telles que les réductases, les protéines, les acides aminés et les polysaccharides jouent un rôle clé dans la réduction des ions métalliques ( $Ag^+$ ) en nanoparticules d'argent ( $Ag^0$ ), facilitant ainsi le processus de synthèse (Sreedevi et al., 2015). Les facteurs environnementaux et expérimentaux, comme la concentration des précurseurs, le pH, la température, influent sur la taille et les propriétés des nanoparticules. Les microorganismes utilisent divers mécanismes pour la synthèse, incluant la solubilisation, la biosorption, la complexation, la précipitation extracellulaire et la toxicité par oxydoréduction (Patra et al., 2014).

### 3.2 Biosynthèse intracellulaire

La biosynthèse intracellulaire des nanoparticules utilise souvent les composants libérés suite à la dégradation des parois cellulaires. Par exemple, les AuNPs peuvent être générées par l'autolyse fongique, nécessitant un environnement sans pathogènes (Kitching et al., 2016). Les champignons basidiomycètes, tels que les champignons comestibles produits en culture pure, comme les espèces d'huîtres et de Ganoderma, sont largement utilisés dans la synthèse de nanoparticules (Aygün et al., 2020). Lorsque les AgNPs sont synthétisées à l'intérieur de bactéries, les ions argent sont transportés par des protéines membranaires. Certaines bactéries résistantes à l'argent réduisent  $Ag^+$  en  $Ag^0$ , limitant ainsi leur toxicité en accumulant  $Ag^0$  dans la paroi cellulaire ou l'espace périplasmique (Raja et al., 2022). Après la synthèse, les AgNPs doivent être récupérées par des étapes supplémentaires telles que la lyse cellulaire bactérienne par ultrasonication, la chaleur ou des méthodes chimiques telles que le sel et les détergents [(Fesharaki et al., 2010) ; (Kitching et al., 2016)].

## 4. Application des nanoparticules

Les nanoparticules métalliques vertes, produites de manière respectueuse de l'environnement, ont des applications variées dans la biotechnologie, la médecine, l'électronique et l'environnement. Leur capacité à présenter des propriétés spécifiques selon leur taille, forme et composition en fait des candidats prometteurs (Chopra et al., 2022). Les AgNPs sont largement utilisées dans les dispositifs médicaux, les implants polymériques, les équipements sportifs et la purification de l'eau pour leur action antimicrobienne (Erjaee et al., 2017). Parallèlement, le dioxyde de titane ( $TiO_2$ ) a été approuvé par Food and Drug

Administration (FDA) pour usage alimentaire, médical et cosmétique en raison de son activité antimicrobienne, utile pour purifier l'air et l'eau (Moradpoor et al., 2021). Quant aux nanoparticules d'or (AuNPs) sont utilisées en médecine pour l'identification des interactions protéiques et le diagnostic de maladies, y compris les tests rapides de détection du Covid-19 [(Kumari et al., 2019) ; (Pramanik et al., 2021)]. Bien que les propriétés antimicrobiennes des AuNP soient moins prononcées que celles des AgNPs, elles s'avèrent efficaces lorsqu'elles sont associées à des systèmes de délivrance de médicaments (dos Santos et al., 2024).

### 4.1 Effets antifongiques des nanoparticules

Les nanoparticules présentent une activité antifongique prometteuse dans diverses applications. Les nanoparticules d'argent se révèlent efficaces contre des souches telles que *Trichosporon asahii* (Xia et al., 2016), tandis que les nanoparticules de ZnO inhibent la croissance des pathogènes fongiques tel que *Colletotrichum sp* en se liant à leur surface, induisant leur mort (Mosquera-Sánchez et al., 2020). Ce mécanisme est observé à la fois dans l'action des AgNPs sur *Alternaria porri* (Das et al., 2022) et dans l'action de ZnO contre *Penicillium italicum* (Wardana et al., 2022), mettant en évidence le large spectre et l'efficacité des traitements antifongiques à base de nanoparticules.

### 4.2 Effets antibactériens des nanoparticules

Les nanoparticules, notamment les nanoparticules d'argent, d'or, de sélénium, d'oxyde de zinc, de cuivre, de titane et d'hydroxyapatite, ainsi que leurs composites polymères, ont démontré une remarquable activité antibactérienne et antibiofilm contre les pathogènes dentaires (Kannan et al., 2024). L'Ag-TiO<sub>2</sub> a été identifié comme présentant d'excellentes performances antibactériennes avec une très faible toxicité, inhibant efficacement la croissance des bactéries *S. aureus* et *E. coli*, ce qui en fait un candidat prometteur pour les applications médicales (Hidayat et al., 2024). De plus, les nanoparticules d'oxyde métallique, offrent une alternative respectueuse de l'environnement pour la production de matériaux antibactériens. Leur synthèse sans produits chimiques améliore les propriétés des nanoparticules Ag/MgO, qui démontrent une forte activité antibactérienne, avec une efficacité accrue contre *S. aureus*, soulignant ainsi leur potentiel dans la lutte contre les infections bactériennes et dans le traitement de l'eau contaminée (Sagadevan et al., 2022).

### 4.3 Mécanismes antibactériens des AgNPs

Les nanoparticules d'argent (AgNPs) ont émergé comme des agents prometteurs dans la lutte contre les biofilms bactériens en raison de leurs propriétés antimicrobiennes uniques. Leur mécanisme d'action repose sur plusieurs voies. Tout d'abord, les AgNPs ont la capacité de pénétrer la membrane cellulaire bactérienne, perturbant ainsi sa structure et sa fonctionnalité. Cette intrusion provoque une fuite des composants cellulaires essentiels, perturbant les processus vitaux des bactéries (Dong et al., 2019). De plus, les AgNPs peuvent interagir avec les groupes fonctionnels des protéines et des acides nucléiques des bactéries, inhibant ainsi leur activité enzymatique et leur capacité de réplication. En outre, les AgNPs génèrent des espèces réactives de l'oxygène (ROS) à la surface des particules, entraînant un stress oxydatif et des dommages cellulaires supplémentaires (Zhang et al., 2016). Ces effets combinés conduisent à une inhibition efficace de la croissance bactérienne et à la dispersion des biofilms.

# **Matériel et méthode**



### 1. Lieu d'étude

Notre étude a été réalisée au niveau de laboratoire : Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire, au Biomédical et l'Environnement (LAMAABE) de l'Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen.

### 2. Echantillonnage

Durant la période allant de 14 février 2024 au 14 mars 2024, deux dispositifs médicaux (sonde urinaire et cathéters veineux périphérique) ont été récupérés à partir de différents services : service de maternité, service d'infectiologie, service d'urgences, service de néphrologie, service de traumatologie et chirurgie A du CHU de Tlemcen (Algérie).

Après leurs ablations, les dispositifs médicaux ont été coupés aseptiquement puis placés individuellement dans des tubes en verre stériles et transportés immédiatement au laboratoire pour être analysé.

#### 2.1 Ensemencement et isolement des souches

L'extrémité distale de chaque dispositif médical a été coupée, placée dans 5 mL de bouillon cœur cerveau (BHIB) stérile, agitée au vortex durant 1 minute, puis incubée à 37°C pendant 24h. Après l'incubation, un volume a été ensemencé par épuisement sur le milieu Chapman puis incubé à 37°C pendant 24 à 48h pour la recherche des Staphylocoques.

#### 2.2 Identifications des bactéries

L'identification des souches est contrôlée, après vérification de leur pureté par :

##### 2.2.1 L'étude des caractères macroscopiques

L'identification des germes est basée sur l'observation de l'aspect macroscopique des colonies obtenues sur le milieu de culture Chapman. Le développement bactérien sur ce milieu ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (entérocoques) peuvent y cultiver.

##### 2.2.2 L'étude des caractères microscopique :

La coloration de Gram est une technique de coloration différentielle utilisée en microbiologie pour identifier et classer les bactéries en deux grandes catégories : les bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif. Cette méthode, développée par le bactériologiste danois Hans Christian Gram en 1884, repose sur les différences structurales de la paroi cellulaire des bactéries.

Voici les étapes principales de la coloration de Gram :

**Fixation** : Les bactéries sont fixées sur une lame de verre en la passant rapidement à travers une flamme.

**Coloration primaire** : La lame est imprégnée de cristal violet, un colorant basique qui pénètre toutes les cellules bactériennes.

**Mordantage** : L'ajout d'une solution d'iode (le mordant) forme un complexe avec le cristal violet à l'intérieur des cellules, rendant la coloration plus résistante au lavage.

**Décoloration** : La lame est lavée avec de l'alcool ou de l'acétone. Les bactéries à Gram positif, avec leur paroi cellulaire épaisse et riche en peptidoglycane, retiennent le complexe cristal violet-iode et restent violettes. Les bactéries à Gram négatif, avec leur paroi cellulaire plus fine et une membrane externe, perdent la coloration et deviennent incolores.

**Contre-coloration** : Enfin, la lame est traitée avec de la safranine, un colorant rouge. Les bactéries à Gram négatif absorbent cette contre-coloration et apparaissent rouges, tandis que les bactéries à Gram positif restent violettes.

### 2.2.3 L'étude des caractères biochimiques

#### 2.2.3.1 Galerie API 20 STAPH

L'identification biochimique des bactéries est faite par API Staph (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Cette galerie repose sur le même principe que les techniques biochimiques conventionnelles d'identification des bactéries. Elle se présente sous forme de 20 micro-tubes prêts à l'emploi contenant le substrat lyophilisé nécessaire aux différents tests biochimiques. Les substrats reconstitués suivant les recommandations du fabricant, sont examinés après incubation à 37°C pendant 24h. Les réactions produites sont révélées par des virages colorés spontanés ou par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide de la matrice d'identification en utilisant le tableur Excel.

#### 2.2.3.2 Recherche de la coagulase

Ce test de détection consiste à incuber pendant 4h jusqu'à 24h à 37°C un mélange de plasma de lapin ou plasma humain et la souche à tester. L'apparition d'un caillot est observée en inclinant le tube à 90°. Ce test permet l'identification de 99 % des souches de *S. aureus*.

### 2.3 Conservation des souches

Toutes les souches identifiées sont conservées en double réplique :

- ✚ **Gélose nutritive inclinée** : c'est une technique de conservation à court terme. Une fois que les tubes sont ensemencés et placés dans l'étuve à 37°C pendant 24h, ils sont conservés dans le réfrigérateur à 4°C. La vitalité de la souche se maintient pendant des durées variables, selon la température et l'espèce microbienne.
- ✚ **Le glycérol** : c'est une technique de conservation à long terme (-80°C). Elle consiste à l'ajout du glycérol aux suspensions bactériennes. Le glycérol est un cryoprotecteur permettant d'éviter au maximum les altérations cellulaires dues au refroidissement.

### 3. Détection de la production de biofilm par la méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

#### 3.1 Technique

Le test TCP décrit par O'toole et al., (2000) permet une évaluation quantitative de la formation du biofilm.

A partir d'une culture de 24 heures dans le milieu BHIB, les puits d'une microplaque de 96 puits (polystyrène) sont inoculés avec 150 µL de la suspension bactérienne ajustée à une DO comprise entre 0,08 et 0,1. Les microplaques sont incubées pendant 24 heures à 37°C. Les puits sont lavés trois fois avec l'eau distillée stérile afin d'éliminer les bactéries libres (planctoniques). Les biofilms formés par l'adhérence des organismes sessiles sont colorés avec du cristal violet (0,5%) pendant 15 min. L'excès de colorant est ensuite rincé par un lavage en profondeur avec de l'eau distillée et les plaques sont laissées pour le séchage pendant quelques minutes. Les microplaques sont ensuite remplies avec 150 µL d'une solution d'éthanol (95%) afin d'évaluer l'importance de la coloration du biofilm.

#### 3.2 Lecture

La classification des résultats obtenus présente sur la base du DO témoin. Les souches ont été classées comme suit :  $DO \leq DO_t$  (Témoin) : non formatrice du biofilm,  $DO_t \times 2 \leq DO \leq DO_t \times 4$  : Modérée,  $DO_t \times 4 \leq DO$  : Fortement formatrice du biofilm (Christensen et al., 1985).

### 4. La biosynthèse des nanoparticules d'argent (AgNPs)

#### 4.1 Origines des souches

Les souches E2, E4 formatrice des nanoparticules, utilisées dans cette étude ont été obtenues à partir des tubes coniques sous forme de spores de *Bacillus* spp au niveau du laboratoire LAMAABE.

#### 4.2 Test de pureté des souches conservées

Les souches sont revivifiées dans du BHIB, après un temps d'incubation de 24h à 30 °C. ces dernières sont ensemencées sur la gélose nutritive et incubées à 30 °C pendant 24 h pour vérifier leurs puretés.

#### 4.3 Préparation des cultures

Dans le but de préparer les cultures qui sont utilisées ensuite pour la biosynthèse des nanoparticules d'argent, des erlenmeyers de 250 mL contenant 100 mL de milieu de culture BHIB ont été ensemencés par les colonies des souches E2 et E4. Les erlenmeyers sont ensuite incubés à 30°C sous agitation de 100 rpm.

Après incubation, chaque erlenmeyer a été versé dans 10 tubes coniques de 10 mL. Ces derniers ont été placés dans une centrifugeuse (SIGMA3.18KS) pendant 15min à 6.000 tr/min. les surnageants ont été versés dans 4 flacons. La biomasse a été ensuite lavée trois fois avec l'eau distillée stérile, puis remplis dans 100 mL d'eau distillée stérile dans 4 flacons différents.

Deux solutions de Nitrate d'argent  $AgNO_3$  ont été préparées à une concentration de 2mMol et 4mMol pour des volumes de 500mL : (surnageant 2mMol et 4mMol (E2 et E4), culots 2mMol et 4mMol (E2 et E4) et deux témoins) :

$n=C.V=\frac{m}{M}$	$M_{AgNO_3} = 169.87 \text{ g/ml}$	$V_f=5 \times 10^{-1}l$
<b>2mmol</b>	<b>4mmol</b>	
$C_f=2 \times 10^{-3}mol/l$	$C_f=4 \times 10^{-3}mol/l$	
$n= 10^{-3}mol$	$n= 2 \times 10^{-3}mol$	
$m=n.M$	$m=n.M$	
$m=1 \times 10^{-3} \times 169.87$	$m=2 \times 10^{-3} \times 169.87$	
<b>m= 0.169g</b>	<b>m= 0.338g</b>	

La durée d'incubation a été effectuée pendant 5 jours à l'obscurité à une température de 30°C sous agitation de 100 rpm [(Mohd Yusof et al., 2020) ; (Khalil et al., 2022)].

#### 4.4 Récupération des nanoparticules

Après un temps d'incubation qui a duré 5 jours les flacons ont été récupérés, les nanoparticules ont été purifiés selon deux processus différents :

### 4.4.1 Les surnageants

La méthode utilisée pour obtenir des nanoparticules d'Ag consiste à centrifuger la solution obtenue à 10000 tr/min pendant 10 minutes. Le culot est ensuite nettoyé avec de l'eau distillée et la solution est centrifugée trois fois à 10000 tr/min pendant 10 minutes (Sholkamy et al., 2019). Après cette purification, un volume de l'eau distillée est ajouté aux tubes d'hémolyse contenant les AgNPs, puis le mélange est séché à l'étuve à 100°C pendant 24 heures pour obtenir une poudre prête à utiliser (Yurtluk et al. 2018).

### 4.4.2 Les biomasses

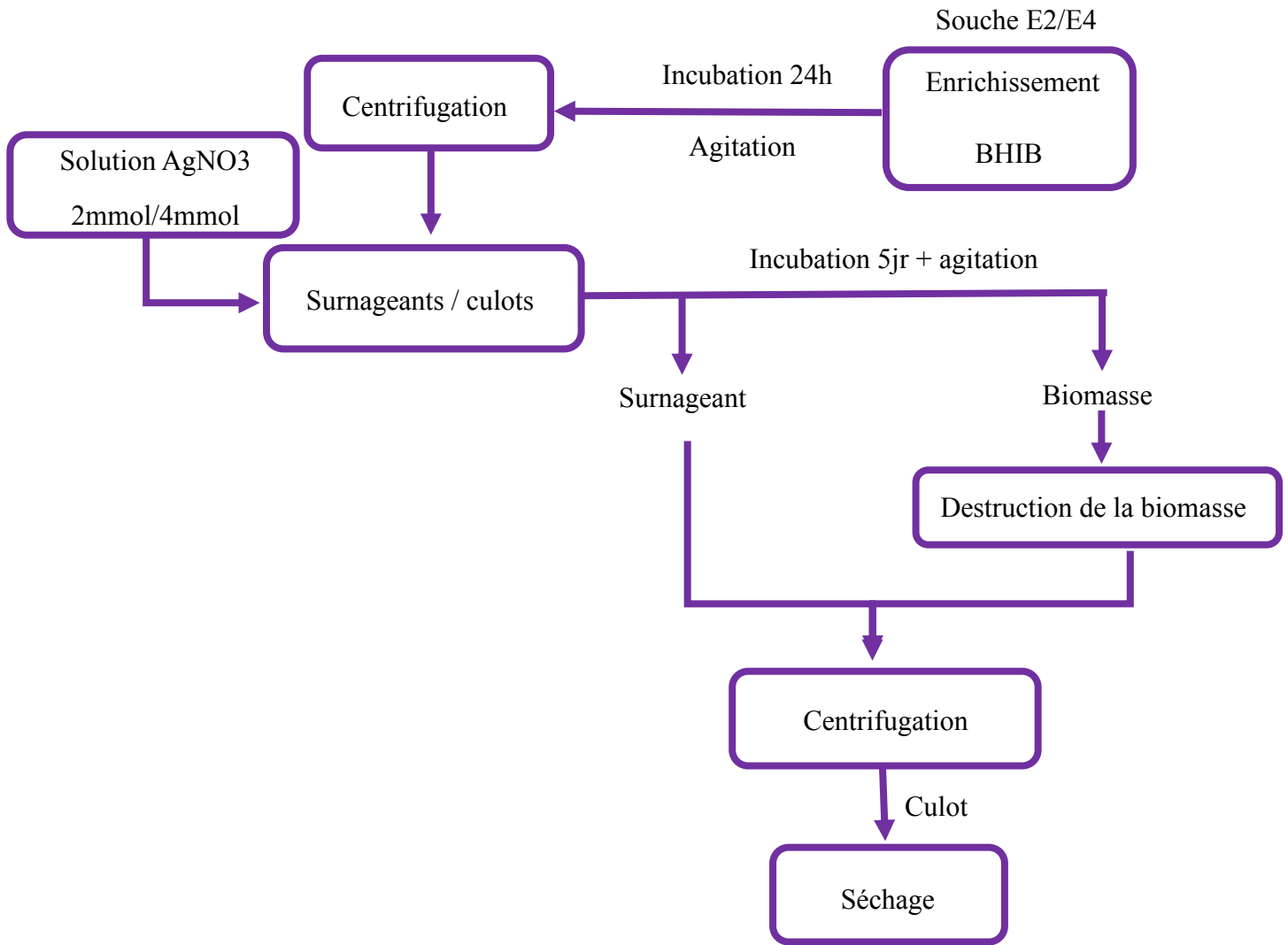
La récupération des nanoparticules d'argent à partir de la biomasse se déroule selon le protocole suivant :

- **Éclatement des cellules** : Les cellules présentes dans les flacons sont éclatées par un choc thermique produit pendant 30 minutes dans un bain-marie. Les flacons sont ensuite placés au congélateur pendant 10 minutes. Ce processus est répété deux fois pour assurer une rupture efficace des cellules.

- **Centrifugation** : Le contenu des flacons est versé dans 6 tubes coniques de 8 mL et placé dans une centrifugeuse à 10 000 tr/min pendant 10 minutes. Les tubes sont récupérés et le surnageant est délicatement versé. Les tubes sont ensuite rincés avec une petite quantité d'eau distillée stérile. Cette étape est répétée trois fois pour assurer une purification adéquate (Mohd Yusof et al., 2020).

- **Séchage** : après la purification, une petite quantité d'eau distillée est ajoutée aux tubes d'hémolyse contenant les nanoparticules d'argent. Le contenu est ensuite séché à l'étuve à 100°C pendant 24 heures pour obtenir une poudre prête à être utilisée.

Le schéma représentatif de toutes les étapes de la biosynthèse des nanoparticules d'argents se trouve dans (figure 9).



**Figure 9** : Schéma représentatif des étapes de biosynthèse des nanoparticules d'argents

## 5. Evaluation de l'activité antimicrobienne et antibiofilm

### 5.1 Préparation des suspensions de bactéries testés

L'activité antimicrobienne des nanoparticules d'Ag issus à partir de la souche E2, a été évaluée contre les souches les plus formatrices du biofilm isolées dans notre étude.

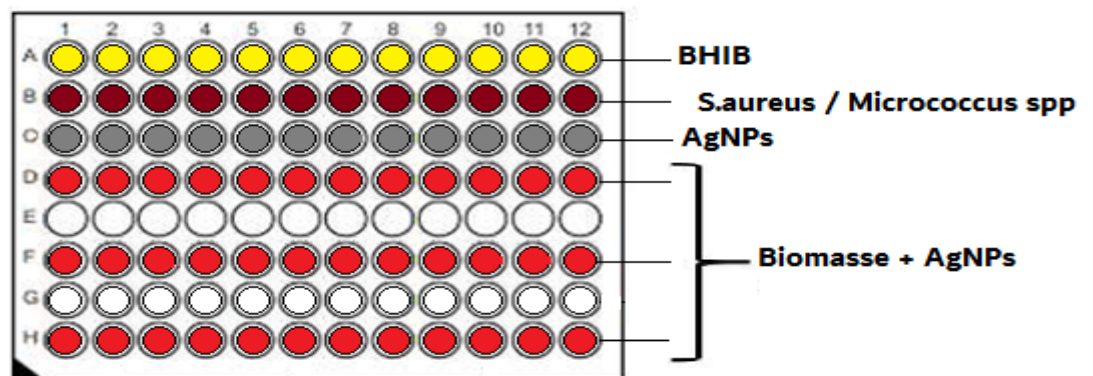
Les suspensions de ces micro-organismes pathogènes ont été préparées après ensemencement sur le milieu BHIB. Après 24 h d'incubation à 37°C, la turbidité de chaque micro-organisme testé a été ajustée à 0,5 McFarland qui correspond à une DO comprise entre 0.08-0.1 mesurés par un densitomètre réglé à 580 nm.

### 5.2 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMIs) par méthodes des puits

Les CMIs (Concentrations Minimales Inhibitrices) ont été déterminées par la technique des microplaques des souches sélectionnées (Hassan *et al.*, 2011).

Dans les puits de microplaque, déposer 100  $\mu$ L de BHIB suivis de l'ajout de 50  $\mu$ L de la solution des nanoparticules d'argent obtenue de la souche E4 à une concentration de 0.03g /mL, puis 100  $\mu$ L de suspension bactérienne. À l'aide d'une micropipette, le contenu du premier puits a été mélangé, un volume de 50  $\mu$ L de ce mélange a été transféré dans le deuxième puits. Ce processus de mélange et de transfert a été répété de manière séquentielle jusqu'au dernier puits. L'inoculum contenant uniquement la souche bactérienne a servi de contrôle positif, tandis que le BHIB seul a servi de contrôle négatif (Figure 10). L'incubation a été réalisée à 37 °C pendant 24 heures.

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les CMIs sont déterminées comme les plus petites concentrations avec absence de croissance visible et sont déterminées aussi par l'utilisation de lecteur ELISA.



**Figure 10 :** Schéma de préparation de microplaque pour la réalisation du test d'activité antimicrobienne

### 5.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice des biofilms (CMIBs)

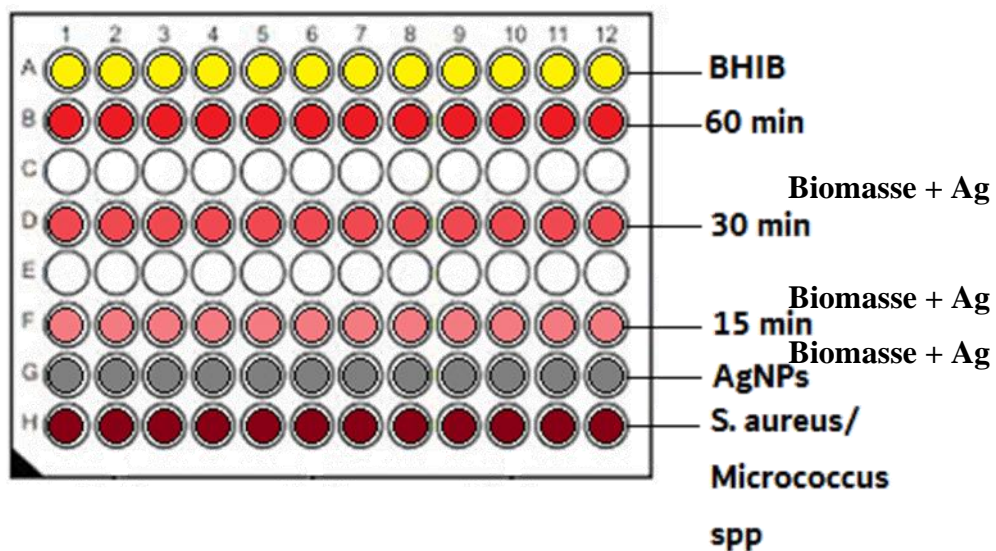
Deux microplaques de 96 puits ont été utilisées pour chaque souche afin de former des biofilms (Figure 11). Les puits des lignes B, D et F ont été remplis par 100  $\mu$ L de la suspension préparée à partir des souches sélectionnées. Les microplaques ont été ensuite incubées à 37 C°. Après 48 h d'incubation, le surplus contenant le milieu de culture et les cellules bactérienne non adhérentes ont été retirées par pipetage.

Les CMIBs (Concentrations Minimales Inhibitrices des biofilms) ont été déterminées pour chaque souche fortement formatrice du biofilm. Pour tester l'effet antibiofilm des nanoparticules d'argent biosynthétisées, différents temps de contacts (15min, 30min et 60min)

ont été testés. Dans cette expérience 0.05 mg des AgNPs sèches sont dilués dans 2 mL de l'eau distillée stérile.

Afin de réaliser des dilutions  $\frac{1}{2}$ , un volume de 50 $\mu$ L d'eau distillée stérile est inoculé dans chaque puits des 3 lignes B, D et F de la microplaque pour des temps de contact de 60min, 30min et 15min respectivement, sauf le premier puit, ensuite 100 $\mu$ L de la solution mère d'AgNPs est déposé dans le premier puits des 3 lignes. A partir de ce puits un volume de 50 $\mu$ L a été versé dans le deuxième puits. Cette opération est répétée jusqu'au le puits 12. Ensuite incubé à une température ambiante.

Après incubation, le contenu est versé, rincé, séché et les biofilms formés sur les parois des puits de la microplaque ont été colorés avec 100 $\mu$ L du Cristal de Violet (CV) 0.5%, pendant 15min et puis rincés avec de l'eau distillée stérile et enfin rajouter 100 $\mu$ L d'éthanol pendant 10min (O'Toole, 2010). Les CMIBs sont déterminées par le Lecteur ELISA.



**Figure 11** : Schéma de préparation de microplaque pour la réalisation du test d'activité antibiofilm





# **Résultats et discussion**

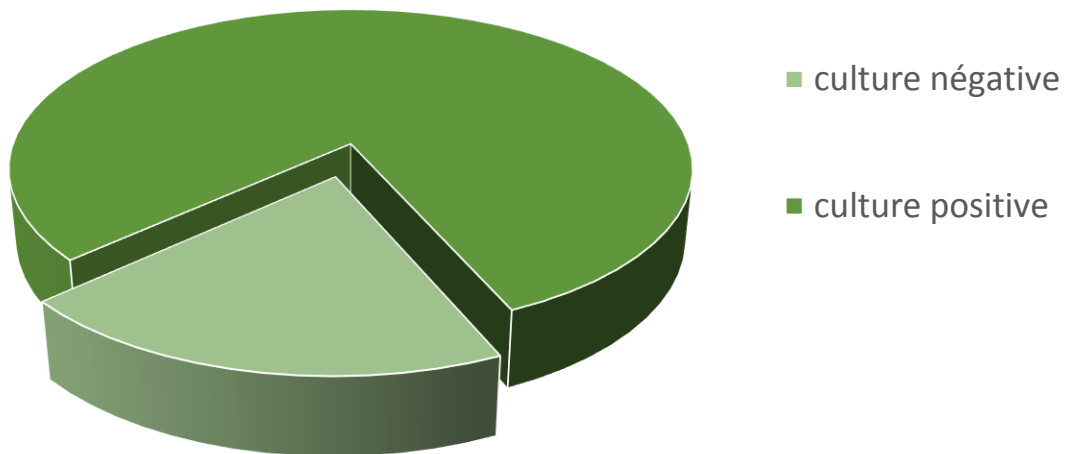
### 1. Prélèvements

Ce travail de recherche s'est étendu sur une durée de trois mois. Entre 14 février 2024 au 14 mars 2024, 25 prélèvements ont été analysés, soit 22 sondes urinaires, 3 cathéter veineux périphériques, isolés à partir de 24 patients hospitalisés dans six services : service de maternité, service d'infectiologie, service d'urgence, service néphrologie, service de traumatologie et le service de chirurgie A, au niveau de CHU de Tlemcen (Algérie) (annexes 1).

### 2. Analyse bactériologique

#### 2.1 Répartition des échantillons analysés

Sur l'ensemble des 25 dispositifs médicaux récoltés, 20 (80%) prélèvements étaient contaminés et 5 (20%) ont donné une culture négative (Figure 12).



**Figure 12** : Répartition des prélèvements récoltés de différents dispositifs médicaux

Les dispositifs médicaux (DM) sont largement utilisés en milieu hospitalier, principalement chez les patients gravement malades (Amy et al., 2020). Ils jouent un rôle précieux dans les soins de santé, mais en même temps, ils présentent également un risque élevé d'infection associée aux soins (Dali-Ali et al., 2019). Dans cette étude, (80%) (20/25) des cultures étaient positives. La majorité des DM examinés constituent des véritables réservoirs des bactéries. Dans une étude réalisée en Grèce, les auteurs avaient rapporté que 99% des DM évalués avaient présenté une culture positive (Poetter et al., 2014).

## 2.2 Répartition des bactéries isolées

Après encensement de chaque culture positif sur le milieu Chapman dans l'optique d'isoler les bactéries à Gram positif, 17 souches responsables des infections liées aux dispositifs médicaux ont été isolées. La prédominance de l'espèce *Staphylococcus aureus* a été notée parmi les isolats avec un pourcentage de (47 %), suivi par *Micrococcus spp.* (29%) et *Staphylococcus epidermidis* (24%) (figure 13).

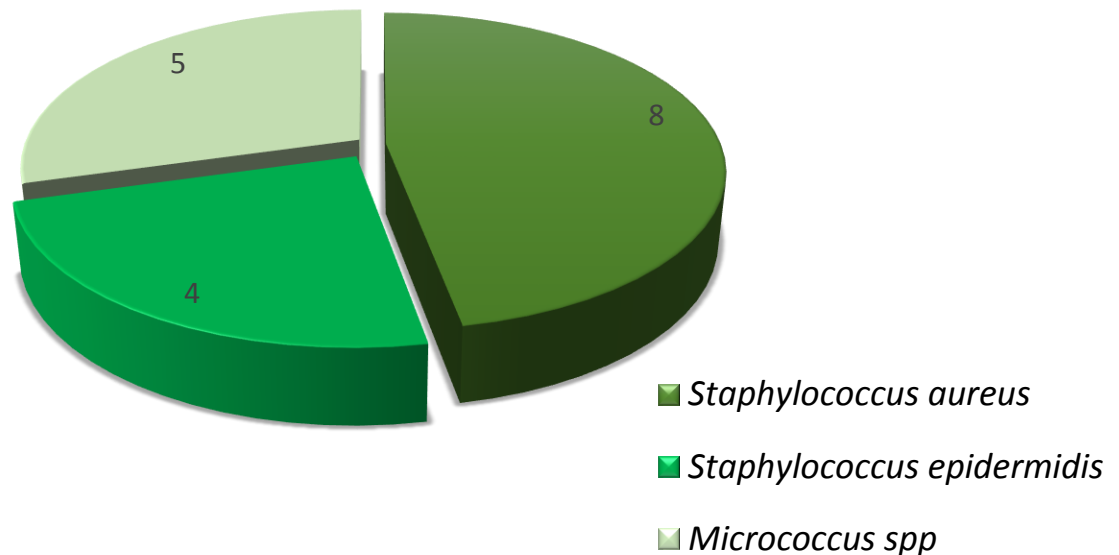


Figure 13 : Répartition des bactéries isolées.

La contamination bactérienne des DM représente un problème réel, dans l'étude de Beye et al., (2024) les *Staphylococcus* à coagulase négative, *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus spp.* étaient les bactéries retrouvées en majorité sur le DM. Certains auteurs avaient rapporté que *Staphylococcus aureus* est l'une des espèces de bactéries les plus fréquemment isolées des dispositifs médicaux (Yacouba et al., 2022). Elles possèdent la capacité de s'attacher à des surfaces abiotiques, impliquées dans une matrice polymérique extracellulaire complexe (Kara Terki et al., 2020).

## 3. Caractères bactériologiques des souches

Les méthodes microbiologiques standards pour l'identification des souches ont été la croissance sur milieu gélosé de Chapman, la coloration de Gram, et l'identification biochimique par galerie API20STAPH et test coagulase.

### 3.1 Aspect macroscopique

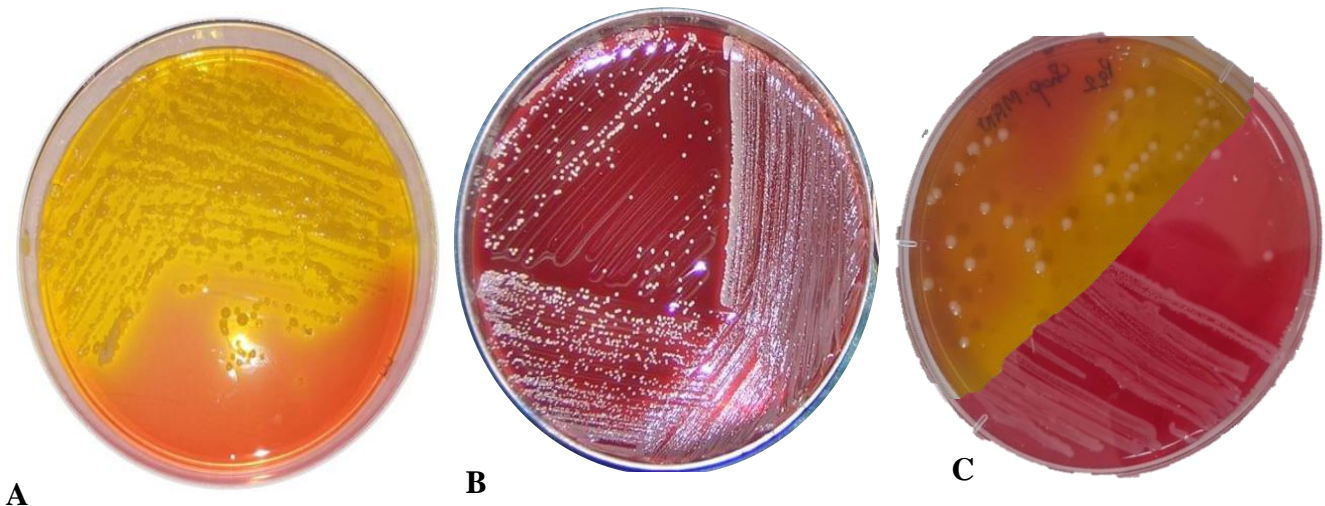
- Les staphylocoques présentent les caractères généraux suivants :

Après 24-48 heures à 37°C, elles forment des colonies d'aspect crémeux, circulaires à bords réguliers, brillantes à surface lisse, opaques, légèrement bombées ou aplaties. La pigmentation des colonies varie du blanc au jaune sur gélose Chapman. Deux morphotypes ont été observé (Figure 14).

**Morphotype 1 (A) :** colonies abondantes, pigmentées, entourées d'une auréole jaune (fermentation du mannitol et acidification du milieu).

**Morphotype 2 (B) :** colonies petites à moyennes, rondes et convexes, blanches à crème, lisses et brillantes.

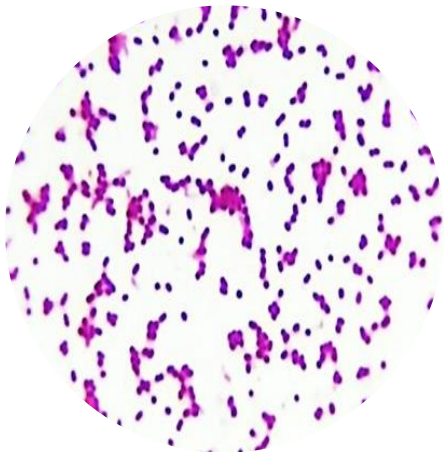
- Concernant le groupe des *Micrococcus* isolés (C), Après 24 à 48 heures à 37°C, on a observé des colonies de tailles rondes, brillantes, opaques, produisent des pigments caroténoïdes jaunes ou roses lorsqu'elles poussent en milieu contenant du mannitol (gélose Chapman).



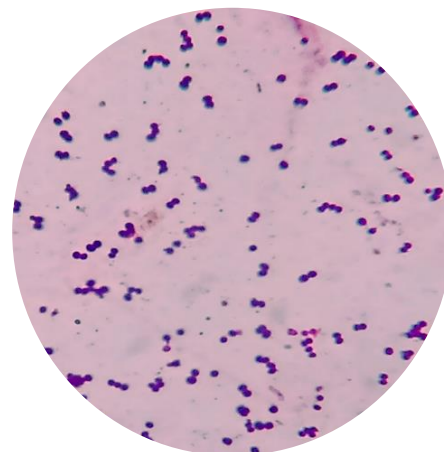
**Figure 14 :** Aspect de *Staphylococcus aureus* (A) et *Staphylococcus epidermidis* (B) *Micrococcus* spp (C) sur gélose Chapman.

### 3.2 Aspect microscopique

Les souches isolées et identifiées sont des cocci à Gram positif (Figure 15 et 16), toujours immobile et groupés en paires pour les *Micrococcus* et en grappe de raisin pour les staphylocoques.



**Figure 16** : Observation microscopique  
×100 des Staphylocoques

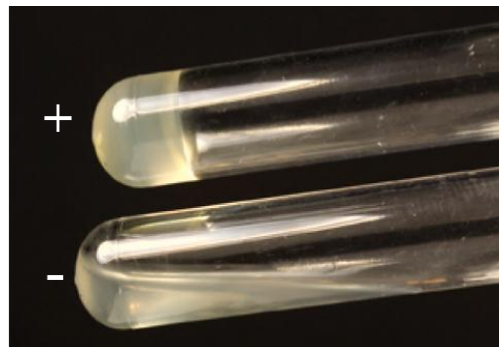


**Figure 15** : Observation microscopique  
×100 de *Micrococcus* spp.

### 3.3 Caractères biochimiques

#### 3.3.1 Test coagulase

La production de la coagulase libre par *Staphylococcus aureus* se traduit par la formation de caillot de coagulation (figure 17). Les 8 souches isolées révèlent la capacité de produire l'enzyme coagulase.



**Figure 17** Coagulation positive de plasma par *S. aureus*.

### 3.3.2 Identifications biochimiques par le profil numérique

L'identification biochimique par le système API Staph a permis de caractériser et de confirmer la souche de *S. aureus* avec le biotype 6736173, la souche *Staphylococcus epidermidis* avec le biotype 6706113 et la souche *Micrococcus* spp. Avec biotype (Figure 18) (annexe 2 ; annexe 3 et annexe 4)



**Figure 18** : Identification biochimique des souches isolées par galerie API STAPH

Suhaib et al., (2021) ont montré que *Staphylococcus epidermidis* est capable de se développer sur la surface des dispositifs médicaux.

Plusieurs travaux antérieurs ont confirmé la contamination des DM par *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* (D'Amato et al., 2023).

La recherche de *Micrococcus* spp. sur les implants médicaux a été confirmée par plusieurs travaux , qui ont montré que cette bactérie Gram positive est considérée comme un pathogène opportuniste en milieu hospitalier responsable d'infection sur les dispositifs médicaux [(Noguchi et al., 2020) ; (Mandviya et al., 2023)].

## 4. Evaluation de la formation de biofilm in vitro par la méthode TCP

Les 17 souches isolées lors de cette étude ont été testées pour leurs capacité à former des biofilms par la technique de microplaque 96 puits (figure 19) et (figure 20) :

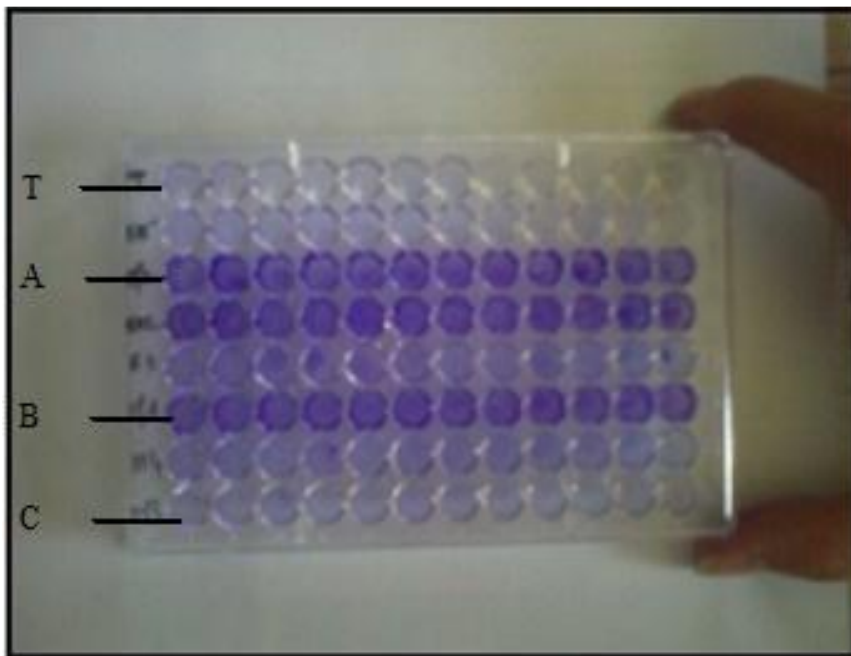
## Résultats et Discussion

Sur l'ensemble des souches de *S. aureus* isolées une souche était fortement formatrice de biofilm avec une DO de 0,2216, quatre autres souches ont été modérément formatrices du biofilm avec une D.O comprise entre 0,1108 et 0,2216 et trois souches étaient considérées comme faiblement formatrices de biofilm (D.O < 0,1108),

Quant aux souches de *Staphylococcus epidermidis* les DO ont été comprises entre 0,06781 et 0,10886, tous les isolats ont été considérées comme faiblement formatrices de biofilm.

Les cinq souches de *Micrococcus* spp ont donné des D.O allant de 0,0688 à 0,919, avec deux souches faiblement formatrices, deux modérément formatrices et une fortement formatrice de biofilm.

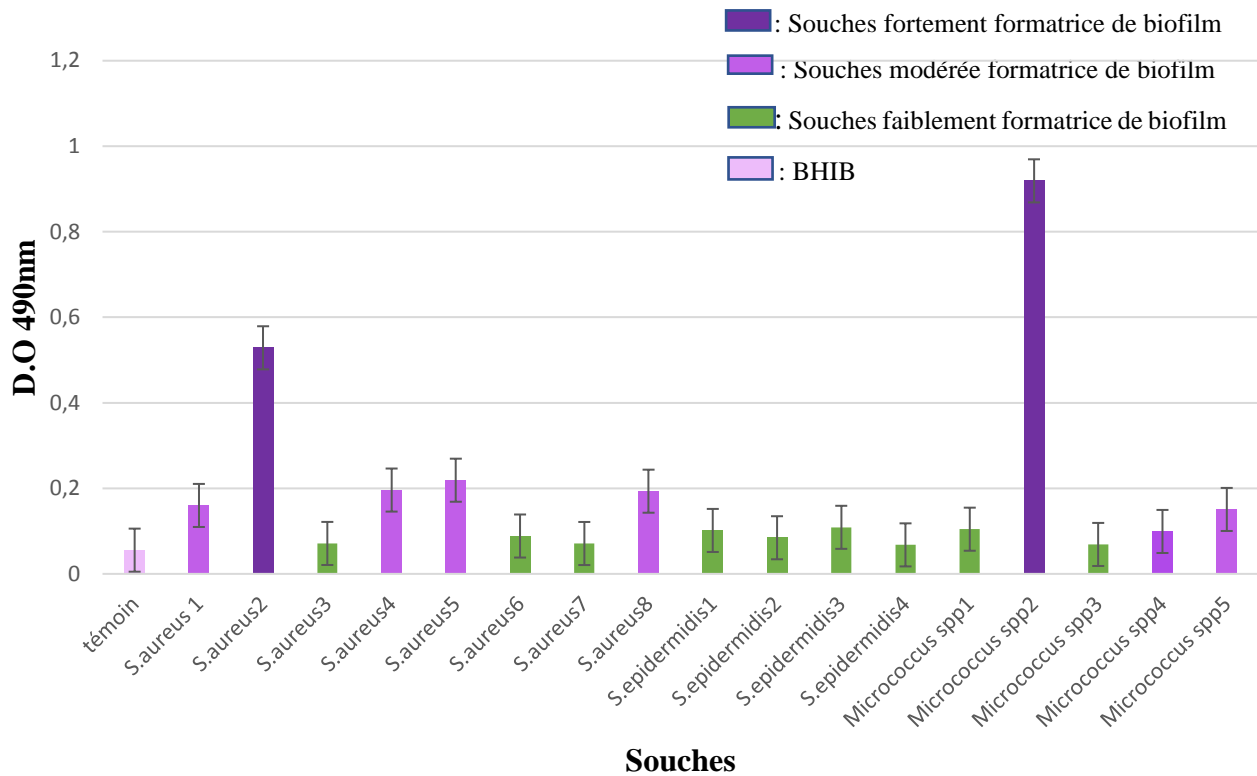
Ces résultats démontrent une grande diversité dans la capacité de formation de biofilm parmi les différentes souches isolées.



**T** : Témoin  
**A** : formatrice du biofilm,  
**B** : biofilm modéré  
**C** : Biofilm négatif

**Figure 19** : Evaluation de la formation de biofilm par la méthode TCP.





**Figure 20 :** Histogramme représentatif de la formation du biofilm par la technique TCP des souches isolées

Wu et al. (2024), ont démontré une forte capacité de *S. aureus* à former des biofilms, en particulier sur les dispositifs médicaux. De même dans les travaux de recherche de Peng et al. (2023), il a été révélé que *S. aureus* est l'un des agents pathogènes les plus courants associés aux infections et à l'adhésion aux surfaces biotiques et abiotiques.

*Staphylococcus aureus* est considéré comme un pathogène opportunistes qui peut former des biofilms sur les dispositifs, entraînant des infections difficiles à traiter (Thouin et al., 2020).

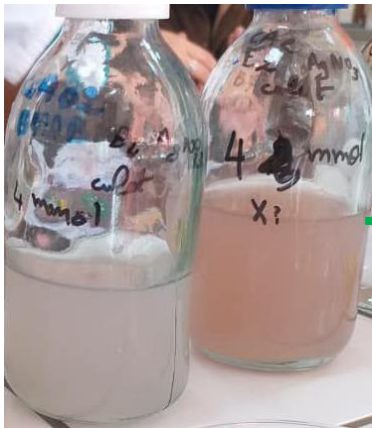
La capacité des *Micrococcus* à former des biofilms sur les dispositifs médicaux est bien documentée dans la littérature scientifique. Dans une étude menée par Oudiz et al. (2004), il a été observé que les infections liées aux cathéters chez les patients atteints d'hypertension artérielle pulmonaire (PAH) traités par époprosténol (EPO) incluaient fréquemment des infections causées par les *Micrococcus* spp., démontrant leur capacité à coloniser et infecter les dispositifs médicaux implantés à long terme. De plus, une autre étude a mis en évidence la contamination des téléphones mobiles par des *Micrococcus* spp., soulignant l'importance des pratiques d'hygiène pour réduire la présence de ces bactéries, ce qui indique également leur potentiel à former des biofilms sur différentes surfaces, y compris les dispositifs médicaux (Correa et al., 2023).

5. La biosynthèse des nanoparticules à partir de biomasse des souches (E2, E4)

La biosynthèse des nanoparticules d'argent a été vérifiée après 5 jours d'incubation de la souche E2 et E4 à 30°C, les résultats sont indiqués dans la Figure 21.

**A**

Avant incubation



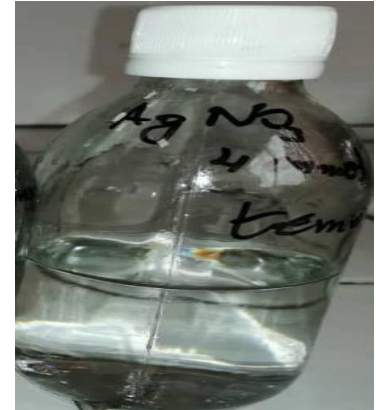
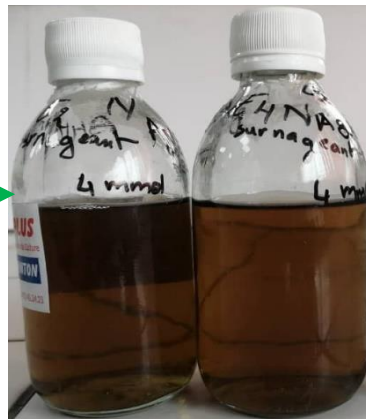
Après incubation de 5 jrs

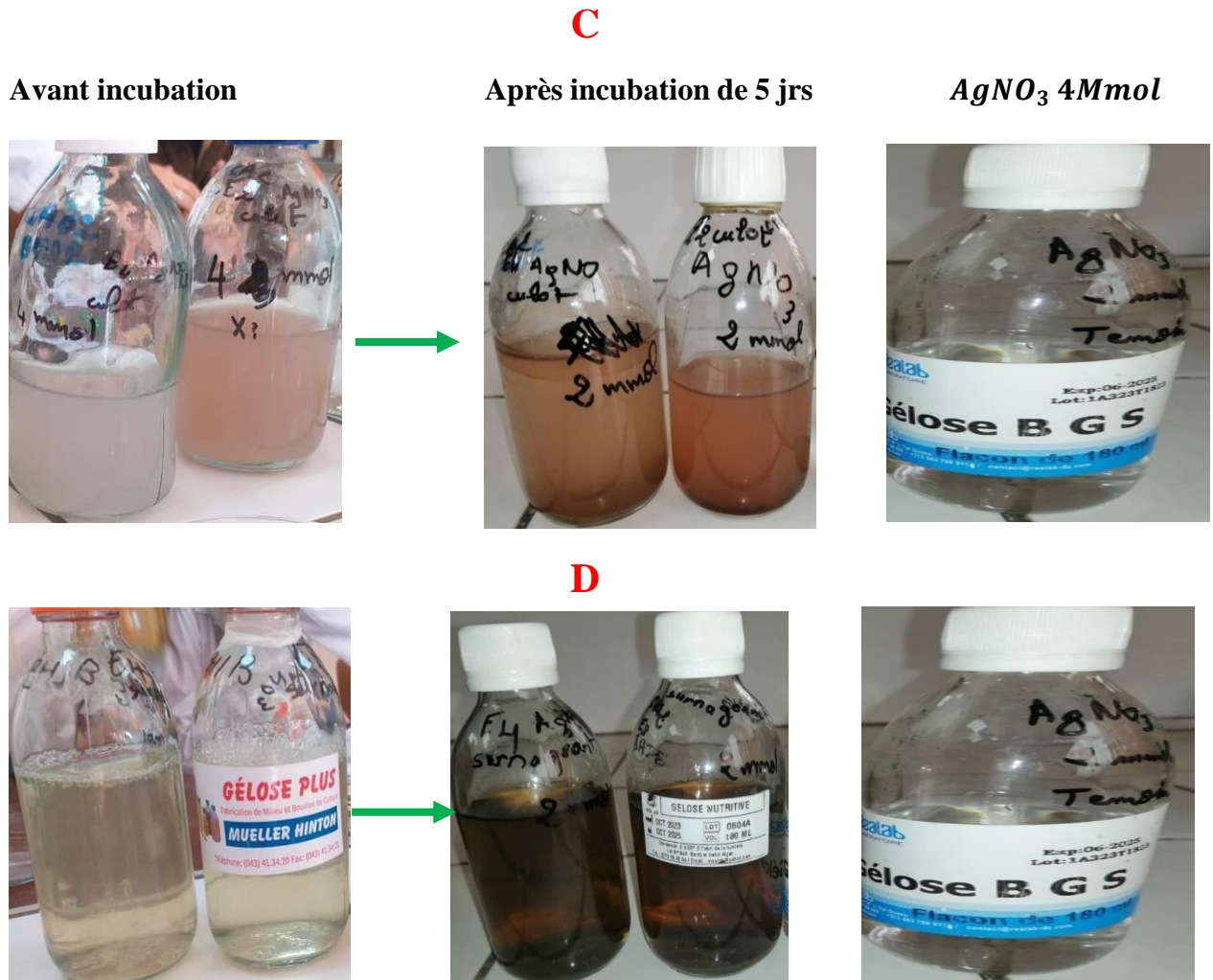


*AgNO<sub>3</sub> 2mmol*



**B**





**Figure 21** : Les résultats de la biosynthèse des AgNPs par les souches E2 et E4.

- A)** AgNPs de la biomasse (2mmol). **B)** AgNPs du surnageant (2mmol). **C)** AgNPs de la biomasse (4mmol). **D)** AgNPs du surnageant (4mmol).

D'après les résultats de la biosynthèse des nanoparticules d'argent par la biomasse des souches E2 et E4 (Figure 21, A et C), on remarque un changement de la couleur de la biomasse du gris au brun foncé (Figure 21, A et C), quand le nitrate d'argent ( $AgNO_3$ ) est utilisé comme précurseur, ce changement de couleurs peut être attribué à la biosynthèse intracellulaire des nanoparticules d'argent (AgNPs) par la biomasse des souches, suite à la réduction des ions d'argent de l'état ionique ( $Ag^+$ ) vers l'état métallique ( $Ag^0$ ), par le baies de différents enzymes intracellulaires comme le nitrate réductase (Figure 22), selon les réactions ci-après [(Hasan, 2015); (Aygün et al., 2020) ; (Van Tan et al., 2021) ; (John et al., 2022)].



## 6. La biosynthèse des nanoparticules à partir de surnageant des souches (E2, E4)

Les résultats de la biosynthèse des nanoparticules d'argent par le surnageant des souches E2 et E4, préparé à partir de la culture de ce dernier dans le milieu BHIB après 5 jours d'incubation, indiquent un changement de la couleur du jaune pâle au brun foncé (Figure 21, C et D). Cela peut être expliqué par la présence dans le surnageant de métabolites secondaires bioactives sécrétés par les souches, doté d'un grand pouvoir réducteur, capable de réduire les ions d'argent de l'état ionique ( $Ag^+$ ) vers l'état métallique  $Ag^0$  (Figure 22), donc il s'agit d'une biosynthèse extracellulaire (Hieu et al., 2022).

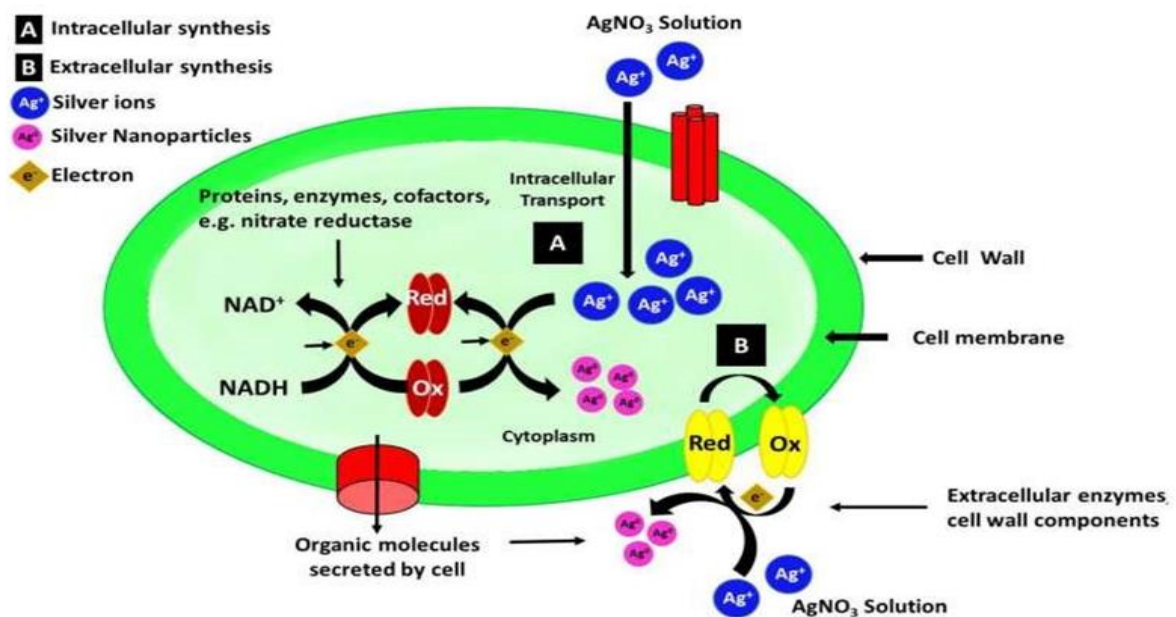


Figure 22 : Mécanisme de synthèse extracellulaire et intracellulaire des AgNPs par les actinomycètes (Kumari et al., 2019).

## 7. Évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de l'AgNPs biosynthétisé a été testée contre deux types de bactéries fortement formatrices du biofilm : *Staphylococcus aureus*2, *Micrococcus* spp.2, la sensibilité microbienne des nanoparticules dépend du type de micro-organisme et de la concentration de AgNPs.

Les résultats de l'activité antibactérienne évaluée par la technique de microplaque sont affichés sur le tableau 2.

Les concentrations de AgNPs inhibent progressivement la croissance des souches sélectionnées.

Tableau 2 : Résultats des activités antibactériennes d'AgNPs.

Espèce bactérienne	Volume d'AgNPs (µL)	La concentration minimale inhibitrice (CMI µg /ml)	Résultats
<i>S. aureus</i> 2	50MI	14,64 ou 58,59 µg /mL	<p>Concentration des AgNPs (µg/mL)</p> <p>Nombres de puits</p>
<i>Micrococcus spp.</i> 2	50 MI	14,64 µg /mL	<p>Concentration d'AgNPs (µg/mL)</p> <p>Nombre de puits</p>

Selon ces résultats, les souches bactériennes sont sensibles aux AgNPs, en particulier *Staphylococcus aureus* à 50µL de AgNPs, ce dernier a montré une bonne activité antibactérienne avec des concentrations minimales inhibitrices (CMI) comprises entre 14,64 et 58,59 µg /mL. Alors que dans le cas de *Micrococcus spp*, malgré l'utilisation du même volume de AgNPs, la CMI a été égal à 14,64 µg /mL ce qui montre que les AgNPs biosynthétisés ont un grand pouvoir antimicrobien contre cette souche.

Selon les résultats de l'activité antibactérienne, les souches *Staphylococcus aureus* et *Micrococcus spp* sont sensibles aux nanoparticules d'argent (AgNP). Des travaux récents suggèrent que parmi toutes les nanoparticules, les AgNP ont une activité antibactérienne plus efficace contre un certain nombre de bactéries pathogènes (Dos Santos et al., 2024). D'autres

études ont montré qu'une concentration très basse des nanoparticules d'argent (AgNP) est suffisante pour inhiber la croissance bactérienne (Prakash et al., 2011).

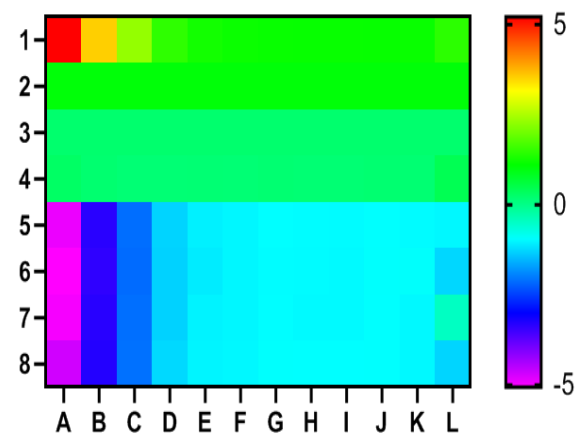
Les nanoparticules d'argent peuvent perturber la perméabilité et les fonctions respiratoires de la membrane plasmique et interférer avec le système de transport d'électrons des microorganismes. De plus, les bio-nanoparticules d'argent peuvent pénétrer à travers les membranes cellulaires des cellules microbiennes (Hasan, 2015)

### 8. Activité antibiofilm

L'activité anti-biofilm des nanoparticules biosynthétisé par la souche E2, a été déterminé par estimation du taux d'éradication de biofilm de 48 h formé par les souches les plus formatrices du biofilm : *S. aureus*2 et *Micococcus* spp.2, les résultats obtenus à partir du lecteur ELISA, sont représentés dans le tableau 3 et 4 et étudié selon l'analyse par "heat map".

**Tableau 3 :** La CMIB des nanoparticules d'argents vis-à-vis au *S.aureus* 2 selon différents temps d'exposition.

	CMIB g/mL	CMIB mg/mL	CMIB µg/MI
15min	0,00004885	0,04885	48,85
30min	0,00004885	0,04885	48,85
60min	0,0000244	0,0244	24,4



**Figure 23 :** Analyse par heat map de la microplaque de *S.aureus* 2

Pour la souche *S.aureus*2, et à travers l'analyse par "heat map" (figure 23), nous pouvons dire que la concentration minimale éradicatrice de biofilm est de seulement 48,85 µg/mL. Donc un traitement à une concentration de de 48,85µg/mL pendant 15 minutes est suffisant pour éradiquer le biofilm former par cette souche. En outre, l'interprétation des résultats des autres temps d'exposition (30 et 60 minutes), est très satisfaisante en terme d'efficacité, de tel sorte

qu'un traitement à une concentration de de 24,4  $\mu\text{g/mL}$  seulement pendant 60 minutes est largement suffisant pour éradiquer le biofilm former par cette souche (tableau 3).

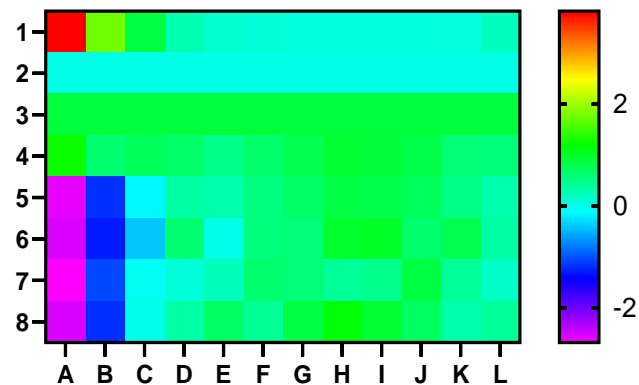
Les résultats trouvés par l'analyse 'heat map' montrent l'efficacité des AgNPs pour éradiquer les biofilms à différents temps d'exposition. Ces résultats sont confirmés par d'autres travaux qui montrent que la CMIB des souches formatrices du biofilm à différents temps de contact permet d'observer clairement l'efficacité des AgNPs et de déterminer précisément la concentration d'AgNPs et le temps exact pour inhiber le biofilm (Ji et al., 2020).

L'étude de Ramasamy et Lee (2016) montre que les nanoparticules d'argent ont attiré une attention considérable en raison de leurs activités antimicrobiennes supérieures. Il a également été démontré que les AgNPs perturbent les matrices des biofilms en perturbant les forces intermoléculaires-

D'autres études ont prouvé que les souches de *S. aureus* fortement formatrices des biofilms sont inhibées par les AgNPs, qui possèdent une activité antimicrobienne à des concentrations sous- inhibitrices, réduisant le biofilm de *S. aureus* [(Kumar et al., 2023) ; (da Silva et al., 2024)]. De plus, les AgNPs biosynthétiques affichent une activité perturbatrice des biofilms et sont capables de déstabiliser la structure de la matrice et de la paroi cellulaire (Li et al., 2021).

**Tableau 4 :** La CMIB des nanoparticules d'argents vis-à-vis au *Micococcus* spp.2 selon différents temps d'exposition.

	CMIB g/mL	CMIB mg/mL	CMIB $\mu\text{g/mL}$
15min	0,000781	0,78125	781,25
30min	/	/	/
60min	/	/	/



**Figure 24 :** Analyse par heat map de la microplaque de *Micococcus* spp.2.

Pour la souche *Micococcus* spp.2, et à travers l'analyse par "heat map" (figure 24), nous pouvons dire que la concentration minimale éradicatrice de biofilm est de 781.25  $\mu\text{g/mL}$ . Un traitement à une concentration de de 781.25  $\mu\text{g/mL}$  pendant 15 minutes est suffisant pour éradiquer le biofilm former par cette souche (tableau 4).

Les résultats de notre étude sont soutenus par plusieurs travaux antérieurs. Mohanty et al. (2012) ont montré que les AgNPs stabilisées par l'amidon ont une efficacité antibiofilm notable contre diverses bactéries, y compris *Micrococcus* spp., en perturbant l'adhésion initiale des cellules et en endommageant leur structure cellulaire. De même, Bajpai et al. (2014) ont démontré que les tissus en coton chargés de nanoparticules d'argent présentent une activité antibactérienne significative, suggérant une inhibition potentielle des biofilms.

Les recherches de Ji et al. (2020) ont révélé que la taille des AgNPs influence leur activité antimicrobienne, les plus petites nanoparticules ayant une meilleure interaction avec les cellules bactériennes, augmentant ainsi leur efficacité à faible concentration et sur de courtes durées. Prasher et al. (2018) ont détaillé les mécanismes antimicrobiens des AgNPs, incluant l'interaction avec les parois cellulaires bactériennes, et la perturbation des processus cellulaires tels que la réplication de l'ADN et la synthèse des protéines, corroborant nos observations sur les effets rapides et à faible concentration des AgNPs.

Des études récentes (More et al., 2023) confirment également que les AgNPs inhibent la formation de biofilms en neutralisant les substances adhésives et en perturbant la membrane cellulaire, ce qui correspond à nos résultats sur *Micrococcus* spp.

Enfin, Rhim et al. (2013) et Jayaprakash et al. (2017) ont aussi observé une inhibition significative des biofilms avec des nanoparticules d'argent, soulignant leur potentiel en tant qu'agents antibiofilm efficaces.

Ces références confirment collectivement l'efficacité des AgNPs à inhiber la formation de biofilm de *Micrococcus* spp. à des concentrations faibles et après de courtes durées de contact. Par ailleurs, l'interprétation des résultats des autres temps d'exposition (30 et 60 minutes), n'est pas possible (tableau 4), soit à cause des erreurs liées à la manipulation, soit à d'autres phénomènes liés à la nature des nanoparticules comme le phénomène "biphasic effect".

Dans cette étude, l'inhibition des biofilms de *Micrococcus* spp. par des nanoparticules d'argent biosynthétisées a révélé des réponses biphasique similaires à celles décrites par Wei et al. (2024) et Chang et al. (2024). Nos résultats montrent des variations d'inhibition selon les concentrations et les temps d'exposition, suggérant une réponse complexe où des concentrations plus élevées provoquent initialement une stimulation suivie d'une inhibition. Ce phénomène, en accord avec les effets catalytiques et cellulaires biphasique rapportés dans la littérature, souligne l'importance des interactions synergiques et des mécanismes de défense adaptatifs des bactéries (Oudiz et al., 2004).



# **Conclusion**

L'inhibition de la formation de biofilm des bactéries à gram-positifs d'origine hospitalière par des molécules bioactives constitue une avancée prometteuse dans la prévention et le traitement des infections nosocomiales liées aux dispositifs médicaux. Ce mémoire s'est concentré sur la caractérisation des biofilms bactériens, l'identification des défis qu'ils posent en milieu hospitalier, et l'exploration de nouvelles approches pour leur inhibition, avec un accent particulier sur l'utilisation des nanoparticules. Notre étude a révélé plusieurs résultats significatifs. Les biofilms, formés principalement par des bactéries telles que *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*, jouent un rôle clé dans les infections associées aux dispositifs médicaux. Les dispositifs médicaux, bien qu'indispensables dans les soins hospitaliers, présentent un risque élevé de colonisation bactérienne et de formation de biofilms, les cathéters urinaires et veineux étant particulièrement concernés.

Une contribution majeure de ce mémoire est la démonstration de l'efficacité des nanoparticules d'argent (AgNPs) pour inhiber la formation de biofilms. Les AgNPs ont montré une activité antibiofilm significative, réduisant la viabilité des bactéries et empêchant la formation et la maturation des biofilms. Des tests rigoureux d'activité antimicrobienne et antibiofilm ont confirmé l'efficacité des AgNPs, offrant une preuve de concept robuste pour l'utilisation de ces nanoparticules dans des applications cliniques.

Les résultats obtenus ouvrent la voie à de nombreuses applications pratiques dans le domaine médical. Les AgNPs peuvent être intégrées dans les dispositifs médicaux pour prévenir la colonisation bactérienne dès le début de leur utilisation, réduisant ainsi l'incidence des infections nosocomiales. En inhibant la formation de biofilms, ces nanoparticules contribuent à la sécurité et au bien-être des patients, réduisant les complications et les séjours prolongés en milieu hospitalier.

Les recherches futures pourraient se concentrer sur le développement de dispositifs médicaux recouverts de nanoparticules antibiofilms, offrant une solution durable et efficace contre les infections. Une autre perspective intéressante serait de tester l'activité d'autres types de nanoparticules, telles que les nanoparticules d'oxyde de zinc (ZnO) ou de cuivre (CuO), pour évaluer leur potentiel antibiofilm et antimicrobien. Par ailleurs, l'utilisation des nanoparticules comme agents antiseptiques dans les milieux hospitaliers pourrait offrir une méthode efficace pour la désinfection des surfaces et des instruments médicaux, réduisant ainsi la transmission des infections. Enfin, la biosynthèse des nanoparticules représente une nouvelle procédure prometteuse pour la fabrication à grande échelle de nanoparticules, offrant une méthode plus écologique et économique par rapport aux autres techniques.

En conclusion, ce mémoire démontre le potentiel des nanoparticules d'argent comme agents antibiofilms efficaces, marquant une avancée significative dans la lutte contre les infections associées au soins. Les résultats prometteurs obtenus lors de cette étude suggèrent que l'intégration des AgNPs dans les dispositifs médicaux pourrait révolutionner les pratiques de prévention des infections, améliorant ainsi

## **Conclusion**

considérablement la qualité des soins prodigués aux patients. La poursuite des recherches dans ce domaine est essentielle pour affiner ces approches et les adapter aux besoins cliniques réels.

## Références bibliographiques

- Adams, J., Bartram, Jamie., Chartier, Y., & World Health Organization. (2010). *Normes essentielles en matière de santé environnementale dans les structures de soins*. World Health Organization.
- Ahmed, S., Annu, Ikram, S., & Yudha, S. (2016). Biosynthesis of gold nanoparticles: A green approach. In *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* (Vol. 161, pp. 141–153). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2016.04.034>
- Alsamhary, K. I. (2020). Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles by *Bacillus subtilis* and their antibacterial activity. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(8), 2185–2191. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.04.026>
- Amy, T., Sce, A., & ANGO Privat, D. (2020). Écologie microbienne des surfaces et dispositifs médicaux au CHU de Treichville Article Original Écologie Microbienne des Surfaces et Dispositifs Médicaux au Service de Réanimation du Centre Hospitalier et Universitaire (CHU) de Treichville. In *Health Sci. Dis* (Vol. 21, Issue 1). [www.hsd-fmsb.org](http://www.hsd-fmsb.org)
- Anju, V. T., Paramanatham, P., Siddhardha, B., Lal, S. B. S., Sharan, A., Alyousef, A. A., Arshad, M., & Syed, A. (2019). Malachite green-conjugated multi-walled carbon nanotubes potentiate antimicrobial photodynamic inactivation of planktonic cells and biofilms of *pseudomonas aeruginosa* and *staphylococcus aureus*. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 3861–3874. <https://doi.org/10.2147/IJN.S202734>
- Asmare, Z., Erkihun, M., Abebe, W., Ashagre, A., Misganaw, T., & Feleke, S. F. (2024). Catheter-associated urinary tract infections in Africa: Systematic review and meta-analysis. In *Infection, Disease and Health*. Australasian College for Infection Prevention and Control. <https://doi.org/10.1016/j.idh.2024.02.005>
- Aygün, A., Özdemir, S., Gülcan, M., Cellat, K., & Şen, F. (2020). Synthesis and characterization of Reishi mushroom-mediated green synthesis of silver nanoparticles for the biochemical applications. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 178. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.112970>

- Azeredo, J., Azevedo, N. F., Briandet, R., Cerca, N., Coenye, T., Costa, A. R., Desvaux, M., Di Bonaventura, G., Hébraud, M., Jaglic, Z., Kačániová, M., Knøchel, S., Lourenço, A., Mergulhão, F., Meyer, R. L., Nychas, G., Simões, M., Tresse, O., & Sternberg, C. (2017). Critical review on biofilm methods. In *Critical Reviews in Microbiology* (Vol. 43, Issue 3, pp. 313–351). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2016.1208146>
- Bajpai, S. K., Bajpai, M., Sharma, L., & Yallapu, M. M. (2014). Silver nanoparticles loaded thermosensitive cotton fabric for antibacterial application. *Journal of Industrial Textiles*, *44*(1), 58–69. <https://doi.org/10.1177/1528083712473492>
- Bergmann, M., Michaud, G., Visini, R., Jin, X., Gillon, E., Stocker, A., Imberty, A., Darbre, T., & Reymond, J. L. (2015). Multivalency effects on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm inhibition and dispersal by glycopeptide dendrimers targeting lectin LecA. *Organic and Biomolecular Chemistry*, *14*(1), 138–148. <https://doi.org/10.1039/c5ob01682g>
- Beye, S., Maiga, A., Cissoko, Y., Guindo, I., Dicko, O. A., Maiga, M., Abeghe Angoué, T. A., Diakite, M., Diallo, B., Dao, S., Coulibaly, Y., & Fofana, D. B. (2024). Prévalence des infections nosocomiales au Centre Hospitalier Universitaire du Point G de Bamako, Mali. *Rev Mali Infect Microbiol*, *19*(1), 45–49.
- Blackman, L. D., Qu, Y., Cass, P., & Locock, K. E. S. (2021). Approaches for the inhibition and elimination of microbial biofilms using macromolecular agents. In *Chemical Society Reviews* (Vol. 50, Issue 3, pp. 1587–1616). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/d0cs00986e>
- Bose, D., & Chatterjee, S. (2016). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using guava (*Psidium guajava*) leaf extract and its antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Applied Nanoscience (Switzerland)*, *6*(6), 895–901. <https://doi.org/10.1007/s13204-015-0496-5>
- Chang, C. Y., Aviña, A. E., Chang, C. J., Lu, L. S., Chong, Y. Y., Ho, T. Y., & Yang, T. Sen. (2024). Exploring the biphasic dose-response effects of photobiomodulation on the viability, migration, and extracellular vesicle secretion of human adipose

mesenchymal stem cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 256. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2024.112940>

Chang, C., Yu, X., Guo, W., Guo, C., Guo, X., Li, Q., & Zhu, Y. (2022). Bacteriophage-Mediated Control of Biofilm: A Promising New Dawn for the Future. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 13). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.825828>

Chopra, H., Bibi, S., Singh, I., Hasan, M. M., Khan, M. S., Yousafi, Q., Baig, A. A., Rahman, M. M., Islam, F., Emran, T. Bin, & Cavalu, S. (2022). Green Metallic Nanoparticles: Biosynthesis to Applications. In *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 10). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.874742>

Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., Beachey, E. H., Christensen, [ G D, Simpson, W. A., Beachey, E. H., Bisno, A. L., & Barrett, F. F. (1985). \* and the Departments of Medicine,<sup>2</sup> Microbiology,<sup>3</sup> and Pediatrics<sup>4</sup> of the University of Tennessee Center for the Health Sciences. In *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY* (Vol. 38163, Issue 649).

Correa, G. H., Formigoni, C. de S., Sasagawa, S. M., Arnoni, M. V., Mathias, L. A. da S. T., & Mimica, M. J. (2023). Mobile phones of anesthesiologists as reservoirs of nosocomial bacteria in a quaternary teaching hospital: an observational study. *Brazilian Journal of Anesthesiology (English Edition)*, 73(3), 276–282. <https://doi.org/10.1016/j.bjane.2021.08.013>

Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. In *Science* (Vol. 284, Issue 5418, pp. 1318–1322). <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318>

Dali-Ali, A., Agag, F., Beldjilali, H., Tidjani, R., Boukhari, H., Ouhadj, S., Bettayeb, A., Zina, M., & Dali-Yahi, R. (2019). *Profil épidémiologique des infections associées aux dispositifs médicaux invasifs dans un service de réanimation algérien*.

D'Amato, T. R. L., Almeida Carreiro, M., Melo, D. A., Oliveira, M. S., Machado, F. R., & Silva, C. M. S. D. (2023). Investigação de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina em estetoscópios Investigation of methicillin-resistant *Staphylococcus*

aureus in hospital-use stethoscopes de uso hospitalar Investigación de Staphylococcus aureus resistente a la meticilina en estetoscopios de uso hospitalario. *Revista Pró-UniverSUS*, 14(1), 36–42.

da Silva, A. C. F., Roque, S. M., Duarte, M. C. T., Nakazato, G., Durán, N., & Cogo-Müller, K. (2024). Modulation of Staphylococcus aureus Biofilm Formation through Subinhibitory Concentrations of Biogenic Silver Nanoparticles and Simvastatin. *Future Pharmacology*, 4(1), 3–16. <https://doi.org/10.3390/futurepharmacol4010002>

Das, R., Deb, P., Pandey, H., Shyam, P., & Singh, D. (2022). Botanical synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) and its antifungal effect against *Alternaria porri* causing purple blotch of onion: An in vitro and natural epiphytic study. *Journal of Agriculture and Food Research*, 10. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2022.100390>

Dicko, H., Kassogué A, Sa, B., Diallo, As, D., Doumbia D, & Coulibaly, Y. (2022). Article Original Prévalence des infections associées aux soins à Bamako. *Bamako Rev Mali Infect Microbiol*, 7(1), 77–83.

Dong, W., Green, J., Korza, G., & Setlow, P. (2019). Killing of spores of *Bacillus* species by cetyltrimethylammonium bromide. *Journal of Applied Microbiology*, 126(5), 1391–1401. <https://doi.org/10.1111/jam.14242>

Donlan, R. M. (2001). Special Issue Characteristics of Biofilms on Indwelling Medical Devices. *Emerging Infectious Diseases*, 7(2).

dos Santos, V. C. T., Cusioli, L. F., Nishi, L., Ottoni, C. A., & Bergamasco, R. (2024). Metallic nanoparticles synthesized by marine microorganisms and its application against pathogenic microorganisms: Challenges and opportunities in marine nanotechnology. In *Desalination and Water Treatment* (Vol. 317). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.dwt.2024.100283>

Ealias, A. M., & Saravanakumar, M. P. (2017). A review on the classification, characterisation, synthesis of nanoparticles and their application. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 263(3). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/263/3/032019>

- El-Tarabily, K. A., El-Saadony, M. T., Alagawany, M., Arif, M., Batiha, G. E., Khafaga, A. F., Elwan, H. A. M., Elnesr, S. S., & E. Abd El-Hack, M. (2021). Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. In *Saudi Journal of Biological Sciences* (Vol. 28, Issue 9, pp. 5145–5156). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.05.033>
- Erjaee, H., Rajaian, H., & Nazifi, S. (2017). Synthesis and characterization of novel silver nanoparticles using *Chamaemelum nobile* extract for antibacterial application. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 8(2). <https://doi.org/10.1088/2043-6254/aa690b>
- Fesharaki, P. J., Nazari, P., Shakibaie, M., Rezaie, S., Banoee, ; Maryam, Abdollahi, M., Ahmad, ;, & Shahverdi, R. (2010). BIOSYNTHESIS OF SELENIUM NANOPARTICLES USING KLEBSIELLA PNEUMONIAE AND THEIR RECOVERY BY A SIMPLE STERILIZATION PROCESS. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 461–466.
- Fisher, C. R., Masters, T. L., Johnson, S., Greenwood-Quaintance, K. E., Chia, N., Abdel, M. P., & Patel, R. (2024). Comparative transcriptomic analysis of *Staphylococcus epidermidis* associated with periprosthetic joint infection under in vivo and in vitro conditions. *International Journal of Medical Microbiology*, 315. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2024.151620>
- Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 8, Issue 9, pp. 623–633). <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>
- Francolini, I., & Donelli, G. (2010). Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. In *FEMS Immunology and Medical Microbiology* (Vol. 59, Issue 3, pp. 227–238). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00665.x>
- Habibullah, G., Viktorova, J., & Ruml, T. (2021). Current Strategies for Noble Metal Nanoparticle Synthesis. In *Nanoscale Research Letters* (Vol. 16, Issue 1). Springer. <https://doi.org/10.1186/s11671-021-03480-8>
- Hajishoreh, N. K., Jamalpoor, Z., Rasouli, R., Asl, A. N., Sheervalilou, R., & Akbarzadeh, A. (2023). The recent development of carbon-based nanoparticles as a novel



approach to skin tissue care and management - A review. In *Experimental Cell Research* (Vol. 433, Issue 2). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2023.113821>

Hall-Stoodley, L., Costerton, J. W., & Stoodley, P. (2004). Bacterial biofilms: From the natural environment to infectious diseases. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 2, Issue 2, pp. 95–108). <https://doi.org/10.1038/nrmicro821>

Hasan, S. (2015). A Review on Nanoparticles: Their Synthesis and Types. In *Research Journal of Recent Sciences* (Vol. 4). [www.isca.me](http://www.isca.me)

Hidayat, R., Fadillah, G., Ohira, S.-I., Fajarwati, F. I., Setyorini, D. A., & Saputra, A. (2024). Facile green synthesis of Ag doped TiO<sub>2</sub> nanoparticles using maple leaf for bisphenol-A degradation and its antibacterial properties. *Materials Today Sustainability*, 100752. <https://doi.org/10.1016/j.mtsust.2024.100752>

Hieu, H. N., Trang, D. T. H., Hien, V. T. T., Nghia, N. V., Lam, N. T., & Nguyen, T. M. D. (2022). Microorganism-mediated green synthesis of silver nanoparticles using *Aspergillus niger* and *Bacillus megaterium*. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 17(1), 359–367. <https://doi.org/10.15251/DJNB.2022.171.359>

Hulkoti, N. I., & Taranath, T. C. (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes-A review. In *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* (Vol. 121, pp. 474–483). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.05.027>

Huot, L. (2012). *Evaluation clinique des dispositifs médicaux*. <https://theses.hal.science/tel-00983482>

Jayaprakash, N., Vijaya, J. J., Kaviyarasu, K., Kombaiyah, K., Kennedy, L. J., Ramalingam, R. J., Munusamy, M. A., & Al-Lohedan, H. A. (2017). Green synthesis of Ag nanoparticles using Tamarind fruit extract for the antibacterial studies. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 169, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.03.013>

Ji, H., Zhou, S., Fu, Y., Wang, Y., Mi, J., Lu, T., Wang, X., & Lü, C. (2020). Size-controllable preparation and antibacterial mechanism of thermo-responsive

copolymer-stabilized silver nanoparticles with high antimicrobial activity. *Materials Science and Engineering C*, 110. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.110735>

John, M. S., Nagoth, J. A., Ramasamy, K. P., Mancini, A., Giuli, G., Miceli, C., & Pucciarelli, S. (2022). Synthesis of Bioactive Silver Nanoparticles Using New Bacterial Strains from an Antarctic Consortium. *Marine Drugs*, 20(9). <https://doi.org/10.3390/md20090558>

Kalkidan Mamo, W., Fufa Abunna, K., & Yonas Tolosa, R. (2021). A review on nanotechnology and its application in modern veterinary science. *International Journal of Nanomaterials, Nanotechnology and Nanomedicine*, 026–031. <https://doi.org/10.17352/2455-3492.000041>

Kannan, K. P., Gunasekaran, V., Sreenivasan, P., & Sathishkumar, P. (2024). Recent updates and feasibility of nanodrugs in the prevention and eradication of dental biofilm and its associated pathogens—A review. In *Journal of Dentistry* (Vol. 143). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2024.104888>

Kara Terki, I., Hassaine, H., Kara Terki, A., Nadira, B., Kara Terki, N., Bellifa, S., Mhamedi, I., & Lachachi, M. (2020). Effects of certain disinfectants and antibiotics on biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from medical devices at the University Hospital Center of Sidi Bel Abbes, Algeria. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 21(4), 304–310. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v21i4.6>

Khalil, M. A., El-Shanshoury, A. E. R. R., Alghamdi, M. A., Alsalmi, F. A., Mohamed, S. F., Sun, J., & Ali, S. S. (2022). Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Marine Actinobacterium *Nocardiopsis dassonvillei* and Exploring Their Therapeutic Potentials. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.705673>

Khatoun, Z., McTiernan, C. D., Suuronen, E. J., Mah, T.-F., Alarcon, E. I., & Alarcon Bacterial, E. I. (2018). Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. *Heliyon*, 4, 1067. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2018>

- Kitching, M., Choudhary, P., Inguva, S., Guo, Y., Ramani, M., Das, S. K., & Marsili, E. (2016). Fungal surface protein mediated one-pot synthesis of stable and hemocompatible gold nanoparticles. *Enzyme and Microbial Technology*, 95, 76–84. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2016.08.007>
- Kumari, Y., Kaur, G., Kumar, R., Singh, S. K., Gulati, M., Khursheed, R., Clarisse, A., Gowthamarajan, K., Karri, V. V. S. N. R., Mahalingam, R., Ghosh, D., Awasthi, A., Kumar, R., Yadav, A. K., Kapoor, B., Singh, P. K., Dua, K., & Porwal, O. (2019). Gold nanoparticles: New routes across old boundaries. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 274). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2019.102037>
- Kumar, L., Bisen, M., Harjai, K., Chhibber, S., Azizov, S., Lalhlenmawia, H., & Kumar, D. (2023). Advances in Nanotechnology for Biofilm Inhibition. In *ACS Omega* (Vol. 8, Issue 24, pp. 21391–21409). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c02239>
- Lebeaux, D., & Ghigo, J. M. (2012). Les Infections associées aux biofilms Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale? In *Medecine/Sciences* (Vol. 28, Issues 8–9, pp. 727–739). <https://doi.org/10.1051/medsci/2012288015>
- Li, X., Sun, L., Zhang, P., & Wang, Y. (2021). Novel approaches to combat medical device-associated biofilms. In *Coatings* (Vol. 11, Issue 3, pp. 1–31). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/coatings11030294>
- Loza-Correa, M., & Ramírez-Arcos, S. (2017). Detection of bacterial adherence and biofilm formation on medical surfaces. In *Biofilms and Implantable Medical Devices: Infection and Control* (pp. 181–193). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100382-4.00008-3>
- Magee, J. T., Burnett, I. A., Hindmarch, J. M., & Spencer, R. C. (1990). *Mikrococcus* and *Stomatococcus* spp. from human infections. In *Journal of Hospital Infection* (Vol. 16).

- Malheiro, J., & Simões, M. (2016). Antimicrobial resistance of biofilms in medical devices. In *Biofilms and Implantable Medical Devices: Infection and Control* (pp. 98–113). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100382-4.00004-6>
- Mandviya, P., Ghanwate, N., & Thakare, P. (2023). First case report of isolation of *Micrococcus lylae* from urinary catheter of a 50-year-old woman suffering from malignancy. *Journal of Infection in Developing Countries*, *17*(7), 1041–1046. <https://doi.org/10.3855/jidc.16477>
- Marta Setiabudy, Dewa Ayu Putri Sri Masyeni, Anak Agung Gede Indraningrat, Kadek Suryawan, I Ketut Agus Indra Adhiputra, & Muhammad Amirul bin Abdul Rahman. (2023). Biofilm Formation in *Staphylococcus aureus* and Coagulase-Negative *Staphylococcus*. *Folia Medica Indonesiana*, *59*(3), 222–228. <https://doi.org/10.20473/fmi.v59i3.44598>
- Martin, G. J., Martin, A. M., & Rodríguez, M. C. (2019). Bacteraemia by *Micrococcus luteus* in an immunocompromised patient. *Med Clin (Barc)*, *152*(11), 469–470.
- Millar, E., Mitiku, F., Hiruy, H. N., & Barden-O’Fallon, J. (2023). Differences by age group in gender-related attitudes in Oromia, Ethiopia: Findings from a cross-sectional study of women of reproductive age. *African Journal of Reproductive Health*, *27*(5), 36–45. <https://doi.org/10.29063/ajrh2023/v27i5s.6>
- Mohanty, S., Mishra, S., Jena, P., Jacob, B., Sarkar, B., & Sonawane, A. (2012). An investigation on the antibacterial, cytotoxic, and antibiofilm efficacy of starch-stabilized silver nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, *8*(6), 916–924. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.11.007>
- Mohd Yusof, H., Abdul Rahman, N. A., Mohamad, R., Zaidan, U. H., & Samsudin, A. A. (2020). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by cell-biomass and supernatant of *Lactobacillus plantarum* TA4 and its antibacterial and biocompatibility properties. *Scientific Reports*, *10*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76402-w>
- Moradpoor, H., Safaei, M., Golshah, A., Mozaffari, H. R., Sharifi, R., Imani, M. M., & Mobarakeh, M. S. (2021). Green synthesis and antifungal effect of titanium dioxide nanoparticles on oral *Candida albicans* pathogen. *Inorganic Chemistry Communications*, *130*. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.108748>

- More, P. R., Pandit, S., Filippis, A. De, Franci, G., Mijakovic, I., & Galdiero, M. (2023). Silver Nanoparticles: Bactericidal and Mechanistic Approach against Drug Resistant Pathogens. In *Microorganisms* (Vol. 11, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020369>
- Mosquera-Sánchez, L. P., Arciniegas-Grijalba, P. A., Patiño-Portela, M. C., Guerra-Sierra, B. E., Muñoz-Florez, J. E., & Rodríguez-Páez, J. E. (2020). Antifungal effect of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) on *Colletotrichum* sp., causal agent of anthracnose in coffee crops. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 25. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101579>
- Muhammad, M. H., Idris, A. L., Fan, X., Guo, Y., Yu, Y., Jin, X., Qiu, J., Guan, X., & Huang, T. (2020). Beyond Risk: Bacterial Biofilms and Their Regulating Approaches. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 11). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00928>
- Naaz, T., Lahiri, D., Pandit, S., Nag, M., Gupta, P. K., Al-Dayyan, N., Rai, N., Chaubey, K. K., & Gupta, A. K. (2023). Antimicrobial Peptides Against Microbial Biofilms: Efficacy, Challenges, and Future Prospect. In *International Journal of Peptide Research and Therapeutics* (Vol. 29, Issue 3). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s10989-023-10519-0>
- Nadell, C. D., Xavier, J. B., & Foster, K. R. (2009). The sociobiology of biofilms. In *FEMS Microbiology Reviews* (Vol. 33, Issue 1, pp. 206–224). <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2008.00150.x>
- Nai, G. A., Medina, D. A. L., Martelli, C. A. T., De Oliveira, M. S. C., Portelinha, M. J. S., Henriques, B. C., Caldeira, I. D., Almeida, M. D. C., Eller, L. K. W., Neto, F. V. D. O., & Marques, M. E. A. (2021). Does washing medical devices before and after use decrease bacterial contamination?: An in vitro study. *Medicine (United States)*, 100(13). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000025285>
- Noguchi, K., Nishimura, R., Ikawa, Y., Mase, S., Matsuda, Y., Fujiki, T., Kuroda, R., Araki, R., Maeba, H., & Yachie, A. (2020). Half of ‘*Micrococcus* spp.’ cases identified by conventional methods are revealed as other life-threatening bacteria with different drug susceptibility patterns by 16S ribosomal RNA gene sequencing.

*Journal of Infection and Chemotherapy*, 26(3), 318–319.  
<https://doi.org/10.1016/j.jiac.2019.10.019>

O'Toole, G. A. (2010). Microtiter dish Biofilm formation assay. *Journal of Visualized Experiments*, 47. <https://doi.org/10.3791/2437>

O'toole, G., Kaplan, H. B., & Kolter, R. (2000). *BIOFILM FORMATION AS MICROBIAL DEVELOPMENT*. [www.annualreviews.org](http://www.annualreviews.org)

Oudiz, R. J., Widlitz, A., Beckmann, X. J., Camanga, D., Alfie, J., Brundage, B. H., & Barst, R. J. (2004). Micrococcus-associated central venous catheter infection in patients with pulmonary arterial hypertension. *Chest*, 126(1), 90–94.  
<https://doi.org/10.1378/chest.126.1.90>

Paramanatham, P., Siddhardha, B., Lal, S. B. S., Sharan, A., Alyousef, A. A., Al Dosary, M. S., Arshad, M., & Syed, A. (2019). Antimicrobial photodynamic therapy on Staphylococcus aureus and Escherichia coli using malachite green encapsulated mesoporous silica nanoparticles: An in vitro study. *PeerJ*, 2019(9).  
<https://doi.org/10.7717/peerj.7454>

Patra, C. R., Mukherjee, S., & Kotcherlakota, R. (2014). Biosynthesized silver nanoparticles: A step forward for cancer theranostics? In *Nanomedicine* (Vol. 9, Issue 10, pp. 1445–1448). Future Medicine Ltd. <https://doi.org/10.2217/nnm.14.89>

Peng, Q., Tang, X., Dong, W., Sun, N., & Yuan, W. (2023). A Review of Biofilm Formation of Staphylococcus aureus and Its Regulation Mechanism. In *Antibiotics* (Vol. 12, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12010012>

Poetter, C., Kunstmann, G., Peter, D., & Mattner, F. (2014). Containment of a cheesecake-associated outbreak of salmonellosis in 3 different hospitals, detected by continuous microbiologic surveillance. In *American Journal of Infection Control* (Vol. 42, Issue 7, pp. 816–817). Mosby Inc. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2014.03.013>

Prakash, A., Sharma, S., Ahmad, N., Ghosh, A., & Sinha, P. (2011). Synthesis of Agnps By Bacillus Cereus Bacteria and Their Antimicrobial Potential. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 02(02), 155–161.  
<https://doi.org/10.4236/jbnb.2011.22020>

- Pramanik, A., Gao, Y., Patibandla, S., Mitra, D., McCandless, M. G., Fassero, L. A., Gates, K., Tandon, R., & Chandra Ray, P. (2021). The rapid diagnosis and effective inhibition of coronavirus using spike antibody attached gold nanoparticles. *Nanoscale Advances*, 3(6), 1588–1596. <https://doi.org/10.1039/d0na01007c>
- Prasher, P., Singh, M., & Mudila, H. (2018). Silver nanoparticles as antimicrobial therapeutics: current perspectives and future challenges. In *3 Biotech* (Vol. 8, Issue 10). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s13205-018-1436-3>
- Raja, K., Balamurugan, V., Selvakumar, S., & Vasanth, K. (2022). Striga angustifolia mediated synthesis of silver nanoparticles: Anti-microbial, antioxidant and anti-proliferative activity in apoptotic p53 signalling pathway. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 67. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102945>
- Ramasamy, M., & Lee, J. (2016). Recent nanotechnology approaches for prevention and treatment of biofilm-associated infections on medical devices. *BioMed Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/1851242>
- Rhim, J. W., Wang, L. F., & Hong, S. I. (2013). Preparation and characterization of agar/silver nanoparticles composite films with antimicrobial activity. *Food Hydrocolloids*, 33(2), 327–335. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.04.002>
- Safdar, N., & Maki, D. G. (2002). *The Commonality of Risk Factors for Nosocomial Colonization and Infection with Antimicrobial-Resistant Staphylococcus aureus, Enterococcus, Gram-Negative Bacilli, Clostridium difficile, and Candida*. [www.annals.org](http://www.annals.org)
- Sagadevan, S., Anita Lett, J., Murugan, B., Fatimah, I., Garg, S., Motalib Hossain, M. A., Mohammad, F., Al-Lohedan, H. A., & Rafie Johan, M. (2022). Comparative studies of the biological efficacies of Ag and Ag-MgO nanocomposite formed by the green synthesis route. *Inorganic Chemistry Communications*, 135. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.109082>
- Sharifi, S., Fathi, N., Memar, M. Y., Hosseiniyan Khatibi, S. M., Khalilov, R., Negahdari, R., Zununi Vahed, S., & Maleki Dizaj, S. (2020). Anti-microbial activity of curcumin nanoformulations: New trends and future perspectives. In *Phytotherapy*

*Research* (Vol. 34, Issue 8, pp. 1926–1946). John Wiley and Sons Ltd.  
<https://doi.org/10.1002/ptr.6658>

Sholkamy, E. N., Ahamd, M. S., Yasser, M. M., & Eslam, N. (2019). Anti-microbiological activities of bio-synthesized silver Nano-stars by *Saccharopolyspora hirsuta*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(1), 195–200.  
<https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.02.020>

Silva-Santana, G., Lenzi-Almeida, K. C., Lopes, V. G. S., & Aguiar-Alves, F. (2016). Biofilm formation in catheter-related infections by Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus*. *International Microbiology*, 19(4), 199–207.  
<https://doi.org/10.2436/20.1501.01.278>

Singh, A., Sharma, M., Chokriwal, A., & Sharma, M. M. (2014). Biological Synthesis of Nanoparticles Using Bacteria and Their Applications. *American Journal of PharmTech Research*, 4(6). <http://www.ajptr.com/>

Sreedevi, T. P., Thilagam, M., Selvi, A. T., & Chandrasekaran, B. (2015). STUDIES OF SILVER NANOPARTICLES USING LACTOBACILLUS PLANTARUM. CHARACTERIZATION AND ANTIBACTERIAL *World Journal of Pharmaceutical Research SJIF Impact Factor* 5, 4(8), 1757–1773. [www.wjpr.net](http://www.wjpr.net)

Srinivasan, R., Santhakumari, S., Poonguzhali, P., Geetha, M., Dyavaiah, M., & Xiangmin, L. (2021). Bacterial Biofilm Inhibition: A Focused Review on Recent Therapeutic Strategies for Combating the Biofilm Mediated Infections. In *Frontiers in Microbiology* (Vol. 12). Frontiers Media S.A.  
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.676458>

Stamm, W. E. ;, & Seattle, W. (1978). II. PREVENTION OF INFECTIONS Infections Related to Medical Devices With many newly introduced medical devices, an epidemic first calls attention to associated hazards of infection. Because physicians from the Center for Disease. In *Annals of Internal Medicine* (Vol. 89, Issue 2).  
<http://annals.org/pdfaccess.ashx?url=/data/journals/aim/19540/>

Stewart, P. S., & Franklin, M. J. (2008). Physiological heterogeneity in biofilms. In *Nature Reviews Microbiology* (Vol. 6, Issue 3, pp. 199–210).  
<https://doi.org/10.1038/nrmicro1838>



- Stoica, P., Chifiriuc, M. C., Rapa, M., & Lazăr, V. (2017). Overview of biofilm-related problems in medical devices. In *Biofilms and Implantable Medical Devices: Infection and Control* (pp. 3–23). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100382-4.00001-0>
- Suhaib, K. I., Najat, M. F., & Shrooq Ali, H. (2021). *Staphylococcus epidermidis is the main causative agent of conjunctivitis*.
- Sureshkumar, M., Suriyaprabha, R., & Indra Priyadharsini, R. (2018). A study on microbial flora on skin of health care providers in a tertiary care hospital in southern india. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 12(11). <https://doi.org/10.7860/JCDR/2018/37717.12266>
- Thouin, J., Rault, L., Goodwin, P., Nouaille, S., Valence, F., Madec, M.-N., Bouchard, D., Le Loir, Y., & Even, S. (2020). *Capacité des bactéries lactiques à affecter la formation de biofilm chez Staphylococcus aureus: souche-et espèce-dépendance*. <https://hal.science/hal-01454340>
- Vani, S., Vadakkan, K., & Mani, B. (2023). A narrative review on bacterial biofilm: its formation, clinical aspects and inhibition strategies. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9(1). <https://doi.org/10.1186/s43094-023-00499-9>
- Van Tan, L., Tran, T., & Thi, V. D. (2021). Biosynthesis of silver nanoparticles from *Bacillus licheniformis* TT01 isolated from quail manure collected in Vietnam. *Processes*, 9(4). <https://doi.org/10.3390/pr9040584>
- Veer, S., Priyanka, Y., & Vishal, M. (2021). Recent Advances on Classification, Properties, Synthesis, and Characterization of Nanomaterials. *School of Biochemical Engineering, IIT (BHU)*, 83–97.
- Wardana, A. A., Kingwascharapong, P., Wigati, L. P., Tanaka, F., & Tanaka, F. (2022). The antifungal effect against *Penicillium italicum* and characterization of fruit coating from chitosan/ZnO nanoparticle/Indonesian sandalwood essential oil composites. *Food Packaging and Shelf Life*, 32. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2022.100849>

- Wei, M., Wei, H., & Li, H. (2024). Ensemble effects of bimetallic, hollow and nanoparticle catalysts in biphasic systems. *Journal of Catalysis*, 115485. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2024.115485>
- Wu, X., Wang, H., Xiong, J., Yang, G. X., Hu, J. F., Zhu, Q., & Chen, Z. (2024). Staphylococcus aureus biofilm: Formulation, regulatory, and emerging natural products-derived therapeutics. In *Biofilm* (Vol. 7). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2023.100175>
- Xia, Z. K., Ma, Q. H., Li, S. Y., Zhang, D. Q., Cong, L., Tian, Y. L., & Yang, R. Y. (2016). The antifungal effect of silver nanoparticles on *Trichosporon asahii*. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 49(2), 182–188. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2014.04.013>
- Yacouba, A., Moussa, H., Yacouba, A., Tapsoba, F., Oubayyou, A. M., Soumana, M. B., Ousmane, A., Alhousseini, D., Makama, Y., Aboubacar, A., Gambo, S., Savadogo, A., & Mamadou, S. (2022). Profil bactériologique et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des dispositifs médicaux au Niger Article original. *Jaccr Africa* , 6(4). [www.jaccrafrica.com](http://www.jaccrafrica.com)
- Zhang, X. F., Liu, Z. G., Shen, W., & Gurunathan, S. (2016). Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 17, Issue 9). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/ijms17091534>
- Pompilio, A., Chiarini, L., Crocetta, V., Di Bonaventura, G., Magnifico, I., Petrucci, F., et al. (2015). Either the biofilm formation inhibition or preformed biofilm disruption could be very effective in the face of bacterial infection. *Microbial Cell Factories*, 14, 165.
- Percival, S. L., Suleman, L., Vuotto, C., & Donelli, G. (2019). Biofilm formation is an important survival strategy that bacteria utilize in natural and human-made niches. *Microorganisms*, 7(9), 287.
- Costerton, J. W., Stewart, P. S., & Greenberg, E. P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284(5418), 1318-1322.

- Arciola, C. R., Campoccia, D., & Montanaro, L. (2018). Microbial adherence to a particular substrate, followed by its colonization and biofilm formation may have a negative impact in many areas. *International Journal of Artificial Organs*, 41(12), 839-848.
- Tulli, F., Cisneros, A.B., Gallucci, M.N., Turbay, M.B.E., Rey, V. & Borsarelli, C.D., 2022. Synthèse, propriétés et utilisations de nanoparticules d'argent obtenues à partir d'extraits de feuilles. *Dans Green Synthesis of Silver Nanomaterials* (pp. 317-357).
- Kumar, A., Dixit, C.K. (2016). "Methods for synthesis of nanoparticles and fabrication of nanocomposites." *Synthesis of Inorganic Nanomaterials: Advances and Key Technologies*, pp. 1-26.
- Chauhan, R., Reddy, A., Abraham, J. (2020). "A biological approach to the synthesis of silver nanoparticles with *Streptomyces* sp JAR1 and its antimicrobial activity." *Scientific Reports*, 10, 1047.
- Gupta, A., Joia, J., Sood, A., Sood, S., Kaur, G., Kapoor, S. (2016). "Microbial synthesis of selenium nanoparticles and their potential applications." In: *Nanoscience and Biotechnology for Environmental Applications*, pp. 91-111.
- Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay D.J., Fatma T., Rattan A. (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of Staphylococci: An evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology* .24 (1):25-9.
- Yurtluk, T., Akçay, FA, & Avcı, A. (2018). Biosynthèse de nanoparticules d'argent à l'aide du nouveau *Bacillus* sp. SBT8. *Biochimie préparative & biotechnologie*, 48 (2), 151-159.
- Riedel, S., & Hobden, J.A., Miller, S., Morse, S.A., Mietzner, T.A., Detrick, B., Mitchell, T.G., Sakanari, J.A., Hotez, P, & Mejia, R. (2019). *Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology*, 28e. McGraw-Hill Education. <https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=2629&sectionid=217768737>
- Srivastava, A., Chandra, N., & Kumar, S. (2019). The Role of Biofilms in Medical Devices and Implants. *In Biofilms in Human Diseases: Treatment and Control*. Springer, Cham, pp. 151-165.

Alix E. (2022). Cinq bactéries comptent parmi les plus importantes causes de mortalité dans le monde. Consulté le 19 janv. 24. <https://www.ouest-france.fr/sante/maladies/cinq-bacteries-comptent-parmi-les-plus-importantes-causes-de-mortalite-dans-le-monde-f5ee8ea4-6ff2-11ed-8812-747db3ba96da>

Chadha, J., Thakur, N., Chhibber, S., & Harjai, K. (2023). A comprehensive status update on modification of foley catheter to combat catheter-associated urinary tract infections and microbial biofilms. *Critical Reviews in Microbiology*, 50(2), 168–195. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2023.2167593>

Hassan, A., Usman, J., Kaleem, F., Omair, M., Khalid, A., & Iqbal, M; (2011). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 15, 305-311

**Annexe 1** : les caractéristiques cliniques des patients infectés

N° de prélèvements	Sexe	Nature de prélèvements	Présence de germes gram-positif	Services hospitaliers
1	Homme	Sonde urinaire	3 positifs	Néphrologie
2	Femme	Sonde urinaire	1 positif	Maternité
3	Homme	Sonde urinaire	2 positifs	Néphrologie
4	Femme	Sonde urinaire	2 positifs	Maternité
5	Femme	Sonde urinaire	Négatif	Maternité
6	Femme	Sonde urinaire	Négatif	Maternité
7	Femme	Sonde urinaire	Négatif	Maternité
8	Femme	Sonde urinaire	Négatif	Maternité
9	Femme	Sonde urinaire	1 positif	Maternité
10	Femme	Sonde urinaire	Négatif	Maternité
11	Femme	Sonde urinaire	Négatif	Maternité
12	Femme	Sonde urinaire	Négatif	Maternité
13	Femme	Sonde urinaire	Négatif	Maternité
14	Femme	Sonde urinaire	Négatif	Maternité
15	Femme	Sonde urinaire	Négatif	Chirurgie A
16	Homme	Sonde urinaire	Négatif	Néphrologie
17	Femme	Sonde urinaire	Négatif	Néphrologie
18	Homme	Sonde urinaire	Négatif	Néphrologie
19	Homme	Sonde urinaire	Négatif	Traumatologie
20	Femme	Sonde urinaire	3 positifs	Traumatologie
21	Homme	Cathéter	Négatif	Traumatologie
22	Homme	Cathéter	1 positif	Urgence
23	Homme	Sonde urinaire	Négatif	Urgence
24	Femme	Cathéter	1 positif	Infectiologie
25	Femme	Cathéter	3 positifs	Infectiologie

**Annexe 2 :** Etablir le profil numérique de *Staphylococcus aureus* par la galerie API 20 Staph.

Galerie API 20 Staph	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2
	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+
	6			7			3			6			1			7			3	
	Profil numérique : 6736173																			

**Annexe 3 :** Etablir le profil numérique de *Staphylococcus epidermidis* par la galerie API 20 Staph.

Galerie API 20 Staph	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-
	6			7			0			6			1			1			3		
	Profil numérique : 6706113																				

**Annexe 4 :** Etablir le profil numérique de *Micrococcus* spp par la galerie API 20 Staph.

Galerie API STAPH	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE
	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	-	-	-
	0			0			0			6			4			0			0	
	Profil numérique : 0006400																			

## Abstract

Biofilms are communities of microorganisms in contact with a biotic or abiotic surface. Although beneficial in most environments, bacterial biofilms developing on implants or during chronic infections serve as reservoirs of pathogens, causing numerous nosocomial infections. Despite the implementation of preventive measures, biofilms are difficult to eradicate due to their characteristic tolerance to high doses of antibiotics. To counter this biofilm threat and reduce the infection rate, a green approach is favored, utilizing bioactive molecules produced by microorganisms for the synthesis of nanoparticles.

The objective of this study was to isolate Gram-positive bacterial strains from medical devices, determine their ability to form biofilms, and examine the efficacy of biosynthesized nanoparticles in inhibiting these biofilms.

To achieve this, samples were collected from various medical devices from 24 hospitalized patients in different wards. The bacterial strains obtained were purified and identified through morphological and biochemical tests. The Tissue Culture Plate (TCP) method was employed to evaluate biofilm formation. Silver nanoparticles were biosynthesized and purified to assess their antimicrobial and antibiofilm activity.

In this study, 17 Gram-positive bacterial strains were obtained from clinical samples. Investigation of their biofilm-forming ability revealed 9 weak biofilm formers, six moderate biofilm formers, and only two strong biofilm formers. Additionally, silver nanoparticles were synthesized from microorganisms. Subsequent tests demonstrated remarkable antibacterial and antibiofilm activity of these nanoparticles against the strong biofilm-forming strains.

These results demonstrate that the biological efficacy of biosynthesized nanoparticles offers the potential for their integration into biomedical and pharmaceutical products. Their potential as a promising alternative to combat bacterial biofilm-related infections on medical devices is highlighted. This study paves the way for innovative strategies to prevent and treat healthcare-associated infections, thus offering new perspectives in the field of public health and patient safety.

**Keywords:** Biofilm, Medical devices, Gram-positive bacteria, Nanoparticles

## Résumé

Les biofilms sont des communautés de micro-organismes en contact avec une surface biotique ou abiotique. Bien que bénéfiques dans la plupart des environnements, les biofilms bactériens se développant sur des implants ou lors d'infections chroniques constituent des réservoirs de pathogènes à l'origine de nombreuses infections nosocomiales. Malgré la mise en œuvre de mesures préventives, les biofilms sont difficiles à éradiquer en raison de leur tolérance caractéristique à des doses élevées d'antibiotiques. Pour contrer cette menace des biofilms et réduire le taux d'infections, une approche verte est privilégiée, exploitant les molécules bioactives produites par des micro-organismes pour la synthèse de nanoparticules.

L'objectif de cette étude était d'isoler les souches bactériennes gram positives provenant des dispositifs médicaux, déterminer leur aptitude à former des biofilms, et d'examiner l'efficacité des nanoparticules biosynthétisées dans l'inhibition de ces biofilms.

Pour ce faire, des échantillons ont été prélevés sur divers dispositifs médicaux auprès de 24 patients hospitalisés dans différents services. Les souches bactériennes ainsi obtenues ont été purifiées, identifiées par des tests morphologiques et biochimiques. La méthode de plaque de culture de tissu (TCP) a été employée pour évaluer la formation du biofilm. Des nanoparticules d'argent ont été biosynthétisées et purifiées afin d'évaluer leur activité antimicrobienne et antibiofilm.

Dans cette étude, 17 souches bactériennes Gram-positive ont été obtenues à partir de prélèvements cliniques. L'investigation de leur aptitude à former un biofilm a révélé 9 souches faiblement formatrices du biofilm, six souches se sont avérées modérément formatrices, et seulement deux souches ont démontrés une forte aptitude à former un biofilm. En outre, des nanoparticules d'argent ont été synthétisées à partir de micro-organismes. Les tests ultérieurs ont mis en évidence une activité antibactérienne et antibiofilm remarquable de ces nanoparticules contre les souches fortement formatrices de biofilm.

Ces résultats démontrent que l'efficacité biologique des nanoparticules biosynthétisées offre la possibilité de les intégrer dans la composition de produits biomédicaux et pharmaceutiques. Leur potentiel en tant qu'alternative prometteuse pour lutter contre les infections liées aux biofilms bactériens sur les dispositifs médicaux est mis en évidence. Cette étude ouvre la voie à des stratégies innovantes pour prévenir et traiter les infections associées aux soins, offrant ainsi de nouvelles perspectives dans le domaine de la santé publique et de la sécurité des patients.

**Mots clés :** Biofilm, Dispositifs médicaux, Bactérie Gram Positives, Nanoparticules.

## المخلص

البيوفيلمات هي مجتمعات من الكائنات الدقيقة التي تكون على اتصال بسطح حيوي أو غير حيوي. على الرغم من أنها مفيدة في معظم البيئات، فإن البيوفيلمات البكتيرية التي تتطور على الغرسات أو خلال الالتهابات المزمنة تعمل كخزانات للعوامل المرضية، مما يسبب العديد من الالتهابات المكتسبة في المستشفيات. على الرغم من تنفيذ التدابير الوقائية، فإن البيوفيلمات صعبة الاستئصال بسبب قدرتها على تحمل الجرعات العالية من المضادات الحيوية. لمواجهة هذا التهديد من البيوفيلمات وتقليل معدل العدوى، يتم تفضيل نهج صديق للبيئة، باستغلال الجزيئات النشطة بيولوجيًا التي تنتجها الكائنات الدقيقة لتخليق الجسيمات النانوية.

كان الهدف من هذه الدراسة هو عزل السلالات البكتيرية موجبة الجرام من الأجهزة الطبية، وتحديد قدرتها على تكوين البيوفيلمات، وفحص فعالية الجسيمات النانوية المُخلَّقة بيولوجيًا في تثبيط هذه البيوفيلمات.

لتحقيق ذلك، تم جمع العينات من مختلف الأجهزة الطبية من 24 مريضًا مُؤمَّين في أجنحة مختلفة. تم تنقية السلالات البكتيرية التي تم الحصول عليها وتحديدتها من خلال اختبارات لتقييم تكوين البيوفيلمات. تم تخليق الجسيمات النانوية الفضية وتنقيتها لتقييم نشاطها المضاد (TCP) مورفولوجية وكيميائية حيوية. تم استخدام طريقة صفيحة زراعة الأنسجة للميكروبات والمضاد للبيوفيلمات.

في هذه الدراسة، تم الحصول على 17 سلالة بكتيرية موجبة الجرام من العينات السريرية. كشف التحقيق في قدرتها على تكوين البيوفيلمات عن وجود 9 سلالات ضعيفة التكوين، و6 سلالات متوسطة التكوين، وسلالتين فقط ذات قدرة عالية على تكوين البيوفيلمات. بالإضافة إلى ذلك، تم تخليق الجسيمات النانوية الفضية من الكائنات الدقيقة. أظهرت الاختبارات اللاحقة نشاطًا مضادًا للبكتيريا ومضادًا للبيوفيلمات ملحوظًا لهذه الجسيمات ضد السلالات ذات القدرة العالية على تكوين البيوفيلمات.

تُظهر هذه النتائج أن الفعالية البيولوجية للجسيمات النانوية المُخلَّقة بيولوجيًا توفر إمكانية دمجها في المنتجات الطبية والصيدلانية. يتم تسليط الضوء على إمكاناتها كبديل واعد لمكافحة الالتهابات المرتبطة بالبيوفيلمات البكتيرية على الأجهزة الطبية. تُهد هذه الدراسة الطريق لاستراتيجيات مبتكرة لمنع وعلاج الالتهابات المرتبطة بالرعاية الصحية، مما يقدم أفقًا جديدة في مجال الصحة العامة وسلامة المرضى.

**الكلمات المفتاحية:** الأغشية الحيوية، الأجهزة الطبية، البكتيريا موجبة الجرام، الجسيمات النانوية