



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

Université Abou Bekr BELKAÏD Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire :

Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique

Mémoire

Présenté par

Mme BENSALAH-DAHMANI Hadjer

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème :

**Evaluation de la sensibilité à quelques antimicrobiens de souches bactériennes
isolées au service de chirurgie A du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de
Tlemcen**

Soutenu le 12/10/2025 devant le jury composé de :

Dr. Kazi Tani-Baba Ahmed Zahira Zakia	Présidente	Université de Tlemcen
Dr. Hassaine-Lahfa Imane	Encadrante	Université de Tlemcen
Pr. Seghir Abdelfettah	Examineur	Université de Tlemcen

Année universitaire 2024/2025

ملخص

ركزت هذه الدراسة على تقييم حساسية السلالات المعزولة من قسم الجراحة (أ) بالمستشفى الجامعي لتلسمان تجاه مضادين حيويين: الجنتاميسين والسيبروفلوكساسين. تم عزل السلالات البكتيرية من القسطرة المزروعة لدى المرضى المقيمين في المستشفى وكذلك من بيئة المستشفى لنفس القسم

كشفت النتائج أنه من بين 32 سلالة تم اختبارها، كانت 11 سلالة حساسة للجنتاميسين (8 إيجابية الغرام و3 سالبة الغرام). علاوة على ذلك، تبين أن 21 سلالة كانت مقاومة. بالإضافة إلى ذلك، أظهرت جميع السلالات مقاومة تجاه السيبروفلوكساسين

أشار قياس الكتلة الحيوية للأغشية الحيوية المتكونة في المختبر بواسطة السلالات المدروسة إلى فقط كانت منتجة (3 *Staphylococcus haemolyticus*) أن بكتيريا المكورة العنقودية النزفية 3 متوسطة للغشاء الحيوي، بينما تم تصنيف جميع السلالات الأخرى على أنها منتجة قوية للأغشية الحيوية

الكلمات المفتاحية

العدوى المرتبطة بالرعاية الصحية، الحساسية، المقاومة، الكريستال البنفسجي، الأغشية الحيوية (البايوفيلم).

Résumé

Cette étude a porté sur l'évaluation de la sensibilité de souches isolées au service de chirurgie A du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Tlemcen vis-à-vis de deux antibiotiques : la gentamicine et de la ciprofloxacine. Les souches bactériennes ont été isolées à partir de cathéters implantés chez des patients hospitalisés ainsi que de l'environnement hospitalier du même service.

Les résultats ont révélé que parmi les 32 souches testées, 11 souches étaient sensibles à la gentamicine (8 gram positives et 3 gram négatives). En outre, 21 souches se sont avérées résistantes. De plus, toutes les souches ont présenté une résistance face à la Ciprofloxacine.

La quantification de la biomasse des biofilms formés *in vitro* par les souches étudiées a indiqué que seule la bactérie *Staphylococcus haemolyticus* 3 était modérément formatrice de biofilms, tandis que toutes les autres souches étaient classées comme fortement productrices de biofilms.

Mots clés : Infections associées aux soins, sensibilité, résistance, cristal violet, biofilms

Summary

This study focused on evaluating the sensitivity of strains isolated from the Department of Surgery A at the Tlemcen University Hospital Center (CHU) to two antibiotics: gentamicin and ciprofloxacin. The bacterial strains were isolated from catheters implanted in hospitalized patients as well as from the hospital environment of the same department.

The results revealed that among the 32 tested strains, 11 strains were sensitive to gentamicin (8 Gram-positive and 3 Gram-negative). Furthermore, 21 strains were found to be resistant. Additionally, all strains exhibited resistance to Ciprofloxacin.

The quantification of the biomass of biofilms formed *in vitro* by the studied strains indicated that only the *Staphylococcus haemolyticus* 3 bacterium was a moderate biofilm producer, while all other strains were classified as strong biofilm producers.

Keywords: Healthcare-associated infections, sensitivity, resistance, crystal violet, biofilms.

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Madame HASSAINE-LAHFA Imane, maître de conférences classe B au département de biologie de l'Université Aboubekr BELKAÏD de Tlemcen, pour avoir été une encadrante exceptionnelle tout au long de ce travail. Son soutien constant, ses encouragements bienveillants et la richesse de ses conseils ont été pour moi d'une grande valeur à chaque étape de cette étude. Sa passion pour la recherche, son dévouement rigoureux et sa disponibilité sans faille ont été une véritable source d'inspiration tout au long de mon parcours. Je lui suis profondément reconnaissante pour sa patience, sa pédagogie, ainsi que pour ses commentaires pertinents et ses orientations éclairées, qui ont largement contribué à la qualité et à la cohérence de ce travail.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Madame KAZI TANI BABA AHMED Zahira Zakia, maître de conférences classe A au département de biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr-BELKAÏD de Tlemcen, pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Je tiens à remercier Monsieur SEGHIR Abdelfettah, professeur au département de biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr-BELKAÏD de Tlemcen pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

Je tiens également à remercier ma chère collègue BENALI Nesrine Nihel pour m'avoir aidé à m'adapter et partager son matériel et ses connaissances avec moi, c'était vraiment un plaisir de travailler avec elle.

Aussi à tous les doctorants, techniciens et membres du laboratoire, Rania et Zohra avec qui j'ai partagé cette expérience au sein du laboratoire. Je vous remercie pour votre soutien constant, votre amitié et tous les instants plaisants que nous avons partagés ensemble.

Dédicaces

Je remercie Allah le tout puissant de m'avoir procuré la volonté, le courage et la force pour mener à terme ce travail.

Du fond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers :

À mes chers parents, ce travail est le vôtre, c'est le résultat de longues années

de sacrifices et d'encouragement et de votre présence dans ma vie

Je ne trouverai jamais assez de mots pour vous exprimer toute ma gratitude et mon affection.

A mon époux Ismail pour son soutien inconditionnel et ses encouragements qui m'ont toujours donné la force et la motivation nécessaires pour poursuivre mes études.

A mon petit prince, Mohammed Anes mon cher fils, mes frères Mohammed et Esmaa pour leurs encouragements et leur soutien moral.

À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Table des matières

Première partie : Synthèse bibliographique.....	1
Deuxième partie : Matériel et méthodes.....	6
1. Microorganismes.....	7
2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques vis-à-vis des souches isolées	8
3. Evaluation de la capacité des souches isolées à former des biofilms <i>in vitro</i>	8
4. Quantification de la biomasse des biofilms formés <i>in vitro</i> par la coloration au cristal violet.....	9
Troisième partie : Résultats et discussion.....	10
1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes	11
1.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques vis-à-vis des bactéries à gram négatif.....	11
1.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques vis-à-vis des bactéries à gram positif.....	12
2. Quantification de la biomasse des biofilms formés <i>in vitro</i>	14
Quatrième partie : Conclusion générale.....	17
Cinquième partie : Références bibliographiques.....	19

Liste des figures

Figure N°1 : Etapes de formation d'un biofilm (Matt, 2025).....	3
Figure N°2 : Concentrations minimales inhibitrices de la ciprofloxacine et la gentamicine vis-à-vis des souches bactériennes gram négatives	12
Figure N°03 : Concentrations minimales inhibitrices de la ciprofloxacine et la gentamicine vis-à-vis des souches bactériennes gram positives	13
Figure N°04 : Biomasses des biofilms formés <i>in vitro</i> par les souches bactériennes quantifiées par la technique de coloration au cristal violet.....	17

Liste des tableaux

Tableau N°01 : Souches bactériennes étudiées7

Tableau N° 02 : Concentrations critiques en µg/mL de la Gentamicine et de la Ciprofloxacine vis-à-vis des différentes souches (**CLSI 2016**).....11

Première partie

Synthèse bibliographique

Les infections associées aux soins (IAS) anciennement appelées infections nosocomiales désignent toute infection survenant au cours ou à la suite d'une prise en charge médicale qui n'était ni présente ni en incubation au début de celle-ci **[(Astagneau, 2022) ; (Kamath et al., 2023)]**.

Elles représentent un véritable enjeu sanitaire dans les établissements de santé notamment dans les hôpitaux **(Cassini et al., 2019)**.

De plus, ces infections sont favorisées par des facteurs intrinsèques, liés aux patients tels que l'âge avancé ou prématurité, la sévérité des pathologies nécessitant l'hospitalisation ainsi que la malnutrition **(Sikora et al., 2020)**. A cela s'ajoutent des facteurs extrinsèques notamment le non-respect des règles d'hygiène par le personnel médical, qu'il s'agisse de la désinfection des mains, des équipements ou des espaces. Ces éléments jouent un rôle crucial dans la transmission des germes surtout avec le nombre élevé de professionnels de santé en contact avec les patients ainsi qu'une concentration importante de germes en milieu hospitalier **(Siewe Yamdjeu, 2025)**.

Les infections associées aux soins sont principalement causées par des bactéries opportunistes qui ont la capacité de coloniser à la fois les équipements médicaux et l'environnement hospitalier formant des réservoirs microbiens qui facilitent la diffusion des agents infectieux et la contamination croisée entre les patients hospitalisés **(Cruz-López et al., 2023)**.

De plus, La prévalence de certains agents pathogènes varie selon les établissements de santé, les installations, les lieux et les populations de patients. Chaque micro-organisme possède des caractéristiques distinctes qui le prédisposent à certaines infections chez les hôtes sensibles. **(Sikora et al., 2020)**.

Jusqu'au début des années 1980, ces infections étaient principalement causées par des bactéries Gram négatives tels que *Sphingomonas spp* et *Pseudomonas spp* mais par la suite, avec l'usage intensif d'antibiotiques et l'utilisation accrue de dispositifs médicaux, une augmentation des infections par des bactéries Gram positives tels que *Staphylococcus spp* a été enregistrée **[(Masia et Dettori, 2022) ; (Mishra et al., 2024)]**.

Ces micro-organismes ont la capacité de former des biofilms qui sont définis comme des communautés structurées de cellules microbiennes, fixées sur une surface biotique ou abiotique, intégrées dans une matrice autoproduite de polymères extracellulaires **(Coenye et al., 2024)**.

La formation d'un biofilm est un phénomène séquentiel qui se fait en plusieurs étapes **(Figure N°01)**.

La formation du biofilm débute par l'adhésion réversible de bactéries planctoniques à une surface. Cette première fixation, temporaire, est médiée par des interactions électrostatiques et hydrophobes, et est influencée par des facteurs environnementaux tels que le pH, la température, la composition chimique de la surface et le débit du fluide **(Coenye et al., 2024)**.

Cette phase initiale est suivie d'une adhésion irréversible, au cours de laquelle les microorganismes s'ancrent fermement à la surface par le biais d'interactions hydrophobes renforcées et de récepteurs cellulaires spécifiques **(Jean, 2025)**. Une fois fermement attachées, les bactéries prolifèrent et s'agrègent pour former un microcolonie. **(liu et al.,2024)**

La phase de maturation du biofilm intervient alors avec la production active d'une matrice exopolymérique. Cette structure essentielle, composée de polysaccharides, de protéines, de lipides et d'ADN extracellulaire, développe un réseau de canaux aqueux fonctionnant comme un système circulatoire, assurant le transport des nutriments et l'élimination des déchets **(Rather et al., 2021)**. Le biofilm acquiert progressivement une architecture tridimensionnelle complexe **(Coenye et al., 2024)**. Le cycle s'achève par une phase de dispersion, au cours de laquelle une partie du biofilm se détache, permettant la dissémination des bactéries dans l'environnement et l'initiation de nouveaux cycles de colonisation **(Matt, 2025)**.

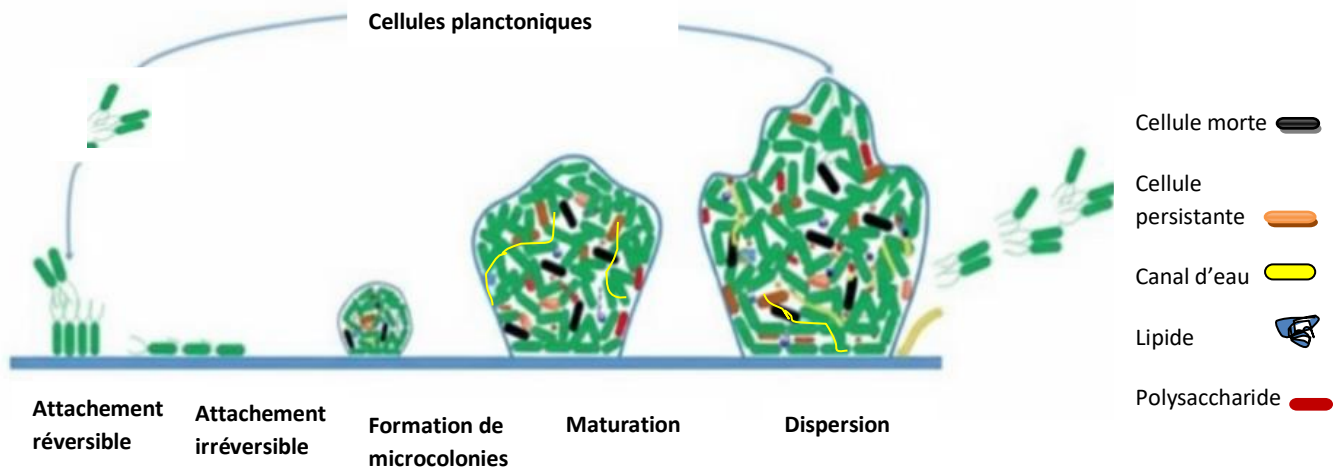


Figure N°01 : Etapes de formation d'un biofilm (Matt, 2025).

En outre, les bactéries présentes dans un biofilm montrent généralement une sensibilité considérablement réduite aux antibiotiques par rapport à leur état planctonique. Cette tolérance accrue se traduit par une résistance pouvant être entre 10 et 1000 fois supérieure face aux traitements antimicrobiens. **(Tremblay et al, 2014)**

Cette résistance peut être d'origine naturelle et intrinsèque, principalement en raison de la présence des gènes spécifiques. Cela englobe l'action des pompes à efflux qui empêchent l'antibiotique d'atteindre son site d'action en expulsant activement la substance hors de la bactérie. En outre, il peut y avoir des modifications et/ou des altérations des sites de liaison, comme celles des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) ou des sites de liaison ribosomiaux. **(Carle, 2009)**. Ainsi qu'une résistance acquise due aux modifications dans le profil d'expression génique via des mutations ponctuelles **(Bouyahya et al., 2017)**.

De plus, Les antibiotiques chargés positivement (tels que les aminoglycosides spécifiquement la Gentamicin) peuvent se lier à l'ADN extracellulaire chargé négativement présent dans la matrice, réduisant ainsi la pénétration des antibiotiques. Les polysaccharides peuvent constituer une barrière à la perméabilité et les enzymes sécrétées peuvent dégrader les antibiotiques, ce qui réduit la concentration d'antibiotiques atteignant les cellules bactériennes **(Zhao et al., 2025)** **(figure N°02)**

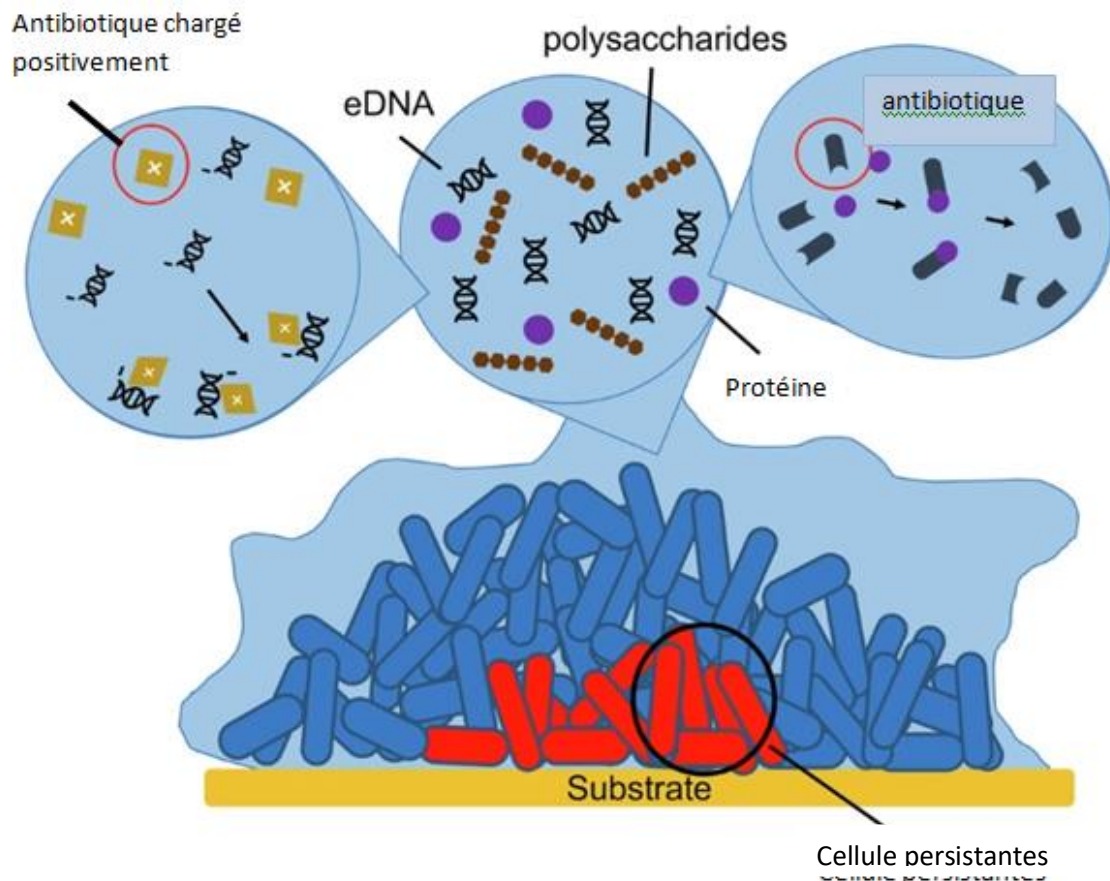


Figure N°03 : Composants de la matrice pouvant entraver l'absorption des antibiotiques dans le biofilm.(Liu et al.,2024).

Environ 10 à 20 % des bactéries acquièrent une résistance aux antibiotiques par le biais de mutations chromosomiques spontanées ou de transferts horizontaux, qui peuvent se produire par échange direct de matériel chromosomique ou par l'intermédiaire d'éléments mobiles tels que les plasmides. Cette résistance se concentre généralement sur un seul antibiotique ou sur une famille d'antibiotiques. Ce phénomène est observé tant chez les bactéries à gram positif que chez celles à gram négatif [(Mandell et al.,2009), (Lewis, 2019)].

Par ailleurs, la multi-résistance observée en milieu hospitalier résulte du transfert génétique entre différentes espèces bactériennes, notamment par le biais des plasmides et des transposons. Ces éléments contiennent des gènes de résistance aux antibiotiques ce qui renforce la virulence des microbes. De plus, même les bactéries non pathogènes peuvent développer des caractéristiques de résistance, leur permettant ainsi de résister simultanément à plusieurs antibiotiques et désinfectants (**Assefa et Amare, 2022**).

De plus le biofilm microbien constitue le principal mécanisme de résistance aux médicaments favorisant l'émergence de micro-organismes multirésistants. Cela s'explique par la pénétration limitée des antibiotiques dans la matrice du biofilm, la densité cellulaire élevée, les capacités de quorum sensing, le ralentissement du taux de croissance des bactéries dans le biofilm ainsi que la présence de cellules persistantes (**Assefa et Amare, 2022**).

Les biofilms sont omniprésents dans les établissements de santé. De par leur nature, les biofilms sont moins sensibles aux antimicrobiens et sont associés aux infections nosocomiales (HAI). La résistance des biofilms aux antimicrobiens est multifactorielle, la présence d'une matrice composée de substances polymères extracellulaires et d'ADN extracellulaire étant un facteur contributif majeur. La composition multispécifique habituelle des biofilms environnementaux peut également avoir un impact sur l'efficacité des antimicrobiens. (**Maillard et all.,2023**)

En s'appuyant sur les éléments précédemment cités, nous avons entrepris cette étude qui a pour objectifs de déterminer les concentrations minimales inhibitrices de la ciprofloxacine et de la gentamicine vis-à-vis des souches bactériennes isolées et de mettre en évidence le potentiel de ces souches à former des biofilms *in vitro*.

Deuxième partie

Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique » (LapSab) de l'Université Aboubekr BELKAÏD-Tlemcen.

1. Microorganismes

Cette étude a porté sur une collection de souches bactériennes isolées à partir de cathéters implantés à des patients hospitalisés ainsi que sur l'environnement hospitalier du service de chirurgie A du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Tlemcen (**Tableau N°01**).

Les souches sont entretenues par repiquages réguliers et conservées à +4°C sur gélose nutritive.

Tableau N°01 : Souches bactériennes étudiées.

	Souches	Nombre
Gram négatives	<i>Enterobacter spp</i>	1
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1
	<i>Pseudomonas sutzeri</i>	10
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	2
	<i>Rhizobium radiobacter</i>	1
Gram positives	<i>Aerococcus viridans</i>	1
	<i>Staphylococcus cohnii ssp</i>	2
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2
	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	4
	<i>Staphylococcus hominis ssp</i>	6
	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	1
	<i>Staphylococcus warnerie</i>	1

2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques vis-à-vis des souches isolées

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de la ciprofloxacine et de la gentamicine vis-à-vis des souches isolées sont déterminées par la technique de micro dilution sur microplaque 96 puits selon le protocole standard du Clinical and Laboratory Standards Institute M100 S23 (**CLSI, 2016**).

Les concentrations cellulaires de départ sont fixées à 10^6 cellules/mL pour les bactéries.

Les solutions mères des antibiotiques sont préparées en extemporané par dissolution de la ciprofloxacine et de la gentamicine dans de l'eau distillée stérile à une concentration de 512 µg/mL.

Dans les puits d'une microplaque, 50 µL de la suspension bactérienne à une concentration de 10^6 cellules/mL sont introduits auxquelles sont additionnées 50 µL de l'antibiotique à tester avec des concentrations finales comprises entre 1 à 512 µg/mL.

Les microplaques sont ensuite scellées puis incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Les CMIs désignent la concentration d'antibiotiques à laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible à l'œil nu.

Un contrôle interne est réalisé en utilisant des souches de références, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27835 et *Staphylococcus aureus* ATCC29213

3. Evaluation de la capacité des souches isolées à former des biofilms *in vitro*

La formation des biofilms bactériens est effectuée dans des microplaques 96 puits selon la technique de **Christensen et coll., (1985)**, basée sur la coloration au cristal violet

Une préculture de 24 heures sur milieu BHIB de la souche étudiée a été centrifugée à 1000 g pendant 15 minutes à 4°C. Après deux lavages avec du tampon phosphate

salé (PBS) à pH 7,4 ; 10 mM, le surnageant a été éliminé puis la suspension bactérienne ajustée à une concentration de 10^6 cellules/mL a été resuspendue dans le milieu Trypticase soja (TSB). 100 μ l de cette suspension ont été distribués dans les puits d'une microplaque, qui a ensuite été scellée et incubée à 37 °C (Seghir et al., 2015).

4. Quantification de la biomasse des biofilms formés *in vitro* par la coloration au cristal violet

Après 24 heures d'incubation, le milieu est aspiré et les puits sont lavés avec du PBS stérile afin d'éliminer les cellules planctoniques. Pour la fixation du biofilm, 100 μ L de méthanol (99 %) ont été ajoutés puis les microplaques sont incubées pendant 15 minutes à température ambiante. Par la suite, les puits sont lavés et 100 μ L d'une solution de cristal violet à 1 % ont été ajoutés dans chaque puits. Après 20 minutes d'incubation, les microplaques ont été laissées à température ambiante. Les puits ont ensuite été lavés, puis 150 μ L d'acide acétique à 33 % ont été ajoutés afin de libérer le cristal violet lié aux biofilms.

Les densités optiques ont été déterminées à l'aide d'un lecteur de microplaques, à une longueur d'onde de 570 nm.

Selon les intervalles établis par **Kodori et al., (2021)**, les souches sont réparties en différentes catégories comme suit :

- non formatrices de biofilms ($DO \leq DOC$) ;
- faiblement formatrices ($DOC < DO \leq 2DOC$) ;
- modérément formatrices ($2DOC < DO \leq 4DOC$) ;
- fortement formatrices de biofilms ($4DOC < DO$).

DO : Densité optique de la souche.

DOC : Densité optique du contrôle négatif.

Troisième partie

Résultats et Discussion

1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes

Selon **CLSI 2016**, les seuils de sensibilité varient d'un antibiotique à un autre et d'une souche à une autre (**Tableau N°02**).

Tableau N° 02 : Concentrations critiques en µg/mL de la Gentamicine et de la Ciprofloxacin vis-à-vis des différentes souches (CLSI 2016).

Souche	Gentamicine			Ciprofloxacin		
	S	Intermédiaire	R	S	Intermédiaire	R
<i>Staphylococcus sp</i>	≤4	8	≥16	≤ 1	2	≥4
<i>Staphylococcus aureus</i>	≤1		≥16	≤1	2	≥4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	≤4	8	≥16	≤0.5	1	≥2
<i>Pseudomonas putzzeri</i>	≤4	8	≥16	≤1	2	≥4
<i>Aerococcus viridans</i>	≤1		≥16	≤1	2	≥4
<i>Rhizobium radiobacter</i>	≤4	8	≥16	≤1	2	≥4
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	≤4	8	≥16	≤0.5	1	≥2

Les niveaux des CMI des antibiotiques testés vis-à-vis des souches varient entre 2 et 64 µg/mL pour la gentamicine et entre 2 et 128 µg/mL pour la ciprofloxacin.

1.1. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques vis-à-vis des bactéries à gram négatif

Les résultats des CMI de la ciprofloxacin et de la gentamicine vis-à-vis des souches gram négatives étudiées par la technique de microdilution sur microplaque 96 puits sont regroupées sur la **figure N°02**

On observe que parmi les 15 souches à gram négative étudiées, 12 souches (*P.putzzeri* 2, *P.putzzeri* 3, *P.putzzeri* 5, *P.putzzeri* 6, *P.putzzeri* 7, *P.putzzeri* 8, *P.putzzeri* 10, *Rhi.radiobacter*, *Enterobacter*, *P.fluorescens*, *Sph.paucimobilis* 1, *Sph.paucimobilis* 2) sont résistantes (R+I) à la gentamicine avec des CMI allant de 8 à 64 µg/mL et 3 souches, (*P.putzzeri* 1, *P.putzzeri* 4, *P.putzzeri* 9) y sont sensibles avec une CMI égale à 4 µg/mL. En revanche, toutes les souches sont résistantes (R+I) à la ciprofloxacin avec des CMI qui varie entre 2 à 64 µg/mL (**Figure N°02**).

Ces résultats concordent avec ceux de **Ghane et Azimi (2014)**, qui ont étudié des souches de *Pseudomonas sp* isolées de l'environnement hospitalier en Iran. Ils ont rapporté que ces souches étaient sensibles à la gentamicine et présentaient une forte résistance à la Ciprofloxacine.

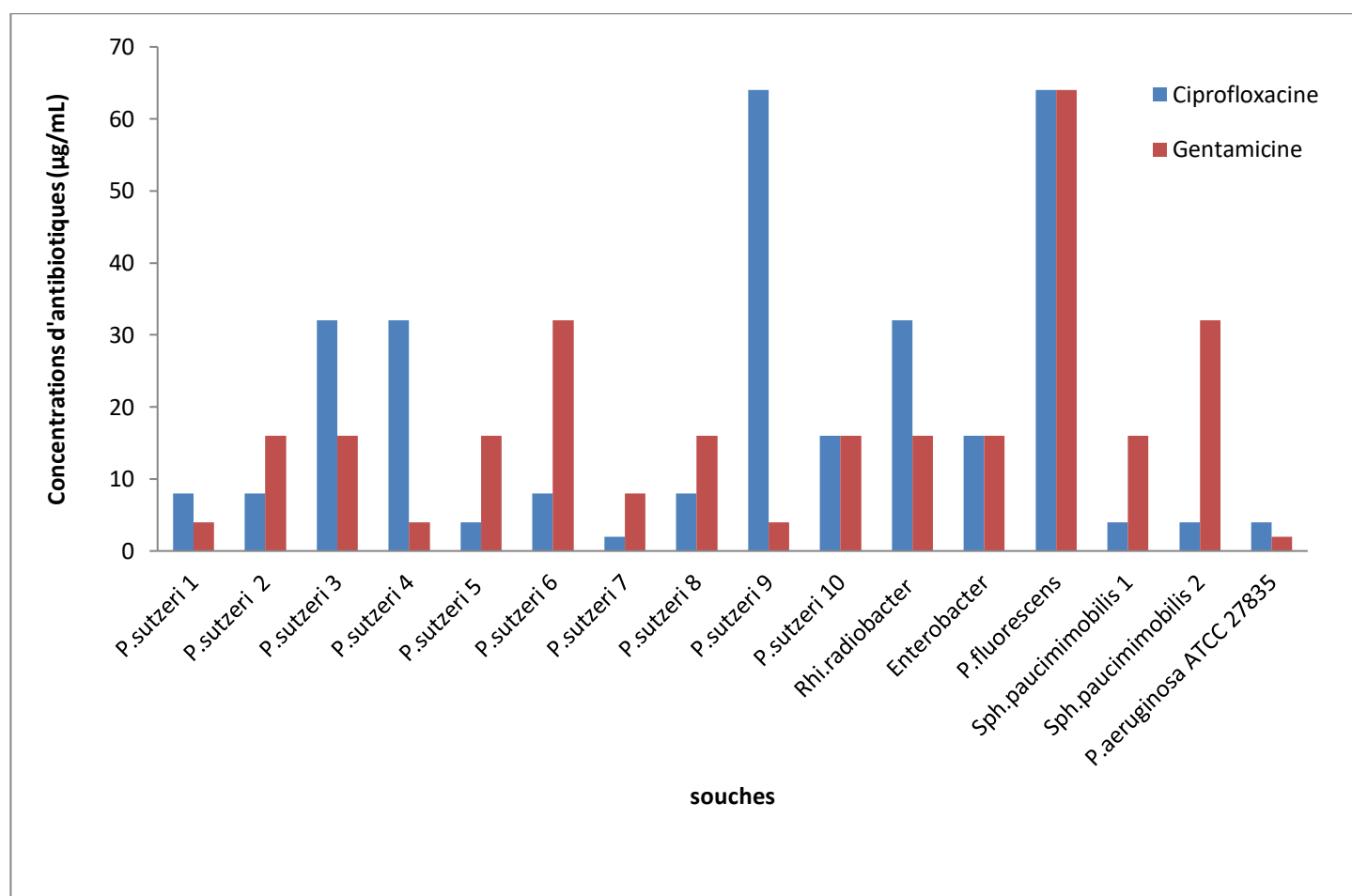


Figure N°02 : Concentrations minimales inhibitrices de la ciprofloxacine et la gentamicine vis-à-vis des souches bactériennes gram négatives

1.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices des antibiotiques vis-à-vis des bactéries à gram positif

Les résultats relatifs à la **figure N°03** représentent les CMI de la ciprofloxacine et de la gentamicine vis-à-vis des bactéries gram positives.

On observe que parmi les 17 souches étudiées, 8 souches (*S. hominis* 1, *S. hominis* 5, *S. hominis* 6, *S. cohnii* 1, *S. cohnii* 2, *S. haemolyticus* 2, *S. warnerie*, *S. epidermidis* 1) sont sensibles à la gentamicine et 9 souches (*S. hominis* 2, *S. hominis*, 3 *S. hominis* 4, *S. haemolyticus* 1, *S. haemolyticus* 3, *S. haemolyticus* 4, *S. lugdunensis*, *S. epidermidis* 1, *Aerococcus viridans*) y sont résistantes avec une CMI qui varie entre 8 et 32 µg/mL.

Pour la Ciprofloxacine, toutes les souches ont montré une résistance (R+I), leur CMI varie entre 2 et 128 µg/mL.

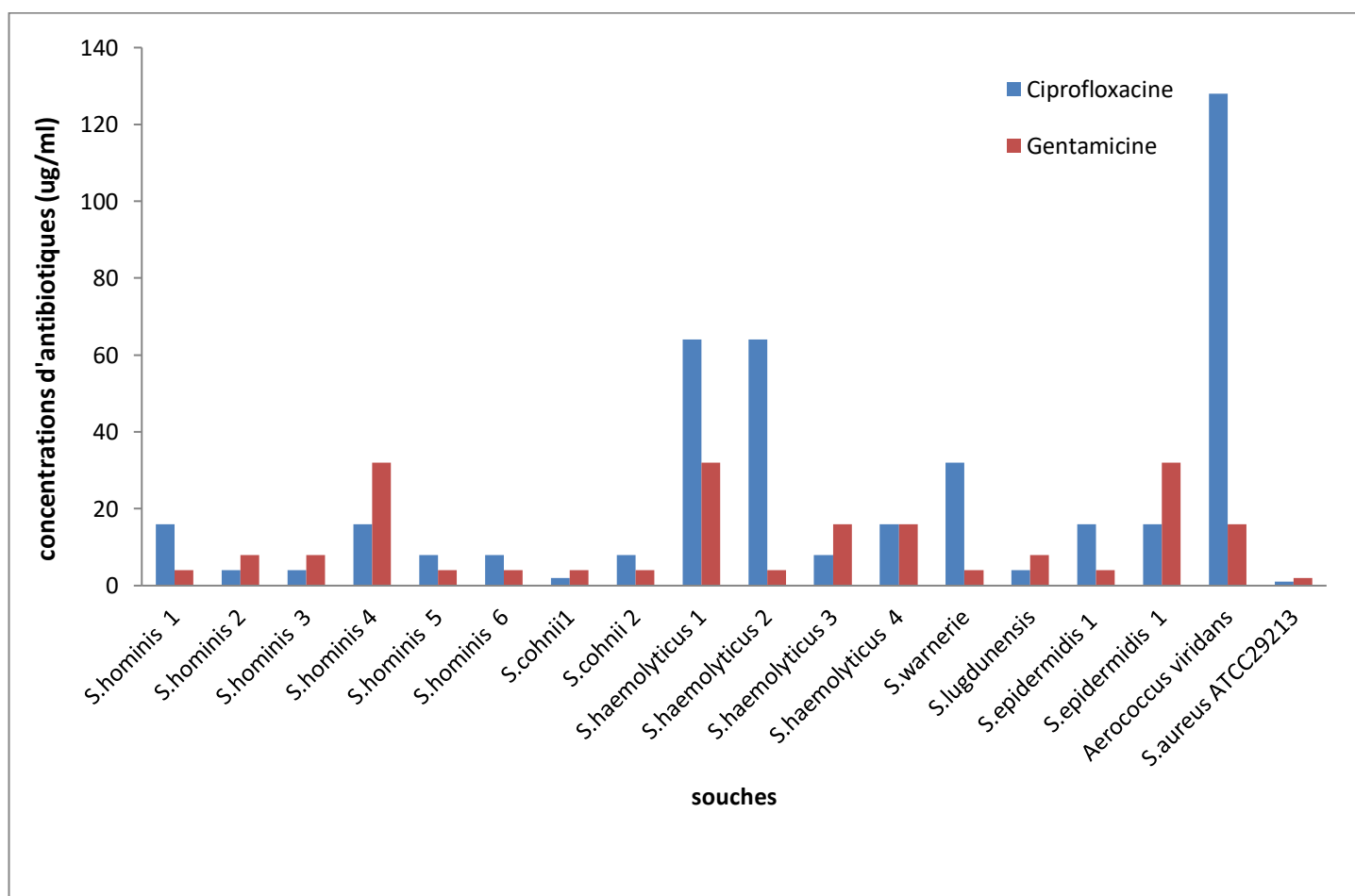


Figure N°03: Concentrations minimales inhibitrices de la ciprofloxacine et la gentamicine vis-à-vis des souches bactériennes gram positives

Ces résultats sont en accord avec ceux de **Sabzehali et al., 2015** qui ont étudié des souches de *Staphylococcus haemolyticus* et *Staphylococcus epidermidis* isolées de l'environnement hospitalier à Tahrán et ont constaté que 49% de ces souches étaient résistantes à la gentamicine.

De même, les travaux de **Brown et al., (2023)** qui ont mené leur étude sur un groupe de *Staphylococcus sp*, ont révélé que la majorité d'entre elles étaient résistantes à la ciprofloxacine.

En revanche, ces résultats contredisent ceux de **Assouma et al., (2023)** qui ont indiqué que la ciprofloxacine est l'antibiotique le plus efficace pour traiter les infections liées aux *Staphylococcus sp* et les *Enterobacter*. Ces bactéries montrant une sensibilité élevée vis-à-vis de cet antibiotique.

2. Quantification de la biomasse des biofilms formés *in vitro*

La figure N°4 regroupe les résultats de la quantification de la biomasse des biofilms formés *in vitro* par les 32 souches étudiées.

Selon les intervalles établis par **Kodori et coll., (2021)**, on observe que toutes les souches ont des densités optiques 5 à 12 fois plus élevées que le contrôle négatif, elles varient de 0,886 à 3,352 ce qui signifie qu'elles sont fortement formatrices de biofilms. Seule *S. haemolyticus* 3 demeure modérément formatrice de biofilms avec une DO de 0.523

Ces résultats rejoignent les conclusions de **Mendoza, (2016)** qui s'est focalisé sur les principaux agents responsables des infections associées aux soins notamment ceux liés à l'utilisation de cathéters, tels que *Staphylococcus hominis* et *Staphylococcus cohnii*. Cette étude a révélé que 97% des souches analysées étaient fortement formatrices de biofilms.

De même **Villarreal-Salazar et al., (2023)**, a montré que sur 115 isolats cliniques de *Staphylococcus hominis*, 96 (83,5 %) étaient des producteurs de biofilms, dont 90 (77,7 %) étaient fortement formatrices de biofilms.

En revanche, ces résultats contredisent ceux de **Marthur et al.,2006**, qui ont observé que parmi les 152 isolats de *Staphylococcus sp.*, notamment *Staphylococcus epidermis* isolées à partir de dispositifs infectés et de surfaces cutanées provenant de différents centres de soins en Inde, 70 (49.05%) étaient modérément formatrices de biofilms.

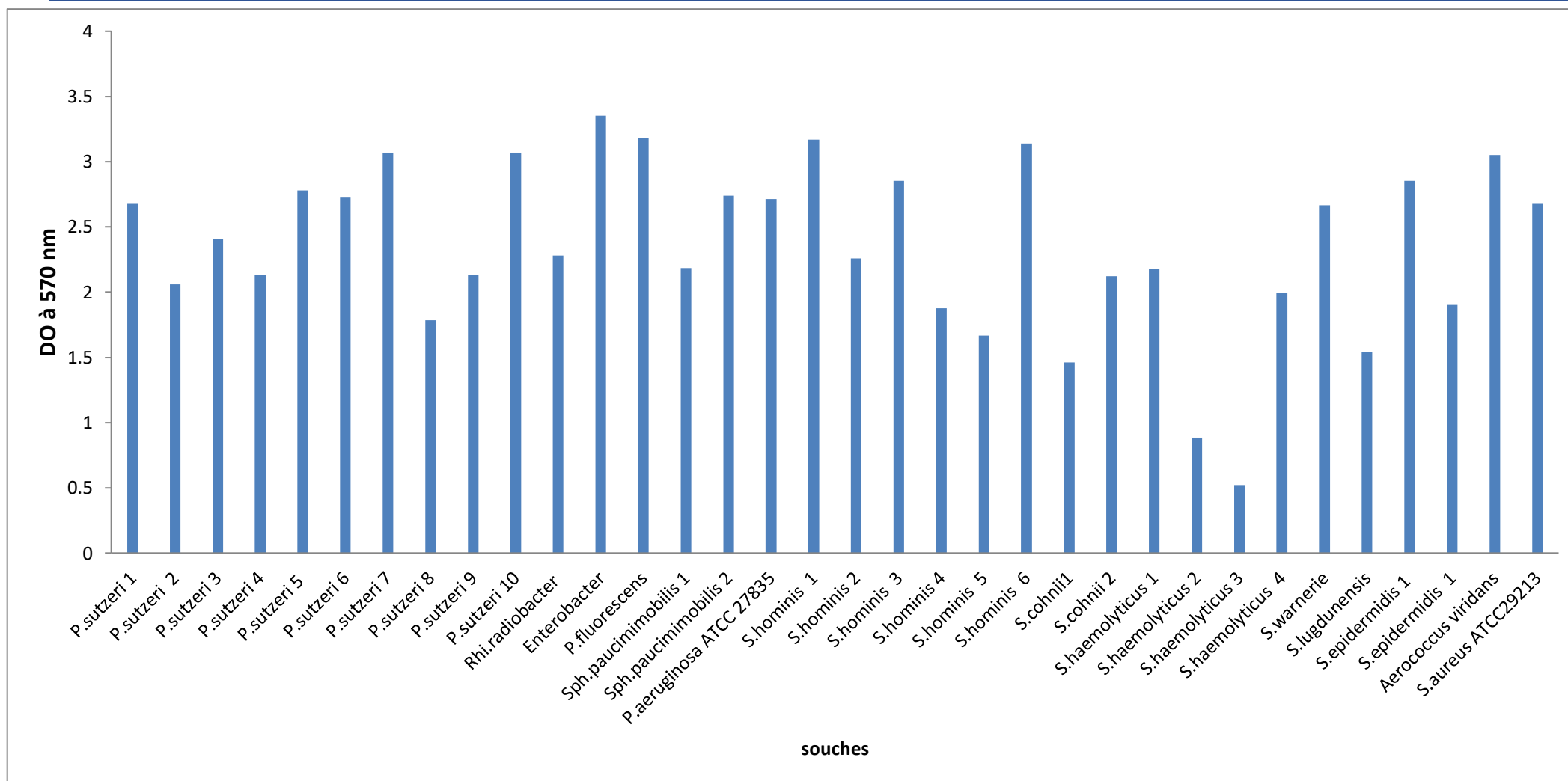


Figure N°04. : Biomasses des biofilms formés *in vitro* par les souches bactériennes quantifiées par la méthode de coloration au cristal violet

Quatrième partie
Conclusion générale

Notre étude a porté sur l'évaluation de la sensibilité de souches bactériennes isolées au service de chirurgie A du Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Tlemcen vis-à-vis de deux antibiotiques, la gentamicine et la ciprofloxacine et la mise en évidence de leur potentiel à former des biofilms *in vitro*.

Les principaux résultats de ce travail peuvent être résumés comme suit :

- Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des antibiotiques testés, pour les bactéries gram négatives, vont de 2 à 64 µg/mL pour la ciprofloxacine, et de 4 à 64 µg/mL pour la gentamicine.
- Pour les bactéries gram positives, les concentrations de la gentamicine se situent entre 2 et 32 µg/mL, tandis que celles de la ciprofloxacine, sont comprises entre 2 à 128 µg/mL.
- Sur les 32 souches testées, 11 (34.37%) se sont révélées sensibles à la gentamicine, incluant 8 bactéries gram positives et 3 bactéries gram négatives. En revanche, 21 souches (65.62%) se sont avérées résistantes.
- De plus, toutes les souches ont présenté une résistance à la Ciprofloxacine.
- La quantification de la biomasse des biofilms formés *in vitro* par les souches étudiées a montré que toutes les souches sont classées comme fortement formatrices de biofilms. Seule la souche *Staphylococcus haemolyticus* 3 est modérément formatrice de biofilms.

Pour approfondir ce travail, il serait intéressant :

- D'associer plusieurs antibiotiques et tester leur sensibilité vis à vis de nos souches.
- D'évaluer le potentiel des souches à former des biofilms multi-espèces.
- D'évaluer l'activité métabolique des biofilms mono et multi-espèces formés *in vitro*

Cinquième partie

Références bibliographiques

1. Astagneau, P. (2022). ITEM 4 Infections associées aux soins. Dans *Santé publique* (5e éd.). Elsevier Masson.
2. Assefa, M., & Amare, A. (2022). Biofilm-associated multi-drug resistance in hospital-acquired infections: A review. *Infection and Drug Resistance*, 15, 5061–5068.
3. Assouma, F. F., Sina, H., Adjobimey, T., Noumavo, A. D. P., Socohou, A., Boya, B., & Baba-Moussa, L. (2023). Susceptibility and virulence of Enterobacteriaceae isolated from urinary tract infections in Benin. *Microorganisms*, 11(1), 213.
4. Assouma, F. F., Sina, H., Dossou, A. D., Socohou, A., Hounsou, M. C., Avogbe, P. H., & Baba-Moussa, L. (2023). Antibiotic resistance profiling of pathogenic Staphylococcus species from urinary tract infection patients in Benin. *BioMed Research International*, 2023(1), 634128.
5. Bouyahya, A., Bakri, Y., Et-Touys, A., Talbaoui, A., Khouchlaa, A., Charfi, S., & Dakka, N. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. *Phytothérapie*, 16(S1), 173-183.
6. Browne, K., Kuppusamy, R., Walsh, W. R., Black, D. S., Willcox, M. D., Kumar, N., & Chen, R. (2023). Antimicrobial peptidomimetics prevent the development of resistance against gentamicin and ciprofloxacin in Staphylococcus and Pseudomonas bacteria. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(19), 14966.
7. Carle, S. (2009). La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel*, 42(2), 6-21.
8. Cassini, A., Plachouras, D., Eckmanns, T., Abu Sin, M., Blank, H. P., Ducomble, T., & Suetens, C. (2016). Burden of six healthcare-associated infections on European population health: Estimating incidence-based

disability-adjusted life years through a population prevalence-based modelling study. *PLOS Medicine*, 13(10), e1002150.

9. Christensen, G. D., Simpson, W. A., Younger, J. J., Baddour, L. M., Barrett, F. F., Melton, D. M., et Beachey, E. H. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: A quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(6), 996–1006.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2016). *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing* (26th ed.). CLSI supplement M100.
11. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2016). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (26th ed.). CLSI supplement M100S.
12. Coenye, T., Ahonen, M., Anderson, S., Cámara, M., Chundi, P., Fields, M., & Webb, J. S. (2024). Global challenges and microbial biofilms: Identification of priority questions in biofilm research, innovation and policy. *Biofilm*, 8, 100210.
13. Ghane, M., & Azimi, Z. (2014). Isolation, identification and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas* spp. isolated from hospital environment in Tonekabon, North of Iran. *Journal of Applied & Environmental Microbiology*, 2(4), 97-101.
14. Jean, S. (2025). *Présence de bactéries pathogènes dans les biofilms laitiers retrouvés à la fromagerie artisanale* [Thèse de doctorat, Université Laval].
15. Kamath, K., Kumar, H. S., & Shabaraya, A. R. (2023). A comprehensive review on prevention and management of hospital-acquired infections: Current strategies and best practices. *International Journal of Biology Pharmacy and Allied Sciences*, 6(2), 149-155.

16. Kodori, M., Nikmanesh, B., Hakimi, H., Ghalavand, Z., 2021. Antibiotic susceptibility and biofilm formation of bacterial isolates derived from pediatric patients with cystic fibrosis from Tehran, Iran. *Arch. Razi Inst.* 76, 397–406.
17. Larsson, D. J., & Flach, C. F. (2022). Antibiotic resistance in the environment. *Nature Reviews Microbiology*, 20(5), 257-269.
18. Lewis, R. (2009, 23 avril). *The rise of antibiotic-resistant infections*. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/drugs/information-consumers-and-patients-drugs/rise-antibiotic-resistant-infections>
19. Liu, H. Y., Prentice, E. L., & Webber, M. A. (2024). Mechanisms of antimicrobial resistance in biofilms. *npj Antimicrobials and Resistance*, 2(1), 27.
20. Mandell, G. L., Bennett, J. E., & Dolin, R. (2009). *Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases* (7e éd.). Churchill Livingstone.
21. Masia, M. D., & Dettori, M. (2022). Antimicrobial resistance, healthcare-associated infections, and environmental microbial contamination. *Healthcare*, 10(2), 242.
22. Matte, J. (2025). *Suivi de la formation de biofilms bactériens en produits sanguins* [Mémoire de maîtrise, Université de Montréal].
23. 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), 25-29.
24. Maillard, J. Y., & Centeleghe, I. (2023). How biofilm changes our understanding of cleaning and disinfection. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 12(1), 95.

25. Mendoza Olazarán, S. S. (2016). *Caracterización fenotípica y molecular de aislamientos clínicos de staphylococcus hominis, staphylococcus cohnii y staphylococcus sciuri* [Thèse de doctorat, Universidad Autónoma de Nuevo León].
26. Rather, M. A., Gupta, K., & Mandal, M. (2021). Microbial biofilm: Formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(4), 1701–1718.
27. Sabzehali, F., Goudarzi, M., & Goudarzi, H. (2015). Determination of antibiotic resistance in clinical isolates of coagulase negative Staphylococci from hospitalized patients in selected hospitals of Tehran. *Archives of Advances in Biosciences*, 6(2), 31-37.
28. Seghir, A., Boucherit-Otmani, Z., Boucherit, K., Sari-Belkharroubi, L., & Anselme-Bertrand, I. (2015). Evaluation of mixed biofilm formation between *Candida albicans* and a variety of bacterial species isolated from peripheral catheters at Tlemcen CHU. First study in Algeria. *Journal de Mycologie Medicale*, 25(2), 123-129.
29. Siewe Yamdjeu, L. (2025). Etude des profils bacteriologiques des infections associées aux soins dans le service d'accueil des urgences du CHU Gabriel Toure [Thèse de doctorat, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako].
30. Sikora, A., & Zahra, F. (2020). Nosocomial infections. Dans *StatPearls*. StatPearls Publishing.
31. Tremblay, Y. D., Hathroubi, S., & Jacques, M. (2014). Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78(2), 110-116.
32. Villarreal-Salazar, V., Mendoza-Olazarán, S., Flores-Treviño, S., Garza-González, E., Bocanegra-Ibarias, P., Morfín-Otero, R., & Villarreal-Treviño, L.

- (2023). Rapid methicillin resistance detection and subspecies discrimination in *Staphylococcus hominis* clinical isolates by MALDI-TOF MS. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 41, 83-89.
33. Zhao, T., Chen, N., Zhang, M., Lin, L., Lin, B., Fang, Y., ... & Liang, C. (2025). Bibliometric analysis of global research on the clinical applications of aminoglycoside antibiotics: improving efficacy and decreasing risk. *Frontiers in Microbiology*, 16, 1532231.