

**RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID TLEMCEM  
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE, DE LA VIE DE LA TERRE ET DE  
L'UNIVERS**



**DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE**

Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement  
« LAMAABE »

**Mémoire de MASTER**

Présenté par

**BENCHERIF Nesrine  
SLIMANI Marwa**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie  
Option : Microbiologie Fondamentale

**Étude de quelques paramètres influençant la formation de  
biofilms des souches bactériennes d'origine hospitalière**

**Soutenu le 29/06/2025, devant le jury composé de :**

Présidente	HASSAINE Hafida	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	RAHMOUN Malika	MCB	Université de Tlemcen
Encadrante	GAOUAR Sara	MCB	Université de Tlemcen

**Année universitaire : 2024-2025**

# Remerciements

*Avant tout, on remercie Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Ce travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement « LAMAABE » de l'Université Abou Berk Belkaid sous la direction de Monsieur **REBIAHI Sid Ahmed**, professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie, sciences de la terre et de l'univers, Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen.*

*Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Mme **HAMEDI-GAOUAR Sara**, notre encadrante, pour son accompagnement constant tout au long de ce travail. Grâce à sa disponibilité, sa patience, sa bienveillance et ses conseils précieux, chaque défi a pu être transformé en objectif accompli. Son soutien a grandement nourri notre réflexion et enrichi notre parcours.*

*Nous remercions également Mme **HASSAINE Hafida**, présidente du jury, pour avoir accepté d'évaluer notre travail et pour la qualité de ses remarques et recommandations, qui témoignent de sa rigueur et de son engagement.*

*Nos sincères remerciements vont également à Mme **RAHMOUN Malika** pour le temps qu'elle a consacré à la lecture et à l'évaluation de ce mémoire.*

*Nous exprimons notre reconnaissance à Madame l'ingénieure de laboratoire pour son aide précieuse au cours de nos expériences pratiques.*

*Nous remercions sincèrement l'équipe de l'hôpital pour sa disponibilité, son accueil et son précieux soutien tout au long de notre travail.*

*Enfin, nous remercions du fond du cœur toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.*

# Dédicace

*Je dédie ce mémoire à mes parents,*

*À mon père, Slimani Soufi, et à ma mère, Benghomari Mama,  
Mes premiers maîtres de vie, dont les sacrifices silencieux, l'amour indéfectible et les valeurs  
transmises ont été les pierres angulaires de mon parcours.*

*À mes chères grands-mères,  
Gardiennes de la sagesse et de la prière, dont les bénédictions m'ont toujours précédé dans  
l'ombre du silence.*

*À mes sœurs -Bouchra, Israa et Meriem-  
Pour leur affection constante, leur présence lumineuse, et leur soutien qui a su combler les  
jours d'incertitude.*

*À mes amis,  
Compagnons de route dans cette aventure exigeante, pour les éclats de rire, les pauses café,  
et les instants de légèreté offerts au milieu du tumulte.*

*À mes enseignants,  
Pour leurs conseils avisés et leur engagement à nous transmettre bien plus qu'un savoir :  
une rigueur, une méthode, une passion.*

*Et enfin, Je dédie aussi ce travail à celle ou celui qui, un jour, lira cette page sans me  
connaître, à toi qui doutes, hésites, ou peines parfois à croire en toi et sache que tu peux y  
arriver, toi aussi.*

**Marwa**

# Dédicace

*Avant tout je remercie ALLAH, le tout puissant, pour sa grâce infinie et son soutien constant,  
et que la paix et la bénédiction soient sur notre prophète Muhammad*

*Je dédie ce travail à ceux qui ont été ma force, mon souffle et mon soutien tout au long de ce  
chemin*

*A mon père, qui m'a toujours poussé à me dépasser, même quand je doutais, et dont la fierté  
a toujours été ma plus belle récompense.*

*A ma mère, l'étoile de ma vie, celle dont l'amour et la tendresse ont illuminé chaque pas,  
sans elle, je ne serais jamais allée si loin.*

*A mes chères sœurs et mon cher fiancé, mes complices, mes alliés de cœur, merci pour vos  
mots doux et votre présence constante,*

*A mes cousines et mes amies les plus proches, qui ont partagé mes joies, mes fous rires et  
mes nuits blanches, vous avez donné une couleur unique à cette aventure.*

*A tout autre membre de famille, merci pour votre présence rassurante et vos prières.*

*Et enfin, à toi qui tiens ce mémoire entre tes mains,*

*Merci de lui accorder de ton temps, de ton regard et de ton attention. J'espère que tu y  
trouveras autant de passion que j'en ai mis à le construire.*

**NESRINE**

## الملخص

يُعدّ تكوّن البيوفيلم على سطح أنابيب التنبيب الرغامي عامل خطر رئيسي في الإصابة بالالتهاب الرئوي المرتبط بالتهوية الاصطناعية. يهدف عملنا إلى دراسة التنوع البكتيري والقدرة على تكوين البيوفيلم لدى السلالات المعزولة من هذه الأنابيب باستخدام طريقتي الكونغو الأحمر وطريقة الزراعة في الأطباق النسيجية. كما قمنا باختبار تأثير بعض العوامل البيئية (درجة الحرارة، الرقم الهيدروجيني، طبيعة الوسط، وتركيز الجلوكوز) على تكوين البيوفيلم من قبل السلالات المعزولة. في هذه الدراسة، تم جمع عشرة عينات من مرضى مقيمين في الأقسام ذات الخطورة العالية في مستشفى الجامعة بتلمسان. تم عزل 28 سلالة بكتيرية، كانت الأكثر شيوعًا: كلبسيلا الرئوية بنسبة 39%، والمكورات العنقودية الذهبية بنسبة 25%، والزائفة الزنجارية بنسبة 14%. وفقًا لطريقة الأطباق النسيجية تبين أن 54% من العزلات كانت منتجة جيدة للبيوفيلم. لوحظ أن تكوين البيوفيلم كان أكثر وضوحًا عند درجة حرارة 37 درجة مئوية وعند pH محايد وقاعدي. كما ساهمت طبيعة وسط الزرع ووجود الجلوكوز في تحفيز تكوين البيوفيلم. فهم تأثير العوامل البيئية على عملية تكوين البيوفيلم أمر بالغ الأهمية للحد من خطر العدوى المرتبطة بأنابيب التنبيب الرغامي.

**الكلمات المفتاحية:** أنبوب التنبيب الرغامي، تلوث، بكتيريا، بيوفيلم، درجة الحرارة، الرقم الهيدروجيني، وسط

الزرع، الجلوكوز

## Résumé

La formation du biofilm à la surface des sondes endotrachéales (SET) constitue un facteur de risque majeur pour la pneumonie associée à la ventilation mécanique. L'objectif de notre travail vise à étudier l'écologie bactérienne ainsi la capacité de la formation de biofilm chez des souches isolées des SET par la méthode Rouge Congo et la méthode de culture de tissu en plaque (TCP), ainsi de tester l'effet de certains facteurs environnementaux (la température, le pH, la nature du milieu et la concentration en glucose) sur la formation de biofilm par les souches isolées. Dans cette étude, dix échantillons ont été recueillis auprès de patients admis dans les services à risque du CHU de Tlemcen. 28 souches bactériennes ont été isolées, avec majoritairement *Klebsiella pneumoniae* (39%), *Staphylococcus aureus* (25%), et *Pseudomonas aeruginosa* (14%). Selon la technique TCP, 54% des isolats étaient de bons producteurs de biofilm *in vitro*. La formation du biofilm était prononcée à 37°C et à pH neutre et basique. La nature du milieu de culture ainsi que le glucose stimulaient la formation de biofilm. Comprendre l'influence des facteurs environnementaux sur le processus de la formation du biofilm est crucial afin de minimiser le risque infectieux liée aux SET.

**Mots clés :** sonde endotrachéale, contamination, bactérie, biofilm, température, pH, milieu de culture, glucose.

## **Abstract**

The biofilm formation on endotracheal tubes surface (ETS) is a major risk factor for ventilator-associated pneumonia (VAP). The aim of this study is to investigate the bacterial ecology and the biofilm-forming ability of strains isolated from ETTs using the Congo Red method and the Tissue Culture Plate (TCP) method. We also tested the effect of certain environmental factors (temperature, pH, culture medium type, and glucose concentration) on biofilm formation by the isolated strains. In this study, ten samples were collected from patients admitted to high-risk units at the University Hospital of Tlemcen. A total of 28 bacterial strains were isolated, with the most frequent being *Klebsiella pneumoniae* (39%), *Staphylococcus aureus* (25%), and *Pseudomonas aeruginosa* (14%). According to the TCP method, 54% of the isolates were strong biofilm producers *in vitro*. Biofilm formation was most pronounced at 37°C and at neutral to basic pH levels. The type of culture medium as well as the presence of glucose stimulated biofilm formation. Understanding how environmental factors influence the biofilm formation process is crucial in minimizing the infection risk associated with ETS.

**Keywords:** Endotracheal tube, contamination, bacteria, biofilm, temperature, pH, culture medium, glucose.

## TABLE DES MATIERES

### Liste des abréviations

### Liste des figures

### Liste des tableaux

<b>Introduction générale</b> .....	01/03
------------------------------------	-------

### **Première partie : Partie bibliographique**

<b>Chapitre I : Risque infectieux lié aux sondes endotrachéales</b> .....	04
---	----

1. Définition de la sonde endotrachéale.....	05
--	----

2. Structure de la sonde endotrachéale.....	05
---	----

3. Les infections associées à la sonde endotrachéale.....	06
---	----

3.1. Pneumonie associée à la ventilation mécanique.....	06
---	----

4. Facteurs de risque liés aux sondes endotrachéales.....	07
---	----

4.1. Facteurs de risque endogènes.....	07
--	----

4.2. Facteurs de risque exogènes.....	07
---------------------------------------	----

<b>Chapitre II : Biofilms bactériens</b> .....	08
--	----

1. Définition et étape de formation de biofilms.....	09
--	----

1.1 Adhésion initiale réversible .....	09
--	----

1.2. Adhésion irréversible .....	10
----------------------------------	----

1.3 Le développement précoce du biofilm .....	10
---	----

1.4 La maturation du biofilm .....	10
------------------------------------	----

1.5 Dispersion du biofilm .....	10
---------------------------------	----

2. La régulation du biofilm .....	10
-----------------------------------	----

3. Biofilm sur sondes endotrachéales.....	11
---	----

<b>Chapitre III : Facteurs influençant à la formation de biofilms</b> .....	13
---	----

1. Les facteurs structuraux.....	14
----------------------------------	----

1.1. Substances polymériques extracellulaires (EPS).....	14
--	----

1.2. Les Pili .....	14
---------------------	----

1.3. Flagelles .....	15
----------------------	----

1.4. Hydrophobicité de la surface cellulaire .....	15
--	----

2. Les facteurs environnementaux .....	15
--	----

2.1 Les concentrations en nutriments .....	15
--	----

2.2. La température .....	16
---------------------------	----

2.3. Le pH.....	16
-----------------	----

2.4. La concentration en oxygène .....	16
2.5. Forces hydrodynamiques et cisaillement .....	17
3. Facteurs liés à la surface.....	17
4. Facteurs de régulation génétique.....	17
<b>Deuxième partie : Matériel et méthode.....</b>	<b>18</b>
1. Prélèvements.....	19
2. Ensemencement et isolement.....	19
3. Conservation des souches .....	20
4. Étude de la formation de biofilm <i>in-vitro</i> des souches isolées.....	20
4.1. Technique du Rouge Congo agar (RCA).....	20
4.2. Méthode de plaque de culture de tissus (TCP) .....	21
5. Étude de la formation d'un biofilm de 24h sous conditions de culture.....	22
5.1. Effet de la température .....	22
5.2. Effet du pH .....	22
5.3. Effet du milieu.....	22
5.4. Effet des concentrations en glucose .....	22
<b>Troisième partie: Résultats et discussion.....</b>	<b>23</b>
1. Prélèvement et isolement.....	24
2. Caractères bactériologiques des souches isolées.....	26
2.1. Aspect macroscopique des souches isolées sur les milieux sélectifs .....	26
2.2. Aspect microscopique des souches isolées .....	27
2.3. Etude des caractères biochimiques des souches isolées .....	28
3. Evaluation de la formation de biofilm chez les souches isolées .....	29
3.1. Technique de Rouge Congo Agar (RCA).....	29
3.2. Technique de microplaques 96 puits (TCP) .....	30
4. Étude de la formation d'un biofilm de 24h sous conditions de culture .....	31
4.1 Effet de la température.....	33
4.2 Effet du pH.....	34
4.3 Effet du milieu de culture.....	35
4.4 Effet du glucose.....	36
<b>Conclusion.....</b>	<b>39</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>41</b>
<b>Annexes</b>	

## Liste des abréviations

**DO** : Densité optique

**EPS** : Exopolyssacharide

**IAS** : Infection associée aux soins

**PAVM** : Pneumonie associée à la ventilation mécanique

**PAV** : Pneumonie associée à la ventilation

**PVC** : Chlorure de polyvinyle

**QS** : Quorum sensing

**RCA** : Rouge Congo Agar

**TCP** : Méthode de plaque de culture de tissus

## Listes des figures

<b>Figure 1 :</b>	Composants de base d'une sonde endotrachéale.....	05
<b>Figure 2 :</b>	Les étapes de formation de biofilm.....	09
<b>Figure 3 :</b>	La formation du biofilm sur sonde endotrachéale.....	11
<b>Figure 4 :</b>	Présence du biofilm sur une sonde endotrachéale observée au microscope électronique à balayage.....	11
<b>Figure 5 :</b>	L'extrémité distale d'une sonde endotrachéale dans 5ml de sérum physiologique...	19
<b>Figure 6 :</b>	Les étapes de la formation du biofilm par la technique TCP .....	21
<b>Figure 7 :</b>	Un prélèvement d'une sonde endotrachéale.....	24
<b>Figure 8 :</b>	Les souches bactériennes isolées des sondes endotrachéales... ..	25
<b>Figure 9:</b>	Aspect macroscopique de souches isolées sur les milieux sélectifs .....	26
<b>Figure 10:</b>	Test de la coagulase en tube.....	27
<b>Figure 11 :</b>	Aspect microscopique des souches étudiées après coloration de Gram grossissement X100.....	27
<b>Figure 12:</b>	Résultats de l'identification des souches par la galerie API.....	28
<b>Figure 13:</b>	Production de slime sur milieu Rouge Congo par les souches isolées.....	29
<b>Figure 14 :</b>	Résultats de la quantification de la formation de biofilm par les souches isolées des sondes endotrachéales.....	31
<b>Figure 15:</b>	Effet de la température sur la formation de biofilm des souches étudiées.....	33
<b>Figure 16 :</b>	Effet de milieu de culture sur la formation de biofilm des souches isolées.....	34
<b>Figure 17 :</b>	Effet de milieu de culture sur la formation de biofilm des souches isolées.....	35
<b>Figure 18 :</b>	Effet du glucose sur la formation de biofilm des souches étudiées.....	36

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1 :</b> Résultats du test du Rouge Congo.....	29
<b>Tableau 2 :</b> Résultats de la technique de TCP.....	31

# **INTRODUCTION**

Les infections associées aux soins (IAS) constituent un enjeu majeur pour les systèmes de santé à l'échelle mondiale. Ce sont des infections qui se manifestent à partir du troisième jour suivant l'admission d'un patient à l'hôpital. Elles peuvent prolonger la durée d'hospitalisation, alourdir les charges financières des patients et de leurs familles, et augmenter le risque de mortalité [(Cappelli et al., 2024) ;(Khavandegar et al., 2025) ; (Sandu et al., 2025)].

La pneumonie sous ventilation mécanique est parmi les infections les plus répandues dans le monde, et les plus courantes dans les unités des soins intensifs. Ces infections sont liées à la ventilation mécanique et à la procédure d'intubation trachéale invasive [(Marcut et al., 2023) ; (Bisneto et al., 2024) ; (Khavandegar et al., 2025) ; (Sandu et al., 2025)].

La colonisation des sondes endotrachéales par des micro-organismes est un phénomène fréquent chez les patients sous ventilation mécanique, En plus, la formation des biofilms sur les surfaces de ces dispositifs pose un problème particulier. Plusieurs études indiquent que les infections associées à la croissance du biofilm sont généralement difficiles à éradiquer, en raison de leur maturité dans les dispositifs médicaux comme les sondes endotrachéales. Ils représentent aussi une résistance majeure face aux traitements antimicrobiens et aux défenses naturelles de l'organisme [(Thorarinsdottir et al., 2020) ; (Schulze et al., 2021) ;(Haas et al., 2023) ; (Zhao et al., 2023)].

La formation du biofilm est un processus complexe, influencé par une multitude de facteurs biologiques, chimiques et environnementaux qui interagissent de manière synergique. Cette complexité explique le développement des biofilms dans divers environnements, allant des milieux naturels aux environnements cliniques [(Chaves simoes et al., 2023) ; (Rumbaugh et al., 2025)].

C'est dans ce contexte général que nous avons été amenés à entreprendre ce présent travail qui a pour objectifs :

- D'isoler des souches bactériennes à partir de sondes endotrachéales.
- D'évaluer *in-vitro* la capacité de souches isolées à former un biofilm par différentes techniques.
- D'étudier *in-vitro* l'influence de certains paramètres environnementaux (la température, le pH, la nature du milieu et la concentration en glucose) sur la formation de biofilm par les souches isolées.

**CHAPITRE 01 :**

**RISQUE INFECTIEUX LIÉ AUX SONDES**

**ENDOTRACHÉALES**

Un dispositif médical désigne tout instrument, appareil, matériel ou équipement destiné à une utilisation médicale chez l'homme. Un dispositif médical implanté est conçu pour être totalement ou partiellement intégré au corps humain, à des fins diagnostiques et thérapeutiques (**Tétart, 2023**).

La pneumonie associée à la ventilation mécanique (PAVM) est parmi les IAS les plus courantes et qui est associée à l'usage de dispositifs médicaux invasifs cruciaux appelés sondes endotrachéales [(**Barnes et al., 2019**) ; (**Marcut et al., 2023**)].

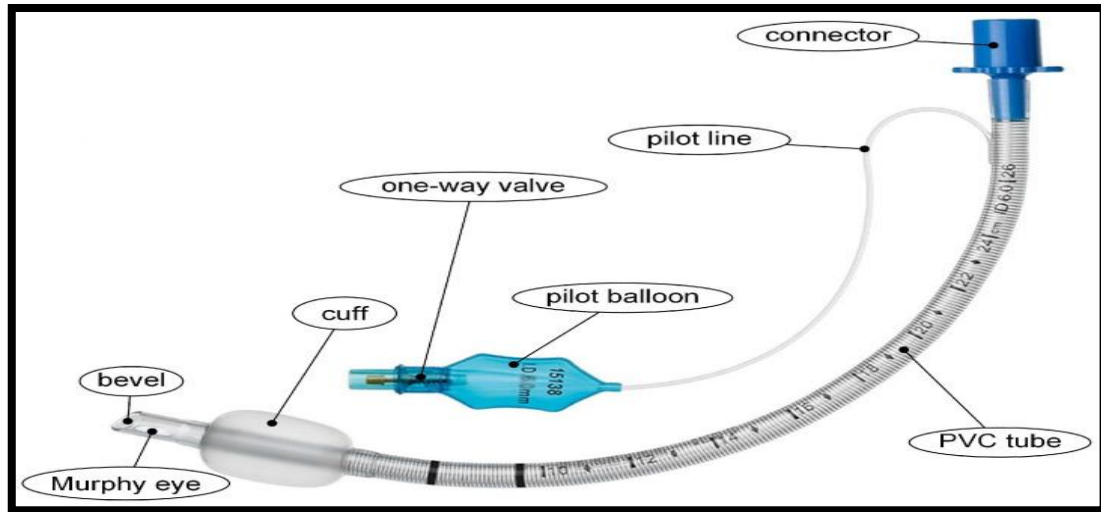
### 1. Définition de la sonde endotrachéale

La sonde endotrachéale (SET) appelée aussi ; tube endotrachéal, est un instrument en chlorure de polyvinyle (PVC) positionné entre les cordes vocales et inséré dans la trachée pour faciliter non seulement la ventilation mécanique (l'apport d'oxygène et autres gaz inhalés vers les poumons), mais aussi pour protéger les voies respiratoires du patient contre l'aspiration du contenu de l'estomac [(**Kumar et al., 2020**) ; (**Ahmed et Boyer, 2023**)].

### 2. Structure de la sonde endotrachéale

Les sondes endotrachéales présentent des caractéristiques standardisées ; selon **Haas et al., (2014)**, la SET est constituée de l'association de plusieurs éléments (**Figure 1**) dont :

- Un tube contenant des graduations qui permet aux cliniciens d'évaluer la profondeur d'insertion et de surveiller les déplacements de la sonde. Certains tubes disposent également de marquages spécifiques pour guider l'insertion correcte sous vision directe.
- L'extrémité du tube est biseautée vers la gauche, mené d'un orifice latéral appelé œil de Murphy qui est souvent présent sur le tube afin d'assurer la ventilation en cas d'obstruction de l'orifice principal.
- Un ballonnet gonflable situé à l'extrémité de tube, formant un joint étanche avec la paroi trachéale pour prévenir les fuites de gaz et l'aspiration de sécrétions. Ce ballonnet est relié à un ballonnet pilote externe via une ligne pilote creuse, et une valve unidirectionnelle qui permet le contrôle de la pression.
- Un connecteur standardisé de 15 mm permet le raccordement à différents équipements de ventilation.



**Figure 1** : Composants de base d'une sonde endotrachéale (Marcut et al., 2023)

### 3. Les infections associées à la sonde endotrachéale

Bien qu'ils soient indispensables d'utiliser des SET pour le traitement des patients en soins intensifs, cela constitue des voies d'accès directes pour les agents pathogènes d'origine endogènes et exogènes, ce qui favorise la colonisation bactérienne d'où un facteur de risque significatif pour les IAS [(Barnes et al., 2019) ; (Boulet et al., 2024) ; (Rajandra et al., 2025)]. Parmi les plus graves infections associées aux SET, on cite la pneumonie associée à la ventilation mécanique (PAVM).

#### 3.1. Définition de la pneumonie associée à la ventilation mécanique

Une pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) représente la forme la plus sévère de pneumonies associées aux soins. Elle constitue une infection du tissu pulmonaire qui se produit au moins de 48h après le début d'une ventilation mécanique [(Palau et al., 2022), (Alves et al., 2023) ; (Marc et al., 2023)].

Les PAVM représentent environ 15 % des IAS, se classant au deuxième rang des sites infectés, aux côtés des infections du site opératoire. Leur incidence varie de 0,5 à 1 cas pour 100 admissions, mais elle est multipliée par 6 à 20 chez les patients sous ventilation mécanique, qu'ils soient adultes ou enfants. Cela fait des PAVM la principale infection en réanimation, avec une incidence estimée entre 1 et 4 épisodes pour 1 000 jours de ventilation [(Nyunga, 2011) ; (Hajoubi, 2019)].

Les patients développant une pneumopathie présentent souvent un séjour prolongé sous ventilation mécanique, favorisant la colonisation bactérienne des voies respiratoires, la micro aspiration, ainsi que des altérations immunitaires importantes (Marcut et al., 2023). Ces conditions sont associées à une augmentation des coûts de soins, une survenue fréquente de multirésistante bactérienne, ainsi qu'à une morbidité et une mortalité élevée (Meregildo-Rodriguez et al., 2025).

#### 4. Les facteurs de risque liés sondes endotrachéales

Selon Beilenhoff, (2023), les infections associées aux sondes endotrachéales peuvent être classées en infections endogènes (liés au patient), et exogènes (liés aux soins et à l'environnement hospitalier).

##### 4.1. Facteurs de risque liés aux infection endogènes

-**Le jeune âge** : les nourrissons ( $\leq 2$  ans) présentent un risque plus élevé d'infections associées aux SET (Baklouti et al., 2024).

-**La comorbidité** : le diabète constitue un risque accru d'infections associées aux SET (Benhamida et al., 2020).

##### 4.2. Facteurs de risque liés aux infection exogènes

-**La durée d'intubation** : une intubation de longue durée accroît considérablement le risque d'IAS. En outre, la colonisation microbienne et le développement de biofilms sur les dispositifs médicaux sont facilitée par une hospitalisation prolongée [(Touman et Stratakos, 2018) ; (Bouhrour et al., 2024) ; (Sethi, 2024)].

-**L'asepsie** : le risque de PAVM peut être accru par le non-respect des procédures d'asepsie (Rajandra et al., 2025).

-**L'admission en soins intensifs** : le placement en unité de soins intensifs est un facteur reconnu qui augmente le risque d'IAS. Cette vulnérabilité découle à la fois de la sévérité de l'état clinique des patients, généralement immunodéprimés ou souffrant d'insuffisances multiviscérales, et de leur exposition à divers appareils invasifs tels que les sondes endotrachéales (Blot et al., 2022).

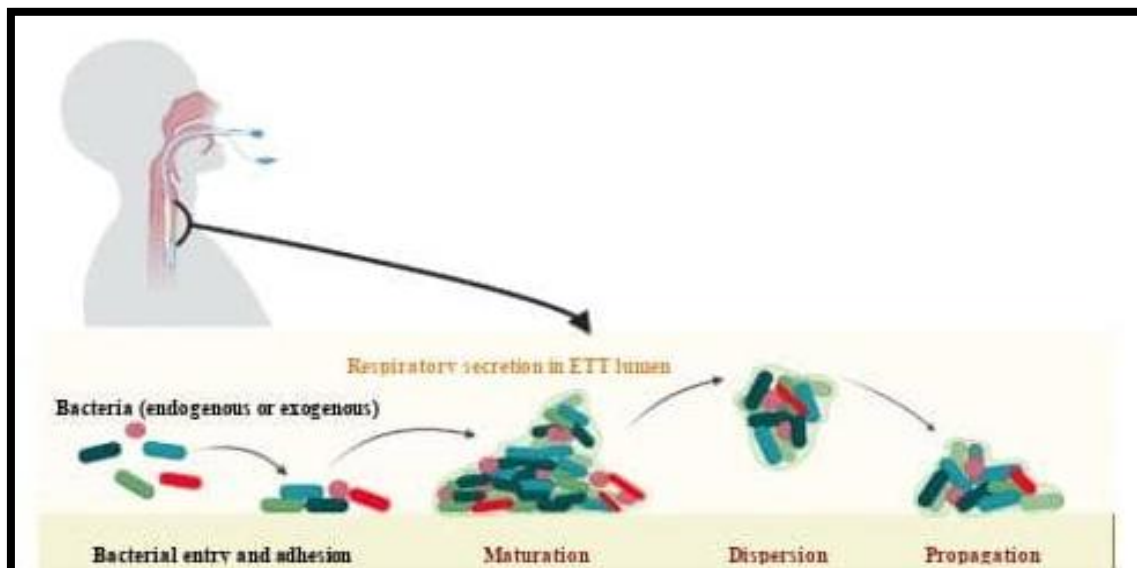
**CHAPITRE II :**  
**BIOFILMS**  
**BACTERIENS**

Les biofilms se forment lorsque des bactéries planctoniques s'installent sur des surfaces, organiques ou inorganiques, et s'y regroupent en communautés en produisant une matrice protectrice composée de polymères extracellulaires riches en glucides, de protéines, et d'acides nucléiques [(Barnes *et al.*, 2023) ; (Wang *et al.*, 2024)].

Les biofilms constituent un vecteur important dans la survenue des IAS, ils posent un problème particulier en raison de leur persistance sur les surfaces, notamment sur les dispositifs médicaux formant ainsi un véritable réservoir infectieux, souvent difficile à éradiquer. Ils représentent aussi une résistance majeure face aux traitements antimicrobiens et aux défenses naturelles de l'organisme [(Schulze *et al.*, 2021) ;(Haas *et al.*, 2023) ; (Zhao *et al.*, 2023)].

### 1. Les étapes de formation du biofilm

Le processus de formation du biofilm se déroule en plusieurs étapes (**Figure 2**) :



**Figure 02** : Les étapes de formation du biofilm (Marcut *et al.*, 2023)

#### 1.1. Adhésion initiale réversible

Les cellules bactériennes planctoniques s'adhèrent de façon réversible aux surfaces biotiques ou abiotiques par l'intermédiaire d'interactions physico-chimiques (srinivasan *et al.*, 2021). Cette adhésion est facilitée par des organites extracellulaires, telles que les flagelles et les pili présents à la surface cellulaire (samrot *et al.*, 2021).

### 1.2. Adhésion irréversible

Les bactéries adhèrent de manière irréversible à la surface à travers des interactions plus stables. Elles synthétisent une matrice des exo polysaccharides (EPS) (**Armbruster et Parsek, 2018**).

### 1.3. Le développement précoce du biofilm

Une fois fermement attachées ; les bactéries commencent à se multiplier et sécréter une matrice protectrice. Ce processus de division conduit ensuite à la formation de diverses micro-communautés bactériennes qui sont interconnectées, assurant la coordination des échanges métaboliques, le transport des nutriments et l'élimination des composés toxiques [(**Samrot et al., 2021**) ; (**Erkihun et al., 2024**)].

### 1.4. La maturation du biofilm

La structure du biofilm devient progressivement tridimensionnelle, constituant un réseau complexe de cellules et de matrice extracellulaire. Au cours de cette phase, des molécules de signalisation appelées auto-inducteurs sont ainsi sécrétées. Au sein de cette matrice, de canaux aqueux et de pores se forment entre les micro colonies, permettant l'acheminement d'oxygène et de nutriments nécessaires à la croissance de microorganismes, ainsi que l'élimination des déchets [(**Srinivasan et al., 2021**) ; (**Vani et al., 2023**)].

### 1.5. Dispersion du biofilm

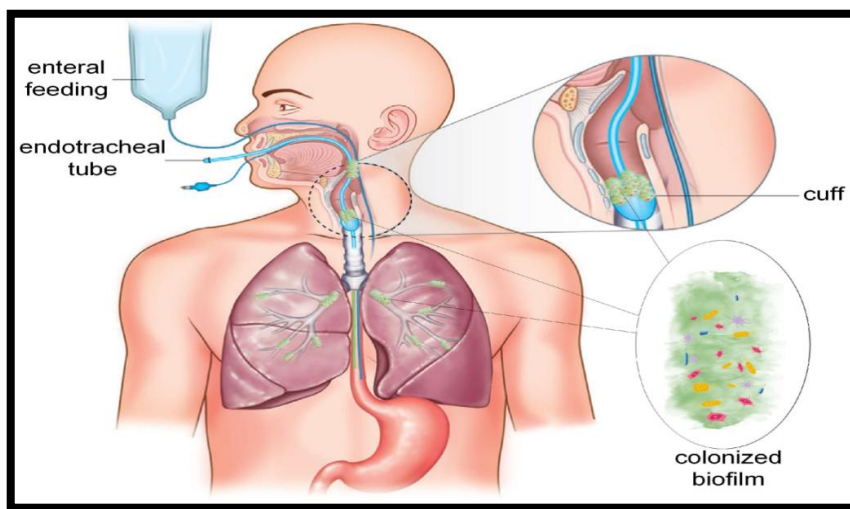
Cette phase de dispersion permet à ces cellules de coloniser de nouvelles surfaces, initiant ainsi un nouveau cycle de formation de biofilm (**Samrot et al., 2021**).

## 2. La régulation du biofilm

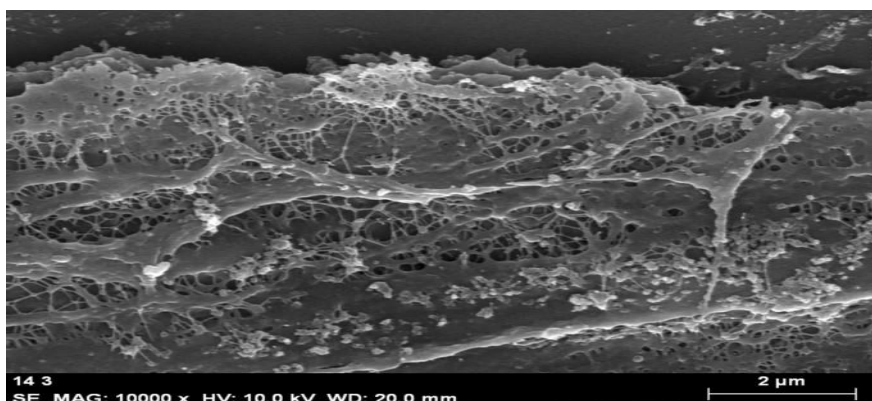
Des systèmes de communication cellulaire sophistiqués, dont le quorum sensing (QS), régulent la formation du biofilm. Ce processus autorise les bactéries à percevoir leur densité de population et à synchroniser l'expression des gènes associés à la création de biofilms, à la virulence et à la résistance antimicrobienne. Plusieurs mécanismes de régulation du QS ont été identifiés par des recherches, parmi lesquels les systèmes fondés sur les homosérine lactones (AHL) chez les bactéries à Gram négatif et les peptides auto-inducteurs chez les bactéries à Gram positif (**Lantian et al., 2020**).

### 3. Biofilm sur sondes endotrachéales (Figure 3 et 4)

La sonde endotrachéale perturbe les mécanismes de défense naturels des voies respiratoires (réflexe de toux, clairance mucociliaire), favorisant ainsi la prolifération bactérienne. Le développement de biofilms sur SET commence souvent en moins de 24h après l'intubation, et représente une source de pathogènes causant des pneumonies liées à la ventilation. En outre, la formation de biofilms sur ces surfaces internes complique l'élimination des agents infectieux, ce qui augmente la persistance de l'infection et sa résistance aux thérapies [(Frits *et al.*, 2022) ;(Bouhrour *et al.*, 2024) ; (Mishra *et al.*, 2024)].



**Figure 3** : La formation du biofilm sur sonde endotrachéale (Marcut *et al.* 2023)



**Figure 4** : Présence du biofilm sur une sonde endotrachéale observée au microscope électronique à balayage (Gil-Perotin *et al.*, 2012)

Les agents pathogènes les plus couramment impliqués dans la formation de biofilm sur les sondes endotrachéales sont *Staphylococcus aureus* (sensible à la méthicilline), *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Serratia spp*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*, *Acinetobacter baumannii*, Enterococcus résistant à la vancomycine (ERV) [(Marcut et al., 2023) ; (Mishra et al., 2024)].

**CHAPITRE III:**

**FACTEURS INFLUENÇANT**

**LA FORMATION DE BIOFILMS**

La formation du biofilm est un processus complexe, influencé par une multitude de facteurs biologiques, chimiques et environnementaux qui interagissent de manière synergique. Cette complexité explique le développement des biofilms dans divers environnements, allant des milieux naturels aux environnements cliniques [(Chaves simoes et al., 2023) ; (Rumbaugh et al., 2025)].

La formation du biofilm est conditionnée par des facteurs internes liés aux bactéries tels l'hydrodynamique et diverses propriétés de la surface cellulaire [(Choudhary et al., 2020) ; (Upmanyu et al., 2022)], ainsi aux défis environnementaux tels que les rayons ultraviolets, les nutriments limités, les niveaux de pH extrêmes, la salinité élevée, la température, la pression élevée et l'exposition à des substances antimicrobiennes (Omwenga et Awuor, 2024).

La formation d'un biofilm est un processus très complexe, influencé par de nombreux facteurs : facteurs structuraux, facteurs environnementaux, facteurs de régulation génétiques.

### 3.1. Les facteurs structuraux

La structure même des micro-organismes joue un rôle déterminant dans le processus de formation du biofilm. Ces facteurs structuraux constituent les outils moléculaires et cellulaires que les bactéries utilisent pour initier, développer et maintenir leurs communautés organisées (Sharma et al., 2023).

#### 3.1.1. Substances polymériques extracellulaires (EPS)

Les EPS constituent l'élément structural des biofilms, ce sont des polymères de haut poids moléculaire, composés principalement de polysaccharides (50-90%), de protéines (1-60%), d'acides nucléiques (1-25%) et de lipides (1-40%). Leur synthèse est un processus qui est souvent influencé par les conditions environnementales [(Samrot et al., 2021) ; (Kim et al., 2023)].

#### 3.1.2. Les Pili

Les pili sont des appendices protéiques qui jouent un rôle important dans la formation du biofilm bactérien en facilitant l'adhésion aux surfaces et peuvent également faciliter l'agrégation bactérienne et la formation de microcolonies, étapes cruciales dans le développement du biofilm [(Ponisch et al., 2018) ; (Samrot et al., 2021)]. Il existe plusieurs types de pili selon leur fonction et leur structure : les pili de type I impliqués dans l'adhésion

non spécifique, les pili P responsables de l'adhésion spécifique à certains récepteurs, et les pili de type IV qui participent à la fois à l'adhésion et à la motilité (**Hospenthal et al., 2017**).

### 3.1.3. Flagelles

Les flagelles sont des organites qui confèrent aux bactéries leur capacité de déplacement, leur offrant la possibilité de se diriger vers de nouvelles surfaces à coloniser (**Samrot et al., 2021**). Les flagelles peuvent contribuer à la structuration tridimensionnelle du biofilm en créant des canaux d'eau et en facilitant la distribution des nutriments (**Ozer et al., 2021**).

### 3.1.4. Hydrophobicité de la surface cellulaire

L'hydrophobicité constitue un déterminant important de l'adhésion microbienne, elle est principalement déterminée par la composition de la paroi cellulaire, notamment la présence de protéines hydrophobes, de lipides et de polysaccharides spécifiques (**Danchik et casadevall, 2021**). Les cellules bactériennes hydrophobes ont une plus grande affinité pour les matériaux hydrophobes, tels que le plastique utilisé dans les dispositifs médicaux comme les sondes endotrachéales. Cette affinité favorise une adhésion initiale stable, qui est une condition préalable à la formation d'un biofilm mature (**Krasowska et Sigler, 2014**).

## 3.2. Les facteurs environnementaux

Les conditions environnementales exercent une influence déterminante sur la formation et du développement des biofilms. Ces facteurs peuvent agir individuellement ou en synergie pour moduler la capacité des micro-organismes à former des communautés structurées (**Goller et Romeo, 2008**).

### 3.2.1. Les concentrations en nutriments

La disponibilité des nutriments présente un facteur intéressant dans la formation des biofilms. Une carence en nutriments induit un stress chez les microorganismes, entraînant la formation de biofilms comme mécanisme de survie. Toutefois, à des faibles niveaux de nutriments, les biofilms ne peuvent arriver à maturité et restent sous-développés. Un équilibre nutritionnel optimal favorise la formation de biofilms matures [(**Neiderdorfer et al., 2017**) ; (**Samrot et al., 2021**)].

La synthèse du slime est influencée par l'ajout de certains composants tel un excès de carbone, et du glucose (**Zhao et al., 2023**). De plus, la carence en potassium et en phosphate modifie également la production d'EPS, souvent en l'augmentant afin de stabiliser la matrice du biofilm dans des conditions de stress nutritionnel (**Li et al., 2024**).

La présence de certains ions, tels que le calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ ) et le magnésium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), joue un rôle crucial dans la formation de biofilms. Ces cations facilitent l'adhésion réversible des bactéries aux surfaces. En plus le calcium et le magnésium contribuent à la stabilité structurale du biofilm en renforçant la matrice extracellulaire. Ces ions forment notamment des ponts ioniques entre les polysaccharides, conférant ainsi au biofilm une meilleure résistance aux forces mécaniques et de cisaillement (**Wang, Flint et Palmer, 2019**).

### 3.2.2. La température

La température est un facteur environnemental fondamental qui affecte non seulement l'activité métabolique et enzymatique des bactéries, mais aussi leurs propriétés de surface et leur comportement adhésif. La capacité des bactéries à former des biofilms peut être influencée par des variations de température (**Samrot et al., 2021**). La température optimale favorise généralement une formation rapide de biofilm. Cependant, la température influence également la viscosité du milieu, la solubilité des gaz dissous, la cinétique des réactions enzymatiques et la stabilité des structures protéiques [(**Alotaibi et Bukhari, 2021**) ; (**Kumar rol et al., 2022**)].

### 3.2.3. Le pH

Le pH du milieu modifie la charge de surface des microorganismes ainsi que celle des supports solides, ce qui peut entraîner une réduction ou une augmentation des interactions électrostatiques défavorables à l'adhésion. Le pH environnemental peut avoir un effet majeur sur la formation du biofilm [(**Alotaibi et Bukhari, 2021**) ; (**Samrot et al., 2021**) ; (**Pal et Lavanya, 2022**)].

### 3.2.4. La concentration en oxygène

La disponibilité en oxygène est un facteur environnemental qui influence la formation de biofilms. L'attachement bactérien aux surfaces et le développement ultérieur de biofilms peuvent dépendre de la concentration d'oxygène (**Alotaibi et Bukhari, 2021**). Cependant, les conditions anoxiques peuvent également favoriser la formation de biofilms chez de nombreuses espèces, particulièrement les bactéries anaérobies facultatives (**Abdelhamid et Youcef, 2024**).

### 3.2.5. Forces hydrodynamiques et cisaillement

Les forces de cisaillement exercées par l'écoulement des fluides représentent un défi crucial pour la formation et le maintien de biofilms (**Faria et al., 2020**). Un cisaillement modéré peut favoriser la formation du biofilm en stimulant la production d'EPS (**Schmidt et al., 2017**). Cependant, les bactéries ont développé diverses stratégies pour résister aux forces hydrodynamiques, notamment la production d'adhésines plus robustes, la formation de structures filamenteuses qui s'ancrent profondément dans la matrice, et la création de microcolonies en forme de champignon qui minimisent l'exposition au cisaillement [(**Perez et al., 2021**) ; (**Böhning et al., 2024**) ;(**David et al., 2024**)].

### 3.3.Facteurs liés à la surface

La fixation des microorganismes à la surface est un phénomène complexe, la surface peut avoir plusieurs caractéristiques, la formation du biofilm semble augmenter à mesure que la rugosité de surface augmente, et les propriétés physico-chimiques comme (la balance hydrophile/hydrophobe, la densité de la charge, et la perméabilité hydrodynamique) occupent un rôle important dans l'adhésion initiale des bactéries (**Benmahdi, 2017**).

### 3.4. Facteurs de régulation génétique

La formation de biofilms implique une régulation génétique complexe qui coordonne l'expression de centaines de gènes en réponse aux conditions environnementales. Cette régulation fait intervenir des systèmes de transduction du signal sophistiqués qui permettent aux bactéries d'adapter rapidement leur phénotype aux changements de leur environnement. (**Bridges et al., 2022**).

# **MATÉRIEL ET MÉTHODES**

Ce travail a été effectué au laboratoire LAMAABE de la faculté des sciences de la nature et de la vie, de la terre et de l'univers à l'Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen.

### 1. Prélèvements

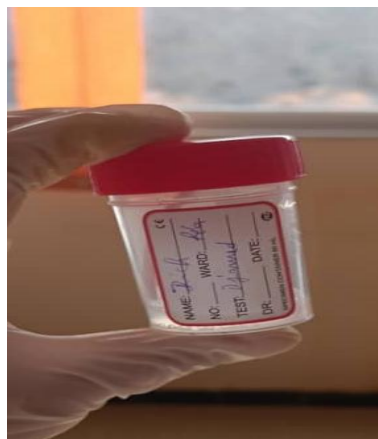
Durant une période de 2 mois (mars et avril 2025), 10 sondes endotrachéales ont été soigneusement prélevés de patients hospitalisés plus de 48h dans deux services du CHU de Tlemcen : service de réanimation, les urgences médicales.

Les dispositifs médicaux ont été soigneusement prélevés dans des conditions d'asepsie, placées individuellement dans des pots stériles puis transportés immédiatement au laboratoire pour être analysé.

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignement comportant le sexe, l'âge, nature de la pathologie du patient, la durée de sondage.

### 2. Ensemencement et isolement

Selon la technique quantitative de **Brun Buisson, (1987)** l'extrémité distale est coupée puis mise dans un pot contenant 5ml de l'eau physiologique stérile puis agitée au vortex pendant 1min (**Figure 5**).



**Figure 5** : L'extrémité distale d'une sonde endotrachéale dans 5ml de sérum physiologique

Un volume de 20  $\mu$ L est ensuite ensemencé sur trois différents milieux spécifiques :

-Le milieu Mac Conkey pour la recherche de bactéries à Gram négatif et plus spécifiquement les entérobactéries, grâce à la présence d'agents sélectifs (cristal violet et sels biliaries).

-Le milieu Chapman pour la recherche des bactéries à Gram positif et plus spécifiquement les staphylocoques, grâce à la présence d'une forte concentration en NaCl.

-Le milieu Cétrimide pour la recherche des *Pseudomonas*, ce milieu est un ammonium quaternaire qui inhibe la croissance de la plupart des autres espèces bactériennes.

L'incubation était réalisée à 37°C pendant 24 à 48h.

### 3. Identification des souches isolées

L'identification des souches était réalisée, après la vérification de leur pureté par une :

- Etude des caractères macroscopiques : aspect des colonies sur milieux gélosés.
- Etude des caractères microscopiques (le type du Gram, la morphologie, l'arrangement des cellules).
- Etude des caractères biochimiques API (Biomérieux®, France) : la galerie API est un ensemble de tubes permettant l'identification des bactéries par réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés. Cette technique consiste à inoculer dans les microtubes une suspension homogène qui reconstitue les milieux déshydratés. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif. Après l'incubation, la lecture de la galerie est faite en se référant au tableau de lecture (**Annexe3**).

### 4. Conservation des souches

Toutes les souches identifiées ont été conservées en double réplique sur gélose nutritive inclinée à 4°C et dans le glycérol à -80°C.

### 5. Étude de la formation de biofilm *in-vitro* des souches isolées

La détection de la formation de biofilm de toutes les souches isolées réalisée par deux méthodes ; la technique de Rouge Congo Agar (technique qualitative) et la technique de microplaque de titration (méthode quantitative).

#### 5.1. Technique du Rouge Congo agar (RCA)

La production de slime a été recherchée sur le milieu Rouge Congo Agar, ce dernier a été préparé avec 37 g/L BHIB, 50 g/L de saccharose, 10 g/L d'agar et 0,8 g/L du Rouge Congo Agar puis autoclavé à 121°C pendant 15 min. Contrairement aux autres milieux de culture, le Rouge Congo est ajouté ensuite au milieu refroidi à 55°C. Le milieu estensemencé de la souche puis les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48h (**Touati et al., 2007**).

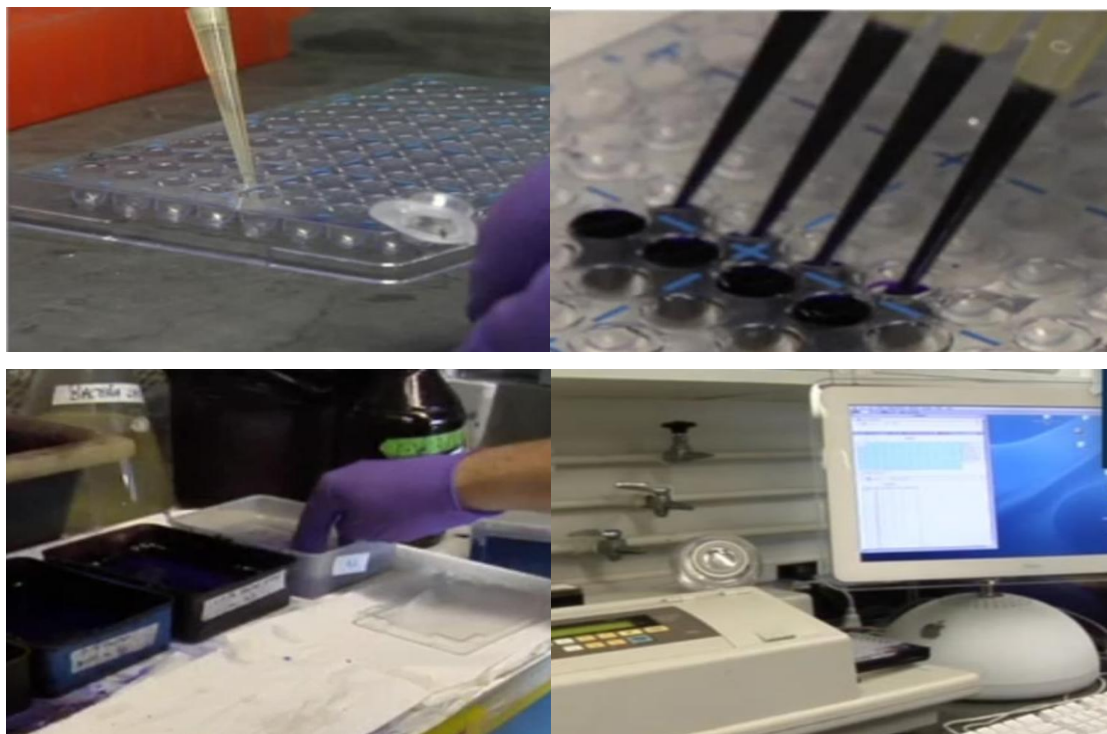
Les souches productrices de slime exprimant le PIA (Polysaccharide Intercellular Adhesion) donnaient des colonies noires à surface rugueuse contre des colonies rouges à surface lisse pour les souches non productrices (Nasr *et al.*, 2012).

### 5.2.Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

Le technique TCP décrite par O'Toole *et al.*, (2000) permet une évaluation quantitative de la formation du biofilm. A partir d'une culture de 18h dans le milieu BHIB, les puits d'une microplaque de 96 puits (polystyrène) sont inoculés avec 150  $\mu$ L de la suspension bactérienne ajustée a une DO de 0,1. Les microplaques sont incubées à 37°C pendant 24h. Les puits sont lavés trois fois avec l'eau distillée stérile afin d'éliminer les bactéries planctoniques. Les biofilms formés sont colorés avec du cristal violet (0,1%) pendant 15 min. L'excès de colorant est ensuite rincé et les plaques sont séchées pendant quelque minutes. Les microplaques sont ensuite solubilisées avec l'éthanol (95%), la DO est ensuite mesurée à 490 nm à l'aide d'un lecteur ELISA (Figure 6).

Selon Christensen *et al.*, (1985), les souches ont été classées comme suit :

- $DO \leq DO_{\text{dot}}$  (Témoin) : non-formatrice du biofilm.
- $DO_{\text{dot}} \times 2 \leq DO \leq DO_{\text{dot}} \times 4$  : modérément formatrice du biofilm.
- $DO \geq DO_{\text{dot}} \times 4$  : fortement formatrice du biofilm.



**Figure 6** : Les étapes de formation du biofilm par la technique TCP (O'Toole, 2011)

### **6. Étude de la formation d'un biofilm de 24h sous conditions de culture**

Dans cette partie, l'effet *in-vitro* de quelques paramètres tel : la température, le pH, la nature du milieu de culture, les concentrations en glucose ont été étudiés sur des biofilms âgés de 24h formés sur microplaques de 96 puits.

#### **6.1. Effet de la température**

Après formation de biofilm jeune par la technique déjà décrite, les plaques de 96 puits étaient incubées pendant 24h à différentes températures : 25, 37 et 44°C. Les microplaques sont ensuite traitées comme décrit précédemment. Une lecture des DO à 490 nm est mesurée.

#### **6.2. Effet du pH**

La formation de biofilm sur plaques de 96 puits a été réalisée à partir des suspensions bactériennes à différents pH : pH=4, pH=7 et pH=9. Les plaques étaient incubées 37°C pendant 24h, et traitées comme décrit précédemment. Les DO à 490 nm sont ensuite mesurées.

#### **6.3. Effet du milieu**

Suite aux nombreux travaux rapportant l'effet de la nature et la composition du milieu de croissance sur la formation du biofilm, il nous a semblé utile d'étudier la formation de biofilm par la technique TCP décrite précédemment en utilisant trois milieux : BHIB, BN, LB. Les DO sont mesurées à 490 nm.

#### **6.4. Effet des concentrations en glucose**

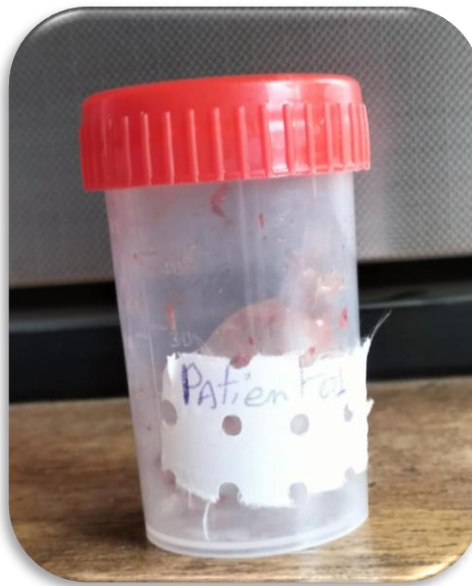
La formation de biofilm sur plaques de 96 puits a été réalisée à partir des suspensions bactériennes en utilisant le milieu BHIB supplémenté de 1% et 2% de glucose. Les plaques étaient incubées 37°C pendant 24h, et traitées comme décrit précédemment. Une lecture des DO à 490 nm est mesurée.

# **RÉSULTATS ET DISCUSSION**

### 1. Prélèvement et isolement

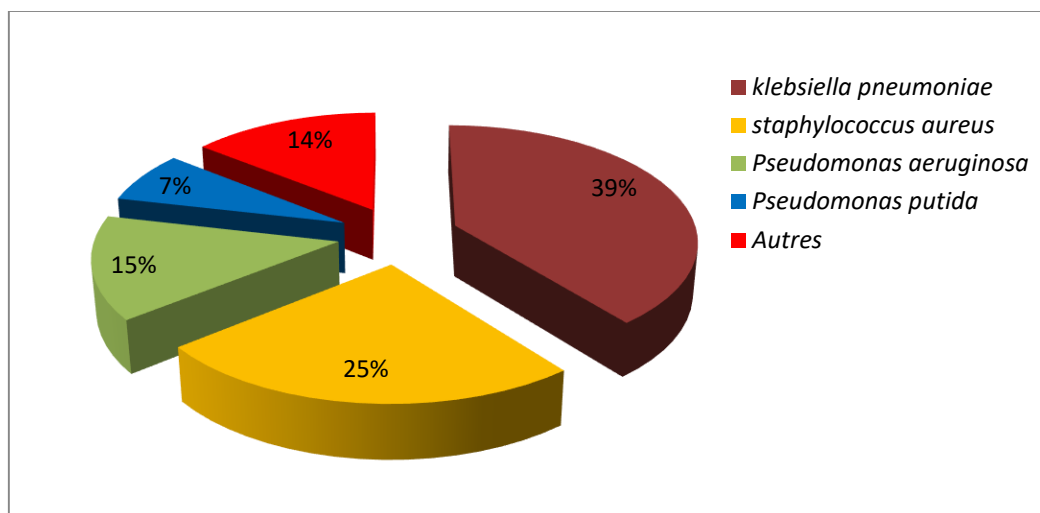
Sur une période de deux mois (mars et avril 2025), dix sondes endotrachéales (**Figure 7**) ont été recueillies chez des patients hospitalisés depuis plus de 48h dans deux services ; le service de réanimation, et les urgences médicales du CHU de Tlemcen.

L'âge des patients varie de 31 et 66 ans, les caractéristiques de ces patients et leurs pathologies associées sont résumées en **Annexe 1**.



**Figure 7** : Un prélèvement d'une sonde endotrachéale

Sur les 10 sondes endotrachéales analysées, 28 souches bactériennes ont été isolées, soit : 11 souches de *klebsiella pneumoniae* (39%), 7 souches de *staphylococcus aureus* (25%), suivi par 4 souches de *pseudomonas aeruginosa* (14%), deux souches de *pseudomonas putida* (7%), une seule souche du genre *Acinetobacter baumannii* (4%), une seule souche de *staphylococcus non aureus* (4%), de même pour le genre *Micrococcus* (4%) et le genre d'*Enterobacter* (4%) (**Figure 8**).



**Figure 8** : Les souches bactériennes isolées des sondes endotrachéales

Sur l'ensemble des bactéries isolées des sondes endotrachéales, nous constatons que *klebsiella pneumoniae*; *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* sont les plus contaminants avec 39%, 25%, 15% respectivement.

Les microorganismes les plus fréquemment isolés à partir des sondes endotrachéales étaient *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*; *Enterobacter sp*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Candida albicans* [(Feldman et al., 1999) ; (Danin et al., 2014) ; (Danin et al., 2015)].

Dans une étude réalisée par Ferreira et ses collaborateurs en (2016) ; sur 30 sondes endotrachéales, *Pseudomonas spp* était la bactérie la plus fréquemment isolée (23,8 %), suivi de *Streptococcus spp.*(18,5 %), *Acinetobacter spp.*(15,9 %), des staphylocoques à coagulase négative (11,2 %), et de *Klebsiella spp.*(8,6 %).

Nos résultats concordent avec ceux de Benmehdi en (2017), où les bactéries isolées à partir des 65 sondes endotrachéales sont majoritairement des *Klebsiella pneumoniae* (24,6 %), *Pseudomonas aeruginosa* (10,8 %), puis *Staphylococcus aureus* (10,8 %).

De même Mahendra et al., (2018) ; sur 94 sondes endotrachéales ; *Acinetobacter baumannii* était l'organisme le plus fréquemment isolé (41.4%), suivi par *Pseudomonas aeruginosa* (26.6%) et de *Klebsiella pneumoniae* (15.9 %).

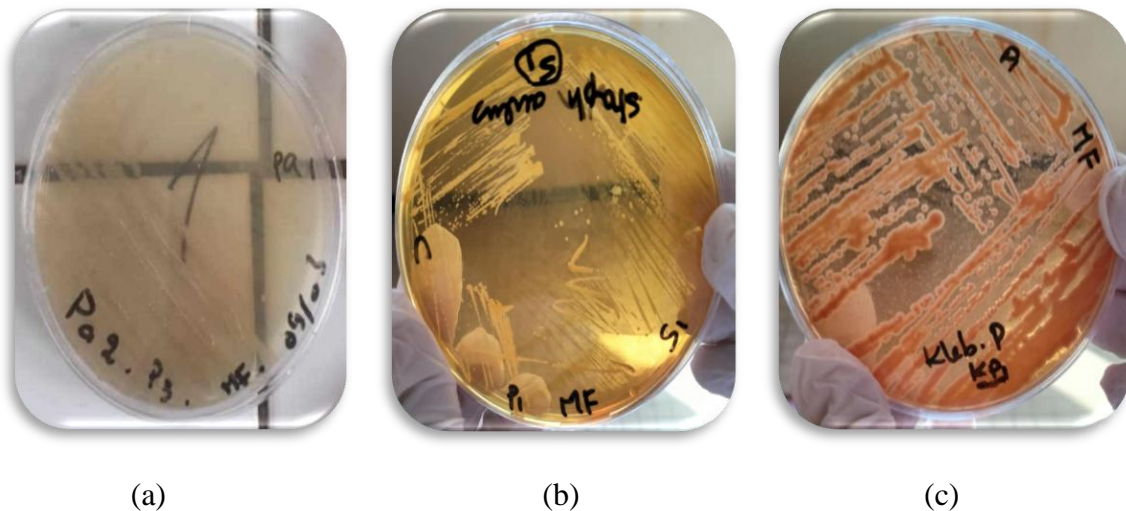
Les bactéries les plus fréquemment impliqués dans la PAVM étaient *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella sp* et *Acinetobacter sp* (Thorarinsdottir et al., 2020).

### 2. Caractères bactériologiques des souches isolées

#### 2.1. Aspect macroscopique des souches isolées sur les milieux sélectifs

L'examen des caractéristiques macroscopiques a été effectué sur trois différents milieux de culture sélectifs (Cétrimide, MacConkey et Chapman) suivi par une incubation à 37°C pendant 24h. Les caractères macroscopiques des souches dominantes sont montrés en **figure 9**.

- *klebsiella pneumoniae*: présente tous les caractères généraux des entérobactéries. Après ensemencement sur milieu MacConkey et incubation à 37°C 24h, elle forme des colonies arrondies, muqueuses, généralement bombées et brillantes.
- *Pseudomonas aeruginosa*: après isolement sur gélose cétrimide, et incubation de 24h à 37°C, les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* présentaient des colonies muqueuses bombées avec une pigmentation jaune-vert.
- *Staphylococcus aureus* : sur gélose Chapman, après une incubation de 48 h à 37° C, les colonies de staphylocoques présentaient l'aspect macroscopique du genre *Staphylococcus*, arrondies à bords régulier de 1 à 2 mm de diamètre.



**Figure 9** : Aspect macroscopique de souches isolées sur les milieux sélectifs

(a) *Pseudomonas aeruginosa* (b) *Staphylococcus aureus* (c) *Klebsiella pneumoniae*

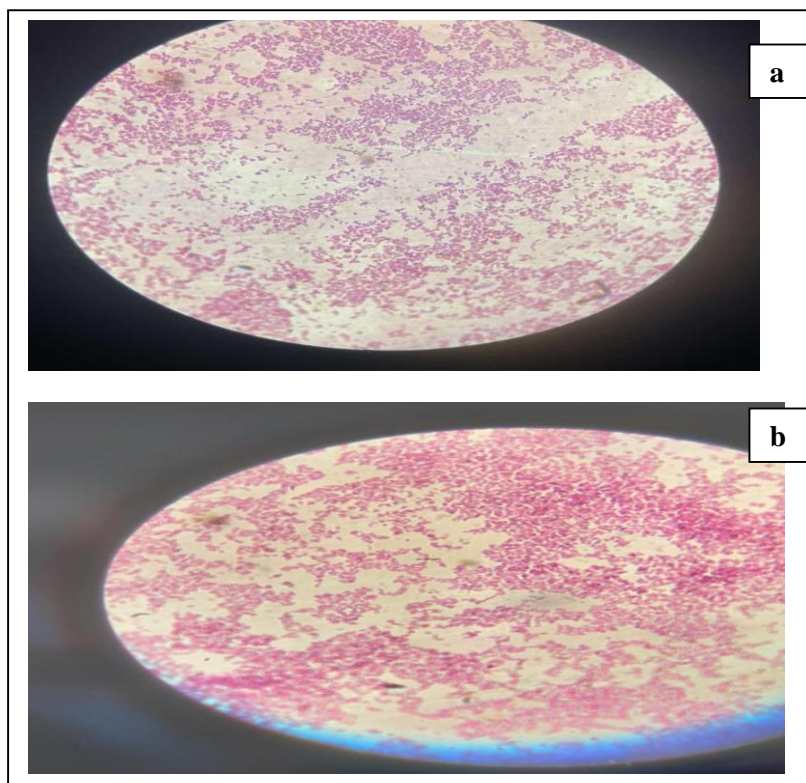
Le test de confirmation de *staphylococcus aureus* (test de coagulation) a permis d'identifier 7 (7/8) souches à coagulase positive. Le plasma est converti en un gel rigide qui reste en place lorsque le tube est incliné (**Figure 10**).



**Figure 10** : Test de la coagulase en tube

### 2.2. Aspect microscopique des souches isolées

Une coloration de Gram a été effectuée afin d'identifier le type de paroi bactérienne des souches isolées. La coloration différentielle des souches a mis en évidence des bacilles à Gram négatif colorés en rose et des cocci à Gram positif (**Figure 11**).



**Figure 11**: Aspect microscopique des souches étudiées après coloration de Gram  
grossissement X100

(a) Cocci à Gram positif (*S. aureus*)

(b) Bacilles à Gram négatif (*P. aeruginosa*)

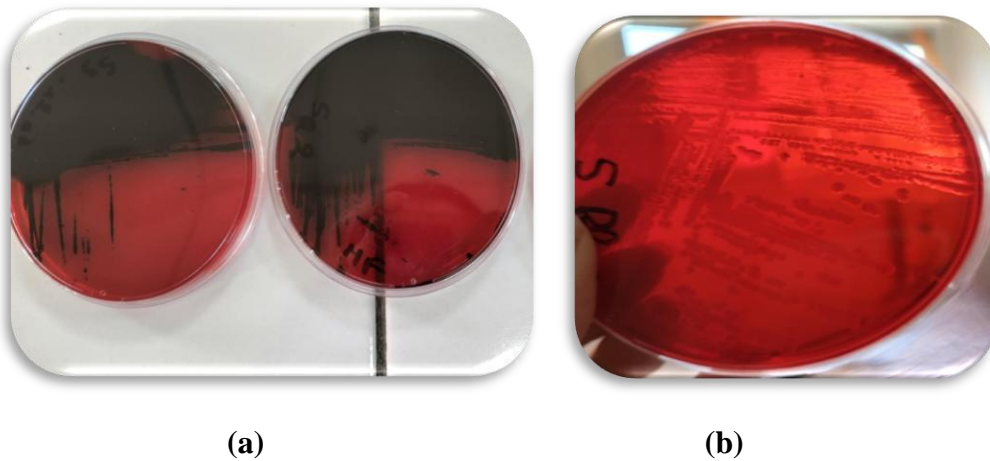


3. Evaluation de la formation de biofilm chez les souches isolées

3.1. Technique de Rouge Congo Agar (RCA)

La détection de la capacité des souches à former des biofilms a été réalisée par la méthode RCA, une approche qualitative reposant sur l’observation des caractères phénotypiques exprimés sur gélose Rouge Congo (*shrestha et al., 2017*).

Les souches productrices de slime forment des colonies noires, à consistance cristalline et sèche, tandis que les souches non productrices présentent des colonies rouges ou incolores (*Titouche et al., 2024*). Les résultats des souches étudiées sont présentés par **la figure 13** et **le tableau 1**.



**Figure 13** : Production de slime sur milieu Rouge Congo par les souches isolées

(a) RCA+                      (b) RCA-

**Tableau 1**: Résultats du test du Rouge Congo

Souches/RCA	RCA +	RCA-
<i>Klebsiella. Pneumoniae</i> (n=11)	11	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (n= 7)	7	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=4)	0	4
<i>Pseudomonas putida</i> (n=2)	0	2
<i>Acinitobacter baumannii</i> (n=1)	1	0
<i>Micrococcus sp</i> (n=1)	0	1
<i>Entérobacter Cloacae</i> (n=1)	0	1
<i>Staphylococcus blanc</i> (n=1)	0	1
<b>Total (n=28)</b>	<b>19</b>	<b>9</b>

Parmi les 28 souches testées, 19 souches (soit 68 %) ont montré une coloration noire sur le milieu Rouge Congo, indiquant un résultat positif et donc un probable capacité à former un biofilm. À l'inverse, 9 souches (soit 32 %) étaient négatives, n'exprimant pas ce caractère.

Dans notre étude, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus* semblent former plus facilement un slime.

**Bellifa en 2014** a montré que 85 des souches de *Klebsiella pneumoniae* produisaient un slime contre 30 seulement non productrices.

Dans une étude réalisée par **Ghellalai, (2016)**, sur 50 souches de *Staphylococcus aureus* seules 20% étaient susceptibles de produire du slime. De même **Reddy et al. (2021)** a montré que 44% de *Staphylococcus aureus* produisaient un slime.

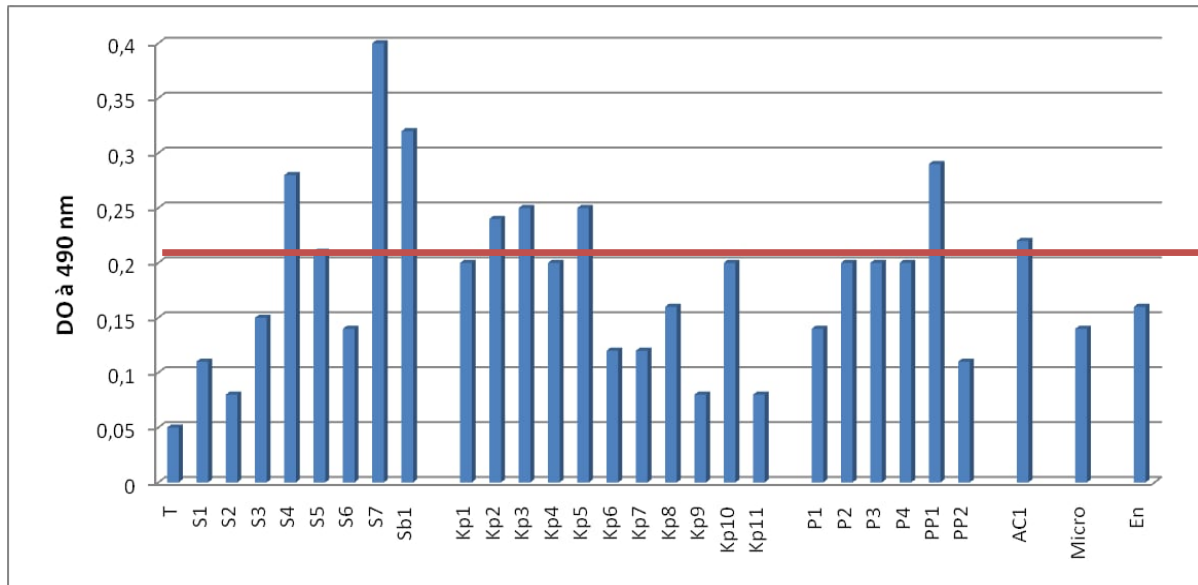
Les travaux récents de **Shrestha et al.(2017)** et **Titouche et al.(2024)** confirment également la pertinence du test RCA comme étant une méthode qualitative qui permet de détecter les bactéries formatrices du slime. Ces auteurs ont rapporté que 60 à 75 % des isolats cliniques provenant de dispositifs médicaux forment un slime sur RCA.

En revanche, la technique de microplaque 96 puits semble être la méthode de criblage la plus fiable pour la détection de la formation de biofilm [(**Hassan et al., 2011**) ; (**Bellifa et al, 2013**) ; (**Kara-Terki et al., 2014**)].

### 3.2. Technique de microplaques 96 puits (TCP)

La technique TCP est largement utilisée et elle est considérée comme un test standard pour la détection de la formation de biofilm. Cette technique permet une détermination quantitative pour comparer l'adhésion des différentes souches et aussi examiner un grand nombre d'isolats simultanément, c'est une technique pratique et économique pour l'identification des facteurs et des conditions de cultures optimales pour la formation de biofilm (**Kara-Terki et al., 2020**).

La détermination quantitative de la formation de biofilm chez toutes les souches isolées a été réalisée par la technique sur microplaques 96 puits, les résultats sont montrés par **figure 14** et **le tableau 2**.



**Figure 14 :** Résultats de la quantification de la formation de biofilm par les souches isolées des sondes endotrachéales

**Tableau 2 :** Résultats de la technique de TCP

Souches/Biofilm	Fort	Modéré	Faible
<i>Klebsiella. Pneumoniae</i> (n=11)	0	6	5
<i>Staphylococcus aureus</i> (n= 7)	1	2	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=4)	0	3	1
<i>Pseudomonas putida</i> (n=2)	0	1	1
<i>Acinitobacter baumannii</i> (n=1)	0	1	0
<i>Micrococcus sp</i> (n=1)	0	0	1
<i>Entérobacter Cloacae</i> (n=1)	0	0	1
<i>Staphylococcusblanc</i> (n=1)	0	1	0
<b>Total (n=28)</b>	<b>1</b>	<b>14</b>	<b>13</b>

Suite aux résultats de la **figures 14** et le **tableau 2**, nous remarquons que 54% (15/28) des bactéries isolées des sondes endotrachéales sont bonnes ou moyennement formatrices de biofilm, confirmant ainsi leur capacité significative à former des biofilms sur des surfaces abiotiques.

Selon la **figure 14**, une seule souche de *Staphylococcus aureus* (S7) est excellente formatrice de biofilm, la DO est 8 fois plus élevée que la DO témoin ( $DOT \times 8 \leq DO$ ). En plus 2 souches

de *Staphylococcus aureus* (S4 et S5) sont modérément formatrices de biofilm. La DO de la souche Sa3 était 5 fois plus élevée que la DO de témoin.

De même, selon la **figure 14**, sur les 11 souches de *Klebsiella pneumoniae*, 6 d'entre elles (Kp1, Kp2, Kp3, Kp4, Kp5 et Kp10) présentaient des DO allant de 0.2 jusqu'à 0.25 par rapport au témoin et elles sont classées bonnes formatrices de biofilm.

De même, selon la **figure 14**, sur les 4 souches de *Pseudomonas aeruginosa*, 3 d'entre elles (P2, P3, P4) présentaient respectivement des DO 5 fois plus élevée que la DO du témoin et sont classées bonnes formatrices de biofilm.

Les souches de *Klebsiella pneumoniae* ont la capacité de produire des biofilms qui persistent sur les surfaces abiotiques tels que les dispositifs médicaux, et cela grâce à la production de fimbriae de type 1 et de type 3 et des pili [(Ostria-Hernandez et al., 2018), (Bengoechea et Sa Pessoa, 2019)].

Dans son étude, **Raveendra et al., (2021)** a rapporté que 57 % des souches isolées à partir des sondes endotrachéales étaient capables de produire un biofilm dont *Klebsiella pneumoniae* (20 %) et de *Staphylococcus aureus* (10 %) étaient les bactéries les plus performantes.

**Kara-Terki** et ses collaborateurs en (2020), ont rapporté que 67 % des souches cliniques testées (*Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*) étaient excellentes ou moyennement formatrices de biofilm selon la méthode TCP.

**Moussa et al.,** en (2022) a mis en évidence la présence de *pseudomonas aeruginosa* dans plus de 40% des sondes étudiés, toutes formatrices de bons biofilms ce qui contribue à la persistance de l'infection et à la résistance aux traitements antimicrobiens.

Plusieurs bactéries dont (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter spp.*) peuvent coloniser les dispositifs médicaux tels que les sondes endotrachéales en formant des biofilms, contribuant ainsi à la persistance et à la chronicité des infections respiratoires associées aux soins (**Codru et al., 2024**).

#### 4. Étude de la formation d'un biofilm de 24h sous conditions de culture

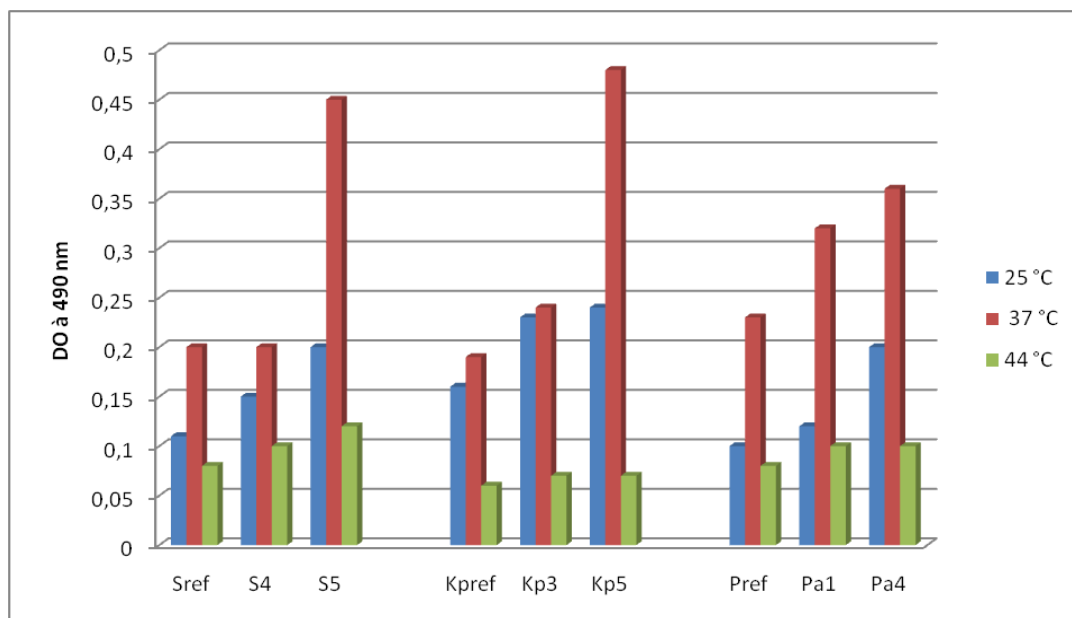
Afin de mieux comprendre la formation du biofilm sur les sondes endotrachéales, nous avons essayé d'étudier *in vitro* l'effet de quelques paramètres tel : la température, le pH, le type de milieu de culture, la concentration en glucose sur des biofilms de 24h formés sur microplaques. Nous avons présélectionné 9 souches, 2 font partie du genre *Pseudomonas aeruginosa* (Pa1, Pa4, et une souche de référence Pref), 2 du genre *Klebsiella pneumoniae* (Kp3, Kp5 et une

souche de référence Kpref), 2 souches du genre *Staphylococcus aureus* (S4, S5, et une souche de référence Sref), le critère de sélection était basé sur la capacité des souches étudiées à former un bon biofilm.

Les trois souches de références sont : *K. pneumoniae* ATCC700603 ; *S. aureus* ATCC25923 et *P. aeruginosa* ATCC27853.

### 1. Effet de la température

Nous avons remarqué que la température a eu un effet significatif sur la formation de biofilm pour toutes les souches étudiées (**Figure 15**). La formation de biofilm était prononcée à 37°C et moins détectable à 44°C.



**Figure 15** : Effet de la température sur la formation de biofilm des souches étudiées

Ochiai et al., (2014) a mis en évidence que la température était le facteur le plus important influant sur la production de biofilm. Dans son étude, la biomasse des biofilms était nettement plus importante à 37°C qu'à 30°C quelle que soit l'origine des souches étudiées.

Les températures avoisinant les 37 °C, favorisent une croissance accélérée et une accumulation plus dense de la biomasse au sein des biofilms. La température influence non seulement la vitesse de croissance de *Pseudomonas aeruginosa* mais aussi sa production de la matrice extracellulaire. À 23 °C, la formation est plus lente, la structure est moins organisée, et l'activité métabolique réduite. Ces observations suggèrent que *P.aeruginosa*, comme d'autres bactéries,

optimise sa capacité de colonisation à des températures proches de celles du corps humain, ce qui renforce sa virulence dans les milieux hospitaliers ( **Bisht et al.,2021**).

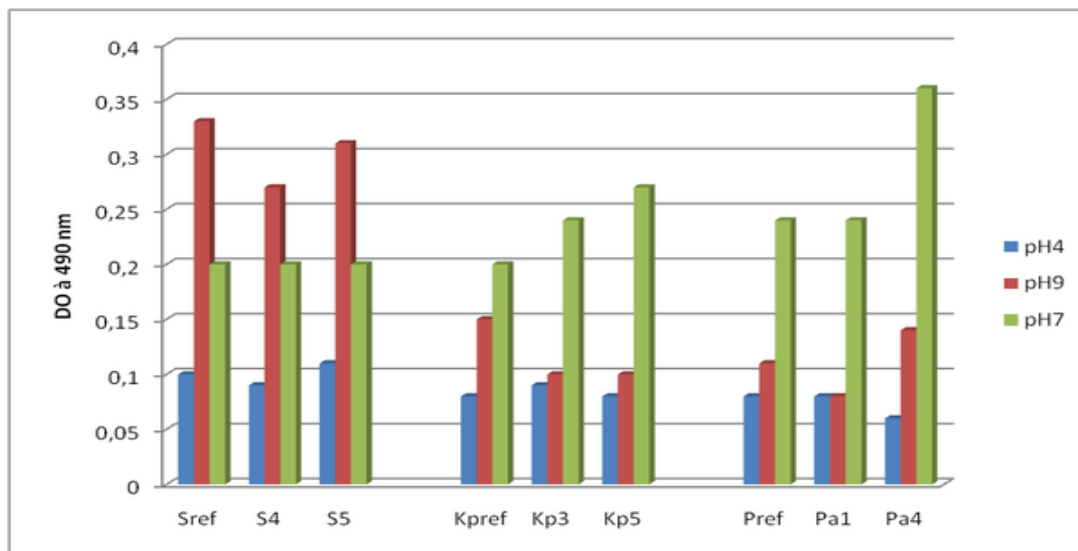
La formation de biofilm par les souches de *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* et *S. aureus* était prononcée à 30°C et plus à 37°C et moins détectable à 25°C (**Hamedi-Gaouar, 2022**).

La formation de biofilm est fortement inhibée à des températures élevées, supérieures à 45 °C, probablement en raison de la dénaturation des composants cellulaires et de la perturbation des mécanismes d'agrégation (**Li et al.,2022**).

### 2. Effet du pH

La **Figure 16** montre clairement que le pH joue un rôle clé dans la formation de biofilms pour les bactéries étudiées. La formation de biofilm chez les souches étudiées est importante à pH neutre et pH=9 qu'à pH acide avec des valeurs de DO qui varient entre 0,05 et 0.36.

Pour les souches de *S. aureus* ou la formation de biofilms a été plus importante à un pH=9 entre une DO de 0.26 à 0.33. Pour les isolats de *K.pneumoniae* et de *P.aeruginosa*, la formation maximale de biofilm a été obtenue à pH 7 et la formation de biofilm a été significativement réduite à pH acide et alcalin (**Figure 16**).



**Figure 16:** Effet du pH sur la formation de biofilm des souches étudiées

Le pH régule à la fois la croissance bactérienne et la structure du biofilm, influençant son développement dans les environnements naturels et cliniques. Selon **Schultze et al., (2021)**, un pH=7 à 7,5 favorise la croissance maximale des biofilms oraux multi-espèces, avec une densité

bactérienne plus élevées. À l'inverse, à un pH= 5 à 5,5, la formation du biofilm est significativement réduite.

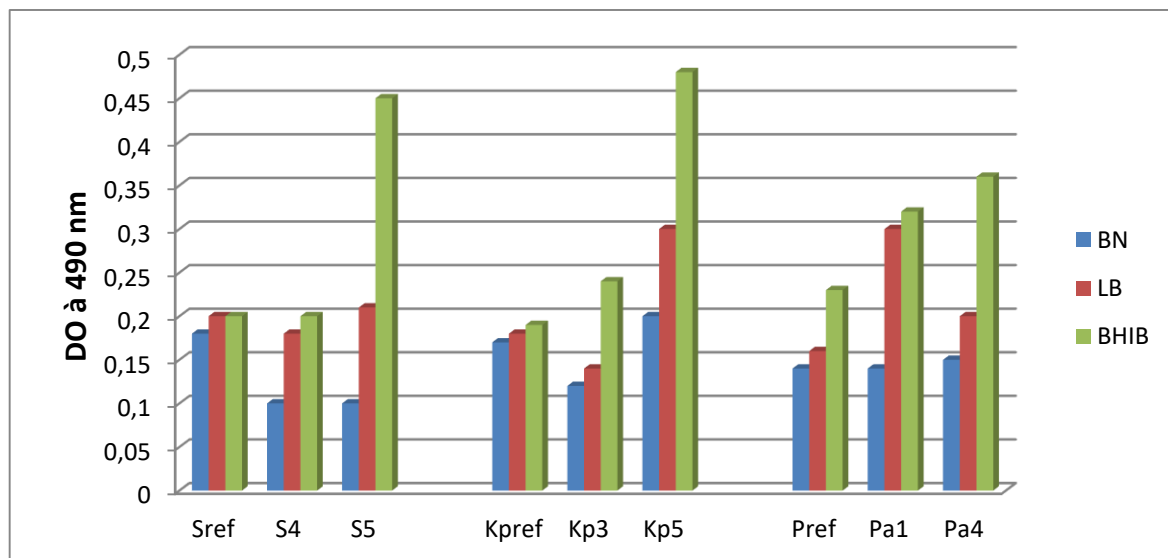
Un pH alcalin, favorise une bonne formation du biofilm par rapport à des conditions plus acides. En revanche, à pH= 5,5, la croissance et la stabilité des biofilms sont considérablement réduites. Ces résultats confirment que les conditions légèrement alcalines facilitent l'adhésion bactérienne et la production de matrice extracellulaire (Kromer et al.,2022).

Selon Khatua et al.,(2024), la majorité des bactéries pathogènes impliquées dans les biofilms préfèrent un environnement faiblement neutre, condition favorable à l'adhésion et à la production de la matrice extracellulaire.

### 3. Effet du milieu de culture

Pour évaluer l'impact des conditions environnementales sur la formation de biofilm, nous avons évalué la capacité des isolats cliniques à former de biofilm en utilisant différents milieux de culture (BHIB, BN, LB).

Les milieux de culture influencent significativement la formation de biofilm par les différentes souches bactériennes. Le BHIB semble stimuler plus la formation du biofilm de toutes des souches étudiées. La formation de biofilm était moins détectable en utilisant le LB ou le BN (Figure 17).



**Figure 17 :** Effet de milieu de culture sur la formation de biofilm des souches isolées

Nos résultats sont en accord avec les études de Wijesinghe et al., (2019) et Özyaman et Yilmaz, (2023) ; ils rapportent que *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* ont produit un biofilm significativement plus important en utilisant le BHIB, en raison de sa

composition nutritive riche en peptides, vitamines et glucides. Le milieu LB a montré une capacité intermédiaire, permettant une formation de biofilm moins dense comparée à celle du BHIB. À l'inverse le BN, moins riche en nutriments, a permis une formation de biofilm nettement plus faibles chez toutes les souches testées.

La richesse nutritionnelle du BHIB favorise à la fois l'adhésion bactérienne, la production de matrice extracellulaire et la maturation du biofilm de plusieurs souches, y compris des isolats cliniques multirésistants (Sittek et al., 2024).

#### 4. Effet du glucose

Dans cette partie, la formation de biofilm par les souches étudiées, était évaluée en utilisant le milieu de croissance (BHIB) additionné de 1% ou 2% du glucose.

Le glucose stimule la formation du biofilm de la plupart des souches (7/9), une exception est faite pour la souche Kp5 et S5, où la formation de biofilm était plus prononcée en absence du glucose (Figure 18).

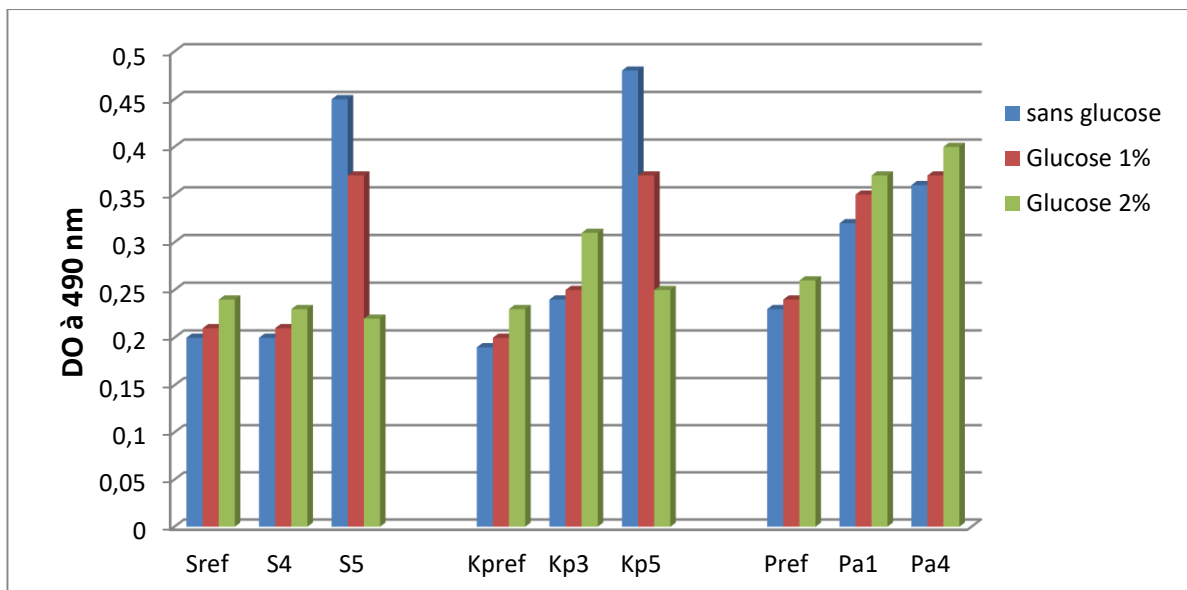


Figure 18 : Effet du glucose sur la formation de biofilm des souches étudiées

Kara-Terki, (2014) a montré qu'après ajout du glucose, le taux global des souches formatrices de biofilm a augmenté de 30 % à 49.5%. De plus *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* formaient un bon biofilm à des concentrations croissantes en glucose (Waldrop et al., 2014).

Le glucose, influence la formation de biofilm de *Klebsiella pneumoniae* en stimulant la production de capsule qui structure et protège le biofilm. Cependant, la production excessive

de la capsule peut gêner l'adhérence initiale des bactéries. Le glucose peut à la fois renforcer ou inhiber la formation de biofilm selon sa concentration et l'équilibre entre capsule et adhésion (**Li et Ni, 2023**).

**Liu et al. (2024)** a mis en évidence que le glucose joue un rôle essentiel dans la régulation de la formation de biofilm chez *Pseudomonas aeruginosa*.

L'augmentation de la concentration en glucose entraîne une stimulation de la biosynthèse de la matrice extracellulaire, notamment des EPSs, éléments clés de la formation de biofilm [(**Liu et al., 2024**) ;(**Solis et Sengupta, 2024**)].

D'après [(**She et al., 2019**) ; (**Roy et al., 2021**)], le glucose exerce un effet inhibiteur à des concentrations plus élevées (> 2 %), suggérant son ajout à un certain seuil, cela peut expliquer La bonne formation de biofilm en absence du glucose pour les deux souches Kp5 et S5.

# CONCLUSION

Les sondes endotrachéales sont des dispositifs médicaux essentiels qui assurent une ventilation mécanique aux patients en soins intensifs. Toutefois, leur utilisation prolongée représente un terrain favorable à la colonisation microbienne. L'adhésion bactérienne et la formation de biofilm à la surface de ces dispositifs complique la prise en charge thérapeutique. Cela constitue un échec potentiel de traitement et expose les patients à un risque majeur d'infections nosocomiales graves, telles que les pneumonies associées à la ventilation mécanique (PAVM).

Dans ce contexte, notre recherche nous a permis d'isoler 28 souches à partir des sondes endotrachéales prélevées dans deux services à savoir le service de réanimation et celui des urgences médicales du CHU de Tlemcen. Tous les prélèvements étaient contaminés avec présence d'une grande variété d'espèces bactériennes souvent associées à la transmission des infections nosocomiales : *Klebsiella pneumoniae* (39%), *Staphylococcus aureus* (25%) et *Pseudomonas aeruginosa* (14%). Ajouté à cela 50% des isolats bactériennes ont présenté une grande capacité à former des bons biofilms *in vitro*, ce qui constitue un sérieux danger infectieux lié à ce type de dispositifs médicaux.

En outre, l'étude de l'impact de divers facteurs environnementaux (température, pH, composition du milieu de culture et les concentrations en glucose) sur la formation du biofilm par les souches isolées a révélé que ces facteurs peuvent influencer considérablement le développement des biofilms sur les surfaces non vivantes. Nos résultats ont confirmé que la température était le facteur le plus important influant la production de biofilm ou la biomasse des biofilms était nettement prononcée à 37°C à des pH neutres. La nature du milieu de culture ainsi que le glucose stimulaient encore la formation de biofilm.

La gestion des dispositifs invasifs et plus spécifiquement les sondes endotrachéales doit être améliorée en respectant les protocoles d'asepsie, et en maintenant une surveillance microbiologique constante. Il sera donc nécessaire d'adopter une stratégie globale pour combattre les biofilms dans les hôpitaux et minimiser le risque infectieux associé à tels dispositifs. L'utilisation des approches moléculaires est cruciale afin de suivre l'origine de la contamination et de connaître les gènes responsables de la formation de biofilm chez les souches contaminantes. Comprendre l'influence des facteurs environnementaux sur le processus de la formation du biofilm est crucial afin de minimiser le risque infectieux lié aux SET. Enfin, il est fortement recommandé d'explorer de nouveaux matériaux biomédicaux possédant des propriétés anti-adhésives ou antibiofilm.

**LES REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES**

## Les Références bibliographiques

---

1. **Armbruster, C. R., Parsek, M. R. (2018).** New insight into the early stages of biofilm formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(17), 4317–4319. <https://doi.org/10.1073/pnas.1804084115>
2. **Ahmed, R. A., & Boyer, T. J. (2023, juillet 24).** Endotracheal Tube. *StatPearls Publishing*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539747/>
3. **Abdelhamid, A. G., Yousef, A. E. (2024).** Untargeted metabolomics unveiled the role of butanoate metabolism in the development of *Pseudomonas aeruginosa* hypoxic biofilm. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14, 1346813. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1346813>
4. **Alotaibi, G. F., & Bukhari, M. A. (2021).** Factors influencing bacterial biofilm formation and development. *Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences*, 12(6), 617–626. <https://doi.org/10.34297/AJBSR.2021.12.001820>
5. **Alves, D., Grinha, T., Pereira, M. O., Lopes, S. P. (2023).** Antimicrobial materials for endotracheal tubes: A review on the last two decades of technological progress. *Acta Biomaterialia*, 158, 32–55. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.01.001>
6. **Barnes, M., Feit, C., Grant, T.-A., Brisbois, E. J. (2019).** Antimicrobial polymer modifications to reduce microbial bioburden on endotracheal tubes and ventilator associated pneumonia. *Acta Biomaterialia*, 91, 220–234. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.04.042>
7. **Bellifa S., Hafida H., Damien B., Nicolas C., Imane M. hamedi Ibtissem K.T., Merieme L., Wafae D., Christiane F. (2013).** Evaluation of biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* isolated from medical devices at the University Hospital of Tlemcen, Algeria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 7, 555835564.
8. **Bellifa, S. (2014).** Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Th. doct. Algérie.
9. **Ben Hmida, M., Ben Ayed, H., Ben Jmaa, M., Trigui, M., Maamri, H., Yaich, S., Marrakchi, C., Ben Jmaa, M., Feki, H., & Damak, J. (2020).** Prévalence et facteurs de risque des infections associées aux soins. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 50(Suppl 2), S117. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2020.06.239>
10. **Bengoechea, J. A., & Sa Pessoa, J. (2019).** Biologie de l'infection à *Klebsiella pneumoniae* : vivre pour contrer les défenses de l'hôte. *FEMS Microbiology Reviews*, 43(2), 123–144. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuy043>
11. **Benmahdi, L. (2017).** Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique : Bactériologie et biofilm. Th.doct. Université d'Oran. Algérie.
12. **Bisht, K., Moore, J. L., Caprioli, R. M., Skaar, E. P., & Wakeman, C. A. (2021).** Impact of temperature-dependent phage expression on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41522-021-00191-w>

13. Bisneto, O. I. de M., Feitoza, L. P. G. de C., Hespanhol, L. C., Ferreira, S. B., Dagostin, C. S., Vieira, R. A. M. S., Queiroz, L. A., Chen, L., Bes, T. M., & Li, H. Y. (2024). Conventional endotracheal tubes versus polymer-coated tubes in ventilator-associated pneumonia development: A systematic review and meta-analysis. *Heliyon*, 11(1), e40793. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e40793>
14. Blot, S., Ruppé, E., Harbarth, S., Asehnoune, K., Poulakou, G., Luyt, C.-E., Rello, J., Klompas, M., Depuydt, P., Eckmann, C., Martin-Loeches, I., Povoas, P., Bouadma, L., Timsit, J.-F., Zahar, J.-R. (2022). Healthcare-associated infections in adult intensive care unit patients: Changes in epidemiology, diagnosis, prevention and contributions of new technologies. *Intensive and Critical Care Nursing*, 70, 103227. <https://doi.org/10.1016/j.iccn.2022.103227>
15. Böhning, J., Tarafder, A. K., Bharat, T. A. M. (2024). The role of filamentous matrix molecules in shaping the architecture and emergent properties of bacterial biofilms. *Biochemical Journal*, 481(4), 245–263. <https://doi.org/10.1042/BCJ20210301>
16. Bouhrour, N., Nibbering, P. H., & Bendali, F. (2024). Medical device-associated biofilm infections and multidrug-resistant pathogens. *Pathogens*, 13(5), 393. <https://doi.org/10.3390/pathogens13050393>
17. Bridges, A. A., Prentice, J. A., Wingreen, N. S., & Bassler, B. L. (2022). Signal transduction network principles underlying bacterial collective behaviors. *Annual Review of Microbiology*, 76, 121–147. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-042922-122020>
18. Brun-Buisson C., Abrouk F., Legrand P., Huet Y., Larabi S., Rapin M (1987). Diagnosis of central venous catheter-related sepsis. Critical level of quantitative tip cultures. *Archives of Internal Medicine*. 147:8733877.
19. Cappelli, E., Zaghini, F., Fiorini, J., & Sili, A. (2024). Infections associées aux soins de santé et leadership infirmier : une revue systématique. *Journal de prévention des infections*, 26(2). <https://doi.org/10.1177/17571774241287467>
20. Christensen, G.D., Simpson, W.A., Younger, J.J., Baddour, L.M., Barrett, F.F., Melton, D.M., 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.
21. Codru, I. R., Vintilă, B. I., Sava, M., Bereanu, A. S., Neamțu, S. I., Bădilă, R. M., & Bîrluțiu, V. (2024). Optimizing diagnosis and management of ventilator-associated pneumonia: A systematic evaluation of biofilm detection methods and bacterial colonization on endotracheal tubes. *Microorganisms*, 12(10), 1966. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12101966>
22. Danchik, C., & Casadevall, A. (2021). Role of cell surface hydrophobicity in the pathogenesis of medically-significant fungi. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 594973. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.594973>

## Les Références bibliographiques

---

23. Danin, P. É., Girou, E., Legrand, P., Louis, B., Fodil, R., Christov, C., Devaquet, J., Isabey, D., & Brochard, L. (2015). Description et microbiologie du biofilm du tube endotrachéal chez les sujets ventilés mécaniquement. *Soins respiratoires*, 60(1), 21–29. <https://doi.org/10.4187/respcare.02722>
24. Danin, P.-E., Girou, E., Legrand, P., Louis, B., Fodil, R., Christov, C., Devaquet, J., Isabey, D., & Brochard, L. (2014). Description and microbiology of endotracheal tube biofilm in mechanically ventilated subjects. *Respiratory Care*, 60(1). <https://doi.org/10.4187/respcare.02722>
25. David, A., Tahrioui, A., Tareau, A.-S., Forge, A., Gonzalez, M., Bouffartigues, E., Lesouhaitier, O., & Chevalier, S. (2024). *Pseudomonas aeruginosa* biofilm lifecycle: Involvement of mechanical constraints and timeline of matrix production. *Antibiotics*, 13(8), 688. <https://doi.org/10.3390/antibiotics13080688>
26. Faria, S. I., Teixeira-Santos, R., Romeu, M. J., Morais, J., Vasconcelos, V., & Mergulhão, F. J. (2020). The relative importance of shear forces and surface hydrophobicity on biofilm formation by coccoid cyanobacteria. *Polymers*, 12(3), 653. <https://doi.org/10.3390/polym12030653>
27. Feldman, C., Kassel, M., Cantrell, J., Morar, R., Goolam Mahomed, A., Philips, J. I., Kaka, S. (1999). The presence and sequence of endotracheal tube colonization in patients undergoing mechanical ventilation. *European Respiratory Journal*, 13(3), 546–551. <https://doi.org/10.1183/09031936.99.13354699>
28. Ferreira, T. de O., Koto, R. Y., da Costa Leite, G. F., Klautau, G. B., Nigro, S., da Silva, C. B., da Fonseca Souza, A. P. I., Mimica, M. J., Cesar, R. G., & Salles, M. J. C. (2016). Microbial investigation of biofilms recovered from endotracheal tubes using sonication in intensive care unit pediatric patients. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 20(5), 468–475. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2016.07.003>
29. Ghellai L., Hassaine H., Klouche N., Khadir A., Aissaoui N., Nas F., Zingg, W. (2014). Detection of biofilm formation of a collection of fifty strains of *Staphylococcus aureus* isolated in Algeria at the University Hospital of Tlemcen. *Journal of Bacteriology Research*, 6(1), 1-6.
30. Goller, C. C., & Romeo, T. (2008). Environmental influences on biofilm development. In M. Ghannoum & G. O'Toole (Eds.), *Current Topics in Microbiology and Immunology* (Vol. 322, pp. 37–66). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_3)
31. Haas, B., James, S., Parker, A. E., Gagnon, M.-C., Goulet, N., & Labrie, P. (2023). Comparison of quantification methods for an endoscope lumen biofilm model. *Biofilm*, 6, 100163. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2023.100163>
32. Haas, C. F., Eakin, R. M., Konkle, M. A., & Blank, R. (2014). Endotracheal tubes: Old and new. *Respiratory Care*, 59(6), e75–e87. <https://doi.org/10.4187/respcare.03088>

33. **Hamedi-Gaouar, S. (2022).** Colonisation des canaux d'endoscopes : suivi bactériologique, évaluation expérimentale de la formation de biofilm et mesures correctives. *Th. doct : Biologie: Université Tlemcen, Algérie.*
34. **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. *Braz J Infect Dis.* 15(4):305-11.
35. **Hospenthal, M. K., Costa, T. R. D., & Waksman, G. (2017).** A comprehensive guide to pilus biogenesis in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 15(6), 365–379. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.40>
36. **Hotterbeekx, A., Xavier, B. B., Bielen, K., Jansen, C., Moons, P., Schepens, T., Ieven, M., Goossens, H., Kumar-Singh, S., Malhotra-Kumar, S., & Joossens, P. G. (2016).** The endotracheal tube microbiome associated with *Pseudomonas aeruginosa* or *Staphylococcus epidermidis*. *Scientific Reports*, 6, 36507. <https://doi.org/10.1038/srep36507>
37. **Kara Terki I.** Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen. *Th. doct. Algérie*
38. **Kara Terki, I., Hassaine, H., Kara Terki, A., Nadira, B., Terki, N., Belma, S., Mhamedi, I., Jachachi, M. (2020).** Effets de certains désinfectants et antibiotiques sur la formation de biofilm par *Staphylococcus aureus* isolé à partir de dispositifs médicaux au Centre Hospitalier Universitaire de Sidi Bel Abbès, Algérie. *Science and Technology Review*, 21(4).<https://doi.org/10.4314/srst.v21i4.6>
39. **Khatua, C., Mukherjee, E., Lahiri, D., Singh, T. G., Chauhan, S., & Roy, P. (2024).** A pH-modulated polymeric drug-release system simultaneously combats biofilms and planktonic bacteria to eliminate bacterial biofilm. *Chemical Engineering Journal*, 499, 147673. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2024.156223>
40. **Khavandegar, A., Siami, Z., Rasouli, A., Nazemi, P., & Gull, A. (2025).** Impact of healthcare-associated infections on in-hospital outcomes during the COVID-19 era: A multicenter comparative study of 20,942 isolated microorganisms from ICU patients. *Frontiers in Public Health*, 13. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2025.1475221>
41. **Kim, B., Madukoma, C. S., Shrout, J. D., & Nerenberg, R. (2023).** Effect of EPS production on the performance of membrane-based biofilm reactors. *Water Research*, 240, 120101.<https://doi.org/10.1016/j.watres.2023.120101>

42. Kim, J.-S., Lim, M.-C., Kim, S.-M., & Lee, J.-Y. (2023). Extracellular matrix-degrading enzymes as a biofilm control strategy for food-related microorganisms. *Food Science and Biotechnology*, 32(12), Article 13,73. <https://doi.org/10.1007/s10068-023-01373-3>
43. Krasowska, A., & Sigler, K. (2014). How microorganisms use hydrophobicity and what does this mean for human needs? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 4, 112. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2014.00112>
44. Kromer, C., Schwibbert, K., Laux, P., Resch-Genger, U., Hibbert, A. K., Gadicherla, A. K., Thiele, D., Nirmalanathan-Budau, N., Luch, A., Tscherne, H. R. (2022). Monitoring and imaging pH in biofilms utilizing a fluorescent polymeric nanosensor. *Scientific Reports*, 12, Article 9823. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-13966-1>
45. Kumar, C. M., Seet, E., Van Zundert, T. C. R. V. (2021). Measuring endotracheal tube intracuff pressure: No room for complacency. *Journal of Clinical Monitoring and Computing*, 35(1), 3–10. <https://doi.org/10.1007/s10877-020-00501-2>
46. Li, W., Siddique, M. S., Graham, N., Wu, W. (2022). Influence of temperature on biofilm formation mechanisms using a gravity-driven membrane (GDM) system: Insights from microbial community structures and metabolomics. *Environmental Science & Technology*, 56(12), Article e2201357. <https://doi.org/10.1021/acs.est.2c01357>
47. Li, Y., Ni, M. (2023). Régulation de la formation de biofilm chez *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1238482. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1238482>
48. Liu, X., Zou, L., Li, B., Di Martino, P., Rittschof, D., Yang, J.-L., Maki, J., Liu, W., Gu, J.-D. (2024). Chemical signaling in biofilm-mediated biofouling. *Nature Chemical Biology*, 20(11), 1406–1419. <https://doi.org/10.1038/s41589-024-01740-z>
49. Mahendra, M., Jayaraj, B. S., Lokesh, K. S., Chaya, S. K., Veerapaneni, V. V., Limaye, S., Dhar, R., Swarnakar, R., Ambalkar, S., Mahesh, P. A. (2018). Antibiotic prescription, organisms and its resistance pattern in patients admitted to respiratory ICU with respiratory infection in Mysuru. *Indian Journal of Critical Care Medicine*, 22(4), 223–230. [https://doi.org/10.4103/ijccm.IJCCM\\_409\\_17](https://doi.org/10.4103/ijccm.IJCCM_409_17)
50. Marcuț, L., Manescu (Paltanea), V., Antoniac, A., Paltanea, G., Robu, A., Mohan, A. G., Grosu, E., Corneschi, I., & Bodog, A. D. (2023). Antimicrobial solutions for endotracheal tubes in prevention of ventilator-associated pneumonia. *Materials*, 16(14), 5034. <https://doi.org/10.3390/ma16145034>
51. Meregildo-Rodriguez, E. D., Ortiz-Pizarro, M., Asmat-Rubio, M. G., Fernandez-Narváez, C. G., & Vásquez-Tirado, G. A. (2025).  $\beta$ -lactam antibiotics to prevent ventilator-associated pneumonia (VAP) in coma patients: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicina Intensiva*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1016/j.medin.2025.501299>

52. Mishra, S. K., Baidya, S., Bhattarai, A., Rayamajhee, B., Hui, A., & Willcox, M. (2024). Bacteriology of endotracheal tube biofilms and antibiotic resistance: A systematic review. *Journal of Hospital Infection*, 147, 146–157. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2024.03.002>
53. Mousa, R., El-Kady, M. F., Hussein, A. A. A., Ahmed, A. E., & El-Gendy, A. O. (2022). Occurrence of carbapenem multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* carrying blaVIM metallo- $\beta$ -lactamases and their biofilm phenotypes in Al-Azhar University Hospital. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 12(3), 73–81. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2022.120307>
54. Nasr S.A., Abushady H.M., Hussein H.S. (2012). Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of staphylococci. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, pp. 1110-8630.
55. Niederdorfer, R., Besemer, K., Battin, T. J., & Peter, H. (2017). Ecological strategies and metabolic trade-offs of complex environmental biofilms. *NPJ Biofilms and Microbiomes*, 3, 21. <https://doi.org/10.1038/s41522-017-0029-y>
56. Ochiai, Y., Yamada, F., Mochizuki, M., Takano, T., Hondo, R., & Ueda, F. (2014). Biofilm formation under different temperature conditions by a single genotype of persistent *Listeria monocytogenes* strains. *Journal of Food Protection*, 77(1), 133–140. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-13-074>
57. Ostría-Hernández, M. L., Juárez-de la Rosa, K. C., Azteca Barbosa, P., Iovino, A., Sakai, F., Ibarra, J. A., & Castro-Escarpulli, G. (2018). Nosocomial, multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from Mexico City produce robust biofilms on abiotic surfaces but not on human lung cells. *Microbial Drug Resistance*, 24(4), 390–397. <https://doi.org/10.1089/mdr.2017.0073>
58. O'Toole, G., Kaplan, H.B., Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Review of Microbiology*, 54 (1), 49-79.
59. Ozer, E., Yaniv, K., Chetrit, E., Boyarski, A., Meijler, M. M., Berkovich, R., Kushmaro, A., & Alfonta, L. (2021). An inside look at a biofilm: *Pseudomonas aeruginosa* flagella biotracking. *Science Advances*, 7(24), eabg8581. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg8581>
60. Özyaman, F., & Yılmaz, Ö. (2023). Effect of Different Culture Media on *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation. *Turkish Journal of Health Science and Life*, 6(3), 133–140. <https://doi.org/10.5281/zenodo.10469320>

61. Pal, M. K., & Lavanya, M. (2022). Microbial influenced corrosion: Understanding bioadhesion and biofilm formation. *Journal of Bio- and Tribo-Corrosion*, 8. <https://doi.org/10.1007/s40735-022-00690-1>
  
62. Pal, M. K., & Lavanya, M. (2022). Microbial influenced corrosion: Understanding bioadhesion and biofilm formation. *Journal of Bio- and Tribo-Corrosion*, 8, Article 76. <https://doi.org/10.1007/s40735-022-00677-x>
  
63. Palau, M., Muñoz, E., Larrosa, N., Gomis, X., Márquez, E., Len, O., Almirante, B., & Gavaldà, J. (2022). Hyperthermia prevents *in vitro* and *in vivo* biofilm formation on endotracheal tubes. *Microbiology Spectrum*, 11(1), e02807-22. <https://doi.org/10.1128/spectrum.02807-22>
  
64. Perez, J. J., Alarcon Oseguera, F., Monnappa, A. K., Santos, J. I., Bianco, V., Nie, P., Ciamarra, M. P., Canales, A., Dinis, L., Lopezmontero, I., Valeriani, C., & Orgaz, B. (2021). *Self-adaptation of Pseudomonas fluorescens biofilms to hydrodynamic stress*. arXiv. <https://arxiv.org/abs/2101.02449>
  
65. Pönisch, W., Eckenrode, K. B., Alzurqa, K., Nasrollahi, H., Weber, C., Zaburdaev, V., & Biais, N. (2018). Pili mediated intercellular forces shape heterogeneous bacterial microcolonies prior to multicellular differentiation. *Scientific Reports*, 8, 16567. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34754-4>
  
66. Rajandra, A., Mohd Yunus, N., Teo, C. H., Kukreja, A., Suhaimi, N. A., Mohd Razali, S. Z., Basri, S., Teh, C. S. J., Leong, C. L., Ismail, I., Azmel, A., Mohd Yunus, N. H., Rajahram, G. S., Ismail, A. J., Rudra Deva, S., Kee, P. W., TRGS Working Group, & Ponnampalavanar, S. S. L. S. (2025). Incidence, compliance, and risk factor associated with central line-associated bloodstream infection (CLABSI) in intensive care unit (ICU) patients: A multicenter study in an upper middle-income country. *Antibiotics*, 14(3), 271. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14030271>
  
67. Raveendra, N., Rathnakara, S. H., Haswani, N., & Subramaniam, V. (2021). Bacterial biofilms on tracheostomy tubes. *Indian Journal of Otolaryngology and Head & Neck Surgery*, 74(Suppl 3), 4995–4999. <https://doi.org/10.1007/s12070-021-02598-6>
  
68. Reddy, P. S. (2021). Biofilm detection and Clinical significance of Coagulase negative Staphylococci isolates in a tertiary care centre. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*, 20, 58-65.
  
69. Roy, P. K., Ha, A. J.-W., Mizan, M. F. R., Hossain, M. I., Ashrafudoulla, M., Toushik, S. H., Nahar, S., Kim, Y. K., & Ha, S.-D. (2021). Effects of environmental conditions (temperature, pH, and glucose) on biofilm formation of *Salmonella enterica* serotype Kentucky and virulence gene expression. *Poultry Science*, 100(7), 101209. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.101209>

70. Roy, P. K., Jiwon Ha, A., Mizan, M. F. R., Hossain, M. I., Ashrafudoulla, M., Toushik, S. H., Nahar, S., Kim, K., & Ha, S. D. (2021). Effects of environmental conditions (temperature, pH, and glucose) on biofilm formation of *Salmonella enterica* serotype Kentucky and virulence gene expression. *Poultry Science*, 100(7), 102209. <https://doi.org/10.1016/j.psj.2021.102209>
71. Rumbaugh, K. P., & Whiteley, M. (2025). Towards improved biofilm models. *Nature Reviews Microbiology*, 23(1), 57–66. <https://doi.org/10.1038/s41579-024-01086-2>
72. Samrot, A. V., Mohamed, A. A., Faradjeva, E., Si Jie, L., Sze, C. H., Arif, A., Sean, T. C., Michael, E. N., Mun, C. Y., Qi, N. X., Mok, P. L., & Kumar, S. S. (2021). Mechanisms and impact of biofilms and targeting of biofilms using bioactive compounds—A review. *Medicina (Kaunas)*, 57(8), 839. <https://doi.org/10.3390/medicina57080839>
73. Sandu, A. M., Chifiriuc, M. C., Vîrcianu, C. O., Cristian, R. E., Alistar, C. F., Constantin, M., Paun, M., Alistar, A., Popa, L., Popa, M. I., Tantu, A. C., Sidoroff, M. E., Mihai, M. M., Marcu, A., Popescu, G., & Tantu, M. M. (2025). Healthcare-associated infections: The role of microbial and environmental factors in infection control—A narrative review. *Infectious Diseases and Therapy*, 14, 933–971. <https://doi.org/10.1007/s40121-025-00955-5>
74. Schilcher, K., & Horswill, A. R. (2020). Staphylococcal biofilm development: Structure, regulation, and treatment strategies. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 84(3), e00026-19. <https://doi.org/10.1128/membr.00026-19>
75. Schmidt, H., Thom, M., Wieprecht, S., Manz, W., & Gerbersdorf, S. U. (2018). The effect of light intensity and shear stress on microbial biostabilization and the community composition of natural biofilms. *Research and Reports in Biology*, 9, 1–16. <https://doi.org/10.2147/RRB.S145282>
76. Schulze, A., Mitterer, F., Pombo, J. P., & Schild, S. (2021). Biofilms by bacterial human pathogens: Clinical relevance – development, composition and regulation – therapeutical strategies. *Microbial Cell*, 8(2), 28–56. <https://doi.org/10.15698/mic2021.02.741>
77. Schulze, A., Mitterer, F., Pombo, J. P., & Schild, S. (2021). Biofilms by bacterial human pathogens: Clinical relevance – development, composition and regulation – therapeutical strategies. *Microbial Cell*, 8(2), 28–56. <https://doi.org/10.15698/mic2021.02.741>
78. Schulze, L. B., Eick, S., Maldonado, A., Lussi, A., & Sculean, A. (2021). The impact of the pH value on biofilm formation. *Monographs in Oral Science*, 29, 19–29. <https://doi.org/10.1159/000510196>
79. Sethi, S. (2024). Ventilator-associated pneumonia. In *Merck Manual Professional Version*. Merck & Co., Inc. <https://www.merckmanuals.com/professional/pulmonary-disorders/pneumonia/ventilator-associated-pneumonia>

80. Sharma, S., Mohler, J., Mahajan, S. D., Schwartz, S. A., Bruggemann, L., & Aalinkeel, R. (2023). Microbial biofilm: A review on formation, infection, antibiotic resistance, control measures, and innovative treatment. *Microorganisms*, 11(6), 1614. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061614>
81. She, P., Wang, Y., Liu, Y., Tan, F., Chen, L., Luo, Z., & Wu, Y. (2019). Effects of exogenous glucose on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and antibiotic resistance. *Microbiology Open*, 8(12), e933. <https://doi.org/10.1002/mbo3.933>
82. Shrestha LB, Bhattarai NR, Khanal B. (2017). Antibiotic resistance and biofilm formation among coagulase-negative staphylococci isolated from clinical samples at a tertiary care hospital of eastern Nepal. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*; 6:89. DOI:[10.1186/s13756-017-0251-7](https://doi.org/10.1186/s13756-017-0251-7)
83. Simões, L. C., & Simões, M. (2023). Contribution to understanding the mechanisms involved in biofilm formation, tolerance and control. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(11), 9475. <https://doi.org/10.3390/ijms24119475>
84. Solis, R., & Sengupta, B. (2024). Abstract 1855: The significance of glucose concentration on bacterial biofilm formation. *Journal of Biological Chemistry*, 300(3 Suppl), 105867. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2024.105867>
85. Srinivasan, R., Santhakumari, S., Poonguzhali, P., Geetha, M., Dyavaiah, M., & Sangmin, L. (2021). Bacterial biofilm inhibition: A focused review on recent therapeutic strategies for combating the biofilm mediated infections. *Frontiers in Microbiology*, 12, 676458. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.676458>
86. Tétart, F. (2023). Dispositifs médicaux et allergies. *Dermato Mag*, 11(3), 181–183.
87. Thorarinsdottir, H. R., Kander, T., Holmberg, A., Petronis, S., & Klarin, B. (2020). Biofilm formation on three different endotracheal tubes: A prospective clinical trial. *Critical Care*, 24, 382. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03061-9>
88. Thorarinsdottir, H. R., Kander, T., Holmberg, A., Petronis, S., & Klarin, B. (2020). Biofilm formation on three different endotracheal tubes: A prospective clinical trial. *Critical Care*, 24. <https://doi.org/10.1186/s13054-020-03092-1>
89. Titouche, Y., Akkou, M., Daoui, Y., Chergui, A., Mechnoune, D., Benayeche, L., Fathi, A., & Nait-Jacques-Antoline, Y. (2024). Investigation of biofilm formation ability and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from food products. *Foodborne Pathogens and Disease*, 21(3). <https://doi.org/10.1089/fpd.2024.0121>

## Les Références bibliographiques

---

90. Touati A., Achour W., Abbassi et al., (2007), Détection des gènes ica et de la production de slime parmi des souches de *Staphylococcus epidermidis* isolées d'infections liées aux cathéters chez des patients neutropéniques, *Pathologie Biologie*, 55 : 2773282
91. Touman, A. A., & Stratakos, G. K. (2018). Long-term complications of tracheal intubation. In *Tracheal Intubation* (Chap.6). IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74160>
92. Waldrop, R., McLaren, A., Calara, F., & McLemore, R. (2014). Biofilm growth has a threshold response to glucose in vitro. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 472(11), 3305–3310. <https://doi.org/10.1007/s11999-014-3538-5>
93. Wang, X., Chen, C., Hu, J., Liu, C., Ning, Y., & Lu, F. (2024). Current strategies for monitoring and controlling bacterial biofilm formation on medical surfaces. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 282, 116709. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116709>
94. Wijesinghe, G., Dilhari, A., Gayani, B., Kottegoda, N., Samarakoon, S., Weerasekera, M., & Seneviratne, L. (2019). Influence of laboratory culture media on *in vitro* growth, adhesion, and biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Medical Principles and Practice*, 28(1), 28–35. <https://doi.org/10.1159/000494757>
95. Zhao, A., Sun, J., & Liu, Y. (2023). Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1137947. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>
96. Zhao, Y., Zhang, J., Ni, M., Pan, Y., Li, L., & Ding, Y. (2024). Cultivation of phosphate-accumulating biofilm: Study of the effects of acyl-homoserine lactones (AHLs) and cyclic dimeric guanosine monophosphate (c-di-GMP) on the formation of biofilm and the enhancement of phosphate metabolism capacity. *Science of The Total Environment*, 928, 172408. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.172408>

# ANNEXES

### Annexe 01: Les caractéristiques cliniques des patients et leurs pathologies associées

	Service	Sexe	Age	Durée sondage	Pathologies associées	Souches isolées
<b>P1</b>	Réanimation	H	66	7 jrs	Tumeur de colon	Kp1 S1
<b>P2</b>	Réanimation	F	31	10jrs	Polytraumatisé	Kp4 S2 En
<b>P3</b>	Urgences	H	47	2mois	Thrombose veineuse cérébrale TVC	Kp2 S3 PP2
<b>P4</b>	Réanimation	H	64	1mois	Bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO)	Kp6 Sb1 PP1
<b>P5</b>	Réanimation	H	52	7 jrs	Accident vasculaire cérébral AVC	P1
<b>P6</b>	Urgences	H	35	52jrs	Crise d'épilepsie prolongée	Kp7 S6 Microc
<b>P7</b>	Réanimation	H	59	45jours	Méningite bactérienne aiguë	Kp10 Kp11 Acinito
<b>P8</b>	Réanimation	H	/	/	Diabète AVC	Kp3 Kp4 S4 P4
<b>P9</b>	Réanimation	H	/	/	Diabète	Kp5 S5 P2 P3
<b>P10</b>	Réanimation	F	49	1mois	Traumatismes crâniens sévères	Kp8 Kp9 S7

## Annexe 02 : Composition et préparation des géloses/bouillons

Milieu de culture/bouillon	Composition (pour 1 L)	Préparation
BHIB (Brain Heart Infusion Broth)	- Cerveau de bœuf : 200 g - Cœur de bœuf : 250 g - Peptone : 10 g - Dextrose : 2 g - NaCl : 5 g - Eau distillée : 1 L	3,7g/L d'eau distillé, stérilisation à 121°C pendant 15 min.
LB (Luria Bertani Broth) (pH 7± 0.2)	- Tryptone : 10 g - Extrait de levure : 5 g - NaCl : 10 g - Eau distillée : 1 L	25g/L d'eau distillé, stérilisation à 121°C pendant 15 min.
BN (Bouillon nutritif) (pH 7,2±0,2)	- Peptone : 5 g - Extrait de viande : 3 g - NaCl : 5 g - Eau distillée : 1 L	8g/L d'eau distillé, stérilisation à 121°C pendant 15 min.
Chapman (pH 7,6± 0.2)	- Peptone : 10 g - Extrait de viande : 1 g - Mannitol : 10 g - NaCl : 75 g - Rouge de phénol : 0,025 g - Agar : 15 g - Eau distillée : 1 L	111g/L d'eau distillée, stérilisation à 121°C pendant 15min.
Cétrimide agar (pH 7,1± 0.2)	- Peptone : 20 g - Magnésium sulfate : 1.4 g - Acide nalidixique : 15 mg (optionnel) - Cetrimide : 0.3 g - Agar : 13.6 g - Eau distillée : 1 L	45.3g /L d'eau distillée, stérilisation à 121°C pendant 15min.
Mac Conkey agar (pH 7,1± 0.2)	- Peptone : 17 g - Lactose : 10 g - Sels biliaires : 1.5 g - Cristal violet : 0.001 g - Rouge neutre : 0.03 g - NaCl : 5 g - Agar : 13.5 g - Eau distillée : 1 L	50g/L d'eau distillé, stérilisation à 121°C pendant 15 min.
Milieu Rouge Congo Agar (RCA) (pH 7,4± 0.2)	-BHIB : 37g -Saccharose : 50g -Agar : 10g -Rouge Congo Agar 0,8g -Eau distillée : 1L	Stérilisation à 121°C pendant 15min.

**Annexe 03:** Ensemencement sur milieux de culture et identification par plaque API



**Annexe 04:** Etapes de formation de biofilm par la technique TCP

