

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

UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN
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

KERZAZ Ikram

SOUNA Fatima Zohra

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie et contrôle de qualité

**Effet antibactérien des polysaccharides sécrétés par
des souches d'origine hospitalière**

Soutenu le 23/06/2026, devant le jury composé de :

Présidente	Pr HASSAINE Hafida	Professeur	Université de Tlemcen
Examinatrice	Dr ZERHOUNI Khadija	MCB	Université de Tlemcen
Encadrante	Dr GAOUAR Sara	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2025-2026

Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir accordé la santé, la force et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail.

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 Mr **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 Tlemcen.

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre encadrante, Mme **HAMEDI-GAOUAR Sara**, pour sa disponibilité, sa patience, ses conseils et son accompagnement. Sa bienveillance et sa confiance ont été une véritable source de motivation durant tout notre parcours.

Nous tenons également à remercier Mme **HASSAINE Hafida** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider ce jury et d'évaluer notre travail.

Nos sincères remerciements s'adressent également à Mme **ZERHOUNI Khadija** pour son intérêt porté à notre étude ainsi que pour le temps consacré à l'évaluation de ce mémoire.

Nous remercions également Madame l'ingénieure de laboratoire pour son aide précieuse, sa disponibilité et son soutien durant la réalisation de la partie expérimentale.

Enfin, nous adressons nos remerciements les plus sincères à nos familles, nos amis ainsi qu'à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à l'aboutissement de ce travail et qui nous ont soutenus durant cette expérience.

À toutes et à tous, nous exprimons notre profonde reconnaissance.

Dédicace

Je dédie ce mémoire,

À mon cher père, Ahmed,

Pour votre soutien indéfectible, vos encouragements et votre confiance en moi. Merci d'avoir toujours cru en mes capacités. Que Dieu vous garde toujours en bonne santé.

À ma très chère mère, Halima,

Source inépuisable d'amour et de bienveillance. Merci pour tes prières, ton affection et tous les efforts que tu as déployés pour ma réussite. Que Dieu vous protège et vous accorde santé, bonheur et longue vie.

À mes chères sœurs : Asmaa, Khadidja, Samira, Marwa et Kawther,

Pour votre amour, votre soutien et les précieux moments partagés. Votre présence a toujours été une source de réconfort et de motivation.

À mon encadrante, Mme HAMED-GAOUAR Sara,

Pour sa disponibilité, sa patience, ses conseils avisés et son accompagnement tout au long de ce travail. Merci pour votre confiance et votre soutien.

À mes amis,

Pour leur présence, leur soutien et les souvenirs inoubliables vécus durant ces années d'études.

Et enfin, je dédie ce mémoire à toutes les personnes qui ont cru en moi et m'ont encouragée tout au long de mon parcours.

Avec toute ma gratitude et mon affection.

Dédicace

Je dédie ce travail à la lumière de ma vie

À mon père, Souna Boumediene, et à ma mère, Bercisse Fatiha,

Qui ont été bien plus que des parents : un soutien inconditionnel, une source d'amour infinie et un modèle de courage et de persévérance. Leur patience, leurs sacrifices et leurs prières ont été les piliers de mon parcours et la force qui m'a permis d'avancer jusqu'ici.

À mes sœurs et à mon frère,

Pour leur présence constante, leur affection sincère et leur soutien qui ont illuminé mes moments de doute et partagé mes instants de joie.

À ma famille,

Pour leur encouragement, leur bienveillance et leur confiance qui m'ont toujours accompagnée tout au long de ce chemin.

À mes amis,

Pour leur amitié précieuse, leur soutien moral et les beaux moments qui ont rendu ce parcours plus léger et plus humain.

À mon encadrante, Mme HAMED-GAOUAR Sara,

Pour sa bienveillance et son accompagnement tout au long de ce travail. Merci pour votre soutien et vos conseils.

Et enfin, à toute personne qui lira ce travail,

Puisse-t-elle y trouver une source d'inspiration, de motivation et la preuve que la persévérance ouvre toujours les portes de la réussite

Fatima

الملخص

تُعد الكائنات الحية الدقيقة مثل الزائفة الزنجارية والمكورات العنقودية الذهبية من أكثر الميكروبات ارتباطاً بالعدوى المرتبطة بالأنابيب الرغامية، والتي يصعب علاجها بسبب قدرتها الكبيرة على تكوين الأغشية الحيوية، مما يشكل عامل خطر رئيسياً للإصابة بالالتهاب الرئوي المرتبط بالتهوية الميكانيكية. يهدف هذا العمل إلى دراسة قدرة السلالات المعزولة من الأنابيب الرغامية على تكوين الأغشية الحيوية باستعمال تقنية زراعة الأنسجة في الصفائح (TCP) ، ودراسة النشاط المضاد للبكتيريا للسكريات متعددة الوحدات خارج الخلوية (EPS) تجاه الخلايا العوالية، وتحديد تأثيرها المضاد للالتصاق، بالإضافة إلى دراسة قدرتها على تدمير الأغشية الحيوية المتشكلة مسبقاً لدى السلالات المعزولة. من خلال تحليل 11 أنبوباً رغامياً، تم عزل 15 سلالة بكتيرية، تمثلت في الزائفة الزنجارية (53%)، والمكورات العنقودية الذهبية (34%)، وأنواع أخرى من المكورات العنقودية (13%). وأظهرت تقنية TCP أن جميع العزلات كانت منتجة جيدة للأغشية الحيوية. وقد بلغ إنتاج EPS لدى سلالات الزائفة الزنجارية حداً أقصى قدره 500 ملغ/لتر. أظهرت EPS المستخلصة نشاطاً مضاداً للبكتيريا بدرجات متفاوتة تجاه الخلايا العوالية للمكورات العنقودية الذهبية. وعند تركيز 62.5 ملغ/لتر، تميز كل من EPS2 و EPS3 بقدرة جيدة على تثبيط تكوين الأغشية الحيوية للمكورات العنقودية الذهبية. كما أظهر EPS2 عند التراكيز المنخفضة (125 ملغ/لتر و 62.5 ملغ/لتر) قدرة على تقليل الكتلة الحيوية لثلاثة أغشية حيوية متشكلة مسبقاً لسلالات المكورات العنقودية الذهبية. إن فهم آلية عمل هذه السكريات خارج الخلوية يُعد أمراً ضرورياً لتطوير بدائل علاجية جديدة تهدف إلى الحد من خطر العدوى المرتبطة بهذه الأجهزة الطبية.

الكلمات المفتاحية: الأنبوب الرغامي، التلوث، الزائفة الزنجارية، المكورات العنقودية الذهبية، الغشاء الحيوي، السكريات متعددة الوحدات خارج الخلوية، النشاط المضاد للبكتيريا.

Résumé

Les microorganismes tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* sont souvent associés aux infections liées aux tubes endotrachéaux (TET), difficiles à traiter, en raison de leur grande capacité à former un biofilm ce qui constitue un risque majeur de la pneumonie associée à la ventilation mécanique. L'objectif de notre travail vise à étudier la capacité de la formation de biofilm chez des souches isolées des TET par la technique de culture de tissu en plaque (TCP), d'étudier l'activité antibactérienne des exopolysaccharides (EPS) vis-à-vis des souches planctoniques, de déterminer leur effet anti adhérent et étudier leur capacité à détruire les biofilms préformés des souches isolées. À partir de 11 TET analysés, 15 souches ont été isolées, soit *Pseudomonas aeruginosa* (53%), *Staphylococcus aureus* (34%) et *Staphylococcus sp* (13%). Selon la technique TCP la totalité des isolats étaient de bons producteurs de biofilm in vitro. La production d'EPS chez les souches de *P. aeruginosa* a atteint un maximum de 500 mg/L. Les EPS extraits ont montré une activité antibactérienne variable vis-à-vis des cellules planctoniques de *S. aureus*. À la concentration de 62.5mg/L EPS2 et EPS3 se distinguent par une bonne inhibition de formation du biofilm de *S. aureus*. EPS 2 à faibles concentration (125mg/L et 62.5mg/L) réduisent la biomasse des trois biofilms préformés des souches *S. aureus*. Comprendre le mécanisme d'action des EPS est crucial pour développer de nouvelles alternatives thérapeutiques afin de minimiser le risque infectieux lié à ces dispositifs médicaux.

Mots clés : tube endotrachéal, contamination, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, biofilm, exopolysaccharide, activité antibactérienne.

Abstract

Microorganisms such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* are frequently associated with infections related to endotracheal tubes (ETTs), which are difficult to treat due to their strong ability to form biofilms. This represents a major risk factor for ventilator-associated pneumonia (VAP). The aim of this study was to investigate the biofilm-forming ability of strains isolated from ETTs using the Tissue Culture Plate (TCP) method, to evaluate the antibacterial activity of exopolysaccharides (EPSs) against planktonic cells, to determine their anti-adhesion effect, and to assess their ability to disrupt preformed biofilms of the isolated strains. A total of 15 bacterial isolates were recovered from 11 analyzed ETTs, including *Pseudomonas aeruginosa* (53%), *Staphylococcus aureus* (34%), and *Staphylococcus spp.* (13%). According to the TCP assay, all isolates were strong biofilm producers in vitro. EPS production by *P. aeruginosa* strains reached a maximum yield of 500 mg/L. The extracted EPSs exhibited variable antibacterial activity against planktonic *S. aureus* cells. At a concentration of 62.5 mg/L, EPS2 and EPS3 showed a notable ability to inhibit *S. aureus* biofilm formation. Furthermore, EPS2 at low concentrations (125 mg/L and 62.5 mg/L) reduced the biomass of three preformed *S. aureus* biofilms. Understanding the mechanisms of action of EPSs is essential for the development of new therapeutic alternatives aimed at reducing the infectious risks associated with these medical devices.

Keywords : endotracheal tube, contamination, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, biofilm, exopolysaccharide, antibacterial activity.

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations

Listes des figures

Liste des tableaux

Introduction	2
CHAPITRE I : Risque infectieux lie aux tubes endotrachéaux.....	2
1. Définition du tube endotrachéal.....	4
2. Structure du tube endotrachéal.....	4
3. Indications de l'intubation endotrachéale	5
4. Les complications infectieuses liées aux TET	6
4.1. La pneumonie associée à la ventilation mécanique.....	6
4.2. Les principaux contaminants des TET	6
4.2.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	7
4.2.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
CHAPITRE II : Les biofilms bactériens associés aux tubes endotrachéaux	8
Signet non défini.1. Étapes de formation du biofilm	9
1.1. L'adhésion initial réversible.....	9
1.2. L'adhésion irréversible.....	10
1.3. Le développement précoce du biofilm	10
1.4. La maturation	10
1.5. La dispersion	10
2. Biofilm sur tubes endotrachéaux.....	10
CHAPITRE III : Les exopolysaccharides	10
1. Polysaccharides bactériens.....	13
1.1. Classification des polysaccharides bactériens.....	13
2. Les exopolysaccharides	14
2.1. Définition.....	14
2.2. Les voies de biosynthèse des EPSs.....	14
2.3. Composition chimique et structure des EPSs	14
2.3.1 Homopolysaccharides.....	15
2.3.2 Hétéropolysaccharides.....	15
2.4. Production des EPS par les bactéries.....	15
2.5. Propriétés des EPS et adhésion.....	15
2.6. Rôle des ESP dans la prévention et la lutte contre la formation des biofilms	16

2.7. Applications industrielles des EPS	17
Matériel et méthodes	19
1. Prélèvements	20
2. Ensemencement et isolement.....	20
3. Identification.....	21
4. Conservation des souches	21
5. Étude de la formation de biofilm <i>in-vitro</i> des souches isolées	21
6. Production et extraction des exopolysaccharides (EPSs)	22
6.1. Production des EPSs.....	22
6.2. Extraction des EPSs.....	22
6.3. Quantification des EPSs	23
7. Effet des exopolysaccharides sur des souches planctoniques et sessiles.....	23
7.1. Méthode de diffusion en puits sur gélose Mueller-Hinton	23
7.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	24
7.3. Effet des EPSs sur des biofilms préformés.....	24
7.4. Effet anti biofilm des EPSs sur les souches isolées de TET. Erreur ! Signet non défini.	
Résultats et discussion	25
1. Prélèvement et isolement	26
2. Caractères bactériologiques des souches isolées	27
2.1. Aspect macroscopique des souches isolées sur les milieux sélectifs	27
2.2. Aspect microscopique des souches isolées.....	28
2.3. Etude des caractères biochimiques des souches isolées	29
3. Evaluation de la formation de biofilm <i>in-vitro</i> par la technique TCP	29
4. Production des exo polysaccharides	32
5. Effet des EPS sur des souches planctoniques et sessiles	32
5.1. Méthode de diffusion en puits sur gélose Mueller-Hinton	33
5.2. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices des EPS	34
5.3. Effet anti biofilm des EPSs sur les <i>S. aureus</i> Erreur ! Signet non défini.	34
5.4. Effet des EPSs sur des biofilms préformés de <i>S. aureus</i>	34
Conclusion	35
Références bibliographiques	37
ANNEXES	

Liste des abréviations

DO : Densité optique

EPS : Exopolyssacharide

IAS : Infection associée aux soins

PAVM : Pneumonie associée aux ventilations mécaniques

PVC : Chlorure polyvinyle

TCP : Méthode de plaque de culture de tissus

TET : Tube Endotrachéal

Listes des figures

Figure 1: Structure d'un tube endotrachéal.....	4
Figure 2: Les étapes de formation du biofilm bactérien.....	9
Figure 3: Biofilms bactériens sur TET observée par microscopie électronique	11
Figure 4: Prélèvements des sondes endotrachéales	20
Figure 5: Les étapes de formation du biofilm par la technique TCP	22
Figure 6: Aspect macroscopique de souches isolées des TET sur les milieux sélectifs	27
Figure 7: Test de la coagulase en tube	28
Figure 8: Aspect microscopique des souches étudiées après coloration de Gram	28
Figure 9: Résultats de l'identification des souches par la galerie API.....	29
Figure 10: Résultats de la quantification de la formation de biofilm par les souches.....	30
Figure 11: Résultats de la quantification de la formation de biofilm par les souches.....	30
Figure 12: Le pouvoir antibactérien des EPS testés vis-à-vis les trois souches de <i>S. aureus</i>	
Figure 13: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des différents EPS testés sur les souches de <i>S. aureus</i>	33
Figure 14: Effet antibiofilm des différents EPS sur les souches de <i>S. aureus</i>	35
Figure 15: Effet des EPSs sur des biofilms préformés de <i>S. aureus</i>	Erreur ! Signet non défini.

Liste des tableaux

Tableau 1: Composants d'un tube endotrachéal et leurs principales fonctions . **Erreur ! Signet non défini.**

Tableau 2: Classification des polysaccharides bactériens..... 13

Tableau 3: La durée du sondage et la répartition des souches de *Pseudomonas aeruginosa* . 26

Tableau 4: Résultats de la technique de TCP 31

Tableau 5: Quantification des EPSs par les souches sélectionnées 32

Tableau 6: Détermination des CMI des EPS sélectionnés (en mg/L) sur les bactéries planctoniques de *S. aureus* 34

Introduction

Les infections associées aux soins constituent un enjeu majeur de santé publique. Elles apparaissent généralement après 48 heures d'hospitalisation du patient (**Abalkhail et Marzouk, 2025 ; Adegboye et al., 2025**).

Les pneumonies associées à la ventilation mécanique constituent les plus fréquentes infections en milieu hospitalier nécessitant l'utilisation des tubes endotrachéaux (TET). Ces dispositifs médicaux représentent un facteur de risque important car ils favorisent une accumulation des sécrétions trachéobronchiques facilitant ainsi l'adhésion des micro-organismes à la surface des TET et la formation de biofilms persistants, fortement impliqués dans les infections respiratoires (**Walsh et al., 2024 ; Deshmukh-Reeves et al., 2025**).

Ces biofilms confèrent aux microorganismes une tolérance accrue aux agents antimicrobiens ainsi qu'aux mécanismes de défense de l'hôte, ce qui favorise leur persistance dans les infections chroniques associées aux dispositifs médicaux (**Caldara et al., 2022 ; Scalia et Najmi, 2025**).

Les exopolysaccharides (EPS) occupent l'espace intercellulaire du biofilm, et assurent à la fois une solidité structurelle des cellules bactériennes, et une stabilité de la structure du biofilm (**Almatroudi, 2025 ; Montanari et al., 2025**). Ces substances présentent une activité antimicrobienne contre différents microorganismes pathogènes. Ils jouent également un rôle important dans la prévention et la lutte contre la formation de biofilms indésirables en inhibant leur développement, empêchant ainsi leur stabilisation et favorisant leur désorganisation (**Rendueles et al., 2013 ; Flemming et al., 2021 ; Pointcheval et al., 2025**).

C'est dans ce contexte que nous avons entrepris ce présent travail qui a pour objectifs :

- D'isoler des souches bactériennes à partir des tubes endotrachéaux.
- D'évaluer in-vitro la capacité de souches isolées à former un biofilm
- De quantifier la production des EPS produites par les souches isolées des TET.
- D'étudier les propriétés antibactériennes et anti biofilms des EPS sur des souches planctoniques et sessiles isolées des TET.
- D'étudier l'effet des EPS sur les biofilms préformés des souches isolées des TET.

Chapitre I :
Risque infectieux lié aux tubes
Endotrachéaux

1. Définition du tube endotrachéal

Un tube endotrachéal (TET), appelé aussi sonde endotrachéale, est un dispositif médical souple fabriqué en polychlorure de vinyle (PVC). Il est introduit dans la trachée afin de maintenir les voies respiratoires ouvertes et de permettre la ventilation mécanique avec l'apport d'oxygène et d'autres gaz respiratoires. Il contribue également à protéger les voies aériennes contre l'aspiration du contenu gastrique et du sang (**Machado et Webster, 2017 ; Ramirez et al., 2024**).

2. Structure du tube endotrachéal

Le tube endotrachéal est composé de l'association de plusieurs éléments (**Figure 1**). Les principales fonctions de chaque composant de cet instrument sont présentées dans le **Tableau1**.



Figure 1: Structure d'un tube endotrachéal (**Wellead Medical, 2023**)

Tableau 1 : Composants d'un tube endotrachéal et leurs principales fonctions

(Ramirez et *al.*, 2024)

Composant	Description	Fonction principale
Connecteur proximal	Pièce située à l'extrémité supérieure du tube	Permet le raccordement au ventilateur mécanique, au ballon de réanimation ou au dispositif d'anesthésie
Corps du tube endotrachéal	Tube principal par lequel circule l'air	Assure le passage de l'air vers les poumons
Ballonnet trachéal (Cuff)	Situé à l'extrémité distale TET	Garantit l'étanchéité dans la trachée, empêche les fuites d'air pendant la ventilation mécanique et limite le passage des sécrétions pharyngées
Ballonnet pilote + valve unidirectionnelle	Petit ballon externe relié au ballonnet	Permet le gonflage et le contrôle de la pression à l'aide d'une seringue
Spirale métallique	Renforcement interne	Évite le coude ou l'écrasement du TET

3. Indications de l'intubation endotrachéale

Selon Erbay, (2018) et Şahiner, (2018) l'intubation endotrachéale est indiquée afin d'assurer à la fois une ventilation efficace et une protection des voies aériennes dans diverses situations cliniques dont :

- **Ventilation mécanique prolongée** : chez les patients nécessitant une ventilation mécanique continue, notamment en réanimation.
- **Insuffisance respiratoire aiguë** : indiquée en cas d'échec des techniques non invasives, avec persistance de signes de détresse respiratoire.
- **Protection des voies aériennes** : permet de sécuriser l'arbre trachéo-bronchique lorsque les réflexes naturels disparaissent spécifiquement en cas de troubles de la conscience (coma toxique, traumatique ou métabolique).
- **Obstruction des voies aériennes supérieures** : à cause d'un obstacle (œdème, traumatisme, corps étranger ou tumeur), dans cette situation l'intubation endotrachéale est quasiment nécessaire.
- **Anesthésie générale** : l'intubation endotrachéale est nécessaire avant une intervention chirurgicale nécessitant une anesthésie générale, afin de garantir une ventilation contrôlée.

4. Les complications infectieuses liées aux TET

L'intubation endotrachéale, bien qu'elle soit indispensable pour assurer la ventilation mécanique chez les patients critiques, elle constitue également une porte d'entrée qui facilite la migration des agents pathogènes vers les voies respiratoires profondes ; par exemple un ballonnet mal ajusté d'un TET laisse passer des sécrétions contaminées de la zone sus-glottique vers l'arbre bronchique via la micro-aspiration ce qui favorise la colonisation bactérienne d'où un facteur de risque significatif pour les infections associées aux soins (**Khandelwal et al., 2024 ; Ramirez et al., 2024**).

La pneumonie associée à la ventilation mécanique (PAVM) présente l'une des infections les plus sévères liées à l'utilisation des TET.

4.1. La pneumonie associée à la ventilation mécanique

La PAVM est une infection fréquente et sévère qui constitue une complication majeure en unité des soins intensifs particulièrement chez les patients sous ventilation artificielle depuis plus de 48 heures. Elle se développe principalement en raison de la colonisation des voies aériennes inférieures par des micro-organismes d'origine hospitalière, suite à l'intubation endotrachéale et la ventilation prolongée (**klompas, 2023 ; khandelwal et al., 2024**).

La PAVM entraîne une altération de la fonction respiratoire et diminution des échanges gazeux, nécessitant souvent une prolongation de la ventilation mécanique. Dans les formes sévères, elle peut évoluer vers des complications systémiques telles que la bactériémie, le sepsis et le choc septique, aggravant le pronostic des patients. Cette situation entraîne une augmentation des taux de morbidité et de mortalité des patients et des charges économiques telles que les coûts élevés des soins de santé (**Hunter, 2012 ; Assefa et al., 2022 ; Klompas, 2023**).

4.2. Les principaux contaminants des TET

Les principaux agents infectieux responsables de la PAVM sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Enterobacter spp.*, *Serratia marcescens*, *Proteus spp.*, *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Candida albicans* ainsi que d'autres espèces du genre *Candida spp* (**Monteiro-Neto et al., 2017 ; Alp et al., 2018 ; Klompas, 2023 ; Sethi et Rivera, 2024**).

Parmi les bactéries marqueurs qui contaminent les sondes endotrachéales et qui nous interpellent dans cette étude sont *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2.1 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram positif non sporulé et non mobile, de forme cocci regroupés en grappes, appartenant à la famille des *Staphylococcaceae* et au genre *Staphylococcus*. Elle se distingue par sa positivité aux tests de catalase et de coagulase (**Pal et al., 2021 ; Murray et al., 2023**).

Cette espèce est fréquemment impliqué dans la colonisation des TET. Après l'intubation, cette bactérie adhère facilement à la surface de ces dispositifs médicaux grâce à des protéines de surface. Une fois fixée, elle forme un biofilm entouré d'une matrice extracellulaire protectrice (EPS) qui favorise la persistance de la bactérie dans les voies respiratoires et constitue un risque infectieux contribuant ainsi au développement de PAVM (**Lüthje et al., 2018**).

4.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à Gram négatif, de forme bacillaire, mobile, pigmentée en bleu-vert. Elle appartient à la classe des *Gammaproteobacteria* et à la famille des *Pseudomonadaceae* (**Sathe et al., 2023**).

Pseudomonas aeruginosa est l'une des principales bactéries contaminantes des TET. Elle peut former un bon biofilm sur la surface interne de ces dispositifs, ce qui favorise sa persistance et rend son élimination plus difficile. Cette bactérie produit également plusieurs facteurs de virulence, notamment des exotoxines, des enzymes protéolytiques et des pigments, qui contribuent à sa survie, à son adaptation et à la colonisation prolongée des dispositifs médicaux (**Pericolini et al., 2018**).

CHAPITRE II :
Les biofilms bactériens associés aux
tubes endotrachéaux

Les biofilms sont des communautés microbiennes structurées qui s'adhèrent à des surfaces, biotiques ou abiotiques. Ils représentent le mode de vie majoritaire de nombreux micro-organismes, leur permettant de former des communautés complexes et organisées (Cleaver et Garnett, 2023 ; Sharma et al., 2023).

Les biofilms représentent un enjeu majeur en milieu hospitalier, notamment lorsqu'ils se développent sur les dispositifs médicaux tels que les cathéters, les implants, et les sondes. Leur présence favorise le développement d'infections nosocomiales persistantes, souvent difficiles à éradiquer. En effet, les bactéries organisées en biofilm présentent une forte résistance aux antibiotiques et aux désinfectants, compliquant considérablement leur élimination. Par conséquent, la formation de biofilms joue un rôle déterminant dans la chronicité des infections et aux échecs thérapeutiques (Vestby et al., 2020 ; Bouhrour et al., 2024).

1. Étapes de formation du biofilm

Le processus de la formation du biofilm se déroule en plusieurs étapes successives (Figure 2),

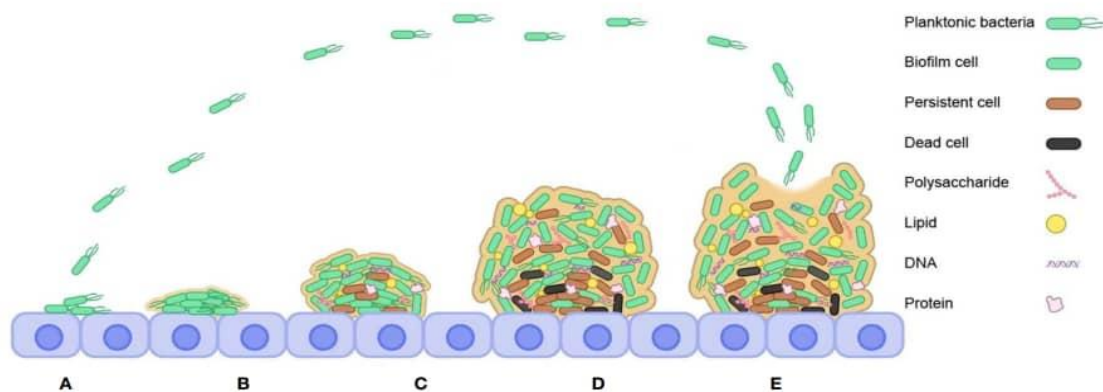


Figure 2: Les étapes de formation du biofilm bactérien (Zhao et al., 2023)

1.1.L'adhésion initial réversible

Les cellules bactériennes planctoniques s'adhèrent de façon réversible aux surfaces biotiques ou abiotiques par l'intermédiaire d'interactions physico-chimiques. Cet attachement est facilité par des organites extracellulaires, comme les flagelles et les pili présents à la surface cellulaire (Samrot et al., 2021 ; Srinivasan et al., 2021).

1.2.L'adhésion irréversible

Lors de cette étape, les cellules bactériennes s'adhèrent de manière irréversible à la surface et elles synthétisent une matrice des EPS qui renforcent leur fixation (**Singh et al., 2021**).

1.3.Le développement précoce du biofilm

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

La structure du biofilm devient progressivement tridimensionnelle, constituant un réseau complexe de cellules et d'EPS. 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. La dispersion

Cette phase de dispersion permet à ces cellules de coloniser de nouvelles surfaces, et initier ainsi un nouveau cycle de formation de biofilm (**Ali et al., 2023**).

2. Biofilm sur tubes endotrachéaux

Le développement de biofilms à la surface des TET est étroitement impliqué dans la survenue de diverses complications cliniques (**Figure 3**).

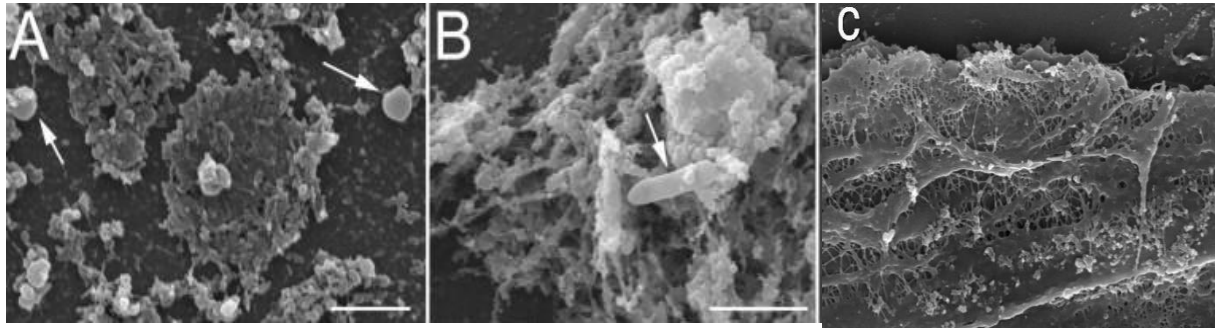


Figure 3: Biofilms bactériens sur TET observée par microscopie électronique

(a) Biofilm de *S. aureus* ; (b) Biofilm de *P. aeruginosa* (Bedingfield et al., 2025)

(c) Biofilm mixte de *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (Gil-Perotin et al., 2012)

Les TET sont principalement colonisés par des biofilms qui regroupent majoritairement des microorganismes pathogènes. Ces biofilms sont moins sensibles aux antibiotiques et aux défenses immunitaires de l'hôte ce qui complique ainsi la prise en charge thérapeutique du patient et contribue significativement au développement et la persistance de la PAVM (Walsh et al., 2024). En plus, la présence de biofilms sur les sondes endotrachéales est associée à une prolongation de la durée de ventilation mécanique, à un séjour hospitalier plus long en réanimation et à des coûts de soins plus élevés (Codru et al., 2024).

Les agents pathogènes les plus couramment impliqués dans la formation de biofilm sur les tubes endotrachéaux sont *Staphylococcus aureus* sensible à la méthicilline, *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Serratia spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter spp.*, *Acinetobacter baumannii* ainsi que les *Enterococcus* résistants à la vancomycine (Codru et al., 2024 ; Mishra et al., 2024 ; Einarsson et al., 2026).

CHAPITRE III :

Les exoploysaccharides

1. Polysaccharides bactériens

Les polysaccharides bactériens sont des polymères glucidiques produits par les bactéries, caractérisés par leur nature hydrophile et leur structure tridimensionnelle complexe. Ils jouent des rôles essentiels dans la cellule bactérienne, notamment en assurant la protection, le soutien structural et le stockage d'énergie (Khan *et al.*, 2022).

1.1. Classification des polysaccharides bactériens

Les polysaccharides bactériens peuvent être classés selon leur localisation cellulaire, leur association avec la cellule, et leur composition chimique (Tableau 2).

Tableau 1: Classification des polysaccharides bactériens
(Whitfield, 2019 ; Nguyen *et al.*, 2024)

Critère de classification	Types de polysaccharides	Description
Localisation cellulaire	Polysaccharides intracellulaires	Réserves énergétiques des bactéries
	Polysaccharides de la paroi cellulaire	Constituants structuraux (Peptidoglycane, LPS)
	Polysaccharides extracellulaires (EPSs)	Impliqués dans la formation de la matrice de biofilm
Association cellulaire	Polysaccharides capsulaires	Fortement liés à la surface bactérienne
	Exopolysaccharides (EPS libres)	Libérés dans le milieu extracellulaire
Composition chimique	Homopolysaccharides	Constitués d'un seul type de monosaccharide
	Hétéropolysaccharides	Constitués de plusieurs types de monosaccharides

2. Les exopolysaccharides

2.1. Définition

Les exopolysaccharides (EPSs) sont des biopolymères extracellulaires de nature glucidique produits par divers micro-organismes, notamment les bactéries, les champignons, les levures et les microalgues. Chez les bactéries, ils sont synthétisés par différentes voies biosynthétiques puis sécrétés soit sous forme capsulaire liée à la surface cellulaire, soit sous forme libre dans le milieu de croissance. Une fois libérés dans l'environnement extracellulaire, les EPS peuvent s'associer à d'autres biomolécules, telles que les protéines, les lipides et certains dérivés d'acides uroniques, participant ainsi à la formation d'une matrice extracellulaire (Nguyen et al., 2024 ; Pandey et Kannaujiya, 2024).

2.2. Les voies de biosynthèse des EPSs

Chez les bactéries la biosynthèse des EPS peut avoir lieu aussi bien au niveau intracellulaire qu'extracellulaire et repose sur quatre principales voies biosynthétiques : la voie dépendante du système Wzx/Wzy, la voie dépendante des transporteurs ABC, la voie dépendante des synthases ainsi que la voie de synthèse extracellulaire médiée par des enzymes de type sucrase. Ces différentes voies interviennent selon la nature structurale des polysaccharides produits. En effet, les homopolysaccharides sont généralement synthétisés par la voie des synthases et par la synthèse extracellulaire, tandis que les hétéropolysaccharides sont majoritairement produits par la voie dépendante du système Wzx/Wzy et par celle impliquant les transporteurs ABC. Ainsi, la diversité des mécanismes de biosynthèse des EPS reflète la variété structurale de ces biopolymères (Nanjani et Soni, 2012 ; Rana et Upadhyay, 2020 ; Netrusov et al., 2023).

Dans la voie Wzy-dépendante, les unités sont transportées à travers la membrane puis assemblées en polymère. Dans la voie dépendante du transporteur ABC, le polymère est formé puis exporté vers l'extérieur de la cellule. La voie dépendante de la synthase se caractérise par une synthèse simultanée du polymère et son passage à travers la membrane. Tous ces mécanismes sont contrôlés par des gènes spécifiques qui déterminent la structure finale des EPS (Schmid et al., 2015 ; Rana et Upadhyay, 2020).

2.3. Composition chimique et structure des EPSs

Les EPS sont des biopolymères extracellulaires constitués d'unités monosaccharidiques répétées liées entre elles, et peuvent être classés en homopolysaccharides ou en hétéropolysaccharides selon leur composition en sucres (Mouro et al., 2024).

2.3.1 Homopolysaccharides

Les homopolysaccharides sont constitués d'un seul type de monosaccharide. Les plus fréquemment rencontrés incluent le glucose, le galactose, le fructose, le rhamnose, le xylose, le fucose et le mannose, ainsi que des dérivés comme les acides uroniques et les amino-sucres (Wang et al., 2023 ; Zhang et al., 2023).

2.3.2 Hétéropolysaccharides

La plupart des EPS d'origine bactérienne sont des hétéropolysaccharides. Ils sont constitués de polymère contenant des sous-unités répétitives à longue chaîne de deux ou plusieurs monosaccharides différents, avec différents degrés de ramification. Les composants les plus couramment trouvés dans les EPS sont les pentoses (l'arabinose, le ribose et le xylose) et les hexoses (glucose, galactose, mannose, rhamnose, fucose) les sucres aminés (D-glucosamine et D-galactosamine) ou les acides uroniques (D- acides glucuroniques, acides D-galacturoniques). Des alternatives organiques ou inorganiques telles que le sulfate, le phosphate, l'acide acétique, l'acide succinique et l'acide pyruvique peuvent également être présents (Nicolaus et al., 2010 ; Zeidan et al., 2017 ; Netrusov et al., 2023).

2.4. Production des EPS par les bactéries

Les bactéries à Gram négatif sont les principaux producteurs des EPS, notamment les genres *Pseudomonas*, *Xanthomonas* et *Azotobacter* ; ainsi que des bactéries à Gram positif, notamment les genres *Bacillus*, *Lactobacillus* et *Streptococcus*.

Ces micro-organismes sécrètent les EPS dans le milieu extracellulaire, sous forme libre ou associée à la surface cellulaire. Leur production dépend de plusieurs paramètres de culture tels que la source de carbone, le pH, la température et l'aération. Ces polymères jouent un rôle essentiel dans la formation des biofilms ainsi que dans la protection des bactéries contre les conditions environnementales défavorables (Netrusov et al., 2023).

2.5. Propriétés des EPS et adhésion

Les EPS constituent une composante importante de la matrice extracellulaire produite par les bactéries. Ils occupent l'espace intercellulaire du biofilm, et assurent à la fois une solidité structurelle des cellules bactériennes, ils contribuent également à la cohésion et à la stabilité de la structure du biofilm. Les EPS favorisent l'adhésion bactérienne aux surfaces ce qui constitue

une barrière protectrice et une résistance aux facteurs agressifs, tels que les agents antibactériens, les réponses immunitaires de l'hôte et les facteurs environnementaux extrêmes (Talbi et al., 2023 ; Almatroudi, 2025 ; Montanari et al., 2025).

Plusieurs études ont permis de mettre en évidence plusieurs types des EPS incluant l'alginate, le Pel et le Psl produits par *P. aeruginosa* (Franklin et al., 2011). La cellulose sécrétée par *E. coli* et *Salmonella spp.* (Zogaj et al., 2001) et par *P. fluorescens* (Spiers et al., 2003). Ainsi le PNAG qui est produit par *E. coli* (Wang et al., 2004), *S. aureus* (O'Gara, 2007), *A. baumannii* (Choi et al., 2009), et *K. pneumoniae* (Chen et al., 2014).

La production des ESP favorise la formation de biofilms, l'adhésion aux surfaces, ainsi la protection des cellules contre les conditions environnementales défavorables comme les variations de pH, la température, la dessiccation ou la présence d'agents antimicrobiens (Abdalla et al., 2021).

2.6. Rôle des ESP dans la prévention et la lutte contre la formation des biofilms

Les EPS présentent une activité antimicrobienne contre différents microorganismes pathogènes, bien que cette activité varie selon le type d'EPS, les conditions d'extraction et de purification, ainsi que la nature des microorganismes ciblés et les méthodes d'évaluation utilisées (Abdalla et al., 2021 ; Pointcheval et al., 2025).

Par ailleurs, les EPS jouent un rôle important dans la prévention et la lutte contre la formation des biofilms indésirables, en inhibant leur développement sans affecter nécessairement la croissance bactérienne, notamment par la réduction de l'adhésion cellulaire aux surfaces (Rendueles et al., 2013). Ils peuvent également interférer avec les interactions cellule/surface et cellule/cellule impliquées dans l'attachement, empêchant ainsi la formation et la stabilisation des biofilms, et contribuant à leur désorganisation (Rendueles et al., 2013 ; Flemming et al., 2021).

Les EPS produites par certaines bactéries jouent un rôle important dans les interactions au sein des biofilms mixtes. Les EPS d'*Escherichia coli* peuvent inhiber l'adhésion initiale et perturber la maturation du biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*, tandis que certaines espèces du genre *Pseudomonas*, notamment *Pseudomonas fluorescens*, produisent des composés capables d'interférer avec l'adhésion et le développement du biofilm de *Staphylococcus aureus*.

De plus, les EPS de *Pseudomonas aeruginosa*, particulièrement le Psl, perturbent l'adhésion de *Staphylococcus aureus* au sein des biofilms mixtes. En plus, les EPS produits par *Pseudomonas*

aeruginosa modifient l'organisation, la structure et la répartition de *Staphylococcus epidermidis* au sein du biofilm mixte (Machado et al., 2018 ; Dohare et al., 2021 ; Lui et al., 2022).

2.7. Applications industrielles des EPS

- **Cosmétologie**

Les EPS sont utilisées dans l'industrie cosmétique comme agents épaississants, gélifiants et stabilisants. Ils possèdent une forte capacité de rétention d'eau, ce qui permet d'améliorer l'hydratation et de maintenir l'élasticité de la peau. Ils forment également un film protecteur à la surface cutanée qui réduit les agressions environnementales. En plus, plusieurs études ont montré qu'ils présentent des activités antioxydants et anti-âge, ce qui les rend intéressants pour les formulations dermocosmétiques naturelles grâce à leur biocompatibilité et leur biodégradabilité (Benhadda et al., 2023).

- **Pharmacologie**

Les EPS d'origine microbienne présentent un grand intérêt en pharmacologie en raison de leurs diverses activités biologiques. Ils possèdent notamment des propriétés antioxydants, antimicrobiennes et immunomodulatrices, par ailleurs, ils font l'objet de nombreuses études visant à développer de nouvelles applications thérapeutiques et biomédicales (Rani et al., 2021).

- **Industrie alimentaire**

Les EPS présentent un fort intérêt dans l'industrie alimentaire en tant qu'agents épaississants, stabilisants, émulsifiants et liants, utilisés dans divers produits tels que les yaourts, fromages, sauces, desserts et produits de boulangerie, où ils améliorent la texture, la viscosité et la stabilité des aliments. Les EPS sont largement utilisées dans l'industrie alimentaire comme matériaux d'emballage ainsi que pour la production de films et revêtements comestibles (Salem et al., 2020 ; Prete et al., 2021).

- **Agriculture**

Les EPS jouent un rôle clé dans l'amélioration de la qualité des sols. Ils favorisent la formation d'agrégats stables, ce qui améliore la rétention d'eau et l'aération. En facilitant la disponibilité et l'absorption des nutriments, ils renforcent la tolérance des plantes aux stress abiotiques (la sécheresse, la salinité et les métaux lourds). De plus, ils stimulent l'activité microbienne, améliorant ainsi la fertilité du sol et permettant leur utilisation comme biofertilisants (Vardharajula et *al.*, 2017).

Matériel et méthodes

1. Prélèvements

Durant le mois d'avril 2026, 3 sondes endotrachéales ont été prélevées de patients hospitalisés plus de 48h au sein de l'établissements publics hospitaliers (EPH) de Nedroma, Tlemcen.

Ces dispositifs médicaux ont été prélevés dans des conditions d'asepsie, placées dans des tubes stériles puis transportés au laboratoire pour être analysé.

Et afin d'obtenir une collection bactérienne plus importante, nous avons également travaillé sur une collection de souches de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des tubes endotrachéaux provenant des deux services du CHU de Tlemcen (service de réanimation et les urgences médicales) durant l'année 2024/2025.

2. Ensemencement et isolement

L'extrémité distale de la TET est mise dans un tube contenant 5ml de bouillon nutritif stérile puis agitée au vortex pendant 1min (**Figure 4**).



Figure 4: Prélèvements des tubes endotrachéaux

Un volume de 20 μ L a ensuite été ensemencé sur deux milieux de culture sélectifs :

- Le milieu Chapman pour la recherche des bactéries à Gram positif, 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.

Les souches bactériennes conservées ont été d'abord enrichies dans le bouillon nutritif, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures. Par la suite, un ensemencement a été réalisé sur les deux milieux de culture (Chapman et Cetrimide).

L'incubation de toutes les boîtes était réalisée à 37°C pendant 24 à 48h.

3. Identification

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

- Étude des caractères macroscopiques : taille, forme, couleur et aspect.
- Étude des caractères microscopiques : Gram, morphologie, arrangement des cellules.
- Le test de coagulase qui a été réalisé uniquement sur les souches de *Staphylococcus* afin de mettre en évidence leur capacité à produire la coagulase. Le test a été effectué en mélangeant des volumes égaux de plasma et d'une suspension bactérienne jeune. Le mélange a ensuite été incubé à 37 °C pendant 24 heures. Un témoin négatif est préparé en mélangeant le bouillon nutritif au plasma. La formation d'un caillot a été interprétée comme un résultat positif, indiquant la présence d'une coagulase.
- Etude des caractères biochimiques API (Biomérieux®, France) : la galerie API est un ensemble de tubes permettant l'identification des bactéries par réalisation rapide de tests biochimiques miniaturisés. Cette technique consiste à inoculer dans les microtubes une suspension homogène qui reconstitue les milieux déshydratés. Les réactions produites 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.

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 -20°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 la technique de microplaque de titration (méthode quantitative).

Le test TCP décrit par **O'Toole et al., (2000)** permet une évaluation quantitative de la formation du biofilm. A partir d'une culture de 24h, 150 µL de la suspension bactérienne ajustée à une densité optique de 0,1 sont distribués dans les puits d'une microplaque stérile de 96 puits. Les microplaques sont incubées pendant 24h à 37°C. Les puits sont lavés trois fois avec l'eau

distillée stérile afin d'éliminer les bactéries planctoniques. Les biofilms formés par l'adhérence des microorganismes sessiles sont colorés avec du cristal violet (0,1%) pendant 15 min. L'excès de colorant est ensuite rincé et les plaques sont séchées pendant quelques minutes. Les microplaques sont ensuite solubilisées avec l'éthanol (95%), la densité optique est mesurée à 490 nm à l'aide d'un lecteur ELISA (**Figure 5**).

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

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

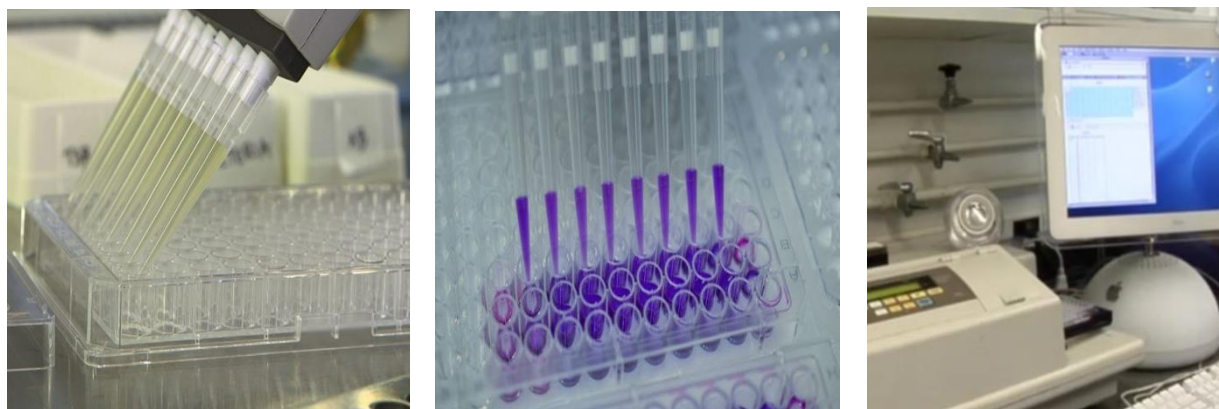


Figure 5: Les étapes de formation du biofilm par la technique TCP

(Manjurul, 2018; Lee et al., 2024)

6. Production et extraction des exopolysaccharides (EPS)

6.1. Production des EPS

Un ensemencement de 1% des souches est réalisé sur milieu d'enrichissement (100mL de bouillon MRS additionné à 1mL d'une suspension de la souche à étudier). Le tout est incubé à 37C° sous agitation pendant 48h (**Savado et al., 2004**).

6.2. Extraction des EPSs

Selon le protocole décrit par **Chen et al. (2011)**, une centrifugation des échantillons déjà incubés en milieu MRS à 37C° pendant 24h a été réalisée à 4 000×g pendant 10 min dans le but séparer les cellules. Le volume du surnageant est additionné avec un volume d'éthanol, mélangé, puis laisser précipiter durant une nuit à 4C°. Après incubation une seconde

centrifugation a été réalisée à 8 000×g pendant 20 minutes à 4 °C, le culot obtenu est dissous ensuite dans de l'eau distillée stérile.

Le culot contenant la matrice EPS est déprotéinisé (dans le but d'une précipitation des acides aminés) par la méthode de Sevag, utilisant un mélange de chloroforme et de n-butanol (4:1 v/v), suivi d'une centrifugation à 8 000×g pendant 10 minutes à 24 °C. Cette étape permet la séparation de deux phases : une phase aqueuse supérieure contenant les EPS ; et une phase organique inférieure contenant le chloroforme et les protéines.

6.3. Quantification des EPSs

La quantification des EPS est faite selon la méthode phénol-acide sulfurique décrite par **Mozzi et al., (2001)**. 800µL de l'échantillon est additionné à 40 µL de phénol (80%) et 2 mL d'acide sulfurique. Après vortexage, une absorbance à 490nm contre le témoin (800µL de l'eau distillée) est mesurée à l'aide d'un colorimètre. Les quantités des EPS sont exprimées en mg/L (ou en g/L) d'équivalent glucose selon la courbe standard.

7. Effet des exopolysaccharides sur des souches planctoniques et sessiles

Quatre différents EPSs extraits à partir de 4 souches *Pseudomonas aeruginosa* ont été testés vis-à-vis des souches planctoniques et sessiles de *Staphylococcus aureus* isolées des TET.

7.1. Méthode de diffusion en puits sur gélose Mueller-Hinton

La méthode de diffusion en puits sur gélose Mueller-Hinton est une technique qualitative utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne d'une substance en se basant sur la formation de zones d'inhibition autour de puits contenant la substance testée (**Bauer et al., 1966**).

Une suspension bactérienne est préalablement préparée dans 4mL de BN à partir d'une culture jeune. Après 24h incubation à 37C° cette suspension est ajustée à une concentration 10⁸ UFC/mL. L'ensemencement de l'inoculum est réalisé par écouvillonnage sur des boîtes contenant de la gélose Mueller-Hinton. Après séchage de la surface, 4 puits de 5mm de diamètre ont été creusés à la surface des milieux inoculés à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur stérile, puis remplis de 80 µL de chaque EPSs. Les boîtes ont été maintenues à 4 °C pendant 2h afin de favoriser la diffusion, avant d'être incubées à 37C° pendant 24 heures.

La présence d'une activité antimicrobienne était mise en évidence par l'apparition de zones d'inhibition claires autour des disques. Les diamètres de ces zones ont été mesurés en millimètres.

7.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI correspond à la plus faible concentration d'un agent antimicrobien capable d'inhiber la croissance visible d'un microorganisme après incubation. La détermination de la CMI est généralement réalisée par la méthode de microdilution en microplaque de 96 puits, une technique quantitative largement utilisée pour évaluer l'activité antimicrobienne des différentes substances. Cette méthode permet de tester l'efficacité d'un agent en fonction de différentes concentrations (CLSI, 2018).

Dans le premier puits (témoin négatif), 100 µl de bouillon Mueller-Hinton ont été distribués, tandis que 50 µl du même bouillon ont été déposés dans les autres puits. Ensuite, 50 µl d'EPS pur ont été ajoutés dans le deuxième puits. Après homogénéisation, des dilutions successives au 1/2 ont été réalisées en transférant 50 µl d'un puits au suivant jusqu'au dernier puits, où les 50 µl restants ont été éliminés. Puis, 50 µl de l'inoculum bactérien standardisé à 10^8 UFC/mL ont été ajoutés dans chaque puits, à l'exception du témoin négatif. Les concentrations finales des EPS obtenues après ajout de l'inoculum variaient de 166,67 à 0.16 mg/L. Les microplaques ont été incubées à 37°C/24 h. Les CMI sont déterminées comme les plus petites concentrations avec absence de croissance visible.

7.3. Effet des EPS sur des biofilms préformés

Des biofilms de trois souches de *Staphylococcus aureus* isolées des TET ont été développés sur microplaques à 96 puits à partir d'un volume de culture final de 150 ml. La concentration initiale des bactéries a été ajustée à 10^8 UFC/ml. Après incubation pendant 24h à 37°C, les microplaques ont été soigneusement rincées avec l'eau distillée stérile puis séchées pendant 15 min.

Les biofilms préformés ont été traités par les 3 EPSs à différentes concentrations préalablement préparée dans de l'eau distillée stérile.

Après incubation 24h à 37°C, les puits ont été soigneusement rincés, séchés et colorés au cristal violet suivant la technique standard. La densité optique est mesurée à 490 nm par le lecteur ELISA. L'élimination de la formation de biofilm par les EPSs se traduit par une densité optique inférieure à celle de la DO initiale.

Résultats et discussion

1. Prélèvement et isolement

Durant le mois d'avril 2026, 3 tubes endotrachéaux (TET 1, TET 2, TET 3) ont été prélevés de patients hospitalisés plus de 48h au sein d'EPH de Nedroma, wilaya de Tlemcen.

En plus, 12 souches bactériennes sont également incluses dans cette étude soit 6 souches de *P. aeruginosa* et 6 souches de genre *Staphylococcus* isolées des TET provenant des différents services du CHU de Tlemcen durant les années 2024/2025. La durée de sondage et la répartition des souches sont résumées dans le **Tableau 3**.

Au total à partir de 11 TET analysés, 15 souches bactériennes ont été isolées soit 8 souches de *Pseudomonas aeruginosa* (P1, P2, P3, P4, P5, P6, P7 et P8) et 7 souches de *Staphylococcus* sp (S1, S2, S3, S4, S5, S6 et S7).

Tableau 2: La durée du sondage et la répartition des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

	Année	Service	Durée de sondage	Souches isolées
TET 1	2026	EPH Nedroma	/	S8 P7
TET 2	2026	EPH Nedroma	/	P8
TET 3	2026	EPH Nedroma	/	-
TET 4	2024	Urgences-Tlemcen	9 jours	S1
TET 5	2025	Réanimation-Tlemcen	10 jours	S2 P1
TET 6	2025	Urgences- Tlemcen	2 mois	S3 P2
TET 7	2024	Réanimation- Tlemcen	37 jours	S4 P3
TET 8	2025	Réanimation- Tlemcen	/	S5 P4
TET 9	2025	Réanimation- Tlemcen	1 mois	S6
TET 10	2024	Réanimation- Tlemcen	9 jours	P5
TET 11	2025	Réanimation- Tlemcen	/	S7 P6

TET : tube endotrachéale ; S : *Staphylococcus* sp; P: *Pseudomonas aeruginosa*

D'après le **tableau 3**, tous les TET présentent une contamination bactérienne par *Pseudomonas aeruginosa* et/ou *Staphylococcus sp.*, avec des taux d'isolement de 53 et 47 % respectivement. Toutefois, une exception est observée pour le TET 3, où aucune contamination n'a été détectée. Nos résultats concordent avec les travaux de **Shen et al., (2019)**, **Wadhwani et al., (2022)** et **Zhang et al., (2024)** qui ont également rapporté que *P. aeruginosa* et *S. aureus* sont les principaux pathogènes responsables de la contamination des TET particulièrement chez les patients hospitalisés en soins intensifs.

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 deux milieux de culture sélectifs (Cétrimide et Chapman), suivi d'une incubation à 37°C pendant 24 à 48 h. Les caractères macroscopiques des souches sont présentés en **figure 6**.

- *Pseudomonas aeruginosa* : présente des colonies muqueuses bombées avec une pigmentation verte sur gélose cétrimide après incubation de 24h à 37°C.
- *Staphylococcus aureus* : après ensemencement sur gélose Chapman et 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.

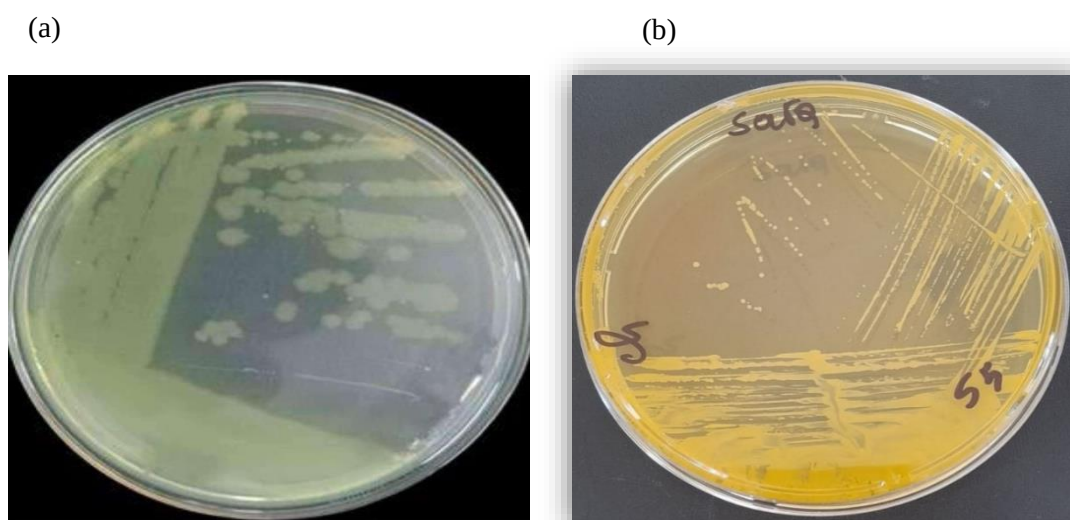


Figure 6: Aspect macroscopique de souches isolées des TET sur les milieux sélectifs

(a) *Pseudomonas aeruginosa* (b) *Staphylococcus aureus*

Le test de coagulation ; test de confirmation de *Staphylococcus aureus* a permis d'identifier 5 (5/7) souches à coagulase positive (S1, S4, S5, S6 et S7). Un résultat positif se traduit par la coagulation du plasma, formant un gel qui reste en place lors de l'inclinaison du tube (**Figure 7**).



Figure 7: Test de la coagulase en tube

2.2. Aspect microscopique des souches isolées

Une coloration de Gram a été réalisée afin d'identifier le type de paroi bactérienne des souches isolées. Les résultats obtenus ont révélé la présence de bacilles à Gram négatif colorés en rose ainsi que de cocci à Gram positif colorés en violet (**Figure 8**).

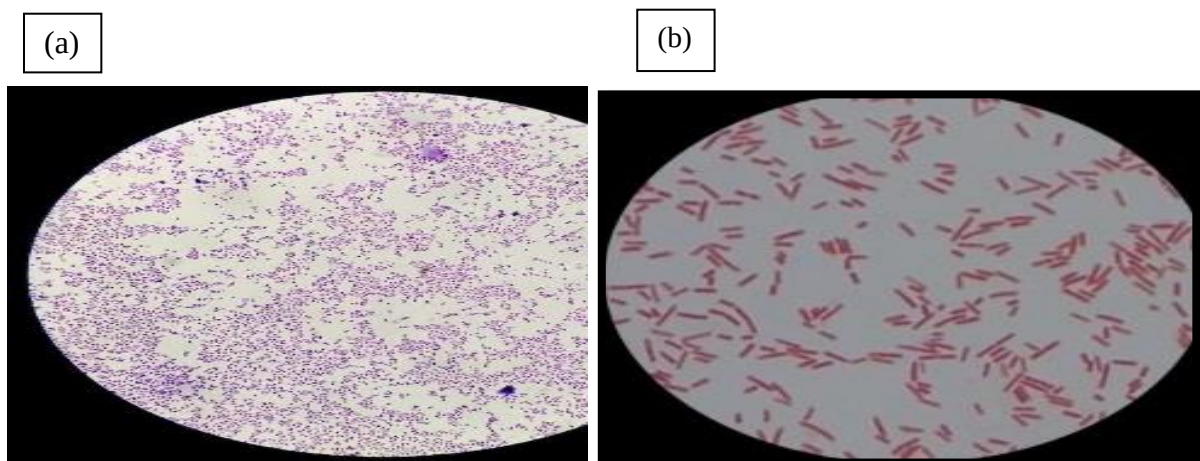


Figure 8: Aspect microscopique des souches étudiées après coloration de Gram
(a) Cocci à Gram positif (*S. aureus*) ; (b) Bacilles à Gram négatif (*P. aeruginosa*)

2.3. Etude des caractères biochimiques des souches isolées

L'identification biochimique réalisée à l'aide des galeries API 20E et API Staph a permis de déterminer les principaux caractères biochimiques des souches étudiées (**Figure 9**).

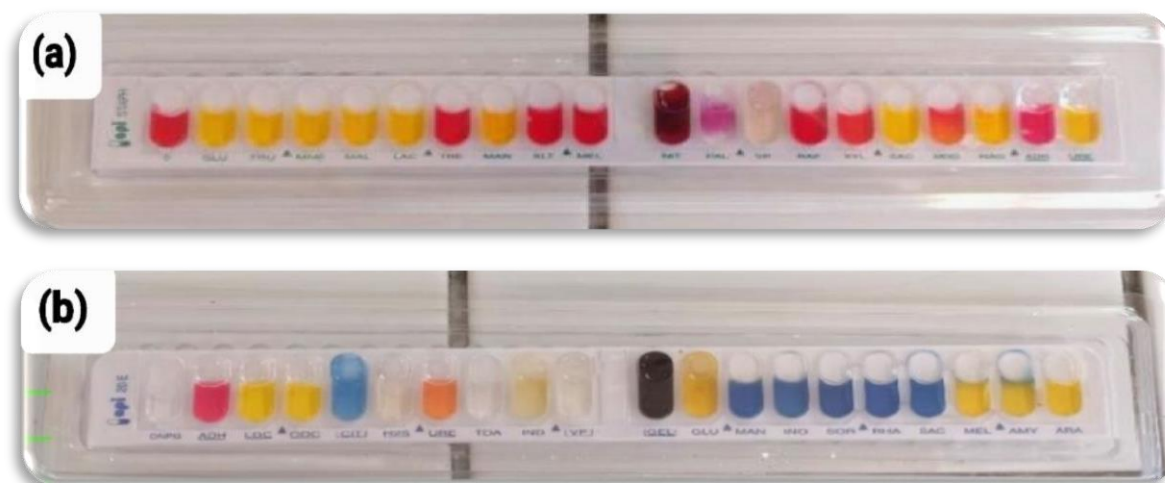


Figure 9: Résultats de l'identification des souches par la galerie API

(a) *S. aureus* (673375) (b) *P. aeruginosa* (2216043)

Les principaux pathogènes responsables de la contamination des TET sont principalement des bacilles à Gram négatif (comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacteriales*) et *Staphylococcus aureus*, particulièrement chez les patients sous ventilation mécanique prolongée (**Torres et al., 2023 ; Zhang et al., 2021**).

3. Evaluation de la formation de biofilm *in-vitro* par la technique TCP

L'évaluation de la capacité de production de biofilm a été réalisée à l'aide de la technique TCP (Tissue Culture Plate), méthode largement utilisée pour la quantification de l'adhésion bactérienne. Cette méthode, considérée comme simple, reproductible et fiable, permet une estimation quantitative de la biomasse du biofilm formé sur surface abiotiques. Elle est particulièrement adaptée à l'analyse simultanée d'un grand nombre d'isolats et à la comparaison entre différentes souches bactériennes (**Stepanović et al., 2000 ; Vestby et al., 2020**).

La détermination quantitative de la formation de biofilm chez toutes les souches isolées a été réalisée par la technique sur microplaques à 96 puits. Les résultats obtenus sont montrés dans les **figures 10 et 11**.

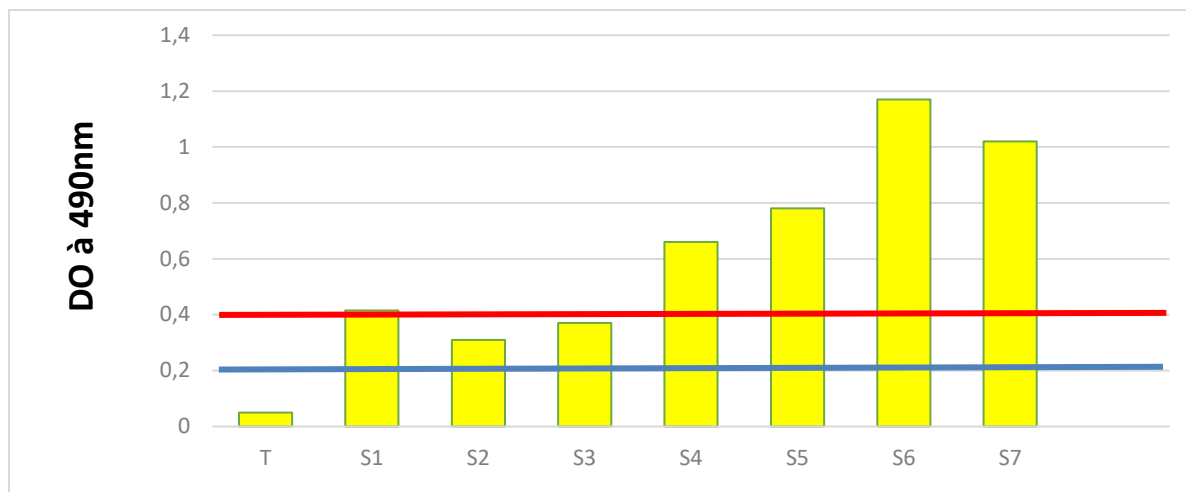


Figure 10: Résultats de la quantification de la formation de biofilm par les souches de *S.aureus*

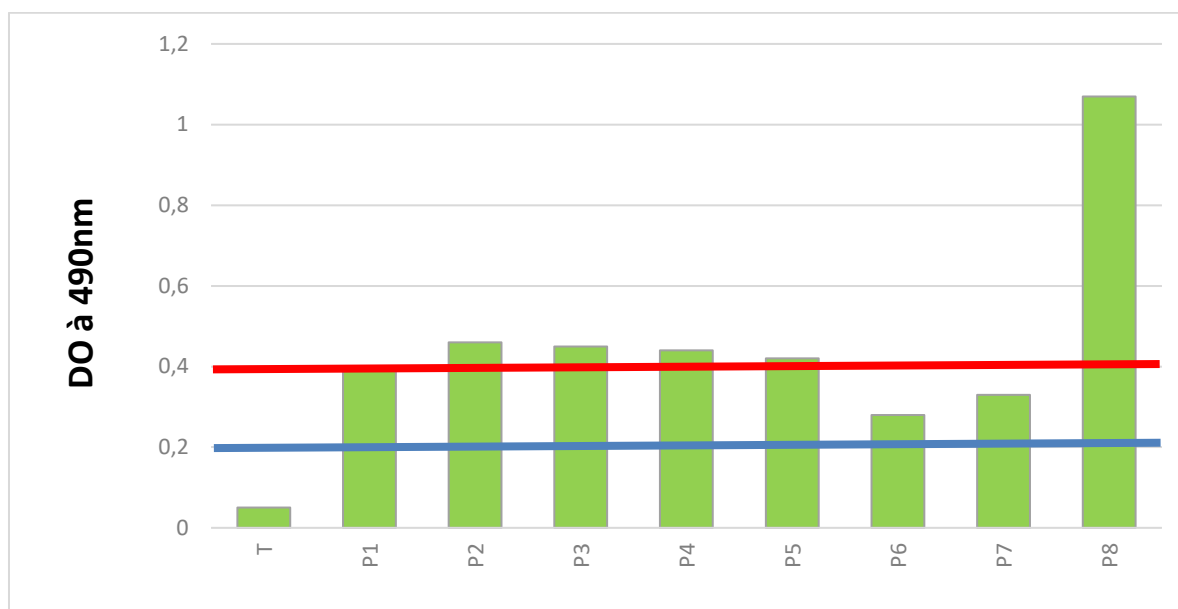


Figure 11: Résultats de la quantification de la formation de biofilm par les souches de *K.pneumoniae*

Tableau 3: Résultats de la technique de TCP

Souches bactériennes/Biofilm	Fort	Modéré	Faible
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=5)	4	1	0
<i>Staphylococcus sp</i> (n=2)	0	2	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=8)	5	3	0
Total (n=15)	9	6	0

Suite aux résultats des **figures 10 et 11** et le **tableau 4**, nous remarquons que toutes les bactéries isolées des TET sont fortement ou modérément formatrices de biofilm, confirmant leur grande capacité à former des biofilms sur des surfaces abiotiques.

Selon **la figure 10**, 4 souches de *S. aureus* (S1, S3, S6, S7, S8) sont fortement formatrice de biofilm, les souches S6 et S7 sont excellente formatrice de biofilm, leur DO dépassent largement la DO de témoin soit DOS6=1.17 et DOS7=1.02 respectivement. En plus 2 souches de *S. non aureus* (S2, S3) sont classées modérément formatrices de biofilm.

De même, selon la **figure 11 et le tableau 4**, sur les 8 souches de *Pseudomonas aeruginosa*, 5 d'entre elles (P2, P3, P4, P5 et P8) sont fortement formatrices de biofilm. La DO de la souche P8 est N=DO 1.07/0.05 témoin fois plus élevée que la DO témoin.

Pseudomonas aeruginosa forme un bon biofilm sur la surface interne des TET ce qui favorise sa persistance. Cette bactérie produit plusieurs facteurs de virulence qui contribuent à sa colonisation prolongée dans les TET (**Pericolini et al., 2018**). De même **Moussa et al., en (2022)** a mis en évidence la présence de *pseudomonas aeruginosa* dans plus de 40% des TET étudiés, toutes formatrices de bons biofilms.

Les souches de *Staphylococcus aureus* sont fréquemment impliquées dans la colonisation des TET. Cette bactérie forme un biofilm entouré d'une matrice EPS qui favorise sa persistance dans les voies respiratoires (**Lüthje et al., 2018 ; Xia et al., 2025**).

4. Production des exo polysaccharides

Afin d'étudier l'activité antibactérienne des EPS contre différents bactéries pathogènes, nous avons présélectionné 4 souches de *Pseudomonas aeruginosa* (P2, P3, P4 et P8) toutes bonne formatrice de biofilm.

Les concentrations d'EPS chez les 4 souches varient entre 252 mg/L et 500 mg/L. Une forte production des EPS a été observée chez les 3 souches de *P. aeruginosa* (P2, P3 et P8) avec 500 mg/L. Ces résultats suggèrent que ces souches toutes bonnes formatrices de biofilm, possèdent un potentiel intéressant pour la production d'EPS (**Tableau 5**).

Tableau 4: Quantification des EPSs par les souches sélectionnées

Bactéries	Code	Concentration d'EPS
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	P2	500 mg/L
	P3	500 mg/L
	P4	252 mg/L
	P8	500 mg/L

Selon **Kurmoo et al.,** en (2020) *Pseudomonas aeruginosa* synthétise de multiples facteurs de virulence et une couche dense d'exopolysaccharides contenant jusqu'à trois différents d'EPS (alginate, Pel et Psl) favorisant la formation de biofilms de ses souches.

Dans son étude, **Hamedi (2022)** rapporte des valeurs inférieures ou la production d'EPSs par les souches *Pseudomonas aeruginosa* toutes bonnes formatrices de biofilm, était comprise entre 162 et 275mg/L.

Selon **Yadav et al., (2024)**, plusieurs paramètres influencent la production des EPS dont les méthodes d'extraction, l'origine des souches productrices et la nature des EPS.

5. Effet des EPS sur des souches planctoniques et sessiles

Les 4 EPS (EPS 1, EPS 2, EPS 3 et EPS4) extraits à partir de 4 souches *Pseudomonas aeruginosa* ont été testés vis-à-vis 3 souches planctoniques et sessiles de *Staphylococcus aureus* (S5, S6 et S7) très bonne formatrice de biofilm isolées des TET.

5.1. Méthode de diffusion en puits sur gélose Mueller-Hinton

L'activité antibactérienne des 4 EPSs a été évaluée par la méthode des puits de diffusion sur gélose Mueller-Hinton. La présence d'une activité antimicrobienne était mise en évidence par l'apparition de zones d'inhibition claires autour des disques (**Figure 13 ; et Annexe 2**).

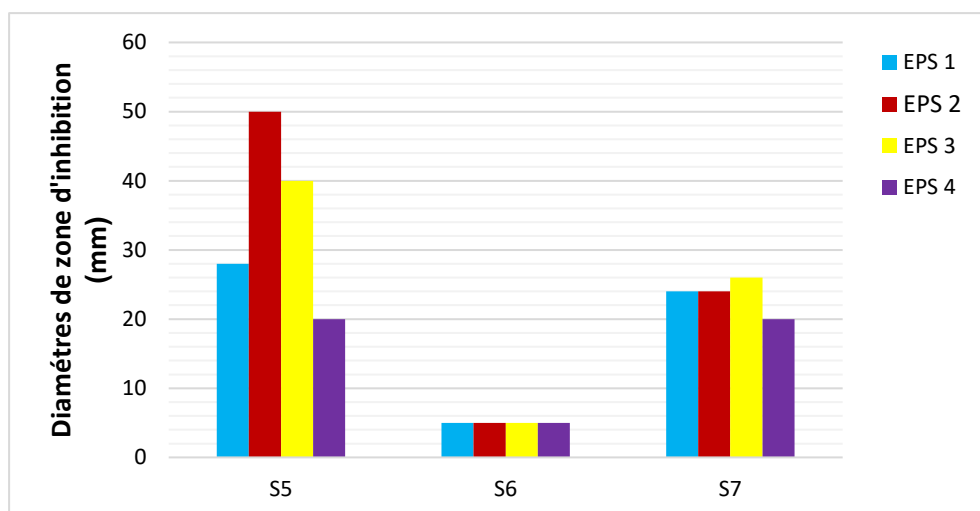


Figure 12: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des différents EPS testés sur les souches planctoniques de *S. aureus*

Les figures 13 montrent que les différents EPS testés exercent une activité antibactérienne variable vis-à-vis les 3 souches de *S. aureus*.

La souche S5 s'est révélée la plus sensible avec une zone d'inhibition maximale de 49mm obtenue avec EPS 2, suivi par EPS 3 (39 mm), EPS 1 (27 mm) et EPS 4 (19 mm).

Concernant la souche S7, une activité inhibitrice modérée a été observée, EPS3 étant le plus actif (24 mm) suivi par EPS1 et EPS2 (24 mm).

En revanche, la souche S6 a présenté une forte résistance à l'ensemble des EPS testés ou les diamètres des zones ne dépassent pas 5mm. Cette résistance pourrait être attribuée à sa remarquable capacité de formation de biofilm qui constitue une barrière protectrice limitant l'action des EPS. On note aussi qu'EPS4 exerce le plus faible effet quel que soit la souche étudiée.

Selon Abdalla et al., (2021) et Pointcheval et al., (2025), les EPS présentent une activité antibactérienne contre différentes bactéries pathogènes. Cette activité varie selon le type d'EPS, les conditions d'extraction et de purification, la nature des bactéries ciblées et les méthodes d'évaluation utilisées.

5.2. Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices des EPS

Les résultats des CMI obtenus pour les différents types d'EPS testés montrent une activité antibactérienne variable selon la souche (**Tableau 6**).

Tableau 5: Détermination des CMI des EPS sélectionnés (en mg/L) sur les bactéries planctoniques de *S. aureus*

Souche/ EPS	EPS 1	EPS 2	EPS 3	EPS 4
S5	15.63	31.25	15.63	62.5
S6	-	-	-	-
S7	15.63	15.63	7.81	31.25

Selon le tableau Les résultats de la détermination de la CMI des EPS sélectionnées vis-à-vis des cellules planctoniques de *S. aureus* ont montré une activité antibactérienne variable selon la souche et l'EPS testé.

Selon **le tableau 6** ; pour la souche S5, les EPS1 et EPS3 ont présenté une CMI de 15,63 mg/L, tandis que EPS2 et EPS4 ont rapporté des valeurs de CMI de 31,25mg/L et 62,5 mg/L respectivement.

La souche S7 est la plus sensible notamment à l'EPS 3 avec une CMI de 7.81mg/L traduisant ainsi la meilleure activité antibactérienne. En plus les EPS1 et EPS2 ont montré une CMI de 15,63 mg/L ; cependant EPS4 a présenté une CMI de 31,25 mg/L.

En revanche, aucune inhibition de la croissance bactérienne n'a été observée pour la souche S6 avec l'ensemble des EPS testés. Par conséquent, aucune CMI n'a pu être déterminée pour cette souche dans les conditions expérimentales utilisées.

Globalement, les résultats montrent qu'EPS3 apparaît comme le plus efficace, avec la plus faible CMI enregistrée (7,82 mg/mL) vis-à-vis de la souche S7, alors que l'EPS4 a généralement présenté les valeurs de CMI les plus élevées, indiquant une activité inhibitrice plus faible.

5.4. Effet des EPSs sur des biofilms préformés de *S. aureus*

Cette partie consiste à évaluer l'activité antibactérienne de 3 EPSs testés à différentes concentrations sur des biofilms préformés de *S. aureus* isolées des TET (**Figure 16**).

Conclusion

Les pneumonies associées à la ventilation mécanique constituent un enjeu majeur de santé publique, particulièrement chez les patients en soins intensifs où l'utilisation des tubes endotrachéaux (TET) représente un facteur de risque critique. Ces dispositifs médicaux favorisent l'accumulation des sécrétions bactérienne favorisant ainsi la formation de biofilm à la surface interne de ces dispositifs. Face à cette situation, l'exploration de nouvelles alternatives anti-biofilm, telles que les exopolysaccharides (EPS) d'origine bactérienne, s'avère une stratégie prometteuse pour lutter contre ces structures communautaires.

Dans ce contexte, 15 souches bactériennes étaient isolées à partir de tubes endotrachéaux (TET) provenant de l'EPH de Nedroma et de service de réanimation et celui des urgences médicales du CHU de Tlemcen. 99% des prélèvements étaient contaminés *Pseudomonas aeruginosa* (53%), *Staphylococcus aureus* (34%) et *Staphylococcus sp* (13%). L'évaluation quantitative de la formation de biofilm par la technique TCP a révélé que la totalité des isolats possède une grande capacité à former des bons ou modérés biofilms in vitro, confirmant ainsi leur persistance sur les surfaces abiotiques des TET grâce à leur grande aptitude à produire des EPS ; éléments clés de la formation et la maturation du biofilm.

Les résultats obtenus ont révélé qu'EPS produit par les souches de *Pseudomonas aeruginosa* possèdent une activité antibactérienne intéressante, notamment contre les souches planctoniques de *Staphylococcus aureus*. Par ailleurs, l'étude de l'effet anti-biofilm des EPS a donné des résultats très prometteurs. Les EPS ont inhibé la formation du biofilm de *Staphylococcus aureus* de manière proportionnelle à la concentration. En plus ; les EPS ont également réduit significativement la biomasse des biofilms préformés de *Staphylococcus aureus* même à de faibles concentrations, suggérant une excellente capacité à pénétrer et à disperser la matrice du biofilm de cette bactérie.

La gestion de ces dispositifs doit être consolidée par un respect rigoureux des protocoles d'asepsie et une surveillance microbiologique continue au sein des services de soins intensifs. Il serait crucial d'approfondir cette étude par la purification et la caractérisation biochimique des EPS les plus actifs (comme l'EPS 2 et l'EPS 3). De plus, étudier et comprendre les mécanismes moléculaires régissant l'interaction entre ces macromolécules et la matrice du biofilm, ainsi que l'évaluation de leur cytotoxicité. Enfin, il est fortement recommandé d'explorer de nouveaux biomatériaux possédant des propriétés anti-adhésives et/ou antibiofilm.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abalkhail, A., Marzouk, E. (2025).** Healthcare-associated infections: an overview of global strategies and challenges in minimizing infection transmission. *Cellular and Molecular Biology*, 71(10), 7–16. <https://doi.org/10.14715/cmb/2025.71.10.2>.
2. **Abdalla, A. K., Ayyash, M. M., Olaimat, A. N., Osaili, T. M., Al-Nabulsi, A. A., Shah, N. P., & Holley, R. (2021).** Exopolysaccharides as antimicrobial agents: Mechanism and spectrum of activity. *Frontiers in Microbiology*, 12, 664395. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.664395>
3. **Adegboye, O. A., Onwuliri, C. D., Ezebialu, I. U., Adebisi, A., Olumoh, J. S., Okeke, M. I., Dunga, J. A., Elijah, T. G., Bello, D. M., & Reyes, J. A. (2025).** Systematic review and meta-analysis of the prevalence and types of health care associated infections in Nigeria. *BMC Infectious Diseases*, 25, Article 836. <https://doi.org/10.1186/s12879-025-11246-1>
4. **Ali, A., Zahra, A., Kamthan, M., Husain, F. M., Albalawi, T., Zubair, M., Alatawy, R., Abid, M., & Noorani, M. S. (2023).** Microbial biofilms: Applications, clinical consequences, and alternative therapies. *Microorganisms*, 11(8), 1934.
5. **Almatroudi, A. (2025).** Biofilm resilience: Molecular mechanisms driving antibiotic resistance in clinical contexts. *Biology*, 14(2), 165. <https://doi.org/10.3390/biology14020165>
6. **Alp, E., & Voss, A. (2018).** Ventilator associated pneumonia and infection control. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 17(6).
7. **Assefa, T., Tola, G., & Alemayehu, H. (2022).** Biofilm-associated multi-drug resistance in hospital-acquired infections. *Infection and Drug Resistance*, 15, 6221–6234. <https://doi.org/10.2147/IDR.S382036>
8. **Azoulay, E., Timsit, J. F., Tafflet, M., de Lassence, A., Darmon, M., Zahar, J. R., Adrie, C., Garrouste-Orgeas, M., Cohen, Y., Mourvillier, B., & Schlemmer, B. (2006).** Candida colonization of the respiratory tract and subsequent *Pseudomonas* ventilator-associated pneumonia. *Chest*, 129(1), 110–117.
9. **Barbarossa, A., Rosato, A., Tardugno, R., Carrieri, A., Corbo, F., Limongelli, F., Fumarola, L., Fracchiolla, G., & Carocci, A. (2025).** Antibiofilm effects of plant extracts against *Staphylococcus aureus*. *Microorganisms*, 13(2), 454. <https://www.mdpi.com/2076-2607/13/2/454>
10. **Bauer, A. W., Kirby, W. M. M., Sherris, J. C., & Turck, M. (1966).** Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 45(4), 493–496.

11. Bedingfield, B., Curran, M. D., Harris, K. A., Brown, J. R., Hartley, J. C., & Breuer, J. (2025). Biofilm communities above and below the cuff of endotracheal tubes are spatially homogenous. *Respiratory Research*, 26, Article 52. <https://doi.org/10.1186/s12931-025-03485-2>
12. Ben Abdallah, F., Trabelsi, I., Znazen, A., & Ben Salem, Y. (2019). Biofilm formation and antimicrobial resistance in pathogenic bacteria: a public health concern. *Infection and Drug Resistance*, 12, 2993–3002. <https://doi.org/10.2147/IDR.S207167>
13. Benhadda, F., Zykwinska, A., Collic-Jouault, S., Siquin, C., Thollas, B., Courtois, A., Fuzzati, N., Toribio, A., & Delbarre-Ladrat, C. (2023). Marine versus non-marine bacterial exopolysaccharides and their skincare applications. *Marine Drugs*, 21(11), 582. <https://doi.org/10.3390/md21110582>
14. bioMérieux. (2024). API® ID STRIPS: *Manual microorganism identification systems*. <https://www.biomerieux.com/us/en/our-offer/clinical-products/api.html>
15. Bouhrour, N., Nibbering, P. H., & Bendali, F. (2024). Medical device-associated biofilm infections and multidrug-resistant pathogens. *Pathogens*, 13(5), 393.
16. Caldara, M., Belgiovine, C., Secchi, E., et Rusconi, R. (2022). Environmental, microbiological, and immunological features of bacterial biofilms associated with implanted medical devices. *Clinical Microbiology Reviews*, 35(2), e00221-20. <https://doi.org/10.1128/CMR.00221-20>.
17. Chastre, J., & Fagon, J. Y. (2002). Ventilator-associated pneumonia. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 165(7), 867–903. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.165.7.2105078>
18. Chen, K. M., Chiang, M. K., Wang, M., Ho, H. C., Lu, M. C., & Lai, Y. C. (2014). The role of pgaC in *Klebsiella pneumoniae* virulence and biofilm formation. *Microbial Pathogenesis*, 77, 89–99. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2014.11.005>
19. Chen, X., Li, C., Nurgul, R., & Dong, M. (2012). Isolation and identification of an exopolysaccharide-producing lactic acid bacterium strain from Chinese Paocai and biosorption of Pb(II) by its exopolysaccharide. *Journal of Food Science*, 77(6), T111–T117. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02734>
20. Chen, Y., Yang, H., & Gu, G. (2011). Comparison of different extraction methods for exopolysaccharides from biofilm. *Environmental Technology*, 32(11), 1251–1257. <https://doi.org/10.1080/09593330.2010.535174>
21. Choi, A. H. K., Slamti, L., Avci, F. Y., Pier, G. B., & Maira-Litrán, T. (2009). The pgaABCD locus of *Acinetobacter baumannii* encodes the production of poly-β-1,6-N-

- acetylglucosamine, which is critical for biofilm formation. *Journal of Bacteriology*, 191(19), 5953–5963.
22. 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. *Journal of Clinical Microbiology*, 22(6), 996–1006. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4086467/>
 23. Cleaver, L., & Garnett, J. A. (2023). How to study biofilms: Technological advancements in clinical biofilm research. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1335389.
 24. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). *Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically* (11th ed., CLSI standard M07-A11). Clinical and Laboratory Standards Institute.
 25. Codru, I. R., Vintilă, B. I., Sava, M., Marcu, A. M., Neamțu, B., & Mohor, C. I. (2024). Optimizing diagnosis and management of ventilator-associated pneumonia. *Microorganisms*, 12(10), Article 1966. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12101966>
 26. Courtois, A., & Guezennec, J. (2025). Obtention d'exopolysaccharides bactériens et applications en cosmétique. *Techniques de l'Ingénieur*.
 27. Deshmukh-Reeves, E., Shaw, M., Bilsby, C., et Gourlay, C. W. (2025). Biofilm formation on endotracheal and tracheostomy tubing: A systematic review and meta-analysis of culture data and sampling method. *MicrobiologyOpen*, 14. <https://doi.org/10.1002/mbo3.70032>
 28. Dohare, S., Fatima, M., & Khan, M. A. (2021). Characterization of bacterial exopolysaccharides and their role in biofilm formation and antimicrobial resistance in clinical isolates. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(3), 1245–1255. <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.3.18>
 29. Einarsson, O. A., Berg, S., Larsson, A., Nilsson, M., & Rønn, F. (2026). Biofilm communities above and below the cuff of endotracheal tubes: microbial composition and clinical implications. *Respiratory Research*, 27, Article 15. <https://doi.org/10.1186/s12931-025-03485-2>
 30. Erkihun, M., Asmare, Z., Endalamew, K., Getie, B., Kiros, T., & Berhan, A. (2024). Medical Scope of Biofilm and Quorum Sensing during Biofilm Formation: Systematic Review. *Bacteria*, 3(3), 118–135.

31. Filloux, A., & Vallet, I. (2003). Biofilm: set-up and organisation of a bacterial community. *Médecine/Sciences*, 19(1), 77–83.
32. Flemming, H.-C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 8(9), 623–633.
33. Flemming, H.-C., Wingender, J., Neu, T. R., & Szewzyk, U. (2021). The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*, 19, 623–638. <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00521-5>
34. Franklin, M. J., Nivens, D. E., Weadge, J. T., & Howell, P. L. (2011). Biosynthesis of the *Pseudomonas aeruginosa* extracellular polysaccharides, alginate, Pel, and Psl. *Frontiers in Microbiology*, 2, 167.
35. Gerke, C., Kraft, A., Süssmuth, R., Schweitzer, O., & Götz, F. (1998). Characterization of the N-acetylglucosaminyltransferase activity involved in the biosynthesis of the *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesin. *Journal of Biological Chemistry*, 273(29), 18586–18593.
36. Gil-Perotín, S., Ramirez, P., Marti, V., Sahuquillo, J. M., Gonzalez, E., Calleja, I., Menendez, R., & Bonastre, J. (2012). Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: a state of concept. *Critical Care*, 16(3), R93.
37. 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.
38. Hunter, J. D. (2012). Ventilator associated pneumonia. *BMJ*, 344, e3325. *British Medical Journal Publishing Group*. <https://doi.org/10.1136/bmj.e3325>
39. Kalanuria, A. A., Zai, W., & Mirski, M. A. (2014). Endotracheal tube biofilm and its impact on the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. *Journal of Intensive Care Medicine*, 29(6), 293–300.
40. Khan, R., Shah, M. D., Shah, L., Lee, P.-C., & Khan, I. (2022). Bacterial polysaccharides—A big source for prebiotics and therapeutics. *Frontiers in Nutrition*, 9, 1031935.
41. Khandelwal, N., & Benninger, M. S. (2024). Endotracheal intubation. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459251/>
42. Klompas, M. (2023). Progress in preventing non-ventilator-associated hospital-acquired pneumonia. *The Lancet Infectious Diseases*, 23(7), 769–771. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00155-5](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00155-5)

43. Kurmoo, Y., Hook, A. L., Harvey, D., Dubern, J.-F., Williams, P., Morgan, S. P., Korposh, S., & Alexander, M. R. (2020). Real time monitoring of biofilm formation on coated medical devices for the reduction and interception of bacterial infections. *Biomaterials Science*, 8(5), 1464–1477.
44. Lee, J.-H., Kim, Y.-G., Choi, J.-S., Jeong, Y. T., Hwang, B. S., & Lee, J. (2024). Antibiofilm and antihemolytic activities of *Actinostemma lobatum* extract rich in quercetin against *Staphylococcus aureus*. *Pharmaceutics*, 16(8), 1075. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16081075>
45. Liu, Y., Li, J., Xv, X., Wang, K., & Wang, Y. (2022). Inhibition of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms by a novel bacterial exopolysaccharide. *Frontiers in Microbiology*, 13, Article 916421. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.916421>
46. Lühje, P., Brauner, A., Östenson, C. G., Al-Mulla, H. M., Giske, C. G., & Eberhardson, M. (2018). Assessment of in vivo versus in vitro biofilm formation of clinical methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from endotracheal tubes. *Scientific Reports*, 8, Article 12909. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-30494-7>
47. Machado, M. C., & Webster, T. J. (2017). Lipase degradation of plasticized polyvinyl chloride endotracheal tube surfaces to create nanoscale features. *International Journal of Nanomedicine*, 12, 2109–2115. <https://doi.org/10.2147/IJN.S130608>
48. Manjurul. (2018, September 10). *Micro titration plate titration in biochemistry laboratory*. iStock. <https://www.istockphoto.com/photo/micro-titration-plate-titration-in-biochemistry-laboratory-gm1024119944-274818421>
49. Marcu, L., Manescu, 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>
50. Mishra, A., Aggarwal, A., & Khan, F. (2024). Medical device-associated infections caused by biofilm-forming microbial pathogens and controlling strategies. *Antibiotics*, 13(7), 623.
51. Mishra, R., Panda, A. K., & De Mandal, S. (2025). Natural bioactive compounds as inhibitors of icaADBC and sarA gene expression in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Microbial Pathogenesis*, 186, 106480. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S088240102300508X>

52. Montanari, E., Bernardo, G., Le Noci, V., Anselmi, M., Pupa, S. M., Tagliabue, E., Sommariva, M., & Sfondrini, L. (2025). Biofilm formation by the host microbiota: a protective shield against immunity and its implication in cancer. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 24(1), 148. <https://doi.org/10.1186/s12943-025-02348-0>
53. Monteiro-Neto, V., Lima-Neto, L. G., Abreu, A. G., & Monteiro, C. R. A. V. (2017). Microbiology of ventilator-associated pneumonia. In Z. C. Chroneos (Ed.), *Contemporary Topics of Pneumonia*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.69430>
54. 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- β -lactamases and their biofilm phenotypes in Al-Azhar University Hospital. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 12(3), 73–81.
55. Mouro, C., Gomes, A. P., & Gouveia, I. C. (2024). Microbial exopolysaccharides: Structure, diversity, applications, and future frontiers in sustainable functional materials. *Polysaccharides*, 5(3), 241–287. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides5030018>
56. Mozzi, F., Torino, M. I., & Font de Valdez, G. (2001). Identification of exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria: A method for the isolation of polysaccharides in milk cultures. In F. Spencer & A. Ragout (Eds.), *Food Microbiology Protocols* (pp. 183–190). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-59259-021-6_19
57. Murray, C. J. L. (2023). Antimicrobial resistance: Accelerating progress since GRAM 2019. *The Lancet*, 402(10410), 1275–1276. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(23\)01745-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(23)01745-1)
58. Nanjani, S. G., & Soni, H. P. (2012). Diversity and EPS production potential of halotolerant bacteria from Veraval and Dwarka. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, 2(2), 20–25.
59. Netrusov, A. I., Liyaskina, E. V., Kurgaeva, I. V., Liyaskina, A. U., Yang, G., & Revin, V. V. (2023). Exopolysaccharides producing bacteria: A review. *Microorganisms*, 11(6), 1541.
60. Nguyen, H. T., Pham, T. T., Nguyen, P. T., Vo, T. B., Nguyen, T. D., & Le, T. M. (2024). Advances in microbial exopolysaccharides. *Biomolecules*, 14(9), Article 1162. <https://doi.org/10.3390/biom14091162>

61. Nicolaus, B., Lama, L., Esposito, E., Manca, M. C., Improta, R., & Gambacorta, A. (2010). Bacterial exopolysaccharides from extreme marine habitats: Production, characterization and biological activities. *Marine Drugs*, 8(6), 1779–1802.
62. O’Gara, J. P. (2007). Ica and beyond: biofilm mechanisms and regulation in *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters*, 270(2), 179–188.
63. Ong, C. J. N., Elesho, O. E., Bramwell, B. B., Cabuhat, K. S. P., Bacalzo, G. D., Nuevo, J. J. M., & Fortaleza, J. A. G. (2025). *Staphylococcus aureus* : Antimicrobial resistance, quorum sensing, and antibiofilm approaches. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 15(4), 195–209. <https://doi.org/10.1556/1886.2025.00050>.
64. O’Toole, G. A., Kaplan, H. B., & Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual Review of Microbiology*, 54, 49–79. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11018128/>
65. Pal, S., Nandi, S., Das, S., & Maiti, T. K. (2021). Characterization of an exopolysaccharide from a clinical isolate and its antibiofilm activity against pathogenic bacteria. *Journal of Basic Microbiology*, 61(4), 345–356. <https://doi.org/10.1002/jobm.202000612>
66. Pandey, S., & Kannaujiya, V. K. (2024). *Advances in microbial exopolysaccharides: Present and future applications*. *Biomolecules*, 14(9), 1162.
67. Pericolini, E., Colombari, B., Ferretti, G., Bugli, F., Ardizzoni, A., Posteraro, B., & Blasi, E. (2018). Real-time monitoring of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation on endotracheal tubes in vitro. *BMC Microbiology*, 18, Article 84. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1224-x>
68. Pointcheval, A., Sanders, O., & Traverso, G. (2025). Structure-preserving signatures from standard assumptions and applications. In G. Fuchsbauer & K. G. Paterson (Eds.), *Public-Key Cryptography – PKC 2025* (pp. 317–348). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-031-91829-2_11
69. Prete, R., Alam, M. K., Perpetuini, G., Perla, C., Pittia, P., & Corsetti, A. (2021). Lactic acid bacteria exopolysaccharides producers: A sustainable tool for functional foods. *Foods*, 10(7), 1653. <https://doi.org/10.3390/foods10071653>
70. Ramirez, G., Campanero, M. A., Zaldua, A. M., & Jauregizar, N. (2024). Problems related to endotracheal intubation as an input for the design of a new endotracheal tube. *Medical Devices: Evidence and Research*, 17, 349–367.

71. Rana, S., & Upadhyay, L. S. B. (2020). Microbial exopolysaccharides: Synthesis pathways, types and their commercial applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 157, 577–583.
72. Rani, R., Kumar, A., & Kumar, V. (2021). Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: Biosynthesis, functional properties and health benefits. *International Journal of Biological Macromolecules*, 172, 124–136.
73. Rendueles, O., Kaplan, J. B., & Ghigo, J.-M. (2013). Antibiofilm polysaccharides. *Environmental Microbiology*, 15(2), 334–346
74. Rizzo, M. G., Zammuto, V., Spanò, A., Gugliandolo, C., Calabrese, G., & Guglielmino, S. (2024). Anti-inflammatory effects in LPS-induced macrophages and antibiofilm activity of the mannose-rich exopolysaccharide produced by *Bacillus licheniformis* B3-15. *Heliyon*, 10(19), e38367. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e38367>
75. Şahiner, Y. (2018). Indications for endotracheal intubation. In R. H. Erbay, *Tracheal intubation* (Chapitre 3). London, United Kingdom: IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.76172>
76. Salem, M., Elshagabee, F. M. F., & Rizzello, C. G. (2020). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: Structure, functional properties and applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 1365–1377.
77. Samrot, A. V., Abubakar Mohamed, A., Faradjeva, E., Si Jie, L., Hooi Sze, C., Arif, A., Chuan Sean, T., Norbert Michael, E., Yeok Mun, C., Ng, Xiao Qi., Pooi Ling, M., & Kumar, S. S. (2021). Mechanisms and impact of biofilms and targeting of biofilms using bioactive compounds—A review. *Medicina*, 57(8), Article 839. <https://doi.org/10.3390/medicina57080839>
78. Sathe, S., Deshpande, A., & Mandke, S. (2023). Evaluation of antibiofilm and antimicrobial activity of specialized extracts against clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Applied Microbiology*, 134(5).
79. Savadogo, A., Ouattara, C. A. T., Savadogo, P. W., Barro, N., Ouattara, A. S., & Traoré, A. S. (2004). Microorganisms involved in Burkina Faso fermented milk and aspects of exopolysaccharides production. *Pakistan Journal of Nutrition*, 3(2), 134–139. <https://doi.org/10.3923/pjn.2004.134.139>
80. Sayma A., Tilahun A. D., Yoonjee C. P. (2025). Enhanced Biofilm Inhibition via Extracellular Polymeric Substances (EPS)-Binding Liposomes. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 43:311–320.

81. Sayem SM, Manzo E, Ciavatta L, Tramice A, Cordone A, Zanfardino A, De Felice M, Varcamonti M.(2011). Anti-biofilm activity of an exopolysaccharide from a sponge-associated strain of *Bacillus licheniformis*. *Microb Cell Fact*. 27 ; 10:74.
82. Scalia, A. C., et Najmi, Z. (2025). Targeting bacterial biofilms on medical implants: Current and emerging approaches. *Antibiotics*, 14(8), 802. <https://doi.org/10.3390/antibiotics14080802>.
83. Schmid, J., Sieber, V., & Rehm, B. H. A. (2015). Bacterial exopolysaccharides: biosynthesis pathways and engineering strategies. *Frontiers in Microbiology*, 6, 496. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00496>
84. Sethi, S., & Rivera, M. P. (2024). Ventilator-associated pneumonia. In MSD Manual Professional Edition. *MSD Manual Professional Edition*
85. Sharma, A., Kumar, A., & Singh, R. (2025). Bacterial biofilm conundrum: Insight into the frontiers of antibiotic resistance and state-of-the-art anti-biofilm interventions. *Journal of Advanced Research*, 68, 115–129. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC12950777/>
86. 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>
87. Shen, L., Wang, F., Shi, J., Xu, W., Jiang, T., Tang, H., Yu, X., Yin, H., Hu, S., Wu, X., Chan, S. K., Sun, J., & Chang, Q. (2019). Microbiological analysis of endotracheal aspirate and endotracheal tube cultures in mechanically ventilated patients. *BMC Pulmonary Medicine*, 19(1), 162. <https://doi.org/10.1186/s12890-019-0926-3>
88. Singh, S., Datta, S., Narayanan, K. B., & Rajnish, K. N. (2021). Bacterial exopolysaccharides in biofilms: role in antimicrobial resistance and treatments. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19, 140. <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00242-y>
89. Spiers, A. J., Bohannon, J., Gehrig, S. M., & Rainey, P. B. (2003). Biofilm formation at the air–liquid interface by *Pseudomonas fluorescens* SBW25 wrinkly spreader requires an acetylated form of cellulose. *Molecular Microbiology*, 50(1), 15–27.
90. Srinivasan, R., Santhakumari, S., Poonguzhali, P., Geetha, M., Dyavaiah, M., & Xiangmin, L. (2021). Bacterial Biofilm Inhibition: A Focused Review on Recent Therapeutic Strategies for Combating the Biofilm Mediated Infections. *Frontiers in Microbiology*, 12, 676458. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.676458>

91. Stepanović, S., Vuković, D., Dakić, I., Savić, B., & Švabić-Vlahović, M. (2000). A modified microtiter-plate test for quantification of *staphylococcal* biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods*, 40(2), 175–179. [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(00\)00122-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(00)00122-6)
92. Talbi, C., Elmarrkechy, S., El Youssfi, M., & Bouzroud, S. (2023). Bacterial exopolysaccharides: From production to functional features. *Progress in Microbes & Molecular Biology*, 6(1).
93. Torres-Sánchez, L., Sana, T. G., Decossas, M., Hashem, Y., & Krasteva, P. V. (2023). Structures of the *P. aeruginosa* FleQ-FleN master regulators reveal large-scale conformational switching in motility and biofilm control. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(50), e2312276120.
94. Vani, C., Rani, P., Brundha, M. P., & Karthikeyan, R. (2023). A narrative review on bacterial biofilm: its formation, clinical aspects and inhibition strategies. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 9, 39. <https://doi.org/10.1186/s43094-023-00499-9>
95. Vardharajula, S., Ali, S. Z., Grover, M., Reddy, G., & Bandi, V. (2017). Application of EPS in agriculture: An important natural resource for crop improvement. In Minhas, P. S., Rane, J., & Pasala, R. (Eds.), *Abiotic stress management for resilient agriculture* (pp. 411–423)
96. Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L. (2020). Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. *Antibiotics*, 9(2), 59.
97. Wadhwani, J. L., Sejwar, A., & Mekle, D. K. (2022). The pattern of microbiological colonization of endotracheal tube aspirate on mechanically ventilated patients: A clinical study from central India. *International Journal of Health and Clinical Research*, 5(2), 296–298.
98. Walsh, D., Parmenter, C., Bakker, S. E., Lithgow, T., Traven, A., & Harrison, F. (2024). A new model of endotracheal tube biofilm identifies combinations of matrix-degrading enzymes and antimicrobials able to eradicate biofilms of pathogens that cause ventilator-associated pneumonia. *Microbiology*, 170(8), 001480. <https://doi.org/10.1099/mic.0.001480>
99. Wang, W., Ju, Y., Liu, N., Shi, S., & Hao, L. (2023). Structural characteristics of microbial exopolysaccharides in association with their biological activities: A review. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 10, 137.

100. Wang, X., Preston, J. F., & Romeo, T. (2004). The pgaABCD locus of *Escherichia coli* promotes the synthesis of a polysaccharide adhesin required for biofilm formation. *Journal of Bacteriology*, 186(9), 2724–2734.
101. Wellead Medical. (2024, 11 septembre). *The importance of cuffed endotracheal tubes in surgical procedures*. <https://www.wellead.com/the-importance-of-cuffed-endotracheal-tubes-in-surgical-procedures/>
102. Whitfield, C. (2019). Biosynthesis and assembly of capsular polysaccharides in bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1–18.
103. Xia, Y., Hu, Z., Jin, Q., Chen, Q., Zhao, C., Qiang, R., Xie, Z., Li, L., & Zhang, H. (2025). Structural characteristics, functions, and counteracting strategies of biofilms in *Staphylococcus aureus*. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 27, 488–500. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2025.01.021>
104. Yadav, M. K., Song, J. H., Vasquez, R., Lee, J. S., Kim, I. H., & Kang, D. K. (2024). Methods for detection, extraction, purification, and characterization of exopolysaccharides of lactic acid bacteria—A systematic review. *Foods*, 13(22), 3687. <https://doi.org/10.3390/foods13223687>
105. Yadav, M., Kumari, S., & Sharma, K. (2024). Extraction and purification methods of microbial exopolysaccharides: Recent advances and applications. *Journal of Applied Microbiology*, 136(2).
106. Zeidan, A. A., Poulsen, V. K., Janzen, T., Buldo, P., Derkx, P. M. F., Øregaard, G., & Neves, A. R. (2017). Polysaccharide production by lactic acid bacteria: from genes to industrial applications. *FEMS Microbiology Reviews*, 41(Suppl_1), S168–S200. <https://doi.org/10.1093/femsre/fux017>
107. Zhang, K., Liu, S., Liang, S., & Xiang, F. (2023). Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: Structure, biological activity, structure–activity relationship, and application in the food industry: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 257, 128733.
108. Zhang, N., Guo, J., Liu, L., Wu, H., & Gu, J. (2021). Study on the efficacy of peracetic acid disinfectant (type III) on gastrointestinal endoscopy disinfection. *Surgical laparoscopy endoscopy & percutaneous techniques*, 31(4), 395–398. <https://doi.org/10.1097/SLE.0000000000000921>
109. Zhang, Y. (2024). Microbial contamination associated with endotracheal tubes in intensive care units. *BMC Microbiology*, 24, 189. <https://doi.org/10.1186/s12866-024-03343-z>

110. Zhao, A., Sun, J., & Liu, Y. (2023). Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1137947.
111. Zogaj, X., Nimtz, M., Rohde, M., Bokranz, W., & Römling, U. (2001). The multicellular morphotypes of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* produce cellulose as the second component of the extracellular matrix. *Molecular Microbiology*, 39(6), 1452–1463.

ANNEXES

Annexe 01 : Composition et préparation des milieux de culture

Milieu de culture /bouillon	Composition (pour 1l)	Préparation
BHIB (Brain Heart Infusion Broth)	-cerveau de bœuf : 200g -cœur de bœuf : 250g -Peptone : 10g -Dextrose : 2g -(NaCl) : 5g -Eau distillée : 1 litre	Dissoudre 3,7g de milieu dans 1l d'eau distillée, puis stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
BN (Bouillon nutritif) (pH 7,2±0,2)	- Peptone : 5 g - Extrait de viande : 3 g - NaCl : 5 g - Eau distillée : 1 L	Dissoudre 8g du milieu dans 1l d'eau distillée, puis procéder à une stérilisation par autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
Chapman (pH 7,6± 0.2)	-Peptone : 10g -Extrait de viande : 1g -Mannitol : 10g -NaCl : 75g -Rouge de phénol : 0.025g -Agar : 15g -Eau distillé : 1l	Dissoudre 111g de milieu dans 1l d'eau distillée, puis stériliser à l'autoclave à 121 °C pendant 15 minutes.
Cétrimide agar (pH 7,1± 0.2)	-Peptone : 20g -Sulfate de magnésium : 1,4g -Acide nalidixique : 15mg (optionnel) -CETRIMIDE =0.3g -Agar : 13 ,6g -Eau distillé : 1l	Préparation en dissolvant 45,3 g/l dans de l'eau distillée, suivie d'une stérilisation à 121°C pendant 15 minutes.

Annexe 02 :Diamètres des zones d'inhibition (mm) obtenus des différents EPS testés sur les *S. aureus*

Souches bactériennes	EPS 1 (P2)	EPS 2 (P3)	EPS 3 (P4)	EPS 4 (P8)
S5	28	50	40	20
S6	5	5	5	5
S7	24	24	26	20

Annexe 03 : Quelques photos de manipulation**Annexe 04 : Étape de récupération des exopolysaccharides (EPS)**