

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

UNIVERSITÉ ABOU BEKR BELKAID TLEMCEM
FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET 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

ZAZOUA FELLAH Zoubida Yousra

ZEGHOUDI Manel Asma

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

Option : Microbiologie et Contrôle de Qualité

Effet de certains désinfectants sur la formation de biofilm des bactéries d'origine hospitalière

Soutenue le 23/06/2025, devant le jury composé de :

HASSAINE Hafida	Professeur	Présidente	Université de Tlemcen
BELLIFA Samia	MCA	Examinatrice	Université de Tlemcen
GAOUAR Sara	MCB	Encadrante	Université de Tlemcen

Année universitaire 2024-2025

Remerciements

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

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

*Nous tenons à remercier chaleureusement la directrice de ce mémoire, Mme **HAMEDI-GAOUAR Sara**, pour ses précieux conseils, sa patience et son encadrement attentif tout au long de ce travail. Sa disponibilité, son professionnalisme et son exigence scientifique ont été des sources constantes de motivation. Ses encouragements et son soutien ont grandement contribué à la qualité et à la réussite de ce mémoire.*

*Nous adressons nos plus vifs remerciements à Mme **HASSAINE Hafida**, Professeur à l'Université Abou Bekr Belkaid-Tlemcen d'avoir accepté de présider le jury, ainsi que pour le temps qu'elle a consacré à la lecture de ce travail.*

*Un grand merci également à Mme **BELLIFA Samia**, c'est un grand plaisir pour nous de vous avoir accepté d'examiner ce modeste travail !*

Et toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de ce travail, qu'elles voient en ces mots l'expression de notre gratitude pour leur présence et leur soutien,

MERCI !

DÉDICACE



*Avant tout je remercie **ALLAH** le très haut de nous avoir donné la force, la volonté et la patience de suivre nos études, réaliser et d'achever ce modeste travail.*

*J'ai passée des moments difficiles, j'ai pensé que je ne verrai jamais le bout du tunnel. Je ne te remercierai jamais assez pour tout ce que tu as fait pour moi toutes les cinq épuisantes années « **un grand merci à moi** ».*

À tous ceux qui sont chers, ceux à qui je dois mon succès :

À ma très chère mère « Amina »

La bougie de ma vie, la source d'amour, la chandelle qui m'a allumé le chemin vers la réussite, qui m'a toujours guidé avec ses précieux conseils, ma source de force et d'encouragement, quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai plus te remercier comme il se doit. Merci pour tout ce que vous m'avez donné depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera toujours.

À mon très cher papa « Amine »

L'épaule solide, l'œil compréhensif et la personne le plus digne. Tous les jours, vous étiez là pour me protéger, m'éduquer, me guider, je veux vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour moi ; votre présence a toujours été une source d'encouragement.

***Mes parents** nulle dédicace n'est susceptible de vous exprimer mes profondes affections et mes immenses gratitudees pour tous les sacrifices que vous avez consentis pour moi.*

À mon cher frère « Yasser ». Mon bras droit, mon compagnon de vie, merci et que dieu vous garde pour moi.

À ma chère sœur « Alaa ». Ma source de joie et de bonheur, ma vie ne serait pas aussi magique sans ta présence et ton amour, que dieu vous garde pour moi.

À mon cher fiancé « Fedlallah ». Ta présence, tes mots et ton énergie m'ont portée bien plus que tu ne l'imagines ; Merci.

À toute ma famille, petits et grands, ainsi qu'à ma grand-mère, pour sa tendresse et ses prières qui m'ont accompagnée dans chaque étape de ma vie.

À mon binôme « Manel » avec qui j'ai partagé le bonheur et le malheur tout au long mon cursus d'études, merci pour tout ce que tu as fait pour la réussite de ce travail.

Yousra

DÉDICACE



*Je remercie tout d'abord **Allah** tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.*

C'est avec une fierté et une gratitude infinie que je dédie mon travail :

À ma très chère mère « Nabila »

Premier battement de mon cœur, présence aimante qui a veillé sur moi bien avant mes premiers pas, par sa tendresse, sa force silencieuse et son amour inépuisable, elle a bâti les fondations de tout ce que je suis aujourd'hui. Chaque réussite porte l'empreinte de ses sacrifices et de ses prières. Aucune dédicace ne saurait être suffisamment éloquente pour exprimer tout ce que tu mérites. Que Dieu tout-puissant te préserve et t'accorde santé, longue vie et bonheur. Merci, maman, du plus profond de mon cœur.

À mon très cher papa « Mohammed »

Ce mémoire est le fruit de nombreux efforts et sacrifices, mais il n'aurait jamais vu le jour sans ton soutien indéfectible. Ta patience et ta confiance en mes capacités m'ont toujours poussée à aller de l'avant. Pour tous tes conseils et tes encouragements, je te dédie ce travail. Merci de m'avoir montré le chemin et de m'avoir appris que rien n'est impossible avec du courage et de la persévérance.

À mes chers frères, « Imad » et « Iyad »

Votre présence est une chance inestimable. Vous êtes mes piliers, mes sources de force. Aucun mot ne saurait exprimer tous les sentiments que je vous porte. Que Dieu vous protège et vous accorde un avenir rempli de joie, de bonheur et de réussite.

*À l'âme de ma grand-mère «**Khira**» que dieu lui accorde son vaste paradis.*

À mes grands-parents que dieu, le tout-puissant, les protège et leur donne la force de continuer à illuminer notre vie.

*À mes chères cousines, «**Imane**» et «**Nihed**»*

À tous membres de famille

*À mon binôme «**Yousra**» ; témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble. Ce travail n'aurait jamais pu réussir sans ton optimisme et ta présence à mes côtés.*

Et enfin, à tous ceux que ma réussite leur tient à cœur.

Manel

المخلص

تُعتبر الكائنات الحية الدقيقة مثل الزائفة الزنجارية والمكورة العنقودية الذهبية من بين الأسباب الشائعة للعدوى المرتبطة باستخدام المناظير، وهي عدوى يصعب علاجها بسبب قدرتها الكبيرة على تكوين الأغشية الحيوية داخل قنوات المنظار. هدف هذا البحث هو دراسة قدرة السلالات المعزولة من قنوات المناظير على تكوين الأغشية الحيوية باستخدام طريقة أجار الكونغو الأحمر وطريقة زراعة الأنسجة في الأطباق، بالإضافة إلى اختبار فعالية أربعة مطهرات هي: الجلوتارالدهيد، حمض البيراسيتيك، بيروكسيد الهيدروجين، والأورثوفثالدهيد، وذلك على أغشية حيوية مكونة من نوع واحد وعلى أغشية مختلطة.

أظهرت نتائج الدراسة أن المكورة العنقودية الذهبية والزائفة الزنجارية كانتا من أفضل مُنتجي الأغشية الحيوية في المختبر، وذلك بسبب قدرتهما العالية على إنتاج السكريات خارج الخلية. وقد تبين أن الجلوتارالدهيد بتركيز 2% غير فعال ضد الخلايا المرتبطة بالأغشية الحيوية، بينما أظهر كل من بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 2% والأورثوفثالدهيد بتركيز 0.55% فعالية أكبر كمطهرات مضادة للأغشية الحيوية. أما في حالة الأغشية الحيوية المختلطة، فقد تبين أن فعالية المطهرات تختلف حسب النسبة بين النوعين البكتيريين، وكان للأورثوفثالدهيد التأثير الأفضل حيث تمكن من القضاء على ثلث الغشاء الحيوي المتكوّن. ومن أجل ضمان تطهير فعال وحماية المرضى، من الضروري اعتماد بروتوكولات تنظيف وتطهير مناسبة حسب قدرة المطهرات على القضاء على الأغشية الحيوية.

الكلمات المفتاحية :

المنظار المرن، التلوث، المكورة العنقودية الذهبية، الزائفة الزنجارية، الأغشية الحيوية، التطهير.

Résumé

Les microorganismes tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* sont souvent associés aux infections liées à l'endoscopie, difficiles à traiter, en raison de leur grande capacité à former un biofilm dans la tubulure d'endoscopes.

L'objectif de ce travail était d'étudier la capacité de la formation de biofilm chez des souches isolées de canaux d'endoscopes par la méthode Rouge Congo (RCA) et la méthode de culture de tissu en plaque (TCP), ainsi de tester l'efficacité de 4 désinfectants (Glutaraldéhyde, acide peracétique, peroxyde d'hydrogène et l'orthophtalaldéhyde sur un biofilm mono espèce ainsi sur un biofilm mixte.

S. aureus, *P. aeruginosa*, étaient de bons producteurs de biofilm *in vitro* vu leur grande capacité à produire des exopolysaccharides. Le glutaraldéhyde (2%) s'est révélé inefficace sur des cellules sessiles. Le peroxyde d'hydrogène (2%) et l'orthophtalaldéhyde (0,55%) sont les meilleurs biocides présentant une meilleure action antibiofilm. L'efficacité des désinfectants sur les biofilms mixtes varie en fonction de la proportion relative des deux espèces. L'orthophtalaldéhyde (0,55%) montre le meilleur effet antibiofilm avec une éradication de 1/3 de biofilm préformé.

Afin de garantir une désinfection optimale et assurer la sécurité des patients, il sera nécessaire d'adapter des protocoles de nettoyage/désinfection en fonction de la capacité antibiofilm des désinfectants.

Mots clés : Endoscope flexible, contamination, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, biofilms, désinfection.

Abstract

Microorganisms such as *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* are often associated with endoscopy-related infections, which are difficult to treat due to their high capacity to form biofilms within the endoscope channels.

The aim of this study was to evaluate the biofilm-forming ability of strains isolated from endoscope channels using the Congo Red Agar (CRA) method and the Tissue Culture Plate (TCP) method, as well as to test the efficacy of four disinfectants (glutaraldehyde, peracetic acid, hydrogen peroxide, and orthophthalaldehyde) on both mono-species and mixed-species biofilms.

S. aureus and *P. aeruginosa* were strong biofilm producers *in vitro*, due to their high exopolysaccharide production capacity. Glutaraldehyde (2%) is ineffective against sessile cells. Hydrogen peroxide (2%) and orthophthalaldehyde (0.55%) are the most effective biocides, showing superior antibiofilm activity. The efficacy of disinfectants on mixed biofilms varies depending on the relative proportion of the two species. Orthophthalaldehyde (0.55%) showed the best antibiofilm effect, eradicating one-third of preformed biofilm.

To ensure optimal disinfection and patient safety, cleaning/disinfection protocols should be adapted based on the antibiofilm effectiveness of the disinfectants used.

Keywords : Flexible endoscope, contamination, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, biofilms, disinfection.

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	2
Première partie : Partie bibliographique	3
Chapitre I : L'endoscopie	4
1. L'endoscopie	4
2. Les types d'endoscopes	4
2.1. Les endoscopes rigides	4
2.2. Les endoscopes souples	5
Chapitre II : Risque infectieux lié à l'endoscopie	6
1. Contamination des endoscopes	6
1.1. Les infections endogènes	6
1.2. Les infections exogènes	6
2. Les bactéries impliquées dans la contamination des endoscopes	7
2.1. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
2.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	9
3. Biofilm bactérien et endoscopes flexibles	11
3.1. Les étapes de formation de biofilm	11
3.1.1. Adhésion initiale réversible	12
3.1.2. Adhésion irréversible	12
3.1.3. Le développement précoce du biofilm	12
3.1.4. La maturation du biofilm	13

3.1.5. Dispersion du biofilm	13
4. Propriétés des exopolysaccharides et adhésion (EPS)	13
Chapitre III : Traitement des endoscopes	14
1. Traitement des endoscopes : procédure manuelle	14
1.1. Le prétraitement	14
1.2. Le nettoyage	14
1.3. La désinfection	14
1.4. Le rinçage terminal	15
1.5. Le séchage	15
1.6. Le stockage	15
2. Traitement des endoscopes : procédure automatisée	15
3. Les différents désinfectants utilisés pour la désinfection des endoscopes.....	15
3.1. Le glutaraldéhyde	16
3.2. L'acide peracétique	16
3.3. L'orthophtalaldéhyde	16
3.4. Le peroxyde d'hydrogène	17
Deuxième partie : Matériel et méthodes	18
1. Lieu d'étude	19
2. Souches étudiées	19
3. Revivification et identification des souches isolées	19
4. Conservation des souches	19
5. Étude de la formation de biofilm <i>in-vitro</i> des souches isolées	19
5.1. Technique de Rouge Congo agar (RCA)	20
5.2. Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)	20

6. Production des exopolysaccharides	21
6.1. Production des EPSs	21
6.2. Extraction des EPSs	21
6.3. Quantification des EPSs	22
7. Effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé	22
7.1. L'effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé « mono-espèces »	22
7.2. Effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé « « bi-espèces »	23
Troisième partie : Résultats et discussion	24
1. Revivification et identification des souches	25
2. Evaluation de la formation de biofilm chez les souches étudiées	27
2.1. Technique de Rouge Congo Agar (RCA)	27
2.2. Technique de microplaques 96 puits (TCP)	29
2.3. Production des exopolysaccharides	30
3. Effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé.....	31
3.1. L'effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé « mono-espèces »	32
3.2. Effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé « « bi-espèces »	34
Conclusion.....	38
Références bibliographiques.....	40
Annexes	51

Liste des abréviations

AER : Retraiteurs Automatisés d'Endoscopes

AP : Acide Peracétique

DHO : Désinfection de Haut Niveau

DO : Densité Optique

EPS : Exopolysaccharides

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

GLA : Glutaraldéhyde

IAS : Infections Associées aux Soins

LDE : Laveurs Désinfecteurs Endoscopes

MSCRAMMs : Microbial surface components recognising adhesive matrix molecules

OPA : Orthophtalaldéhyde

RCA : Rouge Congo Agar

TCA : Trypticase Cystine Agar

TCP : Plaque de Culture de Tissus

Liste des figures

Figure 1 : Schéma d'un endoscope rigide	4
Figure 2 : Composants de base d'un endoscope flexible	5
Figure 3 : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> observée au microscope électronique	7
Figure 4 : <i>Staphylococcus aureus</i> observée au microscope électronique.....	9
Figure 5 : Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i>	10
Figure 6 : Présence de biofilm sur un endoscope flexible observée au microscope électronique	11
Figure 7 : Les étapes de formation de biofilm	12
Figure 8 : Protocole de suivi de la formation du biofilm sur microplaque	21
Figure 9 : Aspect des colonies sur milieux sélectifs	25
Figure 10 : Aspect microscopique des souches étudiées après coloration de Gram grossissement X100.....	26
Figure 11 : Résultats de l'identification des souches par la galerie API	26
Figure 12 : Production de slime sur milieu Rouge Congo par les souches étudiées	28
Figure 13 : Résultats de la quantification de la formation de biofilm par les souches <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolées de canaux d'endoscopes	29
Figure 14 : Résultats de la quantification de la formation de biofilm par les souches <i>Staphylococcus aureus</i> isolées de canaux d'endoscopes	29
Figure 15 : Traitement des biofilms âgés de (24h et 48h) de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> par différents désinfectants	33
Figure 16 : Traitement des biofilm mixtes de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Staphylococcus aureus</i> par différents désinfectants	35

Liste des tableaux

Tableau 1 : Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
Tableau 2 : Mécanismes de virulence chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8
Tableau 3 : Taxonomie de <i>Staphylococcus aureus</i>	9
Tableau 4 : Les concentrations et les temps de contact des désinfectants	22
Tableau 5 : Résultats de la technique Rouge Congo Agar (RCA)	28
Tableau 6 : Résultats de la technique de TCP	30
Tableau 7 : Quantification des EPSs par les souches étudiées	31

Introduction

L'endoscopie constitue un outil essentiel en médecine moderne, tant pour le diagnostic que pour le traitement des pathologies digestives, respiratoires et urinaires [(Hoffman et al., 2024) ; (Tan et al., 2024)].

Les endoscopes flexibles sont des instruments extrêmement complexes, caractérisée par différents canaux et de multiples pièces difficilement accessibles. En plus, ces dispositifs médicaux sont à la fois thermosensibles et réutilisables ce qui exige des procédures spécifiques de nettoyage et de désinfection. Par conséquent, des résidus organiques et des micro-organismes peuvent persister à l'intérieur des canaux d'endoscopes, créant ainsi des conditions favorables à la formation de biofilms et augmentant le risque de contamination croisée entre patients lors des procédures endoscopiques [(Garcia et Oliveira, 2022) ; (Antoine et al., 2024) ; (Hoffman et al., 2024)].

Plusieurs études indiquent que les infections associées à la croissance du biofilm sont généralement difficiles à éradiquer, en raison de leur maturité dans les tubulures d'endoscopes. De plus, les biofilms présentent un risque élevé lors des soins de santé avec une fréquence accrue à la résistance aux désinfectants existants ce qui peut entraîner des échecs lors du retraitement de ces dispositifs [(Johani et al., 2018) ; (Alfa et Singh, 2020) ; (Hamedi-Gaouar et al., 2024) ; (Shen et al., 2025)].

La surveillance de l'efficacité des procédures de retraitement de tel dispositifs ainsi l'utilisation d'un bon désinfectant, demeure important afin de minimiser les risques émergents menaçant la sécurité des patients (Tan et al., 2024).

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

- D'évaluer *in vitro* la capacité de souches isolées de canaux d'endoscope à former un biofilm.
- D'étudier la relation entre la capacité de formation de biofilm par les souches bactériennes et la production d'exopolysaccharides (EPS).
- D'étudier et de comparer l'effet de quelques désinfectants (utilisés pour le retraitement des endoscopes) sur des bactéries sessiles.

Synthèse

Bibliographique

CHAPITRE I : L'endoscopie

1. L'endoscopie

L'endoscopie représente un acte médical largement utilisé en médecine clinique, à des fins diagnostiques et thérapeutiques (Liu *et al.*, 2022).

L'endoscopie s'applique à de nombreuses procédures cliniques, tels que la bronchoscopie, la colonoscopie, cystoscopie, hystéroskopie et gastroscopie, cette procédure est réalisée à l'aide d'un instrument diagnostique appelé « endoscope ».

Les endoscopes sont des dispositifs médicaux permettant l'exploration interne des organes sans intervention chirurgicale [(Fournier et Haerberlé, 2023) ; (Ubaradka *et al.*, 2023)]. Ces instruments médicaux sont définis comme des dispositifs « semi-critiques » selon la classification de Spaulding des dispositifs médicaux (Abdo *et al.*, 2024).

2. Les types d'endoscopes

2. 1. Les endoscopes rigides

Un endoscope rigide est constitué d'un tube en acier inoxydable de 10 à 50 cm de longueur et de 3 et 15 mm de diamètre. À l'intérieur de ce tube se trouve un faisceau de fibres optiques permettant la transmission de la lumière depuis une source externe jusqu'à l'extrémité distale, assurant ainsi l'éclairage de la cavité interne de l'organe exploré. De plus, le système est équipé d'un canal opérateur qui facilite l'introduction de micro-instruments nécessaires pour effectuer des interventions chirurgicales (Fournier et Haerberlé, 2023). Ces instruments sont autoclavables, donc ils ne constituent aucun problème de désinfection (Figure 1).

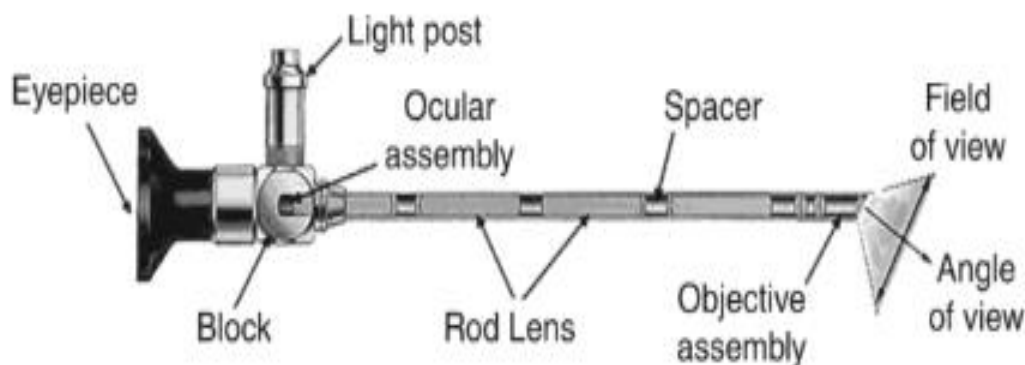


Figure 1 : Schéma d'un endoscope rigide (Khandpur, 2020)

2. 2. Les endoscopes souples

Les endoscopes flexibles sont des instruments médicaux réutilisables, à la fois complexes et coûteux (Hervé et al., 2023). Un endoscope souple est constitué d'un tube flexible, fin, de 30 et 120 cm de long, avec un diamètre de quelques millimètres (Fournier et Haeberlé, 2023).

Selon Khanicheh et Shergill (2019), la figure 2 montre qu'un endoscope flexible est composé de plusieurs éléments dont :

- Un tube flexible d'insertion qui comprend plusieurs canaux (canal opérateur, canal d'aspiration et canal d'insufflation).
- Un corps de contrôle, contient des boutons permettant au médecin d'orienter l'extrémité distale.

Ces principaux composants sont interreliés par trois systèmes fondamentaux :

- Le système mécanique permet la déviation de l'extrémité distale dans plusieurs directions afin d'assurer l'exploration visuelle précise du site ciblé.
- Le système d'irrigation, tout en activant l'aspiration pour éliminer les excès de liquide, l'air ou les débris chirurgicaux.
- Le système d'éclairage, transporte la lumière jusqu'au site cible pour l'éclairer, tout en transmettant l'image obtenue au processeur vidéo.

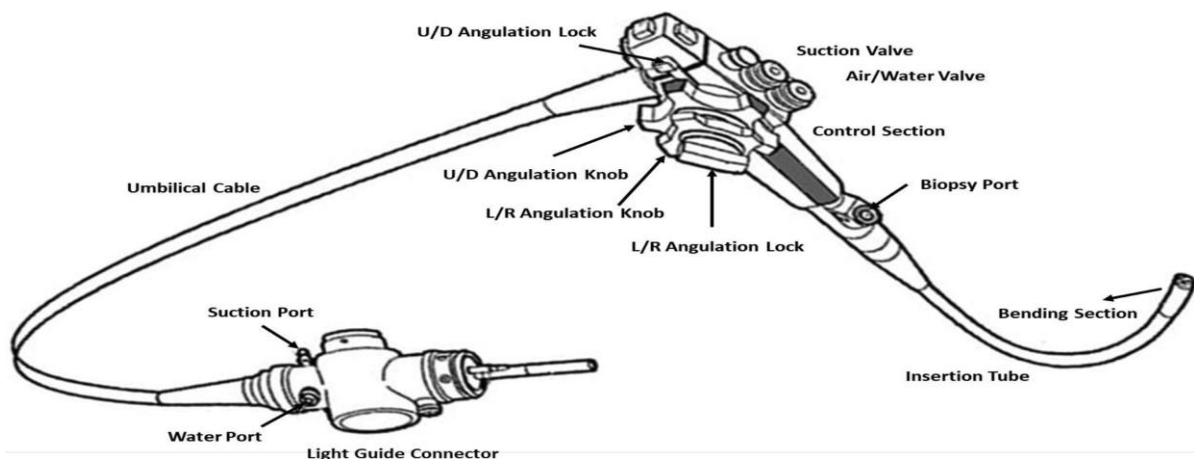


Figure 2 : Composants de base d'un endoscope flexible (Khanicheh et Shergill, 2019)

En raison de leur sensibilité à la chaleur et de leur complexe structure, les endoscopes flexibles requièrent un nettoyage/désinfection de haut niveau (DHN) (Speer et al., 2023).

CHAPITRE II : Risque infectieux lié à l'endoscopie

1. Contamination des endoscopes

Les endoscopes ont une conception complexe comprenant une multitude de pièces et plusieurs canaux internes. Cette structure facilite l'accumulation de souillure rendant ainsi le nettoyage/désinfection difficile. Les endoscopes flexibles peuvent acquérir des niveaux élevés de contamination microbienne et des matières organiques. Ces souillures peuvent renfermer des germes et des substrats propices à leur multiplication (le sang, les sécrétions respiratoires...) [(Kovaleva, 2013) ; (HA et El-Hawy, 2019)].

Les endoscopes flexibles contaminés ont été associés à de nombreuses infections associées aux soins (IAS). Le risque infectieux associé à l'endoscopie a été estimé à un cas pour 1,8 million d'actes, ce risque lié à ces dispositifs médicaux reste toujours d'actualité [(Northage et al., 2024) ; (Hussein et al., 2025)].

En raison de leur mode de transmission, les infections associées à l'endoscopie peuvent être classées en infections endogènes et exogènes (Beilenhoff, 2023).

1. 1. Les infections endogènes

Les infections endogènes sont issues de la propre flore du patient suite d'une procédure invasive. Ces infections endogènes ne peuvent pas être complètement évitées en raison de la nature des procédures endoscopiques et elles ne peuvent être prévenues que par la maîtrise des procédures de désinfection [(Sevin et al., 2019) ; (Beilenhoff, 2023) ; (Van der Ploeg et al., 2024)].

Les bactéries les plus incriminées dans les infections endogènes liées à l'endoscopie sont souvent : *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp* et *Enterococci* (Beilenhoff, 2023).

1. 2. Les infections exogènes

Les infections exogènes peuvent être à l'origine de l'utilisation d'un endoscope contaminé par un patient ou par l'environnement. Les infections exogènes sont plutôt en rapport avec l'utilisation d'un désinfectant inadapté, un mauvais séchage des canaux internes avant stockage, la qualité du retraitement de l'endoscope est un facteur important dans le développement de ces infections (Beilenhoff, 2023).

Les micro-organismes exogènes les plus fréquemment associés à la transmission d'infection endoscopique sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella spp* (Kovaleva et al., 2013).

2. Les bactéries impliquées dans la contamination des endoscopes

Plusieurs rapports ont décrit des infections transmises par l'endoscope, les micro-organismes les plus couramment identifiés étant : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Citrobacter freundii* [(Casini et al., 2021) ; (Hamedi-Gaouar et al., 2021) ; (Ergenc et al., 2022) ; (Antoine et al., 2024) ; (Ofstead et al., 2024)].

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

2. 1. *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie à Gram négatif, de forme bacillaire, mobile, pigmentée en bleu-vert (Sathe et al., 2023) ; (Figure 3).

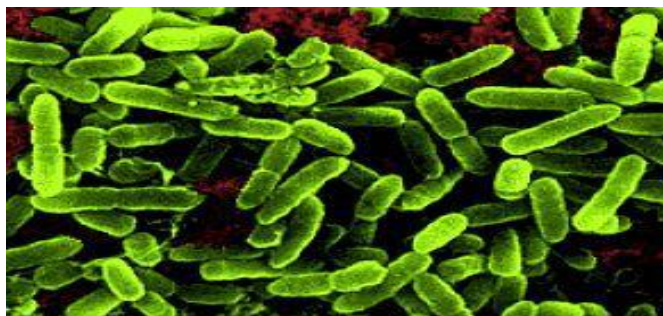


Figure 3 : *Pseudomonas aeruginosa* observée au microscope électronique grossissement X400 (Elmeskini, 2011)

Cette bactérie appartient à la classe des Gammaproteobacteria et à la famille des Pseudomonadaceae (Tableau 1).

Tableau 1 : Taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* (Elmeskini, 2011)

Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	Pseudomonas
Espèce	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Cette espèce présente un métabolisme aérobie facultatif dont elle utilise préférentiellement l'oxygène comme accepteur final d'électrons pour sa respiration aérobie, mais elle est également capable de croître en conditions anaérobies en exploitant d'autres accepteurs d'électrons, tels que le nitrate. *P. aeruginosa* est présente dans de nombreux environnements, comme le sol, l'eau, les plantes, ainsi que sur certaines parties du corps humain, notamment la peau et les muqueuses orales [(Sathe et al., 2023) ; (Wood et al., 2023)].

Pseudomonas aeruginosa est un pathogène opportuniste responsable de nombreuses infections chez l'être humain tels que : pneumonie, infection liée au cathéter, infection des voies urinaires, infections des brûlures cutanées, infections associées aux implants, ostéomyélite (Tuon et al., 2022).

Pseudomonas aeruginosa est connue pour sa résistance à une gamme d'agents antimicrobiens (Dantas et al., 2014). Elle est parfois entourée d'une pseudo-capsule appelée slime qui peut jouer un rôle important dans la pathogénicité de cette bactérie (Solbi, 2013). *Pseudomonas aeruginosa* synthétise des facteurs de virulence qui renforcent ses capacités d'adaptation et favorisent sa survie chez l'hôte humain (Tuon et al., 2022) ; (Tableau 2).

Tableau 2 : Les mécanismes de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* (Tuon et al., 2022)

Résistance aux antibiotiques	Pompes à efflux	
	Enzymes de modification	
Motilité	flagelles	
	Relation de type IV	
Structure et dynamique du biofilm	Rhamnolipides	
	alginate	
	protéases	
Récupération du fer	sidérophores	pyocheline
		pyoverdine
		pyocyanine
Cytotoxicité	T3SS	
	Endotoxine A	
	HCN	
		élastase
Évasion immunitaire		protéase alcaline

2. 2. *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram positif non sporulé, facultativement anaérobie, non mobile et de nature fermentative, et elle se distingue par sa positivité aux tests de catalase et de coagulase, tandis qu'elle est négative à celui de l'oxydase. Sur des milieux gélosés riches en nutriments, *S. aureus* forme de grandes colonies dont la coloration varie du blanc au jaune. Cette pigmentation jaune est due à la synthèse de caroténoïdes, qui confèrent aux colonies leur coloration typique (Pal et al., 2021) ; (Figure 4).

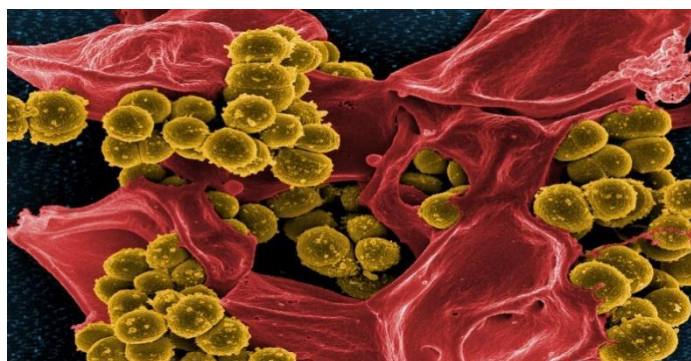


Figure 4 : *Staphylococcus aureus* observée au microscope électronique grossissement X400 (Raffa et al., 2018)

Staphylococcus aureus est une bactérie appartenant à la famille des Staphylococcaceae et au genre *Staphylococcus* (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Taxonomie de *Staphylococcus aureus* (**Keim et al., 2023**)

Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Staphylococcaceae
Genre	<i>Staphylococcus</i>
Espèce	<i>Staphylococcus aureus</i>

Staphylococcus aureus colonise la peau ainsi que plusieurs muqueuses, notamment celles des narines antérieures, du tube digestif, de l'appareil urogénital et du pharynx. On la retrouve également dans l'environnement et dans divers aliments d'origine animale (**Pal et al., 2021**).

Cette espèce est responsable de diverses infections chez l'homme telles les infections cutanées, des mastites, des infections urinaires, des ostéomyélites, des méningites, des intoxications alimentaires, des infections associées aux biofilms, ainsi que des septicémies. *S. aureus* représente une cause importante d'infections nosocomiales, elle est impliquée dans 30 % des cas d'endocardite infectieuse et représente la deuxième cause la plus fréquente de pneumonie contractée en milieu hospitalier [(**Newstead et al., 2020**) ; (**Muniasamy et Manjubala, 2024**)].

Staphylococcus aureus synthétise plusieurs facteurs de virulence qui sont essentiels à l'induction d'infections chez l'homme et l'animal (**Figure 5**) ; parmi ces facteurs on cite :

- Toxine : l' α -toxine et les leucocidines de *S. aureus* sont deux toxines importantes qui forment des pores dans les cellules cibles. Elles reconnaissent d'abord un récepteur spécifique à la surface de ces cellules, puis s'assemblent pour former un pore. Ce processus renforce la réaction inflammatoire de l'hôte.
- Les Facteurs d'adhérence : *S. aureus* utilise différentes protéines adhésives pour s'attacher aux cellules de l'hôte et commencer sa colonisation. Ces protéines sont attachées à la paroi cellulaire par le peptidoglycane et se lie de manière spécifique à des éléments du plasma ou de la matrice extracellulaire. Elles sont regroupées sous le nom de MSCRAMM, ce qui signifie "Microbial surface components recognising adhesive matrix molecules" (**Shaghayegh et al., 2022**).

- Enzyme : les protéases, les lipases et les nucléases sont parmi les principales enzymes contribuant à la virulence de *S. aureus*. Les deux premiers, en particulier jouent un rôle clé dans la pathogénicité de cette bactérie (Pivard, 2022).

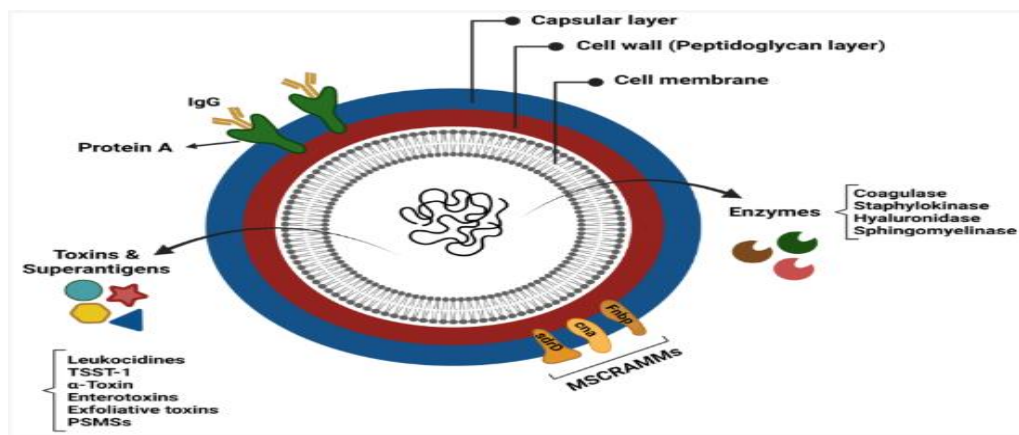


Figure 5 : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (Shaghayegh et al., 2022)

3. Biofilm bactérien et endoscopes flexibles

Les biofilms sont des communautés microbiennes encapsulées dans une matrice et attachée aux surfaces biotiques ou abiotiques, ils sont impliqués dans 65 à 80 % des infections microbiennes humaines [(Park et al., 2023) ; (Jandl et al., 2024)].

La formation du biofilm est l'une des stratégies cruciales que les communautés microbiennes utilisent pour renforcer leur résistance (Epelle et al., 2024). Les biofilms constituent un vecteur important dans la survenue des IAS, ils posent un problème particulier en raison de leur persistance sur les surfaces, notamment sur les dispositifs médicaux réutilisables, tels que les endoscopes (Haas et al., 2023).

De ce fait, la structure complexe des endoscopes flexibles et leur exposition répétée aux muqueuses offrent des conditions idéales pour l'accumulation des fluides et de matières organiques ainsi la formation de biofilms dans les canaux internes d'endoscope même après une DHN (Northage et al., 2024). De plus, les irrégularités de surface, causées par l'usage répété de l'endoscope, notamment dans le canal opérateur, favorisent l'adhésion et la persistance du biofilm (Antoine et al., 2024) ; (Figure 6).

P. aeruginosa est le micro-organisme le plus fréquemment isolé en raison de la capacité de cette bactérie d'origine hydrique à former un biofilm au sein des canaux d'endoscope (Chapuis, 2006). Les biofilms de *Staphylococcus aureus* représentent également une grave menace clinique en tant que réservoir d'infections persistantes (Kim et al., 2018).

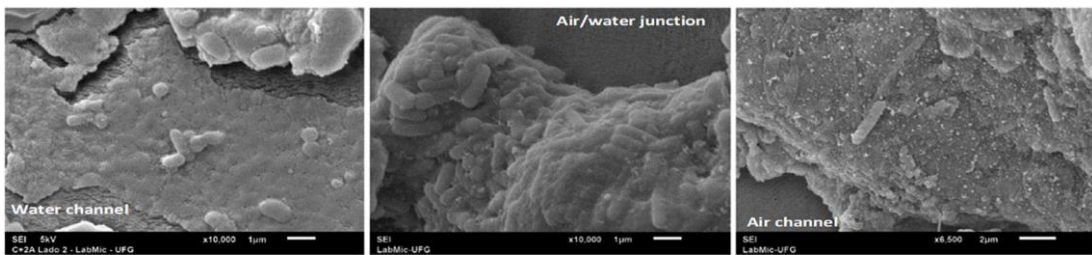


Figure 6 : Présence de biofilm sur un endoscope flexible observée au microscope électronique (Primo *et al.*, 2022)

3.1. Les étapes de formation de biofilm (Figure 7)

Les bactéries développent fréquemment des biofilms pour survivre lorsqu'elles sont confrontées à des défis environnementaux tels que les rayons ultraviolets, les nutriments limités, les niveaux de pH extrêmes, la salinité élevée, les températures extrêmes, la pression élevée et l'exposition à des substances antimicrobiennes. Le processus de formation du biofilm se déroule en plusieurs étapes (Omwenga et Awuor, 2024).

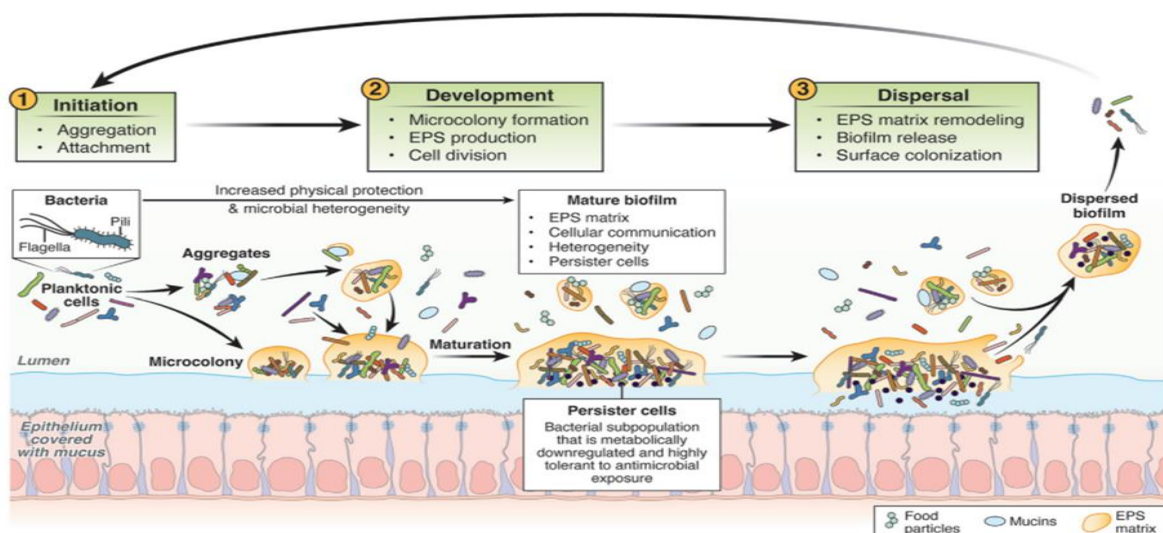


Figure 7 : Les étapes de formation de biofilm (Jandl *et al.*, 2024)

3. 1. 1. Adhésion initiale réversible

Les bactéries adhèrent de manière réversible à une surface biotique ou abiotique par des liaisons faibles (Araújo et al., 2024). La cellule bactérienne utilise ses organites extracellulaires, tels que les pili et les flagelles, en combinaison avec les interactions électrostatiques et hydrophobes, ainsi que les forces de van der Waals, pour s'accrocher aux surfaces (Olaimat et al., 2024).

3. 1. 2. Adhésion irréversible

L'adhésion devient irréversible en absence d'intervention physique ou chimique, et les cellules bactériennes synthétisent des exopolysaccharides (EPS) et se fixent donc fermement à la surface (Alotaibi et Bukhari, 2021).

3. 1. 3. Le développement précoce du biofilm

Une fois fermement attachées ; les bactéries commencent à se multiplier et sécréter une matrice protectrice. Ce processus de division conduit ensuite à la formation de micro-colonies qui peuvent collaborer entre elles par l'échange de substrats, la distribution de produits métaboliques clés et l'excrétion de produits métaboliques [(Araújo et al., 2024) ; (Erkihun et al., 2024)].

3. 1. 4. La maturation du biofilm

Une organisation structurale complexe du biofilm se met en place comportant trois couches : une couche interne régulatrice, une couche intermédiaire essentiellement constituée de micro-organismes, et une couche externe où l'on retrouve des formes planctoniques prêtes à se détacher (Rather et al., 2021). Au cours de cette phase, des molécules de signalisation appelées auto-inducteurs sont ainsi sécrétées. Au sein de cette matrice, des canaux aqueux et des pores se forment entre les micro-colonies, permettant l'acheminement d'oxygène et de nutriments nécessaires à la croissance de micro-organismes, ainsi que l'élimination des déchets (Vani et al., 2023).

3. 1. 5. Dispersion du biofilm

Le détachement de cellules du biofilm intervient lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables (**Olaimat et al., 2024**).

4. Propriétés des exopolysaccharides (EPS) et adhésion

Les microbes résidant dans les biofilms sont entourés d'une matrice de type hydrogel comprenant de l'eau et des substances polymériques extracellulaires (**Jandl et al., 2024**), ces derniers sont composés de polysaccharides, protéines, acides nucléiques, lipides et autres biomolécules (**Lu et al., 2024**). Les polysaccharides hydratent la matrice et facilitent la mobilité cellulaire, les protéines stabilisent les substances polymériques, et l'ADN extracellulaire renforce la structure en facilitant les échanges génétiques (**Jandl et al., 2024**).

Les EPS occupent l'espace intercellulaire du biofilm, et assurent à la fois une solidité structurelle des cellules bactériennes et favorisent leur adhésion aux surfaces ce qui constitue une barrière protectrice efficace et une résistance aux facteurs agressifs, tels que les agents antibactériens, les réponses immunitaires de l'hôte et les facteurs environnementaux extrêmes [(**Bereanu et al., 2024**), (**Jandl et al., 2024**) ; (**Almatroudi, 2025**) ; (**Montanari et al., 2025**)].

CHAPITRE III : Traitement des endoscopes

Un retraitement complet et rigoureux des endoscopes flexibles est essentiel pour limiter la transmission des agents pathogènes, réduire le risque d'infections croisées et pour assurer la sécurité des soins [(Halmans et al., 2023) ; (Leeb-Zatorska et al., 2024)].

Un retraitement inadéquat des endoscopes ou une désinfection insuffisante présente un risque significatif d'exposition des patients à des infections (Romito et al., 2024).

1. Traitement des endoscopes : procédure manuelle

Le traitement manuel représente une étape cruciale visant à prévenir le risque infectieux exogène lors des procédures endoscopiques. Afin d'assurer un traitement efficace, il est essentiel que l'endoscope soit entièrement immergeable, apte à l'irrigation et déconnecté de sa source (Gervaise et al., 2013).

Le processus de traitement manuel des endoscopes comporte six étapes indispensables :

1. 1. Le prétraitement

Le prétraitement de l'endoscope doit être effectué immédiatement après l'acte pour éviter le séchage des souillures, sécrétions et la formation ultérieure de biofilm au sein des endoscopes (Wang et al., 2023).

1. 2. Le nettoyage

En associant une action physico-chimique (immersion complète de l'endoscope dans un bac contenant un détergent) et une action mécanique poussée (essuyage et brossage d'endoscope, écouvillonnage et irrigation des canaux).

Le nettoyage manuel avec un détergent approprié reste une étape essentielle qui sert à éliminer les souillures et d'abaisser le niveau de contamination d'endoscope (Madureira et Oliveira, 2022). Ce nettoyage doit être suivi par un brossage en utilisant des brosses dont le diamètre convient à chaque canal ; suivi d'un rinçage intermédiaire qui élimine toutes traces de détergent qui pourrait interférer avec le produit de désinfection (Speer et al., 2023).

1. 3. La désinfection

Les endoscopes flexibles thermosensibles nécessitent après nettoyage complet une DHN. L'endoscope doit être entièrement immergé dans une solution désinfectante, et tous les canaux doivent être irrigués dans un produit désinfectant, ce dernier doit être adapté au but visé et utilisé correctement (Speer et al., 2023).

1. 4. Le rinçage terminal

Le rinçage vise à éliminer les résidus du désinfectant potentiellement présent dans l'endoscope. L'eau de rinçage doit être de qualité potable et exempte d'agent pathogène, une eau suffisamment propre (l'eau purifiée par stérilisation ou filtration) peut être utilisée pour le rinçage (Cheung et al., 2020).

1. 5. Le séchage

Le séchage de l'endoscope après désinfection constitue une étape essentielle pour prévenir tout risque de recontamination, et afin d'éviter la prolifération microbienne potentiellement présente dans un environnement humide (Cheung et al., 2020). Les canaux de l'endoscope doivent être purgés avec de l'air comprimé, puis rincer avec l'alcool avant de les sécher à l'air pulsé (Speer et al., 2023).

1. 6. Le stockage

Le stockage de l'endoscope dans un endroit propre et sec est requis. Le stockage peut être soit vertical soit à plat. Les endoscopes doivent être mis après retraitement dans des armoires ou des enceintes de stockage spécialement conçues à cet effet, l'air filtre circule à travers les canaux pour assurer un séchage adéquat où la température et le taux d'humidité peuvent être contrôlées (Cheung et al., 2020).

2. Traitement des endoscopes : procédure automatisée

Le retraitement automatisé des endoscopes flexibles est effectué dans des Laveurs Désinfecteurs Endoscopes (LDE) appelés aussi Retraiteurs Automatisés d'Endoscopes (AER). Ces appareils sont spécifiquement conçus pour effectuer un nettoyage mécanique ainsi qu'une DHN, conformément aux exigences de sécurité et de qualité (Haas et al., 2023).

Le retraitement automatisé d'endoscopes assure le cycle standardisé, réduisant l'omission minimisant d'une étape fondamentale et contribuant à diminuer les coûts liés au traitement des endoscopes (Chang et al., 2024).

3. Les différents désinfectants utilisés pour la désinfection des endoscopes

D'après la classification de Spaulding, les endoscopes flexibles sont classés comme des dispositifs « semi-critiques » et requièrent donc une DHN (Halmans et al., 2023).

Parmi les désinfectants recommandés pour la DHN des endoscopes sont : le glutaraldéhyde, l'acide peracétique, l'orthophtalaldéhyde et le peroxyde d'hydrogène :

3. 1. Le glutaraldéhyde

Le glutaraldéhyde (GLA) est reconnu comme un désinfectant de haut niveau qui est largement répandu pour la désinfection des endoscopes en raison de ses propriétés sporicides, bactéricides, fongicides et virucides [(Chang *et al.*, 2024) ; (Westerway *et al.*, 2024)].

Le GLA agit en établissant une forte liaison de l'aldéhyde avec la membrane cellulaire externe du micro-organisme. Une solution de glutaraldéhyde à 2% tamponnée à pH (7,5 - 8,5) à 20°C est appliquée pendant 15 minutes ; elle est efficace pendant 14 jours, une période de 28 jours pour un produit contenant 3,4% de substance active [(Altinayak et Öner, 2022) ; (Heer *et al.*, 2022) ; (Westerway *et al.*, 2024)].

3. 2. L'acide peracétique

L'acide peracétique (AP) est un désinfectant fréquemment utilisé pour la désinfection des endoscopes flexibles en raison de son action oxydante, qui lui confère une activité étendue contre les bactéries, les virus et les spores. Le temps de contact recommandé de l'acide peracétique avec le dispositif médical est de 5 min pour une concentration de 0,3% [(Chino *et al.*, 2017) ; (Northage *et al.*, 2024)].

Il est actif à basse température, mais il peut présenter une action corrosive selon la valeur de son pH et sa concentration. Selon la littérature l'acide peracétique peut fixer les biofilms, réduisant ainsi son efficacité antibiofilm (Northage *et al.*, 2024).

3. 3. L'orthophtalaldéhyde

L'orthophtalaldéhyde (OPA) est un désinfectant couramment utilisé qui a prouvé une supériorité en termes d'efficacité microbiologique comparativement au GLA. Un temps de contact recommandé par ce biocide est de 10 min pour une concentration de 0,55%. Les désavantages de ce désinfectant est son prix coûteux, il peut entraîner une irritation des yeux et des voies respiratoires, ainsi qu'une réaction anaphylactique [(Chino *et al.*, 2017) ; (Chang *et al.*, 2024)].

3. 4. Le peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) est largement reconnu comme un agent de stérilisation à basse température, particulièrement adapté aux dispositifs médicaux thermosensibles. Ce désinfectant agit sur une grande variété de micro-organismes ; bactéries, levures, champignons, virus et même les spores. Il génère des radicaux hydroxyles destructeurs, qui attaquent les lipides des membranes, l'ADN et à d'autres éléments cruciaux de la cellule. Le temps de contact recommandé par le peroxyde d'hydrogène est de 5 min pour une concentration de 2% [(Sivakalai et *al.*, 2023); (Westerway et *al.*, 2024)].

Matériel et méthodes

1. Lieu d'étude

Ce travail a été réalisé au laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'université Abou bekr Belkaid-Tlemcen.

2. Souches étudiées

Dans cette étude nous avons travaillé sur une collection de souches de *Pseudomonas aeruginosa* ; *Staphylococcus aureus* isolées des endoscopes digestifs de différents services gastro-entérologies de différentes wilayas Tlemcen, sidi Bel-Abbès, Ain temouchent en 2018.

3. Revivification et identification des souches isolées

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

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

4. Conservation des souches

Toutes les souches identifiées ont été conservées en double réplique sur gélose nutritive inclinée à 4°C et dans le glycérol à -80°C /50%.

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

Cette partie à portée sur la détection de la formation de biofilm chez les souches isolées.

Deux méthodes ont été utilisées ; la technique de Rouge Congo agar (technique qualitative) et la technique de microplaque de titration (méthode quantitative).

5.1. Technique du Rouge Congo agar (RCA)

La production de slime a été recherchée sur le milieu Rouge Congo Agar, ce dernier a été préparé avec 37 g/L BHIB, 50 g/L de saccharose, 10 g/L d'agar et 0,8 g/L du Rouge Congo Agar puis autoclavé à 121°C pendant 15 min. Contrairement aux autres milieux de culture, le Rouge Congo est ajouté ensuite au milieu refroidi à 55°C. Le milieu estensemencé de la souche puis les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24 à 48h (**Touati et al., 2007**). Les souches productrices de slime exprimant le PIA (Polysaccharide Intercellular Adhesion) donnaient des colonies noires à surface rugueuse contre des colonies rouges à surface lisse pour les souches non productrices (**Nasr et al., 2012**).

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

Le test TCP décrit par **O'Toole et al., (2000)** permet une évaluation quantitative de la formation du biofilm. A partir d'une culture de 18h dans le milieu BHIB, les puits d'une microplaque de 96 puits (polystyrène) sont inoculés avec 150 µL de la suspension bactérienne ajustée à une DO de 0,1. 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 micro-organismes sessiles sont colorés avec du cristal violet (0,1%) pendant 15 min. L'excès de colorant est ensuite rincé et les plaques sont laissées pour le séchage 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 8**).

Selon **Christensen et al., (1985)**, les souches ont été classées comme suit : $DO \leq DO_t$ (témoin) : non-formatrice du biofilm. $DO_t \times 2 \leq DO \leq DO_t \times 4$: modérément formatrice du biofilm. $DO \geq DO_t \times 4$: fortement formatrice du biofilm.

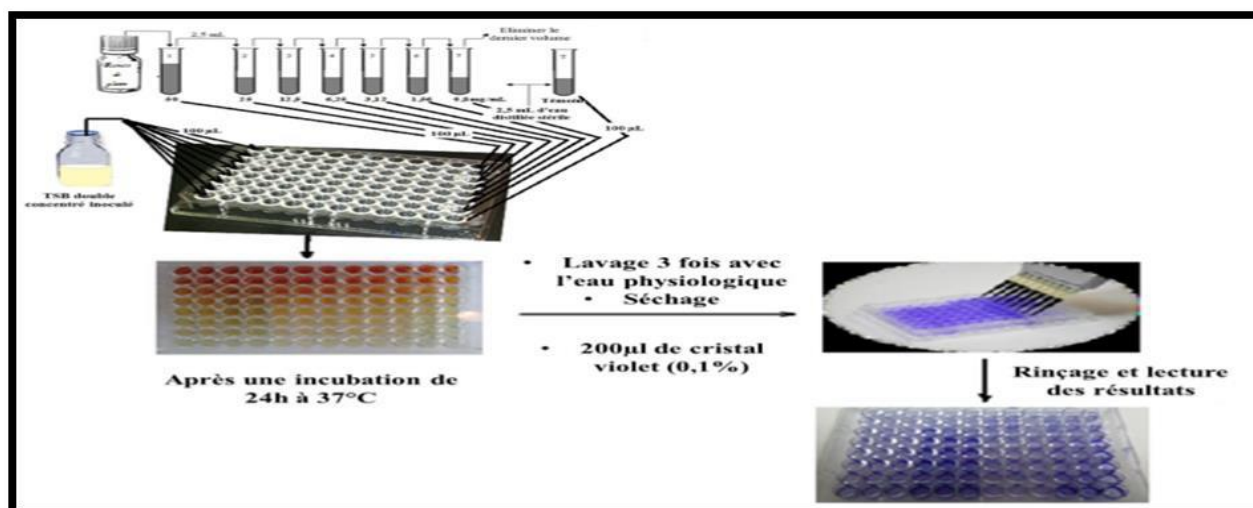


Figure 8 : Protocole de suivi de la formation du biofilm sur microplaque (Lattab, 2018)

6. Production des exopolysaccharides

6.1. Production des EPSs

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 37°C sous agitation pendant 24h (Savadojo *et al.*, 2004).

6.2. Extraction des EPSs

Selon le protocole décrit par Li *et al.*, (2014), une centrifugation des échantillons déjà incubés en milieu MRS à 37°C pendant 24h a été réalisée à 12000tr/15 min à 4°C dans le but séparer les cellules. Le surnageant contenant la matrice extracellulaire est déprotéinisé (dans le but d'une précipitation des acides aminés) par l'addition de Trypticase Cystine Agar (TCA) à une concentration finale de 4%. Une deuxième centrifugation à une vitesse de 12000tr/30 min à 4°C était réalisée pour éliminer encore les protéines restantes. Le volume du surnageant est additionné avec 3 volumes d'éthanol, mélangé, puis laisser précipiter durant une nuit à 4°C. Après incubation une troisième centrifugation est réalisée à 15000tr/15min à 4°C, les culots ainsi obtenus contiennent les exopolysaccharides partiellement purifiés, qui sont dissous dans de l'eau distillée pour une quantification.

6.3. Quantification des EPSs

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

La réaction des glucides avec de l'acide sulfurique se manifeste par une déshydratation ; les dérivés du furfural se combinent facilement avec le phénol donnant une coloration rose saumon détectable.

7. Effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé

7.1. L'effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé « mono-espèces »

Après formation de biofilm par la technique déjà décrite et une incubation à 37°C pendant 48h, les microplaques de 96 puits étaient rincées et mises en contact avec 150mL de différents désinfectants à savoir : glutaraldéhyde, l'acide peracétique, l'orthophtalaldéhyde, et le peroxyde d'hydrogène.

Les concentrations et les temps de contact appliqués des désinfectants sont ceux préconisés par les recommandations internationales de désinfection des endoscopes (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Les concentrations et les temps de contact des désinfectants

Désinfectants	Concentration du désinfectant	Temps d'application
Hexanios /Glutaraldéhyde (GLA)	2%	15 min
Acide peracétique (AP)	0,3%	5 min
Peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	2%	5 min
Orthophtalaldéhyde (OPA)	0,55%	10 min

Les puits ont été soigneusement rincés avec l'eau distillée stérile, séchés et colorés au cristal violet suivant la technique standard. Une lecture des DO à 490 nm des différentes concentrations est mesurée et comparée avec la DO témoin du biofilm non traité.

7.2. Effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé « bi-espèces »

Des biofilms bi-espèces ont été formés sur microplaque de 96 puits après une association entre deux bactéries soit (*P. aeruginosa* et *S. aureus*) à savoir (50 % Pa / 50 % Sa) ; (75 % Pa / 25 % Sa) et avec (25% Pa / 75%Sa). La microplaque était traitée par les désinfectants cités précédemment. Les puits ont été soigneusement rincés, séchés et colorés au cristal violet suivant la technique standard. La densité optique est ensuite mesurée à 490nm.

Résultats et discussion

1. Revivification et identification des souches

8 souches bactériennes soit 3 souches de *Staphylococcus aureus* (Sa1, Sa2, Sa3) et 5 souches de *Pseudomonas aeruginosa* (Pa1, Pa2, Pa3, Pa4, Pa5) d'origine hospitalière, isolées des canaux d'endoscopes, sont incluses dans cette étude. Ces souches font partie de la collection des souches bactériennes du laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire au biomédical et à l'environnement (Université Tlemcen).

Afin de poursuivre cette étude, une reconfirmation de l'identification des souches était nécessaire, pour cela une revivification de ces dernières a été réalisée sur les milieux sélectifs suivants :

- Un ensemencement sur gélose Chapman, après une incubation de 24 h à 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.

- Un ensemencement sur gélose Cétrimide, après une incubation à 37° C pendant 24 h, les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* présentaient trois morphotypes soit de grandes colonies larges et bombées, des colonies plus petites bombées à bord régulier et lisses, et des colonies muqueuses bombées avec une pigmentation jaune-vert (**Figure 9**).

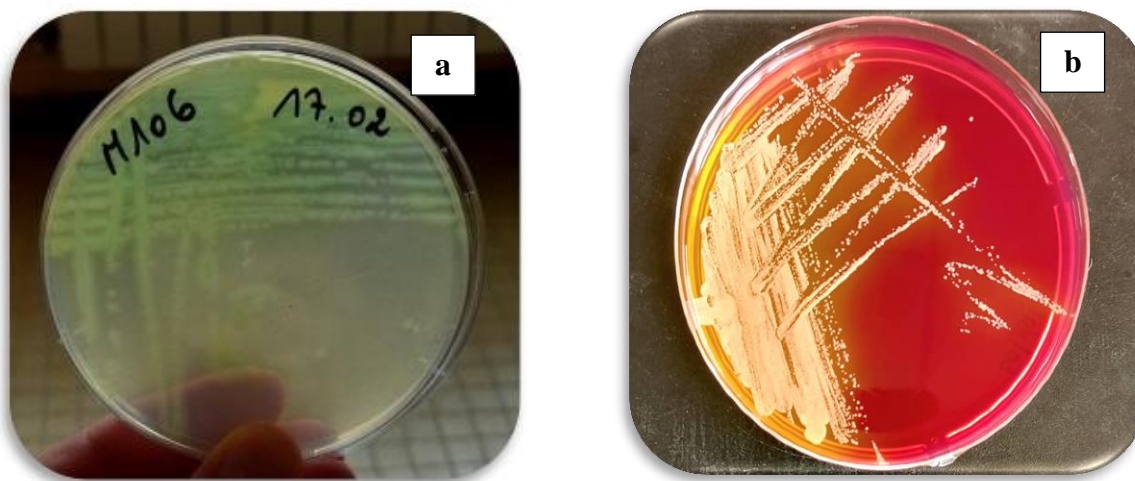


Figure 9 : Aspect des colonies sur milieux sélectifs

(a) *Pseudomonas aeruginosa*

(b) *Staphylococcus aureus*

La coloration différentielle de Gram des souches a mis en évidence des bacilles à Gram négatif colorées en rose et des cocci à Gram positif (**Figure 10**).

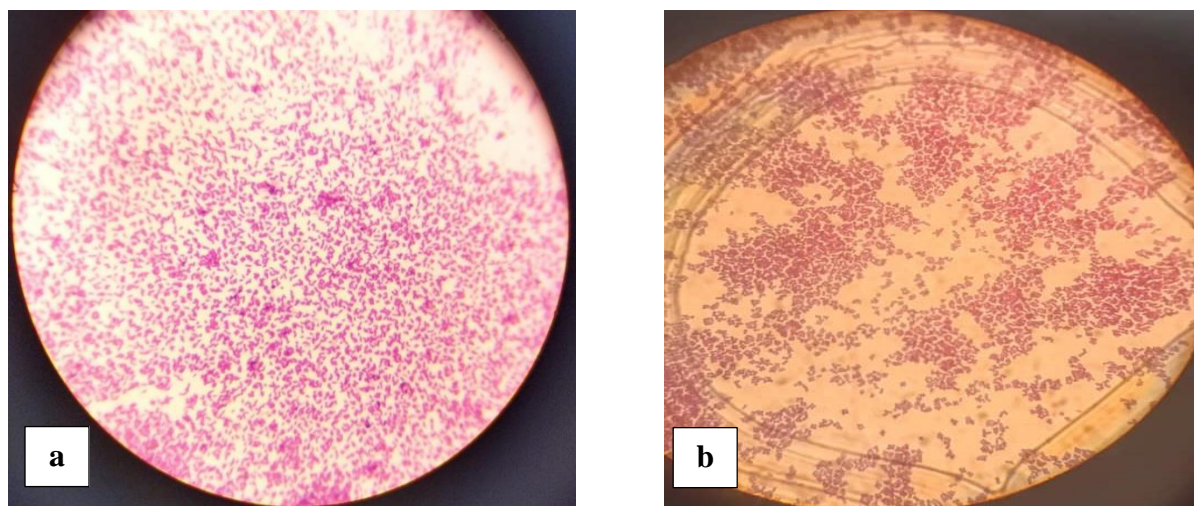


Figure 10 : Aspect microscopique des souches étudiées après coloration de Gram grossissement X100

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

La détermination des caractères biochimiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* est réalisée à l'aide des galeries API STAPH et API 20 E et respectivement (**Figure 11**).

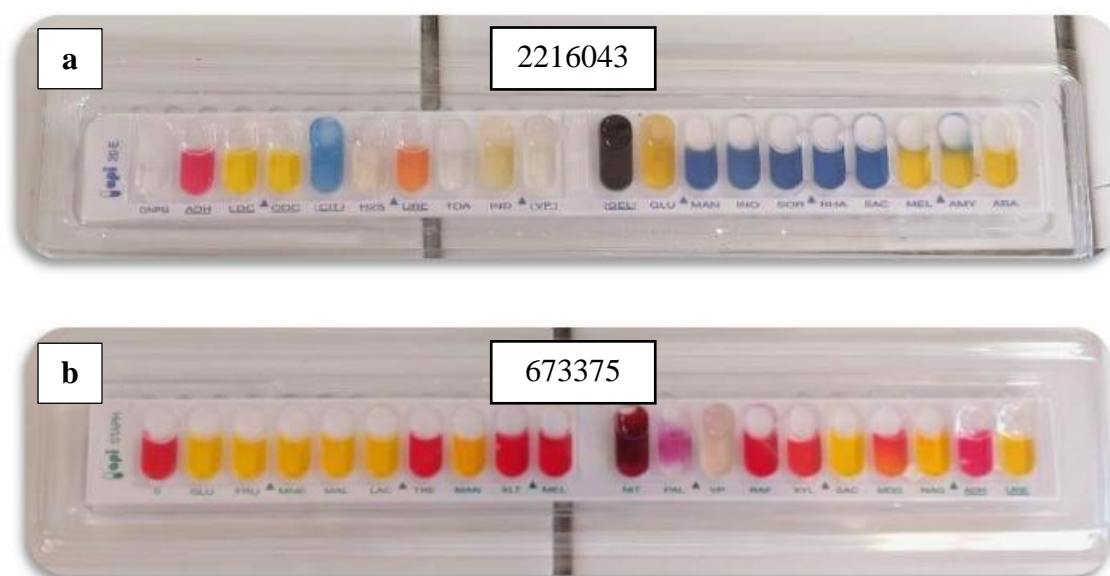


Figure 11 : Résultats de l'identification des souches par la galerie API

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

L'identification par galerie API 20E nous a permis de confirmer et caractériser 5 souches de *Pseudomonas aeruginosa* avec des profils différents.

Les différents biotypes des *Staphylococcus aureus* étaient identifiés, la souche Sa2 était caractérisée par le biotype 673375, les souches Sa1 et Sa3 sont caractérisées par le même biotype 673615.

Plusieurs études récentes sur la surveillance microbiologique des canaux d'endoscopes ont mis en évidence la présence de *Pseudomonas aeruginosa* [(Casini et al., 2023) ; (Hussein et al., 2025)]. Cette bactérie constitue le principal contaminant des endoscopes, sa présence dans les canaux d'endoscope est dû sûrement à une accumulation d'humidité résiduelle à l'intérieur des canaux entraînant une multiplication de cette bactérie [(Perumpail et al., 2019) ; (Singh et al., 2019) ; (Ofstead et al., 2024) ; (Majeed et Dhamad, 2025)].

L'étude de **Abdo** et ses collaborateurs (2024) confirme qu'une désinfection inadéquate, un séchage insuffisant et un mauvais stockage d'endoscopes favorise le développement de *Pseudomonas aeruginosa* au sein des canaux.

Les staphylocoques sont parmi les principaux contaminants des canaux d'endoscopes [(Briones-Claudett et al., 2021) ; (Hamedi et al., 2022) ; (Goyal et al., 2022) ; (Abdo et al., 2024)].

2. Evaluation de la formation de biofilm chez les souches étudiées

2.1. Technique de Rouge Congo Agar (RCA)

La détection de la capacité des souches à former des biofilms a été réalisée par la méthode RCA, une approche qualitative reposant sur l'observation des caractères phénotypiques exprimés sur gélose Rouge Congo (Hoceini et al., 2023).

Les souches productrices de slime formaient des colonies noires, à consistance cristalline et sèche, contrairement aux souches non productrices qui présentaient des colonies rouges (Titouche et al., 2024).

Les résultats du RCA des souches testées sont représentés par la **figure 12** et le **tableau 5**.

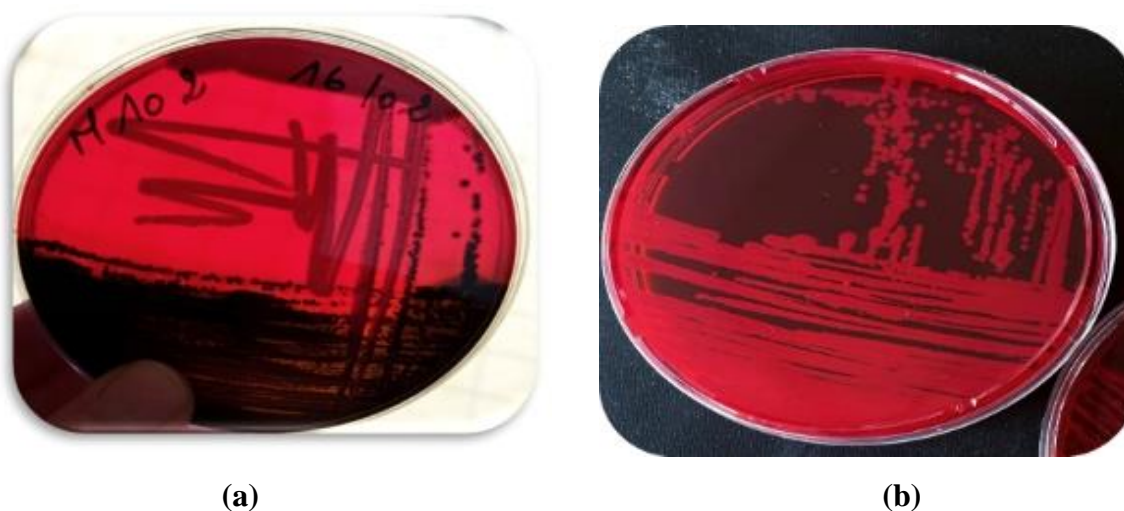


Figure 12 : Production de slime sur milieu Rouge Congo par les souches étudiées

(a) RCA positive

(b) RCA négatif

Tableau 5 : Résultats de la technique Rouge Congo Agar (RCA)

Souches/RCA	RCA +	RCA-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=5)	1	4
<i>Staphylococcus aureus</i> (n= 3)	1	2

Les résultats indiquent que seules 2 souches soient 1/5 de souches de *Pseudomonas aeruginosa* et 1/3 de *Staphylococcus aureus* sont productrices de slime.

Hassaine et Achoui en 2019, ont montré que 81% (17/21) des souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient non formatrices de slime sur Rouge Congo.

Dans une étude réalisée par **Ghellai et al** , (2014), sur 50 souches de *Staphylococcus.aureus* seules 10 (20%) étaient susceptibles de produire du slime. De même **Reddy et al., (2021)** a montré que 22 (44%) souches de *Staphylococcus aureus* produisaient un slime contre 28 souches non productrices.

Selon **Taj et al., (2012)** le dépistage par la technique du rouge congo n'est pas recommandé pour l'étude de la formation du biofilm.

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

2.2. Technique de microplaques 96 puits (TCP)

La méthode TCP (Tissue Culture Plate) constitue l'approche la plus couramment utilisée et elle est reconnue comme une méthode de référence pour l'évaluation de la formation de biofilm. Elle permet d'obtenir des données quantitatives fiables sur l'adhésion bactérienne, facilitant ainsi la comparaison entre différentes souches. Cette technique se caractérise par sa simplicité, son faible coût et son efficacité pour l'identification des facteurs influençant la formation de biofilm, ainsi que pour l'optimisation des conditions de culture associées (Terki et al., 2022).

La détermination quantitative de la formation de biofilm chez toutes nos souches a été réalisée par la technique TCP, les résultats sont montrés par figures 13, 14 et le tableau 6.

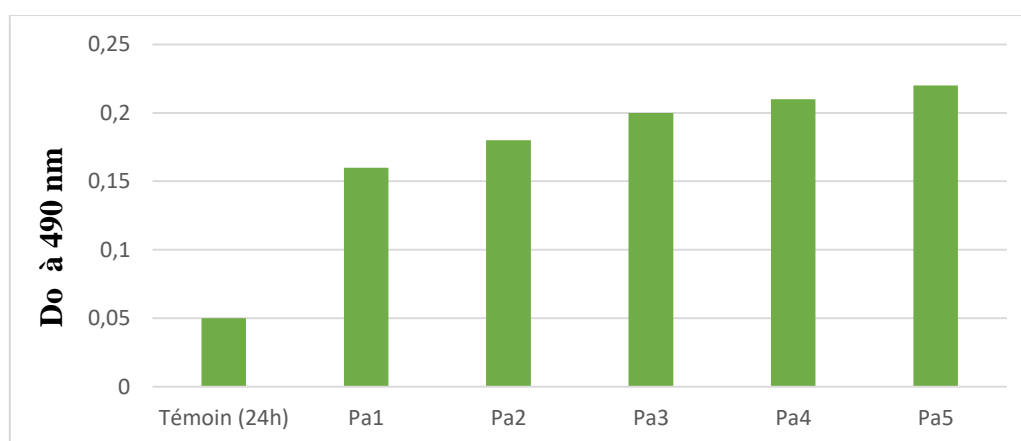


Figure 13 : Résultats de la quantification de la formation de biofilm par les souches *Pseudomonas aeruginosa* isolées de canaux d'endoscopes

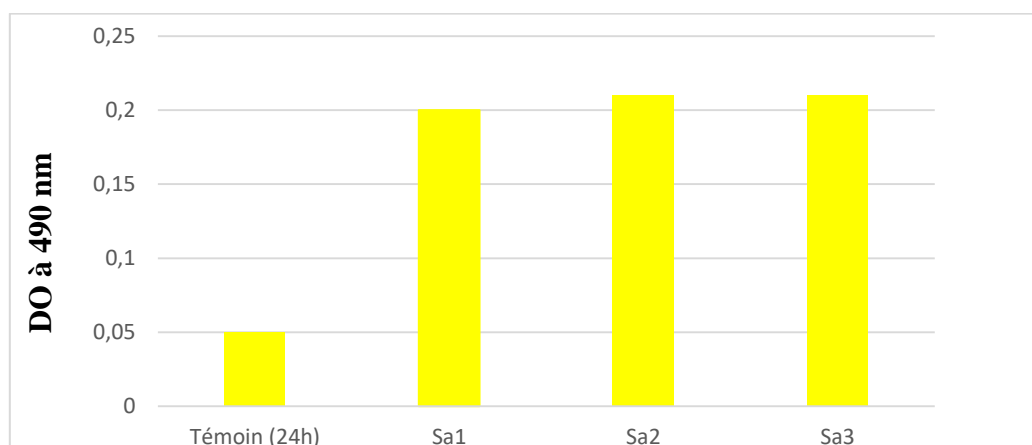


Figure 14 : Résultats de la quantification de la formation de biofilm par les souches *Staphylococcus aureus* isolées de canaux d'endoscopes

Tableau 6 : Résultats de la technique de TCP

Souches/Biofilm	Fort	Modéré	Faible
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=5)	0	3	2
<i>Staphylococcus aureus</i> (n= 3)	0	3	0

Suite aux résultats les **figures 13 et 14** et le **tableau 6**, nous remarquons que la plupart (6/8) des bactéries isolées étaient moyennement formatrices de biofilm.

Selon la **figure 13**, sur les 5 souches de *Pseudomonas aeruginosa*, 3 d'entre elles (Pa3 et Pa4 et Pa5) présentaient respectivement des DO 3 fois plus élevée que la DO du témoin et sont classées bonnes formatrices de biofilm.

De même, selon la **figure 14**, trois souches de *Staphylococcus aureus* étaient modérément formatrices de biofilm. La DO de la souche Sa3 était 3 fois plus élevé que la DO de témoin ($DOT \times 3 \leq DO$).

Plusieurs auteurs ont révélé la présence de biofilms dans les canaux d'endoscopes flexibles [(**Johani et al., 2018**) ; (**Perumpail et al., 2019**) ; (**Hamedi et al., 2022**)].

Dans son étude **Tran et al., (2022)** a confirmé que les deux agents pathogènes bactériens, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, développent fréquemment des biofilms au sein des canaux d'endoscopes.

Les endoscopes flexibles ont une complexité, avec plusieurs canaux étroits qui sont difficiles à nettoyer et à sécher, créant des conditions qui favorise le développement de biofilm. La présence de biofilm sur la surface interne des canaux de l'endoscope a été signalée dans la littérature celle-ci est probablement associée à la présence de matière organique et à l'humidité dans les canaux d'endoscopes résultant d'un traitement inadéquat de l'endoscope et insuffisance de séchage des canaux d'endoscope (**Kovaleva et al., 2017**).

Selon **Alfa et Singh (2020)**, les biofilms dans les canaux d'endoscopes peuvent entraîner l'échec du retraitement de l'endoscope et peuvent être un facteur important dans la pathogenèse des infections liées à l'endoscopie.

2.3. Production des exopolysaccharides

Les concentrations d'EPS chez les 8 souches varient entre 70 mg/L et 500 mg/L. Une forte production des EPS a été observée chez les 3 souches de *P. aeruginosa* (Pa3, Pa4, Pa5) avec 500 mg/L et une souche de *S.aureus* (Sa3) avec 435 mg/L.

Ces résultats suggèrent que ces souches toutes bonnes formatrices de biofilm, possèdent un potentiel intéressant pour la production d'EPS, ce qui permet de déclencher un stress chez ces bactéries. En revanche, les souches Sa1, Sa2, Pa1 et Pa2 ont produit des faibles valeurs d'EPS allant de 85 mg/L, 70 mg/L, 162 mg/L et 85 mg/L respectivement (**Tableau 7**) ; (**Annexe 3**).

Tableau 7 : Quantification des EPSs par les souches étudiées

Bactérie		Production d'EPS (mg/L)
<i>Staphylococcus aureus</i>	Sa1	85 mg/L
	Sa2	70 mg/L
	Sa3	435 mg/L
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Pa1	162 mg/L
	Pa2	85 mg/L
	Pa3	500 mg/L
	Pa4	500 mg/L
	Pa5	500 mg/L

Les micro-organismes représentent 2 à 15 % du matériel du biofilm alors que la matrice extracellulaire représente 50 à 90 % de la masse organique carbonée d'un biofilm. La composition des EPS est très différente d'un biofilm à l'autre. Elle dépend de la nature des micro-organismes présents dans le biofilm, de l'âge du biofilm et des différents facteurs environnementaux comme les forces hydrodynamiques, la température, la disponibilité et la nature de nutriments (**Bezoui, 2016**).

Pseudomonas aeruginosa synthétise de multiples facteurs de virulence et une couche dense d'EPS contenant jusqu'à trois exopolysaccharides différents (alginate, Pel et Psl) favorisant son adhésion (**Kurmoo et al., 2020**).

Selon **Hamedi (2022)**, la production des EPSs par les souches *Staphylococcus aureus* toutes bonnes formatrices de biofilm, était comprise entre 155 mg/L et 350 mg/L.

3. Effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé

Suite à nos résultats antérieurs, nous avons présélectionné deux souches soit une souche de *Pseudomonas aeruginosa* (Pa5) et une *Staphylococcus aureus* (Sa3), ces dernières ont la capacité non seulement à former un bon biofilm mais aussi à produire de bonnes concentrations d'EPS.

Cette partie vise à évaluer l'effet de différents désinfectants préconisés pour le retraitement des endoscopes à savoir le glutaraldéhyde, l'acide peracétique, le peroxyde d'hydrogène et l'orthophtaldéhyde ; sur l'élimination d'un biofilm jeune et mature préformé dans des plaques de micro-titration en PVC. Les concentrations des désinfectants et les temps de contact appliqués sont ceux préconisés par les recommandations internationales de désinfection des endoscopes. Les résultats sont représentés en **figure 15**.

3.1. L'effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé « mono-espèces »

L'efficacité de différents désinfectants a été évaluée sur les biofilms mono-espèces de *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* après 24 et 48 heures d'incubation.

Les résultats obtenus (**Figure 15**), montrent que le glutaraldéhyde à 2% et indépendamment des souches étudiées était non efficace ou on remarque que la DO était égal ou supérieur à celle au témoin.

L'exposition aux désinfectants à base d'aldéhyde entraîne la fixation de la matrice, et les micro-organismes au sein de cette matrice peuvent ne pas être éliminés de façon adéquate (**Axon et al., 2001**). Les micro-organismes résidant dans les biofilms sont remarquablement plus résistants aux protocoles de désinfection, y compris l'inactivation chimique, comparée aux bactéries en suspension (**Neves et al., 2016**).

Bekkari et al., (2016) ont expliqué la résistance au désinfectant par l'acquisition d'une résistance de la part des bactéries vis-à-vis l'utilisation de même produit de désinfectant avec la même concentration à chaque fois.

L'acide peracétique à 0.3% agit mieux que le GLA où on constate une diminution des DO plus spécifiquement sur les biofilms de 48h formés par *Pseudomonas aeruginosa* où la DO a diminué de presque 1/3 par rapport à celui du témoin (**Figure 15**).

Dans son étude **Kovaleva** et ses collaborateurs (**2010**) a démontré une efficacité insuffisante de désinfectant à l'acide peracétique à 1% pendant 10 min contre les biofilms de *P. aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*. Cependant **Chino et al., en 2017** montre une meilleur et une rapide activité de l'acide peracétique contre les biofilms de *S. aureus* et de *P. aeruginosa*. De plus, **Akinbobola et al., (2017)** montre que la concentration de l'acide peracétique nécessaire pour éradiquer le biofilm de *P. aeruginosa* dépend de l'âge du biofilm.

Quant aux peroxyde d'hydrogène (2%) et l'orthophtaldéhyde (0,55%) ; ceux-ci restent les meilleurs biocides présentant une meilleure action antibiofilm, On constate une diminution

des DO, plus spécifiquement sur les biofilms de 48h de *Pseudomonas aeruginosa* avec une éradication de 1/3 de biofilm préformé.

Dans son étude **Köse et al., (2017)** montre que 99% du biofilm de *Pseudomonas aeruginosa* était éradiqué après traitement avec OPA à 0,55% pendant une minute.

L'orthophtalaldéhyde (0,55%) reste le meilleur désinfectant pour le biofilm jeune et mature de *Staphylococcus aureus* avec une réduction de 1/3 du biofilm traité (**Figure 15**).

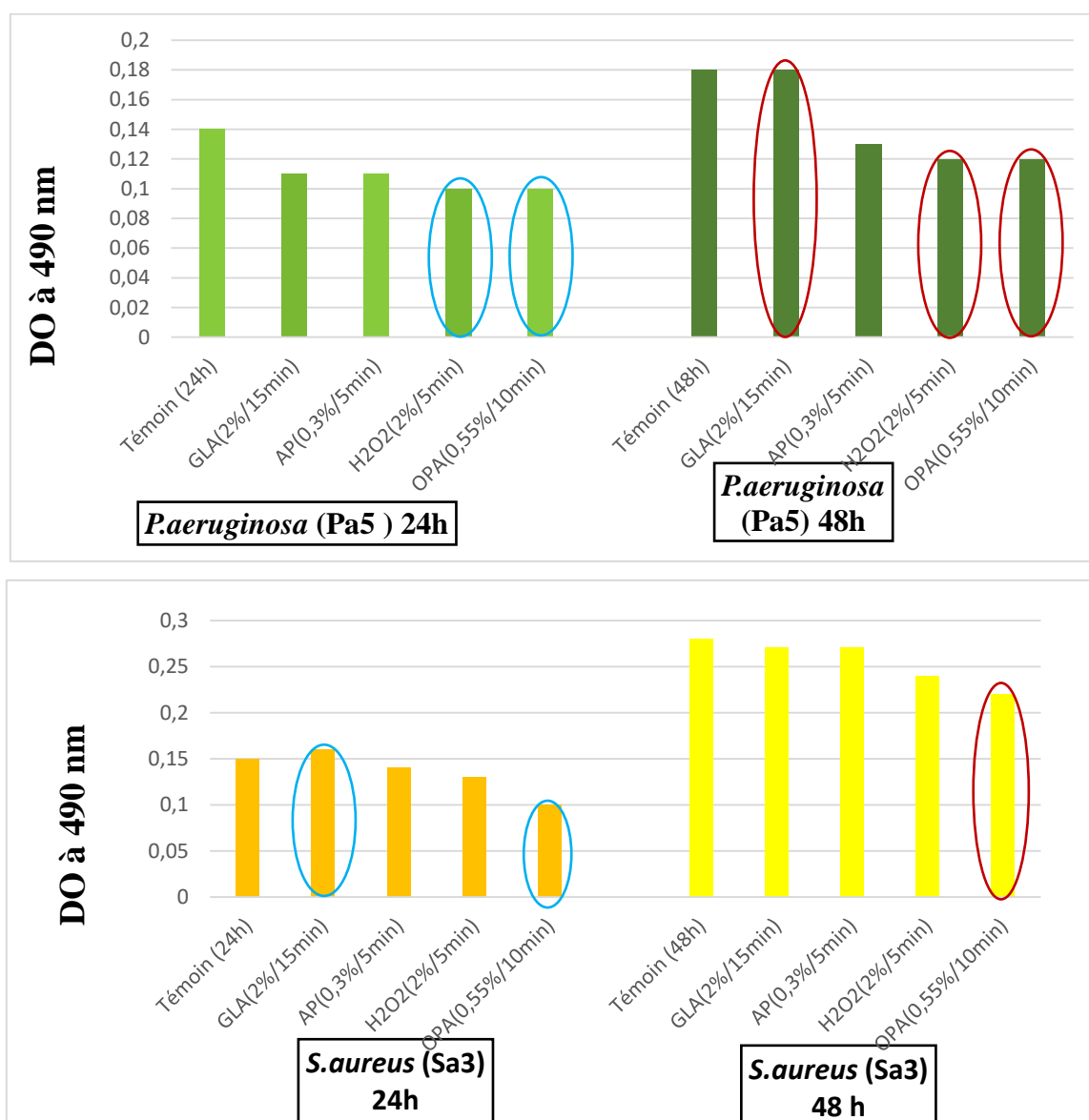


Figure 15 : Traitement des biofilms âgés de (24h et 48h) de *P. aeruginosa* et *S. aureus* par différents désinfectants

GLA: le glutaraldéhyde (2%), AP : l'acide peracétique (0,3%), H₂O₂ : le peroxyde d'hydrogène (2%), OPA : l'orthophtalaldéhyde (0,55%)

3.2. Effet de quelques désinfectants sur un biofilm préformé « bi-espèces »

Plusieurs études sur les biofilms sont réalisées en monoculture, cependant, dans les environnements naturels, les bactéries se développent dans des communautés mixtes, souvent associées à des surfaces et sont rarement trouvés sous forme de culture pure, les biofilms hétérogènes composés de plusieurs espèces de micro-organismes sont prédominantes [(Rochemonteix, 2009) ; (Franklin et al., 2015)].

P. aeruginosa et *S. aureus* sont des organismes formant des biofilms qui peuvent persister sur des dispositifs médicaux et engendrer des infections graves, l'association entre plusieurs bactéries engendre des biofilms considérables par rapport à ceux formés d'une seule bactérie (Espinasse et al., 2010).

Dans cette partie, nous avons testé l'efficacité de différents désinfectants sur les biofilms bi-espèces mature (48h) de *P. aeruginosa* et *S. aureus* isolés des canaux d'endoscopes.

L'analyse des résultats révèle que l'efficacité des désinfectants sur les biofilms mixtes varie en fonction de la proportion relative des deux espèces.

Lorsque les deux bactéries sont présentes à parts égales, le biofilm bi-espèces présente une sensibilité intermédiaire vis-à-vis les désinfectants étudiés, l'orthophtalaldéhyde (0,55%) a montré la meilleur action antibiofilm avec une éradication de 1/3 de biofilm préformé par les deux bactéries (Figure 16).

L'orthophtalaldéhyde présente des propriétés bactériostatiques que pour *S. aureus* dans les biofilms mono espèce et bi-espèces (Castro et al., 2023).

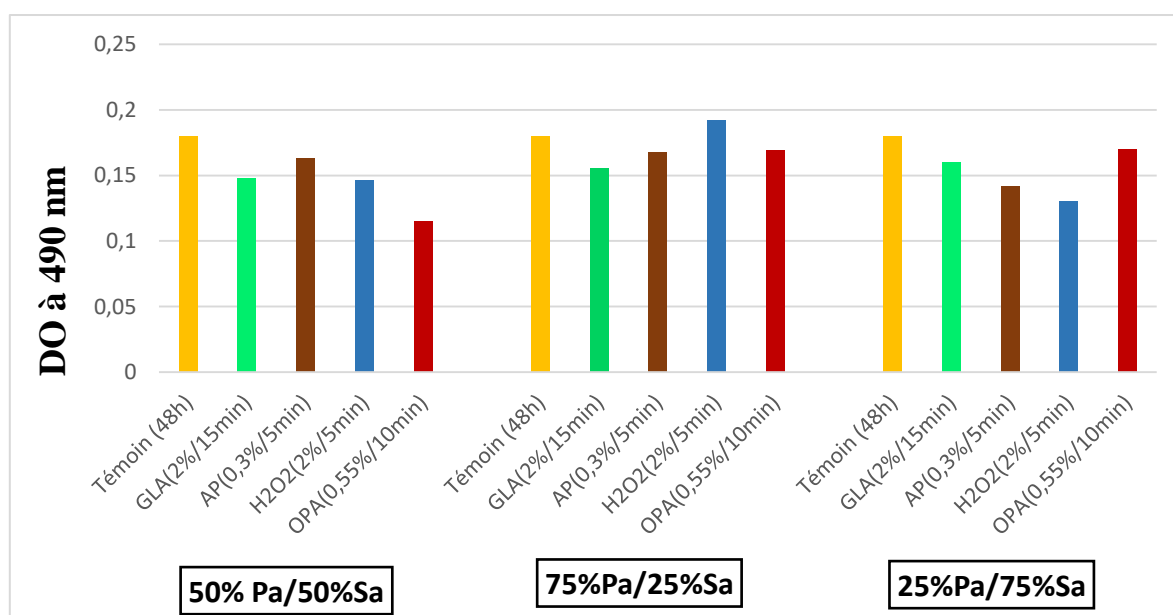


Figure 16 : Traitement des biofilms mixtes de *P. aeruginosa* et *S. aureus* par différents désinfectants

GLA : le glutaraldéhyde (2%), AP : l'acide peracétique (0,3%), H₂O₂ : le peroxyde d'hydrogène (2%), OPA : l'orthophtalaldéhyde (0,55%)

En revanche, une dominance de *P. aeruginosa* dans le biofilm mixte se traduit par une résistance prononcée aux différents désinfectants ou on remarque une très légère diminution des DO par rapport à celle du témoin. Ces observations suggèrent que *P. aeruginosa* joue un rôle protecteur au sein du biofilm bi-espèces en produisant une matrice extracellulaire dense, ce qui complique l'élimination complète du biofilm mixte (**Figure 16**).

Dans son étude **Chew et al., (2018)** a montré que *P. aeruginosa* limite la croissance de *S. aureus* en forme biofilm, de plus, les microcolonies de *P. aeruginosa* étaient plus grandes et le biovolume global était plus élevé lorsque *S. aureus* était présent.

De même, la résistance aux désinfectants est dû d'une façon directe ou indirecte à l'architecture de la paroi bactérienne et sa résistance à l'action des antimicrobiens (**Bridier et al., 2012**).

À l'inverse, une dominance de *S. aureus* dans le biofilm mixte montre une sensibilité légère vis-à-vis les désinfectants étudiés. Une légère diminution a été constatée surtout avec le GLA et l'AP. Le peroxyde d'hydrogène a montré une éradication de plus que 1/3 du biofilm préformé (**Figure 16**).

Les études de **Chino, 2017** et **Zhang, 2021**, ont révélé des résultats similaires, montrant que l'AP présentait des effets bactéricides plus rapides que ceux de l'OPA ou du GLA contre les biofilms de *S. aureus* et de *P. aeruginosa*, souvent associés aux infections liées aux endoscopies.

Dans son étude (**Lineback et al., 2018**) a montré que le peroxyde d'hydrogène était plus efficace contre les biofilms de *S. aureus* et de *P.aeruginosa*. Le H₂O₂ implique des dommages à l'ADN, aux protéines, aux lipides et aux membranes cellulaires, entraînant à terme l'inactivation microbienne et la destruction de la matrice du biofilm (**Govaert et al., 2019**).

L'efficacité variable des différents désinfectants vis-à-vis les biofilm bi-espèces souligne l'importance de prendre en compte la composition microbiologique réelle des biofilms en milieu hospitalier lors du choix des désinfectants.

Conclusion

L'endoscopie constitue une pratique médicale indispensable au diagnostic et au traitement de nombreuses pathologies. Toutefois, les endoscopes sont des dispositifs médicaux extrêmement complexes ; coûteux et ils ne peuvent être stérilisés. Ce qui exige des procédures spécifiques de nettoyage et de désinfection après chaque utilisation, le retraitement de tels dispositifs pose un défi majeur en matière de prévention des infections associées à l'endoscopie.

La présence de biofilms dans les canaux d'endoscopes constitue une barrière importante vis-à-vis l'efficacité des désinfectants. Leur persistance même après un traitement conforme aux recommandations, souligne les limites des protocoles actuels, notamment lorsque la qualité du retraitement est insuffisante.

Dans ce contexte, notre recherche nous a permis de confirmer la capacité des souches de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* isolées des canaux d'endoscopes à former des biofilms *in vitro* ; grâce à leur grande aptitude à produire des exopolysaccharides, éléments clés de la formation et la maturation du biofilm.

Nos résultats confirment que le glutaraldéhyde à 2 %, bien qu'il est largement utilisé en milieu hospitalier, est inefficace contre les biofilms (mono biofilm), l'adhésion, notamment en raison de sa capacité à fixer les débris organiques et les protéines. L'acide peracétique à 0.3% agit mieux que le GLA où on constate une légère diminution de la biomasse du biofilms de 48h formés par *Pseudomonas aeruginosa*. En revanche, l'orthophtaldéhyde à 0,55 % et le peroxyde d'hydrogène à 2% ont démontré une meilleure activité antibiofilm de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa*. Etudier les comportements biologiques des différentes souches bactériennes dans les biofilms mixtes permettent non seulement de comprendre les interactions entre les bactéries mais également de pouvoir lutter contre les infections liées aux endoscopes.

L'efficacité des désinfectants sur les biofilms mixtes varie en fonction de la proportion relative des deux espèces ; l'orthophtaldéhyde (0,55%) exerce le meilleur effet antibiofilm avec une éradication de 1/3 de biofilm préformé de deux souches étudiées.

L'usage d'un désinfectant approprié constitue une stratégie primordiale pour empêcher la colonisation microbienne au sein de la tubulure d'endoscopes, l'installation et la persistance de biofilms dans les canaux d'endoscopes et limite les risques d'infections liées à l'endoscopie. Nos résultats montrent qu'il est très difficile d'assurer une désinfection parfaite des endoscopes.

Enfin nous nous disons que d'autres études sont nécessaires pour :

- Réduire le risque de formation de biofilms dans les canaux des endoscopes pour garantir une désinfection efficace.
- Chercher les mesures correctives afin d'améliorer le retraitement des endoscopes.

Références bibliographiques

1. **Abdo, N. H., Fahmy, G. M., & Elkholy, I. M. (2024).** Green endoscopy: relation between storage time and microbiological safety level. *Journal of environmental science*, 53(9), 2459-2472. <https://dx.doi.org/10.21608/jes.2024.284266.1778>
2. **Akinbobola, A. B., Sherry, L., Mckay, W. G., Ramage, G., & Williams, C. (2017).** Tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in in-vitro biofilms to high-level peracetic acid disinfection. *Journal of hospital infection*, 97(2), 162-168. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.06.024>
3. **Alfa, M.J., Singh, H. (2020).** Impact of wet storage and other factors on biofilm formation and contamination of patient-ready endoscopes: a narrative review. *Gastrointestinal endoscopy*, 91(2), 236-247. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2019.08.043>
4. **Almatroudi, A. (2025).** Biofilm resilience: Molecular mechanisms driving antibiotic resistance in clinical contexts. *Biology*, 14(2), 165. <https://doi.org/10.3390/biology14020165>
5. **Alotaibi, G. F., & Bukhari, M. A. (2021).** Factors influencing bacterial biofilm formation and development. *Am. Journal. Biomed. Sci. Res*, 12(6), 617-626. <http://dx.doi.org/10.34297/AJBSR.2021.12.001820>
6. **Altnayak, H., Öner, S. Z. (2022).** Does the disinfectant efficacy of the 2% glutaraldehyde solution change with the aging of the solution?. *Journal of contemporary medicine*, 12(3), 410-414. <https://doi:10.16899/jcm.1034446>
7. **Antoine, R., Juliette, Z., Teo, S., Dalila, L., Amélie, B., Jacques, D., & Antoine, N. (2024).** *Pseudomonas aeruginosa* biofilm decontamination and removal by Ar/H₂O cold atmospheric plasma in endoscope-like tubing. *Journal of physics D: applied physics*, 58(7), 075202. <https://doi.10.1088/1361-6463/ad9484>
8. **Araújo, D., Silva, A. R., Fernandes, R., Serra, P., Barros, M. M., Campos, A. M., Castro, J. (2024).** Emerging approaches for mitigating biofilm-formation-associated infections in farm, wild, and companion animals. *Pathogens*, 13(4), 320. <https://doi.org/10.3390/pathogens13040320>
9. **Axon, A.T.R., Beilenhoff, U., Bramble, M. G., Ghosh, S., Kruse, A., McDonnell, G.E., Spencer, K. (2001).** Variant creutzfeldt-Jakob disease (vCJD) and gastrointestinal endoscopy. *Endoscopy*, 33(12), 1070-1080. <https://doi.org/10.1055/s-2001-18937>
10. **Beilenhoff, U. (2023).** Endoscope reprocessing: how to perform an adequate air drying?. *Endoscopy international open*, 11(04), E440-E442. <https://doi.10.1055/a-2066-8191>
11. **Bekkari, H., Touijer, H., Berrada, S., Ettaybi, M., Benchemsi, N., Maniar, S., & Lalami, A. E. O. (2016).** Evaluation de la contamination des eaux utilisées en milieu hospitalier: Effets d'antibiotiques et de désinfectant usuels sur les germes isolés (Surveillance of bacteriological quality and resistance to disinfectants and antibiotics in a provincial hospital in Morocco). *J. Mater. Environ. Sci*, 1(7), 1-8.
12. **Bellifa, S. (2014).** Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen (Doctoral dissertation, University of Tlemcen).

13. Bereanu, A. S., Vintilă, B. I., Bereanu, R., Codru, I. R., Hașegan, A., Olteanu, C., ... & Sava, M. (2024). TiO₂ nanocomposite coatings and inactivation of carbapenemase-producing *Klebsiella Pneumoniae* biofilm—opportunities and challenges. *Microorganisms*, 12(4), 684. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12040684>
14. Bezoui M. (2016). Biofilms bactériens et leur implication en pathologie humaine Th. doct : Medecine et pharmacie Université Mohammed v-Rabat .
15. Bridier, A., Sanchez-Vizueté, M.D.P., Le Coq, D., Aymerich, S., Meylheuc, T., Maillard, J.Y., Thomas, V., Dubois-Brissonnet, F., Briandet, R. (2012). Biofilms of *Bacillus subtilis* hospital isolate protect *Staphylococcus aureus* from biocide action. *Plos one*, 7(9), e44506. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044506>
16. Briones-Claudett, K. H., Briones-Claudett, M. H., Armijo, E. A. M., Alvarez, M. E. M., Zamora, K. H. B., Marquez, D. C. B., & Grunauer, M. (2021). Cavitory pneumonia due to methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in a non immunocompromised patient after an endoscopy: a case report. *The American journal of case reports*, 22, e930136-1. <https://doi.org/10.12659/AJCR.930136>
17. Casini, B., Tuvo, B., Marciano, E., Del Magro, G., Gemignani, G., Luchini, G., Privitera, G. (2021). Improving the reprocessing quality of flexible thermolabile endoscopes: how to learn from mistakes. *International journal of environmental research and public health*, 18(5), 2482. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052482>
18. Casini, B., Spagnolo, A. M., Sartini, M., Tuvo, B., Scarpaci, M., Barchitta, M., amp; Vincenti, S. (2023). Microbiological surveillance post-reprocessing of flexible endoscopes used in digestive endoscopy: a national study. *Journal of hospital infection*, 131, 139-147. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2022.09.024>
19. Castro, V.dP., Thomaz, D. Y., Vieira, K.dL., Lopes, L. G., Rossi, F., Del Negro, G. M. B., Benard, G., Pires, R. H. (2023). In vitro activity of sanitizers against mono- and polymicrobial biofilms of *C. parapsilosis* and *S. aureus*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 67(10), e0053423. <https://doi.org/10.1128/aac.00534-23>
20. Chang, W. K., Peng, C. L., Chen, Y. W., Sun, C. K., Chen, C. C., Liu, T. C., Chiu, C. T. (2024). Recommendations and guidelines for endoscope reprocessing: current position statement of digestive endoscopic society of Taiwan. *Journal of microbiology, immunology and infection*, 57(2), 211-224. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2023.12.001>
21. Chapuis, C. (2006). Prévention du risque infectieux en endoscopie digestive. *Hépatogastro & oncologie digestive*, 13(4), 267-274.
22. Cheung, D. Y., Jang, B. I., Kim, S. W., Kim, J. H., Kim, H. K., Shin, J. E., Im, H. H. (2020). Multidisciplinary and multisociety practice guideline on reprocessing flexible gastrointestinal endoscopes and endoscopic accessories. *Clinical endoscopy*, 53(3), 276-285. <https://doi.org/10.5946/ce.2020.106>
23. Chew, S. C., Yam, J. K. H., Matysik, A., Seng, Z. J., Klebensberger, J., Givskov, M., ... & Kjelleberg, S. (2018). Matrix polysaccharides and SiaD diguanylate cyclase alter community structure and competitiveness of *Pseudomonas aeruginosa* during dual-species

23. Chew, S. C., Yam, J. K. H., Matysik, A., Seng, Z. J., Klebensberger, J., Givskov, M., ... & Kjelleberg, S. (2018). Matrix polysaccharides and SiaD diguanylate cyclase alter community structure and competitiveness of *Pseudomonas aeruginosa* during dual-species biofilm development with *Staphylococcus aureus*. *MBio*, 9(6), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/mbio.00585-18>
24. Chino, T., Nukui, Y., Morishita, Y., Moriya, K. (2017). Morphological bactericidal fast-acting effects of peracetic acid, a high-level disinfectant, against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in tubing. *Antimicrobial resistance & infection control*, 6, 1-7. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0281-1>
25. Christensen, G.D., Simpson, W.A., Younger, J.J., Baddour, L.M., Barrett, F.F., Melton, D.M., Beachey, E.H. (1985). Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of clinical microbiology*. 22(6), 996-1006. <https://doi.org/10.1128/jcm.22.6.996-1006.1985>
26. Dantas, R. C., Ferreira, M. L., Gontijo-Filho, P. P., & Ribas, R. M. (2014). *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: independent risk factors for mortality and impact of resistance on outcome. *Journal of medical microbiology*, 63(12), 1679-1687. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.073262-0>
27. Elmeskini, K. (2011). Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Th. doct : Medecine et pharmacie Université Mohammed v-Rabat .
28. Epelle, E. I., Amaeze, N., Mackay, W. G., Yaseen, M. (2024). Dry biofilms on polystyrene surfaces: the role of oxidative treatments for their mitigation. *Biofouling*, 40(10), 772-784. <https://doi.org/10.1080/08927014.2024.2411389>
29. Ergenc, Z., Ergenç, H., Bostancı, F., Ekiz, F., Baycelebi, G., Gökosmanoğlu, F. (2022). Bacterial contamination of propofol vials: the second report from Turkey. *Medical science and discovery*, 9(11), 639-642. <https://doi.org/10.36472/msd.v9i11.835>
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. <https://doi.org/10.3390/bacteria3030008>
31. Espinasse, F., Page, B., & Cottard-Boulle, B. (2010). Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires*, 2010(426), 51-63. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(10\)70692-4](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(10)70692-4)
32. Fournier, C., Haeblerlé, O. (2023). *Imageries optiques non conventionnelles pour la biologie*. France . ISTE Editions. ISBN : 9781789481327
33. Franklin, M. J., Chang, C., Akiyama, T., & Bothner, B. (2015). New technologies for studying biofilms. *Microbial biofilms*, 1-32. <https://doi.org/10.1128/9781555817466.ch1>
34. Garcia, N. B., Oliveira, A. C. D. (2022). Storage of gastrointestinal endoscopes: when is the safe time for re-use?. *Revista brasileira de enfermagem*, 75(3), e20210216. <https://doi.org/10.1590/0034-7167-2021-0216>

35. Gervaise, A. (2013). Désinfection, stérilisation et maintenance du matériel. In hystérocopie et fertioscopie (pp. 51-59). Elsevier masson.
36. Ghellai, L., Hassaine, H., Klouche, N., Khadir, A., Aissaoui, N., Nas, F., & Zingg, W. (2014). Detection of biofilm formation of a collection of fifty strains of *Staphylococcus aureus* isolated in Algeria at the university hospital of Tlemcen. *Journal of bacteriology research*, 6(1), 1-6. <https://doi.org/10.5897/JBR2013.0122>
37. Govaert, M., Smet, C., Verheyen, D., Walsh, J. L., amp; Van Impe, J. F. M. (2019). Combined effect of cold atmospheric plasma and hydrogen peroxide treatment on mature *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* biofilms. *Frontiers in microbiology*, 10, 2674. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02674>
38. Goyal, H., Larsen, S., Perisetti, A., Larsen, N. B., Ockert, L. K., Adamsen, S., & Thosani, N. (2022). Gastrointestinal endoscope contamination rates—elevators are not only to blame: a systematic review and meta-analysis. *Endoscopy international open*, 10(06), E840-E853. <https://doi.org/10.1055/a-1795-8883>
39. HA, E. M., & El-Hawy, L. L. (2019). Nurses' performance as regarding infection control procedures and endoscopies reprocessing techniques in git endoscopy unit. *Egyptian journal of occupational medicine*, 43(1), 57-73. <https://dx.doi.org/10.21608/ejom.2019.25113>
40. Haas, B., James, S., Parker, A. E., Gagnon, M. C., Goulet, N., Labrie, P. (2023). Comparison of quantification methods for an endoscope lumen biofilm model. *Biofilm*, 6, 100163. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2023.100163>
41. Halmans, Y., Wellenstein, D., Romijn, M., Cremers, S., Smit, J. J., Hopman, J., van den Broek, G. (2023). UV-C light: the future of disinfection of flexible endoscopes without a working channel?. *Authorea preprints*. <https://doi.org/10.22541/au.168597906.69402208/v1>
42. 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.
43. Hamedi-Gaouar, S., Hassaine, H., Didi, W., Aissaoui, H. (2024) Impact of sodium hypochlorite and acetic acid on eradication of biofilms formed by *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Klebsiella pneumonia*. *African journal of biological sciences*, 2663-2187. <https://doi.org/10.48047/AFJBS.6.16.2024.2912-2927>
44. Hassan, A., Usman, J., Kaleem, F., Omair, M., Khalid, A., & Iqbal, M. (2011). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Brazilian journal of infectious diseases*, 15, 305-311. <https://doi.org/10.1590/S1413-86702011000400002>
45. Hassaine H; Achoui M, (2019). Etude de quelques paramètres influençant la formation de biofilm in vitro de souches bactériennes. Mémoire Master. Université Tlemcen. Algérie.
46. Heer, V. K., Khuroo, S., Wani, A. A., Nagyal, S., & Jad, B. (2022). Outcomes of surgical management of post laparoscopy atypical myco-bacterial port site infections: is early surgery a better alternative?. *Surgery in practice and science*, 8, 100054. <https://doi.org/10.1016/j.sipas.2021.100054>

47. Hervé, R. C., Kong, M. G., Bhatt, S., Chen, H. L., Comoy, E. E., Deslys, J. P., Keevil, C. W. (2023). Evaluation of cold atmospheric plasma for the decontamination of flexible endoscopes. *Journal of hospital infection*, 136, 100-109. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2023.03.013>
48. Hoceini, A., Benbaha, K., Adoul, H., Bensaber, A., Tahraoui, H., Chelghoum, H., Zhang, J. (2023). Evaluation of biofilm forming potential and antimicrobial resistance profile of *S. aureus* and *P. aeruginosa* isolated from peripheral venous catheters and urinary catheters in Algeria, in vitro study. *Advanced research in life sciences*, 7(1), 83-92. <https://doi.10.2478/arls-2023-0010>
49. Hoffman, D., Cool, C. (2024). Costs involved in compliance with new endoscope reprocessing guidelines. *Clinical endoscopy*, 57 (4), 534-541. <https://doi.org/10.5946/ce.2023.164>
50. Hussein, N., Ragab, M., Fahmy, G., & El-Kholy, I. (2025). Best practice in microbiological surveillance of endoscopes: evaluation the efficacy of different sampling strategies for reprocessed endoscopes. *Microbes and infectious diseases*, 6(1), 151-158. <https://doi.org/10.21608/mid.2024.318103.2192>
51. Jandl, B., Dighe, S., Baumgartner, M., Makristathis, A., Gasche, C., & Muttenthaler, M. (2024). Gastrointestinal biofilms—endoscopic detection, disease relevance and therapeutic strategies. *Gastroenterology*. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2024.04.032>
52. Johani, K., Hu, H., Santos, L., Schiller, S., Deva, A.K., Whiteley, G., Alma-troudi, A., Vickery, K. (2018). Determination of bacterial species pre-sent in biofilm contaminating the channels of clinical endoscopes. *Infection disease and health*, 23(4), 189-196. <https://doi.org/10.1016/j.idh.2018.06.003>
53. Kara Terki, I., Hassaine, H., Oufriid, S., Bellifa, S., M'hamedi, I., Lachachi, M., Timinouni, M. (2013). Detection of ICAA and ICA D genes and biofilm formation in *Staphylococcus spp.* isolated from urinary catheters at the University Hospital of Tlemcen (Algeria). *African journal of microbiology research*, 7(47), 5350-5357. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.5873>
54. Keim, K. C., & Horswill, A. R. (2023). *Staphylococcus aureus*. *Trends in microbiology*, 31(12), 1300-1301.
55. Khandpur, R.S. Accelerometer (2020). *In Compendium of Biomedical Instrumentation*; Wiley: Hoboken, NJ, USA, pp. 1–8. ISBN 9781119288121.
56. Khanicheh, A., & Shergill, A. K. (2019). Endoscope design for the future. *Techniques in gastrointestinal endoscopy*, 21(3), 167-173. <https://doi.org/10.1016/j.tgie.2019.05.003>
57. Kim, S. J., Chang, J., Rimal, B., Yang, H., & Schaefer, J. (2018). Surface proteins and the formation of biofilms by *Staphylococcus aureus*. *Biochimica et biophysica acta. Biomembranes*, 1860(3), 749–756. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.12.003>
58. Köse, H., & Yapar, N. (2017). The comparison of various disinfectants? efficacy on *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilm layers. *Turkish journal of medical sciences*, 47(4), 1287-1294. <https://doi.org/10.3906/sag-1605-88>

59. Kovaleva, J., Degener, J.E., Van der Mei, H.C. (2010). Mimicking disinfection and drying of biofilms in contaminated endoscopes. *Journal of Hospital Infection*, 76(4), 345-350. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2010.07.008>
60. Kovaleva, J., Peters, F. T., van der Mei, H. C., & Degener, J. E. (2013). Transmission of infection by flexible gastrointestinal endoscopy and bronchoscopy. *Clinical microbiology reviews*, 26(2), 231-254. <https://doi.org/10.1128/cmr.00085-12>
61. Kovaleva, J. (2017). Endoscope drying and its pitfalls. *Journal of hospital infection*, 97(4), 319-328. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2017.07.012>
62. 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. <https://doi.org/10.1039/c9bm00875f>
63. Lattab, A. (2018). Effet des composés naturels sur l'adhérence et la formation de biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse Doctorat, Université de Mostaganem, Algérie.
64. Leeb-Zatorska, B., Van den Nest, M., Ebner, J., Moser, D., Spettel, K., Bovier-Azula, L., & Presterl, E. (2024). Tolerance of *Pseudomonas oleovorans* biofilms to disinfectants commonly used in endoscope reprocessing?. *Biofilm*, 8, 100221. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2024.100221>
65. Li, S., Huang, R., Shah, N.P., Tao, X., Xiong, Y., Wei, H. (2014). Antioxidant and antibacterial activities of exopolysaccharides from *Bifidobacterium bifidum* WBIN03 and *Lactobacillus plantarum* R315. *Journal of dairy science*, 97(12), 7334-7343. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-7912>
66. Lineback, C. B., Nkemngong, C. A., Wu, S. T., Li, X., Teska, P. J., & Oliver, H. F. (2018). Hydrogen peroxide and sodium hypochlorite disinfectants are more effective against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* biofilms than quaternary ammonium compounds. *Antimicrobial resistance & infection control*, 7, 1-7. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0447-5>
67. Liu, Y., Tian, J., Hu, R., Yang, B., Liu, S., Yin, L., & Zheng, W. (2022). Improved feature point pair purification algorithm based on sift during endoscope image stitching. *Frontiers in neurorobotics*, 16, 840594. <https://doi.org/10.3389/fnbot.2022.840594>
68. Lu, L., Zhao, Y., Li, M., Wang, X., Zhu, J., Liao, L., & Wang, J. (2024). Contemporary strategies and approaches for characterizing composition and enhancing biofilm penetration targeting bacterial extracellular polymeric substances. *Journal of pharmaceutical analysis*, 14(4), 100906. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2023.11.013>
69. Madureira, R. A. D. S., & Oliveira, A. C. D. (2022). Cleaning of in-hospital flexible endoscopes: limitations and challenges. *Revista latino-americana de enfermagem*, 30, e3684. <https://doi.org/10.1590/1518-8345.5969.3684>
70. Majeed, Z. H., & Dhamad, A. E. (2025). Sanger sequencing reveals *Pseudomonas aeruginosa* as the most common cross-contamination of gastrointestinal endoscopy. <https://doi.org/10.31185/wjps.608>

71. Montanari, E., Bernardo, G., Le Noci, V., Anselmi, M., Pupa, S. M., Tagliabue, E., & Sfondrini, L. (2025). Biofilm formation by the host microbiota: a protective shield against immunity and its implication in cancer. *Molecular cancer*, 24(1), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12943-025-02348-0>
72. Mozzi F., Torino, M.I, de Valdez, F.G. (2001). Identification of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria, In Food microbiology protocols Humana Press, 14, 183-190. <https://doi.org/10.1385/1-59259-029-2:183>
73. Muniyasamy, R., & Manjubala, I. (2024). Synergistic combination of baicalein and rifampicin against *Staphylococcus aureus* biofilms. *Frontiers in microbiology*, 15, 1458267. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1458267>
74. Nasr, S.A., AbuShady, H.M., Hussein, H.S. (2012). Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of *Staphylococci*. *Egyptian journal of medical human genetics*, 13(3), 269-274. <https://doi.org/10.1016/j.ejmhg.2012.04.007>
75. Neves, M. S., da Silva, M. G., Ventura, G. M., Côrtes, P. B., Duarte, R. S., & de Souza, H. S. (2016). Effectiveness of current disinfection procedures against biofilm on contaminated GI endoscopes. *Gastrointestinal endoscopy*, 83(5), 944-953. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2015.09.016>
76. Newstead, L. L., Varjonen, K., Nuttall, T., & Paterson, G. K. (2020). Staphylococcal-produced bacteriocins and antimicrobial peptides: their potential as alternative treatments for *Staphylococcus aureus* infections. *Antibiotics*, 9(2), 40. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020040>
77. Northage, N., Shvalya, V., Modic, M., Juergens, T., Eschborn, S., Horsburgh, M. J., & Walsh, J. L. (2024). Evaluation of plasma activated liquids for the elimination of mixed species biofilms within endoscopic working channels. *Scientific reports*, 14(1), 28593. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-79276-4>
78. Ofstead, C. L., Hopkins, K. M., Preston, A. L., James, C. Y., Holdsworth, J. E., Smart, A. G., Love, K. L. (2024). Fluid retention in endoscopes: a real-world study on drying effectiveness. *American journal of infection control*, 52(6), 635-643. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2024.02.015>
79. Olaimat, A. N., Ababneh, A. M., Al-Holy, M., Al-Nabulsi, A., Osaili, T., Abughoush, M., Holley, R. A. (2024). A review of bacterial biofilm components and formation, detection methods, and their prevention and control on food contact surfaces. *Microbiology research*, 15(4), 1973-1992. <https://doi.org/10.3390/microbiolres15040132>
80. Omwenga, E. O., & Awuor, S. O. (2024). The bacterial biofilms: formation, impacts, and possible management targets in the healthcare system. *Canadian journal of infectious diseases and medical microbiology*, 2024(1), 1542576. <https://doi.org/10.1155/cjid/1542576>
81. O'Toole, G., Kaplan, H.B., Kolter, R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annual review of microbiology*, 54 (1), 49-79. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.49>

- 82. Pal, M., Gutama, K. P., Koliopoulos, T. (2021).** *Staphylococcus aureus*, an important pathogen of public health and economic importance: a comprehensive review. *Journal of emerging environmental technologies and health protection*, 4(2), 17-32. <https://www.telegeco.gr/JEETHP4I2A1.pdf>
- 83. Park, K., Kim, M. N., & Sung, H. (2023).** Evaluation of the efficacy of three medical device detergents on bacteria and yeast derived biofilm: a comparative study. *Annals of clinical microbiology*, 26(4), 117-124 <https://doi.org/10.5145/ACM.2023.26.4.117>
- 84. Perumpail, R.B., Marya, N.B., McGinty, B.L., Muthusam, V.R. (2019).** Endoscope reprocessing: comparison of drying effectiveness and microbial levels with an automated drying and storage cabinet with forced filtered air and a standard storage cabinet. *American journal of infection control*, 47(9), 1083-1089. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2019.02.016>
- 85. Pivard, M. (2022).** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* associés aux pneumonies communautaires sévères: focus sur l'hémolysine-gamma (Doctoral dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I). <https://theses.hal.science/tel-04105065v1>
- 86. Primo, M. G. B., Tipple, A. F. V., de Melo Costa, D., Guadagnin, S. V. T., Azevedo, A. S., de Oliveira Leão, L. S. N., Vickery, K. (2022).** Biofilm accumulation in new flexible gastroscopy channels in clinical use. *Infection control & hospital epidemiology*, 43(2), 174-180. <https://doi.org/10.1017/ice.2021.99>
- 87. Raffa, R. B., Pergolizzi, J. V., Taylor, R., Choudhuri, S., & Rodenbeck, R. (2018).** Persistence of healthcare-associated (nosocomial) infections due to inadequate hand hygiene: part 1- biological and treatment factors. *Pharmacology & pharmacy*, 9(08), 293. <https://doi.org/10.4236/pp.2018.98023>
- 88. Rather, M. A., Gupta, K., & Mandal, M. (2021).** Microbial biofilm: formation, architecture, antibiotic resistance, and control strategies. *Brazilian journal of microbiology*, 1-18. <https://doi.org/10.1007/s42770-021-00624-x>
- 89. Reddy, P. S. (2021).** Biofilm detection and clinical significance of coagulase negative *Staphylococci* isolates in a tertiary care centre. *IOSR Journal of dental and medical sciences*, 20, 58-65. <https://doi.org/10.9790/0853-2002025865>
- 90. Rochemonteix C. A. (2009).** Les biofilms et la peau, Th. doct : vétérinaire : Université Paris-Est Créteil.
- 91. Romito, K., Bradley Jr, D. F., Mitchell, C. V., Atwood, B., Eberhardt, G. L., Smith, J. D., Belew, C. (2024).** Best practices for flexible endoscope high-level disinfection--an integrative review. *Canadian journal of infection control/revue canadienne de prévention des infections*, 39(1). <https://doi.org/10.36584/suffix>
- 92. Sathe, N., Beech, P., Croft, L., Suphioglu, C., Kapat, A., & Athan, E. (2023).** *Pseudomonas aeruginosa*: infections and novel approaches to treatment “knowing the enemy” the threat of *Pseudomonas aeruginosa* and exploring novel approaches to treatment. *Infectious medicine*, 2(3), 178-194. <https://doi.org/10.1016/j.imj.2023.05.003>
- 93. Savadogo, A., Ouattara, C.A., Savadogo, P.W., Barro, N., Ouattara, A.S., Traoré, A.S. (2004).** Identification of exopolysaccharides-producing lactic acid bacteria from Burkina

Faso fermented milk samples. *African journal of biotechnology*, 3(3), 189-194.

<https://doi.org/10.5897/AJB2004.000-2034>

94. Sevin, T., Gouot, A., Assoukpa, J., Kassidi, N., & Lecointe, D. (2019). Analyse microbiologique des solutions de contrôle d'endoscope : apport de la démarche d'accréditation dans la mise en application de la réglementation. In *Annales de biologie clinique* (Vol. 77, No. 5, pp. 563-576). JLE editions. <https://doi.10.1684/abc.2019.1487>

95. Shaghayegh, G., Cooksley, C., Ramezanpour, M., Wormald, P. J., Psaltis, A. J., & Vreugde, S. (2022). Chronic rhinosinusitis, *S. aureus* biofilm and secreted products, inflammatory responses, and disease severity. *Biomedicines*, 10(6), 1362. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10061362>

96. Shen, R., Wu, Y., Lv, J., Liu, Q., Yao, W., Chen, S., & Zhang, Y. (2025). A prospective, quasi-experimental study on the efficacy of a novel double-headed endoscope cleaning brush for cleaning flexible endoscopes. *BMC gastroenterology*, 25(1), 90. <https://doi.org/10.1186/s12876-025-03680-x>

97. Singh, H., Duerksen, D.R., Schultz, G., Reidy, C., DeGagne, P., Olson, N., Nugent, Z., Alfa, M. J. (2019). Evaluation of an overnight nonculture test for detection of viable Gram-negative bacteria in endoscope channels. *Endoscopy international open*, 7(2), E268-273. <https://doi.org/10.1055/a-0808-4342>

98. S. Sivakalai, V. Asha Ranjani , Ram Kumar Choudhary , Ajit Kumar Yadav , Kinjal P. Solanki. (2023). *Textbook of pharmaceutical microbiology* .Delhi, India. Shashwat publication . ISBN 8119517873, 9788119517879.

99. Speer, T., Alfa, M., Jones, D., Vickery, K., Griffiths, H., Sáenz, R., & LeMair, A. (2023). WGO guideline—endoscope disinfection update. *Journal of clinical gastroenterology*, 57(1), 1-9. <https://doi.10.1097/MCG.0000000000001759>

100. Taj, Y., Essa, F., Aziz, F., & Kazmi, S. U. (2012). Study on biofilm-forming properties of clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *The journal of infection in developing countries*, 6(05), 403-409.

101. Tan, G. S. E., Chia, G. J. M., Thevasagayam, N. M., Loy, S. Q. D., Prakki, S. R. S., Lim, Z. Q., & Ang, B. S. P. (2024). Whole-genome sequencing establishes persistence of biofilm-associated *Pseudomonas aeruginosa* detected from microbiological surveillance of gastrointestinal endoscopes. *Journal of hospital infection*, 152, 73-80. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2024.07.007>

102. Terki, I. K., Hassaine, H., Terki, A. K., & Bellifa, S. (2022). Effet de certains désinfectants et antibiotiques sur le biofilm a *staphylococcus aureus* isolées de dispositifs médicaux au chu de Sidi Bel Abbes. SARAHMED editions, 15. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v21i4.6>

103. Titouche, Y., Akkou, M., Djaoui, Y., Chergui, A., Mechoub, D., Bentayeb, L., & Hennekinne, J. A. (2024). Investigation of biofilm formation ability and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from food products. *Foodborne pathogens and disease*. <https://doi.org/10.1089/fpd.2024.0121>

104. Tran, V. N., Dasagrandhi, C., Truong, V. G., Kim, Y. M., & Kang, H. W. (2018). Antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* biofilm under combined exposure of glutaraldehyde, near-infrared light, and 405-nm laser. *PloS one*, 13(8), e0202821. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0202821>
105. Tuon, F. F., Dantas, L. R., Suss, P. H., & Tasca Ribeiro, V. S. (2022). Pathogenesis of the *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: a review. *Pathogens*, 11(3), 300. <https://doi.org/10.3390/pathogens11030300>
106. Ubaradka, R. S., Gupta, N., Bidkar, P. U., Tripathy, D. K., & Gupta, A. (Eds.). (2023). *The airway manual: practical approach to airway management*. Springer.
107. Van der Ploeg, K., Klaassen, C. H., Vos, M. C., Severin, J. A., Mason-Slingerland, B. C., & Bruno, M. J. (2024). A search strategy for detecting duodenoscope-associated infections: a retrospective observational study. *Journal of hospital infection*, 147, 56-62. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2024.02.015>
108. Vani, S., Vadakkan, K., & Mani, B. (2023). A narrative review on bacterial biofilm: its formation, clinical aspects and inhibition strategies. *Future journal of pharmaceutical sciences*, 9(1), 50. <https://doi.org/10.1186/s43094-023-00499-9>
109. Wang, Y. F., Wu, Y., Liu, X. W., Li, J. G., Zhan, Y. Q., Liu, B., & Lu, Z. X. (2023). Effect of a disposable endoscope precleaning kit in the cleaning procedure of gastrointestinal endoscope: a multi-center observational study. *World journal of gastrointestinal endoscopy*, 15(12), 705. <https://doi.org/10.4253/wjge.v15.i12.705>
110. Westerway, S. C., Basseal, J. M., Abramowicz, J., Moran, C., & WFUMB Safety Committee. (2024). Recommendations for the cleaning of endocavity ultrasound transducers between patients. *Ultrasound in medicine & biology*. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2024.02.011>
111. Wood, S. J., Kuzel, T. M., & Shafikhani, S. H. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*: infections, animal modeling, and therapeutics. *Cells*, 12(1), 199. <https://doi.org/10.3390/cells12010199>
112. 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>

Annexes

Annexe1 : Préparation des géloses/bouillons**Brain heart infusion broth (pH 7,4 ± 0,2)**

- Extrait cœur-cerveille	(17,5 g /L)
- Peptone pancréatique de gélatine	(10 g/L)
- Chlorure de sodium.....	(5 g/L)
- Phosphate disodique.....	(2,5 g/L)
- Glucose	(2 g/L)

Préparation : 3,7g/L d'eau distillé, stérilisation à 121°C pendant 15 min.

Gélose nutritive (pH 7,3 ± 0,2)

Peptone	(5 g /L)
Extrait de viande de bœuf	(3g/L)
Chlorure de sodium	(5g/L)
Agar	(15 g/L)

Préparation : 28g/L d'eau distillé, stérilisation à 121°C pendant 15 min.

Gélose Cétrimide (pH 7,1± 0.2)

Peptone de gélatine.....	(16g/L)
Peptone de caséine.....	(10g/L)
Bromure de tétradonium (Cétrimide).....	(0,2g/L)
Acide nalidixique.....	(15mg/L)
Sulfate de potassium.....	(10g/L)
Chlorure de magnésium.....	(1,4g/L)
Agar.....	(10g/L)

Préparation: 45.3g /L d'eau distillée, stérilisation à 121°C pendant 15min.

Milieu de Chapman (pH 7,6± 0.2)

Extrait de viande.....	(1g/L)
Peptone de caséine et de viande.....	(10g/L)

Chlorure de sodium.....	(75g/L)
Mannitol.....	(10g/L)
Agar.....	(15g/L)
Rouge de phénol.....	(0,025g/L)

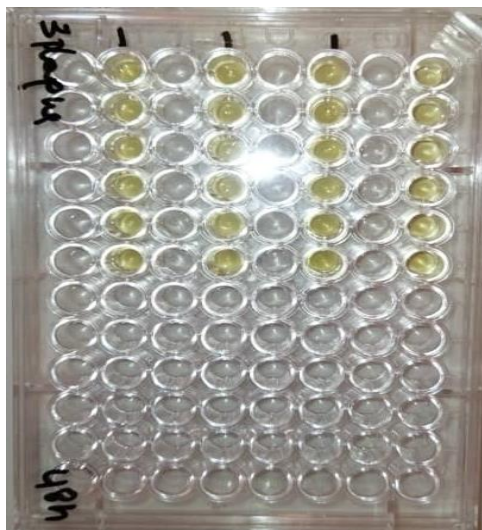
Préparation : 111g/L d'eau distillée, stérilisation à 121°C pendant 15min.

Milieu Rouge Congo Agar (RCA) (pH 7,4± 0.2)

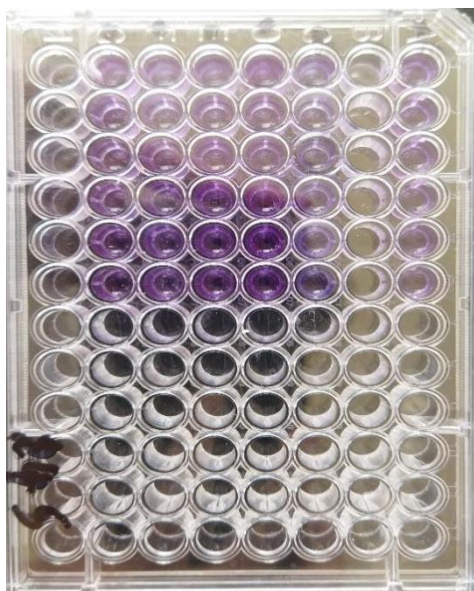
BHIB.....	(37g/L)
Saccharose.....	(50g/L)
Agar.....	(10g/L)
Rouge Congo Agar.....	(0,8g/L)
Eau distillée.....	(1L)

Stérilisation à 121°C pendant 15min.

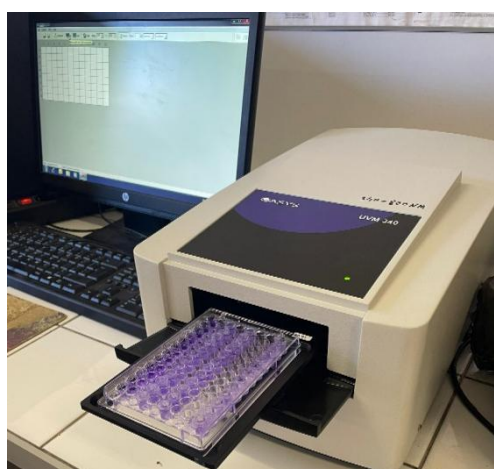
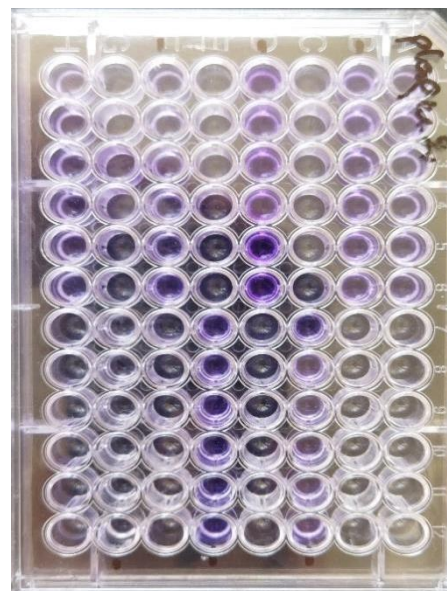
Annexe 2 : Quelques photos sur la formation de biofilm



Inoculation
des plaques



Coloration
avec cristal



Lecture des
plaques

Annexe 3 : Quelques photos sur la production et la quantification des EPSs

