



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



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

## Département de Biologie

*Laboratoire : Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique*

# MEMOIRE

Présenté par

**Mlle Miraoui Chahira**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Biochimie

## Thème

**Recherche de la flore bactérienne sur des membranes de  
nanofiltration**

Soutenu le, 09 Juillet 2019, devant le jury composé de :

Présidente	Kazi Tani Zahira Zakia	MCA	Université de Tlemcen
Encadreur	Boucherit-Otmani Zahia	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur	Seghir Abdelfettah	MCA	C.U. d'Ain Témouchent

**Année universitaire 2018/2019**

## ملخص :

الدراسات الحالية ركزت على البحث عن البكتيريا لمجموعة المعزولة على مستوى غشاء التصفية، و العينة تم استردادها في شهر فبراير 2019 ، و العينة تم استردادها من محطة تصفية المياه لسوق الثلاثاء بتلمسان.

البكتيريا المعزولة تم اختبار حساسيتها باستخدام طريقة التحليل (قابلية) و التخفيف في وسط سائل ؛ و دراسة قدرة البكتيريا على تكوين الأغشية الحيوية في المختبر. النتائج المحصل عليها تبين أن السلالات التي تم عزلها هي (*Raoultella terrigena* (2), *Raoultella ornithinolytica* (3), *Klebsiella oxytoca* (2), *Klebsiella pneumoniae* (1), *Enterobacter amnigenus* (1), *Escherichia coli* (5)) بكتيريا سلبية الغرام من نوع Entérobactéries و بكتيريا واحدة لا تتخمّر (*Stenotrophomonas maltophilia* (1))، كما عزلت منها بكتيريا موجبة الغرام (*Staphylococcus cohnii sp.* (1) ، *Staphylococcus haemolyticus* (1) ، *Micrococcus sp.* (3))، بينما جميع البكتيريا موجبة الغرام كانت مقاومة ل *oxacilline* و *vancomycine* باستثناء *Staphylococcus haemolyticus* التي أظهرت مقاومتها حساسيتها اتجاه *oxacilline*.

إن جميع البكتيريا المعزولة لها القدرة على تكوين أغشية حيوية في الوسط BHIB حيث أن كتلتها المسجلة تتغير حسب الوسائط الحيوية المستخدمة.

الكلمات المفتاحية : أغشية الترشيح النانوي - التغيرات الميكروبية - مضاد حيوي - CMI

## Résumé :

La présente étude a porté sur la recherche des altérations microbiennes d'une membrane de nanofiltration récupérée au mois de février 2019 de la station de dessalement de Souk Tlata de la wilaya de Tlemcen.

Les bactéries isolées ont fait l'objet d'un test de sensibilité aux antibiotiques par deux techniques, la diffusion sur milieu gélosé (antibiogramme) et la dilution en milieu liquide (CMI) et d'une évaluation de leur potentiel à former des biofilms *in vitro*.

15 bactéries à Gram négatif représentées par 14 Entérobactéries (*Raoultella terrigena* (2), *Raoultella ornithinolytica* (3), *Klebsiella oxytoca* (2), *Klebsiella pneumoniae* (1), *Enterobacter amnigenus* (1), *Escherichia coli* (5)) et une bactérie non fermentaire (*Stenotrophomonas maltophilia* (1)) et 5 à Gram positif dont *Staphylococcus cohnii sp.*, *Staphylococcus haemolyticus*, et 3 *Micrococcus sp.* sont identifiées.

Les résultats des tests de sensibilité ont montré que toutes les Entérobactéries testées sont sensibles à la colistine et à l'imipénème. Par ailleurs, les bactéries à Gram positif sont résistantes à l'oxacilline et à la vancomycine à l'exception de *Staphylococcus haemolyticus* qui était sensible à l'oxacilline,

Tous les isolats ont le pouvoir de former des biofilms sur le BHIB. La quantité des biofilms produites varie selon les milieux de culture utilisés.

**Mots clés :** membrane de nanofiltratio - biocolmatage- altérations microbiennes – antibiogramme - CMI

## Abstract

The present study focused on the microbial alterations of ananofiltration membrane collected from the Souk Tlata (Tlemcen). The isolated bacteria were tested for antibiotic sensibility by two techniques, diffusion method (antibiogram) and dilution in liquid medium (CMI) according to EUCAST, 2019 and the determination of thier ability to from biofilms in vitro. 15 Gram<sup>-</sup> bacteria represented by 14 Enterobacteriaceae (*Raoultella terrigena*, *Raoultella ornithinolytica*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter amnigenus*, *Escherichia coli*) and a non fermenting bacteria (*Stenotrophomonas maltophilia*), and 5 Gram<sup>+</sup> bacteria (*Staphylococcus cohnii sp.*, *Staphylococcus haemolyticus*, et *Micrococcus sp.*) were identified. All tested Enterobacteria are sensitive to colistin and imipenem and all isolated Gram<sup>+</sup> strains are resistant to oxacillin and voncomycin except *Staphylococcus haemolyticus* which was sensitive to oxacillin.

The isolated bacteria have the ability to from biofilms on BHIB and the biomass of recorded biofilms vary according to the culture medium used.

**Keywords :** nanofiltration membrane - biocolmatage - microbial alterations - antibiogram– MIC

## Table des matières

<b>Première partie : Synthèse bibliographique</b> .....	1
<b>Deuxième partie : Matériel et méthodes</b> .....	6
1. Prélèvement.....	6
2. Isolement et purification .....	6
3. Identification.....	6
3.1. Test TSI ( <i>Triple Sugar Iron</i> ).....	6
3.2. Test d'oxydase .....	7
3.3. Test de catalase .....	7
3.4. Galerie API .....	7
4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques .....	7
4.1. Antibiogramme .....	7
4.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices .....	8
5. Formation et quantification des biofilms <i>in vitro</i> .....	8
<b>Troisième partie : Résultats et discussion</b> .....	10
1. Isolement et identification.....	10
2. Sensibilité aux antibiotiques.....	11
3. Evaluation du potentiel des souches isolées à former les biofilms.....	16
<b>Quatrième partie : Conclusion générale</b> .....	19
<b>Cinquième partie : Références bibliographiques</b> .....	21
<b>Sixième partie : Annexes</b> .....	25

*Je dédie ce travail à mes chers parents qui ont toujours veillé sur moi*

*A ma chère sœur*

*A mes chers frères*

*À toute ma famille et tous mes amis*

*A ceux qui m'ont donné sans rien demander en retour*

*Chahira*

# Remerciements

Ce travail a été effectué au laboratoire de recherche «Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique» de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen.

Je remercie très chaleureusement mon encadreur, Madame Boucherit-Otmani Zahia, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté la charge de m'encadrer, de son soutien permanent, son aide, ses conseils fructueux.

Je la remercie vivement pour l'aide scientifique précieuse et tous les conseils qu'elle a pu me fournir pendant la durée de ce mémoire. J'ai eu beaucoup de chance de vous avoir comme encadreur. Je tiens à lui exprimer également ma profonde gratitude pour ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa sympathie et sa gentillesse, qui m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions.

Ma profonde reconnaissance s'adresse également à Madame Kazi Tani Zahira Zakia Maître de conférences classe A au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers. Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen qui m'a fait l'honneur de présider ce jury.

Ma profonde reconnaissance s'adresse également à Monsieur Seghir Abdelfettah Maître de conférences classe A au Centre universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain Témouchent, pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

Je tiens aussi à mentionner le plaisir que j'ai eu en travaillant au laboratoire «Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique». J'adresse mes vifs remerciements aux doctorants, aux mastérants ainsi qu'à Mlle

Benledghem Rachida, ingénieur du laboratoire pour leur sympathie, leur aide et leur amitié.

## Liste des abréviations

**BHIB** : *Brain Heart Infusion Broth*

**CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice

**PBS** : *Phosphate buffered saline*

**RPMI 1640** : *Roswell Park Memorial Institute Medium 1640*

**MOPS** : 3-(N-morpholino) propan sulfonic acid

**TSI** : *Triple Sugar Iron*

**TSB** : Tryptone Soja Bouillon

**DO** : Densité Optique

**EUCAST** : *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

**UFC** : Unité Formant Colonie

## Liste des figures

- Figure N°1 :** Représentation schématique d'un module NF spiralé (**Guizard, 2000**)
- Figure N°2 :** Etapes de formation d'un biofilm bactérien en milieu marin (**Haras, 2005**)
- Figure N°3 :** Représentation schématique des phases d'établissement des salissures marines sur une surface (**Wahl et coll., 1989**)
- Figure N°4 :** Biomasse des biofilms de 24 heures formés sur les différents milieux de culture
- Figure N°5 :** Catégorisation des bactéries isolées selon leur potentiel à former les biofilms

## Liste des tableaux

- Tableau N°1 :** Identification des bactéries isolées par site de prélèvement
- Tableau N°2 :** Profile de sensibilité des souches d'entérobactéries aux antibiotiques par la technique de diffusion en milieu gélosé
- Tableau N°3 :** CMI de l'imipénème et de la colistine vis-à-vis des souches d'entérobactéries isolées
- Tableau N°4 :** Antibiogramme des bactéries à Gram positif vis-à-vis des différents antibiotiques
- Tableau N°5 :** CMI de l'oxacilline et de la vancomycine vis-à-vis des bactéries à Gram positif



*Première partie*

---

# **Synthèse bibliographique**

L'eau est indispensable au maintien de la vie sur terre. C'est une ressource hautement stratégique dont dépendent de nombreuses activités humaines.

Dans les milieux naturels, l'eau peut subir de nombreuses contaminations de nature chimique et/ou biologique ce qui peut avoir de graves répercussions sur l'environnement et sur la santé des consommateurs dans le cas de l'eau potable **(Levi et coll., 2007)**.

L'eau potable nécessite une très grande qualité car elle doit satisfaire les besoins des organismes humains et les exigences correspondantes en matière d'hygiène et de santé. Elle doit être exempte de germes pathogènes (virus ou bactéries), de parasites et ne doit pas contenir certaines substances minérales considérées comme toxiques, tels que les nitrates, les phosphates et les métaux lourds, ni des composés organiques comme les hydrocarbures et les pesticides **[(Houari et Di Martino., 2007) ; (De Vries et coll., 2019)]**.

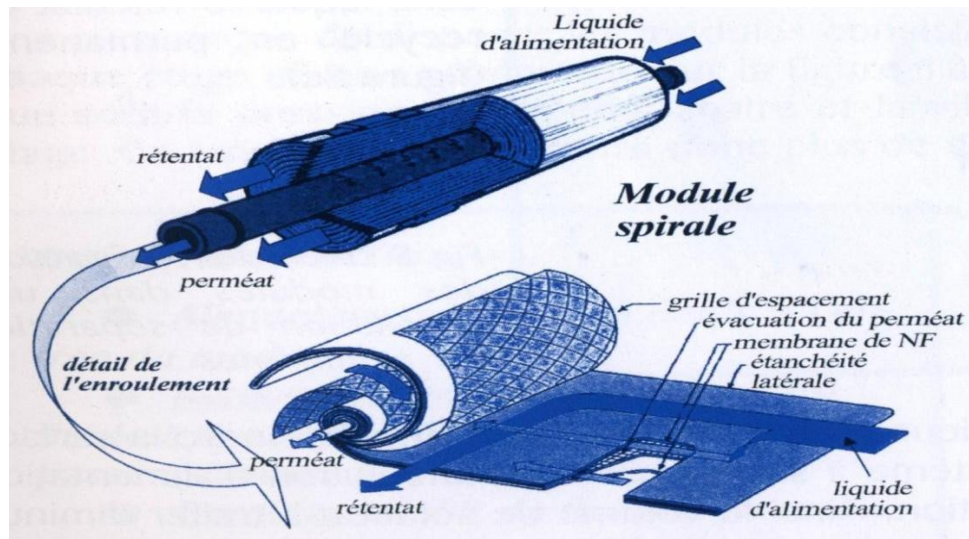
A l'instar des autres pays de la méditerranée, l'Algérie est confrontée à la problématique de l'eau en raison de la rareté des pluies ainsi que de leur fréquence disparate et irrégulière, ce qui pénalise la politique hydraulique basée sur la mobilisation de ces ressources naturelles par voie de captage (barrages, retenues...) **[(Kehal., 2001) ; (Shannon et coll., 2008)]**.

La présence d'un littoral de 1200km, offre à l'Algérie une autre alternative qui consiste à dessaler l'eau de mer. En effet, la mer constitue la réserve d'eau la plus importante de la planète. Cependant, cette dernière reste non propre à la consommation compte tenu de sa grande teneur en électrolytes, en matière organique, en microorganismes, en algues et en certains polluants tel que le pétrole et les déchets industriels toxiques **[(kettab, 2001) ; (Litumanya et coll., 2018)]**.

Le processus de traitement d'eau de mer fait appel au principe d'osmose inverse, une des techniques de filtration membranaire utilisée en dessalement des eaux saumâtres, des eaux de mer et également pour la réutilisation des eaux usées urbaines et industrielles.

Ce procédé de filtration permet l'élimination des sels et des substances organiques présentes dans les eaux ainsi qu'une partie des bactéries et des virus **(Gaid et Treal., 2007)**.

Les membranes d'osmose inverse sont dites «denses» car elles ne sont pas poreuses et la séparation des espèces dissoutes est due aux propriétés chimiques du polymère de surface. Elles sont de type spiralé, constituées d'une superposition de plusieurs couches de polymères: on parle de membrane composite souvent constituée de polyamide [(Sheikholeslami., 2007) ; (Bikai et coll., 2015) ; (Escudier et coll., 2019)] (Figure N°1).



**Figure N°1** : Représentation schématique d'un module NF spiralé (Guizard, 2000)

La grande surface spécifique de la membrane de nanofiltration présente l'inconvénient de créer un support potentiellement propice au développement de microorganismes qui se traduit par la formation de biofilms [(Di Martino et coll., 2007) ; (Le Hir et coll., 2018)].

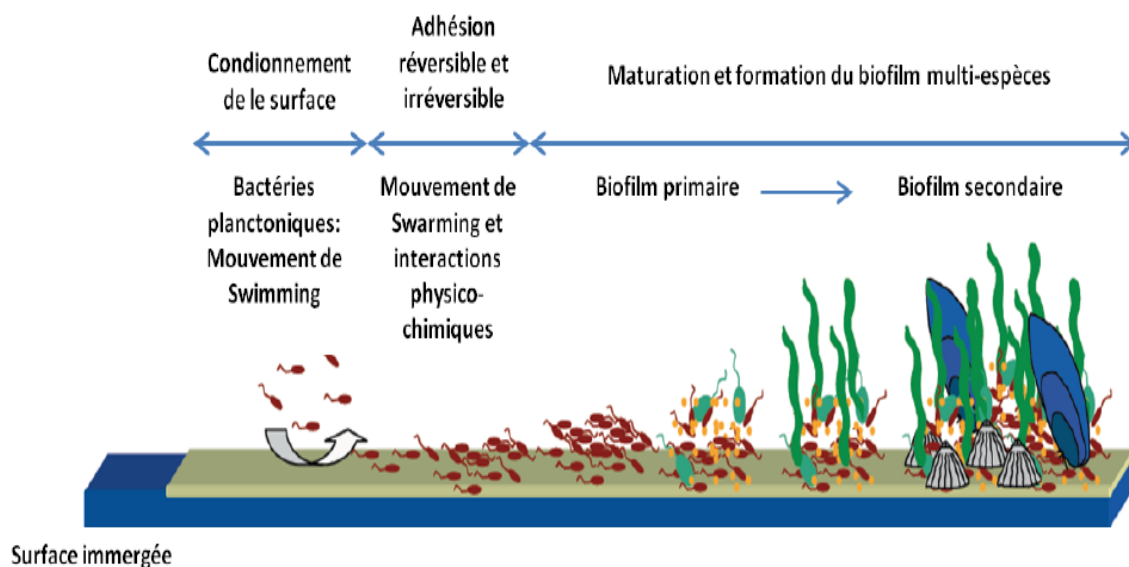
Les biofilms correspondent à une association de microorganismes, adhérant entre eux, qui se développent sur toute interface solide-liquide (tissus cellulaires, milieu marin, conduites d'eau, matériels médicaux et industriels, etc ...) (Salta et coll., 2013).

La structure des biofilms est très complexe et hétérogène, et renferme des microcolonies enrobées dans une matrice extracellulaire polymérique dont la composition et la nature varient selon l'environnement et les conditions dans lesquelles le biofilm s'est formé (Flemming et coll., 2016).

Ces agrégations de microorganismes sont souvent séparées par des vides «voids» correspondant à des canaux assurant la diffusion de nutriments de l'extérieur vers l'intérieur du biofilm. Ces canaux servent également à l'évacuation des débris et des métabolites (Ivleva et coll., 2010).

Le mode de vie en biofilms est une stratégie qui permet aux micro-organismes de survivre dans des environnements hostiles tels que la disponibilité limitée de nutriments, la présence de désinfectants ou d'antibiotiques, la dessiccation et les changements de température [(Hall-Stoodley et coll., 2004) ; (Bridier et coll., 2011) ; (Beloin et coll., 2017)].

Quel que soit l'environnement colonisé, la formation des biofilms passe par cinq étapes, le conditionnement de la surface, le déplacement et le transport des micro-organismes, l'adhésion réversible et irréversible, la colonisation, la maturation et la structuration du biofilm et en fin la dispersion (Tremblay et coll., 2014) (Figure N°2).



**Figure N°2** : Etapes de formation d'un biofilm bactérien en milieu marin (Haras, 2005)

Les biofilms peuvent être homogènes formés par une seule espèce, ou hétérogènes, renfermant plusieurs espèces microbiennes (Makovcova et coll., 2017). Bien que les micro-organismes se trouvent dans le biofilm sous forme de colonies séparées par des vides et des canaux, la communication est toujours présente entre elles et est assurée par le transfert, la régulation et l'expression de gènes du «Quorum sensing» (Rémy et coll., 2016).

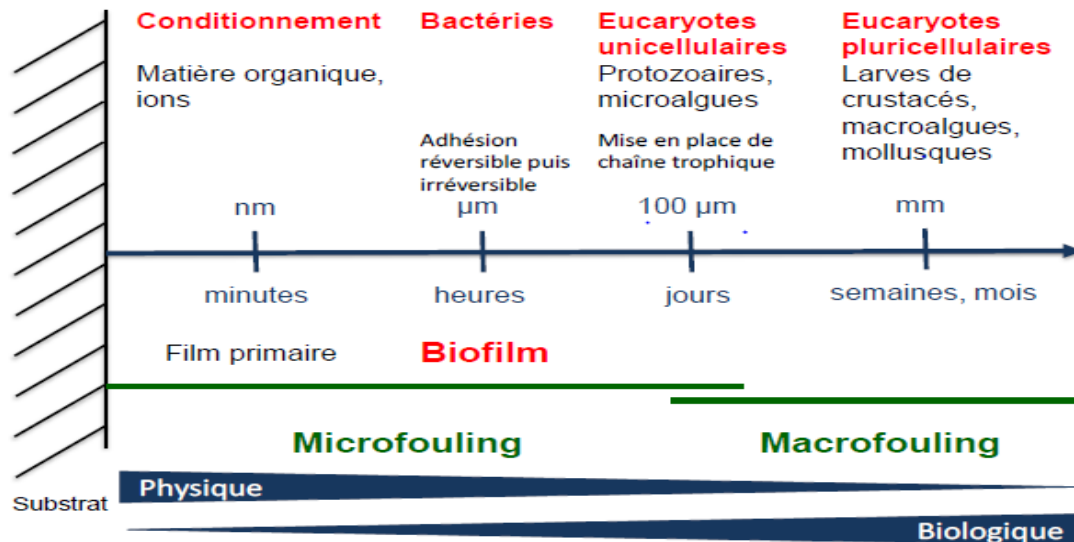
Le quorum sensing est un processus qui recouvre les mécanismes de contrôle des signaux cellule-cellule, permettant ainsi aux micro-organismes de réguler leur densité et de s'adapter à tout changement et fluctuations des conditions environnantes [(Kokare et coll., 2009) ; (Mion et coll., 2019)].

Ce processus de communication dépend des conditions environnantes, et en particulier, de la concentration en nutriments dans le liquide (Wongsuk et coll., 2016).

En milieu marin, les biofilms sont constitués essentiellement de bactéries. Leur formation est considérée comme étant la première étape de l'établissement de l'encrassement ou des salissures, en créant des points d'ancrage pour d'autres micro-organismes, puis des larves et ensuite des macro-organismes, on parle du phénomène de biocolmatage ou «biofouling» (Salta et coll., 2013).

Le biofouling est composé de deux grandes phases, le microfouling qui correspond à la formation de biofilms bactériens suivie des micro-algues, levures et protozoaires et le macrofouling représenté par la colonisation par des organismes pluricellulaires eucaryotes et les macro-algues (Doghri et coll., 2015).

Selon le modèle proposé par Wahl en 1989, le biofouling passe par quatre séquences, le conditionnement chimique de la surface par adsorption quasi instantanée de molécules organiques et inorganiques, la colonisation par les bactéries puis par les organismes eucaryotes unicellulaires et enfin les organismes eucaryotes pluricellulaires (Figure N°3).



**Figure N°3:** Représentation schématique des phases d'établissement des salissures marines sur une surface (**Wahl et coll., 1989**)

Le biocomatage ou « biofouling » engendre une diminution de l'efficacité du transfert de chaleur et augmentent la consommation en énergie, influençant ainsi le rendement des installations et la qualité de l'eau produite (**Kochkodan et Hilal, 2015**).

En conséquence, la longévité des nano-filtres est réduite de façon drastique, ce qui représente un surcoût et une charge supplémentaire dans le processus de traitement d'eau de mer.

Partant de toutes ces données, nous avons entrepris cette étude qui a porté sur la recherche de la flore bactérienne sur une membrane de nanofiltration provenant d'une station de dessalement de la wilaya de Tlemcen. Notre travail a porté sur deux volets :

- Isolement et identification de la flore bactérienne responsable de l'altération d'une membrane de nanofiltration et étude du profil de résistance aux antibiotiques
- Evaluation du potentiel des bactéries isolées à former des biofilms *in vitro* sur trois milieux de culture différents.

## *Deuxième partie*

---

# **Matériel et méthodes**

Ce travail est réalisé au laboratoire de recherche «Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique», Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen.

### **1. Prélèvement**

Dans une hotte à flux laminaire, trois fragments sont prélevés de la membrane de nanofiltration, un à l'entrée, un au milieu et un à la sortie. La membrane est récupérée au mois de février 2019 de la station de dessalement d'eau de mer de Souk Tleta, wilaya de Tlemcen.

Les échantillons prélevés sont placés dans des tubes secs stériles contenant 10mL de bouillon nutritif pour la recherche des bactéries puis acheminés au laboratoire pour être analysés.

Après une incubation de 24 heures à 37°C, 1mL de chaque tube est ajouté à 9mL de bouillon nutritif. Les tubes sont ensuite placés dans une étuve à 37°C pendant 24 à 48 heures voire 72 heures.

### **2. Isolement et purification**

A partir des échantillons présentant un trouble, des boîtes de Pétri contenant la gélose Mac Conkey et Chapman pour l'isolement des bactéries, sontensemencées par la méthode d'épuisement. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48heures, les souches sont purifiées par passages successifs sur les mêmes milieux.

### **3. Identification**

Les bactéries isolées sont identifiées par différents tests biochimiques.

#### **3.1. Test TSI (*Triple Sugar Iron*)**

La gélose TSI est utilisée pour l'identification des entérobactéries basée sur la fermentation du glucose, l'utilisation du lactose et du saccharose et la production de H<sub>2</sub>S. L'ensemencement est réalisé par stries au niveau de la pente et par piqûre centrale du culot.



### **3.2. Test d'oxydase**

Ce test permet de détecter la présence du cytochrome C de la chaîne respiratoire chez les bactéries à Gram négatif.

### **3.3. Test de catalase**

Ce test est utilisé pour détecter la présence de la peroxydase responsable de la dégradation du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> chez les bactéries à Gram positif.

### **3.4. Galerie API**

Le système API (Biomerieux) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Il permet l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif (API 20 E), et l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* (API Staph).

Une suspension bactérienne équivalente à 0,5 Mc Farland est répartie dans les microtubes. Les réactions produites pendant la période d'incubation 18 à 24 heures à 37°C se traduisent par des virages de couleur spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture est réalisée en utilisant le tableau de lecture et les souches sont identifiées en se référant au tableau d'identification du catalogue analytique ou au logiciel d'identification.

Les souches identifiées sont conservées sur gélose nutritive inclinée à +4°C.

## **4. Etude de la sensibilité aux antibiotiques**

### **4.1. Antibiogramme**

L'antibiogramme permet de classer les bactéries dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante par la comparaison des diamètres des zones d'inhibition aux valeurs critiques (**EUCAST, 2019**).

La sensibilité des bactéries est testée vis-à-vis de 18 antibiotiques (Ticarcilline/ acide clavulanique (85µg), Pipéracilline (30µg), Pipéracilline-tazobactam (36µg), Céfoxitine (30µg), Ceftazidime (10µg), Aztréonam (10µg), Imipénème (10µg), Gentamicine (10µg), Tobramycine (10µg), Amikacine (30µg),

Ciprofloxacine (5µg), Triméthoprime-sulfaméthoxazole (25µg), Colistine (10µg), Vancomycine (5µg), Tétracycline (20µg), Oxacilline (1µg), Erythromycine (15µg), Rifampicine (5µg)).

A partir d'une culture de 24 heures, un inoculum de  $10^8$  UFC/mL, équivalent à 0,5 Mc Farland est ensemencé par écouvillonnage à la surface d'une boîte de Petri contenant la gélose Mueller Hinton. Les boîtes sont incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

#### **4.2. Détermination des concentrations minimales inhibitrices**

Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) sont déterminées par deux techniques, la microdilution sur microplaque 96 puits et la dilution sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du **EUCAST (2019)**.

Les solutions mères d'antibiotiques sont préparées à partir des poudres ou des liquides titrés fournis par les laboratoires à des concentrations de 5120µg/mL. Des dilutions en série de progression géométrique de raison  $1/2$  sont ensuite réalisées pour chaque antibiotique (**Annexe 1**).

La concentration de l'inoculum est fixée à  $5 \cdot 10^5$  UFC/mL pour la technique de microdilution et à  $10^4$  UFC/spot pour la méthode de dilution sur gélose.

Après une incubation à 37°C pendant 18 à 24 heures, la CMI est lue à l'œil nu.

#### **5. Formation et quantification des biofilms *in vitro***

Le potentiel des bactéries isolées à former les biofilms est évalué par quantification de la biomasse selon la technique de **Christensen et coll., 1985**.

Trois milieux de culture sont utilisés, le RPMI 1640 tamponné à pH 7,4 avec du MOPS à 0,165mol/L, le bouillon cœur cerveau (BHIB) (pH 7,4) et le bouillon Tryptone Soja (TSB) (pH 7,3).

La concentration cellulaire des inocula est ajustée à 0,5 Mc Farland puis ressuspendue dans le milieu de culture choisi à  $10^7$  cellules/mL.

Une microplaque 96 puits contenant 100µL de l'inoculum est scellée puis placée dans une étuve à 37°C pendant 24 voire 48 heures.

Les puits sont lavés avec du PBS stérile avant l'addition de 100µL de méthanol. La microplaque est laissée pendant 15 minutes à température ambiante. Les puits sont lavés et 100µL d'une solution de crystal violet sont ajoutés.

Après 20 minutes d'incubation à température ambiante, 150µL d'acide acétique (33%) sont ajoutés aux différents puits et la densité optique est lue à 570nm dans un lecteur de microplaque (**Rayto, RT-2100C**).

## *Troisième partie*

---

# **Résultats et discussion**

### 1. Isolement et identification

L'étude de l'altération microbienne des trois fragments récupérés de la membrane de nanofiltration (entrée, milieu et sortie) a révélé la présence de 20 espèces bactériennes.

Les résultats de l'identification des bactéries isolées par les galeries Api sont représentés sur le **tableau N°1**.

**Tableau N°1** : Identification des bactéries isolées par site de prélèvement

Bactéries	Entrée (n=7)	Milieu (n=6)	Sortie (n=7)	
<i>Raoultella terrigena</i>	1	-	1	Gram <sup>-</sup>
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2	1	-	
<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	2	-	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	-	-	
<i>Enterobacter amnigenus</i>	1	-	-	
<i>Escherichia coli</i>	1	2	2	
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	-	-	1	
<i>Staphylococcus cohnii</i> sp.	1	-	-	Gram <sup>+</sup>
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-	1	-	
<i>Micrococcus</i> sp.	-	-	3	

15 bactéries à Gram négatif et 5 à Gram positif sont isolées de la membrane de nanofiltration.

Les bactéries à Gram négatif sont représentées par 14 Entérobactéries (*Raoultella terrigena* (2), *Raoultella ornithinolytica* (3), *Klebsiella oxytoca* (2), *Klebsiella pneumoniae* (1), *Enterobacter amnigenus* (1), *Escherichia coli* (5)) et une bactérie non fermentaire (*Stenotrophomonas maltophilia* (1)). En ce qui concerne les bactéries à Gram positif, 1 *Staphylococcus cohnii* sp., 1 *Staphylococcus haemolyticus*, et 3 *Micrococcus* sp. sont identifiées.

L'altération bactérienne de la membrane de nanofiltration récupérée de la station de dessalement de Souk Tlata (Tlemcen) est caractérisée par une dominance des bactéries à Gram négatif.

Ce résultat est en accord avec celui de **Ivnitskyet ses collaborateurs (2007)** qui ont montré que les espèces bactériennes isolées des membranes de nanofiltration appliquées au traitement des eaux usées sont des Gram négatives.

Parmi les bactéries à Gram négatif isolées, *Escherichia coli* est l'espèce la plus rencontrée (5). Selon les travaux de **[(Hörsch et coll., 2005)] ; [(Goldman et coll., 2009)]**, cette espèce est souvent isolée des membranes d'ultra et de nanofiltration. De plus, l'eau de mer représente un réservoir de souches d'entérobactéries et essentiellement d'*Escherichia coli* **(Nagaraj et coll., 2017)**.

Toutes les parties de la membrane de nanofiltration sont altérées par les bactéries.

Au niveau de l'entrée, l'espèce *Raoultella ornithinolytica* occupe la première place (2) suivie par *Raoultella terrigena* (1), *Klebsiella pneumoniae* (1), *Enterobacter amnigenus* (1), *Escherichia coli* (1) et *Staphylococcus cohnii* sp. (1). En revanche, dans le fragment du milieu, *Klebsiella oxytoca* et *Escherichia coli* arrivent en premier (2), suivie par *Raoultella ornithinolytica* (1) et *Staphylococcus haemolyticus* (1).

Le fragment récupéré de la sortie de la membrane est altéré par *Micrococcus* sp. (3), suivie d'*Escherichia coli* (2). Les espèces *Raoultella terrigena* et *Stenotrophomonas maltophilia* occupent la dernière place (1).

## **2. Sensibilité aux antibiotiques**

13 molécules d'antibiotiques appartenant à différentes familles sont utilisés, il s'agit de :  $\beta$ -lactamines (7), aminosides (3), fluoroquinolone (1), polymixine (1) et triméthoprime/sulfaméthoxazole.

Les résultats de l'antibiogramme sont représentés sur le **tableau N°2**.

Tableau N°2 : Profile de sensibilité des souches d'entérobactéries aux antibiotiques par la technique de diffusion en milieu gélosé

Antibiotiques	TCC(85µg)	FOX (30µg)	PIP (30µg)	TZP (36µg)	CAZ (10µg)	ATM (30µg)	IPM (10µg)	GN (10µg)	TOB (10µg)	AK (30µg)	CIP (5µg)	SXT (25µg)
Diamètres critiques (mm)	S≥23R<20	S≥19 R<15	S≥20 R<17	S≥20R<17	S≥22R<19	S≥26R<21	S≥22 R<16	S≥17R<14	S≥17R<14	S≥16R<13	S≥26R<24	S≥14R<11
Bactéries												
<i>Raoultella terrigena</i>	6	12	12	10	14	26	26	18	18	17	22	21
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	6	6	15	14	18	27	22	22	19	19	20	15
<i>Klebsiella oxytoca</i>	6	17	13	9	21	26	26	19	20	17	19	17
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	15	14	9	20	22	29	20	18	20	22	19
<i>Enterobac teramnigenus</i>	6	6	15	14	18	20	32	18	21	19	27	20
<i>Escherichia coli</i>	6	20	16	13	17	25	31	19	21	21	21	22

R : Résistance ; S : Sensible. TCC : Ticarcilline-acide clavulanique ; FOX : Céfoxitine ; PIP : Piperacilline ; TZP : Pipéracilline-tazobactam ; CAZ : Ceftazidime ; ATM : Aztréonam ; IPM : Imipénème ; GN : Gentamicine ; TOB : Tobramycine ; AK : Amikacine ; CIP : Ciprofloxacine ; SXT : Triméthoprime-sulfaméthoxazole.

Toutes les souches d'entérobactéries isolées sont résistantes à la piperacilline et aux associations ticarcilline-acide clavulanique et piperacilline-tazobactam. Des résistances (R+I) à la céfoxitine et à la ceftazidime sont observées pour les souches *Raoultella terrigena*, *Raoultella ornithinolytica*, *Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella pneumoniae*.

Toutes les souches d'entérobactéries testées sont sensibles aux aminosides et au triméthoprim-sulfaméthoxazole. Par ailleurs, toutes les souches sont résistantes à la ciprofloxacine à l'exception d'*Enterobacter amnigenus*.

La sensibilité de *Raoultella ornithinolytica* aux carbapénèmes, aux aminosides, aux quinolones et au triméthoprim-sulfaméthoxazole ainsi que sa résistance à l'ampicilline ont été rapportée par plusieurs travaux antérieurs [(Sener et coll., 2011) ; (Sandal et Ozen, 2014) ; (Chun et coll., 2015)].

Les diamètres d'inhibition ne permettent pas de détecter toutes les résistances acquises pour la colistine et l'imipénème, ce qui impose de déterminer la CMI par micro-dilution en milieu liquide (EUCAST, 2019).

Les résultats obtenus sont regroupés sur le **tableau N°3**.

**Tableau N°3** : CMI de l'imipénème et de la colistine vis-à-vis des souches d'entérobactéries isolées

Souches	CMI ( $\mu\text{g/mL}$ )	
	Imipénème S $\leq$ 2 R $>$ 4	Colistine S $\leq$ 2 R $>$ 2
<i>Raoultella terrigena</i>	0,5	0,25
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	1	0,125
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,25	0,25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,25	0,125
<i>Enterobacter amnigenus</i>	1	0,5
<i>Escherichia coli</i>	0,25	0,125



Les CMI de la colistine et de l'imipénème vis à vis des souches testées varient de 0,125 à 0,5µg/mL et de 0,25 à 1µg/mL respectivement.

Le seuil de sensibilité à l'imipénème et à la colistine est de 2µg/mL (EUCAST, 2019), de ce fait, toutes les souches testées sont sensibles à ces deux antibiotiques.

Ces résultats sont en accord avec d'autres travaux qui ont montré que les souches d'entérobactéries sont sensibles à l'imipénème et à la colistine (Souna et coll., 2010).

*Stenotrophomonas maltophilia* est résistante à ces deux antibiotiques avec une CMI supérieure à 64µg/mL pour l'imipénème et de 16µg/mL pour la colistine.

*Stenotrophomonas maltophilia* est un agent pathogène opportuniste qui présente une résistance antimicrobienne intrinsèque et acquise avec une résistance plus élevés pour la colistine [(Goncalves-Vidigal et coll., 2011)] ; [(Betts et coll., 2014)].

Cette espèce a montré aussi une résistance à l'association triméthoprim-sulfaméthoxazole.

Ce résultat va dans le même sens que ceux de Toleman et coll., (2007) et de Hu et coll., (2011).

La sensibilité des bactéries à Gram positif isolées vis-à-vis de 9 molécules d'antibiotiques appartenant à différentes familles, dont trois β-lactamines, deux aminosides, une fluoroquinolone, une rifamycine, une macrolide et une tétracycline est testée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les résultats obtenus sont regroupés sur le **tableau N°4**.

Toutes les souches testées sont sensibles à la gentamicine et à la ciprofloxacine mais résistantes à la ceftazidime et à l'oxacilline. Par ailleurs, *Staphylococcus cohnii* sp. est résistante à la rifampicine et à la céfoxitine, alors que *Staphylococcus haemolyticus* est résistante à la tobramycine, à la rifampicine, à la céfoxitine et à la tétracycline. Quant a *Micrococcus* sp., elle présente une résistance à la tobramycine, à la tétracycline et à l'érythromycine.

**Tableau N°4** : Antibiogramme des bactéries à Gram positif vis-à-vis des différents antibiotiques

Antibiotiques	TOB (10µg)	RD (5µg)	FOX (30µg)	TE (20µg)	OX (1µg)	E (15µg)	CN (10µg)
Bactéries	S≥22 R<22	S≥26 R<22	S≥22 R<21	S≥22 R<19	S≥13 R<10	S≥21 R<18	S≥22 R<22
<i>Staphylococcus Cohnii sp.</i>	22	19	19	25	6	21	22
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	20	20	20	12	6	25	25
<i>Micrococcus sp.</i>	18	27	23	16	6	16	24

R : Résistance ; S : Sensible. TOB : tobramycine; RD : Rifampicine; FOX : Céfoxitine ; TE : Tétracycline ; OX : Oxacilline ; E : Erythromycine ; CN : Gentamicine.

Les valeurs des CMI de l'oxacilline et de la vancomycine vis-à-vis des bactéries à Gram positif étudiées obtenues par la technique de microdilution sont regroupées sur le **tableau N°5**.

**Tableau N°5** : CMI de l'oxacilline et de la vancomycine vis-à-vis des bactéries à Gram positif

Souches	CMI (µg/mL)	
	Vancomycine S≤2 R>2	Oxacilline S≤0,25 R>0,25
<i>Staphylococcus cohnii sp.</i>	>64	>256
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	>256	0,25
<i>Micrococcus sp.</i>	4	32

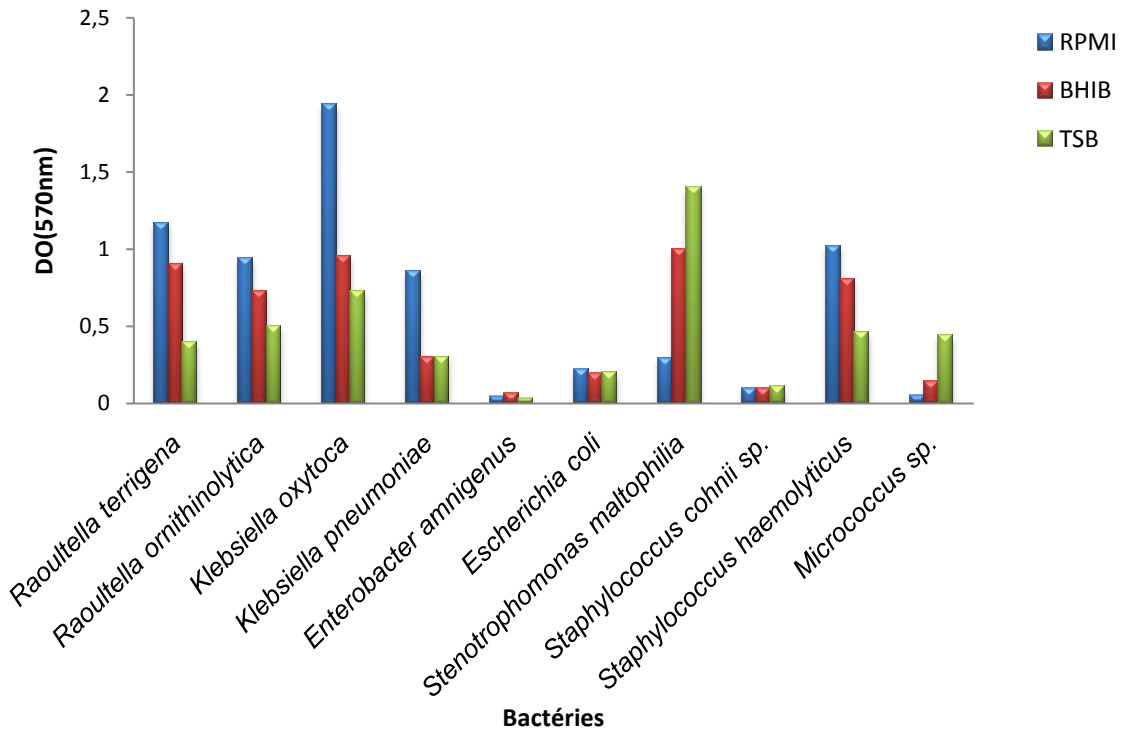
*Staphylococcus cohnii sp.* et *Micrococcus sp.* sont résistantes aux deux antibiotiques testés. Les niveaux de CMI respectifs de *Staphylococcus cohnii sp.* et *Micrococcus sp.* sont supérieurs à 64µg/mL et de 4µg/mL pour la vancomycine et supérieurs à 256µg/mL et de 32µg/mL pour l'oxacilline. En revanche, *Staphylococcus haemolyticus* est résistante à la vancomycine (CMI>256µg/mL) et sensible à l'oxacilline (CMI=0,25µg/mL).

La résistance de *Staphylococcus sp.* à l'oxacilline et à la vancomycine a déjà été rapportée par **Nunes et coll., (2007)** et **Mackay., (2008)**.

### 3. Evaluation du potentiel des souches isolées à former les biofilms

Les biomasses des biofilms formés par les bactéries isolées sur différents milieux de culture sont quantifiées après 24 heures d'incubation à 37°C par la technique du Crystal violet.

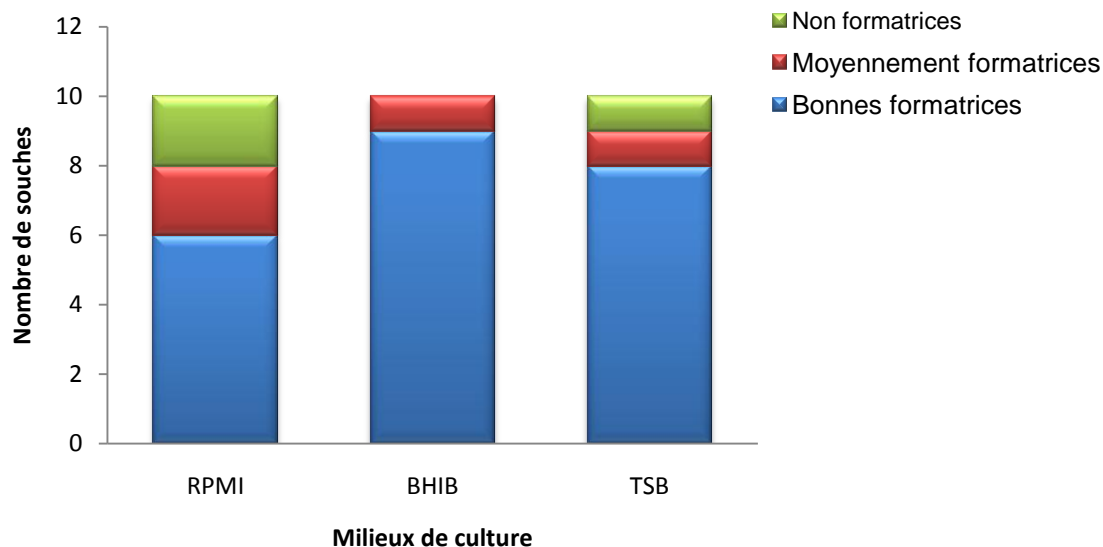
Les résultats obtenus sont représentés sur la **figure N°4**.



**Figures N°4** : Biomasse des biofilms de 24 heures formés sur les différents milieux de culture

La biomasse des biofilms formés par les bactéries isolées de la membrane nanofiltration varie en fonction du milieu de culture utilisé. En effet, les densités optiques mesurées à une longueur d'onde de 570nm, varient de 0,04 à 1,94, de 0,07 à 1 et de 0,03 à 1,4 sur milieu RPMI, BHIB et TSB respectivement.

En se référant aux intervalles des densités optiques fixés par **Christensen et coll., (1985)**, nous avons classé les bactéries étudiées en bonnes, moyennes et non formatrices de biofilms. Les résultats obtenus sont représentés sur la **figure N°5**.



**Figure N°5** : Catégorisation des bactéries isolées selon leur potentiel à former les biofilms

Cette figure montre que sur milieu RPMI, 6 souches sont bonnes formatrices de biofilms (*Raoultella terrigena*, *Raoultella ornithinolytica*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus haemolyticus*), 2 moyennement formatrices (*Escherichia coli*, *Staphylococcus cohnii* sp.) et 2 non formatrices de biofilms (*Enterobacter amnigenus*, *Micrococcus* sp.). Alors que sur milieu BHIB, 9 bactéries sont bonnes formatrices de biofilms (*Raoultella terrigena*, *Raoultella ornithinolytica*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus cohnii* sp., *Staphylococcus haemolyticus*, *Micrococcus* sp.) et 1 moyennement formatrice de biofilm (*Enterobacter amnigenus*).

Sur milieu TSB, 8 souches sont bonnes formatrices de biofilms (*Raoultella terrigena*, *Raoultella ornithinolytica*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Micrococcus* sp.), 1 moyennement formatrice (*Staphylococcus cohnii* sp.) et 1 non formatrice de biofilms (*Enterobacter amnigenus*).

De plus, en fonction du milieu de culture utilisé, certaines espèces bactériennes sont passées d'une catégorie à une autre. En effet, en prenant en considération les milieux RPMI et BHIB, *Escherichia coli* et *Staphylococcus cohnii* sp. sont passées de la catégorie moyennement à bonnes formatrices et *Enterobacter amnigenus* et *Micrococcus* sp. de non formatrices à moyennement et bonne formatrices de biofilms

respectivement. Par ailleurs, en considérant le milieu TSB et BHIB, *Enterobacter amnigenus* est passée de non formatrice à moyennement formatrice de biofilm et *Staphylococcus cohnii* sp., de moyennement à bonne formatrice de biofilms.

De ce fait, le milieu BHIB semble être le plus approprié pour la quantification de la biomasse des biofilms bactériens sur microplaques par la technique du crystal violet. Ce résultat va dans le même sens que ceux de **Tomičić et coll., (2016)** qui ont montré que la quantité des biofilms varie selon les milieux de culture utilisés en comparant TSB et BHIB.

Les maladies les plus courantes présentant un lien direct avec une contamination de l'eau sont les pathologies infectieuses gastrointestinales dues à des contaminations virales ou bactériennes et les maladies parasitaires.

Les risques microbiologiques des milieux hydriques sont jugés prioritaires en raison de leur rapidité et facilité d'apparition et de l'extension des épidémies associées aux contaminations microbiologiques. En effet, en **2014, Bain et ses collaborateurs** ont montré que l'eau potable, ainsi que de nombreuses sources améliorées, y compris l'eau courante, ont été contaminées par *Escherichia coli*. Aussi, un certain nombre de grandes épidémies de diarrhée provoquées par des souches d'*Escherichia coli* ont été attribuées à de l'eau ou à des aliments contaminés (**Ateudjieu et coll., 2018**).

## *Quatrième partie*

---

# **Conclusion générale**

L'objectif que nous nous sommes fixé pour la présente étude était de déterminer l'impact de l'altération bactérienne sur le biocolmatage des membranes de nanofiltration utilisée dans les stations de dessalement de l'eau de mer. Pour atteindre cet objectif, nous avons abordé les points suivants :

- Isoler et identifier la flore bactérienne sur trois fragments d'une membrane de nanofiltration (entrée, milieu et sortie) prélevée de la station de dessalement de Souk Tlata (Tlemcen).
- Déterminer le profil de résistance des bactéries isolées à différents antibiotiques.
- Évaluer leur potentiel à former des biofilms *in vitro* sur trois milieux de culture différents.

Les résultats obtenus nous ont permis de tirer les conclusions suivantes :

- Toutes les parties de la membrane de nanofiltration sont altérées par les bactéries.
- 20 bactéries sont isolées dont 15 à Gram négatif et 5 à Gram positif. Les bactéries à Gram négatif sont représentées par 14 Entérobactéries (*Raoultella terrigena* (2), *Raoultella ornithinolytica* (3), *Klebsiella oxytoca* (2), *Klebsiella pneumoniae* (1), *Enterobacter amnigenus*(1), *Escherichia coli* (5)) et une bactérie non fermentaire (*Stenotrophomonas maltophilia* (1)). En ce qui concerne les bactéries à Gram positif, il s'agit de *Staphylococcus cohnii* sp. (1), *Staphylococcus haemolyticus* (1), et *Micrococcus* sp. (3).
- Les CMI des Entérobactéries varient de 0,125 à 0,5µg/mL et de 0,25 à 1µg/mL pour la colistine et l'imipénème respectivement.
- Les niveaux des CMI de *Staphylococcus cohnii* sp. et *Micrococcus* sp. sont de >64µg/mL et 4µg/mL pour la vancomycine et >256µg/mL et 32µg/mL pour l'oxacilline respectivement. En revanche, *Staphylococcus haemolyticus* est résistante à la vancomycine (CMI>25µg/mL) et sensible à l'oxacilline (CMI=0,25µg/mL).
- Toutes les bactéries isolées ont formé des biofilms dont la biomasse, quantifiée par la technique du cristal violet, dépend de la nature du milieu de culture utilisé.
- Le milieu BHIB semble être le plus approprié pour étudier le potentiel des bactéries à former des biofilms *in vitro*.

Pour compléter ce travail, il serait intéressant de :

- Faire une caractérisation moléculaire des souches isolées.
- Etudier le pouvoir de formation des biofilms dans différentes conditions physico-chimiques.
- Déterminer des paramètres qui peuvent inhiber ou diminuer la formation des biofilms *in vitro* et *in vivo*.



## ***Cinquième partie***

---

### **Références bibliographiques**

1. Ateudjieu J., Bit'a L. B., Guenou E., Chebe A. N., Chukuwchindun B. A., Goura A. P., and Bisseck A. C. Z. K. (2018). Profil et antibiosensibilité des bactéries pathogènes associées aux diarrhées chez les patients consultant à l'Hôpital Régional Annexe de Kousseri, Extrême-Nord Cameroun. *The Pan African Medical Journal*, 29.
2. Bain R., Cronk R., Hossain R., Bonjour S., Onda K., Wright J., and Bartram J. (2014). Évaluation globale de l'exposition à la contamination fécale par l'eau potable sur la base d'un examen systématique. *Tropical Medicine & International Health*, 19 (8), 917-927.
3. Beloin C., Fernández-Hidalgo N. and Lebeaux D. (2017). Understanding biofilm formation in intravascular device-related infections. *Intensive care medicine*, 43(3), 443-446.
4. Betts J. W., Phee L. M., Woodford N. and Wareham D. W. (2014). Activity of colistin in combination with tigecycline or rifampicin against multidrug-resistant *Stenotrophomonas maltophilia*. *European journal of clinical microbiology and infectious diseases*, 33(9), 1565-1572.
5. Bikaï J., Limousy L., Dutournié P., Josien L. and Blel, W. (2015). Stabilisation of the water permeability of mineral ultrafiltration membranes: An empirical modelling of surface and pore hydration. *Comptes Rendus Chimie*, 18(1), 56-62.
6. Bridier A., Le Coq D., Dubois-Brissonnet F., Thomas V., Aymerich, S., and Briandet R. (2011). The spatial architecture of *Bacillus subtilis* biofilms deciphered using a surface-associated model and in situ imaging. *PloS one*, 6(1), e16177.
7. 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.
8. Chun S., Yun J. W., Huh H. J. and Lee, N. Y. (2015). Clinical characteristics of *Raoultella ornithinolytica* bacteremia. *Infection*, 43(1), 59-64.
9. Courvalin P., Leclerc R., Bingen E. (2006). Antibiogramme. Paris. ESKA : 2<sup>ème</sup> édition. p :141-162.

10. De Vries H. J., Beyer F., Jarzembowska M., Lipińska J., van den Brink P., Zwijnenburg A. and Plugge C. M. (2019). Isolation and characterization of *Sphingomonadaceae* from fouled membranes. *NPJ biofilms and microbiomes*, 5(1), 6.
11. Di Martino P., Doumeche B., Galas L., Vaudry H., Heim V. and Habarou H. (2007) Assessing chemical cleaning of nanofiltration membranes in a drinking water production plant: a combination of chemical composition analysis and fluorescence microscopy. *Water Science and Technology* 55(8-9), 219-225.
12. Doghri I., Rodrigues S., Bazire A., Dufour A., Akbar D., Sopena V. and Lanneluc, I. (2015). Marine bacteria from the French Atlantic coast displaying high forming-biofilm abilities and different biofilm 3D architectures. *BMC microbiology*, 15(1), 231.
- scudier J. L., Gillery B., Ojeda H. and Etchebarne F. (2019). Maitrise de la salinité des eaux d'irrigation pour la viticulture. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 12). EDP Sciences.
14. Flemming H. C., Wingender J., Szewzyk U., Steinberg P., Rice S. A. and Kjelleberg S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563.
15. Gaid K. and Treal Y. (2007). Le dessalement des eaux par osmose inverse: l'expérience de Véolia Water. *Desalination*, 203(1-3), 1-14.
16. Goldman G., Starosvetsky J. and Armon R. (2009). Inhibition of biofilm formation on UF membrane by use of specific bacteriophages. *Journal of Membrane Science*, 342(1-2), 145-152.
17. Goncalves-Vidigal P., Grosse-Onnebrink J., Mellies U., Buer J., Rath P. M. and Steinmann J. (2011). *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis: improved detection by the use of selective agar and evaluation of antimicrobial resistance. *Journal of Cystic Fibrosis*, 10(6), 422-427.
18. Guizard D. (Ed.) (2000) Guide de la nanofiltration. *Club Français des Membranes (CFM)*.
19. Hall-Stoodley L., Costerton J. W. and Stoodley P. (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature reviews microb.*
20. Haras D. (2005). Biofilms et altérations des matériaux: de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. *Matériaux & Techniques*, 93, s-27.

- 21.** Houari A. and Di Martino, P. (2007) Effect of chlorhexidine and benzalkonium chloride on bacterial biofilm formation. *Letters in Applied Microbiology* 45(6), 652-656.
- 22.** Hörsch P., Gorenflo A., Fuder C., Deleage A. and Frimmel F. H. (2005). Biofouling of ultra-and nanofiltration membranes for drinking water treatment characterized by fluorescence in situ hybridization (FISH). *Desalination*, 172(1), 41-52.
- 23.** Hu L. F., Chang X., Ye, Y., Wang Z. X., Shao Y. B., Shi W. and Li J. B. (2011). *Stenotrophomonas maltophilia* resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole mediated by acquisition of sul and dfrA genes in a plasmid-mediated class 1 integron. *International journal of antimicrobial agents*, 37(3), 230-234.
- 24.** Ivnitsky H., Katz I., Minz D., Volvovic G., Shimoni E., Kesselman E. and Dosoretz C. G. (2007). Bacterial community composition and structure of biofilms developing on nanofiltration membranes applied to wastewater treatment. *Water research*, 41(17), 3924-3935.
- 25.** Ivleva N. P., Wagner M., Szkola A., Horn H., Niessner R. and Haisch C. (2010). Label-free in situ SERS imaging of biofilms. *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(31), 10184-10194.
- 26.** Kehal S. (2001). Rétrospective et perspective du dessalement en Algérie. *Desalination*, 136(1-3), 35-42.
- 27.** Kettab A. (2001). Les ressources en eau en Algérie: stratégies, enjeux et vision. *Desalination*, 136(1-3), 25-33.
- 28.** Kochkodan V. and Hilal, N. (2015). A comprehensive review on surface modified polymer membranes for biofouling mitigation. *Desalination*, 356, 187-20
- 29.** Kokare C. R., Chakraborty S., Khopade A. N. and Mahadik K. R. (2009). Biofilm: Importance and applications. *Biology*, 2(2), 95.
- 30.** Lehir M., Wyart Y., Georges G., Siozade L. and Moulin P. (2018). Nanoparticles Retention Potential of Multichannel Hollow Fiber Drinking Water Production Membrane. *Journal of Membrane Science and Research*, 4(2), 74-84.

31. Levi Y., Germon J.C., Legube B., Block J.C., Abbayes H., Houzelot J., Reynaud A. and Humbert A. (2007) L'eau, enjeux et perspectives de recherche. Mission scientifique et pédagogique. *Ministère de l'éducation nationale, de l'enseignement supérieur et de la recherche*.
32. Litumanya J. E. B., Katapulu H. K., Monama T. O., Kazadi Z. A. M., Tsalu P. and Kapepula L. (2018). Evaluation de performance de la chaîne de traitement d'eaux de surface de la rivieretshopo dans la region de kisangani (RD Congo). *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 22(3), 259-266.
33. Makovcova J., Babak V., Kulich P., Masek J., Slany M. and Cincarova L. (2017). Dynamics of mono-and dual-species biofilm formation and interactions between *Staphylococcus aureus* and Gram-negative bacteria. *Microbial biotechnology*, 10(4), 819-832.
34. McKay A.M., (2008). Résistance antimicrobienne et sensibilité à la chaleur des *Staphylococcus sp.* de lait non pasteurisé. *Journal de la protection des aliments*, 71 (1), 186-190.
35. Mion S., Rémy B., Plener L., Chabrière É. and Daudé D. (2019). Quorum sensing et quorum quenching: Comment bloquer la communication des bactéries pour inhiber leur virulence,. *médecine/sciences*, 35(1), 31-38.
36. Nagaraj V., Skillman L., Ho, G., Li D. and Gofton A. (2017). Characterisation and comparison of bacterial communities on reverse osmosis membranes of a full-scale desalination plant by bacterial 16S rRNA gene metabarcoding. *NPJ biofilms and microbiomes*, 3(1), 13.
37. Nunes A.P.F., Schuenck R.P., Bastos C., Magnanini M.M., Long J.B., Iorio N.L. and Santos K.D. (2007). Résistance hétérogène à la vancomycine et à la teicoplanine chez *Staphylococcus sp.* isolé de bactériémie. *Journal brésilien des maladies infectieuses*, 11 (3), 345-350.
38. Rémy B., Plener L., Elias M., Daudé D. and Chabrière E. (2016). Des enzymes pour bloquer la communication bactérienne, une alternative aux antibiotiques. In *Annales Pharmaceutiques Françaises* (Vol. 74, No. 6, pp. 413-420). Elsevier Masson.

39. Salta M., Wharton J. A., Blache Y., Stokes K. R. and Briand J. F. (2013). Marine biofilms on artificial surfaces: structure and dynamics. *Environmental microbiology*, 15(11), 2879-2893.
40. Sandal G. and Ozen M. (2014). Fatal *Raoultella ornithinolytica* sepsis and purpura fulminans in a preterm newborn. *Indian Journal of Paediatric Dermatology*, 15(1), 24.
41. Sener D., Cokhras H., Camcioglu Y., Akcakaya N. and Cakir E. (2011). *Raoultella* infection causing fever of unknown origin. *The Pediatric infectious disease journal*, 30(12), 1122-1123.
42. Shannon M. A., Bohn P. W., Elimelech M., Georgiadis J. G., Marinas B. J. and Mayes A. M. (2008). Science and technology for water purification in the coming decades. *Nature* 452, 301-310.
43. Sheikholeslami R. (Ed.) (2007) Fouling in membranes and thermal units, a unified approach its principles, assessment, control and mitigation. *Balaban Desalination Publications*.
44. SOUNA D. (2010). *Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du CHU de Sidi Bel Abbes* (Doctoral dissertation).
45. Toleman M. A., Bennett P. M., Bennett D. M., Jones R. N. and Walsh T. R. (2007). Global emergence of trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in *Stenotrophomonas maltophilia* mediated by acquisition of sul genes. *Emerging infectious diseases*, 13(4), 559.
46. Tomičić R. M., Čabarkapa I. S., Vukmirović D. M., Lević J. D., and Tomičić Z. M. (2016). Influence of growth conditions on biofilm formation of *Listeria monocytogenes*. *Food and Feed Research*, 43(1), 19-24.
47. Tremblay Y. D., Hathroubi S. and Jacques M. (2014). Les biofilms bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 78(2), 110-116.
48. Wahl M, « Marine epibiosis .I. Fouling and antifouling: some basic aspects », *Marine Ecology Progress Series* 58, 1989, 175-189.

49. Wongsuk T., Pumeesat P. and Luplertlop N. (2016). Fungal quorum sensing molecules: role in fungal morphogenesis and pathogenicity. *Journal of basic microbiology*, 56(5), 440-447.

## ***Sixème partie***

---

### **Annexes**



**Annexe N°3 : Préparation des solutions d'antibiotiques (Courvallin et coll., 2006)**

Solution initiale (µg/mL)	Solution mère (mL)	Eau distillée (mL)	Concentration Obtenue (µg/mL)	Concentration finale dans le milieu (µg/mL)
5120	2	2	2560	256
5120	1	3	1280	128
5120	0,5	3,5	640	64
5120	0,5	7,5	320	32
320	2	2	160	16
320	1	3	80	8
320	0,5	3,5	40	4
320	0,5	7,5	20	2
20	2	2	10	1
20	1	3	5	0,5
20	0,5	3,5	2,5	0,25
20	0,5	7,5	1,25	0,125