Document généré le 18 juil. 2025 10:50

Revue des Sciences de l'Eau
Journal of Water Science

Étude des biofilms bactériens isolés à partir du système de distribution d'eau potable dans la région sud-est de l'Algérie
Characterization of bacterial biofilms isolated from drinking water distribution system in southeastern Algeria

Amina Lamache, Ibtissem Doghri, Mario Jacques et Saliha Boudjenah-Haroun

Volume 32, numéro 4, 2020

Reçu le 20 janvier 2020, accepté le 8 avril 2020

URI : https://id.erudit.org/iderudit/1069577ar
DOI : https://doi.org/10.7202/1069577ar

Aller au sommaire du numéro

Éditeur(s)

Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE)

ISSN

1718-8598 (numérique)

Découvrir la revue

Citer cet article

Lamache, A., Doghri, I., Jacques, M. & Boudjenah-Haroun, S. (2020). Étude des biofilms bactériens isolés à partir du système de distribution d'eau potable dans la région sud-est de l'Algérie. *Revue des Sciences de l'Eau / Journal of Water Science*, *32*(4), 447–461. https://doi.org/10.7202/1069577ar

Résumé de l'article

Cette étude vise à déterminer l'influence des caractéristiques des sources des forages et des matériaux utilisés dans les systèmes de distribution d'eau potable sur le développement de biofilms dans les conduites de la région d'Ouargla (Algérie). Nos échantillons ont été sélectionnés en fonction de la nappe, du matériau et de l'âge des conduites alimentant la région. Pour la réalisation de nos expériences, nous avons prélevé mécaniquement 27 échantillons de biofilms dans plusieurs conduites de distribution fabriquées à base de différents types de matériaux : cuivre, polychlorure de vinyle (PVC) et polyéthylène haute densité (PEHD), et à partir de différentes nappes (albienne, sénonienne et miopliocène). Plusieurs souches bactériennes ont été identifiées grâce à l'utilisation de la technologie de spectrométrie de masse à désorption-ionisation laser assistée par matrice avec analyseur de temps de vol (MALDI-TOF). Les résultats obtenus démontrent que les conduites en cuivre semblent être défavorables à la colonisation bactérienne tandis qu'une grande variété d'espèces bactériennes a été retrouvée sur les matériaux en PVC et en PEHD. La capacité des souches isolées à former des biofilms a également été étudiée *in vitro*. La majorité des souches isolées, cultivées en biofilm simple et mixte, ont montré une forte capacité à former des biofilms.

Tous droits réservés © Revue des Sciences de l'Eau, 2020

Ce document est protégé par la loi sur le droit d'auteur. L'utilisation des services d'Érudit (y compris la reproduction) est assujettie à sa politique d'utilisation que vous pouvez consulter en ligne.

https://apropos.erudit.org/fr/usagers/politique-dutilisation/

Cet article est diffusé et préservé par Érudit.

Érudit est un consortium interuniversitaire sans but lucratif composé de l'Université de Montréal, l'Université Laval et l'Université du Québec à Montréal. Il a pour mission la promotion et la valorisation de la recherche.

https://www.erudit.org/fr/

RSE

ÉTUDE DES BIOFILMS BACTÉRIENS ISOLÉS À PARTIR DU SYSTÈME DE DISTRIBUTION D'EAU POTABLE DANS LA RÉGION SUD-EST DE L'ALGÉRIE

Characterization of bacterial biofilms isolated from drinking water distribution system in southeastern Algeria

Amina LACHACHE[1], Ibtissem DOGHRI[2], Mario JACQUES[2], Saliha BOUDJENAH-HAROUN[1]*

[1]Laboratoire de Recherche sur la Phœniciculture, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah Ouargla, Ouargla 30000, Algérie
[2]Département de pathologie et microbiologie, Faculté de médecine vétérinaire, Université de Montréal, St-Hyacinthe, Québec J2S 2M2, Canada

Reçu le 20 janvier 2020, accepté le 8 avril 2020

RÉSUMÉ

Cette étude vise à déterminer l'influence des caractéristiques des sources des forages et des matériaux utilisés dans les systèmes de distribution d'eau potable sur le développement de biofilms dans les conduites de la région d'Ouargla (Algérie). Nos échantillons ont été sélectionnés en fonction de la nappe, du matériau et de l'âge des conduites alimentant la région. Pour la réalisation de nos expériences, nous avons prélevé mécaniquement 27 échantillons de biofilms dans plusieurs conduites de distribution fabriquées à base de différents types de matériaux : cuivre, polychlorure de vinyle (PVC) et polyéthylène haute densité (PEHD), et à partir de différentes nappes (albienne, sénonienne et miopliocène). Plusieurs souches bactériennes ont été identifiées grâce à l'utilisation de la technologie de spectrométrie de masse à désorption-ionisation laser assistée par matrice avec analyseur de temps de vol (MALDI-TOF). Les résultats obtenus démontrent que les conduites en cuivre semblent être défavorables à la colonisation bactérienne tandis qu'une grande variété d'espèces bactériennes a été retrouvée sur les matériaux en PVC et en PEHD. La capacité des souches isolées à former des biofilms a également été étudiée *in vitro*. La majorité des souches isolées, cultivées en biofilm simple et mixte, ont montré une forte capacité à former des biofilms.

Mots-clés* : *biofilms, système de distribution d'eau potable, diversité bactérienne.

ABSTRACT

This study attempted to determine the influence of the characteristics of drilling sources and materials used in drinking water distribution systems on the development of biofilms in pipe networks in southeastern of Algeria (Ouargla). Our

*Auteur pour correspondance :
Téléphone : (+213) 661 77 90 62
Courriel : boudjenah.sa@univ-ouargla.dz

samples were selected according to the aquifer, pipe material and age in this region. To carry out our experiments, we mechanically took 27 biofilm samples from several distribution pipes based on different types of materials: copper, polyvinyl chloride (PVC) and high-density polyethylene (HDPE), and from different aquifers (Albian, Senonian and Miopliocene). Several bacterial strains have been identified using the Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF) technology. The results obtained demonstrate that copper pipes appear to be unfavorable to bacterial colonization while a wide variety of bacterial species has been found on PVC and HDPE materials. The capacity of the isolated strains to form biofilms has also been studied *in vitro*. The majority of the isolated strains, cultivated in simple and mixed biofilm, showed a strong capacity to form biofilms.

Key words*: *biofilms, drinking water distribution system, bacterial diversity.

1. INTRODUCTION

Les systèmes de traitement et de distribution assurent une qualité d'eau destinée à la consommation humaine. Cependant, et selon la littérature, une variété de microorganismes pourrait survivre et croître dans ces systèmes. Une détérioration de la qualité de l'eau pendant son transport a été largement observée (MARCIANO-CABRAL *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2017). Des bactéries ont tendance à s'accrocher sur les parois internes des canalisations pour former des biofilms (DOUTERELO *et al.*, 2014a, 2014b). Les biofilms sont des complexes fonctionnels de communautés microbiennes entourées par une matrice gélatineuse de substances polymériques extracellulaires (SPE) que les microorganismes produisent eux-mêmes. Les SPE sont responsables de l'intégrité de la structure tridimensionnelle des biofilms et de leur protection contre les conditions environnementales défavorables (LIU *et al.*, 2016). La formation de biofilms pourrait également favoriser la dégradation des parois des tuyaux, ce qui contribue à rendre l'eau impropre à la consommation (NAWROCKI *et al.*, 2010). La formation et la croissance des biofilms sur les parois tubulaires pourraient être affectées par de nombreux facteurs, tels que le type de matériau (ALLION *et al.*, 2011), la source d'eau (ZENG *et al.*, 2013), la disponibilité des nutriments (PARK et HU, 2010), le type et la concentration en désinfectant (XUE et SEO, 2013) et les forces de cisaillement (DOUTERELO *et al.*, 2013). Les problèmes engendrés par la colonisation microbienne dans les canalisations d'eau potable ont fait l'objet de nombreuses études (MARCIANO-CABRAL *et al.*, 2010; WU *et al.*, 2014). Selon la littérature, les matériaux communément utilisés, du fait de leur composition, leur âge et l'état de leur surface, sont potentiellement générateurs d'un développement bactérien (BUSE *et al.*, 2012; NAWROCKI *et al.*, 2010). En effet, ils peuvent favoriser la colonisation en offrant aux microorganismes un environnement favorable à leur développement. Les propriétés physicochimiques et la présence de crevasses assurent une biodisponibilité des nutriments et protègent les microorganismes des forces de cisaillement (LÉ, 2008).

Depuis les dernières décennies, les conduites d'adduction des eaux potables à base de fonte et plomb (interdits depuis 1995) (SQUINAZI, 2013), ainsi que le cuivre, présentent certaines limites comme la sensibilité à la corrosion. Ces trois matériaux sont progressivement remplacés par le PVC (polychlorure de vinyle) et le PEHD (polyéthylène haute densité). D'après la Direction nationale de l'eau potable et de l'assainissement (DINEPA, 2013), ces deux matériaux sont caractérisés par leur résistance à la corrosion, leur flexibilité, leur coût réduit et leur faible poids ce qui facilite leur installation.

Les échantillons de biofilm provenant de systèmes de distribution en fonctionnement sont difficiles à obtenir. Les conditions expérimentales pourraient ne pas correctement représenter les caractéristiques des communautés bactériennes de ces systèmes en fonctionnement sur de longues périodes (DOUTERELO *et al.*, 2013). Bien que de nombreuses conditions, telles que le diamètre du tuyau et le régime quotidien, ne soient pas communes à tous les systèmes d'exploitation, le matériau est toujours considéré comme un facteur clé affectant la colonisation bactérienne.

Nous allons, à travers cette étude, déterminer l'influence de la source de forage, de la nature et l'âge des matériaux utilisés sur le développement des biofilms dans les canalisations de distribution des eaux potables de la région d'Ouargla (sud-est de l'Algérie). Les résultats de cette investigation pourront être utilisés pour améliorer notre compréhension du phénomène de la colonisation bactérienne dans les systèmes de distribution d'eau potable dans les pays où la température moyenne est relativement élevée.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Description des sites de forages

La cuvette d'Ouargla, Algérie (Figure 1) renferme d'importantes réserves d'eau. Celles-ci sont issues de deux grands systèmes aquifères connus au Sahara algérien : le Complexe terminal (CT) qui regroupe les nappes miopliocène et sénonienne et le Continental intercalaire (CI) représenté par la nappe albienne. Ces nappes se différencient par plusieurs paramètres tels que la profondeur, la température, la salinité et la dureté de leurs eaux.

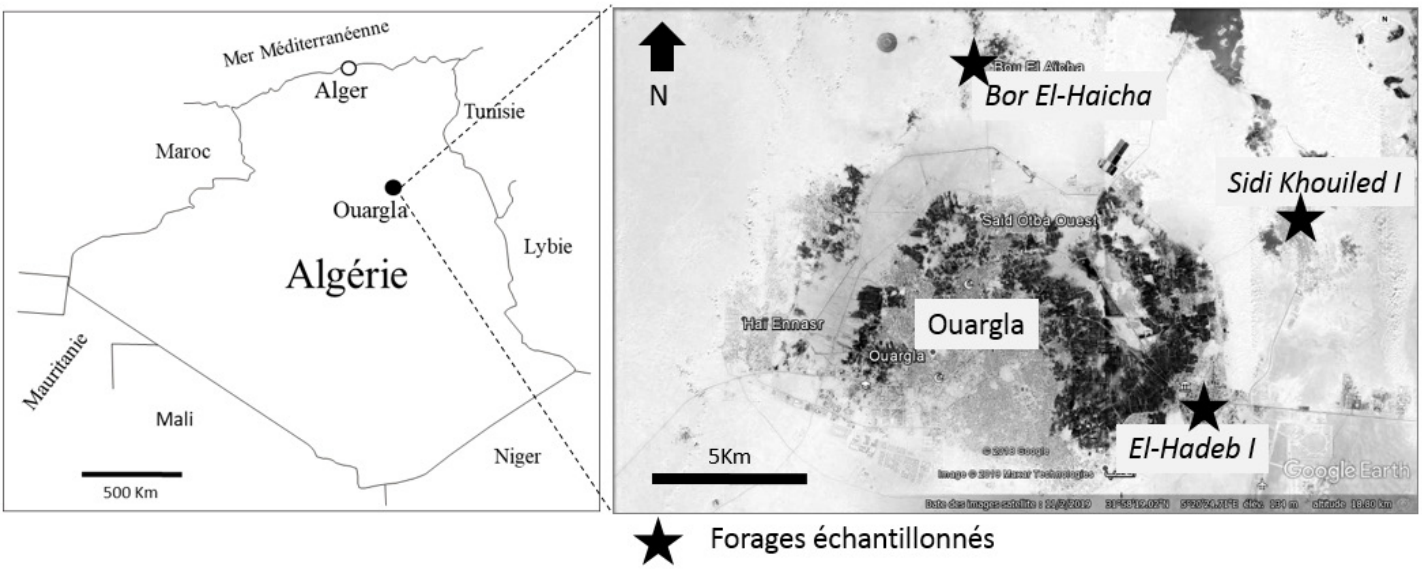


Figure 1. **Carte géographique de l'Algérie et site de l'étude : région de Ouargla dans le Sud-Est algérien (HAMDI-AÏSSA, 2001).**
Geographic map of Algeria and study site: Ouargla region in southeastern Algeria (HAMDI-AÏSSA, 2001).

Un forage de chaque nappe a été choisi pour servir à cette étude : un forage de la nappe sénonienne situé à Sidi Khouiled (forage de Sidi Khouiled I), un forage de la nappe miopliocène situé à Bor-Elhaicha (forage de Bor-Elhaicha) et un forage de la nappe albienne situé à El Hadeb (forage de El Hadeb I). Ces forages sont les plus exploités de la région. Leurs caractéristiques sont regroupées dans le tableau 1.

2.2 Analyse des caractéristiques de l'eau

L'eau en circulation a été caractérisée d'un point de vue physicochimique par le service ADE (Algérienne des eaux, Ministère des Ressources en eau). L'aspect microbiologique a été étudié au laboratoire de recherche sur la phœniciculture de l'Université Kasdi Merbah Ouargla. Les germes recherchés et les milieux de culture utilisés sont illustrés dans le tableau 2.

2.3 Dispositif expérimental d'étude des biofilms in situ

Afin d'étudier la formation des biofilms dans les conduites des eaux potables, nous avons conçu un dispositif expérimental illustré dans la figure 2. Il permet de raccorder à la tête de chaque forage sélectionné trois types de conduites : cuivre (C), polychlorure de vinyle (PVC) et polyéthylène haute densité (PEHD). Le système ainsi réalisé se caractérise par un écoulement continu dans un circuit fermé (Figure 2). Dans ces trois conduites, des coupes ont été réalisées stérilement (à l'aide d'un bec Bunsen) après 6 et 12 mois, entreposées dans des boîtes stériles et conservées à 4 °C.

Afin d'étudier des échantillons âgés de plus de 20 ans, des prélèvements ont été effectués directement sur trois types de conduites (cuivre, PVC et PEHD) à la fin de chaque chaine de distribution qui alimente les habitations en eau potable.

2.4 Prélèvement mécanique des biofilms

La technique de prélèvement mécanique des biofilms formés par grattage a été adoptée pour la réalisation de cette étude. La surface interne des dispositifs de canalisation a été grattée stérilement à l'aide d'une spatule dans le sens de la longueur. Par la suite, les échantillons ont été déposés dans des flacons contenant de l'eau puis vortexés vigoureusement pendant 15 sec (WALKER *et al.*, 1993; ROGERS *et al.*, 1994; MAULE *et al.*, 1999; BARRANGUET *et al.*, 2003).

Dix échantillons ont été obtenus et répartis en trois lots en fonction des différentes nappes dont les codes sont mentionnés dans le tableau 3.

2.5 Isolement et identification des espèces bactériennes des biofilms formés

Afin d'optimiser l'isolement des bactéries cultivables, un milieu non sélectif, le TSA (Agar trypto-caséine soja, Sparks, MD21152USA/le Pont-de-Claix, France) a été utilisé. Il permet le développement des bactéries non exigeantes. 100 µL de l'échantillon d'eau récupéré après grattage ont été utilisés pour ensemencer en surface les géloses incubées ensuite à 30 °C. Après 48 h, les colonies bactériennes ont été isolées en fonction de leurs caractéristiques morphologiques. Afin de caractériser

Tableau 1. Caractéristiques des forages échantillonnés : analyses effectuées en 2017 par l'Algérienne des eaux (ADE) d'Ouargla (Ministère des Ressources en eau).
Table 1. Characteristics of the sampled boreholes: analysis performed in 2017 by the Algerian Water Authority, Ouargla (Ministry of Water Resources).

Forage	Nappe captée	Mise en service	Profondeur (m)	Débit ($m^3 \cdot h^{-1}$)	*T* (°C)	pH	Dureté ($mg \cdot L^{-1}$)	Minéralisation ($mg \cdot L^{-1}$)
El Hadeb I	Albienne	1974	1 335	286	47	7,47	86,5	2 277
Sidi Khouiled I	Sénonienne	1990	185	110	27	7,12	87	2 884,2
Bor-Elhaicha	Miopliocène	1986	30	40	25	7,17	107,5	1 996,17
Normes algériennes (JORADP, 2011)					25[a]	6,5-9	200	1 000 (selon ADE)

[a] À consommer après refroidissement

Tableau 2. Germes recherchés et milieux de culture utilisés pour la bactériologie des eaux (RODIER, 2009).
Table 2. Germs of interest and culture media used for water bacteriology (RODIER, 2009).

Milieux de culture	Germes recherchés
Gélose triptonée avec extrait de levure (Tryptone Glucose Yeast Extract Agar, TGEA)	Germes totaux (pour les échantillons d'eau distribuée)
Technique en milieu liquide sur bouillon lactosé au pourpre de bromocrésol (BCPL)	Coliformes fécaux
Milieu de Schubert muni d'une cloche de Durham	*Escherichia coli*
Technique en milieu liquide en bouillon de Rothe	Streptocoques fécaux
Gélose viande foie + ampoule d'alun de fer et ampoule de sulfite de sodium	*Clostridium* sulfito-réducteur
Bouillon de sélénite-systeïné et gélose Hektoen	Salmonelles
Milieu d'eau peptonée alcaline (EPA) et gélose nutritive alcaline biliée (GNAB)	Vibrions cholériques

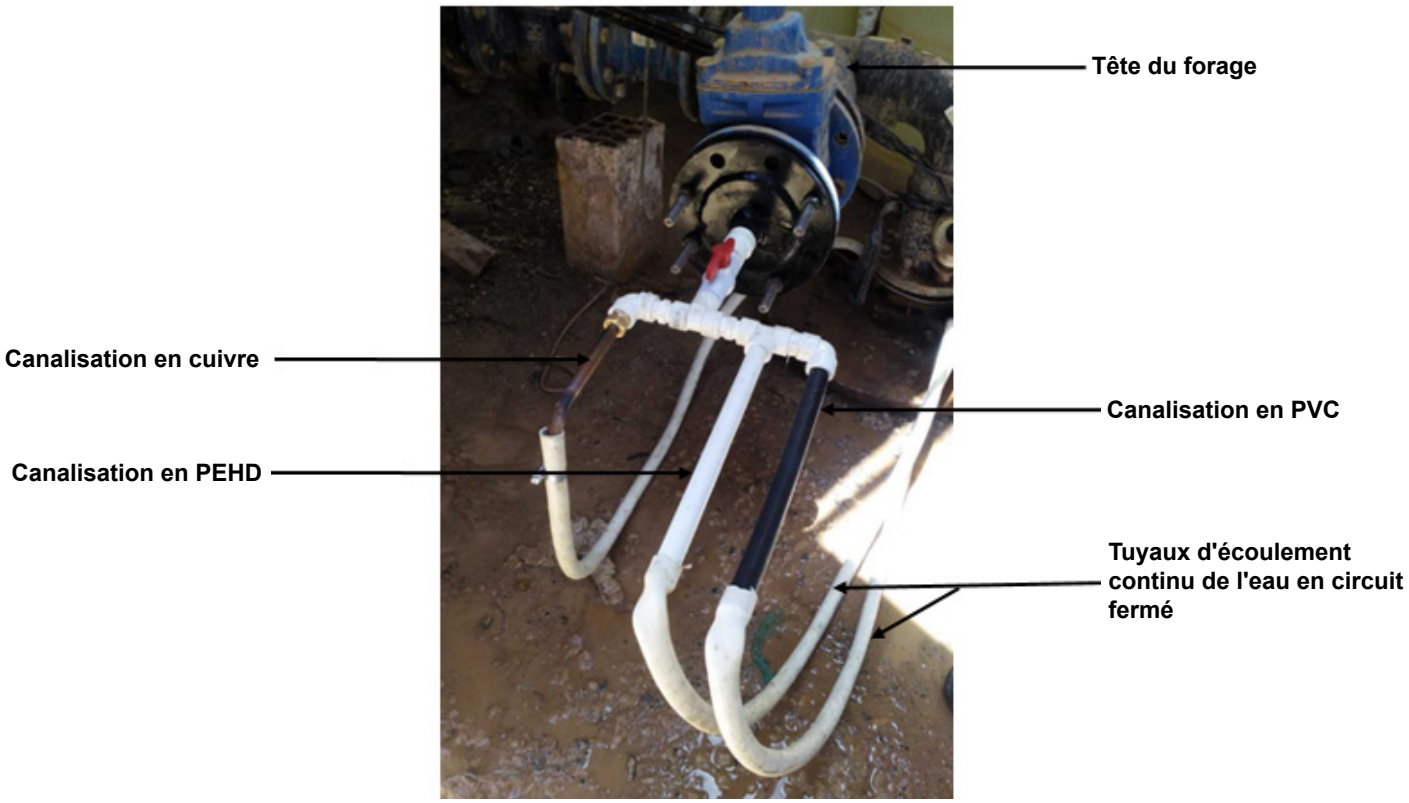


Figure 2. Dispositif expérimental d'étude des biofilms en conditions naturelles. Système installé par notre équipe dans les différents sites de forages alimentant la région d'Ouargla (Algérie) : exemple du forage Bor-Elhaicha (nappe miopliocène).
Experimental design for the study of biofilms under natural conditions. System installed by our team at the various drilling sites for water supply in the Ouargla region (Algeria): example of the Bor-Elhaicha borehole (Miopliocene aquifer).

Tableau 3. Échantillons de biofilms étudiés en fonction de la nappe, de l'âge et des matériaux des conduites.
Table 3. Biofilm samples studied according to aquifer, pipe age and materials.

Âge	Nappe sénonienne			Nappe miopliocène			Nappe albienne		
(mois)	Cuivre	PVC	PEHD	Cuivre	PVC	PEHD	Cuivre	PVC	PEHD
6	SC6M	SPV6M	SPE6M	MC6M	MPV6M	MPE6M	AC6M	APV6M	APE6M
12	SC12M	SPV12M	SPE12M	MC12M	MPV12M	MPE12M	AC12M	APV12M	APE12M
20	SC20A	SPV20A	SPE20A	MC20A	MPV20A	MPE20A	AC20A	APV20A	APE20A

la paroi bactérienne des souches à identifier, une coloration de Gram a été effectuée. Les isolats ont été codifiés et conservés à -80 °C dans le milieu TS contenant 20 % glycérol.

2.6 Identification des souches bactériennes cultivables par la technologie MALDI-TOF (spectrométrie de masse à désorption-ionisation laser assistée par matrice avec analyseur de temps de vol)

Toutes les analyses ont été réalisées en utilisant la méthode de transfert direct (Manuel d'utilisation du MALDI Biotyper 3.1, Bruker Daltonics). Brièvement, un applicateur stérile en bois de 15 cm à usage unique a été utilisé pour récupérer une colonie bactérienne et la déposer sur une cible MSP 96 points (Bruker Daltonics). Le séchage des *spots* a été réalisé à température ambiante. Par la suite, les échantillons ont été recouverts de 1,0 µL de matrice (solution saturée d'α-cyano-d'acide 4-hydroxycinnamique dans 50 % d'acétonitrile, 47,5 % d'eau et 2,5 % d'acide trifluoroacétique) (Sigma-AldrichCanada, Oakville, ON, Canada) et séchés à température ambiante. Les bactéries *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 et *Escherichia coli* ATCC 25922 ont été utilisées comme des souches de référence.

Après l'acquisition du spectre de masse d'un échantillon, le logiciel Biotyper le compare aux spectres de référence de la base de données et affiche les identifications correspondantes (CAMERON *et al.*, 2016).

2.7 Identification des souches bactériennes par séquençage de l'ADNr 16S

Les souches bactériennes, non identifiées par le MALDI-TOF, ont été analysées par séquençage de l'ADNr 16S. Ces analyses ont été réalisées par le service de diagnostic de la Faculté de médecine vétérinaire de l'Université de Montréal.

2.8 Étude in vitro de la capacité à former des biofilms des souches cultivables identifiées

Afin d'étudier la capacité des souches bactériennes à former des biofilms (simple ou mixte), le système expérimental de microplaque en polystyrène de 96 puits a été adapté de GOETZ *et al.* (2017). Il s'agit d'une technique rapide et efficace permettant le criblage d'un grand nombre de souches bactériennes. Brièvement, les colonies de la gélose TS ont été mises en suspension dans du TS à 0,5 Mc Farland et 100 µL des suspensions bactériennes ont été distribués dans des puits (Corning Costar N° 3595, États-Unis). Après incubation à 30 °C pendant 24 h, la microplaque a été lavée trois fois. Les biofilms bactériens ont été colorés avec 150 µL de solution de cristal violet à 0,1 % pendant 20 min et rincés avec de l'eau ultra-pure jusqu'à ce que le liquide de lavage soit clair. Le colorant a ensuite été élué avec de l'éthanol à 96 % (200 µL par puits) et la quantification a été réalisée en mesurant l'absorbance à une longueur d'onde de 595 nm.

2.9 Observation et quantification des biofilms par microscopie confocale à balayage laser

Les biofilms ont été préparés comme décrit ci-dessus et colorés avec le marqueur fluorescent Film Tracer™ FM 1-43® (Molecular Probes, Eugene, OR, États-Unis) tel que recommandé par le fabricant. Les biofilms marqués ont été visualisés par microscopie confocale à balayage laser (FV1000 IX81, Olympus, Markham, ON, Canada). Les images ont été acquises en utilisant le logiciel Fluoview (Olympus). Les structures 3D, ainsi que les quantifications des biofilms (biovolume et épaisseurs) ont été réalisées grâce au logiciel Image pro (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, États-Unis).

3. RÉSULTATS ET DISCUSSION

3.1 Caractéristiques des eaux potables dans la région d'Ouargla

D'après les données fournies par l'Algérienne des eaux (ADE) d'Ouargla (Tableau 2), les nappes des eaux de consommation distribuées dans cette région présentent une forte minéralisation et une dureté élevée. Les valeurs les plus importantes de profondeur, débit et de température sont attribuées à la nappe albienne, alors que la nappe miopliocène se distingue des deux autres par son faible débit et sa profondeur.

Cependant, l'analyse bactériologique de ces eaux a révélé l'absence de germes pathogènes.

3.2 Diversité des bactéries cultivables dans les biofilms étudiés

Les résultats de l'identification bactérienne grâce au MALDI-TOF et au séquençage ADNr 16S démontrent la présence d'une grande variété microbienne (Tableau 4). Une majorité de bactéries Gram+ a été observée (28 sur les 33 souches isolées). Parmi les bactéries isolées, *Bacillus cereus* et *Enterococcus durans*, sont présentes dans la majorité des biofilms échantillonnés. Nos résultats démontrent l'absence de bactéries sur tous les échantillons âgés de six mois et issus des trois différentes nappes. Aucune bactérie cultivable, isolée à partir des matériaux en cuivre et issus des deux nappes miopliocène et albienne, n'a pu être retrouvée. Seule *Streptococcus oralis* a été identifiée sur l'échantillon de biofilm issu de la nappe sénonienne âgé de 20 ans.

À partir de la source miopliocène, les échantillons en PVC et en PEHD âgés de 12 mois sont les seuls à avoir révélé la présence d'un développement bactérien. Les matériaux âgés de plus de 20 ans en PVC et PEHD, issus des trois nappes, sont ceux qui présentent le plus de diversité bactérienne. Des agents pathogènes tels que *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli* ont même été retrouvés dans ces échantillons.

3.3 Caractérisation des biofilms microbiens

3.3.1 Biofilms simples

Dans le but d'identifier les bactéries capables de former des biofilms, toute la collection bactérienne, composée de 33 souches, a été criblée grâce à une méthode colorimétrique rapide en microplaque 96 puits. Les résultats illustrés dans la figure 3 démontrent que dans ces conditions expérimentales, toutes les souches isolées sont capables de former des biofilms simples (densité optique $\geq 0,5$ considérée comme une référence de potentiel à former un biofilm). Ce criblage a révélé que cette capacité était très variable selon la nappe, la souche, son origine ainsi que l'âge du biofilm.

En effet, pour la nappe sénonienne sept souches ont montré une capacité à former un biofilm. La capacité des deux souches *Enterococcus durans* et *Planococcus* sp., issues de l'échantillon SPV20A est supérieure à celle de ces mêmes souches issues de l'échantillon SPE20A.

Quant à la nappe miopliocène, 14 souches sont capables de développer un biofilm. La plus grande capacité est attribuée aux souches *Bacillus cereus* et *Planococcus* sp., isolées de l'échantillon MPV20A. Notons que la souche *Bacillus cereus* isolée du PVC a démontré une meilleure capacité à former un biofilm que celle isolée de PEHD et cela quel que soit l'âge. Par ailleurs, la souche *Enterococcus durans* isolée de l'échantillon MPE20A est celle qui a démontré, dans ces conditions, une meilleure capacité à développer un biofilm comparé à cette même espèce issue des autres échantillons.

Enfin pour la nappe albienne, parmi les dix souches détectées, *Pseudomonas koreensis* issue de l'échantillon APE20A est celle qui forme le meilleur biofilm.

3.3.2 Biofilms mixtes

Afin de mimer les conditions originelles retrouvées dans les conduites de circulation d'eau, nous avons cultivé en biofilms mixtes les bactéries isolées d'un même microenvironnement. Les résultats de la quantification au cristal violet sont illustrés dans la figure 4. En 24 h d'incubation, des biofilms épais ont pu être observés avec des quantifications de densité optique entre 0,5 et 2.

Dans nos conditions expérimentales, toutes les bactéries issues des échantillons de PEHD ont montré une meilleure capacité à former des biofilms, notamment l'échantillon de la nappe albienne APE20A. Pour les bactéries isolées des échantillons de PVC, nous avons noté que les échantillons âgés plus de 20 ans (SPV20A, MPV20A et APV20A) ont formé efficacement des biofilms. Cependant, pour l'échantillon MPV12, aucun biofilm n'a été formé.

La méthode de criblage colorimétrique ne fournit aucune information structurelle sur les biofilms étudiés. Pour obtenir ces informations, ces derniers ont été étudiés par microscopie confocale et quantifiés grâce au logiciel Image Pro.

Selon les résultats illustrés dans la figure 5, toutes les souches isolées ont formé des biofilms *in vitro*. Toutefois, cette capacité (c.-à-d. épaisseur et biovolume) varie en fonction des souches qui le constituent et qui proviennent de sources différentes (nappes et matériaux).

Les souches isolées des échantillons de PEHD (APE20A, MPE20A, MPE12M et SPE20A) ont formé des biofilms très épais. Les plus grandes valeurs de l'épaisseur (33,87 µm) et de biovolume (1 480,35 $\mu m^3 \cdot \mu m^{-2}$) sont enregistrées pour l'échantillon APE20A constitué de cinq souches : *Enterococcus durans*, *Bacillus cereus*, *Psychrobacillus psychrodurans*, *Zhiengliuella alba* et *Pseudomonas koreensis*.

Pour les deux nappes, miopliocène et albienne, les souches isolées des biofilms des échantillons du PVC âgés de 20 ans, ont formé des biofilms épais (29,37 et 26,67 µm). Les biofilms de la nappe miopliocène, âgés de 12 mois (MPV12M) et de la nappe sénonienne âgés plus de 20 ans (SPV20A), sont d'une épaisseur moyenne (9,21 et 12,12 µm).

Tableau 4. Identification des souches isolées à partir des biofilms à l'aide de la technologie MALDI-TOF et du séquençage de l'ADNr 16S

Table 4. Identification of strains isolated from biofilms using MALDI-TOF technology and 16S rDNA sequencing.

Nappe	Matériau	Âge des échantillons	Souche du biofilm	Gram
Sénonienne	Cuivre	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	*Streptococcus oralis*	G+
	PVC	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	*Planococcus* sp.[a]	G+
			Bacillus cereus	
			Enterococcus durans	
	PEHD	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	*Planococcus* sp.[a]	G+
			Planococcus maitriensis[a]	
			Bacillus cereus	
			Enterococcus durans	
Miopliocène	Cuivre	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	–	–
	PVC	6 mois	–	–
		12 mois	*Bacillus cereus*	G+
			Terribacillus sp.[a]	
			Enterococcus durans	
		+20 ans	*Planococcus* sp.	G+
			Bacillus cereus	
			Enterococcus durans	
	PEHD	6 mois	–	–
		12 mois	*Planococcus rifietoensis*	G+
			Bacillus cereus	
			Enterococcus durans	
		+ 20 ans	*Listeria monocytogenes*	G+
			Bacillus cereus	
			Enterococcus durans	
			Pseudomonas koreensis	G-
			Escherichia coli	
Albienne	Cuivre	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	–	–
	PVC	6 mois	–	–
		12 mois	*Bacillus cereus*	G+
		+20 ans	*Enterococcus durans*	–
			Bacillus cereus	–
			Streptococcus oralis	–
			Acinetobacter lwoffii	G-
			Acinetobacter sp.[a]	
	PEHD	6 mois	–	–
		12 mois	–	–
		+20 ans	*Psychrobacillus psychrodurans*[a]	G+
			Zhiengliuella alba	
			Enterococcus durans	
			Bacillus cereus	
			Pseudomonas koreensis	G-

[a] Souche identifiée l'aide de l'ADNr 16S

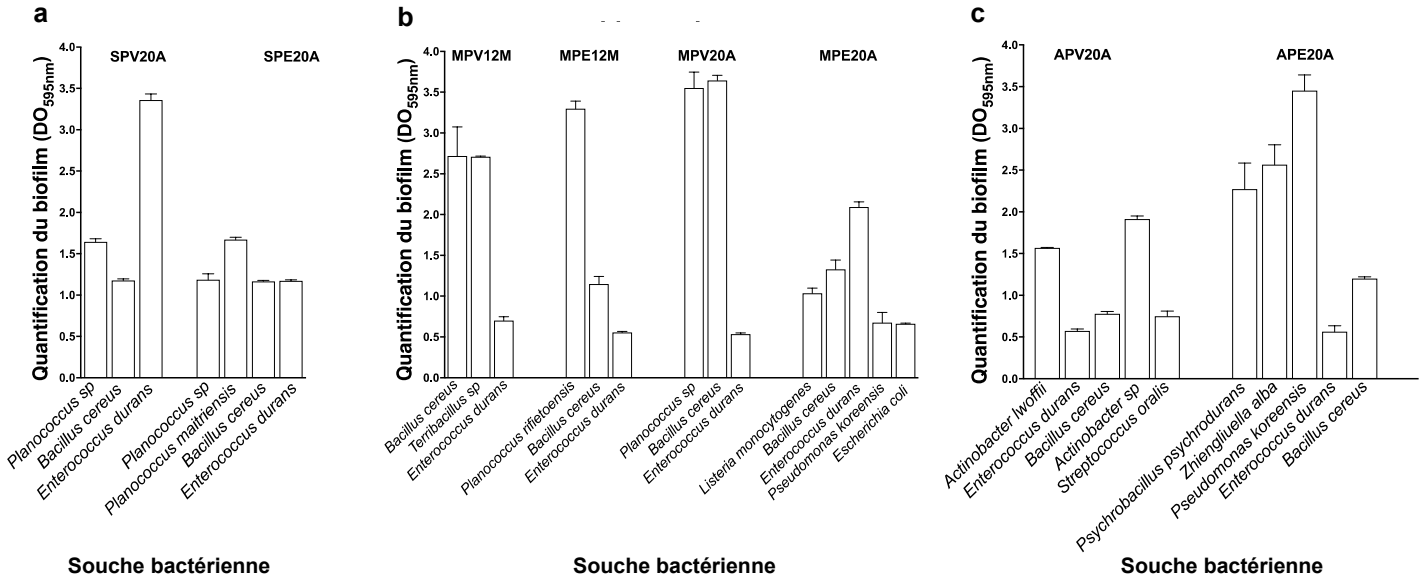


Figure 3. **Criblage de la capacité des bactéries isolées à former des biofilms simples en conditions statiques. Bactéries isolées de la nappe : a) sénonienne, b) miopliocène et c) albienne.**
Screening of the capacity of isolated bacteria form simple biofilms under static conditions. Bacteria isolated from: a) Senonian aquifer, b) Miopliocene aquifer, and c) Albian aquifer.

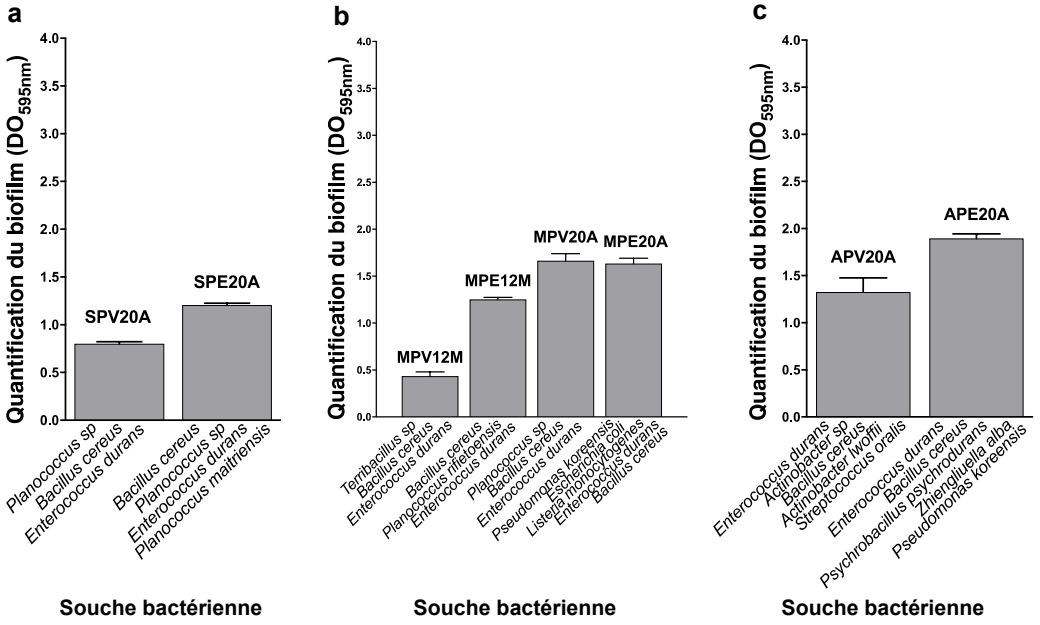


Figure 4. **Criblage de la capacité des bactéries isolées à former des biofilms mixtes en conditions statiques. Bactéries isolées de la nappe : a) sénonienne, b) miopliocène et c) albienne.**
Screening of the capacity of isolated bacteria form mixed biofilms under static conditions. Bacteria isolated from: a) Senonian aquifer, b) Miopliocene aquifer, and c) Albian aquifer.

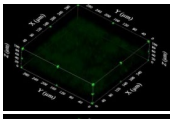
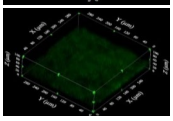
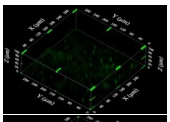
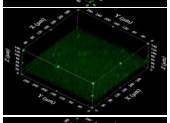
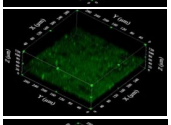
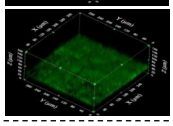
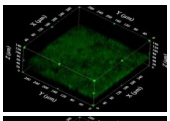
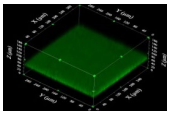
	Échantillon	Souches isolées		Image 3D	Biovolume (µm³·µm⁻²)	Épaisseur (µm)
Nappe sénonienne	PVC 20 ans	*Planococcus* sp. *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*			521,03	12,12
Nappe sénonienne	PEHD 20 ans	*Planococcus* sp. *Planococcus maitriensis* *Bacillus cereus*	*Enterococcus durans*		745,32	21,36
Nappe miopliocène	PVC 12 mois	*Bacillus cereus* *Terribacillus* sp. *Enterococcus durans*			145,67	9,21
Nappe miopliocène	PEHD 12 mois	*Planococcus rifietoensis* *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*			829,97	21,49
Nappe miopliocène	PVC 20 ans	*Planococcus* sp. *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*			1 154,13	29,37
Nappe miopliocène	PEHD 20 ans	*Listeria monocytogenes* *Bacillus cereus* *Enterococcus durans*	*Pseudomonas koreensis* *Escherichia coli*		1 367,87	31,45
Nappe albienne	PVC 20 ans	*Enterococcus durans* *Bacillus cereus* *Streptococcus oralis*	*Acinetobacter lwoffii* *Acinetobacter* sp.		1 010,83	26,67
Nappe albienne	PEHD 20 ans	*Psychrobacillus psychrodurans* *Zhiengliuella alba* *Enterococcus durans*	*Bacillus cereus* *Pseudomonas koreensis*		1 480,35	33,87

Figure 5. Représentations 3D et quantifications des biofilms mixtes des isolats bactériens.
3D representations and quantifications of mixed biofilms of bacterial isolates..

Bien que l'eau en circulation dans la région d'Ouargla présente des propriétés physicochimiques dépassant les normes, elle est tout de même considérée comme propre à la consommation, car ses caractéristiques microbiologiques sont conformes aux normes algériennes. Notre étude s'est focalisée principalement sur l'étude de la colonisation bactérienne des parois internes des conduites de distribution d'eau potable. Ces dernières peuvent être composées de cuivre, de PVC ou de PEHD et sont reliées à différentes nappes (albienne, sénonienne et miopliocène). Les communautés bactériennes des biofilms dans les canalisations d'eaux potables sont très peu étudiées. Il y a eu de nombreux rapports précédents sur les biofilms et les diversités bactériennes dans les modèles pilotes (LEE *et al.*, 2005; TENG *et al.*, 2008; KRISHNA *et al.*, 2013; GOMEZ-ALVAREZ *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2014). Environ 95 % des bactéries dans le système d'eau potable sont situées sur les surfaces alors que seulement 5 % se trouvent dans l'eau en circulation (FLEMMING *et al.*, 2002).

Les observations effectuées sur les différents biofilms nous ont indiqué qu'à court terme (observations à six mois) les conduites en cuivre, en PVC et en PEHD reliées aux trois nappes n'ont pas montré la présence de bactéries cultivables. La présence de biofilms bactériens a été détectée dans les conduites en fonctionnement depuis 12 mois et plus (moyen et long terme) et cela malgré les différences de température, de débit d'écoulement, de source de forage et de traitement de désinfection. La nappe miopliocène présente un débit d'écoulement faible et une température de 25 °C, cela peut expliquer la formation du biofilm sur les échantillons de 12 mois et pas sur les autres. En effet, la température de l'eau, sa composition physicochimique et le régime hydraulique du système et ses variations (temps de séjour de l'eau, absence de variation du débit) sont susceptibles de favoriser la formation des biofilms et de modifier la composition de son microbiome (LÉ 2008; PAN *et al.*, 2017). LEHTOLA *et al.* (2004) ont étudié l'influence de la vitesse d'écoulement sur les biofilms. Les auteurs montrent que l'accélération de la vitesse d'écoulement augmente la croissance des biofilms aussi bien dans les tubes en cuivre qu'en matériau plastique. Cela entraîne une augmentation du nombre de bactéries du fait du détachement des sédiments des canalisations. Par ailleurs, plusieurs études ont montré que la stagnation ou les faibles vitesses d'écoulement favorisent la corrosion et les dépôts de

biofilms (TRICARD et BUFFAUT, 1995). Toutefois, pour un biofilm formé, un écoulement turbulent est également bénéfique en favorisant le transport des éléments nutritifs et des microorganismes (CHARACKLIS, 1984). Ceci permet le renouvellement du milieu et l'amélioration de la stabilité du biofilm (CARPENTIER et CERF, 1993). Donc, il faut plus de temps pour qu'un biofilm se forme, mais une fois sur place, ce mode de vie va protéger les bactéries de ces conditions stressantes.

Parmi les trois matériaux étudiés, le cuivre ne semble pas favoriser la formation de biofilms. En effet, et d'après nos résultats, une seule bactérie (*Streptococcus oralis*) a été retrouvée sur SC20A. Ces résultats sont en accord avec l'étude de LÉ (2008) qui a démontré dans un système expérimental à petite échelle, l'existence d'une corrélation entre l'utilisation du matériau en cuivre et le ralentissement de la cinétique de formation des biofilms. La réduction de la production de produits extracellulaires de la matrice est la principale cause induisant cette inhibition. En effet, le cuivre induit directement ou indirectement des changements structuraux et physiologiques dans la communauté bactérienne des biofilms (BARRANGUET *et al.*, 2003; MASSIEUX *et al.*, 2004; BOIVIN *et al.*, 2005). L'effet antibactérien, et de façon plus générale, l'effet biocide du cuivre est connu et exploité depuis plusieurs décennies. Il est attribué aux ions cuivriques Cu(II) formés par oxydation du cuivre métallique (SPEAR et PIERCE, 1980). Cependant, ce matériau présente certains inconvénients comme une mauvaise résistance aux traitements chlorés et une sensibilité à l'érosion qui génère des surfaces propices à l'entartage. Selon SQUINAZI (2013), l'adsorption des bactéries à la surface s'effectue le plus souvent sur les dépôts minéraux et organiques ou à la surface de tubercules de corrosion. LEHTOLA *et al.* (2004) et LÉ (2008) ont étudié la formation des biofilms sur la surface interne des canalisations en cuivre et en PEHD dans différentes parties du réseau de distribution pilote. Les résultats montrent que la formation de biofilm sur le cuivre requiert plus de temps que sur du plastique. Le polyéthylène PEHD est considéré comme un matériau chimiquement et biologiquement inerte. De nombreuses études montrent que l'oxydation du PEHD à forte température génère des composés carbonylés favorisant ainsi sa colonisation par des microorganismes (ALBERTSSON *et al.*, 1995; CHIELLINI *et al.*, 2007). L'utilisation de ces polymères comme source de carbone par les microorganismes est facilitée par la formation d'un biofilm (HADAD *et al.*, 2005). Initialement, la nature hydrophobe du PEHD ne permet pas la fixation des microorganismes à sa surface. Après un vieillissement oxydatif, le caractère hydrophile de la surface du PEHD augmente favorisant ainsi la formation de biofilm (PONS *et al.*, 2012). Nos résultats sont en accord avec les données de cette étude. En effet, un plus grand nombre de bactéries cultivables a été retrouvé sur les matériaux PEHD âgés de 20 ans reliant les trois nappes. Aucune bactérie n'a été retrouvée sur le SPE12M et APE12M. Le troisième matériau étudié est le PVC. Dans cette étude, une grande diversité bactérienne a été retrouvée sur ce matériau âgé de 12 mois et plus pour la nappe miopliocène et principalement à 20 ans et plus pour les nappes albienne et sénonienne. Selon CHOWDHURY (2012) et LIN *et al.* (2013), les tuyauteries ayant des surfaces rugueuses comme le PVC ont tendance à favoriser la formation de biofilm. Il présente une meilleure résistance chimique, notamment au chlore (EL OMARI, 2018).

Les systèmes de distribution d'eau potable sont des environnements extrêmes avec des conditions oligotrophes où les désinfectants résiduels sont couramment entretenus. Malgré cela, les microorganismes sont capables de survivre et s'attacher aux surfaces internes des tuyaux formant des biofilms qui peuvent altérer la qualité de l'eau. Cependant, l'effet de la désinfection sur la communauté microbienne de l'eau potable reste mal compris (SIMOES *et al.*, 2007; MI *et al.*, 2015). Dans cette étude, nous avons identifié un nombre total de 33 souches bactériennes cultivables, majoritairement à Gram positif. Contrairement à nos résultats, FRANK (2001) a montré que dans les biofilms présents sur les canalisations d'eau potable, les bactéries à Gram négatif semblent prédominer. Des études ont montré que les propriétés de surface des cellules microbiennes varient en fonction des conditions environnementales dans lesquelles elles se trouvent (VAN OSS *et al.*, 1986; BELLON-FONTAINE *et al.*, 1990; BOS *et al.*, 1999; GALLARDO-MORENO *et al.*, 2002; HAMADI *et al.*, 2004; BAYOUDH *et al.*, 2006). L'origine de ces microorganismes est souvent inconnue. Elles peuvent à la fois être d'origine interne (microorganismes qui ont pu échapper au traitement de désinfection) ou d'origine externe (par retour d'eau lors de travaux et intervention sur le réseau, à travers des fissurations dues au vieillissement des conduites, à travers des orifices mal protégés) (BOUTALEB, 2007). Afin d'étudier les biofilms en conditions expérimentales, nous avons criblé en microplaque la capacité des bactéries isolées à former des biofilms simples et mixtes. Les résultats démontrent que toutes les bactéries isolées, indépendamment de leurs origines, sont capables de former des biofilms simples. En effet, dans les systèmes de distribution d'eau potable, les biofilms sont le mode de vie prédominant de la croissance microbienne, en leur conférant de nombreux avantages : coopération dans certains systèmes cataboliques, acquisition d'avantages évolutifs, synergies entre microorganismes, expressions phénotypiques de facteurs de résistance lors de situations de stress (COSTERTON, 1999, COSTERTON *et al.*, 1999; TOMLIN *et al.*, 2005; CLUTTERBUCK *et al.*, 2007; JOUENNE, 2008; GOLLER et ROMEO, 2008; PAN *et al.*, 2009; LIU *et al.*, 2016). Afin d'étudier le biofilm mixte des bactéries cultivables isolées du même environnement, nous avons visualisé et quantifié *in vitro* ces structures. Nos expérimentations ont démontré qu'en l'espace de 48 h, un biofilm est formé. Ceci démontre l'existence d'une interaction bactérienne. La communication

entre les différentes espèces de microorganismes est favorisée par des systèmes complexes comme le *quorum sensing* (QS). Ces modes de communication contrôlent, en partie, la formation des biofilms (BJARNSHOLT *et al.*, 2005; FAZLI *et al.*, 2014). En effet, il a été démontré que les systèmes QS régulent et synchronisent des activités telles que la production d'exopolysaccharides et les matériaux cellulaires (ADN, lipides, protéines) qui façonnent la structure matrice extracellulaire et contrôlent ses propriétés physicochimiques (PARSEK et GREENBERG, 2005; DICKSCHAT, 2010; WEI et MA, 2013).

Bien que les rapports actuels indiquent l'absence de microbes dans l'eau potable en circulation, la présence de biofilms bactériens sur les parois internes, représente, sur le long terme, un risque de contamination entraînant un risque potentiel pour la santé humaine (LIU *et al.*, 2016; ABBERTON *et al.*, 2016). Plusieurs études ont montré que, comparés aux organismes planctoniques, les agents pathogènes opportunistes fécaux en biofilm peuvent survivre plus longtemps et avoir une plus grande résistance au chlore. Les microorganismes restent encapsulés dans ce biofilm. Ainsi, aux concentrations habituelles de 0,1 à 0,4 $mg \cdot L^{-1}$, près de 80 % des bactéries restent actives (BUSWELL *et al.*, 1998; PERCIVAl et WALKER, 1999; LUNEAU, 2014).

Bacillus cereus et *Enterococcus durans* sont les pathogènes les plus fréquemment retrouvés dans notre collection bactérienne. La présence d'*Escherichia coli* et *Enterococcus durans* est un indicateur de contamination fécale (CABELLI *et al.*, 1982; JUHNA *et al.*, 2007). NIEUWENHUIJSEN *et al.* (2000) ont démontré l'inefficacité des traitements chlorés classiques contre *Bacillus cereus*. Cette résistance peut s'expliquer par leur capacité à former des spores (MISTY-MARTIN *et al.*, 2017; HUSSAIN *et al.*, 2018). Les résultats de notre étude indiquent aussi la présence de *Listeria monocytogenes* qui est un agent pathogène d'origine alimentaire qui provoque la listériose (FARBER et PETERKIN, 1991; GANDHI et CHIKINDAS, 2007). VARMA et LYER (1993) ont démontré que cet agent pathogène peut survivre plusieurs jours dans l'eau.

4. CONCLUSION

Ce travail a permis de mettre en évidence la présence de biofilms bactériens dans les conduites de distribution d'eau potable et donc de l'inefficacité sur le long terme des méthodes de désinfection. Ce constat concerne principalement les conduites en PVC et en PEHD et cela pour les trois nappes étudiées. Les tuyaux en cuivre semblent défavoriser la colonisation bactérienne, mais, celui-ci associé aux traitements chlorés, pose un problème d'usure rapide engendrant des coûts de maintenance élevés. Il est donc intéressant d'étudier de nouvelles stratégies d'assainissement de l'eau plus efficaces et moins agressives.

Ce travail est basé sur les échantillons de biofilms de réseaux de distribution d'eaux potables collectés entre 2017 et 2018 dans la ville d'Ouargla, représentant le Sahara septentrional de l'Algérie. Les résultats de cette première étude ont révélé qu'à priori, les matériaux étudiés sont quasiment tous potentiellement porteurs d'un développement bactérien, lequel est plus ou moins développé selon la nature et l'âge des conduites, le débit et la qualité d'eau. Le cuivre se caractérise par une formation de biofilm et une diversité bactérienne la plus faible. Pour cela, nous pourrons suggérer d'opter pour les installations de conduites à base de cuivre, tout en établissant un programme régulier de renouvellement, car ces conduites se fragilisent ou se dégradent au cours du temps.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient M. Frédérique (Faculté de la médecine vétérinaire, Université de Montréal) pour le traitement des images par la microscopie confocale à balayage laser (FV1000 IX81, Olympus, Markham, ON, Canada) et ses conseils sur l'utilisation de logiciel Fluoview pour la visualisation des structures 3D des biofilms, et l'Algérienne des eaux (ADE) d'Ouargla pour les données fournies.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ABBERTON C.L., L. BERESCHENKO, P.W.J. VAN DER WIELEN et C.J. SMITH (2016). Survival, biofilm formation, and growth potential of environmental and enteric *Escherichia coli* strains in drinking water microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 82, 5320-5331.

ALBERTSSON A.C., C. BARENSTEDT, S. KARLSSON et T. LINDBERG (1995). Degradation product pattern and morphology changes as means to differentiate abiotically and biotically aged degradable polyethylene. *Polymer*, 36, 3075-3083.

ALLION A., S. LASSIAZ, L. PEGUET, P. BOILLOT et S. JACQUES (2011). A long-term study on biofilm development in drinking water distribution system: comparison of stainless steel grades with commonly used materials. *Rev. Métall.*, 108, 259-268.

BARRANGUET C., F.P. VAN DEN ENDE, M. RUTGERS, A.M. BREURE, M. GREIJDANUS, J.J. SINKE et W. ADMIRAAL (2003). Copper-induced modifications of the trophic relations in riverine algal-bacterial biofilms. *Environ. Toxicol. Chem.*, 22, 1340-976.

BAYOUDH S., A. OTHMANE, F. BETTAIEB, A. BAKHROUF, H. BEN OUADA et L. PONSONNET (2006). Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Mater. Sci. Eng. C*, 26, 300-305.

BELLON-FONTAINE M.N., N. MOZES, H.C. VAN DER MEI, O.S. JOLLEMA, P.G. CERF-ROUXHET et H.J. BUSSCHER (1990). A comparison of thermodynamic approaches to predict the adhesion of dairy microorganisms to solid substrata. *Cell Biophys.*, 17, 93-106.

BJARNSHOLT T., P. JENSEN, M. BURMOLLE, M. HENTZER, J.A. HAAGENSEN, H.P HOUGEN, H. CALUM, K.G. MADSEN, C. MOSER, S. MOLIN, N. HOIBY et M. GIVSKOV (2005). *Pseudomonas aeruginosa* tolerance to tobramycin, hydrogen peroxyde and polymorphonuclear leukocytes is quorum-sensing dependent. *Microbiology*, 151, 373-383.

BOIVIN M.E., B. MASSIEUX, A.M. BREURE, F.P. VAN DEN ENDE, G.D. GREVE, M. RUTGERS et W. ADMIRAAL (2005). Effects of copper and temperature on aquatic bacterial communities. *Aquat. Toxicol. Mar.*, 71, 345-56.

BOS R., H.C. VAN DER MEI et H.J. BUSSCHER (1999). Physico-chemistry of initial microbial adhesive interactions - its mechanisms and methods for study. *FEMS Microbiol. Rev.*, 23,179-230.

BOUTALEB N. (2007). *Étude de la formation de biofilms sur les surfaces de matériaux couramment utilisés dans les canalisations d'eau potable.* Thèse de doctorat, Univ. Bretagne-Sud, France, 194 p.

BUSE H.Y., M.E. SCHOEN et N.J. ASHBOLT (2012). *Legionellae* in engineered systems and use of quantitative microbial risk assessment to predictexposure. *Water. Res.*, 46, 921-933.

BUSWELL C.M., Y.M. HERLIHY, L.M. LAWRENCE, J.T. MCGUIGGAN M, P.D. MARSH, C.W. KEEVIL et S.A. LEACH (1998). Extended survival and persistence of *Campylobacter* spp. in water and aquatic biofilms and their detection by immunofluorescent-antibody and -rRNA staining. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64, 733-741.

CABELLI V., A.P. DUFOUR, L.J. MCCABE et M.A. LEVIN (1982). Swimming-associated gastroenteritis and water quality. *Am. J. Epidemiol.*, 115, 606-616.

CAMERON M., H.W. BARKEMA, J. DE BUCK, S. DE VLIEGHER, M. CHAFFER, J. LEWIS et G. KEEFE (2016). Identification of bovine-associated coagulase-negative staphylococci by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry using a direct transfer protocol. *J. Dairy Sci.*, 100, 2137-2147.

CARPENTIER B. et O. CERF (1993). Biofilms and their consequences, with particular reference to hygiene in the food industry. *J. Appl. Bacteriol.*, 75, 499-511.

CHARACKLIS W.G. (1984). Biofilm development: A process analysis. Dans : *Microbial adhesion and aggregation*. MARSHALL K.C. (éd.), Dahlem Konferenzen 1984, Heidelberg, Springer-Verlag, Berlin, Allemagne, pp. 137-157.

CHIELLINI E., A. CORTI et S. D'ANTONE (2007). Oxo-biodegradable full carbon backbone polymers - biodegradation behaviour of thermally oxidized polyethylene in an aqueous medioum. *Polym. Degrad. Stabil.*, 92, 1378-1383.

CHOWDHURY S. (2012). Heterotrophic bacteria in drinking water distribution: A review. *Environ. Monit. Assess.*, 184, 6087-6137.

CLUTTERBUCK A.L., E.J. WOODS, D.C. KNOTTENBELT, P.D. CLEGG, C.A. COCHRANE and S.L. PERCIVAL (2007). Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet. Microbiol.*, 121, 1-17.

COSTERTON J.W. (1999). Introduction to biofilm. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 11, 217-221.

COSTERTON J.W., P.S. STEWART, E.P. GREENBERG (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284, 1318-1322.

DICKSCHAT J.S. (2010). Quorum sensing and bacterial biofilms. *Nat. Prod. Rep. Mar.*, 27, 343-369.

DIRECTION NATIONALE DE L'EAU POTABLE ET DE L'ASSAINISSEMENT (DINEPA) (2013). G*uide technique. Réhabilitation/remplacement des réseaux d'eau potable.* DINEPA, UNICEF, République d'Haïti, 58 p.

DOUTERELO I., R.L. SHARPE et J.B. BOXALL (2013). Influence of hydraulic regimes on bacterial community structure and composition in an experimental drinking water distribution system. *Water. Res.*, 47, 503-516.

DOUTERELO I., J.B. BOXALL, P. DEINES, R. SEKAR et K.E. FISH (2014a). Methodological approaches for studying the microbial ecology of drinking water distribution systems. *Water. Res.*, 65, 134-156.

DOUTERELO I., S. HUSBAND et J.B. BOXALL (2014b). The bacteriological composition of biomass recovered by flushing an operational drinking water distribution system. *Water. Res.*, 54, 100-114.

EL OMARI H., N. BOUTALEBE, M. MEKOUAR, S. LAZAR, S. EL ANTRI et B. BAHLAOUAN (2018). Canalisations d'eau potable : une nouvelle formulation de tubes PVC anti-biofilm. *L'Eau, L'Industrie, Les Nuisances,* 405, 90-95.

FARBER J.M. et P.I. PETERKIN (1991). *Listeria monocytogenes*, a food-borne pathogen. *Microbiol. Rev.*, 55, 476-511.

FAZLI M., H. ALMBLAD, M.L. RYBTKE, M. GIVSKOV, L. EBERL et T. TOLKER-NIELSEN (2014). Regulation of biofilm formation in *Pseudomonas* and *Burkholderia* species. *Environ. Microbiol.*, 16, 1961-1981.

FLEMMING H.C., S.L. PERCIVAL et J.T. WALKER (2002). Contamination potential of biofilms in water distribution systems. *Water Sci. Tech.*, 2, 271-280.

FRANK J.F. (2001). Microbial attachment to food and food contact surfaces. *Adv. Food. Nutr. Res.*, 43, 319-369.

GALLARDO-MORENO A.M., M.L. GONZALEZ-MARTIN, C. PÉREZ-GIRALDO, E. GARDUNO, J.M. BRUQUE et A.C. GOMEZ-GARCIA (2002). Thermodynamic analysis of growth temperature dependence in the adhesion of *Candida parapsilosis* to polystyrene. *App. Environ. Microbiol.*, 68, 2610-2613.

GANDHI M. et M.L. CHIKINDAS (2007). *Listeria*: a foodborne pathogen that knows how to survive. *Int. J. Food. Microbiol.*, 113, 1-15.

GOLLER C.C. et T. ROMEO (2008). Environmental influences on biofilm development. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 322, 37-66.

GOMEZ-ALVAREZ V., K.A. SCHRANTZ, J.G. PRESSMAN et D.G. WAHMAN (2014). Biofilm community dynamics in bench-scale annular reactors simulating arrestment of chloraminated drinking water nitrification. *Environ. Sci. Technol.*, 48, 5448-5457.

GOETZ C., Y.D.N. TREMBLAY, D. LAMARCHE, A. BLONDEAU, A.M. GAUDREAU, J. LABRIE, F. MALOUIN et M. JACQUES (2017). Coagulase-negative staphylococci species affect biofilm formation of other coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci. *J. Dairy Sci.*, 100, 6454-6464.

HADAD D.S., A. GERESH et J. SIVAN (2005). Biodegradation of polyethylene by the thermophilic bacterium *Brevibacillus borstelensis. Appl. Microbiol.*, 98, 1093-1100.

HAMADI F., H. LATRACHE, A. EL GHMARI, M. ELLOUALI, M. MABRROUKI et N. KOUIDER (2004). Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and electron acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Ann. Microbiol.*, 54, 213-225.

HAMDI-AÏSSA B. (2001). *Le fonctionnement actuel et passé de sols du nord Sahara (cuvette de Ouargla). Approches micromorphologique, géochimique et minéralogique et organisation spatiale.* Thèse de doctorat, Institut National Agronomique Paris-Grignon, France, 190 p.

HUSSAIN M.S., M. KWON et D.H. OH (2018). Impact of manganese and heme on biofilm formation of *Bacillus cereus* food isolates. PLOS ONE, 13, Art. e0200958. DOI: 10.1371/journal.pone.0200958

JOUENNE T. (2008). *Biofilms bactériens.* Techniques de l'Ingénieur, Bioprocédés, base documentaire, Réf. : BIO600 v1.

JOURNAL OFFICIEL DE LA RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE (JORADP) (2011). *Paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine.* JORADP N° 18, 23 mars 2011, pp. 7-9.

JUHNAT., D. BIRZNIECE, S. LARSSON, D. ZULENKOVS, A. SHARIPO, N.F. AZEVEDO, F.MENARD-SZCZEBARA, S. CASTAGNET, C. FELIERS et C.W. KEEVIL (2007). Detection of *Escherichia coli* in biofilms from pipe samples and coupons in drinking water distribution networks. *Appl. Environ. Microbiol.*, 73:7456-7464.

KRISHNA K.C.B., A. SATHASIVAN et M.P. GINIGE (2013). Microbial community changes with decaying chloramine residuals in a lab-scale system. *Water. Res.*, 47, 4666-4679.

LÉ V. (2008). *Influence du cuivre sur les biomasses microbiennes dans les canalisations d'eau.* Thèse de doctorat, Univ. Paris-Sud 11, France, 80 p.

LEE D.G., J.H. LEE et S.J. KIM (2005). Diversity and dynamics of bacterial species in a biofilm at the end of the Seoul water distribution system. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 21, 155-162.

LEHTOLA M.J., I.T. MIETTINEN, M.M. KEINANEN, T.K. KEKKI, O. LAINE, A. HIRVONEN, T. VARTIAINEN et P.J. MARTIKAINEN (2004). Microbiology, chemistry and biofilm development in a pilot drinking water distribution system with copper and plastic pipes. *Water. Res.*, 38, 3769-79.

LIN W., Z. YU, X. CHEN, R. LIU et H. ZHANG (2013). Molecular characterization of natural biofilms from household taps with different materials: PVC, stainless steel, and cast iron in drinking water distribution system. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 97, 8393-8401.

LIU G., Y. ZHANG, W.J. KNIBBE, C. FENG, W. LIU, G.MEDEMA et W. VAN DER MEER (2017). Potential impacts of changing supply-water quality on drinking water distribution: A review. *J. Water Res.*, 116, 135-148.

LIU S., C. GUNAWAN, N. BARRAUD, S.A. RICE, E.J. HARRY et R. AMAL (2016). Understanding, monitoring and controlling biofilm growth in drinking water distribution systems. *Environ. Sci. Technol.*, 50, 8954-8976.

LUNEAU S. (2014). Réseaux d'eau potable : surveiller les biofilms pour mieux les maîtriser. https://www.lagazettedescommunes.com/234658/reseaux-deau-potable-surveiller-les-biofilms-pour-mieux-les-maitriser/ (consultation le 13 février 2019).

MARCIANO-CABRAL F., M. JAMERSON et E.S. KANESHIRO (2010). Free-living amoebae, *Legionella* and *Mycobacterium* in tap water supplied by a municipal drinking water utility in the USA. *J. Water Health*, 8, 71-82.

MASSIEUX B., M.E. BOIVIN, F.P. VAN DEN ENDER, J. LANGENSKIOLD, P. MARVAN, C. BARRANGUET, W. ADMIRAAL, H.J. LAANBROEK et G. ZWART (2004). Analysis of structural and physiological profiles to assess the effects of Cu on biofilm microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 4512-4521.

MAULE A., J.T. WALKER et C.W. KEEVIL (1999). *The survival of Escherichia coli O157 in biofilms on copper, stainless steel and plastic plumbing materials and as dried deposits on copper, stainless steel and brass.* Rapport final CAMR (Center for Applied Microbiology and Research), International Copper Association, Project 483, Royaume-Uni, 91 p.

MI Z., Y. DAI, S. XIE, C. CHEN et X. ZHANG (2015). Impact of disinfection on drinking water biofilm bacterial community. *J. Environ. Sci.*, 37, 200-205.

MISTY-MARTIN S., C. INÊS-SANTOS, D. DOUG-CARLTON Jr, P. STIGLER-GRANADOS, L. ZACARIAH HILDENBRAND et A. KEVIN-SCHUG (2017). Characterization of bacterial diversity in contaminated groundwater using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J. Sci. Total. Environ.*, 622–623, 1562-1571.

NAWROCKI J., U. RACZYK-STANISLAWIAK, J. SWIETLIK, A. OLEJNIK et M.J. SROKA (2010). Corrosion in a distribution system: steady water and its composition. *Water. Res.*, 44, 1863-1872.

NIEUWENHUIJSEN M.J., M.B. TOLEDANO, N.E. EATON, J. FAWELL et P. ELLIOTT (2000). Chlorination disinfection byproducts in water and their association with adverse reproductive outcomes: a review. *Occup. Environ. Med.*, 57, 73-85.

PAN J., J.R. WILLIAM, A.E. MARC et P. AMY (2017). Impact of water heater temperature setting and water use frequency on the building plumbing microbiome. *ISME J.*, 11, 1318-1330.

PAN Y., F. BREIDT et S. KATHARIOU (2009). Competition of *Listeria monocytogenes* serotype 1/2a and 4b strains in mixed-culture biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75, 5846-5852.

PARK S.K. et J.Y. HU (2010). Interaction between phosphorus and biodegradable organic carbon on drinking water biofilm subject to chlorination. *J. Appl. Microbiol.*, 108, 2077-2087.

PARSEK M.R. et E.P. GREENBERG (2005). Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends Microbiol.*, 13, 27-33.

PERCIVAL S.L. et J.T. WALKER (1999). Potable water and biofilms: A review of the public health implications. *Biofouling*, 14, 99-115.

PONS C., F. FARCAS, E. RICHAUD, B. FAYOLLE, T. BOUCHEZ et L. MAZEAS (2012). Influence de la préoxydation d'un PEHD sur l'extraction des carbonyles et la croissance d'un bioflm. *Mat. Tech.*, 100, 211-220.

RODIER J. (2009). *L'Analyse de l'eau : eaux naturelles, eaux résiduaires et eaux de mer.* 9e éd., Dunod, Paris, France, 1384 p.

ROGERS J., A.B. DOWSETT, P.J. DENNIS, J.V. LEE et C.W. KEEVIL (1994). Influence of plumbing materials on biofilm formation and growth of *Legionella pneumophila* in potable water systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, 60, 1842-1851.

SIMOES L.C., M. SIMOES, R. OLIVEIRA et M.J. VIEIRA (2007). Potential of the adhesion of bacteria isolated from drinking water to materials. *J. Basic. Microbiol.*, 47, 174-183.

SPEAR C. et R.C. PIERCE (1980). *Le cuivre dans l'environnement aquatique : chimie, répartition et toxicologie.* Conseil national de recherche du Canada, Publications du Secrétariat à l'Environnement, N° 16455, Ottawa, Canada, 249 p.

SQUINAZI F. (2013). *Biofilm et matériaux des réseaux intérieurs de distribution d'eau*. Éd. 2013, Docteur Fabien Squinazi, 103 p.

TENG F., Y.T. GUAN et W.P. ZHU (2008). Effect of biofilm on cast iron pipe corrosion in drinking water distribution system: Corrosion scales characterization and microbial community structure investigation. *Corros. Sci.*, 50, 2816-2823.

TOMLIN K.L., R.J. MALOTT, G. RAMAGE, D.G. STOREY, P.A. SOKOL et H. CERI (2005). Quorum-sensing mutations affect attachment and stability of *Burkholderia cenocepacia* biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 5208-5218.

TRICARD D. et P. BUFFAUT (1995). Interprétation et communication des résultats au regard des normes microbiologiques relatives aux eaux destinées à la consommation humaine. *TSM*, 3,196-199.

VAN OSS C.J., R.J. GOOD et M.K. CHAUDHURY (1986). The role of van-der-Waals forces and hydrogen bonds in hydrophobic interactions between biopolymers and low energy surfaces. *J. Col. Inter. Sci.*, 11, 378-390.

VARMA P.R.G. et T.S.G. LYER (1993). Viability of *Listeria monocytogenes* in water. *Fishery Technol.*, 30, 164-165.

WALKER J.T., J. ROGERS et C.W. KEEVIL (1993). *The influence of plumbing tube material, water chemistry and temperature on biofouling of plumbing circuits with particular reference to the colonization of Legionella pneumophila.* Annual report, ICA Project 437 A, États-Unis, 52 p.

WANG H., S. MASTERS, M.A. EDWARDS, J.O. FALKINHAM et A. PRUDEN (2014). Effect of disinfectant, water age, and pipe materials on bacterial and eukaryotic community structure in drinking water biofilm. *Environ. Sci. Technol.*, 48, 1426-1435.

WEI Q. et L.Z. MA (2013). Biofilm matrix and its regulation in *Pseudomonas aeruginosa. Int. J. Mol. Sci.*, 14, 20983-21005.

WU M., Y. QIAN, J.M. BOYD, S. LEAVEY et S.E. HRUDEY (2014). Identification of tobacco-specific nitrosamines as disinfection byproducts in chloraminated water. *Environ. Sci. Technol.*, 48, 1828-1834.

XUE Z. et Y. SEO (2013). Impact of chlorine disinfection on redistribution of cell clusters from biofilms. *Environ. Sci. Technol.*, 47, 1365-1372.

ZENG D.N., Z.Y. FAN, L. CHI, X. WAN et W.D. QU (2013). Analysis of the bacterial communities associated with different drinking water treatment processes. *World. J. Microbiol. Biotechnol.*, 29, 1573-1584.