

**République Algérienne Démocratique Et Populaire**  
**Ministère De L'enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique**  
**Université Salah BOUBNIDER- Constantine 3**  
**Faculté de Médecine**  
**Département De Pharmacie**



**Thèse De Doctorat En Vue De L'obtention Du Diplôme De Docteur En Sciences Médicales**

# **Évaluation des propriétés biocides du cuivre et son impact sur la baisse des infections associées aux soins.**

**Présenté par :**

**Dr Meriem DERRADJ**

**Maitre Assistante En Chimie Minérale Pharmaceutique**

**Directeur de thèse :**

**Pr. Allaoua Hicham FENDRI**

Faculté De Médecine De Constantine

**Président du Jury :**

**Pr. Abdelali MERAH**

Faculté De Médecine d'Annaba

**Membres de Jury :**

**Pr. Chafia BENTCHOUALA**

Faculté De Médecine De Constantine

**Pr. Nadir BOUSSOUF**

Faculté De Médecine De Constantine

**Pr. Badreddine ALLOUACHE**

Faculté De Médecine De Constantine

**Année 2024**

# ***REMERCIEMENTS***

Ce travail de thèse a été effectué au sein du laboratoire central de l'établissement hospitalier Didouche Mourad. Je tiens à adresser mes vifs remerciements à son médecin chef, Monsieur Allaoua Hicham FENDRI, professeur en parasitologie et mycologie à la faculté de médecine de Constantine, qui m'a fait l'honneur d'encadrer cette thèse. Qu'il soit remercié pour son aide précieuse, sa gentillesse et surtout pour avoir mis à ma disposition toutes les conditions nécessaires à la réalisation de ce travail.

J'aimerais également remercier le président du jury Monsieur Abdelali MERAH, professeur en chimie minérale pharmaceutique à la faculté de médecine d'Annaba, d'avoir accepté de présider le jury de ce travail de thèse. Qu'il soit remercié et assuré de mon respectueux dévouement.

Mes remerciements sont destinés également aux membres du jury Pr. Chafia BENTCHOUALA, Pr. Nadir BOUSSOUF et Pr. Badreddine ALLOUACHE qui m'ont fait l'honneur d'évaluer ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mes chaleureux remerciements s'adressent également au personnel du laboratoire central de l'EH Didouche Mourad et en particulier Dr H.SALHI, Dr M. LETLOUT, Dr I. BOUKHDENA, Dr N. KERIBAA et Dr M. NAMOUS pour leurs soutiens dans les manipulations et leur collaboration pendant mes expériences au laboratoire.

Je tiens à remercier professeur S. BENSALÉM, chef de service de médecine interne, et professeur S. TALEB, chef de service de pédiatrie, de m'avoir accueillie dans leurs services. J'adresse également toute ma sympathie à tout le personnel médical et paramédical de ces deux services.

# ***DEDICACES***

*Je dédie ce travail*

*A ma très chère mère*

*Quoi que je dise, je ne pourrais exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte. Tu m'as donné la tendresse et le courage pour réussir. Je t'aime tellement maman.*

*A mon cher mari NAZIM*

*Merci pour ton amour, ta compréhension et ta grande patience, tu m'as encouragée et m'as soutenue tout au long de ce travail. Que dieu te préserve pour moi*

*A ma chère fille LYNE*

*Depuis le jour que tu es arrivée, ma princesse, tu éclaires ma vie d'une douce lumière. Tu es mon rayon de soleil, mon bijou le plus précieux et ma raison d'exister. L'amour que j'éprouve pour toi est infini mon bébé.*

*A ma famille, ma belle famille et mes proches*

*Ceux qui m'ont chaleureusement supportée et encouragée.*

*Ceux qui ont partagé avec moi tous les moments forts lors de la réalisation de ce travail.*

*A mes amis*

*Qui m'ont toujours encouragée, et à qui je souhaite plus de succès.*

# SOMMAIRE :

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction .....	1
Partie théorique et recherche bibliographique.....	3
1. Généralités sur le cuivre .....	4
1.1. Historique .....	4
1.2. La place du cuivre dans le tableau périodique .....	5
1.3. Le cuivre à l'état naturel .....	6
1.4. L'extraction du cuivre.....	8
1.4.1. La Pyrométallurgie du cuivre .....	8
1.4.2. L'Hydrométallurgie du cuivre .....	8
1.5. Les alliages de cuivre .....	9
1.6. Les propriétés physicochimiques du cuivre.....	10
1.6.1 Les Isotopes du cuivre.....	10
1.6.2. Les propriétés physiques et mécaniques du cuivre.....	10
1.6.3. Les propriétés chimiques du cuivre.....	11
1.6.3.1. Action de l'air .....	11
1.6.3.2. Réactions avec les acides .....	12

1.6.3.3. Réaction avec l'ammoniaque .....	12
1.6.3.4. Réactions avec les halogènes .....	13
1.6.3.5. Réaction avec les sulfures.....	13
1.6.3.6. Réactions avec les métaux et les ions métalliques .....	13
1.6.3.7. Formation des complexes.....	14
1.7. Le cuivre dans le corps humain .....	15
1.7.1. Les besoins.....	15
1.7.2. Le métabolisme du cuivre.....	15
1.7.2.1. Absorption .....	15
1.7.2.2. Transport sanguin et distribution tissulaire .....	16
1.7.2.3. Excrétion .....	16
1.7.3. Le rôle physiologique du cuivre .....	16
1.7.4. La carence en cuivre.....	17
1.7.4.1. Les carences acquises en cuivre. ....	17
1.7.4.2. Le syndrome de Menkès.....	18
1.7.5. Toxicité du cuivre.....	19
2. Les propriétés antimicrobiennes du cuivre .....	20
2.1 Action du cuivre sur les champignons .....	20
2.2 Action du cuivre sur les bactéries .....	21
2.2.1 <i>Escherichia coli</i> .....	21
2.2.2 <i>SARMs</i> .....	22

2.2.3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	23
2.2.4 <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	24
2.2.5 Entérocoques .....	24
2.2.6 <i>Acinetobacters</i> .....	25
2.2.7 <i>Clostridium difficile</i> .....	26
2.3 Action du cuivre sur les virus .....	27
2.3.1 Les virus influenzae .....	27
2.3.2 Les norovirus .....	28
3. Les mécanismes d'action du cuivre contre les microorganismes .....	30
3.1. La génération d'espèces réactives d'oxygène .....	30
3.2. L'altération de la membrane cytoplasmique .....	32
3.3. La destruction de l'ADN .....	33
3.4. La désintégration des clusters fer-soufre .....	33
3.5. L'agrégation des protéines .....	34
3.6. Déroulement du processus de toxicité du cuivre .....	37
4. Les mécanismes de régulation de l'homéostasie du cuivre chez les microorganismes .....	37
4.1. Régulation de l'homéostasie du cuivre chez les bactéries à Gram négatif.....	38
4.2. Régulation de l'homéostasie du cuivre chez les bactéries à Gram positif .....	39
4.3. Régulation de l'homéostasie du cuivre chez les levures.....	39
5. Surfaces environnementales et infections associées aux soins .....	40

## **Partie pratique**

Matériel et Méthodes.....	43
1. Matériel .....	45
1.1. Eléments métalliques .....	45
1.2. Matériel biologique.....	45
1.3. Milieux de culture .....	46
1.4. Réactifs utilisés pour la coloration de Gram.....	47
1.5. Tests biochimiques pour l'identification des bactéries .....	48
1.6. Matériel du laboratoire.....	48
1.7. Logiciels et bases de données.....	49
2. Méthodes.....	49
2.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne des coupons de cuivre in vitro .....	49
2.1.1. Evaluation de l'activité antibactérienne des coupons de cuivre in vitro.....	50
2.1.1.1. Repiquage des souches bactériennes conservées.....	50
2.1.1.2. Préparation des suspensions bactériennes à inoculer .....	51
2.1.2.3. Détermination de la densité des suspensions bactériennes à inoculer.....	51
2.1.1.4. Inoculation des souches bactériennes sur les surfaces à tester .....	52
2.1.1.5. Remise en suspension des flores viables, ensemencement et dénombrement des	

colonies.....	52
2.1.2. Evaluation de l'activité antifongique des coupons de cuivre in vitro .....	53
2.1.2.1 Préparation des suspensions fongique à inoculer.....	53
2.1.2.2. Détermination de la densité des suspensions fongiques à inoculer.....	54
2.1.2.3. Inoculation des souches fongiques sur les surfaces à tester.....	54
2.1.1.4. Remise en suspension des flores viables, ensemencement et lecture.....	55
2.2. Etude de l'activité antimicrobienne du cuivre in situ au niveau des services hospitaliers....	56
2.2.1. Installation des surfaces en cuivre .....	56
2.2.2. Prélèvements microbiologiques in situ au niveau des services hospitaliers.....	60
2.2.2.1. Les surfaces à prélever .....	60
2.2.2.2. Le protocole de prélèvement .....	60
2.2.2.3. Mise en culture, dénombrement et identification des flores bactérienne et fongique .....	61
2.2.2.3.1. Recherche des bactéries dans les prélèvements de surfaces .....	62
2.2.2.3.2. Recherche des champignons dans les prélèvements de surfaces.....	62
2.3. Etude de la résistance bactérienne au cuivre .....	64
2.3.1. Prélèvement des pièces de monnaie .....	64

2.3.2. Mise en culture .....	65
2.3.3. Dénombrement et identification .....	65
2.3.4. Test de survie sur du cuivre pur .....	65
2.3.4.1. Préparation des suspensions bactériennes à inoculer .....	65
2.3.4.2. Inoculation des souches bactériennes sur du cuivre pur.....	65
2.3.4.3. Remise en suspension des bactéries viables, ensemencement et lecture.....	66
Résultats.....	67
1.Etude de l'efficacité antimicrobienne des coupons de cuivre in vitro .....	68
1.1.Etude de l'efficacité antibactérienne des coupons de cuivre in vitro .....	68
1.1.1.Action du cuivre sur des bacilles à Gram négatif.....	68
1.1.2.Action du cuivre sur des cocci à Gram positif.....	73
1.2.Etude de l'efficacité antifongique des coupons de cuivre in vitro.....	75
1.2.1. Action du cuivre sur <i>Candida albicans</i> .....	75
1.2.2. Action du cuivre sur <i>Penicillium sp</i> .....	77
1.2.3. Action du cuivre sur <i>Aspergillus fumigatus</i> .....	78
2. Etude de l'efficacité antimicrobienne du cuivre in situ au niveau des services hospitaliers.....	78

2.1. Etude de l'efficacité antibactérienne du cuivre in situ au niveau des services hospitaliers.....	78
2.1.1. Comparaison des taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards.....	78
2.1.2. Comparaison des charges des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	79
2.1.3. Comparaison des niveaux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards.....	81
2.1.4. Comparaison des charges des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans chaque service.....	83
2.1.5. Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards selon les différentes zones.....	84
2.1.6. Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards selon les différents objets.....	89
2.1.7. Comparaison de la fréquence des différentes espèces bactériennes identifiées sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	90
2.1.8. Comparaison des charges des entérobactéries, entérocoques et staphylocoques sur les surfaces en cuivre et sur les surfaces standards.....	92
2.1.9. Evaluation de la variation de l'efficacité antibactérienne des surfaces en cuivre après huit semaines du premier prélèvement.....	94
2.2. Etude de l'efficacité antifongique du cuivre in situ au niveau du service de médecine interne.....	95

2.2.1. Comparaison des taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards par les espèces fongiques.....	97
2.2.2. Comparaison des nombres d'espèces fongiques identifiées sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	97
2.2.3. Comparaison de la fréquence des différentes espèces fongiques identifiées sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	98
2.2.4. Evaluation de la variation de l'efficacité antifongique des surfaces en cuivre après huit semaines du premier prélèvement.....	100
3. Etude de la résistance bactérienne au cuivre.....	102
Discussion.....	105
Conclusions et perspectives.....	120
Annexes	
Références bibliographiques	
Résumé	

## **LISTE DES ABREVIATIONS :**

**ADH** : Arginine-dihydrolase

**ADN** : Acide désoxyribonucléique.

**ARN** : Acide ribonucléique.

**ATP7A**: ATPase copper transporting alpha

**ATP7B** : ATPase copper transporting beta.

**BCS** : Bathocuproine disulfonate.

**BGN** : Bacille à gram négatif.

**BHIB** : Bouillon cœur-cervelle ( Brain Heart Infusion Broth).

**BLSE** : Bêta-lactamase à spectre élargi.

**BMR**: Bactérie multi-résistante.

**CCLIN** : Centres de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales.

**CTR1**: Cell membrane transport 1

**DMT1** : Divalent metal transporter 1

**DZR** : Laiton résistant à la dézincification (dezincification- resistant Brass).

**EASAC**: European academies science advisory council.

**EBLSE** : Entérobactérie sécrétrice de bêta-lactame à spectre élargi.

**ECDC**: European centre for disease prevention and control.

**EDTA** : Acide éthylène diamine tétraacétique.

**EH** : Etablissement hospitalier

**ERV** : Entérocoque résistant à la vancomycine.

**HCSP** : Haut conseil de santé publique.

**IAS** : Infection associée aux soins.

**LDC** : Lysine-décarboxylase.

**MCO** : Multicopper oxydase

**ODC** : Ornithine-décarboxylase.

**OMS** : Organisation mondiale de la santé.

**PBS**: Tampon phosphate salin (Phosphate-Buffered Saline).

**PCR** : Réaction en chaîne par polymérase.

**PGM-MB-RT-qPCR** : Porcine gastric mucin binding reverse transcriptase quantitative PCR.

**PVC** : Polychlorure de vinyle.

**Raisin**: Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales.

**RND** : Resistance nodulation cell division

**ROS** : Espèce réactives d'oxygène (reactive oxygen species).

**RT-qPCR** : Reverse transcriptase quantitative PCR.

**SARM** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.

**SDS-PAGE** : Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis

**SOD** : Superoxyde dismutase.

**SpO<sub>2</sub>** : Saturation pulsée en oxygène.

**TSI** : Triple Sugar Iron.

**UFC** : Unité formant colonie.

## **LISTES DES FIGURES :**

<b>Figure 01 :</b> La place du cuivre dans le tableau périodique.....	6
<b>Figure 02 :</b> Malachite.....	7
<b>Figure 03 :</b> Azurite.....	7
<b>Figure 04 :</b> Propriétés atomiques du cuivre.....	10
<b>Figure 05 :</b> Mécanisme antimicrobien du cuivre en conditions anaérobies.....	35
<b>Figure 06 :</b> Schéma du mécanisme de toxicité du cuivre.....	36
<b>Figure 07 :</b> Les mécanismes de régulation de l'homéostasie du cuivre chez les bactéries à gram négatif.....	38
<b>Figure 08 :</b> Les mécanismes de régulation de l'homéostasie du cuivre chez les bactéries à gram positif.....	39
<b>Figure 09 :</b> Photographie des coupons de cuivre .....	50
<b>Figure 10 :</b> Photographie des coupons d'inox .....	50
<b>Figure 11 :</b> photographie de deux poignées de porte recouvertes en cuivre .....	58
<b>Figure 12 :</b> photographie de deux surfaces en cuivre (20 cm*20 cm) placées dans des armoires de médicaments au niveau du service de médecine interne.....	59
<b>Figure 13 :</b> photographie de deux surfaces en cuivre (15 cm*15 cm) placées sur des chariots de soins au niveau du service de médecine interne.....	59

<b>Figure 14</b> : technique de prélèvement des surfaces.....	61
<b>Figure15</b> : Photographie des pièces de vingt dinars Algériens.....	64
<b>Figure 16</b> : Les courbes de survie d' <i>Escherichia coli</i> sur cuivre et inox.....	70
<b>Figure17</b> : Les courbes de survie de <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur cuivre et inox.....	70
<b>Figure 18</b> : Les courbes de survie de <i>Salmonella heidelberg</i> sur cuivre et inox.....	71
<b>Figure 19</b> : Les courbes de survie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur cuivre et inox.....	71
<b>Figure 20</b> : Les courbes de survie d' <i>Acinetobacter baumannii</i> sur cuivre et inox.....	72
<b>Figure 21</b> : Les courbes de survie d' <i>Enterococcus faecium</i> sur cuivre et inox.....	74
<b>Figure 22</b> : Les courbes de survie des <i>SARM</i> sur cuivre et inox.....	74
<b>Figure 23</b> : Les courbes de survie de <i>Candida albicans</i> sur cuivre et inox.....	76
<b>Figure 24</b> : Les taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards...	79
<b>Figure 25</b> : Charge des bactéries aérobies totales (UFC/100cm <sup>2</sup> ) sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	80
<b>Figure 26</b> : Répartition des niveaux de contamination sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	82
<b>Figure 27</b> : Charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans chaque service.....	84
<b>Figure 28</b> : Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards selon les différentes zones du service de médecine	

interne.....	86
<b>Figure 29 :</b> Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et sur les surfaces standards selon les différentes zones de l'unité de néonatalogie..	87
<b>Figure 30 :</b> Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et sur les surfaces standards selon les différentes zones du laboratoire central.....	88
<b>Figure 31 :</b> Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et sur les surfaces standards selon les différents objets testés.....	90
<b>Figure 32 :</b> Fréquence des différentes espèces bactériennes sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	92
<b>Figure 33 :</b> Charges des entérobactéries, entérocoques et staphylocoques sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	93
<b>Figure 34 :</b> Les taux de contamination des surfaces en cuivre lors du premier et du deuxième prélèvement.....	95
<b>Figure 35 :</b> Les taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards par les espèces fongiques.....	96
<b>Figure 36 :</b> Nombre d'espèces fongiques identifiées sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	98
<b>Figure 37 :</b> Fréquence des différentes espèces fongiques sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	100
<b>Figure 38 :</b> Les taux de contamination des surfaces en cuivre par les espèces fongiques lors du premier et du deuxième prélèvement.....	101
<b>Figure 39 :</b> Fréquence des genres bactériens sur les pièces de monnaie.....	103

## **LISTE DES TABLEAUX :**

<b>Tableau I :</b> Les charges bactériennes viables d' <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> et <i>Salmonella heidelberg</i> sur cuivre et inox à chaque temps de contact.....	68
<b>Tableau II :</b> Les charges bactériennes viables de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et d' <i>Acinetobacter baumannii</i> sur cuivre et inox à chaque temps de contact.....	69
<b>Tableau III :</b> Les charges bactériennes viables d' <i>Enterococcus faecium</i> et de <i>SARM</i> sur cuivre et inox à chaque temps de contact.....	73
<b>Tableau IV :</b> Les charges viables de <i>Candida albicans</i> sur cuivre et inox à chaque temps de contact.....	75
<b>Tableau V :</b> La survie du <i>Penicillium sp</i> sur cuivre et inox.....	77
<b>Tableau VI :</b> Les taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards.....	78
<b>Tableau VII :</b> Charge des bactéries aérobies totales (UFC/100 cm <sup>2</sup> ) sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	80
<b>Tableau VIII :</b> Répartition des niveaux de contamination sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	81
<b>Tableau IX :</b> Charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans chaque service.....	83
<b>Tableau X :</b> Charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans les différentes zones du service de médecine interne.....	85

<b>Tableau XI :</b> Charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et sur les surfaces standards dans les différentes zones de l'unité de néonatalogie.....	87
<b>Tableau XII :</b> Charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans les différentes zones du laboratoire central.....	88
<b>Tableau XIII :</b> Charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards pour les différents objets testés.....	89
<b>Tableau XIV :</b> Fréquence des différentes espèces bactériennes sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	91
<b>Tableau XV :</b> Charge des entérobactéries, entérocoques et staphylocoques sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	93
<b>Tableau XVI :</b> Les taux de contamination des surfaces en cuivre lors du premier et du deuxième prélèvement.....	94
<b>Tableau XVII :</b> Les taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards par les espèces fongiques.....	96
<b>Tableau XVIII :</b> nombre d'espèces fongiques identifiées sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	97
<b>Tableau XIX :</b> Fréquence des différentes espèces fongiques sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.....	99
<b>Tableau XX :</b> Les taux de contamination des surfaces en cuivre par les espèces fongiques lors du premier et du deuxième prélèvement.....	101
<b>Tableau XXI :</b> la charge bactérienne moyenne par pièce de monnaie.....	102
<b>Tableau XXII :</b> Fréquence des genres bactériens sur les pièces de monnaie.....	102

<b>Tableau XXIII :</b> les durées de survie des souches isolées des pièces de monnaie et des souches de laboratoire sur du cuivre pur.....	103
--	-----

## INTRODUCTION

---

Les infections associées aux soins (IAS) représentent un problème de santé publique majeur qui fait peser une lourde charge sur les systèmes sanitaires et l'économie. En raison de l'apparition et la propagation des souches bactériennes résistantes aux antibiotiques, l'antibiothérapie seule n'est plus suffisante. Il est donc nécessaire de renforcer les mesures préventives afin de réduire la transmission des germes [1].

Les surfaces environnementales jouent un rôle primordial dans la propagation des IAS. Ces surfaces sont définies comme étant toute surface pouvant être touchée par les patients, le personnel médical ou les visiteurs de malades [2]. En effet, dans plus d'un cas sur trois, les IAS sont contractées ou transmises suite à un contact avec des objets ou des surfaces contaminées par des agents pathogènes [3].

Pour diminuer la contamination de l'environnement hospitalier, une solution pourrait être envisagée est celle du remplacement des matériaux habituellement utilisés sur les surfaces environnementales par un autre matériau qui aurait des propriétés antimicrobiennes permettant d'éliminer les microorganismes entrant en contact direct avec ces surfaces [2].

Différentes études ont testé le pouvoir antimicrobien de plusieurs métaux, tel que l'argent et le titane. Cependant, le métal qui démontre les résultats les plus prometteurs est le cuivre [2]. Les propriétés antimicrobiennes du cuivre sont connues depuis l'Antiquité. En effet, un intérêt croissant s'est porté sur ce métal depuis plus d'une décennie. Ses propriétés biocides ont fait l'objet de nombreuses études publiées portant sur l'efficacité de ce matériau sur divers microorganismes [4].

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés aux propriétés antibactériennes et antifongiques du cuivre en essayant de répondre à la question à savoir si l'utilisation du cuivre comme matière couvrante des différentes surfaces environnementales pourrait être une solution efficace contre la transmission d'infections ou du moins réduire leur fréquence.

**Objectifs :**

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer l'efficacité antimicrobienne des surfaces en cuivre ainsi que l'intérêt de leur utilisation comme moyen pour la prévention et le contrôle de la transmission des IAS. Pour cela, nous étudierons conjointement les propriétés antibactériennes et antifongiques de ce métal ; *in vitro* sur plusieurs microorganismes isolés des prélèvements des malades hospitalisés au niveau de l'établissement hospitalier Didouche Mourad, et *in situ* sur les flores microbiennes colonisant des surfaces en cuivre installées dans l'environnement des malades en les comparant avec celles présentes sur les surfaces contrôles (inox, bois, plastique ..etc).

Nous avons également comme objectif secondaire d'étudier le pouvoir des bactéries à développer une résistance au cuivre lors d'un contact continu avec ce métal.

# **Partie Théorique et Recherche Bibliographique**

## **1. GENERALITES SUR LE CUIVRE :**

---

### **1.1. HISTORIQUE :**

L'usage du cuivre par les civilisations humaines date du V<sup>ème</sup> millénaire avant. J.-C. c'est le plus ancien métal utilisé par l'homme, probablement parce qu'il pouvait être trouvé à l'état natif ne nécessitant pas de fusion [5]. Dès l'an 5 000 avant l'ère chrétienne, on a trouvé des preuves archéologiques de l'existence de la fusion du cuivre et de son raffinage à partir de la malachite ou de l'azurite antérieurement à la découverte de l'or datant de 4 000 ans avant. J.-C [6]. Avec l'invention de la fusion, l'ère métallurgique a commencé et l'intérêt de la combinaison du cuivre avec d'autres métaux a été découvert [5].

Le cuivre, combiné à l'étain ou à d'autres métaux, donne lieu à « l'âge du bronze », les premières œuvres d'art en bronze émanant de la civilisation sumérienne datent de 3000 ans avant. J.-C [7]. Cependant, ce n'est qu'au deuxième millénaire avant. J.-C que l'utilisation du bronze était généralisée dans toute l'Europe. Dès l'an 1000 avant. J.-C, l'homme était capable de fondre et de forger le fer. Cette découverte a marqué le début de l'âge du fer et la fin de l'âge du bronze [5].

La première utilisation antimicrobienne du cuivre était citée dans le Smith Papyrus, un ancien livre médical égyptien, qui date de 2600 av. JC., ce métal était utilisé sous plusieurs formes (sels, oxydes, copeaux et éclats de cuivre) pour désinfecter les plaies thoraciques et pour stériliser l'eau de boisson.[8]

Les Grecs utilisaient également le cuivre pour stériliser les plaies fraîches. Ils saupoudraient ces plaies d'un mélange de sulfate de cuivre et d'oxyde de cuivre. Un autre remède désinfectant des plaies était utilisé à l'époque est celui du mélange d'oxyde de cuivre et du miel.

Les romains ont remarqué que l'utilisation des ustensiles de cuisine en cuivre prévenait la transmission des maladies infectieuses. Ils utilisaient également des canalisations en cuivre pour améliorer la qualité de l'eau potable.

Pline l'ancien (23 à 79 après JC), un écrivain et naturaliste romain, a décrit plusieurs remèdes à base de cuivre. À cette époque, le mélange d'oxyde de cuivre noir et du miel était utilisé pour traiter les vers intestinaux, désinfecter le nez et comme purgatif de l'estomac.

A l'époque moderne, une observation publiée en 1867 a rapporté que les chaudronniers de cuivre étaient "immunisés" contre la choléra lors des épidémies de 1832, 1849 et 1852 à Paris.[8]. En 1895, une revue sur l'action pharmacologique des composés de cuivre a été publiée. Dans cette revue, on a cité l'utilisation de l'arséniat de cuivre dans le traitement du choléra et de la dysenterie. Plusieurs composés inorganiques de cuivre ont été également utilisés dans le traitement des anémies, de l'eczéma, de l'adénite chronique, du lupus et de la syphilis.

Bayer a développé un complexe organique à base de cuivre pour traiter la tuberculose. Ce traitement au cuivre de la tuberculose s'est poursuivi jusqu'aux années 1940. L'utilisation du cuivre comme antimicrobien a été délaissée après la commercialisation de la pénicilline G en 1945 [8].

Cependant l'utilisation des antibiotiques commence à montrer ses limites face à la résistance de plus en plus grande de certains microorganismes, cette situation est particulièrement inquiétante dans les structures de santé où les germes multi résistants sont responsables des infections associées aux soins (IAS). Face à ce problème, l'apparition de nouvelles approches pour limiter la transmission des germes est nécessaire.

Actuellement un intérêt croissant s'est porté sur l'utilisation du cuivre comme surface antimicrobienne dans les structures de soins pour lutter contre la diffusion des IAS [5].

## **1.2. LA PLACE DU CUIVRE DANS LE TABLEAU PERIODIQUE :**

Le cuivre est un métal de transition appartenant au groupe 11 et à la quatrième période du tableau périodique des éléments, c'est un élément du bloc d.

C'est le neuvième des métaux de transition situés entre le calcium et le gallium, il possède un électron unique sur son orbitale s externe et des sous-couches p et d entièrement occupées, ce qui favorise la formation de liaisons métalliques. Le cuivre appartient au même groupe de l'argent et l'or. la noblesse et la rareté des éléments de ce groupe croit du cuivre à l'or [9].

Le tableau périodique des éléments chimiques est présenté, avec le cuivre (Cu) mis en évidence par un rectangle noir. Le cuivre est situé dans la période 4, le groupe 11, avec un numéro atomique de 29. Les autres éléments du tableau sont également étiquetés avec leur symbole chimique, leur numéro atomique et leur nom complet.

**Figure 01 :** la place du cuivre dans le tableau périodique [Chemica essentiels Photo Stock - Alamy].

### 1.3. LE CUIVRE A ETAT NATUREL :

Le cuivre est un métal d'une abondance moyenne dans la croûte terrestre. Ses gisements sont répartis d'une façon inégale à la surface de la terre. Ils sont essentiellement localisés dans l'hémisphère sud du globe.

Il est parmi les rares métaux qui existaient durant l'antiquité à l'état de corps simple sous forme de cristaux de maille cubique. L'homme de la préhistoire avait accès à ce métal facile à travailler, en le martelant légèrement. Actuellement, l'abondance du cuivre natif est assez faible. Il se trouve essentiellement combiné à d'autres éléments pour donner des sels contenant de 30% à 90 % de cuivre [9].

On connaît actuellement près de 165 minerais de cuivre répartis en deux classes : les minerais sulfurés et les minerais oxydés. Les sulfures ou les sulfo-sels sont les plus fréquents, la covelline (CuS), la chalcosine (Cu<sub>2</sub>S), la chalcopyrite (CuFeS<sub>2</sub>), la cubanite (CuFe<sub>2</sub>S<sub>3</sub>) et la bornite (Cu<sub>5</sub>FeS<sub>4</sub>) représentent les principales ressources de cuivre. On les retrouve surtout dans le Nevada et l'Arizona aux Etats Unis et en Cornouailles au Royaume Uni.

## *Partie théorique et recherche bibliographique*

Les carbonates naturels de cuivre : la malachite ( $\text{Cu}_2\text{CO}_3(\text{OH})_2$ ) et l'azurite ( $\text{Cu}_3(\text{CO}_3)_2(\text{OH})_2$ ) se trouvent en France, en Australie et dans les Monts Oural. Tandis que la cuprite, oxyde de cuivre ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ), se trouve à Cuba.

Le cuivre se trouve également dans l'enargite, arséniate sulfureux de cuivre, dans la chrysocolle, silicate hydraté de cuivre et dans la tétraédrite, sulfure de cuivre, d'antimoine et d'autres métaux [11].



**Figure 2** : Malachite [Vignes ,2023 ]. **Figure 03** : azurite [Vignes ,2023].

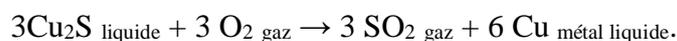
## **1.4. L'EXTRACTION DU CUIVRE :**

L'extraction du cuivre à partir de ses minerais dépend de la composition de ces derniers [6].

### **1.4.1. La Pyrométallurgie du cuivre :**

Les minerais sulfurés ont une teneur allant de 1% à 12% en cuivre, ils sont à l'origine d'environ 80 % de la production mondiale, le cuivre est extrait de ces minerais par un procédé appelé pyrométallurgie.

Ces minerais sont d'abord tamisés, concassés, broyés puis triés, avant d'être concentrés en cuivre par flottation. Ce produit concentré d'une teneur de 20 % à 40 % de cuivre subit un grillage oxydant dans un four en présence de silice :



On obtient alors du cuivre d'une pureté de 98% , qui sera ensuite purifié en utilisant un procédé d'affinage électrolytique durant 14 jours ; la pureté du métal obtenu dépasse les 99.95% [6].

### **1.4.2. L'Hydrométallurgie du cuivre:**

L'oxyde et les carbonates de cuivre (cuprite, malachite et azurite) sont pré-concentrés par lixiviation acide (une technique d'extraction liquide-liquide). La solution contenant le cation  $\text{Cu}^{2+}$  est ensuite récupéré soit directement soit par décantation en cascade. La purification va permettre de concentrer les solutions en ions  $\text{Cu}^{2+}$ , qu'ils seront ensuite séparés par électrodéposition, un procédé électrolytique permettant d'obtenir du cuivre d'un degré de pureté de 99,9 % (cuivre rouge). On peut séparer le cuivre également par cémentation en utilisant les déchets d'acier. Cependant, il en résulte du cuivre impur, contaminé par le fer, il est donc nécessaire d'éliminer ces impuretés par un procédé d'affinage électrolytique [6].

## **1.5. LES ALLIAGES DE CUIVRE :**

Le cuivre et ses alliages constituent la plus importante famille de métaux non ferreux après l'aluminium. Ces alliages sont plus durs, plus fusibles et plus facile à mouler que le métal pur improprement appelé cuivre rouge. Il existe actuellement plus de 200 alliages de cuivre dont les principaux sont :

- **Les laitons :** ce sont des alliages de cuivre et de zinc. Ils constituent la famille la plus utilisée. Communément appelé cuivre jaune, plus la teneur en cuivre est élevée plus leur coloration doré est intense. L'addition du zinc au cuivre diminue le coût, augmente la résistance et permet d'abaisser la température de fusion ce qui rend les laitons plus facile à mouler.
- **Les bronzes :** ce sont des alliages de cuivre et d'étain. L'étain joue le même rôle que le zinc dans les laitons mais en agissant plus fortement, il est également plus coûteux. L'addition du phosphore ( $P < 1\%$ ) augmente fortement leur dureté, améliore leur aptitude au moulage, et réduit leur oxydabilité. Le plomb (Pb) les rend plus facile à usiner et le zinc diminue leur coût.
- **Les maillechorts :** alliages ternaires de cuivre, nickel et zinc. Ils sont utilisés dans la fabrication des articles ménagers, des pièces de monnaie et d'instruments d'optique de précision. Ce sont des laitons additionnés de nickel. Cependant, ils ont une excellente résistance à la corrosion par rapport aux laitons conventionnels.
- **Les cupronickels :** alliages de cuivre et de nickel, la présence du nickel les rends très malléables, plus résistants à la corrosion et améliore leur résistivité électrique. Ces alliages sont utilisés dans la fabrication des pièces de monnaie, des résistances de précision et du matériel de laboratoire.
- **Les cuproaluminiums :** alliages de cuivre et d'aluminium, une teneur en aluminium entre 10 et 11% permet d'améliorer leurs caractéristiques mécaniques et leur résistance à la corrosion. Ils sont surtout utilisés dans les fonderies.
- En plus du zinc, de l'étain, du nickel et de l'aluminium le cuivre peut être allié également au plomb, à l'argent et à l'or, ou à degré moindre au silicium, au chrome et au béryllium. Au total, on peut compter plusieurs centaines d'alliages différents [11].

## 1.6. LES PROPRIETES PHYSICOCHIMIQUES :

### 1.6.1 Les isotopes :

On connaît 23 isotopes de cuivre dont le nombre de masse varie de 57 à 79. Deux d'entre eux sont stables,  $^{63}\text{Cu}$  et  $^{65}\text{Cu}$ , ce sont des isotopes naturels. Le  $^{63}\text{Cu}$  est le plus abondant, il représente à lui seul 69.17% du cuivre naturel. Les deux isotopes naturels  $^{63}\text{Cu}$  et  $^{65}\text{Cu}$  possèdent un spin nucléaire de 3/2.

Le reste des isotopes sont produits artificiellement, ils sont radioactifs. Le radio-isotope le plus stable est  $^{67}\text{Cu}$ , il possède une demi-vie de 61,83 heures. Alors que  $^{54}\text{Cu}$  est le moins stable avec une demi-vie de 75 ns seulement. Les autres isotopes radioactifs possèdent des demi-vie ne dépassant pas une minute [11].

### 1.6.2. Les propriétés physiques et mécaniques :

numéro atomique . . . . .	29
masse atomique . . . . .	63,54
isotopes stables . . . . .	63 et 65
radio-isotopes . . . . .	52 à 62, 64 à 80
densité . . . . .	8,9 g/cm <sup>3</sup>
température de fusion . .	1 083,0 °C
température d'ébullition . .	2 570 °C
structure électronique . .	1s <sup>2</sup> ,2s <sup>2</sup> p <sup>6</sup> ,3s <sup>2</sup> p <sup>6</sup> d <sup>10</sup> ,4s
valence . . . . .	1 ou 2
premier potentiel d'ionisation . . . . .	7,72 eV
deuxième potentiel d'ionisation . . . . .	20,2 eV
potentiels électrochimiques	
Cu/Cu <sup>+</sup> . . . . .	0,552 V
Cu/Cu <sup>2+</sup> . . . . .	0,345 V
résistivité électrique . . . .	1,73 x 10 <sup>-8</sup> Ω. m
conductivité thermique . .	de 400 à 412 W.m <sup>-1</sup> .K <sup>-1</sup>

**Figure 04 :** propriétés atomiques du cuivre [Vignes ,2023].

Le cuivre est un métal de couleur rougeâtre. Cependant, l'exposition à l'air pendant une longue durée pourrait l'altérer en surface avec formation d'une couche de carbonates de cuivre basique de couleur verte [11].

Ce métal a une structure cristalline de type cubique à faces centrées avec un paramètre de maille ( $a = 0,366$  nm). Il a également une excellente conductivité thermique et électrique. Il occupe la deuxième place dans la liste des meilleurs métaux conducteurs d'électricité et de chaleur après l'argent. Cependant, la présence des impuretés comme l'arsenic, le phosphore et surtout l'aluminium pourrait altérer cette conductivité. En effet, ces éléments étrangers gênent le transport des électrons en déformant le réseau.

Le cuivre pur possède des propriétés mécaniques moyennes ; il est situé avant des métaux mous comme l'étain, le zinc et le plomb, mais loin derrière l'acier par exemple. Sa dureté est égale à 3 dans l'échelle de Mohs. Ces propriétés favorisent la mise en forme de ce métal à froid et à chaud. Il se travaille facilement, étant ductile et malléable [9].

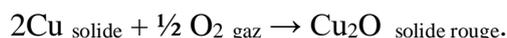
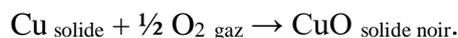
Le cuivre et ses alliages sont largement utilisés dans l'industrie des gaz liquéfiés comme matériaux cryotechniques. Cela est dû à l'amélioration de leurs propriétés mécaniques aux basses températures.

Par contre, aux températures élevées, leur résistance à l'oxydation diminue lorsque la température augmente ainsi que les propriétés mécaniques du cuivre pur décroissent à partir de 200<sup>0</sup> C. Cependant, les cupro-aluminiums et les cupronickels présentent une résistance meilleure par rapport aux autres alliages à hautes températures. La température limite, pour ces alliages, est située entre 400 et 500 <sup>0</sup>C suivant le temps qu'ils restent à ces températures [9].

### **1.6.3. Les propriétés chimiques :**

#### **1.6.3.1. Action de l'air :**

Le cuivre, chauffé au rouge, s'oxyde à l'air pour former l'oxyde (II) CuO noir. A des températures plus élevées on obtient l'oxyde (I) Cu<sub>2</sub>O rouge.



L'air sec n'altère pas le cuivre. Cependant, dans une atmosphère ordinaire (en présence d'humidité et de CO<sub>2</sub>), un film vert d'hydroxycarbonate de cuivre basique Cu<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>.Cu(OH)<sub>2</sub>, appelé vert-de-gris, commence à se former lentement. Il protège le métal contre la corrosion.

Ce film, on le trouve souvent sur les toitures en cuivre des constructions anciennes ou sur les sculptures en bronze, telle que la Statue de la Liberté.

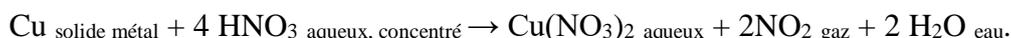
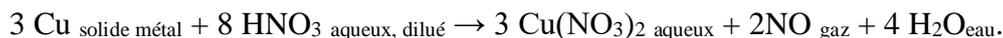
La composition de cette couche diffère selon le milieu. En présence de chlorures (milieu salin ou marin) il se forme l'hydroxychlorure de cuivre  $\text{Cu}_2\text{Cl}_2, \text{Cu}(\text{OH})_2$ , alors qu'en présence de sulfates (milieu industriel), il se forme l'hydroxysulfate de cuivre  $\text{Cu}_2\text{SO}_4, \text{Cu}(\text{OH})_2$  [12].

### **1.6.3.2 Réactions avec les acides :**

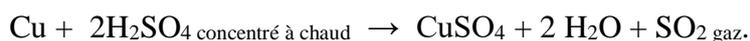
L'eau et les acides non oxydants dilués n'attaquent pas le cuivre. Ce sont les acides oxydants qui peuvent l'attaquer. Cependant, ce métal réagit avec l'acide chlorhydrique en présence d'oxygène pour donner les chlorures de cuivre. Il peut réagir également avec une solution acide de peroxyde d'hydrogène pour former le sel correspondant :



L'acide nitrique est un excellent solvant de cuivre. Il l'attaque pour donner le nitrate de cuivre en solution et un oxyde d'azote. La nature de ce dernier dépend de la concentration de l'acide. L'acide nitrique dilué donne le monoxyde d'azote alors que l'acide concentré donne le dioxyde.



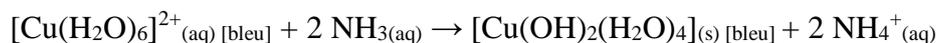
L'acide sulfurique concentré n'attaque pas le cuivre à froid, il l'attaque uniquement à chaud. Ils se forment alors du sulfate de cuivre et du dioxyde de soufre [12].



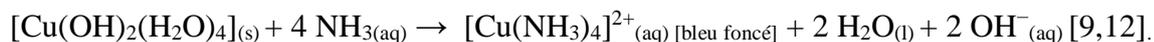
L'évaporation de la solution donne des cristaux bleus, anciennement appelés vitriol bleu, de formule stœchiométrique  $\text{CuSO}_4, 5 \text{H}_2\text{O}$  [13].

### **1.6.3.3 Réaction avec l'ammoniaque :**

L'ammoniaque concentrée dissout le cuivre avec formation d'une solution bleue, appelée « liqueur de Schweitzer ». cette solution contient le cation complexé  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$  ou  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4(\text{H}_2\text{O})]^{2+}$  en milieu basique.

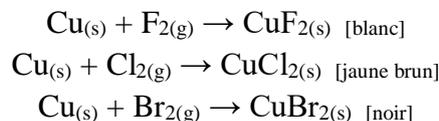


En présence d'un excès d'ammoniaque, le précipité bleu se dissout :

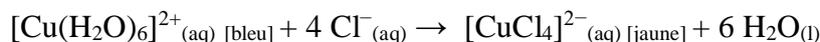


#### 1.6.3.4. Réactions avec les halogènes :

Le cuivre est rapidement attaqué par les halogènes. Le fluor l'attaque superficiellement à froid, les autres halogènes attaquent également le cuivre à froid en formant les halogénures correspondants :



En milieu chlorhydrique concentré, le Cu(II) se combine avec 4 Cl<sup>-</sup> pour donner le chloro-complexe jaune [CuCl<sub>4</sub>]<sup>2-</sup> :



En présence d'un excès d'iodures (I<sup>-</sup>) le Cu(II) se réduit en Cu(I) avec formation d'un précipité blanc de CuI



#### 1.6.3.5 Réaction avec les sulfures :

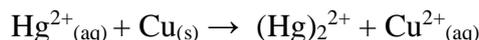
Le cuivre peut réagir avec l'hydrogène sulfuré H<sub>2</sub>S ainsi qu'avec les solutions des sulfures, pour former plusieurs sulfures de cuivre qui se déposent à sa surface. Cette réaction est souvent utilisée pour la détection de ce métal, ils se forment alors des précipités noirs des sulfures de cuivre. La vitesse de cette réaction augmente avec la température. À 550 °C, elle est très rapide. On peut l'écrire simplement :



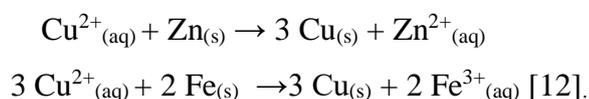
#### 1.6.3.6 Réactions avec les métaux et les ions métalliques :

Le cuivre réagit avec les métaux ayant des potentiels électrochimiques différents, en particulier en présence d'humidité.

Le cuivre métallique est oxydé par les ions Hg<sup>2+</sup> :



Cependant l'ion cuivrique se réduit par Zn et Fe :



### **1.6.3.7 Formation des complexes :**

#### **1.6.3.7.1. Complexes et composés organométalliques du cuivre (I) :**

Les complexes du cuivre (I) sont nombreux et de structures très variées. Nous citons à titre d'exemple :  $[\text{CuCl}_2]^-$  linéaire,  $[\text{Cu}(\text{CN})_4]^{3-}$  tétraédrique ,  $[\text{Cu}(\text{CN})_3]^{2-}$  trigonal plan et  $[\text{CuCl}_3]^{2-}$  chaîne de tétraèdres  $\text{CuCl}_4$  unis par deux sommets.

Contrairement au cuivre (II), le cuivre (I) forme plusieurs composés organométalliques. En particulier,  $\text{CuCl}$  dissous dans  $\text{HCl}$  concentré absorbe l'acétylène en donnant  $[\text{CuCl}, \text{C}_2\text{H}_2]$  et  $[\text{CuCl}_2, \text{C}_2\text{H}_2]^-$ .

Le complexe  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_2]^+$  donne avec les acétyléniques vrais des précipités jaune ou rouge. Certains composés organométalliques du cuivre (I) sont utilisés comme catalyseurs [13].

#### **1.6.3.7.2. Complexes du cuivre (II) :**

Le cuivre (II) peut donner de nombreux complexes de structures variées. Voilà quelques exemples :

Les carboxylates de cuivre à structure en cage, la phtalocyanine , le complexe violet avec le Biuret permettant de déceler la présence d'une protéine (test du biuret) et les halocuprates (II) qui ont une structure en chaîne [13].

## **1.7. LE CUIVRE DANS LE CORPS HUMAIN :**

### **1.7.1 Les besoins en cuivre :**

Le cuivre constitue un oligoélément essentiel chez l'homme et presque tous les organismes vivants. Il joue un rôle fondamental dans de nombreux processus physiologiques et métaboliques de l'organisme [14]. L'apport journalier recommandé pour un adulte est d'environ 0.9 mg [15].

La teneur en cuivre des aliments est plus au moins importante selon le lieu de production, elle dépend de la concentration en cuivre des sols. Les meilleures sources alimentaire de cuivre sont représentées par les abats et tout particulièrement le foie et le rein, les crustacés, les graines et les noix, les céréales à base de son de blé, les légumineuses ainsi que les produits céréaliers complets [16].

Le taux de cuivre dans l'eau potable varie selon le pH et la dureté de l'eau, la zone géographique et le matériau des canalisations. La concentration de l'eau potable en cuivre ne doit pas dépasser 1,3 mg/l aux USA, et 2 mg/l en Europe [16].

La biodisponibilité du cuivre influence également l'approvisionnement en ce métal. Les anions phytates d'origine végétale peuvent chélater les ions cuivriques en diminuant leur biodisponibilité. De même, la prise de médicaments à base de zinc ainsi que certaines pathologies peuvent empêcher l'absorption du cuivre [16].

### **1.7.2 Le métabolisme du cuivre :**

L'équilibre entre l'absorption intestinale du cuivre et son excrétion biliaire permet de maintenir sa concentration à des niveaux constants dans l'organisme.

#### **1.7.2.1 Absorption :**

L'absorption du cuivre est principalement assurée par l'intestin grêle. Son pourcentage d'absorption est relativement élevé, il est situé entre 55% et 75% et il n'est pas altéré par l'âge [17].

En effet, c'est la perméase Ctr1, située dans l'iléon, qui l'achemine dans les entérocytes en traversant la bordure en brosse. Il s'agit d'un transporteur de grande affinité pour le cuivre. Ce métal est également absorbé par un transporteur non spécifique, d'une affinité plus faible, le DMT1 [16].

Ensuite, le cuivre est transporté dans le liquide interstitiel et la circulation sanguine à travers la membrane basolatérale des entérocytes via l'ATPase ATP7A [16].

### **1.7.2.2 Transport sanguin et distribution tissulaire :**

Une fois transféré dans le sang portal, le cuivre se lie principalement à la transcupréine et à l'albumine, il peut former également des complexes avec le glutathion ou l'histidine. La concentration plasmatique moyenne du cuivre chez l'homme est de 1,2 mg/ ml [16].

Le cuivre est ensuite transporté via la veine porte vers le foie. Il entre dans les hépatocytes à travers le transporteur Ctr1 hépatique. Étant lié, ce transfert de cuivre ne peut pas être assuré par diffusion libre. L'excédent de cuivre sera lié à des métallothionéines ou au glutathion, cependant, le cuivre destiné à l'utilisation cellulaire ou à l'exportation sera lié à des protéines «chaperonnes». Ces protéines complexent les ions cuivre à leur entrée dans la cellule pour les délivrer par la suite à leur cible, en les empêchant ainsi de catalyser les réactions de formations des radicaux libres [16].

Le foie est l'organe responsable de maintenir l'homéostasie du cuivre dans le corps humain. L'ATPase ATP7B, présente dans le foie, pompe ce métal dans le réseau trans-golgien des hépatocytes. A ce niveau, le cuivre sera lié à la céruloplasmine et à d'autres protéines. Ces derniers l'acheminent vers d'autres organes pour les approvisionner en cuivre [16].

### **1.7.2.3 Excrétion :**

Le cuivre est principalement éliminé par voie biliaire. Le surplus en cuivre du réseau transgolgien est excrété dans la bile. L'ATP7B joue un essentiel dans l'homéostasie du cuivre, que ce soit dans l'approvisionnement des tissus périphériques en cuivre ou dans l'excrétion de l'excédent du cuivre hors du foie.

La bile est le liquide biologique contenant la concentration la plus élevée en cuivre, d'autres liquides de l'organisme en contiennent également et participent à son élimination quotidienne.

Dans les conditions physiologiques, environ 1 mg de cuivre est éliminé chaque jour de l'organisme [17].

### **1.7.3. Le rôle physiologique du cuivre :**

Le cuivre est indispensable à l'activité de nombreux systèmes enzymatiques. Actuellement, on connaît environ une trentaine de protéines contenant du cuivre. Ce métal remplit des fonctions physiologiques très importantes, elles sont essentiellement liées à ses propriétés catalytiques et oxydoréductrices [5] :

- Par l'intermédiaire de la céruléoplasmine, le cuivre assure la fixation du fer sur la transferrine permettant ainsi son transport et son stockage.
- Le cuivre est indispensable pour la formation des tissus conjonctifs dans tout l'organisme (par l'intermédiaire de la lysyl-oxydase)
- Par le biais de la tyrosinase, le cuivre permet la synthèse de la mélanine.
- Le cuivre est indispensable à la synthèse de la myéline, au métabolisme du glucose et des lipides.
- Le cuivre joue un rôle primordial dans les mécanismes de la défense antioxydante des cellules. Il intervient en catalysant les réactions de synthèse de plusieurs enzymes impliquées dans la neutralisation des radicaux libres, telles que la céruléoplasmine, la superoxyde dismutase (SOD) et les métallothionéines [18].
- Enfin, le cuivre semble jouer un rôle important lors des infections microbiennes. En effet, les ions cuivriques cumulés par les phagosomes des macrophages induisent la formation des ROS, toxiques pour les microorganismes, permettant ainsi l'éradication de ces derniers [19].

#### **1.7.4 La carence en cuivre :**

Le cuivre est un oligoélément essentiel pour l'organisme humain. Ce métal est utilisé comme cofacteur par diverses enzymes impliquées dans l'élaboration du tissu conjonctif, dans la synthèse des neurotransmetteurs et dans la chaîne respiratoire. La carence en cuivre peut induire des lésions au niveau des cellules de plusieurs organes notamment le foie et le cerveau.

Cette carence peut être acquise en cas de malabsorption ou d'un déficit d'apport ou d'origine héréditaire (la maladie de Menkès) [20].

##### **1.7.4.1 Les carences acquises en cuivre :**

Ce déficit en cuivre pourrait avoir des origines multiples :

- ✓ Il peut être d'origine iatrogène suite à une prise des composés de zinc diminuant l'absorption du cuivre par la muqueuse intestinale [20]. En effet, une élévation anormale de la concentration du zinc dans la lumière intestinale pourrait induire une synthèse excessive de métallothionéines. Le cuivre, possédant une plus grande affinité que le zinc pour ces protéines, se retrouve piégé dans la lumière intestinale ce qui empêche son absorption [21].

- ✓ Il peut être dû également à une malabsorption induite par des pathologies digestives telles qu'une maladie inflammatoire de l'intestin, la maladie de Biermer ou la maladie cœliaque. Ou suite à une chirurgie digestive [20].

La carence en cuivre pourrait se manifester par une diminution des défenses immunitaires, un retard de cicatrisation, des migraines...etc. [16].

Des troubles hématologiques peuvent également être rencontrés, tel qu'une anémie normo- ou macrocytaire, une thrombopénie et une leucopénie.

Les signes neurologiques d'une carence en cuivre sont souvent une myélonuropathie, des troubles de la marche, des crampes et des fasciculations, un déficit moteur, des atteintes du neurone moteur périphérique et une amyotrophie [20].

#### **1.7.4.2 Le syndrome de Menkès :**

Le syndrome de Menkès ou *kinky hair disease* est une maladie génétique du métabolisme du cuivre. Elle a été découverte par le médecin John Menkès en 1962. Il s'agit d'un trouble génétique porté par le chromosome X, se manifestant par un déficit en cuivre et touchant principalement des garçons. Elle est très rare, son incidence est estimée de 1 cas sur 300 000 naissances. Son évolution est fatale en l'absence du traitement [16].

Cette anomalie est due à une mutation touchant le gène codant pour l'ATP7A, ce qui affecte son fonctionnement. Cette pompe assure le transport extracellulaire du cuivre dans toutes les cellules, à l'exception des cellules hépatiques. De même que son transport en traversant la barrière hémato-encéphalique. La perturbation du fonctionnement de ce transporteur empêche le cuivre absorbé de quitter les entérocyte vers la circulation générale entraînant ainsi une carence systémique en cuivre. Cette carence se traduit par une altération de la fonction d'une trentaine de cupro-enzymes [16].

Les symptômes liés à ce syndrome sont multiples. Il s'agit essentiellement d'un retard de croissance in utéro, des troubles du tissu conjonctif y compris des cheveux ce qui explique leur aspect cassant, des anévrismes artériels pouvant se compliquer par des hémorragies et une laxité de la peau et des tendons des enfants en bas âge. Des signes neurologiques tel qu'un déficit intellectuel, une spasticité, une baisse de la température corporelle, des troubles de la prise alimentaire et une faiblesse musculaire ont été également observés [16].

La prise en charge thérapeutique de cette maladie repose sur l'administration du complexe cuivre-histidine. Cependant, ce traitement ne permet que d'atténuer partiellement l'intensité des symptômes de cette maladie [16].

### **1.7.5 Toxicité du cuivre :**

Le cuivre est un métal biologiquement précieux, cela est dû principalement au potentiel redox du couple Cu(I)/Cu(II). Cependant, cette propriété est également à l'origine de sa toxicité.

Les ions Cu(I) et Cu(II) peuvent provoquer la génération des espèces réactives d'oxygène tels que le peroxyde d'hydrogène et l'anion superoxyde. De plus, ce métal peut désactiver directement certains enzymes en occupant la place de leur cofacteur, ou se lier à des protéines, des lipides ou à l'ADN pour former des complexes non spécifiques [18].

Bien que le cuivre soit soumis à une régulation métabolique raffinée, les fortes concentrations extracellulaires peuvent entraîner des effets défavorables pour les microorganismes et les organismes aquatiques. D'où l'utilisation de la bouillie bordelaise, un mélange de sulfate de cuivre et de chaux, comme pesticide en agriculture contre les bactéries et les champignons.

Contrairement aux bactéries et aux champignons, les êtres humains tolèrent bien les concentrations élevées de cuivre. Chez l'homme, les taux de cuivre trop élevés n'entraînent des manifestations toxiques que dans de rares cas lors des intoxications volontaires impliquant l'ingestion intentionnelle de doses dépassant les 20 g [18].

Le contact du cuivre avec la peau est très fréquent, particulièrement lors de l'utilisation de la monnaie métallique. Par voie cutané, le pouvoir de sensibilisation du cuivre est faible. Ce métal ne présente pas de danger pour la santé humaine par cette voie [22,23].

Cependant, des réactions immunologiques au cuivre ont été décrites lors des expositions par voie systémique notamment dans le cas des stérilets en cuivre ou des prothèses odontologiques [18].

## 2. LES PROPRIETES ANTIMICROBIENNES DU CUIVRE :

---

En 2008 l'agence américaine EPA (Environmental Protection Agency) a reconnu le cuivre comme agent biocide ; il est donc le seul métal reconnu capable de diminuer la propagation des bactéries, virus et champignons responsables d'infections. Dès ce moment, plusieurs travaux ont étudié l'efficacité des surfaces en cuivre sur différents microorganismes [5].

### 2.1 ACTION DU CUIVRE SUR LES CHAMPIGNONS :

Le pouvoir fongicide du cuivre varie selon les espèces des champignons microscopiques [24]. En 2010 Weaver et al ont étudié la survie de plusieurs espèces de *Fusarium* et *Aspergillus* ainsi que *Penicillium crysogenum* et *C. albicans* sur des surfaces de cuivre. Ces espèces ont été inoculées par voie humide sur des coupons en cuivre pur. On a montré que ce métal éliminait toutes les espèces étudiées sauf *Aspergillus niger*. Les espèces *Fusarium solani*, *Fusarium culmonium*, *Fusarium oxysporium*, *Penicillium chrysogenum* et *Candida albicans* ont été totalement éliminées après 24 h d'exposition au cuivre, Alors que les espèces du genre *Aspergillus* semblent mieux résister à ce dernier ; *Aspergillus flavus* et *Aspergillus fumigatus* nécessitaient 120h et 144h d'exposition pour être complètement éliminés, tandis qu'*Aspergillus niger* restait présent sur le cuivre même après 576 h d'exposition. On note aussi que la germination des spores n'était pas observée sur les échantillons de cuivre contrairement aux échantillons en aluminium, et ce pour toutes les espèces étudiées [24].

D'autres études se sont également intéressées à l'action du cuivre sur les levures. L'étude de Mehtar et al (2008) a montré que la durée de survie d'une charge de  $10^7$  de *Candida albicans* inoculé sur des coupons de cuivre pur selon la méthode humide était de 60 mn [25]. Une autre étude a montré qu'une charge de  $10^6$  cellules de *Candida albicans* a été totalement éliminée après 5 minutes d'expositions au cuivre tandis que l'élimination de *Saccharomyces cerevisiae* n'a nécessité que 30 secondes. Ces deux espèces ont été inoculées selon la méthode sèche et incubés à 23°C. alors que l'incubation à 4°C a augmenté la durée de survie de *Candida albicans* à 60 mn et celle de *Saccharomyces cerevisiae* à 1 mn [26].

Cependant, Zheng et al (2016) ont étudié l'effet du cuivre pur sur les biofilms de *Candida albicans*. Cette étude a démontré que les biofilms de *Candida albicans* ont été éliminés après 40 mn d'exposition au cuivre à 30°C [27].

Au total, le cuivre montre un pouvoir antifongique important permettant d'éliminer certains

champignons microscopiques et d'inhiber leur germination et donc leur prolifération (24, 25, 26).

## **2.2 ACTION DU CUIVRE SUR LES BACTERIES :**

Nous allons nous intéresser plus spécifiquement à l'effet du cuivre sur les bactéries les plus fréquemment isolées lors des infections associées aux soins. Ces bactéries sont, par ordre de fréquence : *E. coli*, les *SARMs*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, les entérocoques, *Acinetobacters* et *C. difficile* [28,29].

### **2.2.1 *Escherichia coli* :**

*E. coli* est un bacille à gram négatif qui appartient à la famille des entérobactéries. C'est une bactérie de la flore microbienne du tube digestif de l'être humain et des organismes à sang chaud.

Le plus souvent, *E.coli* est responsable d'infections urinaires chez l'homme mais elle peut provoquer également des infections entériques, génitales, respiratoires et invasives. Elle représente aussi l'un des germes les plus isolés lors des infections associées aux soins.

*E. coli* présente une résistance naturelle à la pénicilline G et aux glycopeptides, cependant certaines souches peuvent acquérir des résistances aux bêta-lactamines (BLSE) et aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération [30].

Plusieurs études ont été menées sur l'effet des surfaces en cuivre sur la survie d'*E. coli* . On a démontré qu'une charge de  $2 \cdot 10^7$  cellules d'*E.coli* était complètement inactivée en une période de temps allant de 75 jusqu'à 90 min lors d'une inoculation par voie humide sur des surfaces en cuivre [31,32]. Cependant l'inoculation par voie sèche sur des surfaces en cuivre pur (99%) a permis l'inactivation totale des cellules d'*E.coli* après seulement 1min à 23°C et 5 min à 5 °C [33].

L'étude de Warnes et al a comparé la survie de deux souches d'*E coli* (la souche O157 pathogène et la souche K12 non pathogène) sur des coupons en cuivre et inox. Lors d'une inoculation par voie sèche d'une charge de  $10^7$  UFC/cm<sup>2</sup>, la souche pathogène (O157) a montré une résistance accrue sur les coupons en inox par rapport à la souche (K 12) non pathogène. Cependant les deux souches ont été totalement éliminées après 10min d'exposition aux surfaces de cuivre [34].

### **2.2.2 SARMs:**

Les staphylocoques dorés (*S. aureus*) sont des Cocci à gram positif formant des amas (grappes de raisin). Ce sont des bactéries qui se trouvent habituellement sur la peau ou dans les narines de l'homme.

Ces germes sont souvent identifiés lors des IAS. En effet, Les hôpitaux constituent un milieu favorable aux infections à *S. aureus* car des interventions comme la chirurgie, l'installation d'une sonde urinaire ou bien d'un cathéter veineux pourraient provoquer une contamination du site opératoire, une infection urinaire ou bien une bactériémie [1].

Les SARMs (*staphylococcus aureus* résistant à la méticilline) sont des *staphylococcus aureus* qui possèdent le gène *mecA*, ce gène réduit l'affinité du récepteur de la pénicilline pour celle-ci. Ce qui les rend résistants à tous les antibiotiques de la famille des bêta-lactamines [35].

Pour l'année 2016, le réseau algérien sur la résistance aux antibiotiques a rapporté qu'environ 36.10% des *staphylococcus aureus* étaient résistants à la méticilline (SARM) [36].

On a également montré que les SARMs colonisent 1 à 27% des surfaces dans l'environnement hospitalier, ceci contribue fortement à leur transmission vers les personnes [37].

Dans une étude, une charge de  $2.5 \times 10^7$  UFC d'une souche de SARM a été inoculée par voie humide sur 7 matériaux différents (l'inox, le PVC, 4 alliages de cuivre et un alliage d'argent). A température ambiante, cette charge a été totalement éliminée après 180 min d'incubation sur les coupons d'alliage 70/30 (Cu 70%, Zn 30%) et de NiAg, et après 270 min sur le cuivre pur et le laiton non dezincifiable (DZR) (Cu 62%, Pb 2.5%, arséniate 0.13%, Zn 22.5%). On a également observé une diminution de 2 log sur le cupronickel (Cu 70%, Ni 30%) alors qu'il n'y avait aucun effet antibactérien à noter pour l'inox et le PVC. Cependant, à 4°C il y avait peu ou pas de réduction de la charge microbienne pour tous les alliages métalliques [25].

En 2009, l'étude de Michels et al a comparé l'effet de huit matériaux (l'inox, 5 alliages de cuivre et deux matériaux contenant des ions d'argent) sur une souche de SARM à des températures et pourcentages d'humidité différents. On a montré que le cuivre pur (99,9%) a diminué la charge microbienne de SARM de 7 log au bout de 75 min à 22°C et à un pourcentage d'humidité de 50%. Cependant sur l'inox et les deux matériaux contenant les ions d'argent, cette charge n'a pas changé après 360 min. cette étude a montré également que l'efficacité antimicrobienne des alliages de cuivre n'était pas affectée par l'abaissement de la

température et de pourcentage d'humidité contrairement aux matériaux contenant des ions d'argent [38].

En 2015, une étude a comparé l'effet antibactérien du Cu99, Cu63 (Cu 63%, Zn 37%) et l'inox sur une souche de *SARM*. Une charge de  $5 \times 10^6$  UFC a été inoculée par voie humide sur les trois matériaux à température ambiante. Sur le Cu99, la charge de *SARM* a été totalement éliminée en moins d'une heure. Cependant le Cu63 et l'inox n'avaient aucun effet antibactérien sur cette souche [39].

Lors d'une autre étude, on a observé une réduction de la charge microbienne d'une souche de *SARM* épidémique de 5 log au bout de 10 min sur du cuivre pur, et de 4 log au bout de 15 min sur un cupronickel. Cependant, une souche de *S. aureus* sensible a été totalement éliminée après 15 min d'exposition au cuivre pur, et une diminution de 3 log a été observé au bout de 20 min sur le cupronickel [40].

### **2.2.3. *Pseudomonas aeruginosa* :**

Ces bactéries sont des bacilles à gram négatif, aérobies, dotées d'un flagelle polaire qui est responsable de leur mobilité et leur pathogénicité. Ce sont des pathogènes opportunistes souvent impliqués dans les infections associées aux soins. La propagation des souches résistantes à l'imipénème pose un véritable problème et rends ces infections de plus en plus difficile à traiter [41].

En Algérie le taux des souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à l'imipénème est passé de 4% en 2001 à 16.64% en 2016 [36].

Plusieurs études ont été menées sur l'effet des surfaces cuivrées sur *P. aeruginosa*. Lors d'une inoculation par voie humide d'une charge de  $2.5 \times 10^7$  UFC de ces bactéries sur des surfaces cuivrées à température ambiante, on a observé une élimination totale au bout de 180 min sur l'alliage Cu 70/30 et après 270 min sur Cu et le DZR. Une réduction de la charge de 2 log a été également observée sur le cupronickel alors qu'il n'y avait aucun effet antibactérien à noter pour l'inox et le PVC. Cependant, à 4°C il y avait peu ou pas de réduction de la charge microbienne pour tous les alliages métalliques [25].

Lors d'une autre étude, une charge de *P. aeruginosa* a été inoculée sur des surfaces de cuivre pur en utilisant les deux techniques humide et sèche. Une diminution de plus de 6 log a été

observée après 120 min avec la technique sèche et après 240 min avec la technique humide. Cependant, il n'y avait aucune diminution significative sur l'inox [42].

Une autre étude a comparé l'effet du Cu99, Cu63 et d'inox sur une charge de  $5 \times 10^6$  UFC de *P. aeruginosa* inoculée par voie humide et à température ambiante. Cette charge a été totalement éliminée au bout de deux heures sur le Cu99 et après 24h sur le Cu63. Cependant on a observé un effet bactériostatique après 6h sur l'inox [39].

#### **2.2.4. *Klebsiella pneumoniae* :**

C'est une bactérie à gram négatif, encapsulée et non mobile. Ce sont des pathogènes opportunistes qui colonisent les surfaces dans le milieu hospitalier [43]. Ces germes sont souvent responsables des IAS. Ils peuvent être impliqués dans les infections urinaires, les pneumonies ou les bactériémies [44].

L'étude (Mehtar et al) a testé l'effet de plusieurs échantillons métalliques sur la survie de *Klebsiella pneumoniae* à température ambiante et à 4°C.

La charge de *K. pneumoniae* a été complètement éliminée au bout d'une heure sur le cuivre pur à température ambiante et à 4 °C.

A 4 °C, une réduction de 2 log seulement a été observée sur le DZR et NiAg après 360min de contact. A température ambiante, on a observé une élimination totale de *K. pneumoniae* sur toutes les surfaces cuivrées après une heure de contact, et après 270 min sur le NiAg. Cependant l'inox et le PVC n'avaient aucun effet sur cette bactérie [25].

#### **2.2.5. *Entérocoques* :**

Ce sont des Cocci à gram positif. Ces germes sont des anaérobies facultatifs qui se présentent sous forme de chainettes. Il existe une trentaine d'espèces d'*entérocoque* dont *Enterococcus faecalis* et *Enterococcus faecium* sont les espèces les plus pathogènes. la première espèce est plus fréquente que la seconde [45].

Ce sont des bactéries de la flore commensale qui colonise le tube digestif de l'homme. ces pathogènes opportunistes peuvent être impliqués dans des péritonites, des endocardites, des infections urinaires, des abcès intra-abdominaux ou des bactériémies [45].

Ces germes ne sont pas très exigeants, et peuvent survivre longtemps sur les surfaces environnementales. Ils ont également le pouvoir de transférer leur matériel génétique ce qui accroît la fréquence des résistances aux antibiotiques [46].

Selon le réseau algérien sur la résistance aux antibiotiques, 21.42% des *Enterococcus faecium* identifiés durant l'année 2016 étaient résistants à la vancomycine [36].

Une étude a révélé que 46% des prélèvements réalisés au niveau des chambres des patients atteints d'une infection à Entérocoque résistant à la vancomycine (*ERV*) avec diarrhée étaient contaminés. Cependant 15% uniquement des surfaces dans les chambres des patients sans diarrhée étaient contaminées [37].

Le milieu hospitalier représente donc un véritable réservoir de ces agents pathogènes contre lesquels les surfaces auto désinfectantes en cuivre pourraient être une solution.

L'étude (Warnes et keevil, 2011) a comparé les durées de survie d'*E. faecium* et d'*E. faecalis* sur l'inox et différents alliages contenant de 60 à 95% de cuivre. Ces durées étaient significativement plus courtes sur les alliages de cuivre que sur l'inox [46].

Sur l'inox, une réduction de seulement 1 log d'une charge de  $10^6$  UFC/cm<sup>2</sup> inoculée par voie humide a été observée après six jours pour *E. faecalis* résistant à la vancomycine et deux jours pour *E. faecium* résistant à la vancomycine, et les cellules viables restaient toujours présentes même après 60 jours [46].

Cependant, pour le même inoculum, il y avait aucune cellule viable après 1 h sur le cuivre pur et après 1 à 3 h sur les autres alliages de cuivre pour les deux espèces [46].

#### **2.2.6. *Acinetobacter* :**

Ces bactéries sont des bacilles à gram négatif, aérobies strictes et non fermentants. Pouvant survivre pour de longues périodes dans l'environnement hospitalier et sur les mains du personnel médical[47].

Le genre *Acinetobacter* compte plus d'une trentaine d'espèces, *A. baumannii* est l'espèce la plus incriminée dans les infections associées aux soins, elle est souvent responsable des infections urinaires, des infections pulmonaires et des bactériémies graves, en particulier dans les services de soins intensifs. Cette bactérie forme facilement des biofilms ce qui augmente sa survie sur les surfaces du milieu hospitalier [47].

Les *Acinetobacters* sont caractérisés également par leur acquisition rapide des mécanismes de résistance aux antibiotiques. Les souches d'*Acinetobacter baumannii* résistantes aux carbapénèmes sont les plus inquiétantes. La carbapénémase OXA-23 est la plus fréquente dans le nord Algérien [48].

Lors d'une inoculation par voie humide d'une charge de  $2.5 \times 10^7$  UFC d'*Acinetobacter baumannii* multi-résistante sur différentes surfaces cuivrées, on a observé une élimination totale de cette bactérie après 180 min de contact avec du cuivre et ses alliages. Cependant l'inox et le PVC n'avait aucun effet significatif sur la cette souche [25].

Dans une autre étude, une charge de  $5 \times 10^6$  UFC d'*Acinetobacter baumannii* inoculée par voie humide sur Cu99 a été totalement éliminée au bout de 30 min [39].

Une étude a testé l'effet de différentes surfaces cuivrées sur trois souches d'*Acinetobacter baumannii*, une souche d'*Acinetobacter lwoffii* et une souche d'*Acinetobacter pittii*, isolées de l'environnement hospitalier [49]. Toutes les souches ont été totalement éliminées après 180 à 240 min de contact avec du cuivre pur. L'étude a montré également une baisse significative de la charge de ces bactéries sur les autres alliages de cuivre en comparaison avec l'inox. Pour la même souche, on a noté une corrélation significative entre le taux de réduction de la charge microbienne et la teneur de l'alliage en cuivre [49].

Lors d'une autre étude, une souche d'*Acinetobacter johnsonii* a été inoculée par voie sèche sur des surfaces de cuivre. On a obtenu une élimination totale de cette bactérie au bout d'une minute [50].

### **2.2.7. *Clostridium difficile* :**

Ce sont des bacilles anaérobies à gram positif, à transmission oro-fécale. Leur capacité à sporuler leur permet de résister à plusieurs facteurs tels que la haute température, l'acidité et les agents désinfectants. Ils font partie de la flore microbienne intestinale et sont responsable de 15 à 25% des diarrhées liés aux antibiotiques [51].

Durant la dernière décennie, la fréquence et la sévérité des infections au *clostridium difficile* ont largement augmenté. Ces infections représentent la première cause des diarrhées dans les établissements de soin. Elles sont souvent rencontrées chez les patients chirurgicaux et ceux sous traitement antibiotique [52].

Une étude a montré que les spores du *clostridium difficile* persistent longtemps sur le sol d'un hôpital et montrent une bonne résistance aux températures élevées, la dessiccation et aux agents physiques et chimiques [53].

Lors d'une autre étude, on a testé la survie de la forme végétative et des spores de *clostridium difficile* sur plusieurs surfaces d'une teneur allant de 65 à 100% de cuivre. L'inox a été utilisé comme control [54]. On a observé une réduction significative des cellules végétatives et des spores sur les surfaces contenant plus de 70% de cuivre en comparaison avec l'inox, l'élimination totale des spores a été obtenue après 24 à 48h de contact. Cependant il y avait aucune réduction significative de la survie des spores même après 168h de contact avec l'inox [54].

Une autre étude a montré que la forme végétative du *clostridium difficile* était éliminée après 30 min de contact avec du cuivre, l'inox n'avait aucun effet sur ces bactéries [55].

Le cuivre a également réduit d'une manière significative la survie des spores en germination après 60 min de contact. Une réduction de 99.8% a été obtenue au bout de 3 h [55].

## **2.3 ACTION DU CUIVRE SUR LES VIRUS :**

### **2.3.1. Les virus influenza :**

Ce sont des virus enveloppés de la famille des *Orthomyxoviridae*. Leur génome est constitué d'un ARN simple brin négatif segmenté. Il existe quatre genres de ces virus : A, B, C et D. Les virus influenza A et B sont impliqués dans les épidémies de grippe saisonnières chez l'homme [56].

La grippe se transmet d'une personne à l'autre par les aérosols produits par les sujets infectés, en particulier lors de la toux, ou par contact directe ou indirecte avec les surfaces contaminées par les sécrétions respiratoires. Pendant l'épidémie des gripes de l'année 2005-2006, 7.8% des cas étaient mortels aux Etats Unis [57].

L'étude (Noyce et al) a testé l'effet du cuivre sur des particules du virus influenza A en comparaison avec l'inox.  $2 \times 10^6$  particules virales ont été inoculées sur les deux matériaux à 22 °C et à un pourcentage d'humidité allant de 50 à 60 %. Après différents temps d'incubation, le nombre des particules virales viables était détecté à l'aide d'une technique de fluorescence sur monocouche de cellule [57]. Après 60 min d'incubation sur du cuivre, le nombre des particules virales infectieuses était réduit à  $5 \times 10^5$  particules, alors qu'il a fallu 24

h de contact avec l'inox pour obtenir une réduction équivalente. Cependant, 500 particules virales seulement étaient restées infectieuses après 6 h d'exposition au cuivre.

Selon cette étude, l'utilisation des surfaces en cuivre dans les services hospitaliers pourrait renforcer les moyens de protection contre la transmission du virus influenza A notamment pendant les périodes d'épidémies [57].

### **2.3.2. Les Norovirus :**

*Les norovirus* appartiennent à la famille des *Caliciviridae*. Ce sont des virus dont le génome est constitué d'un ARN simple brin de polarité positive. 90% des cas de gastroentérites non bactériennes dans le monde sont causées par des norovirus. Ils sont responsables de 685 millions infections et de 200.000 décès par an à l'échelle mondiale [58,59].

Ces virus se transmettent d'une personne à l'autre soit directement par voie oro- fécale, soit indirectement après consommation de l'eau ou des aliments contaminés ou bien en touchant des surfaces contaminées [53].

*Les norovirus* sont difficiles à éliminer à cause de la grande stabilité des protéines de leur capsid. Ces virus résistent à la chaleur, le pH acide, la dessiccation et à certains désinfectants chimiques. Ils peuvent donc survivre sur les surfaces environnementales et continuer à se propager malgré les protocoles standards de désinfection [58].

Afin de pouvoir tester l'effet du cuivre sur ces virus, plusieurs études ont utilisé des substituts félins ou murins, car les norovirus sont difficilement mis en culture au laboratoire, ce qui empêche l'évaluation de leur persistance et de leur pouvoir infectieux [59].

Warnes et Keevil en 2013 ont étudié la survie du *norovirus* murin sur différents alliages de cuivre, l'inox a été utilisé comme surface contrôle. Lors de cette étude, une charge de  $5 \times 10^4$  particules virales a été inoculée sur les surfaces à tester par voie humide, et à température ambiante. Cette charge a été complètement éliminée après 30 min sur le cuivre pur, et après 60 min sur le cupronickel. Cependant une réduction de 2 à 4 log des particules virales infectieuses a été observée sur le laiton, le bronze et le maillechort après deux heures d'incubation, alors qu'il n'y avait aucune réduction significative après deux heures de contact avec l'inox [59].

Lors de l'inoculation d'une charge virale de même taille en utilisant une technique sèche. L'inactivation totale de ce virus a été observée après 5 min d'incubation sur le cuivre pur et le

cupronickel, et après 10 et 30 min sur le bronze et le laiton. Tandis qu'une légère réduction a été observée sur l'acier inoxydable [59].

Dans une autre étude, on a utilisé également le substitut murin pour évaluer l'activité de différentes surfaces sur le norovirus humain. Cette étude a montré qu'aucun virus viable n'était détecté sur le cuivre pur après 30 min de contact. Alors qu'on a pu détecter des particules virales infectieuses après plus de 20 jours de contact avec des surfaces inertes comme : le téflon, la céramique, le PVC, la silicone, le verre ou l'inox [60].

En 2015, Manuel et al ont pu évaluer l'effet du cuivre directement sur la souche GII.4 du *norovirus* humain sans avoir besoin d'utiliser un substitut. Cette étude a montré que l'exposition au cuivre entraîne la dégradation du génome et de la protéine de capsid (VP1) de ce virus. Le nombre de copies du génome viral a été déterminé en utilisant une technique PCR quantitative après transcription inverse (RT-qPCR) alors que la quantité de la protéine VP1 a été analysée par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS-PAGE) et Western blot. Au bout de 15 min de contact avec du cuivre, on a observé une réduction de 80% de la quantité de la protéine de capsid VP1. Cependant une baisse de 3 log du nombre de copie d'ARN a été notée après 60 min d'exposition au cuivre [61].

Dans une autre étude, on a testé l'efficacité des surfaces cuivrées sur les deux souches GII.4 Sydney et GI.3B Potsdam du *norovirus* humain en utilisant la technique PGM-MB-RT-qPCR. Après 10 min de contact avec du cuivre, on a observé une réduction de 3 log de la souche GII.4 Sydney et de 4 log de la souche GI.3B Potsdam [62].

Ces études ont démontré l'efficacité des surfaces en cuivre dans l'inactivation des particules virales infectieuses du *norovirus* humain. L'installation de ces surfaces sur les objets fréquemment touchés pourrait constituer une mesure préventive contre la propagation des infections à ce virus [60–62].

### 3. LES MECANISMES D'ACTION DU CUIVRE CONTRE LES MICROORGANISMES :

---

Bien que le cuivre ait montré un pouvoir biocide à large spectre, les mécanismes moléculaires liés à sa toxicité sont multiples et le mode d'action prédominant dans la mort cellulaire n'a pas été encore confirmé [5]. Dans cette partie nous allons citer les différentes hypothèses discutées dans la littérature concernant les mécanismes impliqués lors du contact cuivre-microorganisme.

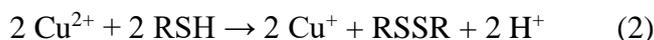
#### 3.1. LA GENERATION D'ESPECES REACTIVES D'OXYGENE :

Le cuivre est un élément indispensable pour la plupart des organismes vivants. Sa présence est nécessaire à l'activité biologique de nombreuses enzymes. Dans ces enzymes, ce métal alterne entre l'état d'oxydation  $\text{Cu}^+$  donneur et l'état  $\text{Cu}^{2+}$  accepteur d'électrons. Cependant, en cas d'excès de cuivre, ces propriétés redox peuvent favoriser la formation d'espèces réactives d'oxygène (ROS) comme les radicaux hydroxyles ( $\text{OH}^\bullet$ ) selon une réaction de type Fenton :



Le radical hydroxyle généré de cette réaction est une espèce chimique extrêmement réactive pouvant oxyder et altérer des molécules cellulaires comme les protéines et les lipides.

L'ion cuivrique  $\text{Cu}^{2+}$  peut également dénaturer des molécules tels que la cystéine ou le glutathion en oxydant leurs groupements thiols ( $-\text{SH}$ ) avec formation de ponts disulfures à travers un cycle de deux réactions :



Le peroxyde d'hydrogène produit de la réaction (3) sera réinjecter dans la réaction (1) pour régénérer de nouveaux radicaux hydroxyles [5].

Le stress oxydatif généré lors du contact des microorganismes avec des surfaces cuivrées a fait l'objet de plusieurs études. Dans une étude, on a testé l'effet de l'addition des inhibiteurs de ROS ou < ROS quenchers > sur la survie d'*E. coli*. [33]. On a montré que le mannitol (inhibiteur du radical hydroxyle), la superoxyde dismutase SOD (inhibiteur de l'ion superoxyde) et la catalase (inhibiteur du peroxyde d'hydrogène) ont augmenté d'une manière

significative la durée de survie bactérienne au contact des surfaces en cuivre alors que ça n'a pas été le cas pour le Tiron (inhibiteur de l'ion superoxyde). La catalase était l'inhibiteur de ROS le plus puissant avec un taux de cellules viables 100 fois plus élevé que le mannitol et la SOD. Ces résultats confirment donc l'implication des ROS dans le processus de mort cellulaire provoqué par l'exposition au cuivre.

Lors de cette étude, on a également testé la survie *d'E. coli* exposée au cuivre sous atmosphère d'azote. Ces conditions d'anaérobiose devraient inhiber la production des ROS. Cependant, ceci n'as pas empêché la mort cellulaire mais il a doublé la durée de survie de ces bactéries de 1 à 2 minutes. Ce résultat montre donc que le stress oxydant produit par ce métal n'est pas le seul mécanisme impliqué dans la mort cellulaire. D'autres mécanismes seraient responsables de ce phénomène en absence d'oxygène [33].

Un autre travail sur le stress oxydant généré par le cuivre a été réalisé sur des *ERV*. Cette étude a testé l'effet de l'addition de plusieurs chélateurs d'ions et inhibiteurs de ROS sur la survie de ces bactéries exposées au cuivre [46]. Les résultats montrent que la présence des deux chélateurs d'ions, EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) et BCS (acide bathocuproïne disulfonique), a protégé les bactéries de l'action toxique du cuivre. En effet, il n'y avait aucune réduction du nombre de cellules viables *d'E. faecium* après 2 heures de contact avec du cuivre en présence des deux chélateurs. Cependant, il y avait une réduction de moins de 1 log seulement du nombre de cellules viables *d'E. faecalis* au bout de 2 heures de contact [46]. Cette étude a montré que l'addition de Tiron (inhibiteur des ions superoxydes) a prolongé significativement la survie des *ERV* en présence de cuivre. Alors qu'une protection marginale de ces bactéries a été observé en présence de mannitol, de catalase ou de SOD [46].

Une autre étude menée sur des *SARM* a montré également que l'ajout de Tiron a protégé ces bactéries d'une manière significative de l'action du cuivre. Cependant, la SOD et le mannitol n'avaient qu'un effet minime sur leur survie [40].

Ces études ont confirmé que le stress oxydatif fait partie des mécanismes de la mort cellulaire produite lors du contact cuivre-microorganisme. Cependant les ROS impliqués dans ce phénomène diffèrent selon le type de la bactérie.

### **3.2. L'ALTERATION DE LA MEMBRANE CYTOPLASMIQUE :**

Lors d'une étude menée sur la levure *Saccharomyces cerevisiae*, on a observé que l'exposition au cuivre a provoqué des lésions sélectives sur la membrane cytoplasmique de cette levure ce qui a augmenté sa perméabilité aux acides aminés et au potassium [63].

Une autre étude menée sur des *Staphylococcus haemolyticus* a montré que lorsque ces microorganismes entrent en contact avec une surface cuivrée, les ions cuivre libérés de cette surface s'accumulent en fortes concentrations dans le cytoplasme de ces cellules induisant ainsi la mort cellulaire par altération de la membrane cytoplasmique [64]. Lors de cette étude, on a observé que les membranes cytoplasmiques des bactéries exposées au cuivre étaient endommagées. Cependant, ces cellules ne présentaient pas plus de mutations d'ADN que celles inoculées sur l'inox. Ces résultats suggèrent que le cuivre n'avait pas un effet génotoxique sur ces germes et que l'altération de la membrane cellulaire était donc le principal mécanisme impliqué dans la mort cellulaire alors que la fragmentation d'ADN n'était que secondaire à ce phénomène [64].

Différentes études sur *E. coli* ont montré également que l'exposition au cuivre a provoqué une dépolarisation immédiate de la membrane cellulaire, et ceci s'est produit avant la dégradation de l'ADN [34,63].

On a obtenu des résultats similaires chez une autre bactérie gram négative ; *Salmonella spp.* Ceci peut être expliqué par l'affinité des cations cuivre pour les lipopolysacharides chargées négativement présentes sur la membrane externe des bactéries à gram négatif [34].

L'étude Hong et al s'est intéressée d'une façon plus spécifique aux mécanismes de dégradation de la membrane cellulaire d'*E. coli* exposée à différent alliages de cuivre (70-99.9% de Cu). Les résultats montrent qu'une peroxydation non enzymatique des phospholipides de la membrane cellulaire pourrait être responsable de sa dégradation et de la mort cellulaire [65].

Toutes ces études ont confirmé que l'altération de la membrane plasmique des microorganismes est l'un des mécanismes antimicrobiens important du cuivre. Ce site représente donc une cible pour ce métal dans son action contre différents microorganismes.

### **3.3. LA DESTRUCTION DE L'ADN :**

Les résultats des études menées sur l'importance de la destruction du matériel génétique dans la toxicité du cuivre étaient différents [5]. Selon une étude, la désintégration rapide d'ADN était le principal mécanisme antimicrobien conduisant à la mort cellulaire des *ERV* au contact du cuivre [46].

Une autre étude menée sur des *SARM* a montré une élimination rapide de ces bactéries au contact du cuivre pur. En effet, ce métal a inhibé la respiration cellulaire et a provoqué la destruction du génome bactérien alors qu'il n'avait qu'un effet minime sur l'intégrité de la membrane cytoplasmique [66].

Cependant, des résultats tout à fait contradictoires ont été retrouvés lors de l'étude Espirito Santo et al. Cette étude a suggéré que la membrane cytoplasmique d'*E. coli* était la première cible affectée par l'action du cuivre et que la destruction d'ADN n'était qu'un résultat de la mort cellulaire [63].

Selon la même étude, *Deinococcus radiodurans*, une bactérie qui résiste bien aux radiations ionisantes grâce à son système de réparation d'ADN, avait une sensibilité au cuivre similaire à celle d'*E. coli*. [63].

Une autre étude a montré que lors d'une inoculation sèche d'*E. coli* sur des surfaces de cuivre, ce germe a été éliminé en seulement 10 min. on a observé une dépolarisation immédiate de la membrane cytoplasmique alors que la désintégration d'ADN était lente en comparaison avec celle observée précédemment chez les *ERV*. Cette étude a montré des résultats similaires chez *Salmonella spp* [34].

Au total, les résultats obtenus sur le rôle de la dégradation d'ADN dans la mort bactérienne induite par le cuivre semblent varier selon le type des bactéries. Il y a donc aucune preuve que l'ADN soit un site d'action important du cuivre. Des études supplémentaires seront donc nécessaires pour éclaircir ce point.

### **3.4. LA DESINTEGRATION DES CLUSTERS FER-SOUFRE :**

Un autre mécanisme de toxicité Du cuivre a été évoqué par l'étude Macomber et Imlay. Les auteurs ont suggéré une destruction des groupements fer- soufre de certaines enzymes chez *E. coli* lors d'une exposition à une solution cuivrée [67].

En effet, la toxicité des ions cuivre est due à leur pouvoir de déplacer les atomes de fer de leurs sites pour se lier ensuite aux atomes de soufre et intégrer de cette manière la structure de la métallo-enzyme [67].

La désintégration rapide des clusters fer-soufre par les ions cuivre en solution a provoqué une désactivation du catabolisme central et des voies de biosynthèses chez ces bactéries [67].

Cependant, des études complémentaires seraient nécessaires pour confirmer l'implication de la désintégration des clusters fer-soufre dans la mort de la cellule bactérienne lorsque cette dernière est exposée à une surface de cuivre.

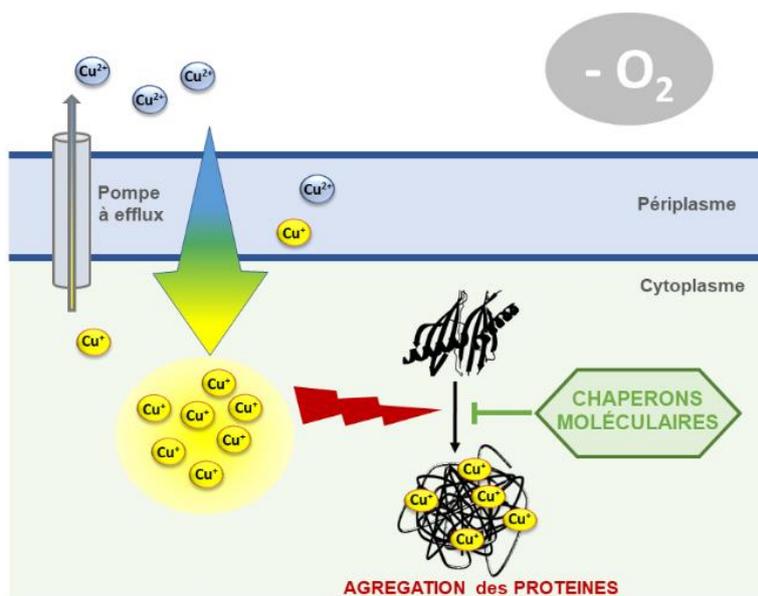
### **3.5. L'AGREGATION DES PROTEINES :**

Une étude récente sur le mécanisme antimicrobien du cuivre chez *E. coli* a révélé que la présence d'un excès d'ions  $\text{Cu}^{2+}$  en solution a provoqué une accumulation des agrégats protéiques dans la cellule [68].

En effet, une fois pénétrés dans le cytoplasme bactérien, les ions  $\text{Cu}^{2+}$  seront rapidement réduits à l'état  $\text{Cu}^+$ . Les ions cuivreux vont se lier directement à des molécules telles que la cystéine et l'histidine, ce qui va provoquer un déséquilibre de la structure de nombreuses protéines et entraîner leur agrégation. L'inactivation de ces protéines est donc responsable de la mort bactérienne causée par le cuivre. Ce processus prend de l'ampleur dans les conditions anaérobies, ce qui montre son indépendance du stress oxydatif [68].

Cette étude a révélé également que des souches d'*E. coli* dépourvues des protéines chaperons étaient extrêmement sensibles au stress métallique engendré par le cuivre. Ce résultat confirme le rôle protecteur de ces protéines qui permettent de maintenir l'intégrité cellulaire en empêchant l'agrégation des protéines [68].

Cependant, dans cette étude on a utilisé une solution de  $\text{CuSO}_4$ , pour vérifier si ces résultats seront toujours valables sur une surface de cuivre, il faudrait réaliser des tests dans des conditions sèches.



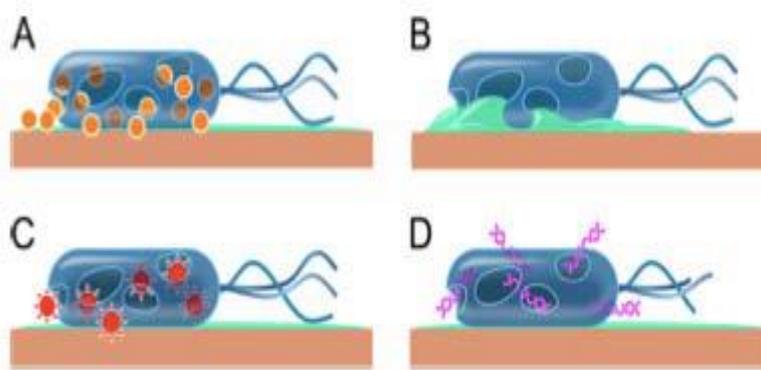
**Figure 05** : mécanisme antimicrobien du cuivre en conditions anaérobies [ Zuily et al,2022].

Les ions ( $\text{Cu}^{2+}$ ) pénètrent dans la cellule bactérienne. Une fois dans le cytoplasme bactérien, ils seront rapidement réduits en  $\text{Cu}^+$ . Des pompes à efflux sont synthétisées pour évacuer ces ions toxiques. Cependant, l'excès de cuivre sature le système, il s'accumule dans la cellule et perturbe la protéostasie en provoquant l'agrégation des protéines selon un mécanisme indépendant du stress oxydatif. Les chaperons protègent les protéines intracellulaires du stress métallique induit par le cuivre [68].

#### Déroulement du processus cytotoxique du cuivre :

L'étude Grass et al a tenté d'élucider le mécanisme de la mort de la cellule bactérienne lors d'une exposition à une surface de cuivre. Les auteurs ont suggéré que ce phénomène arrive selon l'ordre suivant :

- Altération de la membrane cellulaire.
- Accumulation intracellulaire du cuivre.
- Production des ROS et des dommages liés au stress oxydatif.
- la survenue de la mort cellulaire.
- Et enfin la destruction de l'ADN bactérien [5].



**Figure 06** : schéma du mécanisme de toxicité du cuivre [Grass et al,2011].

(A) : le cuivre se dissout de la surface et cause des lésions cellulaires. (B) : les ions cuivre provoquent la rupture de la membrane bactérienne avec perte du contenu cytoplasmique. (C) : les ions cuivre entraînent la formation de ROS responsables de dommages cellulaires supplémentaires. (D) dégradation de l'ADN bactérien [5].

Toutefois, en l'état actuel des connaissances, il n'existe pas de consensus entre les scientifiques sur la séquence d'évènements exacte qui amènent à la mort cellulaire lors du contact d'un microorganisme avec une surface de cuivre. Ce manque de consensus pourrait être expliqué par : les différences entre les souches testées, l'utilisation de surfaces de compositions différentes, des protocoles de recherche différents et des conditions expérimentales variées [69].

#### **4.LES MECANISMES DE REGULATION DE L'HOMÉOSTASIE DU CUIVRE CHEZ LES MICROORGANISMES:**

---

Pour survivre, les microorganismes doivent s'adapter rapidement aux contraintes de leur environnement. Différentes études ont montré que le système immunitaire humain utilise de fortes concentrations en cuivre comme agent toxique contre les bactéries pathogènes. Ces bactéries réagissent en développant des mécanismes de régulation du taux de cuivre pour augmenter leur virulence [69]. Ces mécanismes permettent de protéger ces germes de la toxicité du cuivre en maintenant ce métal à des concentrations précises dans la cellule [14].

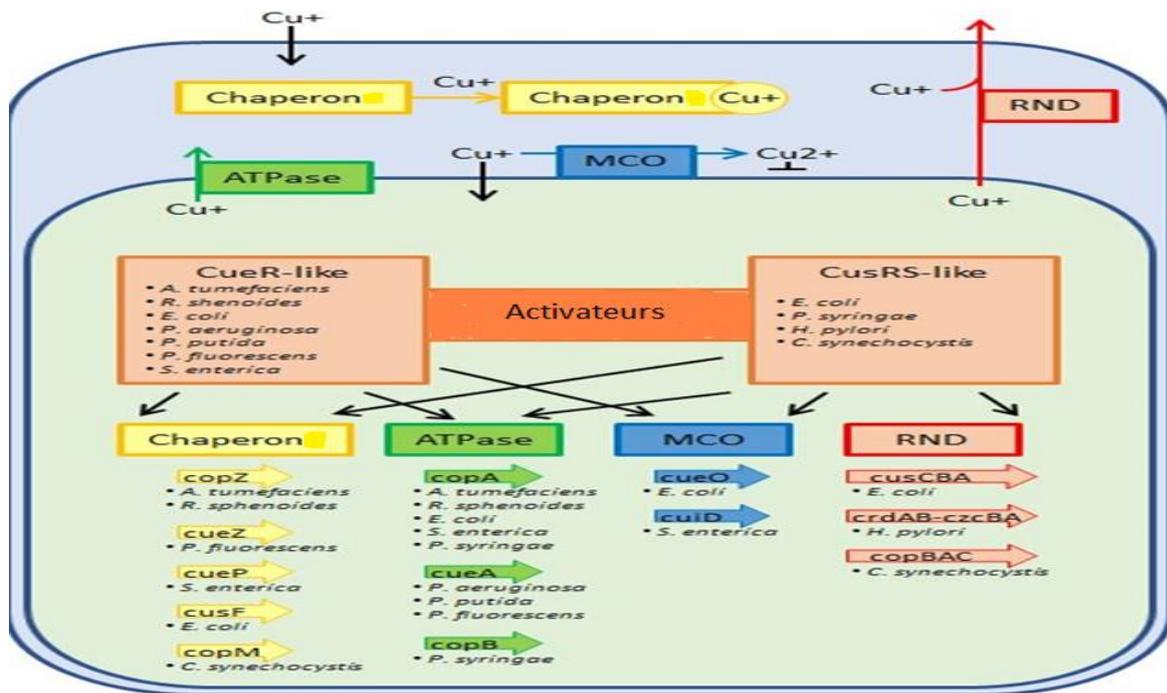
Les études suggèrent plusieurs mécanismes de régulation de l'homéostasie du cuivre qui diffèrent selon le type de microorganismes : son évacuation extracellulaire en utilisant des pompes ATPase, sa séquestration dans le cytoplasme par les protéines chaperons et dans le périplasma ou en milieu extracellulaire par les métallothionéines, l'oxydation des ions  $\text{Cu}^+$  en  $\text{Cu}^{2+}$  moins toxiques et rendre les cibles cellulaires moins sensibles aux ions cuivre [14,69].

Cependant, tous ces systèmes ne permettent que d'allonger la survie des germes de seulement quelques minutes avant la survenue de la mort cellulaire. En effet, aucun de ces mécanismes ne permet au microorganisme de survivre lors d'une exposition prolongé à une surface de cuivre [70].

##### **4.1. REGULATION DE L'HOMÉOSTASIE DU CUIVRE CHEZ LES BACTERIES A GRAM NEGATIF :**

Chez les bactéries à gram négatif, la transcription des gènes codant pour la synthèse de la pompe ATPase du cuivre et des protéines chaperons est régulée par deux activateurs (CueR-like et CusRS-like). La protéine CueR-like active l'expression de ces gènes en réponse à une élévation des concentrations cytoplasmiques en cuivre tandis que CusRS-like réagit lorsque les taux péri-plasmiques du cuivre augmentent [69].

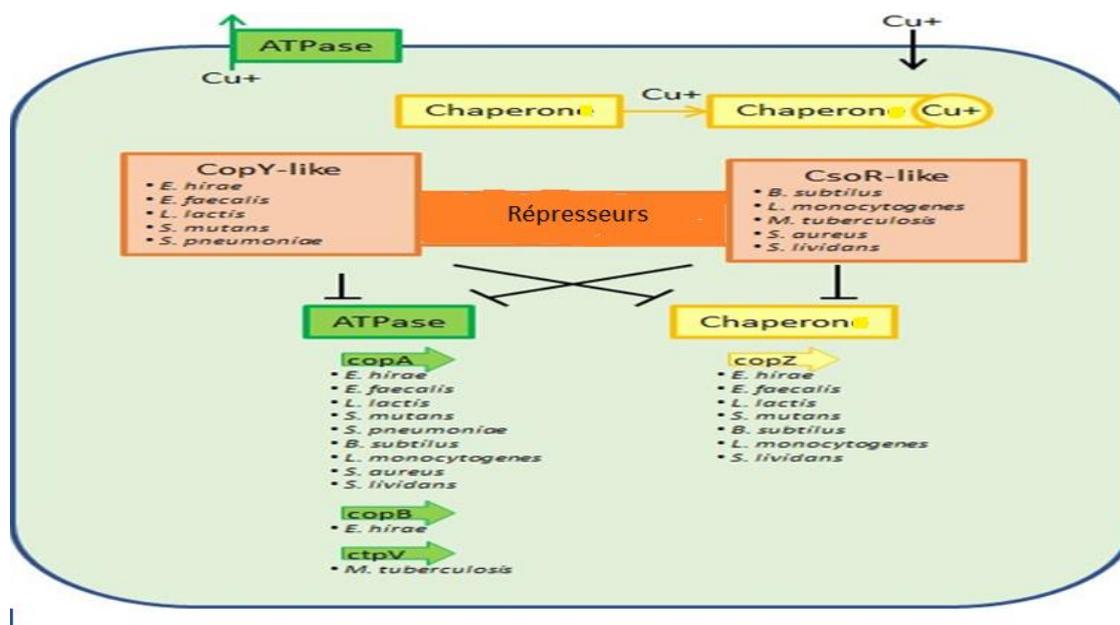
Plusieurs espèces de bactéries à gram négatif synthétisent également l'enzyme (MCO) ou multicopper oxydase sous l'action de ces activateurs. Cette enzyme est responsable de la transformation des ions  $\text{Cu}^+$  en ions  $\text{Cu}^{2+}$  moins toxiques. En plus, ces bactéries produisent les transporteurs (RND) ou resistance nodulation cell division qui sont des systèmes d'efflux permettant d'évacuer le cuivre dans le périplasma lorsque des taux élevés de ce métal sont détectés [69].



**Figure 07 :** les mécanismes de régulation de l'homéostasie du cuivre chez les bactéries à gram négatif [Vincent et al,2018].

#### 4.2. REGULATION DE L'HOMÉOSTASIE DU CUIVRE CHEZ LES BACTÉRIES GRAM POSITIF :

A la différence des bactéries gram négatif, la transcription des gènes codant pour la synthèse des pompes Cu-ATPase et des protéines chaperons chez les bactéries à gram positif est régulée par des protéines de type répresseurs (CopY-like et CsoR-like), ces protéines inhibent l'expression de ces gènes en cas de déficience en cuivre. Lorsque les taux intracellulaires du cuivre augmentent, ces répresseurs se détachent de l'ADN permettant ainsi l'expression des gènes des pompes Cu-ATPase et des chaperons respectivement responsables de l'évacuation et la séquestration des ions cuivre [69].



**Figure 08 :** les mécanismes de régulation de l'homéostasie du cuivre chez les bactéries à gram positif [Vincent et al,2018].

#### 4.3. REGULATION DE L'HOMÉOSTASIE DU CUIVRE CHEZ LES LEVURES :

Il existe trois mécanismes communs régulateurs de l'homéostasie du cuivre chez les levures : la réduction de l'activité de la pompe d'afflux de cuivre, l'évacuation du cuivre dans le milieu extracellulaire par un transporteur actif de type ATPase et la synthèse des métallothionéines permettant la chélation des ions cuivre libres [69].

Chez *Candida albicans*, le déficit en cuivre active l'expression des gènes *CTR1* et *FRE7* codant respectivement pour une protéine de transport de cuivre *Ctr1p* et deux enzymes réductases de cuivre *Fre7p* et *Fre10p*. À l'inverse, l'augmentation des concentrations en cuivre inhibe l'expression de ces gènes. D'autres gènes impliqués dans l'homéostasie de cuivre ont été également identifiés chez ces levures à savoir *CRP1* codant pour une pompe ATPase d'export de cuivre et *CUP1* et *CRD2* codant pour des métallothionéines chélateurs de ce métal. La délétion de l'un de ces gènes diminue la résistance au cuivre chez *Candida albicans*. D'autres études ont reporté des mécanismes de résistances similaires chez *S. cerevisiae* et *Aspergillus nidulans* [69].

## 5. SURFACES ENVIRONNEMENTALES ET INFECTIONS ASSOCIEES AUX SOINS :

---

Une infection est considérée comme associée aux soins si elle survient pendant ou après une prise en charge d'un patient, et si elle n'était ni présente, ni latente au début de cette prise en charge. Un délai d'au moins 48 heures ou plus que la période d'incubation est généralement accepté pour définir une IAS, lorsque l'état de l'infection au début de la prise en charge n'est pas clair. Cette définition inclut les infections acquises dans un hôpital mais qui ne sont présentes qu'après la sortie, ainsi que les infections acquises par les professionnels de santé dans le cadre de leurs activités professionnelles [71].

Des enquêtes de prévalence menées par l'OMS dans 55 hôpitaux de 14 pays différents ont montré que 8,7 % des patients hospitalisés ont contracté des infections nosocomiales [72].

Selon le ministère de la santé, de la population et de la réforme des hôpitaux Algérien, la prévalence des infections associées aux soins est estimée entre 12% et 15 % en moyenne à travers le territoire national [73].

Les infections associées aux soins de santé sont causées par des bactéries, des virus et des champignons d'origine humaine ou environnementale [74]. En milieu hospitalier, les personnes infectées ou colonisées représentent un réservoir de microorganismes pathogènes. Les agents pathogènes qui infectent ou colonisent une personne peuvent éventuellement en infecter une autre [75].

Plusieurs études ont révélé que les *SARM* peuvent se transmettre des patients infectés aux patients non-porteurs, mais également des soignants colonisés aux patients ou aux membres de leurs familles [76–80]. On a montré également qu'un patient hospitalisé dans une chambre antérieurement occupée par un autre patient infecté ou porteur d'une bactérie multi-résistante (*BMR*) risque d'acquérir cette *BMR* [81,82]. Ce risque diffère selon l'espèce ; celui d'acquérir une *EBLSE* est 1,39 fois plus important chez un patient hospitalisé dans une chambre antérieurement occupée par un autre patient porteur de cette bactérie. Dans 18% des cas, c'est la même souche que celle portée par le patient ayant antérieurement séjourné dans cette chambre [81]. Pour *P. aeruginosa*, ce risque est de 2,3, alors que pour les *A. baumannii*, il est de 4,53 (risque le plus élevé). Ces résultats mettent en évidence la persistance des germes responsables d'IAS en milieu de soins [83–85].

Lorsque Les surfaces de la chambre d'un patient sont contaminées, Le risque de contracter une IAS est beaucoup plus important pour ce patient [86]. Les germes infectieux largués par un patient porteur ou infecté peuvent contaminer plusieurs surfaces de sa chambre, et se transmettre par les mains du personnel de santé aux autres patients. Et ceci pourrait se reproduire plusieurs fois jusqu'à l'apparition d'une épidémie au sein d'un hôpital [2].

En effet, des épidémies ont été décrites dans le milieu hospitalier suite à la persistance des bactéries sur des surfaces environnementales humides ou sèches comme des distributeurs de savon doux [87], des robinets [88], des siphons [89], du matériel médical tel que le saturomètre (SpO<sub>2</sub>) [86], des matelas à air [90], des incubateurs [91] ou des endoscopes [92,93]. Selon l'étude de Vonberg et al. (2011), un quart des épidémies qui ont eu lieu à l'hôpital aurait une origine environnementale [94].

La persistance des microorganismes dans le milieu hospitalier diffère selon le type de surface et l'espèce bactérienne. Elle peut s'étendre pour de longues durées, par exemple *Klebsiella spp* pourrait persister sur des surfaces sèches jusqu'à plus de 30 mois [95]. Plusieurs études ont été réalisées de façons totalement différentes afin de déterminer la durée de survie des microorganismes in vitro. En effet, plus la durée de survie d'un germe pathogène sur une surface est longue, plus il sera responsable de la transmission d'infection aux patients ou au personnel soignant. Cependant, une étude complémentaire, sur plusieurs matériaux serait nécessaire pour déterminer la survie des germes dans le milieu hospitalier de manière standardisée [14].

Actuellement grâce à sa résistance à la corrosion et à sa facilité de nettoyage et de désinfection, l'inox est le plus utilisé comme matériau de revêtement des surfaces dans les structures de soins. Malgré son inertie, la prolifération des germes infectieux est très facile sur l'inox. En réalité ce type de matériau peut être contaminé par des *SARM*, des *ERV* ou des spores de *Clostridium difficile* pouvant y persister durant plusieurs semaines voire des mois [14].

En effet même sur les surfaces les plus lisses comme l'inox, il existe des striations microscopiques où les bactéries peuvent résister même après désinfection. L'amélioration de l'efficacité des protocoles de désinfections ne permet donc pas de régler définitivement le problème de la prolifération des germes infectieux sur les surfaces dans le milieu hospitalier [46].

Le recours au cuivre pour recouvrir les surfaces de contact dans les établissements de santé représente donc une alternative pour renforcer les protocoles sanitaires de lutte contre la transmission des infections associées aux soins.

# ***Matériel et Méthodes***

L'objectif principal de ce travail de thèse est d'étudier le pouvoir du cuivre à limiter la contamination microbienne dans l'environnement de soins. Pour cela, deux modèles d'étude ont été conçus. Le modèle d'étude *in vitro* repose sur l'évaluation de la capacité des coupons de cuivre à éliminer des charges de différentes souches bactériennes et fongiques inoculées sur ces coupons au laboratoire, en comparant l'efficacité des coupons de cuivre à celles des coupons d'inox utilisés comme contrôle. Parallèlement, le modèle d'étude *in situ* comporte l'installation de surfaces en cuivre dans des services hospitaliers et la réalisation de prélèvements microbiologiques de ces surfaces ainsi que des surfaces standards dans le but de dénombrer, identifier et comparer les flores microbiennes colonisant ces deux types de surfaces, et ce en utilisant des méthodes classiques de numération et d'analyses microbiologiques.

Secondairement, nous avons également comme objectif d'évaluer la résistance bactérienne au cuivre. Pour cela nous avons recherché des souches bactériennes sur des pièces de monnaie de 20 dinars Algériens, constituées d'un cœur contenant 92% de cuivre.

#### **Type de l'étude :**

- 1- Etude de l'activité antimicrobienne des coupons de cuivre *in vitro* : il s'agit d'une étude expérimentale parallèle contrôlée non randomisée en ouvert.
- 2- Etude de l'activité antimicrobienne du cuivre *in situ* au niveau des services hospitaliers : il s'agit d'une étude expérimentale croisée contrôlée non randomisée en ouvert.
- 3- Etude de la résistance bactérienne au cuivre : il s'agit d'une étude expérimentale parallèle contrôlée non randomisée en ouvert.

#### **Cadre de l'étude :**

Ce travail a été réalisé au niveau de l'établissement hospitalier Didouche Mourad de Constantine. Trois services ont participé à l'étude *in situ* : le service de médecine interne, l'unité de néonatalogie du service de pédiatrie et le laboratoire central.

- Le service de médecine interne se compose de cinq unités d'hospitalisation (unité pied diabétique, unité de gastroentérologie, unité de neurologie, unité de réanimation et unité de l'hôpital de jour), trois salles de soin, une salle de consultation, une salle

d'exploration, une pharmacie, un bureau du médecin chef, un bureau du surveillant médical, un bureau des assistants, un bureau des résidents, une chambre de garde, des vestiaires et des sanitaires.

- L'unité de néonatalogie se compose de cinq salles (salle de consultation, salle de soins, salle de réanimation, salles des prématurés et salle d'infectieux), une pharmacie, une détente, des vestiaires et des sanitaires.
- Le laboratoire central se compose de cinq unités (unité de biochimie, unité d'hémobiologie, unité de microbiologie, unité de parasitologie, et une banque de sang), une réception, un secrétariat, une salle de staff, un bureau du médecin chef, un bureau des assistants, un bureau du surveillant médical, des vestiaires et des sanitaires.

## **1. Matériel :**

Pour la réalisation des différentes étapes de l'étude, on s'est servi du matériel suivant:

### **1.1. Eléments métalliques :**

- Des coupons de cuivre (1cm\* 1cm) d'une pureté de 99% ainsi que des coupons d'inox de mêmes dimensions, servant comme surfaces de contrôle, ont été utilisés dans l'étude de l'efficacité antimicrobienne de cuivre in vitro . Les coupons tests et contrôles ont été préalablement nettoyés avec de l'acide nitrique ( MZK BactChim, Constantine, Algérie) dilué à 1% ensuite flambés dans de l'éthanol 70% (2M Pharma, Alger, Algérie) et conservés dans des boîtes de Pétri stériles.
- Des feuilles en cuivre (20 cm\*20 cm), (15cm \* 15cm) et (10cm\*5 cm) d'une pureté de 99% ont été utilisés pour recouvrir les surfaces environnementales dans l'étude de l'efficacité antimicrobienne du cuivre in situ.
- 200 pièces de monnaie de vingt Dinars Algérien ont été utilisées dans l'étude de la résistance bactérienne au cuivre. Ces pièces sont bimétalliques : le cœur est constitué d'un alliage contenant 92 % de cuivre, 6% d'aluminium et 2% de nickel. Alors que la couronne est à base d'acier inoxydable [96].

### **1.2 Matériel biologique :**

- Les souches bactériennes utilisées dans l'étude in vitro étaient :
- ✓ *Escherichia coli* multi-résistant (Ampicilline : R, Ticarcilline : R, Pipéracilline : R, Augmentin : R, Céfazoline : R, Céfotaxime : R, Aztréonam : R, Gentamicine : R, Ac nalixidique : R, Ciprofloxacine : R, Bactrim :R).

- ✓ *Enterococcus faecium* multi-résistant (Ampicilline : R, Augmentin : R, Céfazoline : R, Céfotaxime : R, Imipénem : R, Ciprofloxacine : R, Bactrim :R, Lévofloxacine : R).
  - ✓ *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) (Pénicilline : R, Céfoxitine : R, Erythromycine : R ,Clindamycine : R, T etramycine : R, Kanamycine : R, Gentamicine : R, Amikacine : R, Tobramycine :R, Ciprofloxacine : R, Bactrim :R, Lévofloxacine : R).
  - ✓ *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistant (Ticarcilline : R, Pipéracilline : R, Aztréonam : R, Ceftazidime : R).
  - ✓ *Klebsiella pneumoniae* multi-résistante (Ampicilline : R , Ticarcilline : R, Pipéracilline : R , Augmentin : R, Céfazoline : R, Céfotaxime : R, Aztréonam :R, Gentamicine : R, Amikacine : R, Ac nalixidique :R, Ciprofloxacine : R, Bactrim :R).
  - ✓ *Acinetobacter baumannii* multi-résistant (Ticarcilline : R, Pipéracilline : R , Ceftazidime : R, Aztréonam :R, Imipénem :R, Gentamicine : R, Ciprofloxacine : R, Bactrim :R, Lévofloxacine : R, Tobramycine : R).
  - ✓ *Salmonella heidelberg* multi-résistant (Ampicilline :R , Ticarcilline : R, Pipéracilline : R , Augmentin : R, Céfazoline : R, Céfotaxime : R, Aztréonam :R, Gentamicine : R, Ciprofloxacine : I, Bactrim :R).
- Ces souches multi-résistantes étaient isolées à partir des prélèvements des malades hospitalisés au niveau des services de l'EH Didouche Mourad Constantine.
  - Les souches fongiques utilisées dans l'étude in vitro étaient *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp.* La souche *Candida albicans* était isolée à partir d'un prélèvement d'un malade alors que les souches *Penicillium sp et Aspergillus fumigatus* étaient isolées à partir d'un prélèvement de l'environnement.

### 1.3. Milieux de culture :

- Les milieux de culture liquides utilisés dans cette étude étaient :
  - ✓ Le bouillon cœur-cerveille (BHIB pour Brain Heart Infusion Broth) pour les cultures bactériennes. (Institut Pasteur d'Algérie).
  - ✓ Le milieu Sabouraud liquide pour les cultures fongiques. il a été préparé et validé au niveau du laboratoire central de l'EH Didouche Mourad. Il est composé de 10 g de peptone (Conda SA, Madrid, Espagne), 20 g de glucose (Sigma- Aldrich, Saint Louis, USA) et la QSP 1L d'eau distillée.

- ✓ Le tampon phosphate salin (PBS pour Phosphate-Buffered Saline) était utilisé pour la remise en suspension et le lavage des microorganismes. Il a été préparé au niveau du laboratoire de chimie minérale pharmaceutique du département de pharmacie de Constantine. Il est composé de 8 g de chlorure de sodium NaCl (Merck, Billerica, USA), 2 g de chlorure de potassium KCl (Merck, Billerica, USA), 1.42 g d'hydrogénophosphate disodique Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA), 0.24g de dihydrogénophosphate de potassium KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Fisher Scientific SAS, Cedex, France) et la QSP 1L d'eau distillée..
- ✓ L'eau physiologique stérile en tube de 10 ml (Institut Pasteur d'Algérie) était utilisée pour diluer les suspensions microbiennes.
- Les milieux de culture solides utilisés dans l'étude étaient :
  - ✓ Gélose nutritive (Institut Pasteur d'Algérie), milieux non sélectif permettant le dénombrement des colonies bactériennes.
  - ✓ Milieu chromogène (Bioscan Industrie, Sétif, Algérie), milieu non sélectif permettant la différenciation et l'identification des bactéries non exigeantes grâce aux colorations spécifiques des colonies.
  - ✓ Milieu Hektoen (Bioscan Industrie, Sétif, Algérie), milieu sélectif permettant l'isolement des bacilles à gram négatif non exigeants.
  - ✓ Milieu Chapman (Bioscan Industrie, Sétif, Algérie), milieu sélectif permettant l'isolement des *Staphylococcus*.
  - ✓ Milieu de conservation (Bioscan Industrie, Sétif, Algérie) permettant de préserver et maintenir la viabilité des souches bactériennes.
  - ✓ Milieux Sabouraud additionnée d'Actidione et sans Actidione (Institut Pasteur d'Algérie) permettant l'isolement et le dénombrement des champignons.

#### **1.4. Réactifs utilisés pour la coloration de Gram :**

Pour la coloration de Gram, on avait recours à quatre réactifs :

- Le violet de gentiane phéniqué (Adam Labo, Tizi Ouzou, Algérie) permettant de colorer les bactéries à gram négatif et à gram positif en violet.
- Le lugol ( MZK BactChim, Constantine, Algérie) permettant de fixer la coloration violette aux bactéries à gram négatif et à gram positif.

- L'alcool éthylique à 95% (2M Pharma, Alger, Algérie) permettant de décolorer les bactéries à gram négatif.
- La fuchsine basique (MZK BactChim, Constantine, Algérie) permettant de recolorer les bactéries à gram négatif en rose.

### **1.5. Tests biochimiques pour l'identification des bactéries :**

- Le milieu Urée Indole (Institut Pasteur d'Algérie) permettant l'identification des Entérobactéries par la mise en évidence de l'uréase, de la tryptophane désaminase et de la production d'indole.
- Le milieu TSI (pour Triple Sugar Iron) (Institut Pasteur d'Algérie) permettant l'identification des Entérobactéries par la mise en évidence de la fermentation des trois sucres (glucose, lactose et saccharose) et la production de gaz et de H<sub>2</sub>S.
- Le milieu Mannitol Mobilité (Institut Pasteur d'Algérie) permettant l'identification des Entérobactéries par la mise en évidence de la fermentation du mannitol, la mobilité bactérienne et la réduction des nitrates en nitrites.
- Le milieu Citrate de Simmons (Institut Pasteur d'Algérie) permettant la différenciation des bactéries gram-négatives par la mise en évidence de l'utilisation du citrate comme la seule source de carbone.
- Les milieux aminés ODC (ornithine-décarboxylase) LDC (lysine-décarboxylase) et ADH (arginine-dihydrolase) (Institut Pasteur d'Algérie) permettant de différencier les Entérobactéries par la recherche des enzymes décarboxylases et dihydrolases.
- Les disques oxydase (Institut Pasteur d'Algérie) permettant la détection de l'enzyme cytochrome oxydase chez les BGN produisant cette enzyme tel que *Pseudomonas spp.*
- L'eau oxygénée (Rhumel pharm, Constantine, Algérie) permettant la détection de la présence de l'enzyme catalase chez les bactéries pour différencier les *Staphylococcus catalase (+)* des *Streptococcus catalase (-)*.

### **1.6. Matériel du laboratoire:**

- Un microscope optique. ( Optika, Italie)
- Une étuve microbiologique réglée à 37°C. (Binder, Allemagne).
- Une étuve microbiologique réglée à 27°C.(Nuve, Turquie).

- Une hotte microbiologique ( Haier biomedical, France).
- Un autoclave 23 L.(Getidy , Chine).
- Un agitateur rotatoire. (Dragon Lab, Chine).
- Un agitateur magnétique chauffant (Corning, France).
- Une balance de précision 0.0001g (Radwag, Pologne).
- Des écouvillons stériles (AFCO , Jordanie) pour réaliser des prélèvements.
- Des tubes à vis en verre autoclavables.
- Des boîtes de Pétri.
- Une fiole jaugée de 1L.
- Un erlenmeyer de 1L.
- Des micropipettes 10 uL et 100 uL. (Accumax pro, Inde).

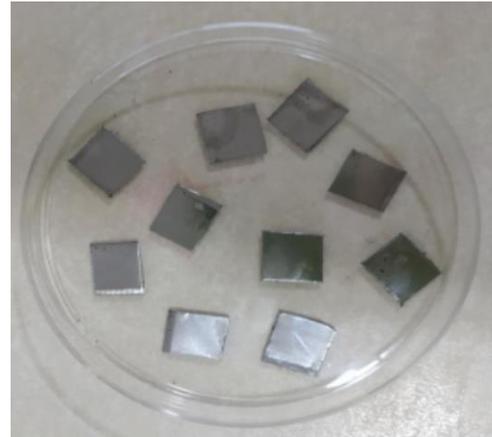
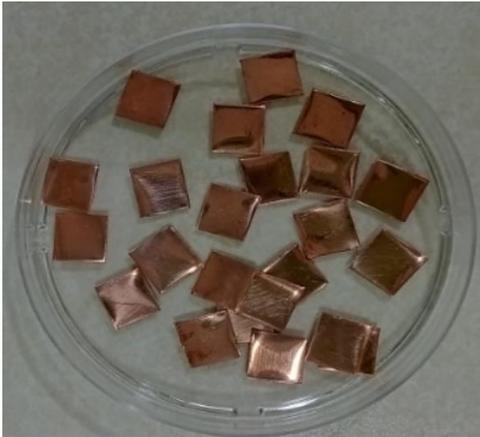
### **1.7. Logiciels et bases de données :**

- La recherche bibliographique était réalisée en utilisant la base de données MEDLINE PubMed et le moteur de recherche Google Scholar.
- L'étude statistique était réalisée grâce aux logiciels : IBM SPSS Statistics 25, Biosta TGV et Excel.
- Les références bibliographiques étaient gérées en utilisant le logiciel Zotero.

## **2. Méthodes :**

### **2.1. Evaluation de l'activité antimicrobienne des coupons de cuivre in vitro :**

La méthodologie consiste d'une manière générale à comparer la survie des souches bactériennes (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* et *Salmonella heidelberg*) et fongiques (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp*) sur des coupons de cuivre *versus* des coupons inox servant comme contrôles. Le protocole de travail a été adapté de l'étude Mehtar et al [25].



**Figure 09:** Photographie des coupons de cuivre **Figure 10:** Photographie des coupons d'inox

### Les critères d'inclusion :

Les souches bactériennes incluses dans l'étude étaient :

- ✓ Des souches cliniques isolées des prélèvements des malades hospitalisés au niveau de l'EH Didouche Mourad.
- ✓ Des souches multi-résistantes aux antibiotiques.
- ✓ Des souches appartenant à des espèces fréquemment impliquées dans les IAS.

Les souches fongiques incluses dans l'étude étaient :

- ✓ Des souches fréquemment présentes dans l'environnement hospitalier.

### Les critères d'exclusion :

- ✓ Les souches bactériennes d'origine environnementale ou de laboratoire étaient exclues de l'étude.
- ✓ Les souches bactériennes sensibles aux antibiotiques étaient exclues de l'étude.

#### 2.1.1. Evaluation de l'activité antibactérienne des coupons de cuivre in vitro :

Les étapes suivantes ont été répétées deux fois pour chaque souche bactérienne :

##### 2.1.1.1. Repiquage des souches bactériennes conservées :

- Les souches bactériennes ont été maintenues viables dans des milieux de conservation à 4°C. elles ont été repiquées en procédant comme suit :
  - ✓ Pour chaque souche conservée, on a réalisé un prélèvement du milieu de conservation puis on a ensemencé dans un tube contenant 5 mL du milieu BHIB suivie d'une incubation à 37°C pendant une nuit. La multiplication des souches était appréciée par l'apparition d'un trouble dans le milieu.

- ✓ Ces souches ont été ensuiteensemencées en utilisant la méthode des cadrans sur gélose nutritive et incubé à 37°C pendant une nuit. L'homogénéité des colonies a été vérifiée à l'œil nue.
- ✓ ces nouvelles cultures ont été utilisées pour préparer les suspensions bactériennes à inoculer sur les surfaces à tester.

#### **2.1.1.2. Préparation des suspensions bactériennes à inoculer :**

- Une colonie de chaque souche bactérienne était prélevée et mise en suspension dans un tube contenant 10 mL de BHIB, puis incubées à 37°C pendant une nuit.
- Ensuite 0.1 mL de chaque culture était transféré dans un tube contenant 15 mL de BHIB. Ces nouvelles suspensions bactériennes ont été incubées à 37°C pendant une nuit.

#### **2.1.1.3. Détermination de la densité des suspensions bactériennes à inoculer :**

- Pour la détermination de la densité des suspensions à inoculer, on a utilisé la méthode des dilutions successives en se référant à la norme ISO 7218 octobre 2007.
- Cette norme suggère l'utilisation d'une seule boîte par dilution.
- Selon la norme ISO 7218 octobre 2007: « le calcul du nombre d'UFC par mL ou par g de produit, consiste à faire la moyenne pondérée du nombre de colonies obtenues sur deux dilutions successives dont l'une, au moins, présente un minimum de 10 colonies. Le nombre maximal de colonies en totalité est de 300 par boîte » [97].
- Pour ce faire, on a préparé trois dilutions dans l'eau physiologique stérile à partir des suspensions bactériennes à inoculer ;  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-7}$ .
- Dix microlitres de chaque dilution ont étéensemencés sur 3 boîtes de gélose nutritive puis incubés à 37°C pendant 24 heures.
- On a procédé ensuite au dénombrement des colonies sur chaque boîte. Seules les boîtes contenant entre 10 et 300 colonies ont été retenues pour le calcul. Au final, on a retenu une boîte par dilution.
- Pour déterminer la densité en nombre d'UFC par millilitres des suspensions bactériennes à inoculer, on a utilisé l'équation suivante :

$$N = \sum c / (V \times 1,1 d)$$

Avec :

- ✓ N = concentration en nombre d'UFC par millilitre
- ✓  $\sum c$  = somme des colonies comptées sur les deux boîtes retenues.
- ✓ V = volume de l'inoculum appliqué à chaque boîte en millilitres.
- ✓ d = dilution correspondant à la première boîte retenue ; avec l'inoculum le moins dilué [97].

#### **2.1.1.4. Inoculation des souches bactériennes sur les surfaces à tester :**

- Dix microlitres de chaque suspension étaient inoculés sous forme de gouttelette sur chaque support à tester (cuivre et inox).
- Les échantillons ont été laissés environ 30 minutes à température ambiante, jusqu'au séchage complet de l'inoculum. Ensuite incubés à température et humidité ambiantes pendant des durées de (0, 30, 60, 90, 180 et 240 min).

#### **2.1.1.5. Remise en suspension des flores viables, ensemencement et dénombrement des colonies :**

- Après inoculation des souches bactériennes sur les deux types de coupons (cuivre et inox) et incubation pendant les durées définies, ces coupons ont été transférés dans des tubes contenant 10 mL de tampon PBS . ils ont été alors immergés dans ce milieu de resuspension..
- Les tubes contenant les coupons ont été ensuite placés au vortex pendant 30 secondes pour relarguer les souches survivantes.
- Puis les milieux de resuspensions ont été dilués jusqu'à un facteur  $10^{-3}$  dans l'eau physiologique stérile, et ensemencés sur géloses nutritives à raison de 100  $\mu$ L par gélose. Ces géloses ont été ensuite incubées à 37°C pendant 18 heures.
- Enfin, les colonies ayant poussées sur les géloses nutritives ont été dénombrées. La moyenne des nombres de colonies des deux essais a été utilisée pour calculer la charge bactérienne viable présente sur les coupons de cuivre et inox à chaque temps d'incubation selon la formule suivante.

$$C = M \cdot V / Fv$$

Avec :

C : la charge bactérienne.

M : la moyenne des nombres de colonies.

V : le volume de resuspension = 10 mL

F : le facteur de dilution =  $10^{-3}$

v: le volumeensemencé = 100 uL

- Cette charge a été exprimée en UFC/cm<sup>2</sup>.

### Les critères de jugements :

- A partir des charges bactériennes calculées à chaque temps d'incubation sur cuivre et inox, on a pu tracer et comparer les courbes de survie de chaque souche bactérienne sur les deux types de matériaux.
- Pour évaluer l'efficacité antibactérienne du cuivre on a adopté les critères utilisés par l'étude Rozanska et al [49] :
  - ✓ Une réduction de la charge bactérienne supérieure ou égale à 2 log et inférieure à 3 log signifie que le métal possède des propriétés bactériostatiques.
  - ✓ Une réduction de la charge bactérienne supérieure à 3 log signifie que le métal possède des propriétés bactéricides.
- le test t de Student était utilisé pour analyser l'effet matériau sur la charge bactérienne en comparant les moyennes des charges bactériennes sur les coupons de cuivre et inox. le seuil de significativité était atteint pour une valeur de  $P < 0.05$ .

### 2.1.2. Evaluation de l'activité antifongique des coupons de cuivre in vitro :

Les souches fongiques (*Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp*) ont été conservées par repiquages successifs sur milieu Sabouraud.

Les étapes suivantes ont été répétées deux fois pour chaque souche fongique.

#### 2.1.2.1 Préparation des suspensions fongiques à inoculer :

- Une colonie de chaque souche fongique était prélevée et mise en suspension dans un tube contenant 10 mL de milieu Sabouraud liquide, puis incubées à 37°C pour

*Candida albicans* et à 27° C pour *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp* pendant une nuit.

- Ensuite 0.1 mL de chaque culture était transféré dans un tube contenant 15 mL de milieu Sabouraud liquide. Ces nouvelles cultures ont été incubées à 37°C pour *Candida albicans* et à 27° C pour *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp* pendant une nuit.

#### **2.1.2.2. Détermination de la densité des suspensions fongiques à inoculer :**

- Pour la détermination de la densité des suspensions à inoculer, on a utilisé la méthode des dilutions successives en se référant à la norme ISO 7218 octobre 2007. (Voir p 51)
- Pour les levures et les moisissures, cette norme préconise de retenir pour le calcul les boites contenant entre 10 et 150 colonies [97].
- on a préparé trois dilutions dans l'eau physiologique stérile à partir de la suspension à inoculer de *Candida albicans* ;  $10^{-3}$ ,  $10^{-5}$  et  $10^{-7}$ . Anisi que trois dilutions de la suspension d'*Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp* ;  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  et  $10^{-3}$ .
- 10 microlitres de chaque dilution ont étéensemencés sur 3 boites de gélose Sabouraud au chloramphénicol puis incubés pendant 24 heures, à 37°C pour les cultures de *Candida albicans* et à 27°C pour les cultures d'*Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp*.
- Ensuite, on a procédé au dénombrement des colonies sur chaque boite en prenant en compte les exigences de la norme ISO 7218 octobre 2007. Au final, on a retenu une boite par dilution.
- Pour déterminer les concentrations en nombre d'UFC/ mL des suspensions à inoculer on a utilisé l'équation citée précédemment (voir p 52).

#### **2.1.2.3. Inoculation des souches fongiques sur les surfaces à tester :**

- Dix microlitres de chaque suspension étaient inoculés sous forme de gouttelette sur chaque support à tester (cuivre et inox).
- Les échantillons ont été laissés environ 30 minutes à température ambiante, jusqu'au séchage complet de l'inoculum. Ensuite incubés à température et humidité ambiantes pendant des durées de (0, 1h, 2h, 3h, 6h, 12h et 24h) pour *Candida albicans* et (0, 3h, 6h, 12h, 24h, 48h, 72h et 168h) pour *Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp*.

- NB : pour éviter la contamination des échantillons de *Penicillium sp* et *Aspergillus fumigatus*, cette étape a été réalisée sous hotte à flux laminaire pour ces champignons.

#### 2.1.2.4. Remise en suspension des flores viables, ensemencement et lecture :

- Après inoculation des souches fongiques sur les deux types de coupons (cuivre et inox) et incubation pendant les durées définies, ces coupons ont été transférés dans des tubes contenant 10 mL de tampon PBS. Ils ont été alors immergés dans ce milieu de resuspension.
- Les tubes contenant les coupons ont été ensuite placés au vortex pendant 30 secondes pour relarguer les souches survivantes.
- 100 µL de chaque suspension de *Candida albicans* ont été ensemencés sur gélose Sabouraud (additionnée d'Actidione et sans Actidione) en boîte. Alors que les mêmes volumes des suspensions d'*Aspergillus fumigatus* et de *Penicillium sp* ont été ensemencés sur gélose Sabouraud (additionnée d'Actidione et sans Actidione) inclinée en tube pour éviter la contamination environnementale. Ces géloses ont été ensuite incubées pendant 18 heures à 37°C pour *Candida albicans* et à 27° C pour *Penicillium sp* et *Aspergillus fumigatus*.
- Enfin, les colonies ayant poussées sur les boîtes de gélose Sabouraud ont été dénombrées. La moyenne des nombres de colonies issus des deux essais a été utilisée pour calculer la charge viable de *Candida albicans* présente sur les coupons de cuivre et inox à chaque temps d'incubation selon la formule suivante :

$$C' = M' * V' / v'$$

Avec :

C' : la charge de *Candida albicans*.

M' : la moyenne des nombres de colonies.

V' : le volume de resuspension = 10 mL

v' : le volume ensemencé = 100 µL

- Cette charge a été exprimée en UFC/cm<sup>2</sup>.

**Les critères de jugement :**

- A partir des charges de *Candida albicans* calculées à chaque temps d'incubation, on a pu tracer et comparer les courbes de survie de cette levure sur les deux types de matériaux.
- le test t de Student était utilisé pour analyser l'effet matériau sur la charge de *Candida albicans* en comparant les moyennes des charges de cette levure sur les coupons de cuivre et inox. le seuil de significativité était atteint pour une valeur de  $P < 0.05$ .
- Pour *Penicillium sp* et *Aspergillus fumigatus*, on a procédé à la lecture des cultures pour déterminer et comparer les temps de survie de ces champignons sur les deux types de matériaux.

**2.2. Etude de l'activité antimicrobienne du cuivre in situ au niveau des services hospitaliers :**

- Dans cette seconde partie de l'étude et pour mettre en évidence l'effet antibactérien et antifongique du cuivre in situ, nous avons installé des surfaces en cuivre dans l'environnement des malades et sur des objets fréquemment touchés par les malades et/ou le personnel médical.
- Ensuite nous avons étudié les charges microbiennes environnementales et identifier les différentes populations bactériennes et fongiques colonisant des surfaces en cuivre en les comparant à celles présentes sur des éléments standards (inox , bois, plastique ..etc).

**II.2.1. Installation des surfaces en cuivre :**

- Trois services de l'EH Didouche Mourad ont été volontaires pour participer à l'étude : le service de médecine interne, le laboratoire central et l'unité de néonatalogie du service de pédiatrie.
- 105 surfaces en cuivre ont été installées au niveau de ces des services dont 10 au niveau de l'unité de néonatalogie, 60 au niveau du service de médecine interne, et 35 au niveau du laboratoire central.

**Les critères d'inclusion :**

- ✓ Les objets fréquemment touchés par les malades et/ou le personnel médical étaient inclus dans l'étude.
- ✓ Toute surface en cuivre restée intacte après son installation était incluse dans l'étude.

**Les critères d'exclusion :**

- ✓ Les objets peu touchés par les malades et le personnel médical sont exclus de l'étude.
- ✓ Les surfaces en cuivre enlevées ou endommagées étaient exclues de l'étude.

Unité de néonatalogie :

- Dans l'unité de néonatalogie, 10 surfaces en cuivre étaient placées sur les poignées de portes. 50% des poignées de l'unité étaient recouvertes en cuivre alors que les 50% restées non recouvertes ont servi de témoins. Les surfaces en cuivre ont été placées sur les poignées de porte en alternant entre le côté salle et le côté couloir.
- Ces surfaces étaient installées au niveau de la salle de consultation, la salle de soins, la salle des prématurés, la salle d'infectiologie, la salle de réanimation, la pharmacie, la détente, des vestiaires, des sanitaires et la poignée de porte d'entrée.

Service de médecine interne :

- Dans le service de médecine interne, 60 surfaces en cuivre étaient placées au niveau des chambres des malades des différentes unités ( pieds diabétique, gastroentérologie, neurologie, réanimation et hôpital de jour), des salles de soins, de la salle de consultation, du bureau des résidents, du bureau des assistants, du bureau du médecin chef, du bureau du surveillant médical, des sanitaires et des vestiaires.
- Les objets concernés étaient les poignées de porte (en alternant entre le côté salle et le côté couloir), les barreaux des lits, les tables à manger, les tables de chevet, les chariots de soins, les chariots de nourriture, les armoires médicales et les bureaux du personnel.

Laboratoire central :

- Dans le laboratoire central, 35 surfaces en cuivre étaient placées au niveau de la réception, de la banque de sang, de l'unité de microbiologie, de l'unité de parasitologie, du bureau des assistants, du bureau du surveillant médical et des sanitaires.
- Les objets concernés étaient les poignées de porte (en alternant entre le côté salle et le côté couloir), les casiers, les étuves, les paillasses, les vis des microscopes, les réfrigérateurs des réactifs, les armoires des réactifs et les bureaux du personnel.



**Figure 11 :** photographie de deux poignées de porte recouvertes en cuivre au niveau du service de médecine interne.



**Figure 12 :** photographie de deux surfaces en cuivre (20 cm\*20 cm) placées dans des armoires des médicaments au niveau du service de médecine interne.



**Figure 13 :** photographie de deux surfaces en cuivre (15 cm\*15 cm) placées sur des chariots de soin au niveau du service de médecine interne.

### **2.2.2. Prélèvement microbiologique au niveau des services hospitaliers :**

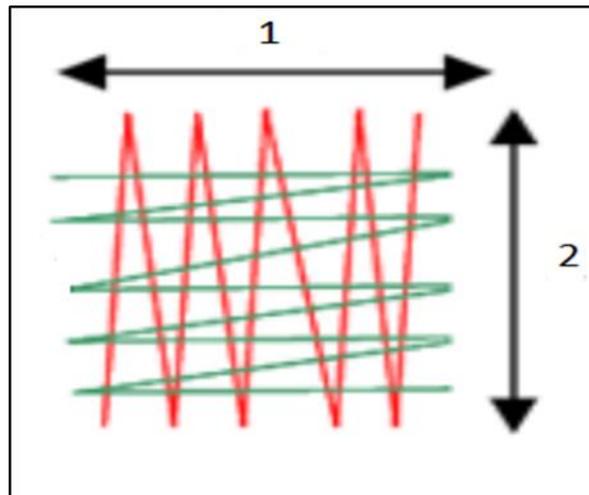
- Après vingt jours de l'installation des surfaces en cuivre au niveau des trois services, on a réalisé un prélèvement de ces surfaces ainsi que des surfaces standards témoins.

#### **2.2.2.1. Les surfaces à prélever :**

- Pour les poignées de porte, on a procédé au prélèvement des poignées recouvertes en cuivre ainsi que des poignées témoins du côté opposé.
- Pour les autres objets, on a procédé au prélèvement des surfaces en cuivre ainsi que des surfaces témoins qui se trouvent juste à côté en respectant la même aire de prélèvement. Les surfaces témoins ont été délimitées à l'aide d'une règle et d'un crayon préalablement désinfectés.

#### **2.2.2.2. Le protocole de prélèvement :**

- Le protocole de prélèvement a été adapté du guide « Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé » du CCLIN Sud-Ouest – 2016.[98]
- Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage, une méthode fréquemment employée pour évaluer les charges microbiennes sur des surfaces. Pour cela on a utilisé des écouvillons stériles composés d'une tige en bois et d'un embout en coton.
- Les extrémités des écouvillons ont été humidifiées avec de l'eau physiologique stérile, ensuite pressées contre la paroi du tube pour éliminer l'excès d'eau. Cette étape a permis un meilleur relargage des microorganismes des surfaces à prélever.
- La technique de prélèvement consiste à faire passer l'écouvillon sur la surface à prélever en traçant des stries parallèles rapprochées et en faisant tourner légèrement l'écouvillon entre le pouce et l'index. Cette opération a été répétée en traçant des stries perpendiculaires aux premières sur la même surface de prélèvement. L'écouvillon a été ensuite mis dans son étui protecteur dans des conditions aseptiques.



**Figure 14** : Technique de prélèvement des surfaces [CCLIN, 2016]

- Ces prélèvements étaient effectués le matin avant la désinfection des surfaces par les agents d'entretien pour éviter la présence des traces de détergents.
- Les mesures d'hygiène ont été respectées dans la zone de prélèvement, de même que les procédures de bionettoyage sont restées inchangées tout au long de l'étude.
- Chaque prélèvement a été numéroté et identifier en mentionnant le type de la surface prélevée (cuivre ou témoin), le service, la zone et l'objet. Les prélèvements des surfaces en cuivre étaient numérotés en chiffres impaires alors que ceux des surfaces témoins étaient numérotés en chiffres pairs.
- Ces prélèvements ont été ensuite rapidement acheminés au laboratoire central pour éviter la dessiccation et la mortalité des microorganismes.
- Après 8 semaines du premier prélèvement, on a procédé à un deuxième prélèvement des surfaces en cuivre pour évaluer la variation de l'activité antimicrobienne de ce métal dans le temps.

### **2.2.2.3. Mise en culture, dénombrement et identification des flores bactérienne et fongique :**

- Au total 315 échantillons ont été récoltés lors des deux prélèvements. Ces échantillons ont été acheminés au laboratoire pour être directementensemencés sur différents milieux de culture permettant la détection et le dénombrement des bactéries et champignons présents sur les surfaces prélevées.

### 2.2.2.3.1. Recherche des bactéries dans les prélèvements des surfaces :

- Les 315 prélèvements ont été ensemencés par déchargement successive de chaque écouvillon sur trois milieux :
  - ✓ La gélose chromogène, milieu non sélectif permettant l'identification et le dénombrement de la flore bactérienne totale.
  - ✓ La gélose Hektoen, milieu sélectif permettant la détection des BGN.
  - ✓ Et la gélose Chapman, milieu sélectif permettant la détection des *staphylocoques*.
- Tous les milieux de culture gélosés ont été incubés à 37°C pendant 24h. les colonies d'espèces bactériennes différentes ont été ensuite dénombrées pour chaque prélèvement.
- L'identification des souches bactériennes a été complétée en se basant sur :
  - ✓ des critères morphologiques macroscopiques (aspect des colonies) et microscopiques après coloration de Gram.
  - ✓ Et des critères biochimiques par les différents tests de la galerie biochimique et les tests complémentaires (le test de catalase et le test d'oxydase).
- Le nombre d'UFC/100 cm<sup>2</sup> des différentes espèces bactériennes isolées sur les deux types de surfaces (cuivre et témoin) a servi de référence pour évaluer l'efficacité antibactérienne du cuivre.

### 2.2.2.3.2. Recherche des champignons dans les prélèvements de surfaces:

- L'étude de la flore fongique a été réalisée sur les prélèvements effectués au niveau du service de médecine interne.
- Au total 180 échantillons ont été récoltés lors des deux prélèvements. Ces échantillons ont été ensemencés par déchargement des écouvillons sur géloses Sabouraud inclinées en tube (additionnée d'Actidione et sans Actidione).
- Ces cultures ont été incubées à 27°C pendant 7 jours. la lecture de ces cultures a été réalisée chaque jour durant la période d'incubation.
- L'identification des colonies fongiques était macroscopique et microscopique.
- Le test de filamentation et le test de chlamydosporulation étaient réalisés pour l'identification des levures.

- Le nombre d'espèces fongiques différentes isolées par surface sur les surfaces standards et les surfaces en cuivre a été utilisé comme référence pour évaluer l'efficacité antifongique de ce métal.

**Etude statistique et critères de jugements :**

- Pour notre étude statistique, l'Excel et les logiciels IBM SPSS statistics 25 et Biosta TGV étaient utilisés pour l'analyse des données.
- Les résultats étaient évalués et interprétés selon les outils de statistiques : effectifs moyennes, médianes, fréquences.....
- Pour évaluer l'efficacité antimicrobienne in situ des surfaces en cuivre on a utilisé les critères suivants :
- La charge bactérienne exprimée en nombre d'UFC/100 cm<sup>2</sup> des différentes espèces bactériennes isolées sur les surfaces (cuivre et témoin) ainsi que les fréquences de contamination bactérienne des deux types de surfaces ont servi de références pour évaluer l'efficacité antibactérienne du cuivre.
- Le nombre d'espèces fongiques différentes isolées par surface sur les surfaces standards et les surfaces en cuivre ainsi que les fréquences de contamination fongique des deux types de surface ont été utilisés comme références pour évaluer l'efficacité antifongique de ce métal.
- Le test de Kolmogorov-Smirnov a été utilisé pour vérifier la normalité de la distribution de la charge bactérienne ainsi que celle du nombre d'espèces fongiques isolé par surface.
- Le test U de Mann- Withney a été utilisé pour comparer les charges bactériennes ainsi que le nombre d'espèces fongiques isolé par surface entre les surfaces en cuivre et les surfaces standards
- Le test de Khi-2 et le test exact de Fisher ont été utilisés pour comparer les fréquences de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards.
- le seuil de significativité était atteint pour une valeur de  $P < 0.05$

### **2.3. Etude de la résistance bactérienne au cuivre :**

- Dans cette partie nous avons étudié le pouvoir des bactéries à développer une résistance au cuivre lors d'un contact continu avec ce métal. Pour ce faire, nous avons recherché des souches bactériennes pouvant persister sur les pièces de 20 dinars Algériens.
- Ces pièces de monnaie, entrant fréquemment en contact avec les mains, sont constituées d'un cœur contenant 92% de cuivre. Elles représentent donc des surfaces idéales pour isoler des bactéries résistantes à ce métal.

#### **Les critères d'inclusion :**

- ✓ Les pièces de monnaie de 20 DA en circulation étaient incluses dans l'étude.

#### **Les critères d'exclusion :**

- ✓ Toutes autres pièces de monnaie étaient exclues de l'étude.
- Pour réaliser cette étude nous avons procédé comme suit :

#### **2.3.1. Prélèvement des pièces de monnaie :**

- 200 pièces de monnaie de 20 dinars Algériens ont été collectées dans quatre wilayas de l'Est Algérien : Constantine, Oum el Bouaghi, Mila et Jijel.
- Ces pièces ont été placées dans des boîtes de Pétri stériles, ensuite prélevées des deux faces en utilisant des écouvillons stériles préalablement humidifiés à l'eau physiologique stérile.
- Les prélèvements ont été réalisés en frottant les écouvillons sur la partie centrale des pièces (la partie jaune avec un diamètre de 19.55 mm).



Un alliage contenant  
92% de cuivre

**Figure 15 :** Photographie des pièces de vingt dinars Algérien

### **2.3.2. Mise en culture :**

- Les écouvillons ont été immergés dans des tubes contenant 5 ml de bouillon cœur-cerveille pour enrichissement, en coupant les bâtonnets dans des conditions aseptiques, et incubées à 37°C pendant 18h.
- 10 µL de chaque bouillon ont été ensuiteensemencés sur trois milieux de culture gélosés : la gélose nutritive, la gélose Hektoen et la gélose Chapman. Tous ces milieux de culture ont été incubés à 37 °C pendant 24h.

### **2.3.3. Dénombrement et identification :**

- Les colonies d'espèces différentes ont été dénombrées et identifiées en se basant sur des critères morphologiques macroscopiques (aspects des colonies) et microscopiques (après coloration de Gram).

### **2.3.4. Test de survie sur du cuivre pur :**

- La survie des souches bactériennes isolées sur les pièces de monnaie a été testée in vitro sur une surface de cuivre pure à 99%, et comparée à celle des souches contrôles isolées de l'environnement hospitalier. Pour ce faire nous avons procédé comme suit :

#### **2.3.4.1. Préparation des suspensions bactériennes à inoculer :**

- Une colonie de chaque souche bactérienne isolée sur les pièces de monnaie ainsi que des souches contrôles était prélevée et mise en suspension dans un tube contenant 10 mL de BHIB, puis incubées à 37°C pendant 18 h.
- Ensuite 100 µL de chaque culture était transféré dans un tube contenant 15 mL de BHIB. Ces nouvelles suspensions bactériennes ont été incubées à 37°C pendant 18h.

#### **2.3.4.2. Inoculation des souches bactériennes sur du cuivre pur :**

- dix microlitres de chaque suspension bactérienne des souches isolées sur les pièces de monnaie ainsi que des souches contrôles étaient inoculés sous forme de gouttelette sur un coupon de cuivre pur à 99% (1cm\*1cm).

- Les échantillons ont été laissés environ 30 minutes à température ambiante, jusqu'au séchage complet de l'inoculum. Ensuite incubés à température et humidité ambiantes pendant des durées de (1h, 2h, 3h et 4 h).

#### **2.3.4.3. Remise en suspension des bactéries viables, ensemencement et lecture :**

- Après inoculation des souches bactériennes sur les surfaces de cuivre, et incubation pendant les durées définies, ces coupons ont été immergés dans des tubes contenant 10 mL de tampon PBS stérile .
- Les tubes contenant les coupons ont été ensuite placés au vortex pendant 30 secondes pour relarguer les souches survivantes.
- Puis les milieux de resuspensions ont été dilués jusqu'à un facteur  $10^{-3}$ , et ensemencés sur géloses nutritives à raison de 100  $\mu$ L par gélose. Ces géloses ont été ensuite incubées à 37°C pendant 18 heures.

#### **Les critères de jugement :**

La lecture des cultures nous a permis de déterminer et de comparer les temps de survie des souches isolées des pièces de monnaie ainsi que des souches contrôles.

#### **Aspect éthique et conflits d'intérêts :**

Nous déclarons qu'il n'y a aucun conflit d'intérêts associé à ce travail.

# ***Résultats***

**1. Etude de l'efficacité antimicrobienne des coupons de cuivre in vitro :**

**1.1. Étude de l'efficacité antibactérienne des coupons de cuivre in vitro :**

**1.1.1. Action du cuivre sur des bacilles à Gram négatif :**

Les charges bactériennes viables d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella heidelberg*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* sp présentes sur les coupons de cuivre et inox à chaque temps d'incubation sont résumées dans les tableaux I et II.

**Tableau I :** Les charges bactériennes viables d'*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella heidelberg* sur cuivre et inox à chaque temps de contact.

Temps de contact (min)	<i>Escherichia coli</i> Inoculum = $1.9 \times 10^7$ UFC		<i>Klebsiella pneumoniae</i> Inoculum = $8.2 \times 10^7$ UFC		<i>Salmonella heidelberg</i> Inoculum = $2 \times 10^7$ UFC	
	Charges viables (UFC/cm <sup>2</sup> ) <i>P</i> = 0.01		Charges viables (UFC/cm <sup>2</sup> ) <i>P</i> = 0.19		Charges viables (UFC/cm <sup>2</sup> ) <i>P</i> = 0.001	
	Cuivre	Inox	Cuivre	Inox	Cuivre	Inox
0	$3.4 \times 10^6$	$3.5 \times 10^6$	$1.15 \times 10^7$	$9.1 \times 10^6$	$3.5 \times 10^6$	$3.1 \times 10^6$
30	$2 \times 10^6$	$3.8 \times 10^6$	$4.6 \times 10^6$	$7.5 \times 10^6$	$8 \times 10^5$	$3.5 \times 10^6$
60	$1.3 \times 10^6$	$4.8 \times 10^6$	$4.1 \times 10^6$	$8.7 \times 10^6$	$7 \times 10^5$	$4.7 \times 10^6$
90	0	$5 \times 10^6$	$1.8 \times 10^6$	$4.5 \times 10^6$	0	$3.8 \times 10^6$
180	0	$5.4 \times 10^6$	$1.6 \times 10^6$	$5.8 \times 10^6$	0	$4 \times 10^6$
240	0	$7.4 \times 10^6$	0	$3.7 \times 10^6$	0	$4.6 \times 10^6$

**Tableau II** : Les charges bactériennes viables de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* sur cuivre et inox à chaque temps de contact.

Temps de contact (min)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> Inoculum = $4.3 \times 10^7$ UFC		<i>Acinetobacter baumannii</i> Inoculum = $2.5 \times 10^7$ UFC	
	Charges viables (UFC/cm <sup>2</sup> ) <i>P</i> = 0.008		Charges viables (UFC/cm <sup>2</sup> ) <i>P</i> = 0.001	
	Cuivre	Inox	Cuivre	Inox
0	$5.1 \times 10^6$	$8.3 \times 10^6$	$6.1 \times 10^6$	$8.6 \times 10^6$
30	$5.4 \times 10^6$	$1.1 \times 10^7$	$5.1 \times 10^6$	$1.1 \times 10^7$
60	$2 \times 10^6$	$9.5 \times 10^6$	$3 \times 10^6$	$1.4 \times 10^7$
90	$7 \times 10^5$	$8.6 \times 10^6$	$9 \times 10^5$	$9.3 \times 10^6$
180	0	$10^7$	$8 \times 10^5$	$1.8 \times 10^7$
240	0	$2.7 \times 10^7$	0	$2.10^7$

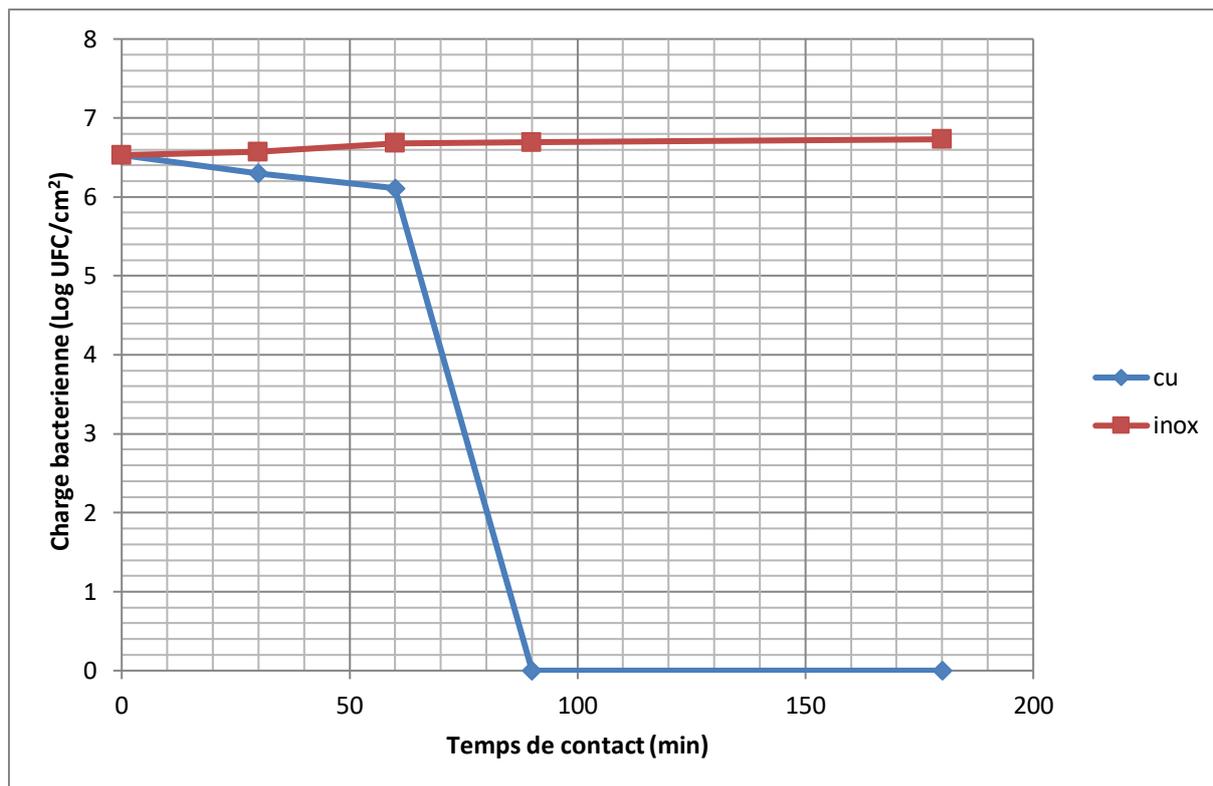


Figure 16 : Les courbes de survie d'*Escherichia coli* sur cuivre et inox.

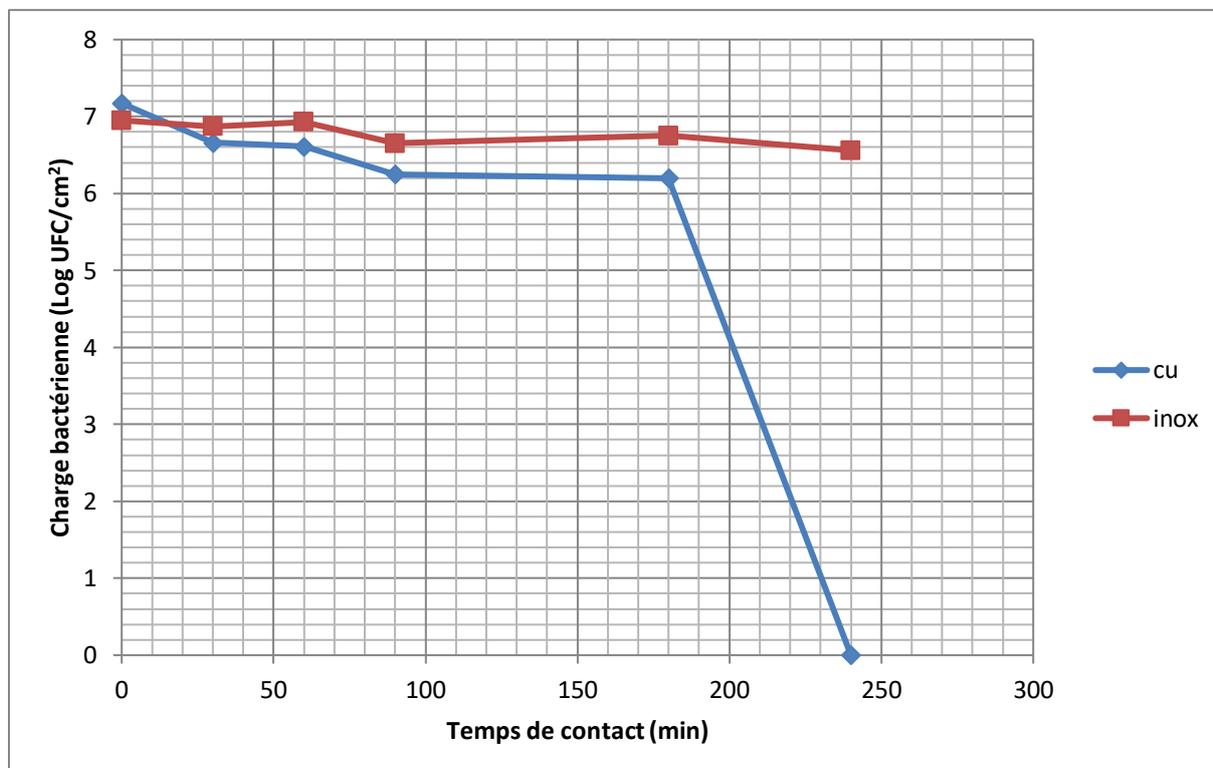


Figure 17 : Les courbes de survie de *Klebsiella pneumoniae* sur cuivre et inox.

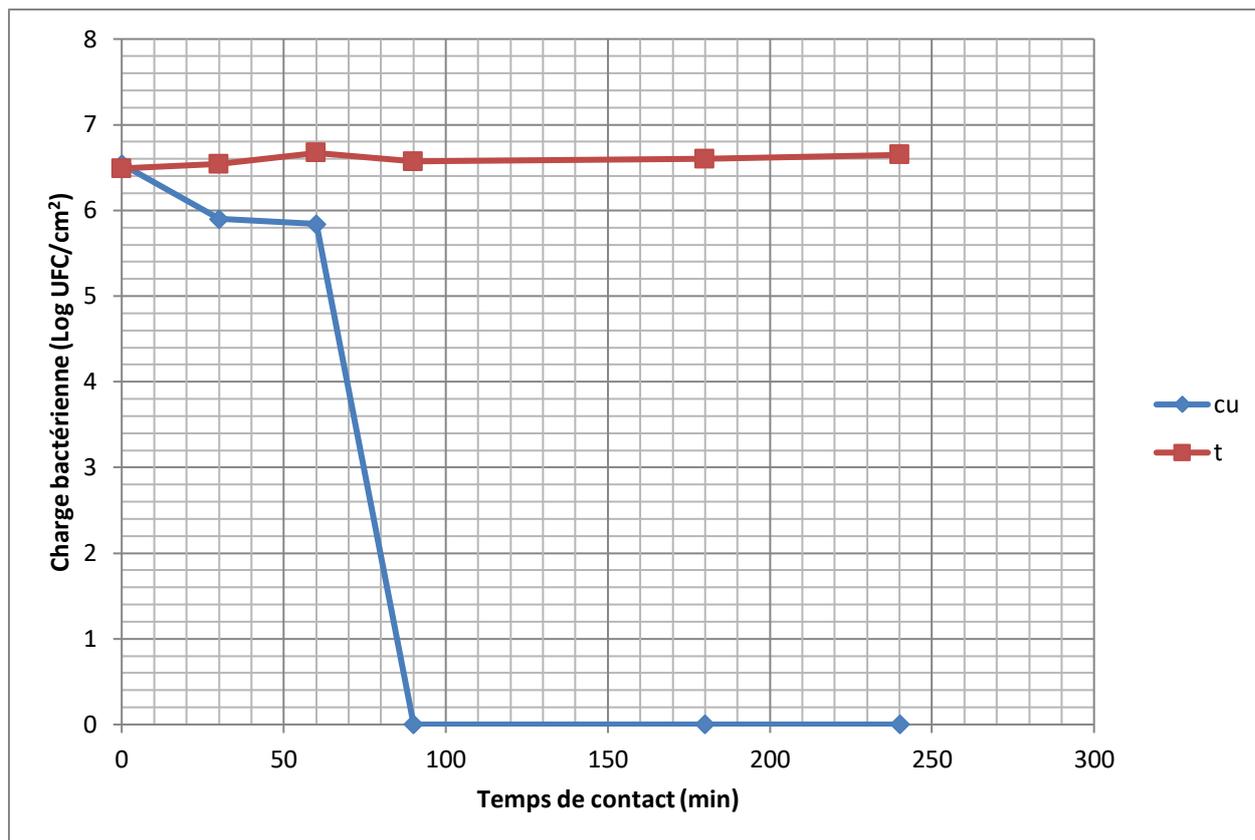


Figure 18 : Les courbes de survie de *Salmonella heidelberg* sur cuivre et inox.

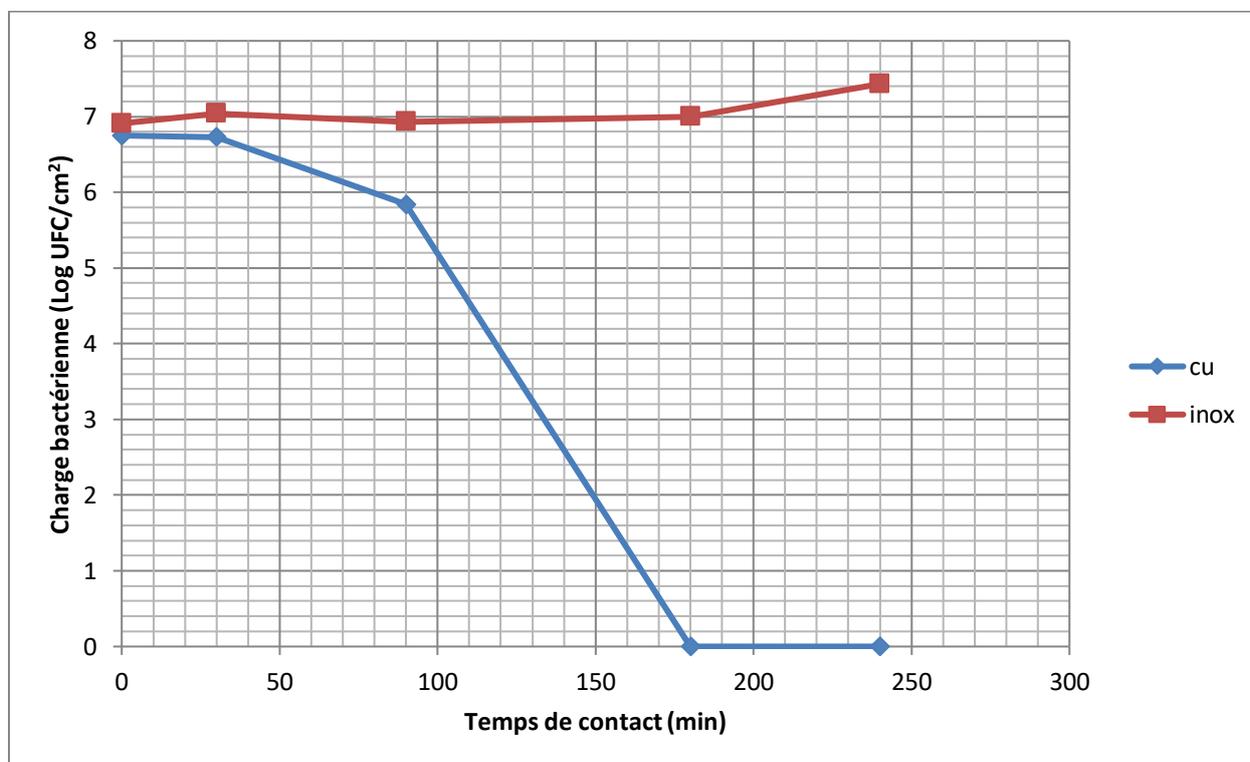
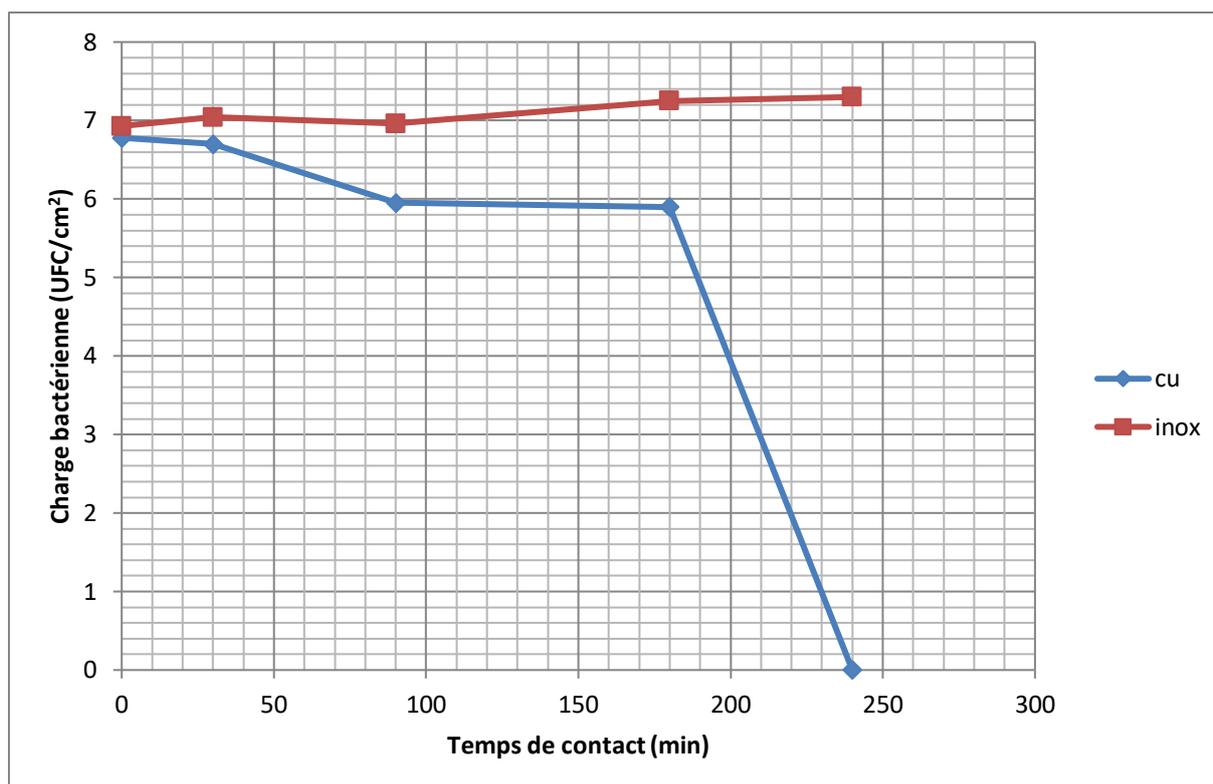


Figure 19 : Les courbes de survie de *Pseudomonas aeruginosa* sur cuivre et inox.



**Figure 20 :** Les courbes de survie d'*Acinetobacter baumannii* sur cuivre et inox.

Les résultats résumés dans les tableaux I et II montrent que les charges d'*Escherichia coli* et de *Salmonella heidelberg* ont été totalement éliminées au bout de 90 min de contact avec du cuivre. Celles de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Acinetobacter baumannii* ont été éliminées en 240 min d'exposition à ce métal alors que la durée de survie de la souche *Pseudomonas aeruginosa* sur les coupons de cuivre était de 180 mn. Cependant, les cellules viables d'*Escherichia coli*, de *Salmonella heidelberg*, de *Klebsiella pneumoniae*, d'*Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* sont restées présentes sur les coupons d'inox même après 240 mn de contact. Selon ces résultats, le cuivre possède un effet bactéricide contre ces bactéries.

La comparaison des moyennes des charges viables des souches *Escherichia coli*, *Salmonella heidelberg*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter sp* et *Pseudomonas aeruginosa* sur cuivre et inox, en utilisant le test *t* de Student, a révélé que ces charges étaient significativement plus basses sur le cuivre que sur l'inox pour *Escherichia coli* ( $P=0.01$ ), *Salmonella heidelberg* ( $P=0.001$ ), *Acinetobacter baumannii* ( $P=0.001$ ) et *Pseudomonas aeruginosa* ( $P=0.008$ ). Cependant, ce test a montré qu'il y avait pas de différence significative entre ces charges pour *Klebsiella pneumoniae* ( $P=0.19$ ).

**1.1.. Action du cuivre sur des cocci à Gram positif :**

Les charges bactériennes viables d'*Enterococcus faecium* et de *Staphylococcus Aureus* présentes sur les coupons de cuivre et inox à chaque temps d'incubation sont résumées dans le tableau III.

**Tableau III** : Les charges bactériennes viables d'*Enterococcus faecium* et de *SARM* sur cuivre et inox à chaque temps de contact.

Temps de contact (min)	<i>Enterococcus faecium</i> multi-résistante Inoculum = $2 \times 10^8$ UFC		<i>Staphylococcus Aureus</i> résistant à la Meticilline Inoculum = $1.6 \times 10^8$ UFC	
	Charges viables (UFC/cm <sup>2</sup> ) <i>P</i> = 0.003		Charges viables (UFC/cm <sup>2</sup> ) <i>P</i> = 0.02	
	Cuivre	Inox	Cuivre	Inox
0	$5.6 \times 10^7$	$5.9 \times 10^7$	$1.5 \times 10^7$	$1.63 \times 10^7$
30	$9 \times 10^6$	$5.6 \times 10^7$	$1.8 \times 10^7$	$1.36 \times 10^7$
60	$3.4 \times 10^6$	$3.1 \times 10^7$	$8 \times 10^6$	$1.2 \times 10^7$
90	$1.9 \times 10^6$	$5.05 \times 10^7$	$7 \times 10^6$	$1.12 \times 10^7$
180	0	$5 \times 10^7$	$4.5 \times 10^6$	$1.54 \times 10^7$
240	0	$5.02 \times 10^7$	0	$1.79 \times 10^7$

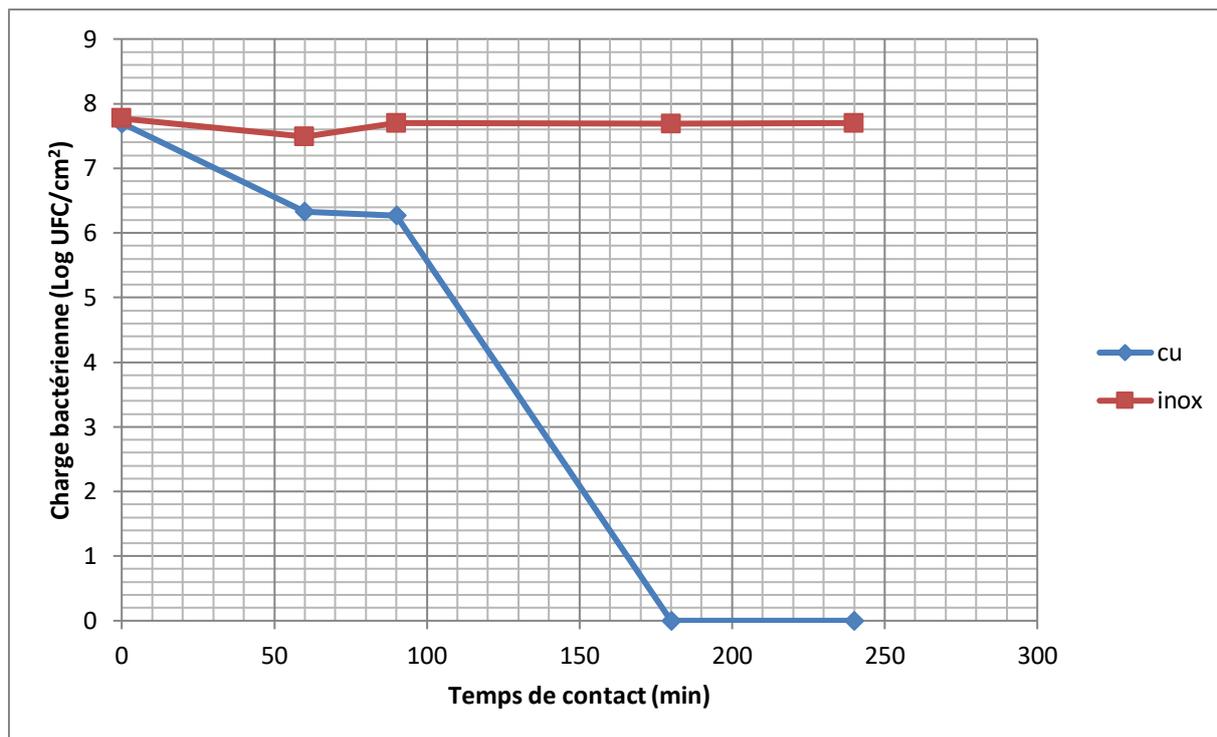


Figure 21 : Les courbes de survie d'*Enterococcus faecium* sur cuivre et inox

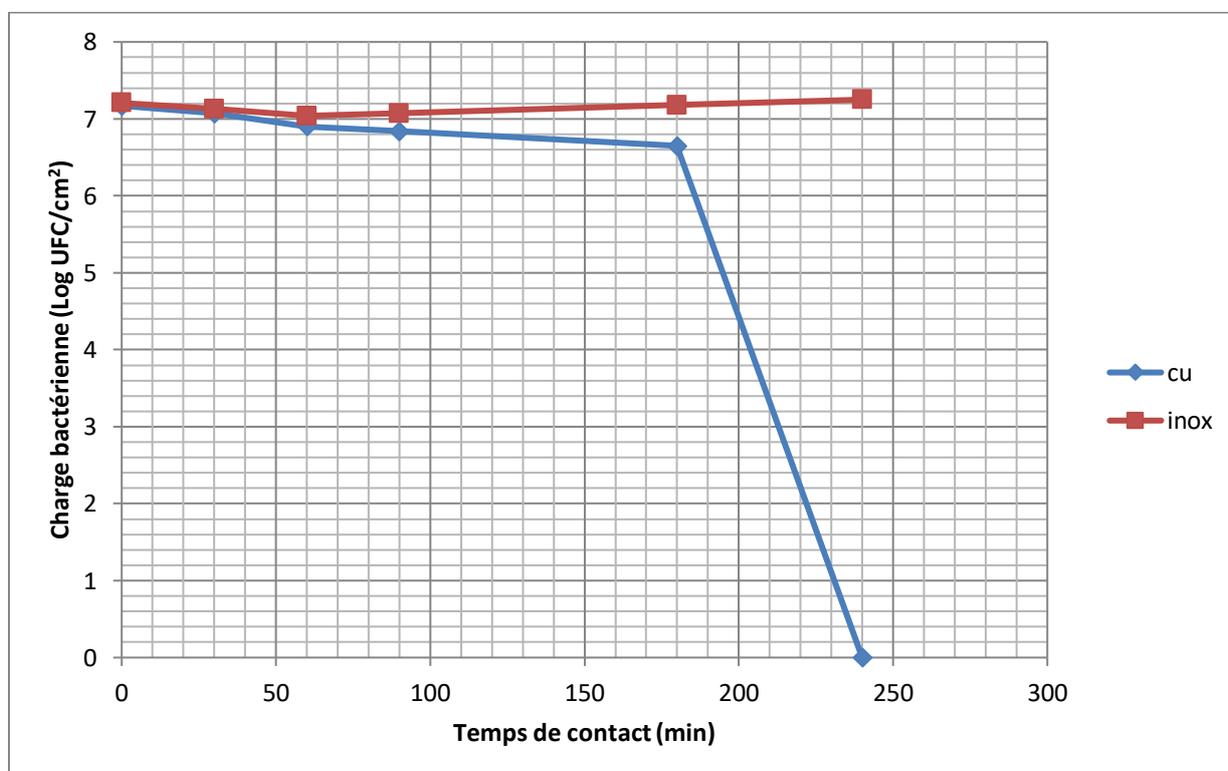


Figure 22 : Les courbes de survie de *Staphylococcus Aureus* sur cuivre et inox.

Les résultats résumés dans le tableau III montrent que les charges d'*Enterococcus faecium* ont été totalement éliminées au bout de 180 min de contact avec du cuivre. Alors que celles de *Staphylococcus Aureus* ont été éliminées en 240 min d'exposition à ce métal. Cependant, ces deux souches ont montré une résistance accrue à l'inox durant les 240 min d'incubation sur ce dernier. Ces résultats suggèrent que le cuivre possède un effet bactéricide contre ces deux bactéries.

La comparaison des moyennes des charges viables de ces deux souches sur les coupons de cuivre et d'inox, en utilisant le test *t* de Student, a montré que ces charges étaient significativement plus basses sur le cuivre que sur l'inox pour *Enterococcus faecium* ( $P = 0.003$ ) et *Staphylococcus Aureus* ( $P = 0.02$ ).

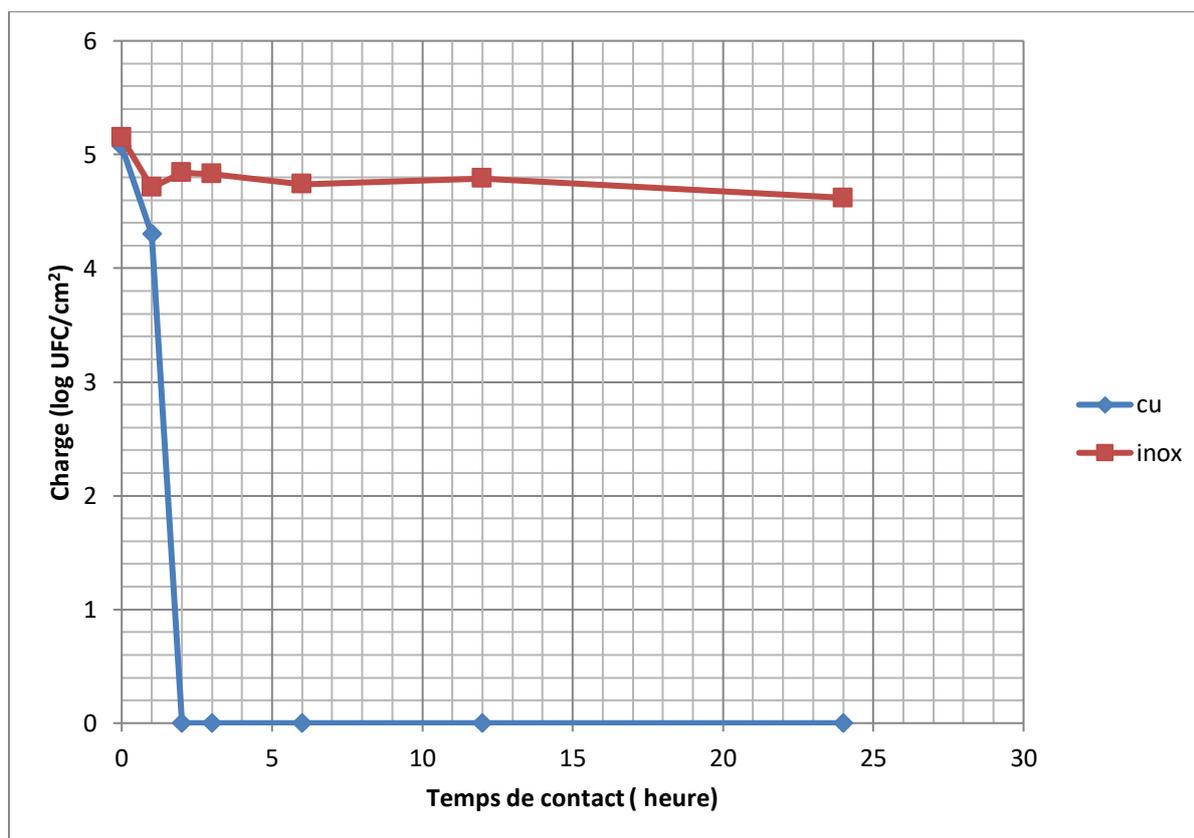
## 1.2. Étude de l'efficacité antifongique des coupons de cuivre in vitro :

### 1.2.1. Action du cuivre sur *Candida albicans* :

- Les charges viables de *Candida albicans* présentes sur les coupons de cuivre et inox à chaque temps d'incubation sont résumées dans le tableau IV.

**Tableau IV** : Les charges viables de *Candida albicans* sur cuivre et inox à chaque temps de contact

Inoculum (UFC)	Temps de contact (h)	Charge de <i>Candida albicans</i> (UFC/cm <sup>2</sup> ) $p = 0.034$	
		Cuivre	Inox
7x10 <sup>7</sup>	0	1.2.10 <sup>5</sup>	1.43.10 <sup>5</sup>
	1h	2.10 <sup>4</sup>	5.2.10 <sup>4</sup>
	2h	0	7.10 <sup>4</sup>
	3h	0	6.8.10 <sup>4</sup>
	6h	0	5.6.10 <sup>4</sup>
	12h	0	6.2.10 <sup>4</sup>
	24h	0	4.2.10 <sup>4</sup>



**Figure 23** : Les courbes de survie de *Candida albicans* sur cuivre et inox.

Les résultats résumés dans le tableau IV montrent que la charge inoculée de *Candida albicans* a été totalement éliminée sur les coupons de cuivre au bout de 2 heures. Alors que des souches viables de cette levure sont restées présentes sur les coupons d'inox même après 24 heures de contact.

La comparaison des charges viables de cette souche de *Candida albicans* sur cuivre et inox, en utilisant le test  $t$  de Student, a révélé qu'il y avait pas de différence significative entre ces charges ( $p=0.034$ ).

Selon ces résultats, le cuivre possède un effet antifongique sur cette souche de *Candida albicans*.

**1.2.2. Action du cuivre sur *Penicillium sp* :**

- Les résultats de la lecture des cultures de *Penicillium sp* sont résumés dans le tableau V.

**Tableau V :** La survie du *Penicillium sp* sur cuivre et inox.

Inoculum (UFC)	Temps de contact (h)	Survie	
		Cuivre	Inox
3x 10 <sup>3</sup>	0	(+)	(+)
	3h	(+)	(+)
	6h	(+)	(+)
	12h	(+)	(+)
	24h	(-)	(+)
	48h	(-)	(+)
	72h	(-)	(+)
	168h	(-)	(+)

Les résultats résumés dans le tableau V montrent que la charge inoculée de *Penicillium sp* a été totalement éliminée au bout de 24 heures d'exposition aux coupons de cuivre. Cependant, les souches viables de ce champignon sont restées présentes sur les coupons d'inox même après sept jours de contact.

Ces résultats suggèrent que le cuivre possède un effet antifongique sur cette souche de *Penicillium sp*.

**1.2.3. Action du cuivre sur *Aspergillus fumigatus* :**

Les résultats obtenus des deux essais étaient irréguliers et discordants et ne permettent pas à conclure à l'action fongicide des coupons de cuivre sur cette espèce. Etant donné que les spores d'*Aspergillus fumigatus* sont largement disséminées dans l'air, ces résultats peuvent être expliqués par la contamination des échantillons qui pourrait survenir à diverses étapes de la manipulation.

**2. Etude de l'efficacité antimicrobienne du cuivre in situ au niveau des services hospitaliers :**

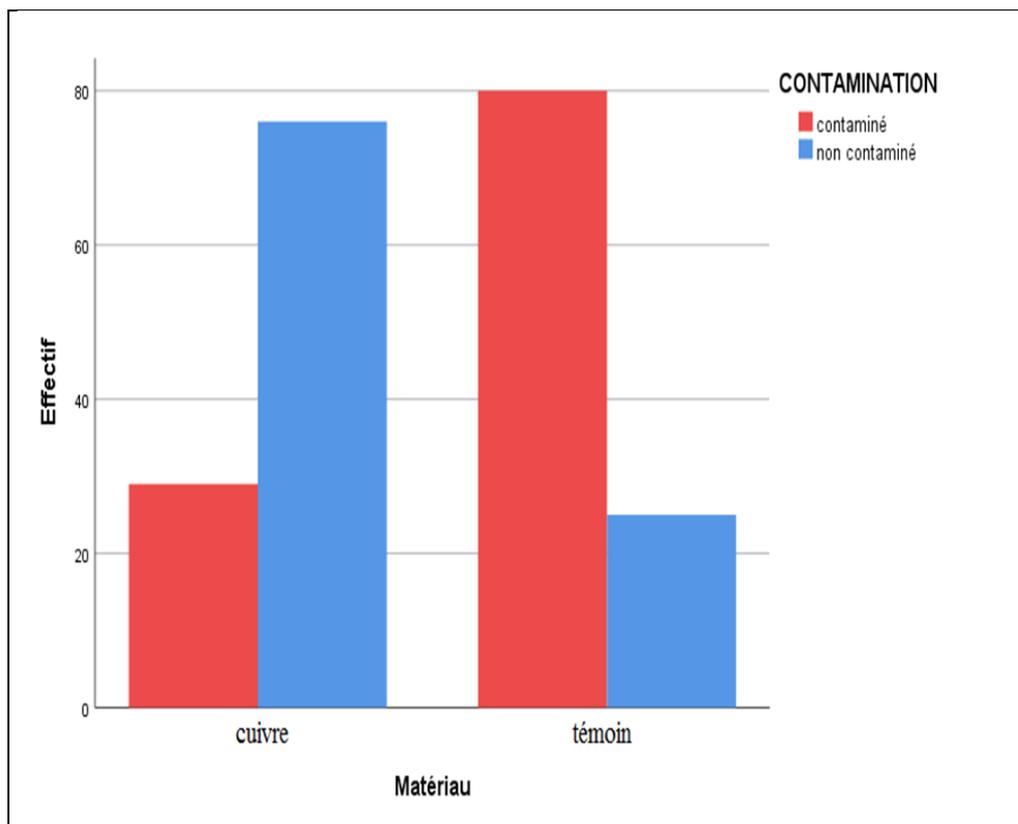
**2.1. Etude de l'efficacité antibactérienne du cuivre in situ au niveau des services hospitaliers :**

**2.1.1. Comparaison des taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards :**

Les cultures bactériennes de 80 sur 105 échantillons prélevés des surfaces standards étaient positives alors que le reste était négatif. Cependant, 29 cultures seulement sur 105 prélèvements des surfaces en cuivre étaient positives alors que le reste était négatif.

**Tableau VI :** Les taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards.

Contamination		Surfaces en cuivre	Surfaces standards	Taux de réduction de la contamination	P value
Surfaces contaminées	Effectif	29	80	63.75%	< 0.0001
	Fréquence	27.61%	76.19%		
Surfaces non contaminées	Effectif	76	25		
	Fréquence	72.39%	23.81%		
Total		105 (100%)	105 (100%)		



**Figure 24 :** Les taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards.

- La comparaison des pourcentages des surfaces contaminées parmi les surfaces en cuivre et les surfaces standards en utilisant le test de Khi-2 a montré que le taux de contamination des surfaces en cuivre était significativement plus bas que celui des surfaces standards ( $P < 0.0001$ ). En effet, le cuivre a réduit le taux de contamination des surfaces environnementales dans les trois services de 63.75%.

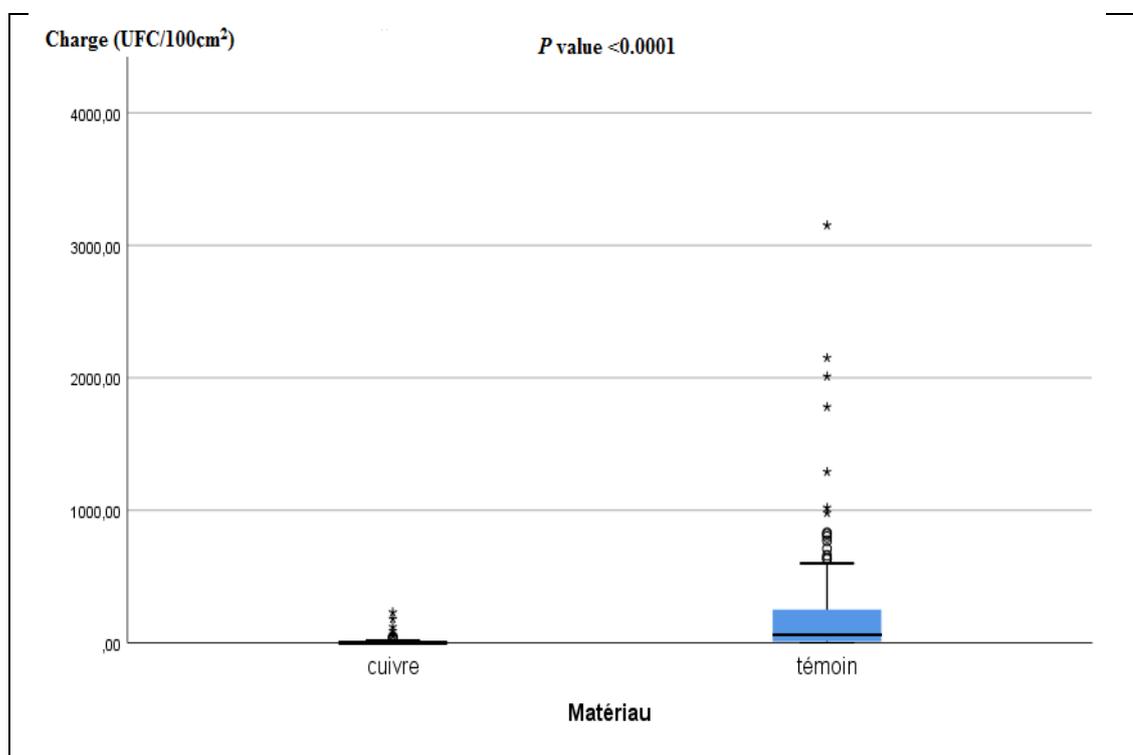
### **2.1.2. Comparaison des charges des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards :**

- La charge des bactéries aérobies totales isolées par échantillon a été exprimé en nombre d'UFC/100 cm<sup>2</sup>.
- La normalité de la distribution de la charge bactérienne a été vérifiée en utilisant le test de Kolmogorov- Smirnov.

- Comme la charge bactérienne ne suivait pas une distribution normale, on a utilisé le test non paramétrique U de Mann-Whitney pour vérifier si la charge des bactéries aérobies totales était significativement plus basse sur les surfaces en cuivre en comparaison avec les surfaces standards.

**Tableau VII :** Charges des bactéries aérobies totales (UFC/100 cm<sup>2</sup>) sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

Type de matériau	Effectif	Moyenne (UFC/100cm <sup>2</sup> )	Médiane (UFC/100cm <sup>2</sup> )	P value	Réduction (%)
Surfaces en cuivre	105	11.14	0	<0.0001	95.77 %
Surfaces standards	105	266.09	60		



**Figure 25 :** Charges des bactéries aérobies totales (UFC/100cm<sup>2</sup>) sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

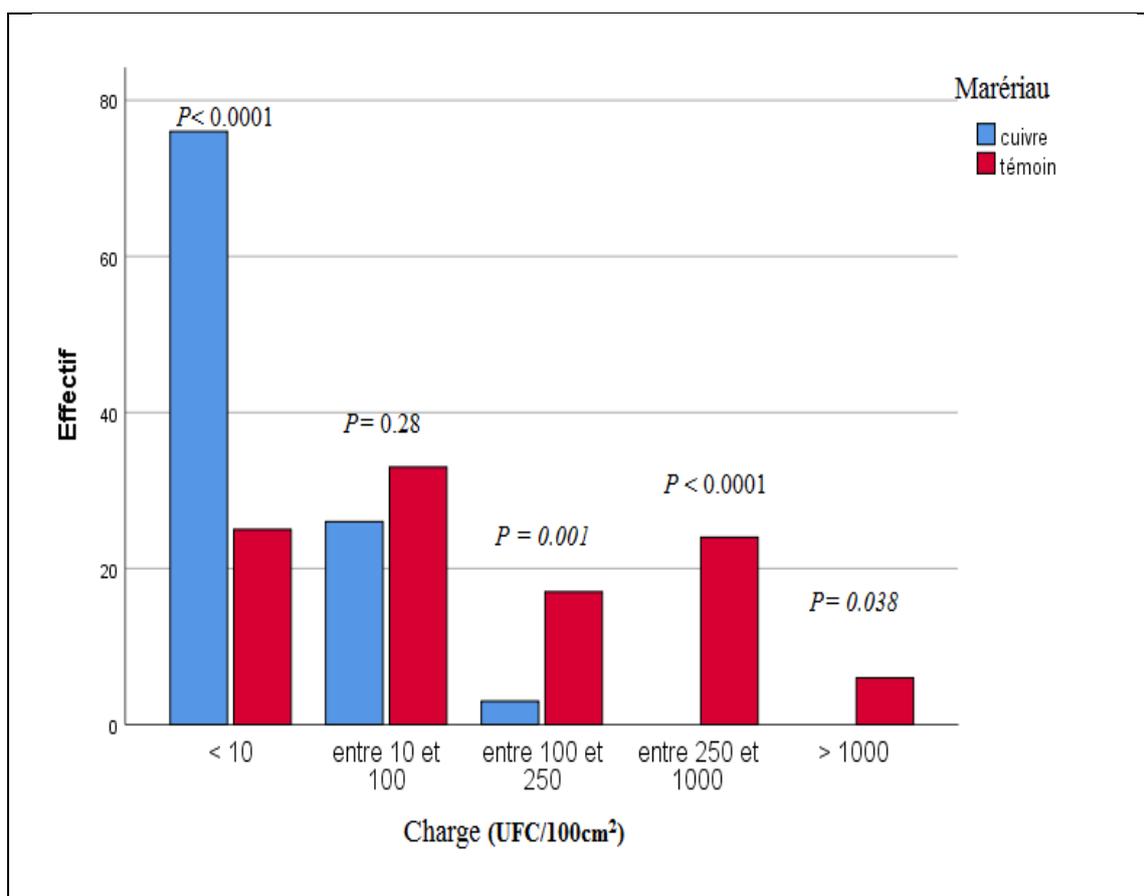
- Ces résultats montrent que la charge des bactéries aérobies totales était significativement plus basse sur les surfaces en cuivre en comparaison avec les surfaces standards ( $P < 0.0001$ ). En effet, le cuivre a réduit la charge des bactéries aérobies totales de 95.77%.

### 2.1.3. Comparaison des niveaux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards :

- Pour avoir une idée plus précise sur les niveaux de biocontamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards, on a classé ces surfaces selon leur charge des bactéries aérobies totales en :
  - ✓ Les surfaces présentant une charge  $< 10$  UFC/100cm<sup>2</sup>.
  - ✓ Les surfaces présentant une charge entre 10 et 100 UFC/100cm<sup>2</sup>.
  - ✓ Les surfaces présentant une charge entre 100 et 250 UFC/100cm<sup>2</sup>.
  - ✓ Les surfaces présentant une charge entre 250 et 1000 UFC/100cm<sup>2</sup>.
  - ✓ Et les surfaces présentant une charge  $> 1000$  UFC/100cm<sup>2</sup>.

**Tableau VIII :** Répartition des niveaux de contamination sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

Charge (UFC/100cm <sup>2</sup> )	Surfaces en cuivre		Surfaces standards		P value
	Effectif	Fréquence (%)	Effectif	Fréquence (%)	
<b>&lt; 10</b>	76	72.39%	25	23.81%	< 0.0001
<b>Entre 10 et 100</b>	26	24.76%	33	31.42%	0.28
<b>Entre 100 et 250</b>	3	2.85%	17	16.19%	0.001
<b>Entre 250 et 1000</b>	0	0%	24	22.85%	< 0.0001
<b>&gt; 1000</b>	0	0%	6	5.71%	0.038



**Figure 26 :** Répartition des niveaux de contamination sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

- La comparaison de la fréquence de chaque niveau de contamination parmi les surfaces en cuivre et les surfaces standards a été réalisée en utilisant le test de Khi-2 et le test exact de Fisher.
- Ce test a révélé que la fréquence des surfaces en cuivre ayant un faible niveau de contamination (<10 UFC/100 cm<sup>2</sup>) était significativement plus élevée (72.39%) en comparaison à celle des surfaces standards (23.81%) ( $P < 0.0001$ ).
- Cependant, aucune des surfaces en cuivre n'a présenté une charge supérieure à 250 UFC/100 cm<sup>2</sup>, alors que 22.85% des surfaces standards avait un niveau de contamination élevé (charge entre 250 et 1000 UFC/100 cm<sup>2</sup>) ( $P < 0.0001$ ) et 5.71% de ces surfaces ont présenté un niveau de contamination très élevé avec une charge > 1000 UFC/100 cm<sup>2</sup> ( $P = 0.038$ ).
- Les normes actuelles d'évaluation et de suivi du bionettoyage des surfaces dans les établissements de santé suggèrent que le niveau de contamination bactérienne de ces

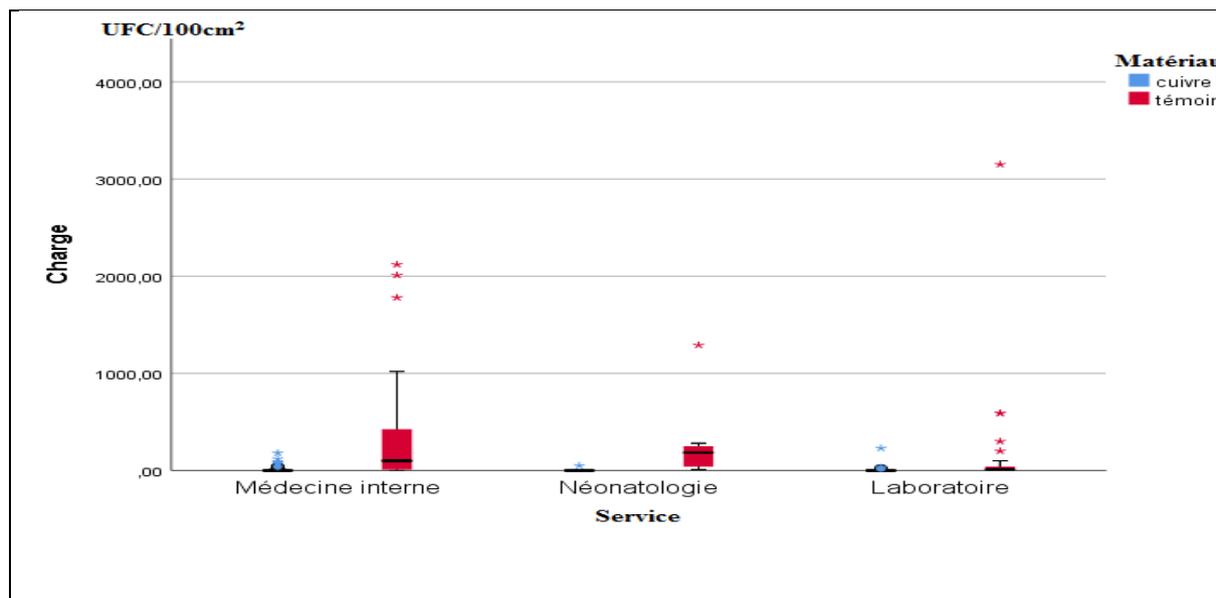
surfaces ne doit pas dépasser le seuil de 250 UFC/100 cm<sup>2</sup>[99]. Dans cette étude, on a trouvé que 28.57% des surfaces standards présentaient des niveaux de contamination supérieurs à ce seuil. Cela représente un vrai danger notamment pour les malades des services de médecine interne et de néonatalogie.

**2.1.4. Comparaison des charges des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans chaque service :**

- Les charges des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans les services de médecine interne, de néonatalogie et du laboratoire central ont été comparées en utilisant le test U de de Mann- Whitney.

**Tableau IX :** Charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans chaque service.

Service	Surfaces en cuivre			Surfaces standards			P value	Taux de réduction %
	n	Moyenne UFC/100 cm <sup>2</sup>	Médiane UFC/100 cm <sup>2</sup>	n	Moyenne UFC/100 cm <sup>2</sup>	Médiane UFC/100 cm <sup>2</sup>		
<b>Méd int</b>	60	13.5	0	60	307.83	100	< 0.0001	95.61%
<b>Néonat</b>	10	7	0	10	263	185	< 0.0001	97.33%
<b>Labo</b>	35	10.98	0	35	153.62	10	< 0.0001	92.28%



**Figure 27 :** Charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans chaque service.

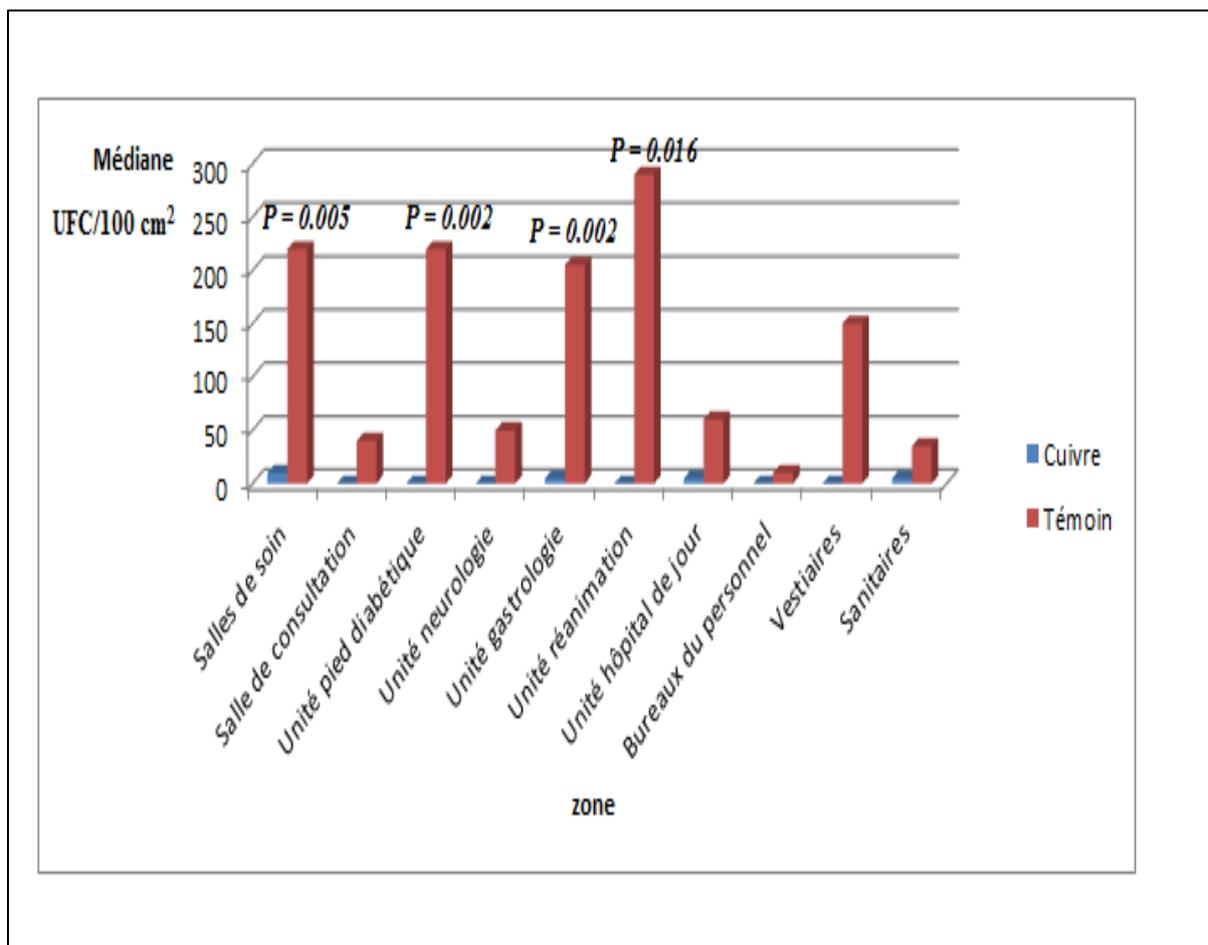
- Ces résultats montrent que la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre était significativement plus basse que celle présente sur les surfaces standards dans les trois services ( $P < 0.0001$ ).
- Le cuivre a réduit la charge bactérienne de 95.61% dans le service de médecine interne, de 97.33% dans le service de néonatalogie et de 92.28% dans le laboratoire central.

#### 2.1.5. Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards selon les différentes zones :

- Les charges des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans les différentes zones des trois services ont été comparées en utilisant le test U de de Mann-Whitney.

**Tableau X :** Charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans les différentes zones du service de médecine interne.

Zones (service de médecine interne)	Surfaces en cuivre		Surfaces standards		P value
	Moyenne UFC/100 cm <sup>2</sup>	Médiane UFC/100 cm <sup>2</sup>	Moyenne UFC/100 cm <sup>2</sup>	Médiane UFC/100 cm <sup>2</sup>	
Salles de soin	20	10	305	220	0.005
Salle de consultation	6.66	0	380	40	0.1
Unité pied diabétique	23,33	0	368,8	220	0.002
Unité neurologie	6.66	0	56.66	50	0.4
Unité gastro-entérologie	5	5	603	205	0.002
Unité réanimation	4	0	822	290	0.016
Unité hôpital de jour	12.5	5	335	60	0.6
Bureaux du personnel	13.33	0	25	10	0.5
Vestiaires	0	0	166,6	150	0.1
Sanitaires	25	5	40	35	0.6

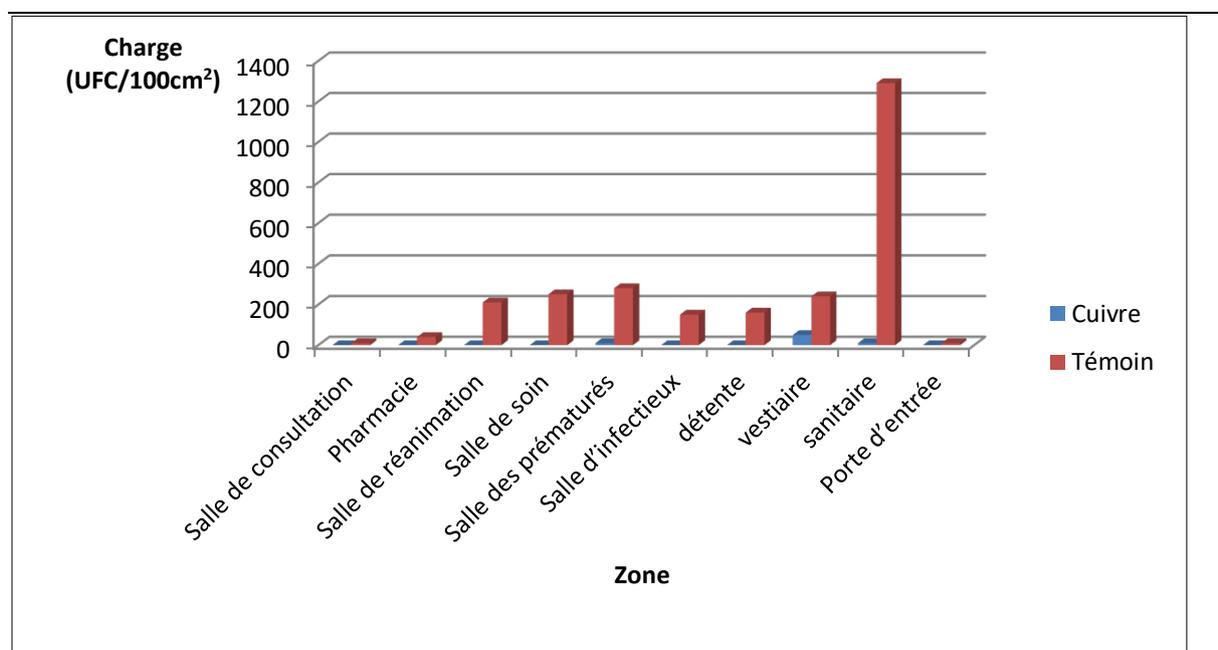


**Figure 28 :** Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards selon les différentes zones du service de médecine interne.

- Ces résultats montrent une baisse significative de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre en comparaison avec celle présente sur les surfaces standards dans les salles de soin ( $P= 0.005$ ), l'unité du pied diabétique ( $P= 0.002$ ), l'unité de gastro-entérologie ( $P= 0.002$ ) et l'unité de réanimation ( $P= 0.016$ ) du service de médecine interne. Cependant, une petite réduction non significative a été observée dans la salle de consultation, l'unité de neurologie, l'unité hôpital de jour, les bureaux du personnel, les vestiaires et les sanitaires.

**Tableau X1 :** Charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et sur les surfaces standards dans les différentes zones de l'unité de néonatalogie.

Zones (néonatalogie)	Surfaces en cuivre		Surfaces standards		P value
	charge	Médiane	charge	Médiane	
	UFC/100 cm <sup>2</sup>	UFC/100 cm <sup>2</sup>	UFC/100 cm <sup>2</sup>	UFC/100 cm <sup>2</sup>	
Salle de soin	0	0	250	185	< 0.0001
Salle de consultation	0		10		
Salle de réanimation	0		210		
Salle des prématurés	10		280		
Salle d'infectieux	0		140		
Pharmacie	0		40		
Détente	0		160		
Vestiaires	50		240		
Sanitaires	10		1290		
Porte d'entrée	0		10		

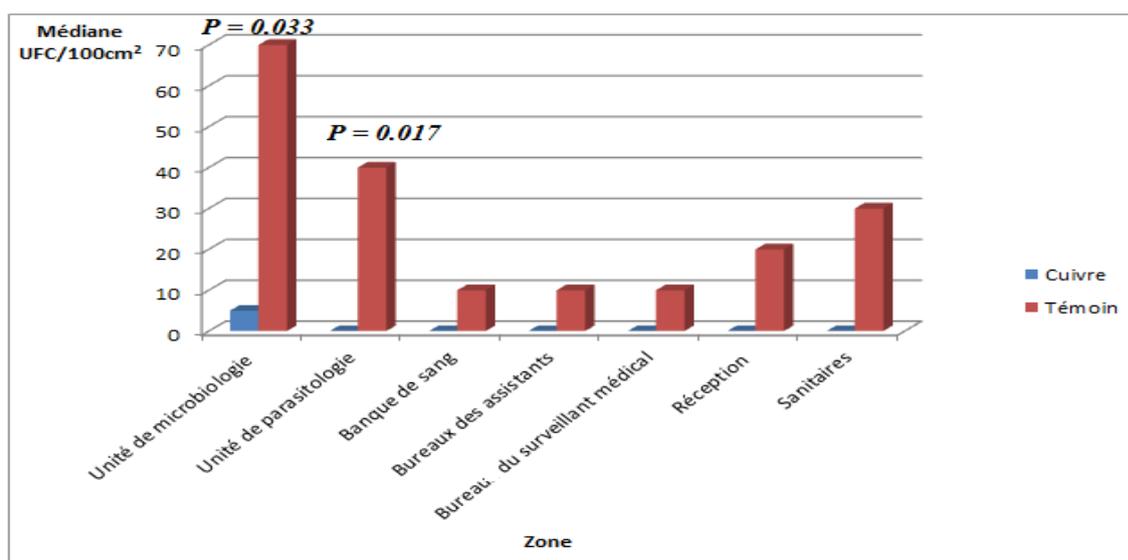


**Figure 29 :** Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et sur les surfaces standards selon les différentes zones de l'unité de néonatalogie.

- La charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre était significativement plus basse que celle présente sur les surfaces standards ( $P < 0.0001$ ) dans les différentes zones de l'unité de néonatalogie.

**Tableau XII :** Charges des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans les différentes zones du laboratoire central.

Zones (Laboratoire central)	Surfaces en cuivre		Surfaces standards		P value
	Moyenne UFC/100 cm <sup>2</sup>	Médiane UFC/100 cm <sup>2</sup>	Moyenne UFC/100 cm <sup>2</sup>	Médiane UFC/100 cm <sup>2</sup>	
Unité de microbiologie	26.66	5	163.33	70	0.033
Unité de parasitologie	4.28	0	472.85	40	0.017
Banque de sang	0	0	10	10	0.2
Bureaux des assistants	0	0	12	10	0.15
Bureau du surveillant médical	5	0	110	10	0.3
Réception	0	0	100	20	0.6
Sanitaires	0	0	276.66	30	0.2



**Figure 30 :** Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et sur les surfaces standards selon les différentes zones du laboratoire central.

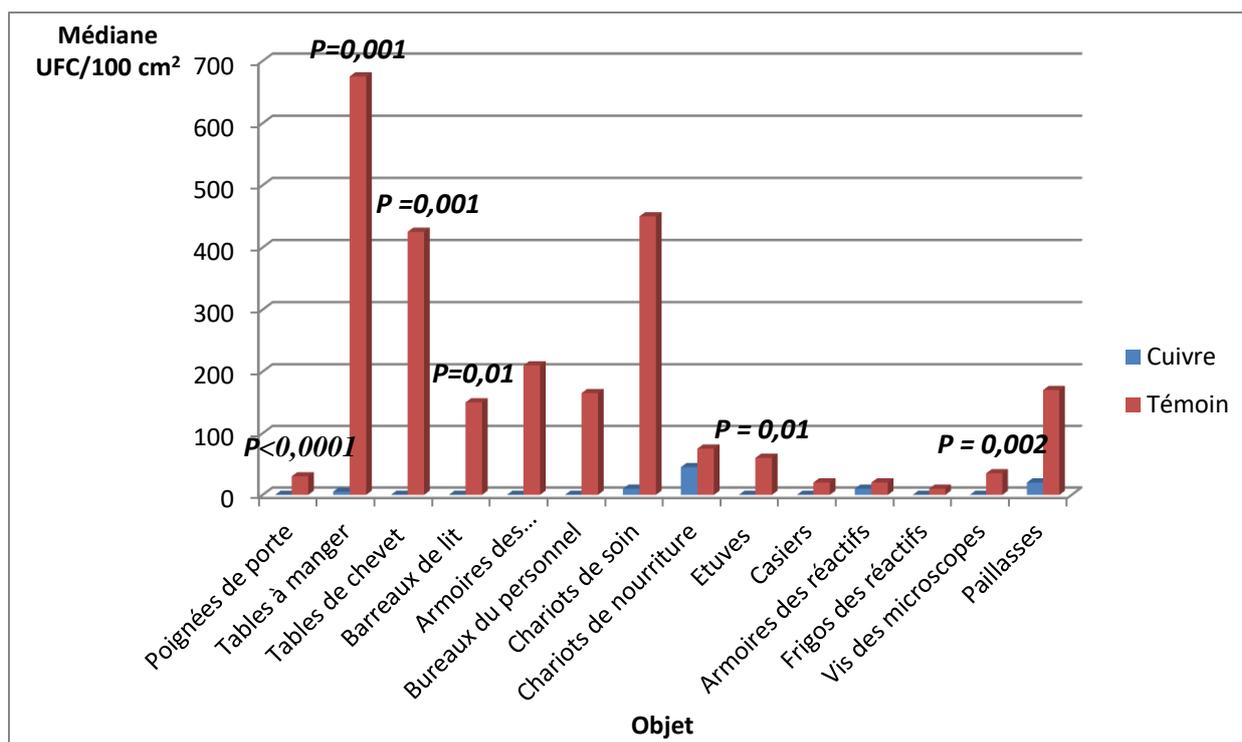
- Ces résultats montrent que la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre était significativement plus basse en comparaison avec celle présente sur les surfaces standards dans l'unité de microbiologie ( $P= 0.033$ ) et l'unité de parasitologie ( $P= 0.017$ ). Cependant, cette réduction n'était pas statistiquement significative dans les autres zones du laboratoire central.

**2.1.6. Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards selon les différents objets :**

Les charges des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards pour les différents objets testés ont été comparées en utilisant le test U de de Mann-Whitney.

**Tableau XIII :** Charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards pour les différents objets testés.

Objet	Surfaces en cuivre		Surfaces standards		P value
	Moyenne UFC/100 cm <sup>2</sup>	Médiane UFC/100 cm <sup>2</sup>	Moyenne UFC/100 cm <sup>2</sup>	Médiane UFC/100 cm <sup>2</sup>	
Poignées de porte	4.72	0	123.05	30	< 0.0001
Tables à manger	16.25	5	863.75	675	0.001
Tables de chevet	7.5	0	585	425	0.001
Barreaux de lit	21.66	0	166.66	150	0.01
Armoires des médicaments	8	0	216	210	0.056
Bureaux du personnel	25	0	295	165	0.1
Chariots de soin	12.5	10	430	450	0.2
Chariots de nourriture	45	45	75	75	0.7
Etuves	6	0	58	60	0.01
Casiers	0	0	16.66	20	0.2
Armoires des réactifs	80	10	210	20	0.7
Frigos des réactifs	0	0	8	10	0.1
Vis des microscopes	20.5	0	170	35	0.02
Paillasses	16.66	20	1120	170	0.1



**Figure 31 :** Répartition de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre et sur les surfaces standards selon les différents objets testés.

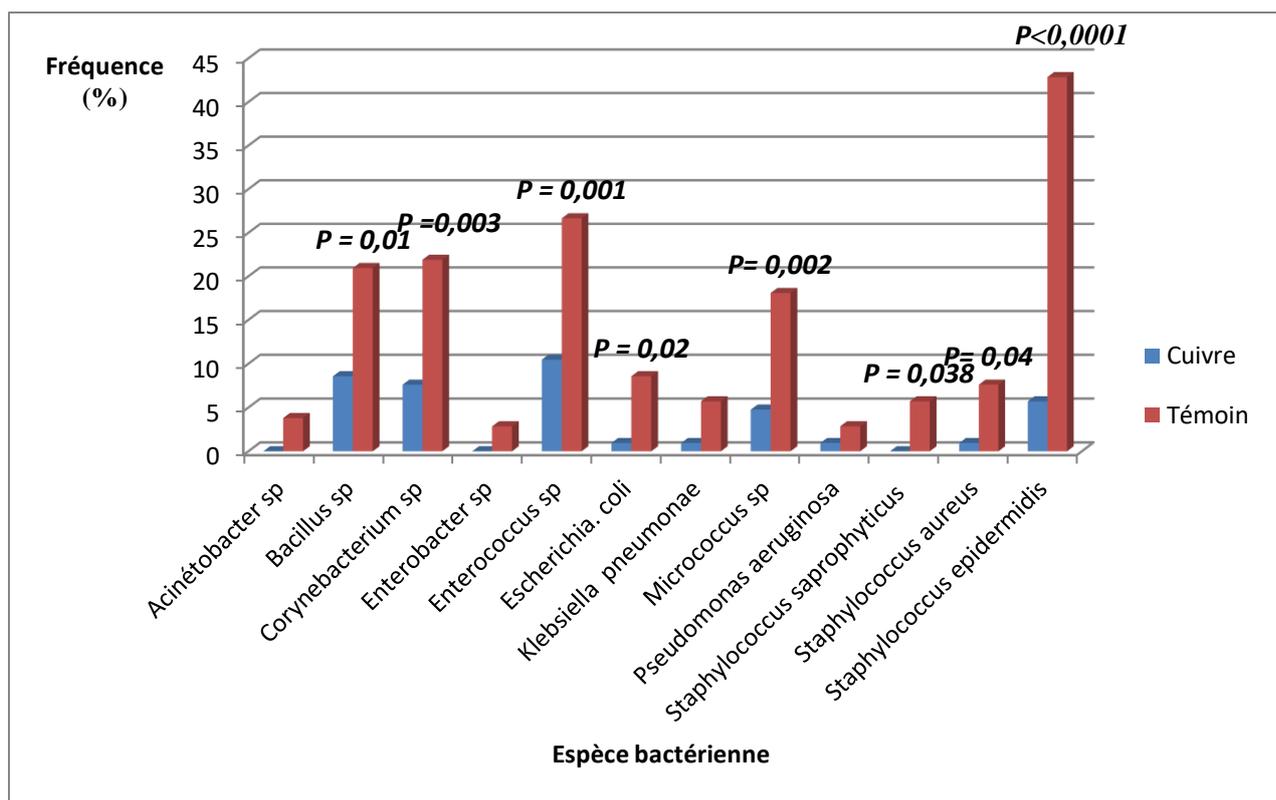
- Ces résultats montrent une réduction significative de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre par rapport aux surfaces standards pour les poignées de porte ( $P < 0.0001$ ), les tables à manger ( $P = 0.001$ ), les tables de chevet ( $P = 0.001$ ), les barreaux de lit ( $P = 0.01$ ), les étuves ( $P = 0.01$ ) et les vis des microscopes ( $P = 0.02$ ). Cependant, cette réduction était statistiquement non significative pour les armoires des médicaments, les bureaux du personnel, les chariots de soins, les chariots de nourriture, les casiers, les armoires de réactifs, les frigos de réactifs et les paillasses.

### 2.1.7. Comparaison de la fréquence des différentes espèces bactériennes identifiées sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards :

- Les pourcentages des surfaces en cuivre et des surfaces standards contaminées par les différentes espèces bactériennes identifiées lors de l'étude in situ ont été comparés en utilisant le test de Khi-2 et le test exact de Fisher.

**Tableau XIV** : Fréquence des différentes espèces bactériennes sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

Espèce bactérienne	Surfaces en cuivre contaminées		Surfaces standards contaminées		P value
	Effectif	Fréquence (%)	Effectif	Fréquence (%)	
<i>Acinetobacter sp</i>	0	0 %	4	3.8 %	0.129
<i>Bacillus sp</i>	9	8.57 %	22	20.95 %	0.01
<i>Corynebacterium sp</i>	8	7.61 %	23	21.90 %	0.003
<i>Enterobacter sp</i>	0	0 %	3	2.85 %	0.24
<i>Enterococcus sp</i>	11	10.47 %	28	26.66 %	0.001
<i>Escherichia. coli</i>	1	0.95 %	9	8.57 %	0.02
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0.95 %	6	5.71 %	0.12
<i>Micrococcus sp</i>	5	4.76 %	19	18.09 %	0.002
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0.95 %	3	2.85 %	0.61
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0.95 %	8	7.61 %	0.04
<i>Staphylocoques blancs</i>	6	5.71 %	51	48.57 %	< 0.0001



**Figure 32 :** Fréquence des différentes espèces bactériennes sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

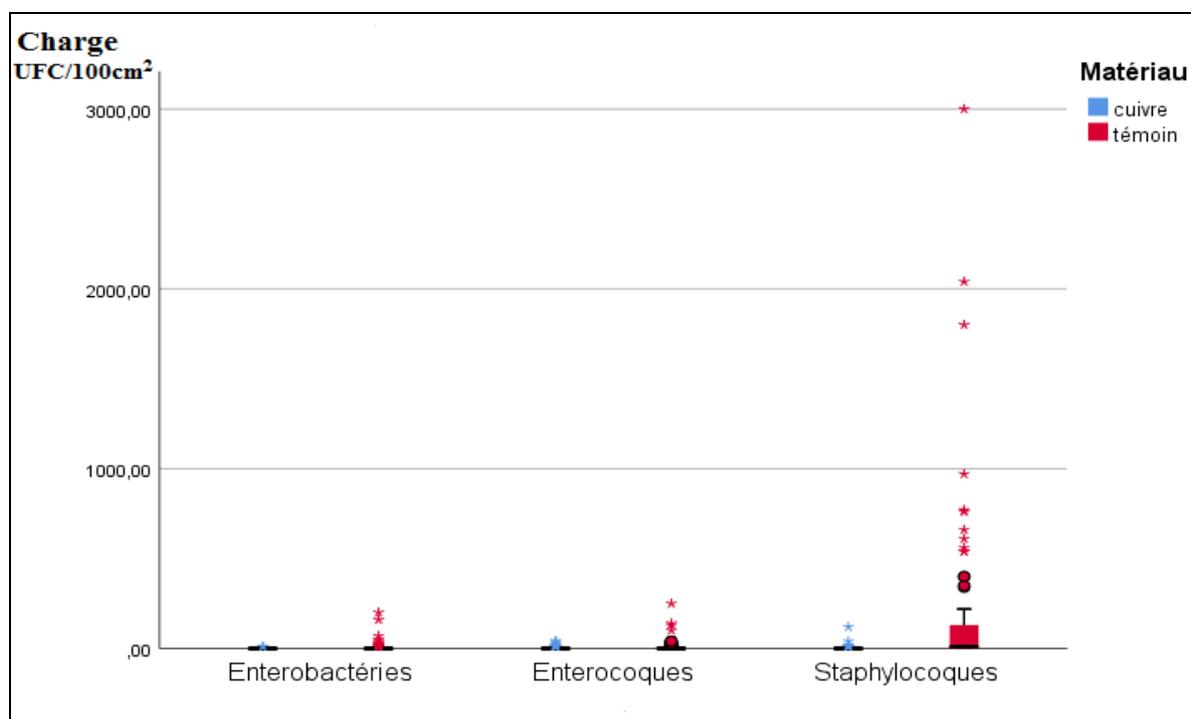
- Ces résultats montrent une diminution significative de la fréquence des surfaces en cuivre contaminées par *Bacillus sp* ( $P=0.01$ ), *Corynebacterium sp* ( $P=0.003$ ), *Enterococcus sp* ( $P= 0.001$ ), *Escherichia coli* ( $P=0.02$ ), *Micrococcus sp* ( $P=0.002$ ), *Staphylococcus aureus* ( $P=0.04$ ) et *Staphylocoques blancs* ( $P<0.0001$ ) par rapport à celle des surfaces standards. Une petite réduction non significative a été remarquée pour *Acinetobacter sp*, *Enterobacter sp*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

### 2.1.8. Comparaison des charges des entérobactéries, entérocoques et staphylocoques sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards :

- Les charges des entérobactéries, entérocoques et staphylocoques sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards dans les trois services ont été comparées en utilisant le test U de de Mann- Whitney.

**Tableau XV :** Charge des entérobactéries, entérocoques et staphylocoques sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

Population bactérienne	Surfaces en cuivre			Surfaces standards			P value	Taux de réduction %
	n	Moyenne UFC/100 cm <sup>2</sup>	Médiane UFC/100 cm <sup>2</sup>	n	Moyenne UFC/100 cm <sup>2</sup>	Médiane UFC/100 cm <sup>2</sup>		
Entérobactéries	105	0.19	0	105	6.85	0	< 0.0001	97.22%
Entérocoques	105	2	0	105	10.76	0	0.03	80%
Staphylocoques	105	2.19	0	105	161.23	10	< 0.0001	98.64%



**Figure 33 :** Charges des entérobactéries, entérocoques et staphylocoques sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

- Les charges des entérobactéries ( $P < 0.0001$ ), entérocoques ( $P = 0.03$ ) et staphylocoques ( $P < 0.0001$ ) étaient significativement plus basses sur les surfaces en cuivre en comparaison avec les surfaces standards.
- Le cuivre a réduit la charge des entérobactéries de 97.22%, des entérocoques de 80% et des staphylocoques de 98.64%.

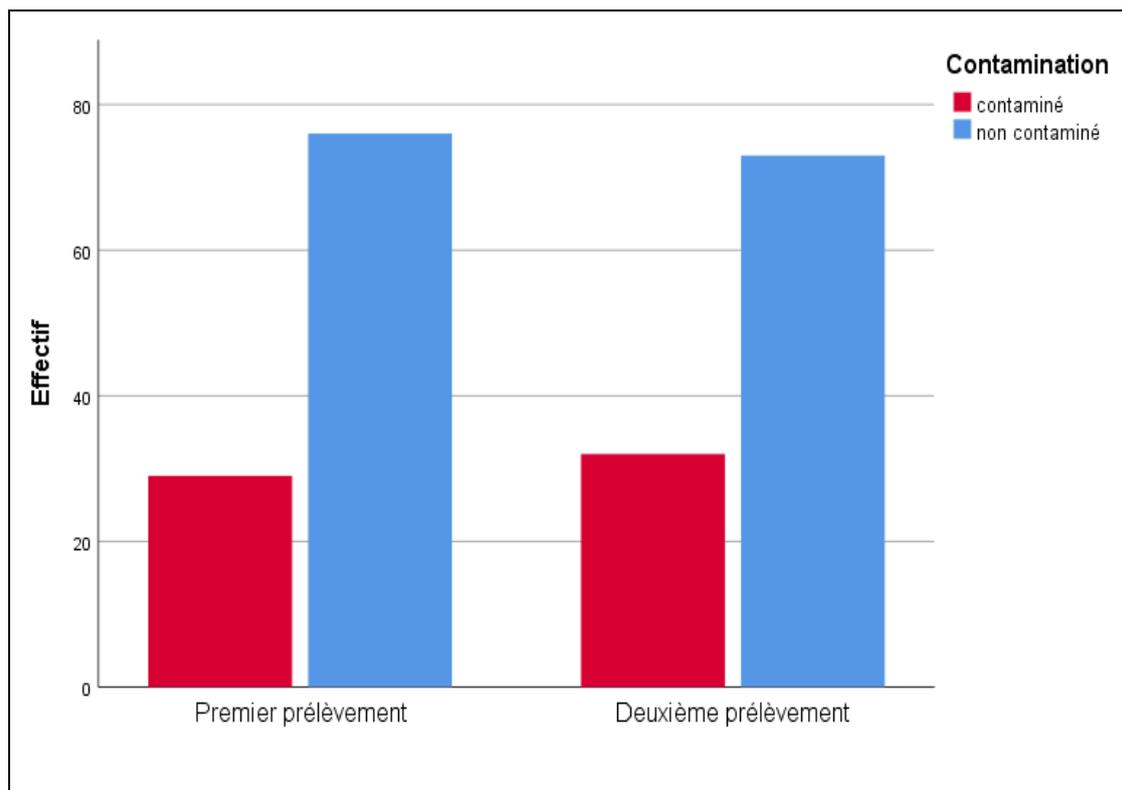
**2.1.9. Evaluation de la variation de l'efficacité antibactérienne des surfaces en cuivre après huit semaines du premier prélèvement :**

Les surfaces en cuivre ont été reprélevées après huit semaines du premier prélèvement. 32 cultures bactériennes sur 105 étaient positives alors que le reste était négatif.

Les taux de contamination des surfaces en cuivre lors du premier et du deuxième prélèvement ont été comparés en utilisant le test de Khi-2.

**Tableau XVI :** Les taux de contamination des surfaces en cuivre lors du premier et du deuxième prélèvement

Contamination		Premier prélèvement	Deuxième prélèvement	Taux de variation de la contamination	P value
Surfaces contaminées	Effectif	29	32	2.86 %	0.64
	Fréquence	27.61%)	30.47%		
Surfaces non contaminées	Effectif	76	73		
	Fréquence	72.39%)	69.52%		
Total		105 (100%)	105 (100%)		



**Figure 34 :** Les taux de contamination des surfaces en cuivre lors du premier et du deuxième prélèvement

- Ces résultats montrent que le taux des surfaces en cuivre contaminées a augmenté de 2.86% lors du deuxième prélèvement. Cependant, Le test de Khi-2 a révélé que cette variation n'était pas statistiquement significative ( $P=0.64$ ). les surfaces en cuivre ont donc maintenu leur efficacité antibactérienne après deux mois et demi de leur installation.

## 2.2. Etude de l'efficacité antifongique du cuivre in situ au niveau du service de médecine interne :

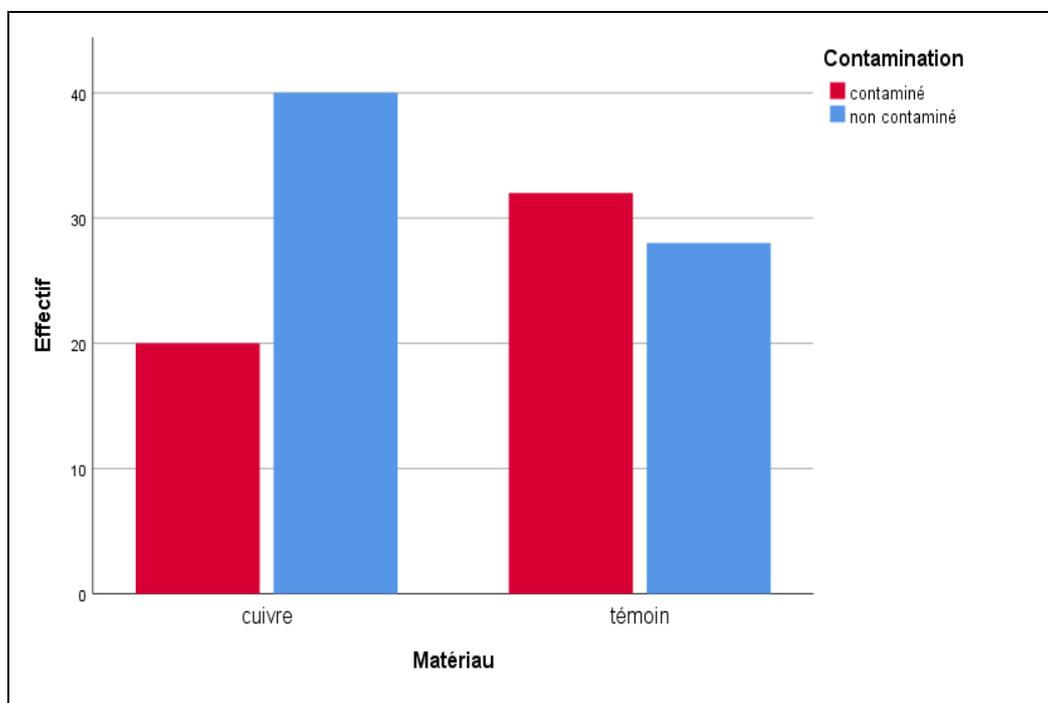
### 2.2.1. Comparaison des taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards par les espèces fongiques :

- Les cultures fongiques de 32 sur 60 échantillons prélevés des surfaces standards étaient positives alors que le reste était négatif. Cependant, 20 cultures sur 60 prélèvements des surfaces en cuivre étaient positives alors que le reste était négatif.

- Les taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards par les espèces fongiques ont été comparés en utilisant le test de Khi-2.

**Tableau XVII :** Les taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards par les espèces fongiques.

Contamination		Surfaces en cuivre	Surfaces standards	Taux de réduction de la contamination	P value
Surfaces contaminées	Effectif	20	32	37.50 %	0.027
	Fréquence	33.33%	53.33%		
Surfaces non contaminées	Effectif	40	28		
	Fréquence	66.66%	46.66%		
Total		60 (100%)	60 (100%)		



**Figure 35 :** Les taux de contamination des surfaces en cuivre et des surfaces standards par les espèces fongiques.

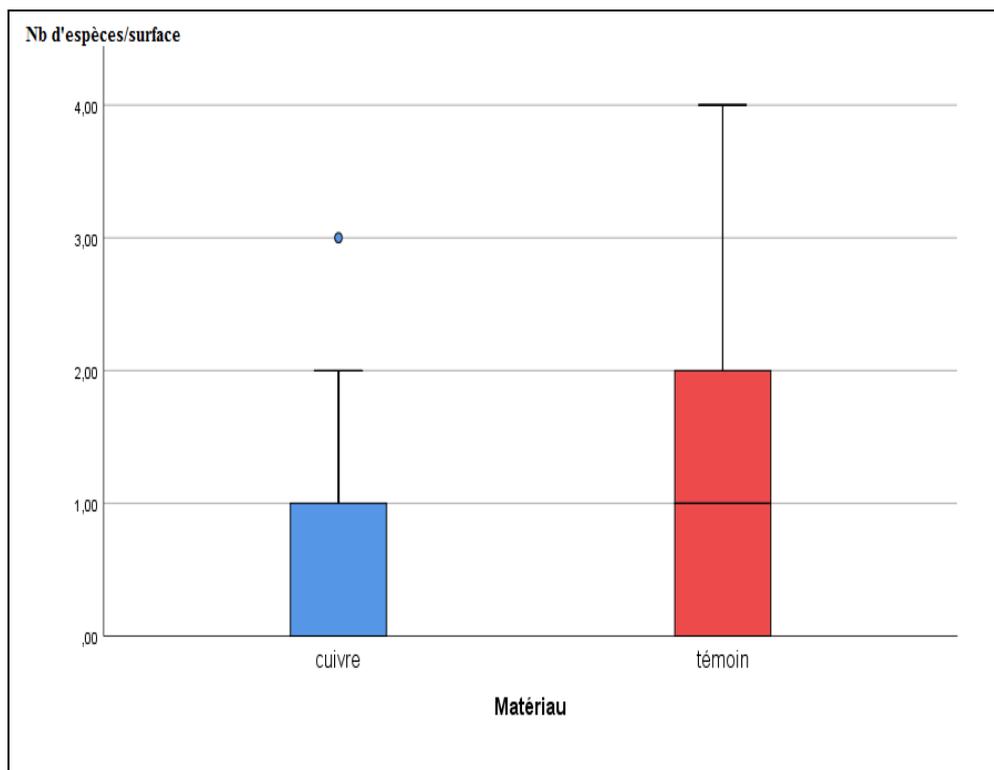
- le test de Khi-2 a révélé que le taux de contamination des surfaces en cuivre par les espèces fongiques était significativement plus bas que celui des surfaces standards ( $P = 0.027$ ). En effet, le cuivre a réduit le taux de contamination des surfaces environnementales par les espèces fongiques de 37.5% dans le service de médecine interne.

### 2.2.2. Comparaison des nombres d'espèces fongiques identifiées sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards :

- Le nombre d'espèces fongiques identifiés par échantillon a servi de référence pour évaluer l'efficacité antifongique du cuivre.
- La normalité de la distribution de ce nombre a été vérifiée en utilisant le test de Kolmogorov- Smirnov.
- Comme le nombre d'espèces fongiques identifiées par surface ne suivait pas une distribution normale, on a utilisé le test non paramétrique U de Mann- Whitney pour vérifier si ce nombre était significativement plus bas sur les surfaces en cuivre en comparaison avec les surfaces standards.

**Tableau XVIII** : nombre d'espèces fongiques identifiées sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

Type de matériau	Effectif	Moyenne	Médiane	P value	Réduction (%)
Surfaces en cuivre	60	0.50	0	0.021	47.36%
Surfaces standards	60	0.95	1		



**Figure 36 :** Nombre d'espèces fongiques identifiées sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

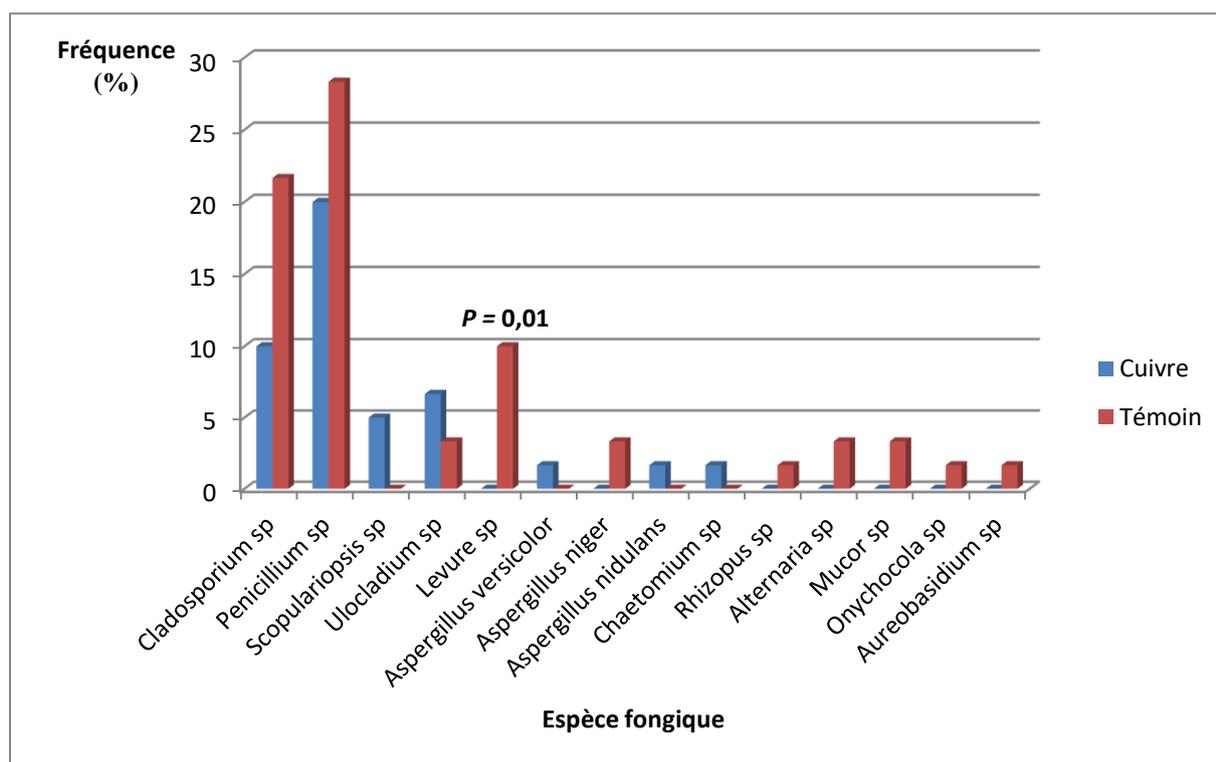
- Ces résultats montrent une réduction significative ( $P = 0.021$ ) du nombre d'espèces fongiques identifiées par surface sur les surfaces en cuivre en comparaison avec les surfaces standards. En effet, le cuivre a réduit ce nombre de 47.36% sur les surfaces de contact dans service de médecine interne.

### 2.2.3. Comparaison de la fréquence des différentes espèces fongiques identifiées sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards :

- Les pourcentages des surfaces en cuivre et des surfaces standards contaminées par les différentes espèces fongiques identifiées lors de l'étude in situ ont été comparés en utilisant le test de Khi-2 et le test exact de Fisher.

**Tableau XIX :** Fréquence des différentes espèces fongiques sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

Espèces fongiques	Surfaces en cuivre contaminées		Surfaces standards contaminées		P value
	Effectif	Fréquence (%)	Effectif	Fréquence (%)	
<i>Cladosporium sp</i>	6	10 %	13	21.66 %	0.07
<i>Penicillium sp</i>	12	20 %	17	28.33 %	0.28
<i>Scopulariopsis sp</i>	3	5 %	0	0 %	0.24
<i>Ulocladium sp</i>	4	6.66 %	2	3.33 %	0.67
<i>Levure sp</i>	0	0 %	6	10 %	0.01
<i>Aspergillus versicolor</i>	1	1.66 %	0	0 %	1
<i>Aspergillus niger</i>	0	0 %	2	3.33 %	0.49
<i>Aspergillus nidulans</i>	1	1.66 %	0	0 %	1
<i>Chaetomium sp</i>	1	1.66 %	4	0 %	0.36
<i>Rhizopus sp</i>	0	0 %	1	1.66 %	1
<i>Alternaria sp</i>	0	0 %	2	3.33 %	0.49
<i>Mucor sp</i>	0	0%	2	3.33 %	0.49
<i>Onychocola sp</i>	0	0%	1	1.66 %	1
<i>Aureobasidium sp</i>	0	0%	1	1.66 %	1



**Figure 37 :** Fréquence des différentes espèces fongiques sur les surfaces en cuivre et les surfaces standards.

- Ces résultats montrent une réduction significative de la fréquence des levures sur les surfaces en cuivre en comparaison avec les surfaces standards ( $P = 0.01$ ). On a également observé une faible diminution non significative sur les surfaces en cuivre pour les espèces : *Cladosporium sp*, *Penicillium sp*, *Aspergillus niger*, *Chaetomium sp*, *Rhizopus sp*, *Alternaria sp*, *Mucor sp*, *Onychocola sp* et *Aureobasidium sp*.
- Cependant, les espèces : *Ulocladium sp*, *Aspergillus versicolor* et *Aspergillus nidulans* étaient légèrement plus fréquentes sur les surfaces en cuivre que sur les surfaces standards, néanmoins, cette différence était statistiquement non significative.

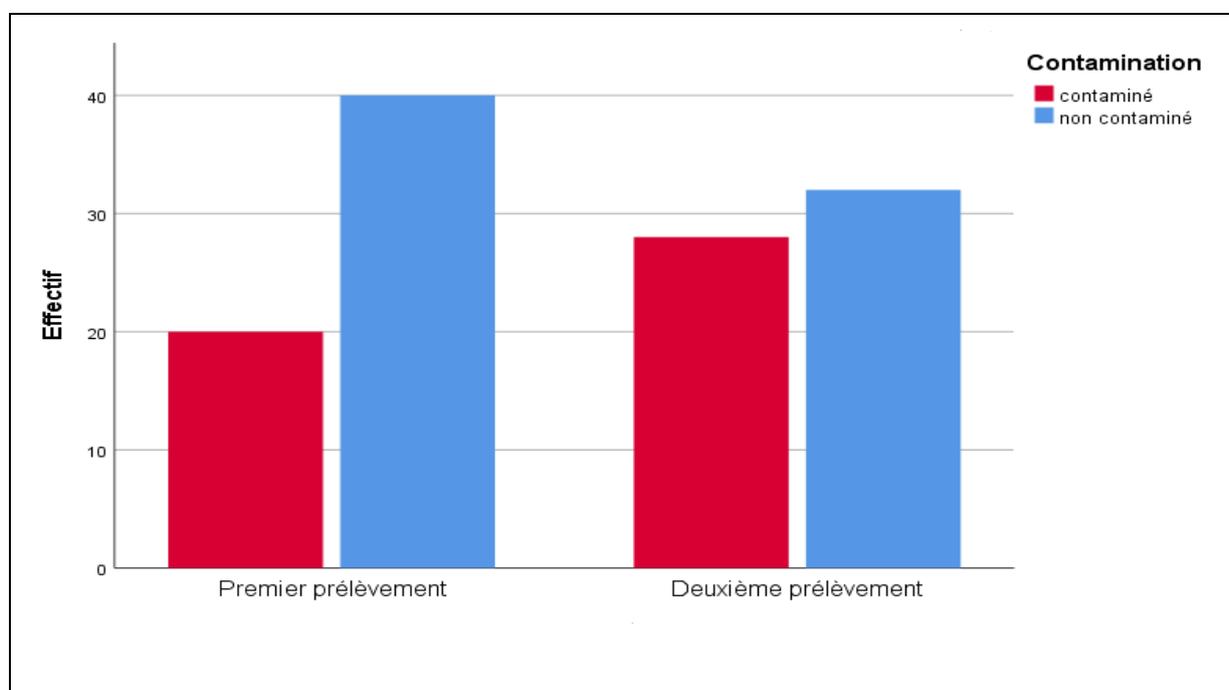
#### 2.2.4. Evaluation de la variation de l'efficacité antifongique des surfaces en cuivre après huit semaines du premier prélèvement :

Après huit semaines du premier prélèvement, un deuxième prélèvement des surfaces en cuivre a été effectué. 28 cultures fongiques sur 60 échantillons prélevés de ces surfaces étaient positives alors que le reste était négatif.

Les taux de contamination des surfaces en cuivre par les espèces fongiques lors du premier et du deuxième prélèvement ont été comparés en utilisant le test de Khi-2.

**Tableau XX :** Les taux de contamination des surfaces en cuivre par les espèces fongiques lors du premier et du deuxième prélèvement.

Contamination		Premier prélèvement	Deuxième prélèvement	Taux de variation de la contamination	P value
Surfaces contaminées	Effectif	20	28	28.56 %	0.13
	Fréquence	33.33%	46.66%		
Surfaces non contaminées	Effectif	40	32		
	Fréquence	66.66%	53.33.%		
Total		60 (100%)	60 (100%)		



**Figure 38 :** Les taux de contamination des surfaces en cuivre par les espèces fongiques lors du premier et du deuxième prélèvement.

Le taux de contamination des surfaces en cuivre par les espèces fongiques a augmenté de 28.56% lors du deuxième prélèvement. Cependant cette augmentation n'était pas statistiquement significative ( $P = 0.13$ ).

### 3. Etude de la résistance bactérienne au cuivre :

- Pour étudier la résistance bactérienne au cuivre, 200 pièces de monnaie de 20 dinars Algériens ont été prélevées des deux faces. Ces prélèvements ont été mis en culture et incubés à 37°C. Après 24 h d'incubation, le nombre de colonies issues de chaque pièce a été compté.
- Le nombre de colonies totales issues des 200 pièces était de 367 UFC avec une moyenne de 1.83 UFC par pièce.

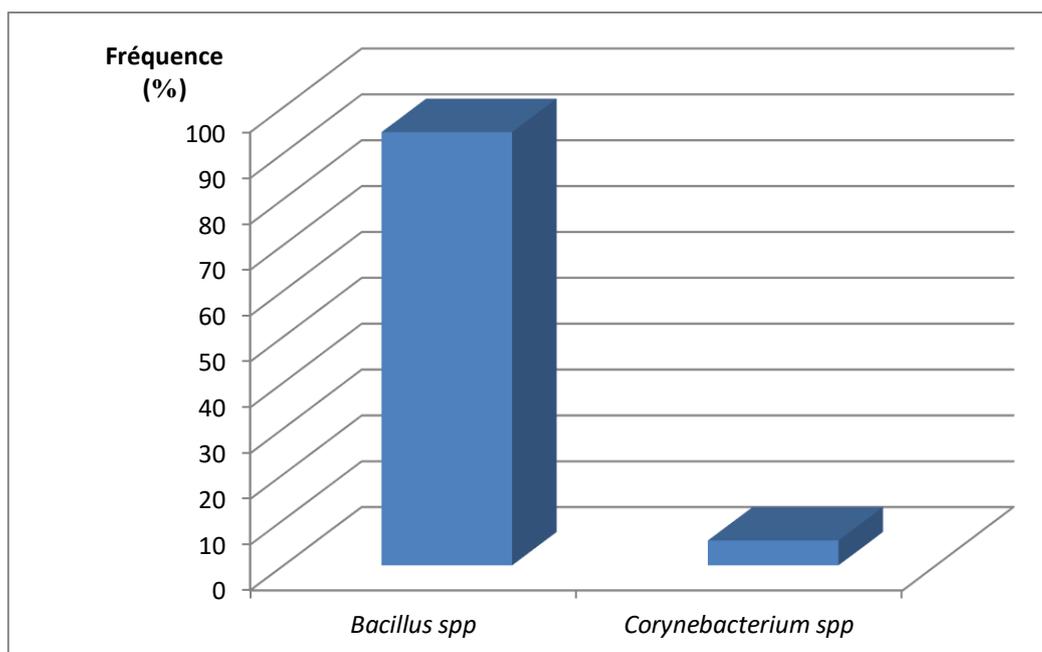
**Tableau XXI :** la charge bactérienne moyenne par pièce de monnaie

Nombre de pièces	Nombre d'UFC totales	Moyenne
200	367	1.83 UFC / pièce

- La totalité des colonies isolées était des bacilles à Gram positif dont 347 colonies du genre *Bacillus spp* et seulement 20 colonies du genre *Corynebacterium spp*.

**Tableau XXII :** Fréquence des genres bactériens sur les pièces de monnaie

Genre	Effectif	Fréquence (%)
<i>Bacillus spp</i>	347	94.55%
<i>Corynebacterium spp</i>	20	5.45%



**Figure 39 :** Fréquence des genres bactériens sur les pièces de monnaie.

- Le genre *Bacillus spp* était donc majoritaire sur les pièces de monnaie avec une fréquence de 94.55% par rapport au genre *Corynebacterium spp* qui était moins fréquent (5.45%).
- la survie de deux souches *Bacillus sp* et *Corynebacterium sp* isolées des pièces de monnaie a été testée sur des coupons de cuivre pur à 99%.
- En parallèle, deux souches du même genre, isolées de l'environnement du laboratoire et ayant montré une sensibilité significative aux surfaces de cuivre lors de l'étude in situ, ont été utilisées comme contrôles. les résultats sont résumés dans le tableau 27.

**Tableau XXIII :** les durées de survie des souches isolées des pièces de monnaie et des souches de laboratoire sur du cuivre pur.

Durée d'incubation (h)	<i>Bacillus sp</i> (pièces de monnaie)	<i>Bacillus sp</i> (laboratoire)	<i>Corynebacterium sp</i> (pièces de monnaie)	<i>Corynebacterium sp</i> (laboratoire)
1 h	(+)	(-)	(-)	(-)
2h	(-)	(-)	(-)	(-)
3h	(-)	(-)	(-)	(-)
4h	(-)	(-)	(-)	(-)

- Ces résultats montrent que la souche *Bacillus sp* isolée des pièces de monnaie a été totalement éliminée après 2 heures de contact avec du cuivre pur alors que la durée de survie de la souche contrôles sur ce métal ne dépassait pas 1 heure.
- la souche *Bacillus sp* isolée des pièces de monnaie n'était pas donc totalement résistante au cuivre pur. néanmoins, Elle possède une durée de survie plus prolongée que celle de la souche contrôle sur ce métal.
- la souche *Corynebacterium sp* isolée des pièces de monnaie ainsi que la souche contrôle ont été totalement éliminées au bout d'une heure d'exposition au cuivre pur. cette souche n'a présenté donc aucune résistance à ce métal pur.

# *Discussion*

Les infections associées aux soins représentent les complications les plus fréquentes menaçant la vie des patients hospitalisés [100]. En raison de la propagation des germes multi-résistants à travers le monde, ces infections sont devenues la préoccupation majeure des établissements de santé [5] ; Puisqu'elles augmentent la durée moyenne d'hospitalisation, les taux de morbidité et de mortalité et entraînent une hausse considérable des coûts des soins de santé [100].

Les surfaces fréquemment touchées dans l'environnement hospitalier telles que les poignées de porte, les barrières de lits, les boutons d'appel, les sièges de toilette...etc constituent un réservoir important des germes responsables des infections associées aux soins [95] [75]. En effet, des bactéries comme *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter spp* peuvent y persister pendant des mois [95]. La réduction de la biocontamination des surfaces dans les établissements hospitaliers permettra de baisser l'incidence des IAS [3].

Parmi les méthodes visant à réduire la biocontamination de l'environnement dans les établissements de soins, l'utilisation du cuivre comme matière couvrante des surfaces de contact paraît l'une des plus prometteuses [101]. En effet, ce métal est reconnu pour ses propriétés biocides intéressantes depuis des millénaires, il était utilisé pour le traitement des infections et pour la stérilisation de l'eau de boisson [3]. Actuellement, un intérêt croissant se porte sur l'usage de ce métal comme surface auto-désinfectante dans les établissements de santé [5].

Dans ce contexte, nous avons réalisé ce travail de thèse qui avait pour objectif de tester conjointement les propriétés antibactériennes et antifongiques du cuivre. Pour cela, nous avons procédé à une large étude incluant l'évaluation de l'efficacité antimicrobienne de ce métal *in vitro* et *in situ* ainsi que l'évaluation de la résistance bactérienne au cuivre.

### **Evaluation de l'efficacité antimicrobienne du cuivre *in vitro* :**

La première partie de l'étude a pour but de déterminer l'efficacité du cuivre *in vitro* vis-à-vis de plusieurs souches bactériennes multi-résistantes, et fréquemment impliquées dans les IAS, ainsi que des souches fongiques "*Penicillium sp*, *Candida albicans* et *Aspergillus fumigatus*.

Toutes les souches étaient issues des prélèvements des malades hospitalisés au niveau des différents services de l'EH Didouche Mourad de Constantine, à l'exception d'*Aspergillus fumigatus* et *Penicillium sp* qui étaient isolés à partir d'un prélèvement de l'environnement.

L'action du cuivre a été évaluée en comparaison avec l'acier inoxydable utilisé comme contrôle. Ce dernier est le métal plus utilisé dans les établissements de soins en raison de son apparence propre et sa résistance à la corrosion [5].

Nos résultats ont révélé que le cuivre avait une activité bactéricide puissante sur *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* et *Salmonella heidelberg*. Alors que l'inox n'avait aucune action bactéricide ou bactériostatique sur ces souches. Toutes les autres études ont montré l'action bactéricide du cuivre sur ces souches. Cependant, les durées de survie de ces bactéries sur ce métal étaient différentes d'une étude à l'autre.

Nous avons trouvé que le cuivre a totalement éliminé une charge de  $1.9 \times 10^7$  UFC d'une souche multi-résistante d'*Escherichia coli* au bout de 90 min (tableau I). Ce résultat rejoint celui des études Britanniques (Wilks et al) et (Noyce et al) durant lesquelles une charge de  $2 \times 10^7$  UFC d'*E. coli* O157 inoculée sur du cuivre (pur ou alliages) était éliminée en 75 à 90 min [31,32]. Dans l'étude Steindl et al menée en Autriche, on a observé également une élimination totale de  $1.5 \times 10^8$  UFC d'une souche d'*E. coli* sécrétrice de BLSE type CTX-M après 120 min d'exposition au cuivre [102]. Cette prolongation de la durée de survie est probablement due à l'utilisation d'une charge bactérienne plus importante lors de cette étude ainsi qu'à la différence possible des deux souches testées. Cependant, lors de l'étude (Warnes et al) menée au Royaume Uni, un inoculum de  $10^7$  UFC d'*E. coli* O157: H7 a été complètement éliminé au contact du cuivre au bout de 30 min seulement. Cette différence peut être expliquée par le fait que dans cette dernière expérience, on a appliqué 1  $\mu$ l de la suspension bactérienne contenant  $10^7$  UFC sur les coupons de cuivre, ce qui assure une concentration plus élevée de l'inoculum. Ces conditions expérimentales étaient donc très différentes de celles utilisées dans notre étude [34].

Pour *Enterococcus faecium*, nous avons trouvé qu'une charge de  $2 \times 10^8$  UFC de cette souche multi-résistante a été complètement éliminée après 180 min de contact avec du cuivre (tableau III). L'étude Britannique Warnes et Keevil a également démontré qu'une charge de  $10^7$  UFC d'*Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine était éliminée en 120 min d'exposition au cuivre pur [46].

Nous avons également démontré que la durée de survie d'une charge de  $1.6 \times 10^8$  UFC de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) sur du cuivre pur était de 240 min (tableau III). lors de l'étude sud-africaine Mehtar et al, une charge de  $2.5 \times 10^7$  UFC de

SARM était complètement détruite au bout de 180 min de contact avec du cuivre [25]. Une autre étude a montré l'inactivation totale de  $5 \times 10^6$  UFC de SARM en moins d'une heure [39].

Les dissimilitudes observées entre nos résultats et ceux des autres études dans les durées de survie d'*Enterococcus faecium* et de SARM sur du cuivre sont principalement dues à la l'utilisation de charges bactériennes inégales inoculées sur ce métal.

Concernant *Pseudomonas aeruginosa*, nous avons observé qu'une charge de  $4.3 \times 10^7$  UFC de cette souche multi-résistante a été totalement inactivée au bout de 180 min d'exposition au cuivre (tableau II). Dans l'étude Elguindi et al menée en Allemagne, la destruction totale de  $4.4 \times 10^6$  UFC était arrivée après 240 min de contact avec du cuivre pur [42]. L'étude Mehtar et al a également montré que  $2.5 \times 10^7$  UFC de cette bactérie étaient totalement inactivées sur du cuivre pur au bout de 270 min [25]. Cette prolongation de la durée de survie de *Pseudomonas aeruginosa* sur le cuivre observée lors de ces deux dernières études, malgré l'usage de charges bactériennes moins importantes que celles utilisées dans notre étude, peut être expliquée par l'application d'un volume d'inoculum plus important (25  $\mu$ L dans la première et 20  $\mu$ L dans la deuxième étude) et donc moins concentré en comparaison avec le volume utilisé dans notre étude (10  $\mu$ L).

Nos résultats ont révélé également que  $8.2 \times 10^7$  UFC d'une souche multi-résistante de *Klebsiella pneumoniae* était totalement éliminée après 240 min d'exposition au cuivre (tableau I). Cependant, la différence entre les moyennes des charges résiduelles à chaque temps d'incubation sur les coupons en cuivre et les coupons d'inox était statistiquement non significative. Ceci peut être expliqué par la lenteur de l'action bactéricide du cuivre sur cette souche au cours des trois premières heures de contact. En effet la réduction de la charge bactérienne au cours de ce temps était estimée à  $-0.86 \log \text{ UFC/cm}^2$  uniquement. L'étude Grecque Souli et al a montré également qu'une charge d'environ  $10^6$  d'une souche multi-résistante de *Klebsiella pneumoniae* était totalement détruite sur du cuivre pur après 5h de contact, on a trouvé également que la différence entre les charges bactériennes sur le cuivre pur, le laiton, l'inox et le PVC était statistiquement non significative au cours des trois premières heures d'incubation [103].

Pour une souche multi-résistante d'*Acinetobacter baumannii*, on a trouvé que la durée de survie d'une charge de  $2.5 \times 10^7$  UFC au contact du cuivre était de 240 min (tableau II). Ce résultat concorde avec ceux de l'étude Rozanska et al menée en Pologne. Cette étude a testé

l'effet de différentes surfaces cuivrées sur des charges d'environ  $10^7$  UFC de trois souches d'*Acinetobacter baumannii*, une souche d'*Acinetobacter lwoffii* et une souche d'*Acinetobacter pittii*, isolées de l'environnement hospitalier. Toutes ces souches ont été totalement éliminées après 180 à 240 min de contact avec du cuivre pur [49].

Nous avons également montré qu'une charge de  $2 \times 10^7$  UFC de *Salmonella heidelberg* sécrétrice de BLSE était complètement inactivée en moins de 90 min d'exposition au cuivre (tableau I). Cette souche était isolée à partir d'un prélèvement de selle d'un nouveau néé hospitalisé au niveau du service de néonatalogie de l'EH Didouche Mourad, et ayant séjourné au préalable au service de néonatalogie du CHU de Constantine dans lequel évolue une épidémie de *Salmonella heidelberg* depuis quelques années. D'autres études ont également testé la survie de plusieurs souches de Salmonelle sur du cuivre. Dans l'étude Chilienne Faundez et al, on a trouvé qu'une charge de  $4.5 \times 10^6$  UFC de *Salmonella enterica* était détruite au contact du cuivre au bout de 4 h [5]. Dans l'étude Warnes et al, on a montré que lors d'une inoculation par voie sèche d'une charge d'environ  $10^7$  UFC de *Salmonella typhimurium* sur du cuivre, cette souche était totalement éliminée après 30 min d'incubation [34].

Notre étude a révélé également que le cuivre avait une activité antifongique sur *Candida albicans* et *Penicillium sp.* Cependant l'inox n'avait aucune action sur ces deux souches. Concernant *Aspergillus fumigatus*, les résultats étaient irréguliers et discordants et ne permettent pas de conclure à l'efficacité des coupons de cuivre sur cette espèce ou non.

Nous avons trouvé que la durée de survie d'une charge de  $7 \times 10^7$  UFC de *Candida albicans* au contact du cuivre était moins de deux heures (tableau IV). L'étude Mehtar et al a montré également qu'environ  $10^5$  UFC de *Candida albicans* était totalement éliminée au bout d'une heure d'exposition au cuivre [5]. L'étude américaine Quaranta et al a montré que lors d'une inoculation par voie sèche de  $10^6$  UFC de *Candida albicans* sur du cuivre, la totalité de cette charge était détruite en 5 min [26].

Pour *Penicillium sp.*, on a révélé que la durée de survie d'une charge de  $3 \times 10^3$  UFC de ce champignon au contact du cuivre était de 24 h (tableau V). Dans l'étude Weaver et al menée aux USA, on a également montré qu'une charge d'environ  $10^5$  spores de *Penicillium chrysogenum* était éliminée après 24h d'exposition au cuivre [24].

**Evaluation de l'efficacité antimicrobienne du cuivre *in situ* :**

La deuxième partie de notre étude avait pour objectif d'évaluer l'efficacité antibactérienne et antifongique du cuivre dans les conditions de vie réelle de trois services de l'EH Didouche Mourad ; le service de médecine interne, le service de néonatalogie et le laboratoire central. Pour cela nous avons installé 105 surfaces en cuivre sur des objets fréquemment touchés par les patients et/ou le personnel médical dans ces trois services. Durant l'installation de ces surfaces, le personnel des trois services était sensibilisé pour ne pas changer ses habitudes d'hygiène. Les 105 surfaces en cuivre ainsi que 105 surfaces témoins ont été prélevées pour étudier et comparer les charges ainsi que les différentes populations microbiennes colonisant les deux types de surfaces.

Nos résultats ont révélé que la contamination bactérienne des surfaces en cuivre était beaucoup plus faible que celle des surfaces témoins (11.14 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 0 sur les surfaces en cuivre versus 266.09 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 60 UFC/100 cm<sup>2</sup> sur les surfaces standards) ( $P < 0.0001$ ) (tableau VI).

La réduction des charges des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre était de 95.77 % en moyenne par rapport aux surfaces témoins (tableau VII) (95.61% de réduction dans le service de médecine interne, 97.33% dans le service de néonatalogie et 92.28% dans le laboratoire central). Ce résultat concorde avec ceux des études ; Hinsla-Leasure et al, USA (97% de réduction) [104], Schmidt et al, USA. 2019 (94% de réduction) [105], Ibrahim et al (94% de réduction) [106], Casey et al (entre 90% et 100% de réduction) [107], Rai et al (entre 88% et 90% de réduction) [108], Schmidt et al, 2016 (88 % de réduction) [109], Inkinen et al (84.76% de réduction) [110], Schmidt et al, 2012 (83% de réduction) [111] et Marais et al (71% de réduction) [112].

Notre étude a montré également que la fréquence des surfaces en cuivre ayant un faible niveau de contamination (<10 UFC/100 cm<sup>2</sup>) était significativement plus élevée (72.39%) en comparaison à celle des surfaces standards (23.81%) ( $P < 0.0001$ ). Cependant, aucune des surfaces en cuivre n'a présenté une charge supérieure à 250 UFC/100 cm<sup>2</sup>, alors que 22.85% des surfaces standards avait un niveau de contamination élevé (charge entre 250 et 1000 UFC/100 cm<sup>2</sup>) ( $P < 0.0001$ ) et 5.71% de ces surfaces ont présenté un niveau de contamination très élevé avec une charge > 1000 UFC/100 cm<sup>2</sup> ( $P = 0.038$ ) (tableau VIII).

Les normes actuelles d'évaluation et de suivi du bionettoyage des surfaces dans les

établissements de santé suggèrent que le niveau de contamination bactérienne de ces surfaces ne doit pas dépasser le seuil de 250 UFC/100 cm<sup>2</sup> [99]. Dans notre étude, on a trouvé que 28.57% des surfaces standards présentaient des niveaux de contamination supérieurs à ce seuil. Cela représente un vrai danger notamment pour les malades des services de médecine interne et de néonatalogie. D'autre part, les surfaces en cuivre semblent être plus susceptibles de ne pas dépasser le seuil toléré.

Plusieurs études ont trouvé des résultats similaires, L'étude Schmidt et al, a montré que 53% des surfaces standards présentaient des charges bactériennes supérieures à 250 UFC/100 cm<sup>2</sup> alors que seulement 6 % des surfaces en cuivre avaient des niveau de contaminations dépassant ce seuil [105]. Dans l'étude Hinsia-Leasure et al, on a également observé que dans les chambres occupées par des malades, 88% des surfaces en cuivre ont présenté des charges bactériennes inférieures à 250 UFC/100 cm<sup>2</sup> alors que 55% des surfaces standards ont dépassé ce seuil. pour les chambres non occupées, le taux des surfaces en cuivre présentant des niveaux de contamination inférieurs au seuil de tolérance s'élève à 93% alors que celui des surfaces standards dépassant ce seuil était de 51% [104].

Notre étude a montré également que le cuivre a réduit d'une manière significative la charge des bactéries aérobies totales en comparaison avec celle présente sur les surfaces standards dans les salles de soin (20 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 10 UFC/cm<sup>2</sup> sur les surfaces en cuivre versus 305 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 220 UFC/100 cm<sup>2</sup> sur les surfaces standards) ( $P= 0.005$ ), l'unité du pied diabétique (23.33 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 0 sur les surfaces en cuivre versus 368.8 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 220 UFC/100 cm<sup>2</sup> sur les surfaces standards) ( $P= 0.002$ ), l'unité de gastro-entérologie ( 5 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 5 UFC/cm<sup>2</sup> sur les surfaces en cuivre versus 603 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 205 UFC/100 cm<sup>2</sup> sur les surfaces standards) ( $P= 0.002$ ) et l'unité de réanimation (4 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 0 sur les surfaces en cuivre versus 822 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 290 UFC/100 cm<sup>2</sup> sur les surfaces standards) ( $P= 0.016$ ) du service de médecine interne (tableau X). Ces résultats démontrent l'efficacité antibactérienne du cuivre dans des zones où les patients sont exposés à un risque infectieux majeur en particulier lorsqu'ils subissent des soins et des traitements invasifs.

Cependant, une petite réduction non significative des charges des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre a été observée dans la salle de consultation, l'unité de neurologie,

l'unité hôpital de jour, les bureaux du personnel, les vestiaires et les sanitaires du service de médecine interne. Cela est probablement dû au fait que cette charge était également faible sur les surfaces standards dans ces zones.

Dans le laboratoire central, nous avons révélé une diminution significative de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre par rapport aux surfaces standards dans l'unité de microbiologie ( 26.66 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 5 UFC/100 cm<sup>2</sup> sur les surfaces en cuivre versus 163.33 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 70 UFC/100 cm<sup>2</sup> sur les surfaces standards) ( $P = 0.033$ ) et l'unité de parasitologie ( 4.28 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 0 sur les surfaces en cuivre versus 472.85 UFC/100 cm<sup>2</sup> en moyenne, médiane = 40 UFC/100 cm<sup>2</sup> sur les surfaces standards) ( $P = 0.017$ ) (tableau XII). Dans ces deux unités, plusieurs populations de microorganismes sont manipulées d'une façon quotidienne, ces microorganismes provenant des prélèvements des malades et des cultures peuvent contaminer le personnel du laboratoire notamment par voie cutanée lors de contacts avec des surfaces contaminées. Le cuivre pourrait donc renforcer les procédures de nettoyage et de désinfection de ces surfaces.

Cependant, une petite réduction non significative des charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre a été observée dans l'unité banque de sang, les bureaux des assistants, le bureau du surveillant médical, la réception et les sanitaires du laboratoire central. Cela est probablement dû au fait que cette charge était également faible sur les surfaces standards dans ces zones.

Dans l'unité de néonatalogie, Les charges des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre (médiane = 0) était significativement plus basse que celles présentes sur les surfaces standards (médiane =185 UFC/100 cm<sup>2</sup>) ( $P < 0.0001$ ). La surface standard présentant la charge la plus élevée était la poignée de porte des sanitaires avec 1290 UFC/100 cm<sup>2</sup> versus 10 UFC/100 cm<sup>2</sup> sur la poignée recouverte de cuivre, suivie de celle de la salle des prématurés avec 280 UFC/100 cm<sup>2</sup> versus 10 UFC/100 cm<sup>2</sup> sur du cuivre, puis celle de la salle de soin avec 250 UFC/100 cm<sup>2</sup> versus 0 UFC/100 cm<sup>2</sup> sur le cuivre. Le reste des poignées de porte dans cette unité ont présenté des charges inférieures au seuil de 250 UFC/100 cm<sup>2</sup> (tableau XI).[3].

Nous avons montré également une réduction significative de la charge des bactéries aérobies totales sur les surfaces en cuivre par rapport aux surfaces standards pour les poignées de porte ( $P < 0.0001$ ), les tables à manger ( $P = 0.001$ ), les tables de chevet ( $P = 0.001$ ), les barreaux de lit

( $P=0.01$ ), les étuves ( $P=0.01$ ) et les vis des microscopes ( $P=0.02$ ). Cependant, une petite réduction statistiquement non significative a été observée pour les armoires des médicaments, les bureaux du personnel, les chariots de soins, les chariots de nourriture, les casiers, les armoires de réactifs, les frigos de réactifs et les paillasses (tableau XIII).

D'autres études ont démontré également que les charges bactériennes significativement plus basses sur les surfaces en cuivre par rapport aux surfaces témoins pour les poignées de porte (Ruelle et al, France ; Montero et al, Chili ; Colin et al, France ; Choi et al, Corée du sud) [3,100,101,113], les tables à manger (Montero et al ; Karpanen et al, Royaume Uni) [100,114] et les barreaux de lit (Montero et al ; Choi et al ; Karpanen et al) [100,113,114]. Ces résultats confirment l'efficacité antibactérienne du cuivre sur des objets fréquemment touchés par les patients et/ ou le personnel médical.

L'identification des différentes espèces bactériennes colonisant les surfaces en cuivre ainsi que les surfaces standards a révélé que les bactéries à Gram positif étaient les plus fréquemment isolées à partir de ces surfaces. Notamment, *Staphylocoques blanc*, *Enterococcus sp*, *Corynebacterium sp*, *Bacillus sp* et *Micrococcus sp* colonisant respectivement 42.85 %, 26.66 %, 21.90 %, 20.95 % et 18.09 % des surfaces témoins (tableau XIV).

Les espèces *Staphylocoques blanc*, *Corynebacterium sp*, *Bacillus sp* et *Micrococcus sp* sont très répandues dans la flore commensale de la peau. Cela indique la prédominance des espèces du microbiote cutané sur les surfaces de contact dans l'environnement hospitalier. L'espèce *Enterococcus sp*, d'origine digestive, peut également séjourner sur la peau et être responsable d'infections à transmission manuportées à l'hôpital.

Les bactéries à Gram négatif étaient moins observées sur les surfaces de contact, l'espèce la plus fréquente parmi elles étaient *Escherichia. coli*, qui colonisait 8.57 % des surfaces témoins.

Nous avons démontré que les espèces bactériennes ; *Enterococcus sp* ( $P= 0.001$ ), *Escherichia coli* ( $P=0.02$ ), *Staphylococcus aureus* ( $P=0.04$ ), *Bacillus sp* ( $P=0.01$ ), *Corynebacterium sp* ( $P=0.003$ ), *Micrococcus sp* ( $P=0.002$ ) et *Staphylocoques blanc* ( $P<0.0001$ ) étaient significativement moins fréquentes sur les surfaces en cuivre par rapport aux surfaces témoins (tableau XIV).

Les charges des entérobactéries ( $P < 0.0001$ ), entérocoques ( $P = 0.03$ ) et staphylocoques ( $P < 0.0001$ ) étaient également affectées par l'action du cuivre. Ce métal a réduit les charges des entérobactéries de 97.22%, des entérocoques de 80% et des staphylocoques de 98.64% (tableau XV). Ces résultats confirment l'efficacité des surfaces en cuivre sur des espèces fréquemment isolées lors des IAS.

Des études antérieures ont trouvé des résultats similaires, l'étude Ruelle et al a montré des réductions statistiquement significatives sur les éléments en alliages de cuivre par rapport aux éléments standards des charges des entérocoques/streptocoques dans les box de soins intensifs ( $P < 0,01$ ), des staphylocoques en consultation ( $P = 0,04$ ), box de soins intensifs ( $P < 0,01$ ) et box de réanimation ( $P = 0,02$ ) ; et les entérobactéries en consultation ( $P < 0,001$ ), box de soins intensifs ( $P = 0,02$ ) et box de réanimation ( $P < 0,001$ ) [3].

L'étude Souli et al, menée en Grèce, a également montré que les bactéries à Gram négatif ( $P = 0.003$ ) et les entérocoques ( $P = 0,014$ ) étaient significativement moins fréquentes sur les surfaces en cuivre en comparaison avec les surfaces témoins [115].

Pour évaluer la variation de l'efficacité antibactérienne des surfaces en cuivre dans le temps, un deuxième prélèvement de ces surfaces a été réalisé après huit semaines du premier prélèvement. La comparaison des résultats des deux prélèvements a montré une légère augmentation du taux des surfaces en cuivre contaminées lors du deuxième prélèvement. Ce taux a augmenté de 2.86%. Cependant, cette variation n'était pas statistiquement significative ( $P = 0.64$ ) (tableau XVI). Les surfaces en cuivre ont donc maintenu leur activité antibactérienne après deux mois et demi de leur installation.

L'étude Colin et al a montré que l'efficacité antimicrobienne des poignées de porte en alliage de cuivre contre une souche de *SARM* a diminué après trois ans d'utilisation. Cependant, ces éléments ont conservé leur activité antibactérienne en permettant de réduire une charge de cette souche de 97.78% après deux heures de contact [101].

Dans notre étude nous avons également testé l'efficacité antifongique des surfaces en cuivre dans le service de médecine interne. Nos résultats ont montré que le taux de contamination des surfaces en cuivre par les espèces fongiques était significativement plus bas que celui des surfaces standards ( $P = 0.027$ ) (tableau XVII). En effet, le cuivre a réduit la contamination des surfaces environnementales par les espèces fongiques de 37.5% dans ce service.

Nous avons révélé également une réduction significative ( $P = 0.021$ ) du nombre d'espèces fongiques identifiées par surface sur les surfaces en cuivre en comparaison avec les surfaces standards. Cette réduction a été estimée à 47.36% (tableau XVIII).

Sept espèces fongiques ont été identifiées sur les surfaces en cuivre alors que onze espèces ont été isolées sur les surfaces standards. *Penicillium sp* était l'espèce la plus fréquente, elle colonisait 28.33 % des surfaces standards et 20% des surfaces en cuivre suivie de *Cladosporium sp* (21.66 % des surfaces standards et 10% des surfaces en cuivre) puis les levures qui colonisaient 10% des surfaces standards alors qu'aucune levure n'a été détectée sur les surface en cuivre (tableau XIX).

Seulement les levures ont été significativement affectées par l'action des surfaces en cuivre ( $P = 0.01$ ) (tableau XIX). Cela est probablement dû au fait que la durée de survie des levures au contact du cuivre est beaucoup plus courte que celle des autres champignons. Nous avons déjà démontré dans l'étude *in vitro* que la durée de survie d'une souche de *Candida albicans* sur du cuivre pur était moins de 2 heures alors que celle d'une souche *Penicillium sp* était de 24 heures. D'autres études *in vitro* ont montré également que la durée de survie de la levure *Candida albicans* au contact du cuivre ne dépassait pas 60 min [25]. Alors que l'espèce *Penicillium chrysogenum* a été éliminée après 24 h d'exposition au cuivre. Les espèces du genre *Aspergillus* semblent mieux résister au cuivre ; *Aspergillus Flavus* et *Aspergillus Fumigatus* nécessitaient 120h et 144h d'exposition à ce métal pour être complètement éliminés, tandis qu'*Aspergillus Niger* restait présent sur du cuivre même après 576 h d'incubation [24].

Après huit semaines du premier prélèvement, un deuxième prélèvement des surfaces en cuivre a été réalisé pour évaluer la variation de l'activité antifongique de ces surfaces dans le temps. Les résultats ont montré que le taux de contamination des surfaces en cuivre par les espèces fongiques a augmenté de 28.56% lors du deuxième prélèvement. Cependant cette augmentation n'était pas statistiquement significative ( $P = 0.13$ ) (tableau XX).

D'autres travaux ont également étudié l'efficacité antifongique des surfaces en cuivre dans l'environnement hospitalier. Lors de l'étude Ruelle et al, dix genres de champignons ont été identifiés sur les poignées en alliage de cuivre alors que dix-neuf genres ont été identifiés sur les poignées standards. *Cladosporium spp* était le genre le plus fréquemment isolé. Cependant, les auteurs n'ont pas pu conclure à l'efficacité du cuivre sur ce genre en raison du nombre relativement faible des champignons isolés ainsi que des variabilités des locaux [3].

L'étude Montero et al a également tenté de tester les propriétés antifongiques des surfaces en cuivre en milieu hospitalier. Cependant, les résultats n'ont pas montré des différences significatives entre les charges fongiques sur les surfaces en cuivre et les surfaces témoins. Les auteurs suggèrent que cela est dû au fait que l'isolement des champignons était sporadique et avec de faibles nombre d'UFC/ 100cm<sup>2</sup> et préconisent de mettre en œuvre une conception méthodologique différente [100].

#### **Etude de la résistance bactérienne au cuivre :**

La troisième partie de notre étude avait pour objectif d'étudier le pouvoir des bactéries à développer une résistance au cuivre lors d'un contact continu avec ce dernier. Pour cela nous avons recherché des souches bactériennes sur 200 pièces de monnaie de 20 dinars Algériens, constituées d'un cœur contenant 92% de cuivre.

Nos résultats ont montré que nombre de colonies totales issues des 200 pièces était de 367 UFC avec une moyenne de 1.83 UFC par pièce (tableau XXI). La totalité des colonies isolées était des bacilles à Gram positif dont 347 (94.55%) colonies du genre *Bacillus spp* et seulement 20 (5.45%) colonies du genre *Corynebacterium spp* (tableau XXII). L'étude Xu et al, Royaume Uni a également démontré que 100% des bactéries isolées des pièces de monnaie étaient des bactéries à Gram positif avec prédominance des genres *Bacillus spp* (40%) et *Staphylococcus spp* (28%) [116]. Dans l'étude Pachter et al, USA , on a observé la prédominance des genres *Staphylococcus spp*, *Bacillus spp* et également du genre *Corynebacterium spp* [117].

L'équipe Espirito Santo et al, Portugal a étudié la flore bactérienne présente sur les pièces de 50 centimes d'euro contenant 89% de cuivre collectées en Allemagne et au Portugal. Lors de cette étude, 294 souches bactériennes ont été isolées à partir de 52 pièces, avec une moyenne de 6 UFC par pièce. La majorité des souches identifiées était des bactéries à Gram positif, avec prédominance des *Staphylococcus spp* (115 isolats) suivis des *Micrococcus spp* (59 isolats) et des *Bacillus spp* (55W0 isolats). Alors que seulement 40 isolats étaient des bactéries à Gram négatif. Cependant cette étude n'a pas révélé la présence des isolats du genre *Corynebacterium spp*, pourtant ce genre est très abondant dans le microbiote cutané [118].

Nous avons également testé la survie de deux souches *Bacillus sp* et *Corynebacterium sp* isolées des pièces de monnaies sur des coupons de cuivre pur à 99% en comparaison avec deux autres souches *Bacillus sp* et *Corynebacterium sp* isolées de l'environnement du

laboratoire et ayant montré une sensibilité significative aux surfaces de cuivre lors de l'étude *in situ*.

La souche *Bacillus sp* isolée des pièces de monnaie a été totalement éliminée après 2 heures de contact avec du cuivre pur alors que la durée de survie de la souche contrôle sur ce métal ne dépassait pas 1 heure (tableau XXIII). Cette souche est donc toujours sensible au cuivre pur. Néanmoins, Elle possède une durée de survie plus prolongée que celle de la souche contrôle sur ce métal.

La souche *Corynebacterium sp* isolée des pièces de monnaie ainsi que la souche contrôle ont été totalement éliminées au bout d'une heure d'exposition au cuivre pur (tableau XXIII). Cette souche n'a présenté donc aucune résistance à ce métal pur. Cela est probablement dû au fait que cette bactérie était protégé de l'action du cuivre des pièces de monnaies par la salissure présente sur ces pièces. En effet, les pièces utilisées dans notre étude étaient des pièces en circulation et donc probablement souillées par les matières organiques. Il a été déjà démontré que la salissure permet aux bactéries de résister à l'action biocide des surfaces en cuivre pendant des périodes prolongées, rendant ainsi ces surfaces inactives [119,120].

L'étude Espirito Santo et al a également étudié la résistance des bactéries aux pièces de monnaies en alliages de cuivre. Lors de cette étude, on a testé la survie des 294 souches bactériennes isolées des pièces de monnaies sur du cuivre pur en la comparant à celle des souches de laboratoire de mêmes espèces, 76% de ces isolats étaient toujours sensibles au cuivre pur, ces bactéries étaient éliminées en moins de 24 h. Bien que la majorité des souches isolées des pièces de monnaies avaient des durées de survie plus prolongées sur du cuivre pur que celles des souches de laboratoire, les chercheurs n'ont pas trouvé des bactéries significativement résistantes au cuivre sur les pièces de monnaies. Ces résultats ne s'opposent pas donc avec l'utilisation sûre des surfaces en cuivre dans les établissements de santé pour lutter contre les bactéries responsables des IAS [118]

Au total, en analysant les différents résultats obtenus lors de notre étude, nous avons abouti aux constatations suivantes :

- ✓ L'efficacité biocide des surfaces en cuivre a été démontré *in vitro* contre des souches bactériennes multi résistantes d'*Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*

*pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* et *Salmonella heidelberg*. Ainsi que contre les souches fongiques *Candida albicans* et *Penicillium sp.*

- ✓ Lors de l'étude *in situ*, les surfaces en cuivre ont réduit d'une façon significative les charges et la fréquence des contaminations bactériennes dans les trois services étudiés.
- ✓ L'action du cuivre a été spécifiquement significative sur les poignées de porte, les tables à manger, les tables de chevet, les barreaux de lit, les étuves et les vis des microscopes.
- ✓ Les charges des Entérobactéries, Entérocoques et Staphylocoques étaient significativement affectées par l'action du cuivre. ainsi que les espèces *Enterococcus sp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus sp*, *Corynebacterium sp*, *Micrococcus sp* et *Staphylocoques blanc* étaient significativement moins fréquentes sur les surfaces en cuivre par rapport aux surfaces témoins.
- ✓ La fréquence des contaminations des surfaces par les espèces fongiques ainsi que le nombre d'espèces fongiques isolées par surface dans le service de médecine interne était significativement réduits sur les surfaces en cuivre.
- ✓ Les levures étaient spécifiquement affectées par l'action des surfaces en cuivre ; aucune levure n'a été détectée sur ces surfaces.
- ✓ Les surfaces en cuivre ont gardé leur activité biocide après deux mois et demi de leur installation. Cependant, une légère augmentation non significative du taux des surfaces en cuivre contaminées a été observée. Cela est peut-être dû à l'utilisation répétée des produits désinfectants notamment l'hypochlorite de sodium. Ces produits réagissent avec le cuivre en provoquant la formation d'une fine couche d'oxyde à la surface du métal. Ce qui va empêcher le contact entre le cuivre et le germe. Etant donné que l'activité antimicrobienne du cuivre dépend des ions libérés de sa surface, l'oxydation de ce métal pourrait avoir des conséquences sur son efficacité biocide. Il est donc nécessaire d'adopter un protocole de nettoyage et de désinfection appropriée pour entretenir ces surfaces tout en permettant de maintenir leur efficacité antimicrobienne [119].
- ✓ Aucune bactérie isolée des pièces de monnaies n'était significativement résistante au cuivre pur.

**Les limites de l'étude :**

Avant de conclure ce travail, il est important de présenter les limites et les contraintes rencontrées lors de sa réalisation, Elles résident principalement dans :

- L'abstention de certains services de participer à l'étude. La participation d'autres services à ce travail, notamment ceux à risque élevé d'infections tel que le service d'oncologie et les services de soins intensifs, aurait augmenté la taille de l'échantillon d'étude et renforcé ses résultats.
- La courte durée de l'essai. La prolongation de la durée de l'essai aurait permis une meilleure évaluation de la stabilité de l'effet biocide des surfaces en cuivre.
- Le manque des réactifs et des milieux de culture a également limité le nombre des séries de prélèvements.

# ***Conclusions et Perspectives***

Ce travail s'est intéressé à l'importance de l'utilisation du cuivre comme surface auto-désinfectante pour prévenir et contrôler la transmission des IAS dans les établissements de santé. En effet ces infections constituent un problème majeur de santé publique, étant responsables d'augmentation des taux de morbidité et de mortalité mais aussi d'une hausse considérable des coûts des soins de santé [100].

Dans la première partie de ce travail, nous avons étudié la survie *in vitro* de plusieurs germes hospitaliers sur des surfaces en cuivre en comparaison avec des surfaces témoins. Les résultats obtenus ont montré que ce métal possède une activité bactéricide puissante contre plusieurs souches bactériennes multi résistantes et fréquemment impliquées dans les IAS à savoir ; *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* et *Salmonella heidelberg*. Ainsi qu'une activité fongicide contre *Candida albicans* et *Penicillium sp*. On a également montré que l'action bactéricide du cuivre sur *Klebsiella pneumoniae* est temps-dépendante et ne s'exerce qu'après un temps de latence d'au moins trois heures.

Dans un second temps, l'efficacité antibactérienne et antifongique du cuivre ont été évaluées *in situ* dans les conditions de vie réelle des services hospitaliers. Nous avons révélé le pouvoir des surfaces en cuivre installées dans ces services à diminuer les charges bactériennes, notamment sur les poignées de porte, les tables à manger, les tables de chevet, les barreaux de lit, les étuves et les vis des microscopes. Ces surfaces ont réduit également les fréquences des contaminations bactérienne et fongique en agissant spécifiquement sur des germes pathogènes opportunistes (*Entérobactéries*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Micrococcus* et levures). L'action du cuivre était particulièrement significative dans des zones où la biocontamination des surfaces était la plus importante à savoir ; les salles de soin, l'unité du pied diabétique, l'unité de gastro-entérologie et l'unité de réanimation du service de médecine interne, l'unité de microbiologie et l'unité de parasitologie du laboratoire central ainsi que dans l'unité de néonatalogie du service de pédiatrie. De plus, nos résultats ont montré que 28.57% des surfaces standards dans les services présentaient des niveaux de contamination supérieurs au seuil toléré de 250 UFC/100 cm<sup>2</sup>, ce qui représente un vrai danger pour les patients et le personnel médical. D'autre part, aucune surface en cuivre n'a dépassé ce seuil indiquant ainsi que le cuivre pourrait contribuer à renforcer les mesures d'hygiène visant à contrôler la propagation des germes dans les établissements de santé.

Dans un troisième temps nous avons étudié le pouvoir des bactéries à développer une résistance en entrant en contact constant avec du cuivre. Pour cela nous avons évalué la résistance des souches bactériennes colonisant les pièces de monnaies de vingt dinars Algériens au cuivre pur. Les résultats ont montré qu'aucune bactérie isolée de ces pièces de monnaies n'était significativement résistante au cuivre pur, ce qui permet une utilisation sûre des surfaces en cuivre dans les établissements de santé pour lutter contre les bactéries responsables des IAS.

Nous proposons ci-dessous quelques perspectives pouvant être envisagées :

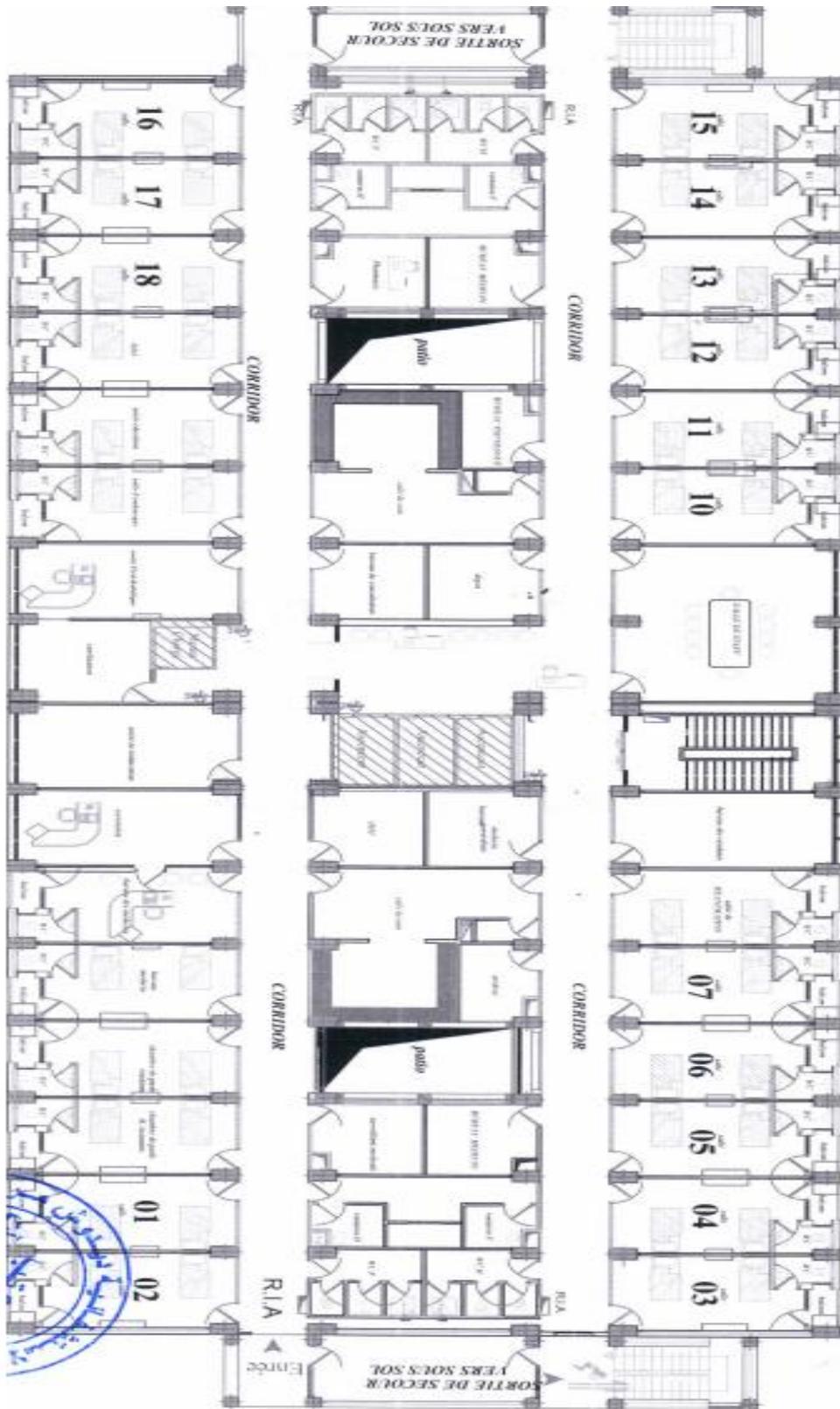
- L'installation des surfaces en cuivre dans les structures sanitaires constitue une solution fiable contribuant à renforcer les mesures d'hygiène et de lutte contre les contaminations microbiennes des surfaces environnementales et visant à contrôler la propagation des germes responsables d'infections associées aux soins dans ces établissements de santé.
- Ces surfaces en cuivre représentent un investissement important pour les hôpitaux. Une étude d'évaluation économique de type analyse coûts-avantages paraît également nécessaires pour mesurer à la fois les coûts et les avantages de l'installation et l'entretien de ces surfaces dans les établissements de santé.
- Cet investissement peut s'élargir dans des lieux collectifs, où la propagation des germes est importante. Cela pourrait limiter la transmission des infections dans ces endroits. Tout en évaluant ces dispositifs par des études menées dans ces établissements (les écoles, les jardins d'enfants, les maisons de retraites, les postes, les mairies...).
- Il est important de s'assurer de la stabilité de l'activité antimicrobienne dans le temps des surfaces en cuivre installées. Bien que le cuivre pur assure une élimination plus rapide des germes, certains de ces alliages (contenant plus de 60% de cuivre) possèdent une efficacité similaire tout en présentant des propriétés physico-chimiques meilleures, comme la force, la résistance à l'usure et une bonne résistance au ternissement dû à l'oxydation [121]. Une étude comparative menée sur les différents alliages de cuivre serait envisageable pour évaluer leurs activité antimicrobienne ainsi

que leurs réactivité vis-à-vis des différents produits détergents et désinfectants utilisés en milieu de soin afin de déterminer l'alliage idéal permettant une meilleure efficacité antimicrobienne et une stabilité optimale de cette activité dans le temps.

- De plus, les futures recherches devraient se concentrer sur l'impact direct de l'utilisation des surfaces en cuivre dans les établissements de santé sur la baisse des IAS. Les taux des IAS devraient être signalés et pris en compte lors de la réalisation de ces études. De plus, ces études devraient être menées sur des échantillons de grande taille dans des centres hospitalo-universitaires présentant des taux élevés des IAS pour pouvoir détecter des différences significatives.

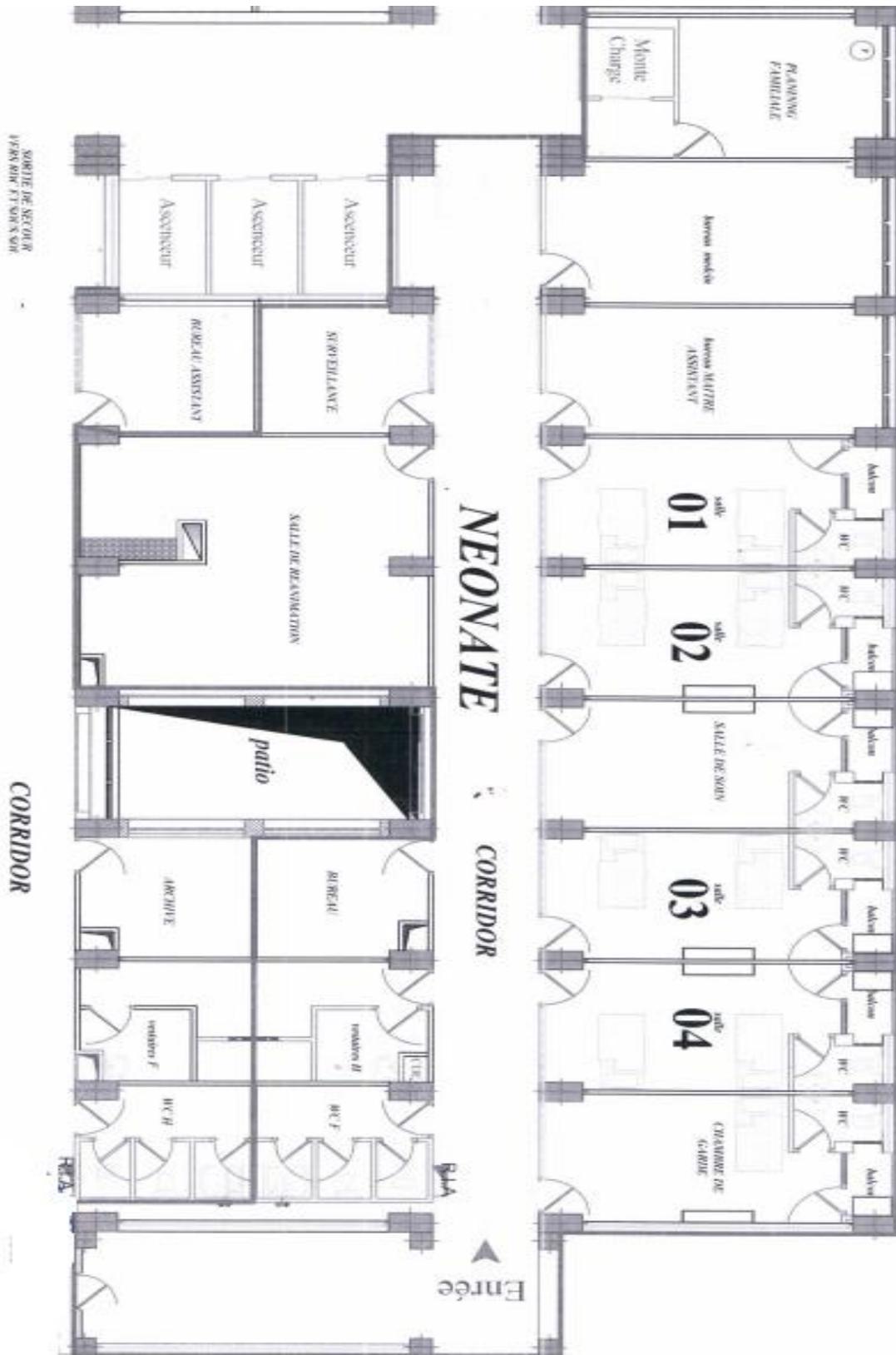
# *Annexes*

ANNEXE N°01 : PLAN DU SERVICE DE MEDECINE INTERNE





ANNEXE N°03 : PLAN DE L'UNITE DE NEONATALOGIE



**ANNEXE 04 : Temps de survie des microorganismes sur les surfaces en cuivre** (adapté de l'étude Grass et al., 2011).

<b>Espèces</b>	<b>Méthode d'application</b>	<b>Temps de survie</b>	<b>Référence</b>
<i>Salmonella enterica</i>	Humide, $4.5 \times 10^6$ UFC	4h	Faundez et al.,2004
<i>Campylobacter jejuni</i>	Humide, $4.5 \times 10^6$ UFC	8h	Faundez et al.,2004
<i>Escherichia coli O157</i>	Humide, $(3-4) \times 10^7$ UFC	65 min	Wilks et al., 2005
<i>Escherichia coli O157</i>	Humide, $2.7 \times 10^7$ UFC	45 min	Noyce et al., 2006
<i>SARM</i> (NCTC10442)	Humide, $(1-1.9) \times 10^7$ UFC	45 min	Noyce et al., 2006
<i>EMRSA-1</i> (NCTC11939)	Humide, $(1-1.9) \times 10^7$ UFC	65 min	Noyce et al., 2006
<i>EMRSA-16</i> (NCTC13143)	Humide, $(1-1.9) \times 10^5$ UFC	90 min	Noyce et al., 2006
<i>Listeria monocytogenes Scott A</i>	Humide, $10^7$ UFC	60 min	Wilks et al., 2006
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Humide, $2.5 \times 10^7$ UFC	5 à 15 jours	Mehtar et al., 2008
<i>Candida albicans</i>	Humide, $>10^5$ UFC	60 min	Mehtar et al., 2008
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Humide, $>10^7$ UFC	60 min	Mehtar et al., 2008
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Humide, $>10^7$ UFC	180 min	Mehtar et al., 2008
<i>Acinetobacter baumannii</i>	Humide, $>10^7$ UFC	180 min	Mehtar et al., 2008

<b>Espèces</b>	<b>Méthode d'application</b>	<b>Temps de survie</b>	<b>Référence</b>
<i>SARM</i>	Humide, $>10^7$ UFC	180 min	Mehtar et al., 2008
<i>Influenza A virus (H1N1)</i>	Humide, $5 \times 10^5$ virus	6h, diminution de 4 log	Noyce et al., 2007
<i>C. difficile</i> (ATCC 9689) forme végétative et spores	Humide, $2.2 \times 10^5$ UFC	24-48 h	Weaver et al., 2008
<i>C.difficile</i> NCTC11204/R20291 forme végétative	Humide, $(1-5) \times 10^6$ UFC	30 min	Wheeldon et al., 2008
<i>C. difficile</i> spores en dormance	Humide, $8 \times 10^6$ UFC	Non affecté après 3h	Wheeldon et al., 2008
<i>C. difficile</i> spores en germination	Humide, $8 \times 10^6$ UFC	3h, diminution de 3 log	Wheeldon et al., 2008
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	Humide, $2.2 \times 10^7$ UFC	120 min	Elguindi et al., 2009
<i>SARM</i> NCTC 10442	Humide, $2 \times 10^7$ UFC	75 min, diminution de 7 log	Michels et al., 2009
<i>Escherichia coli</i> W3110	sèche, $10^9$ UFC	1 min	Espitito Santo et al., 2010
<i>Acinetobacter johnsonii</i> DSM6963	sèche, $10^9$ UFC	Quelques minutes	Espitito Santo et al., 2010
<i>Pantoea stewartii</i> DSM30176	sèche, $10^9$ UFC	1 min	Espitito Santo et al., 2010
<i>Pseudomonas oleovorans</i> DSM 1045	sèche, $10^9$ UFC	1 min	Espitito Santo et al., 2010

<b>Espèces</b>	<b>Méthode d'application</b>	<b>Temps de survie</b>	<b>Référence</b>
<i>Staphylococcus warnerii</i> DSM20316	sèche, 10 <sup>9</sup> UFC	Quelques min	Espitito Santo et al., 2010
<i>Brachybacterium conglomeratum</i> DSM 10241	sèche, 10 <sup>9</sup> UFC	Quelques min	Espitito Santo et al., 2010
<i>Aspergillus flavus</i>	Humide, (2-300) x 10 <sup>5</sup> spores	120 h	Weaver et al., 2010
<i>Aspergillus fumigatus</i>	Humide, (2-300) x 10 <sup>5</sup> spores	>120h	Weaver et al., 2010
<i>Aspergillus niger</i>	Humide, (2-300) x 10 <sup>5</sup> spores	>576h	Weaver et al., 2010
<i>Fusarium culmonium</i>	Humide, (2-300) x 10 <sup>5</sup> spores	24h	Weaver et al., 2010
<i>Fusarium oxysporum</i>	Humide, (2-300) x 10 <sup>5</sup> spores	24h	Weaver et al., 2010
<i>Fusarium solani</i>	Humide, (2-300) x 10 <sup>5</sup> spores	24h	Weaver et al., 2010
<i>Penicillium crysogenum</i>	Humide, (2-300) x 10 <sup>5</sup> spores	24h	Weaver et al., 2010
<i>Candida albicans</i>	Humide, (2-300) x 10 <sup>5</sup> spores	24h	Weaver et al., 2010
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 9790	Humide, 10 <sup>7</sup> UFC	90 min	Molteni et al., 2010
<i>Different Enterococcus spp.</i>	Humide, 10 <sup>6</sup> UFC	60 min	Warnes et al., 2010
<i>Candida albicans</i>	Sèche , 10 <sup>6</sup> UFC	5 min	Quaranta et al., 2011
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Sèche , 10 <sup>6</sup> UFC	30 s	Quaranta et al., 2011

**ANNEXE 05 : Caractéristiques et résultats des études in situ de l'efficacité antimicrobienne des surfaces en cuivre.** (Adapté de l'étude Aillon-Garcia et al, 2023).

<b>Etude</b>	<b>Schmidt et al, 2020 (USA)</b>	
<b>Modèle d'étude</b>	Etude croisée	
<b>Type de l'établissement</b>	Hôpital de soins aigus	
<b>Nom de l'établissement</b>	Hightpoint health hospital (HPH).	
<b>Description de l'établissement</b>	62 lits de soins aigus agréés	9 chambres individuelles (unité de soins intensifs)
<b>Zone(s) d'étude</b>	Unité de soins intensifs médicaux	
<b>Durée</b>	23 mois	
<b>Fréquence des prélèvements</b>	Quotidiens	
<b>Technique de prélèvement</b>	Ecouvillon	
<b>Conditions d'incubation</b>	48 h à 37°C	
<b>Objets étudiés</b>	Panneaux de commande des lits	Surface des lits
<b>Nombre total d'échantillons</b>	565	
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Charge microbienne moyenne = 1541	
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Charge microbienne moyenne = 96	
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%) (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	94% de réduction de la moyenne cumulée	
<b>Résultats des tests statistiques.</b>	Comparaison des éléments contrôle aux éléments cuivre : tous significatifs à P < 0,0001	

<b>Etude</b>	<b>Palza et al, 2018 (Chilie)</b>	
<b>Modèle d'étude</b>	Etude parallèle	
<b>Type de l'établissement</b>	Cas très compliqués	
<b>Nom de l'établissement</b>	Hôpital La Florida	
<b>Description de l'établissement</b>	/	
<b>Zone(s)</b>	Salles d'attente	Blocs opératoires
<b>Durée</b>	10 semaines	
<b>Fréquence des prélèvements</b>	1 fois /semaine	
<b>Technique de prélèvement</b>	Ecouvillon	
<b>Conditions d'incubation</b>	48h à 37°C	
<b>Objets étudiés</b>	Chaises salle d'attente	Potences de perfusion
<b>Nombre total d'échantillons</b>	Non précisé	
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Chaises : charge microbienne moyenne = 2490	Potences de perfusion : Charge microbienne moyenne = 130
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Chaises : charge microbienne moyenne = 680	/
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%) (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Chaises : 73 % de réduction de la charge microbienne moyenne	Potence de perfusion : 53 % de réduction de la charge microbienne moyenne de la semaine 5-7
<b>Résultats des tests statistiques</b>	Différence significative pour les chaises	

<b>Etude</b>	<b>Karpanen et al, 2012 (Royaume uni)</b>
<b>Modèle d'étude</b>	Etude croisée
<b>Type de l'établissement</b>	Hôpital universitaire
<b>Nom de l'établissement</b>	/
<b>Description de l'établissement</b>	19 lits de soins intensifs
<b>Zone(s)</b>	Service de soins intensifs médicaux
<b>Durée</b>	10 mois
<b>Fréquence des prélèvements</b>	1 fois par semaine
<b>Technique de prélèvement</b>	Ecouvillon
<b>Conditions d'incubation</b>	48 h à 37°C
<b>Objets étudiés</b>	14 objets dont : Plaques de poussée, poignées de porte, rails de maintien, sièges de toilette, levier de chasse d'eau, accoudoirs, robinets, interrupteurs, siphons, chariots, tables de lit.
<b>Nombre total d'échantillons</b>	672 < N < 1344
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Médiane : entre 0-10800 UFC/100cm <sup>2</sup> selon l'objet
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Médiane : entre 0-1400 UFC/100cm <sup>2</sup> selon l'objet
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%) (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Différence des médianes : entre 40 - 8030 UFC/100cm <sup>2</sup> selon l'objet/ réduction : entre 33.3 - 100% selon l'objet
<b>Résultats des tests statistiques</b>	Significatif pour 8 objets

<b>Etude</b>	<b>Choi et al., 2021 (Corée du sud)</b>	
<b>Modèle d'étude</b>	Etude parallèle	
<b>Type de l'établissement</b>	/	
<b>Nom de l'établissement</b>	Asan medical center	
<b>Description de l'établissement</b>	18 lits de soins intensifs.	
<b>Zone(s)</b>	Unité de soins intensifs médicaux	
<b>Durée</b>	3 mois	
<b>Fréquence des prélèvements</b>	1 fois /semaine	
<b>Technique de prélèvement</b>	Ecouvillon	
<b>Conditions d'incubation</b>	/	
<b>Objets étudiés</b>	Potences de perfusion, barres de lit, portes, tiroirs, chariots des médicaments	
<b>Nombre total d'échantillons</b>	160	
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	SARM (UFC/100cm <sup>2</sup> ) (9:30/11:30) : -Potences (18.8/10.4) -Barres de lit (50/47.2) -Portes (8.8/29.6) -Tiroirs (22.4/8) -chariots (48.4/44)	ERV .3(UFC/100cm <sup>2</sup> ) (9:30/11:30) : -Potences (17.2/16.8) -Barres de lit (32.8/35.2) -Portes (14.4/6.8) -Tiroirs (3.2/24.8) -chariots (14.4/18.8)
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	SARM (UFC/100cm <sup>2</sup> ) (9:30/11:30): -Potences (1.2/1.2) -Barres de lit (14.8/53.2) -Portes (2.8/1.6) -Tiroirs (4.8/1.2) -chariots (19.2/22.8)	ERV (UFC/100cm <sup>2</sup> ) (9:30/11:30) : -Potences (2.8/1.6) -Barres de lit (8.4/19.6) -Portes (9.6/2) -Tiroirs (4.4/26) -chariots (10/8.4)
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%) (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	SARM % (9:30/11:30) : -Potences (93,6 /88,5) -Barres de lit (70,4/12,7 aug) -Portes (68,2/94,6) -Tiroirs (78,6 / 85) -chariots (60,3/48,2)	ERV % (9:30/11:30) : -Potences (83,7/90,5) -Barres de lit (74,4/44,3) -Portes (33,3 / 70,6) -Tiroirs (37,5 aug/4,8 aug) -chariots (10/8,4)
<b>Résultats des tests statistiques.</b>	SARM : A 9:30 : différence significative pour : potences, barres de lit, ports et tiroirs A 11 :30 : différence significative pour les portes	ERV : A 9:30 : différence significative pour les potences A 11 :30 : différence significative pour : portes, potences et chariots.

<b>Etude</b>	<b>Colin et al., 2018 ( France)</b>				
<b>Modèle d'étude</b>	Etude parallèle multicentrique				
<b>Type de l'établissement</b>	Etablissement d'hébergement de personnes âgées dépendantes				
<b>Nom de l'établissement</b>	A	B	C	D	E
<b>Description de l'établissement</b>	53/99	54/117	12/25	30/57	158/347
<b>Zone(s)</b>	5 EHPAD ont été équipés de poignée et de rampes en alliage de cuivre				
<b>Durée</b>	18 mois				
<b>Fréquence des prélèvements</b>	1 fois / semaine				
<b>Technique de prélèvement</b>	Ecouvillon				
<b>Conditions d'incubation</b>	24/48 et 72h à 37°C				
<b>Objets étudiés</b>	Poignées de porte et rampes de maintien				
<b>Nombre total d'échantillons</b>	1300				
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Poignées de porte : charge moyenne = 63700 UFC/100cm <sup>2</sup> Rampes : charge moyenne = 74500 UFC/100cm <sup>2</sup>				
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Poignées de porte : charge moyenne = 45200 UFC/100cm <sup>2</sup> Rampes : charge moyenne = 57300 UFC/100cm <sup>2</sup>				
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%)(UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Poignées de porte : 29% Rampes : 23%				
<b>Résultats des tests statistiques</b>	Différence significative pour les poignées et les rampes dans les 5 établissements				

<b>Etude</b>	Inkinen et al., 2017 (Finlande)
<b>Modèle d'étude</b>	Etude parallèle multicentrique
<b>Type de l'établissement</b>	/
<b>Nom de l'établissement</b>	Hôpital de la région de Satakunta
<b>Description de l'établissement</b>	/
<b>Zone(s)</b>	Toilettes des chambres des malades
<b>Durée</b>	Non précisée
<b>Fréquence des prélèvements</b>	1 fois / semaine
<b>Technique de prélèvement</b>	Ecouvillon
<b>Conditions d'incubation</b>	5 jours à 22°C
<b>Objets étudiés</b>	Boutons de chasse d'eau, barres de support pour toilettes
<b>Nombre total d'échantillons</b>	42
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Bouton de chasse : charge moyenne = 7300 Barres de support : charge moyenne = 200
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Bouton de chasse : charge moyenne = 500 Barres de support : charge moyenne = 10
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%) (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Bouton de chasse : réduction = 93.2% Barres de support : réduction = 95%
<b>Résultats des tests statistiques</b>	/

<b>Etude</b>	<b>Krause, M; Dolák, F. (République Tchèque)</b>
<b>Modèle d'étude</b>	Etude parallèle
<b>Type de l'établissement</b>	Régional
<b>Nom de l'établissement</b>	/
<b>Description de l'établissement</b>	/
<b>Zone(s)</b>	Service de chirurgie
<b>Durée</b>	12 semaines
<b>Fréquence des prélèvements</b>	1 fois/semaine
<b>Technique de prélèvement</b>	Ecouvillon
<b>Conditions d'incubation</b>	7 jours à 36°C
<b>Objets étudiés</b>	Boîtes de conservation du matériel médical, plateaux et bassin de vomissement.
<b>Nombre total d'échantillons</b>	1780
<b>Taux des surfaces contrôles contaminées</b>	Boîtes: 50% Plateaux : 37.5% Bassins de vomissement : 33.3%
<b>Taux des surfaces en cuivre contaminées</b>	Boîtes:50% Plateaux : 38.9% Bassins de vomissement : 28.8%
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%)</b>	Bassins de vomissement : 28.8 % de réduction
<b>Résultats des tests statistiques</b>	Non significatif

<b>Etude</b>	<b>Casey et al., 2010 (Royaume uni)</b>
<b>Modèle d'étude</b>	Etude croisée
<b>Type de l'établissement</b>	/
<b>Nom de l'établissement</b>	/
<b>Description de l'établissement</b>	/
<b>Zone(s)</b>	Service des soins médicaux aigus
<b>Durée</b>	2-5 mois
<b>Fréquence des prélèvements</b>	1 fois/semaine
<b>Technique de prélèvement</b>	Ecouvillon
<b>Conditions d'incubation</b>	24/48h à 37°C
<b>Objets étudiés</b>	Sièges des toilettes, robinets et plaques de poussée
<b>Nombre total d'échantillons</b>	100
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Médiane (7:00/17:00) : -Partie supérieur des sièges des toilettes (8.8/4.8) -Partie intérieur des sièges des toilettes (0/0) -Plaques de poussée (0/0) -Robinet d'eau froide (0/0) -Robinet d'eau chaude (0/0)
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Médiane (7:00/17:00) : -Partie supérieur des sièges des toilettes (305.4/258) -Partie intérieur des sièges des toilettes (43.2/6) -Plaques de poussée (7.2/2.4) -Robinet d'eau froide (26.4/12) -Robinet d'eau chaude (30/18)
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%)(UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Réduction% (7:00/17:00) : -Partie supérieur des sièges des toilettes (97.2/98.1) -Partie intérieur des sièges des toilettes (100/100) -Plaques de poussée (100/100) -Robinet d'eau froide (100/100) -Robinet d'eau chaude (100/100)
<b>Résultats des tests statistiques</b>	Significatifs pour les 3 objets

<b>Etude</b>	<b>Micolay et al., 2010 (Allemagne)</b>
<b>Modèle d'étude</b>	Etude parallèle
<b>Type de l'établissement</b>	/
<b>Nom de l'établissement</b>	Asklepios Hospital Wandsbek
<b>Description de l'établissement</b>	/
<b>Zone(s)</b>	Services d'oncologie, de pneumologie et de gériatrie
<b>Durée</b>	8 mois
<b>Fréquence des prélèvements</b>	1-2 fois/semaine
<b>Technique de prélèvement</b>	Pétrifilm
<b>Conditions d'incubation</b>	36h à 30°C
<b>Objets étudiés</b>	Plaques de poussée, poignées de porte et interrupteurs
<b>Nombre total d'échantillons</b>	540
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Charge moyenne : Poignées de porte : 269.99 Plaques de poussée : 36.87 Interrupteurs : 45.63
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Charge moyenne : Poignées de porte : 195.21 Plaques de poussée : 36.41 Interrupteurs : 43.05
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%) (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Réduction% : Poignées de porte : 27.7% Plaques de poussée : 1.2% Interrupteurs : 5.7%
<b>Résultats des tests statistiques</b>	Non significatifs

<b>Etude</b>	<b>Marais et al., 2010 ( Afrique du sud)</b>
<b>Modèle d'étude</b>	Etude parallèle
<b>Type de l'établissement</b>	Clinique de soins primaires
<b>Nom de l'établissement</b>	/
<b>Description de l'établissement</b>	Clinique sans rendez-vous dans une zone rurale
<b>Zone(s)</b>	Salles de consultation
<b>Durée</b>	6mois
<b>Fréquence des prélèvements</b>	Chaque 6 semaines (3 prélèvements /jour)
<b>Technique de prélèvement</b>	Ecouvillon
<b>Conditions d'incubation</b>	16h à température ambiante
<b>Objets étudiés</b>	Bureaux, chariots, dessus des placards et rebords des fenêtres
<b>Nombre total d'échantillons</b>	88
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Charge moyenne = 5.9
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Charge moyenne =0.2
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%) (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	71% de réduction de la charge moyenne
<b>Résultats des tests statistiques</b>	Significatifs

<b>Etude</b>	<b>Rai et al., 2012 (USA)</b>		
<b>Modèle d'étude</b>	Etude parallèle		
<b>Type de l'établissement</b>	/		
<b>Nom de l'établissement</b>	/		
<b>Description de l'établissement</b>	Consultation ambulatoire de maladies infectieuses		
<b>Zone(s)</b>	Service de maladies infectieuses		
<b>Durée</b>	4 mois		
<b>Fréquence des prélèvements</b>	2 fois/ semaine		
<b>Technique de prélèvement</b>	Lingettes		
<b>Conditions d'incubation</b>	/		
<b>Objets étudiés</b>	Fauteuils de prélèvement		
<b>Nombre total d'échantillons</b>	150		
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Médiane haut de l'accoudoir : 1305	Médiane côté de l'accoudoir : 1095	Médiane plateau : 1290
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Médiane haut de l'accoudoir : 135	Médiane côté de l'accoudoir : 330	Médiane plateau : 150
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%)(UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	90% de réduction	70% de réduction	88% de réduction
<b>Résultats des tests statistiques</b>	significatifs		

<b>Etude</b>	<b>Schmidt et al., 2013 (USA)</b>
<b>Modèle d'étude</b>	Etude parallèle
<b>Type de l'établissement</b>	Hôpital universitaire
<b>Nom de l'établissement</b>	/
<b>Description de l'établissement</b>	660 lits dont 17 lits de soins intensifs
<b>Zone(s)</b>	Unité des soins intensifs
<b>Durée</b>	3 mois
<b>Fréquence des prélèvements</b>	5 séries de prélèvement/ 5 prélèvements par série
<b>Technique de prélèvement</b>	Lingette
<b>Conditions d'incubation</b>	/
<b>Objets étudiés</b>	Barres de lit
<b>Nombre total d'échantillons</b>	150
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Moyenne ( $\pm$ écart type) : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Avant nettoyage : 6102 <math>\pm</math> 2572</li> <li>- Heure 0.5 : 1112 <math>\pm</math> 802</li> <li>- Heure 2.5 : 1560 <math>\pm</math> 936</li> <li>- Heure 4.5 : 2396 <math>\pm</math> 1502</li> <li>- Heure 6.5 : 5198 <math>\pm</math> 2386</li> </ul>
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Moyenne ( $\pm$ écart type) : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Avant nettoyage : 698 <math>\pm</math> 368</li> <li>- Heure 0.5 : 362 <math>\pm</math> 282</li> <li>- Heure 2.5 : 530 <math>\pm</math> 530</li> <li>- Heure 4.5 : 224 <math>\pm</math> 94</li> <li>- Heure 6.5 : 434 <math>\pm</math> 236</li> </ul>
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%) (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Réduction : <ul style="list-style-type: none"> <li>- Avant nettoyage : 88.6%</li> <li>- Heure 0.5 : 67.4%</li> <li>- Heure 2.5 : 66%</li> <li>- Heure 4.5 : 90.7%</li> <li>- Heure 6.5 : 91.7%</li> </ul>
<b>Résultats des tests statistiques</b>	Significatifs

<b>Etude</b>	<b>Schmidt et al., 2016 (USA, Chili )</b>
<b>Modèle d'étude</b>	Etude parallèle
<b>Type de l'établissement</b>	Soins tertiaires
<b>Nom de l'établissement</b>	Hospital de Ninos Roberto del Rio
<b>Description de l'établissement</b>	249 lits pédiatriques
<b>Zone(s)</b>	Unité pédiatrique des soins intensifs, unité pédiatrique des soins intermédiaires
<b>Durée</b>	12 mois
<b>Fréquence des prélèvements</b>	2 fois/ mois
<b>Technique de prélèvement</b>	Lingette
<b>Conditions d'incubation</b>	/
<b>Objets étudiés</b>	Barres de lit, berceaux, robinets, pieds de perfusion et plans de travail
<b>Nombre total d'échantillons</b>	1320
<b>Charge microbienne sur les surfaces contrôles (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Moyenne = 1391 Médiane = 574
<b>Charge microbienne sur les surfaces en cuivre (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Moyenne = 172 Médiane = 0
<b>Différence témoin-cuivre (-) / réduction (%) (UFC/100cm<sup>2</sup>)</b>	Réduction : 88%
<b>Résultats des tests statistiques</b>	Significatifs

# ***Références Bibliographiques***

## *Références bibliographiques*

1. Raisin. Enquête nationale de prévalence 2012 des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé. Mai-juin 2012. Protocole-guide de l'enquêteur [Internet]. 2013 [cité 27 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/infections-associees-aux-soins/enquete-nationale-de-prevalence-2012-des-infections-nosocomiales-et-des-traitements-anti-infectieux-en-etablissements-de-sante.-mai-...>
2. Weber DJ, Rutala WA. Self-disinfecting surfaces: review of current methodologies and future prospects. *Am J Infect Control*. mai 2013;41(5 Suppl):S31-35.
3. Ruelle A, Sion M, Khorsi-Cauet H, Damian C, Totet A, Segard C. Étude de l'effet antimicrobien du lait AB+®: pour une maîtrise des biocontaminations des équipements hospitaliers. *Hygiènes Lyon*. 2014;22(2):117-22.
4. HCSP. Avis relatif aux propriétés biocides du cuivre participant à la baisse des infections nosocomiales et à son intérêt médico-économique. 2015 mars.
5. Grass G, Rensing C, Solioz M. Metallic copper as an antimicrobial surface. *Appl Environ Microbiol*. mars 2011;77(5):1541-7.
6. Rumbu R. *Metallurgie extractive des non-ferreux - Pratiques industrielles*. 3rd Edition. Cape Town, Afrique du Sud: New Voices Publishing; 2013. 283 p.
7. Vignes, Khodan, Ailloud, Grass. Une vie de cuivre Expériences de chimie sur l'élaboration et les propriétés d'un matériau. 1997;91.
8. Dollwet HHA, Sorenson JRJ. Historic uses of copper compounds in medicine. *Trace Elem Med*. 1985;2(1985).
9. Vignes JL. CUIVRE, Propriétés du cuivre - *Encyclopædia Universalis*. In [cité 27 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.universalis.fr/encyclopedie/cuivre/2-proprietes-du-cuivre/>
10. L'élément chimique de cuivre 29 tableau périodique. *Chemica essentiels Photo Stock - Alamy* [Internet]. [cité 27 avr 2023]. Disponible sur: <https://www.alamyimages.fr/1-element-chimique-de-cuivre-29-tableau-periodique-arriere-plan-de-la-communication-et-de-la->

molecule-cu-chimique-de-laboratoire-et-de-la-science-historique-chemica-essentiels-image258731542.html

11. Enghag P. Encyclopedia of the Elements . Allemagne: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2004. 1243 p.
12. Chambers C, Holliday AK. Modern inorganic chemistry. Grande Bretagne Sussex: Butterworths; 1975. 447 p.
13. Bernard M. Cours de chimie minérale. 2ème édition. Dunod; 2009. 416 p.
14. O’Gorman J, Humphreys H. Application of copper to prevent and control infection. Where are we now? J Hosp Infect. août 2012;81(4):217-23.
15. Borkow G, Gabbay J. Copper, an ancient remedy returning to fight microbial, fungal and viral infections. Curr Chem Biol. 2009;3(3):272-8.
16. Zeerleder A, Solioz M, Abicht HK, Mourlane F. Le cuivre—sur la trace d’un oligoélément. In: Forum Médical Suisse. EMH Media; 2010. p. 379-83.
17. Linder MC. Copper Homeostasis in Mammals, with Emphasis on Secretion and Excretion. A Review. Int J Mol Sci. janv 2020;21(14):4932.
18. Uriu-Adams JY, Keen CL. Copper, oxidative stress, and human health. Mol Aspects Med. oct 2005;26(4-5):268-98.
19. Hodgkinson V, Petris MJ. Copper homeostasis at the host-pathogen interface. J Biol Chem. 2012;287(17):13549-55.
20. Trocello JM, Chappuis P, El Balkhi S, Poupon J, Leyendecker A, Chainé P, et al. Anomalies du métabolisme du cuivre chez l’adulte. Rev Médecine Interne. 2010;31(11):750-6.
21. Lönnerdal B. Bioavailability of copper. Am J Clin Nutr. 1996;63(5):821S-829S.

## *Références bibliographiques*

22. Hostynek JJ, Maibach HI. Copper hypersensitivity: dermatologic aspects. *Rev Environ Health*. 2003;18(3):153-84.
23. Fage SW, Faurschou A, Thyssen JP. Copper hypersensitivity. *Contact Dermatitis*. 2014;71(4):191-201.
24. Weaver L, Michels HT, Keevil CW. Potential for preventing spread of fungi in air-conditioning systems constructed using copper instead of aluminium. *Lett Appl Microbiol*. 2010;50(1):18-23.
25. Mehtar S, Wiid I, Todorov SD. The antimicrobial activity of copper and copper alloys against nosocomial pathogens and *Mycobacterium tuberculosis* isolated from healthcare facilities in the Western Cape: an in-vitro study. *J Hosp Infect*. 2008;68(1):45-51.
26. Quaranta D, Krans T, Santo CE, Elowsky CG, Domaille DW, Chang CJ, et al. Mechanisms of contact-mediated killing of yeast cells on dry metallic copper surfaces. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(2):416-26.
27. Zheng S, Chang W, Li C, Lou H. Als1 and Als3 regulate the intracellular uptake of copper ions when *Candida albicans* biofilms are exposed to metallic copper surfaces. *FEMS Yeast Res*. 1 mai 2016;16(3):fow029.
28. Amazian K, Rossello J, Castella A, Sekkat S, Terzaki S, Dhidah L, et al. Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. *East Mediterr Health J*. 2010;16(10).
29. Benzaid C, Tichati L, Rouabhia M, Dahdouh SA. Prévalence des infections nosocomiales d'origine microbienne au service de réanimation du Centre hospitalo-universitaire de Annaba (Algérie). In: *Annales de Biologie Clinique*. 2022. p. 527-36.
30. Mueller M, Tainter CR. *Escherichia Coli*. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cité 29 avr 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK564298/>

## *Références bibliographiques*

31. Wilks SA, Michels H, Keevil CW. The survival of *Escherichia coli* O157 on a range of metal surfaces. *Int J Food Microbiol.* 15 déc 2005;105(3):445-54.
32. Noyce JO, Michels H, Keevil CW. Use of copper cast alloys to control *Escherichia coli* O157 cross-contamination during food processing. *Appl Environ Microbiol.* juin 2006;72(6):4239-44.
33. Espírito Santo C, Taudte N, Nies DH, Grass G. Contribution of copper ion resistance to survival of *Escherichia coli* on metallic copper surfaces. *Appl Environ Microbiol.* févr 2008;74(4):977-86.
34. Warnes SL, Caves V, Keevil CW. Mechanism of copper surface toxicity in *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* involves immediate membrane depolarization followed by slower rate of DNA destruction which differs from that observed for Gram-positive bacteria. *Environ Microbiol.* juill 2012;14(7):1730-43.
35. Noyce JO, Michels H, Keevil CW. Potential use of copper surfaces to reduce survival of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the healthcare environment. *J Hosp Infect.* juill 2006;63(3):289-97.
36. Amhis W. Algérie : Programme de Prévention et de Contrôle des Infections à Bactéries Multi-Résistantes en milieu de soins | AMR Control [Internet]. [resistancecontrol.info](http://resistancecontrol.info). 2018 [cité 29 avr 2023]. Disponible sur: <http://resistancecontrol.info/2018-frontpage-francais/4f/algerie-programme-de-prevention-et-de-controle-des-infections-a-bacteries-multi-resistantes-en-milieu-de-soins/>
37. Boyce JM. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection. *J Hosp Infect.* juin 2007;65 Suppl 2:50-4.
38. Michels HT, Noyce JO, Keevil CW. Effects of temperature and humidity on the efficacy of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* challenged antimicrobial materials containing silver and copper. *Lett Appl Microbiol.* août 2009;49(2):191-5.

## *Références bibliographiques*

39. Eser OK, Ergin A, Hascelik G. Antimicrobial Activity of Copper Alloys Against Invasive Multidrug-Resistant Nosocomial Pathogens. *Curr Microbiol.* août 2015;71(2):291-5.
40. Warnes SL, Keevil CW. Lack of Involvement of Fenton Chemistry in Death of Methicillin-Resistant and Methicillin-Sensitive Strains of *Staphylococcus aureus* and Destruction of Their Genomes on Wet or Dry Copper Alloy Surfaces. *Appl Environ Microbiol.* 29 janv 2016;82(7):2132-6.
41. Nicolay N, Thiolet JM, Talon D, Poujol I, Bernet C, Carbonne A, et al. Signalement des infections nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa*, France, Août 2001-Juin 2006. *Bull Epidémiol Hebd.* 2008;30-1.
42. Elguindi J, Wagner J, Rensing C. Genes involved in copper resistance influence survival of *Pseudomonas aeruginosa* on copper surfaces. *J Appl Microbiol.* mai 2009;106(5):1448-55.
43. Podschun R, Pietsch S, Höller C, Ullmann U. Incidence of *Klebsiella* species in surface waters and their expression of virulence factors. *Appl Environ Microbiol.* juill 2001;67(7):3325-7.
44. Paczosa MK, Meccas J. *Klebsiella pneumoniae*: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR.* sept 2016;80(3):629-61.
45. Stucki K, Harbarth S, Nendaz M. [Enterococcal infections: from simple to most complex]. *Rev Med Suisse.* 15 oct 2014;10(446):1918, 1920-3.
46. Warnes SL, Keevil CW. Mechanism of copper surface toxicity in vancomycin-resistant enterococci following wet or dry surface contact. *Appl Environ Microbiol.* 2011;77(17):6049-59.
47. Ayenew Z, Tigabu E, Syoum E, Ebrahim S, Assefa D, Tsige E. Multidrug resistance pattern of *Acinetobacter* species isolated from clinical specimens referred to the Ethiopian Public Health Institute: 2014 to 2018 trend analysis. *PloS One.* 2021;16(4):e0250896.

## *Références bibliographiques*

48. Tani ZBAK, Arlet G. Actualité de la résistance aux antibiotiques chez les bacilles à Gram négatif en Algérie. *Pathol Biol.* 2014;62(3):169-78.
49. Róžańska A, Chmielarczyk A, Romaniszyn D, Majka G, Bulanda M. Antimicrobial effect of copper alloys on *Acinetobacter* species isolated from infections and hospital environment. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2018;7:10.
50. Santo CE, Morais PV, Grass G. Isolation and characterization of bacteria resistant to metallic copper surfaces. *Appl Environ Microbiol.* mars 2010;76(5):1341-8.
51. Heinlen L, Ballard JD. *Clostridium difficile* infection. *Am J Med Sci.* sept 2010;340(3):247-52.
52. Gié O, Clerc D, Giulieri S, Demartines N. Prise en charge de la colite à *Clostridium difficile*. *Rev Med Suisse.* 11 juin 2014;434:1309-13.
53. Weber DJ, Rutala WA, Miller MB, Huslage K, Sickbert-Bennett E. Role of hospital surfaces in the transmission of emerging health care-associated pathogens: norovirus, *Clostridium difficile*, and *Acinetobacter* species. *Am J Infect Control.* juin 2010;38(5 Suppl 1):S25-33.
54. Weaver L, Michels HT, Keevil CW. Survival of *Clostridium difficile* on copper and steel: futuristic options for hospital hygiene. *J Hosp Infect.* févr 2008;68(2):145-51.
55. Wheeldon LJ, Worthington T, Lambert PA, Hilton AC, Lowden CJ, Elliott TSJ. Antimicrobial efficacy of copper surfaces against spores and vegetative cells of *Clostridium difficile*: the germination theory. *J Antimicrob Chemother.* sept 2008;62(3):522-5.
56. Uyeki TM, Hui DS, Zambon M, Wentworth DE, Monto AS. Influenza. *Lancet Lond Engl.* 27 août 2022;400(10353):693-706.
57. Noyce JO, Michels H, Keevil CW. Inactivation of influenza A virus on copper versus stainless steel surfaces. *Appl Environ Microbiol.* avr 2007;73(8):2748-50.

## *Références bibliographiques*

58. Mertens BS, Moore MD, Jaykus LA, Velez OD. Efficacy and Mechanisms of Copper Ion-Catalyzed Inactivation of Human Norovirus. *ACS Infect Dis.* 2022;8(4):855-64.
59. Warnes SL, Keevil CW. Inactivation of norovirus on dry copper alloy surfaces. *PLoS One.* 2013;8(9):e75017.
60. Warnes SL, Summersgill EN, Keevil CW. Inactivation of murine norovirus on a range of copper alloy surfaces is accompanied by loss of capsid integrity. *Appl Environ Microbiol.* févr 2015;81(3):1085-91.
61. Manuel CS, Moore MD, Jaykus LA. Destruction of the Capsid and Genome of GII.4 Human Norovirus Occurs during Exposure to Metal Alloys Containing Copper. *Appl Environ Microbiol.* août 2015;81(15):4940-6.
62. Recker JD, Li X. Evaluation of Copper Alloy Surfaces for Inactivation of Tulane Virus and Human Noroviruses. *J Food Prot.* 1 oct 2020;83(10):1782-8.
63. Santo CE, Lam EW, Elowsky CG, Quaranta D, Domaille DW, Chang CJ, et al. Bacterial Killing by Dry Metallic Copper Surfaces. *Appl Environ Microbiol.* févr 2011;77(3):794-802.
64. Santo CE, Quaranta D, Grass G. Antimicrobial metallic copper surfaces kill *Staphylococcus haemolyticus* via membrane damage. *MicrobiologyOpen.* mars 2012;1(1):46-52.
65. Hong R, Kang TY, Michels CA, Gadura N. Membrane Lipid Peroxidation in Copper Alloy-Mediated Contact Killing of *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol.* mars 2012;78(6):1776-84.
66. Weaver L, Noyce JO, Michels HT, Keevil CW. Potential action of copper surfaces on methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Appl Microbiol.* déc 2010;109(6):2200-5.

## *Références bibliographiques*

67. Macomber L, Imlay JA. The iron-sulfur clusters of dehydratases are primary intracellular targets of copper toxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 19 mai 2009;106(20):8344-9.
68. Zuily L, Lahrach N, Fassler R, Genest O, Faller P, Sénèque O, et al. Copper induces protein aggregation, a toxic process compensated by molecular chaperones. *MBio*. 2022;13(2):e03251-21.
69. Vincent M, Duval RE, Hartemann P, Engels-Deutsch M. Contact killing and antimicrobial properties of copper. *J Appl Microbiol*. mai 2018;124(5):1032-46.
70. Liu S, Zhang XX. Small colony variants are more susceptible to copper-mediated contact killing for *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *J Med Microbiol*. oct 2016;65(10):1143-51.
71. Ministère français de la santé, de la jeunesse et des sports. Définition des infections associées aux soins [Internet]. 2007 mai. Disponible sur: [https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport\\_vcourte.pdf](https://sante.gouv.fr/IMG/pdf/rapport_vcourte.pdf)
72. World Health Organization. Prévention des infections nosocomiales : guide pratique [Internet]. Organisation mondiale de la Santé; 2008 [cité 1 mai 2023]. Report No.: WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12. Disponible sur: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/69751>
73. Infections nosocomiales : prévalence nationale (Ould Abbas) | vitaminedz [Internet]. [cité 1 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.vitaminedz.com/fr/Algerie/infections-nosocomiales-entre-et-455239-Articles-0-18300-1.html>
74. Gaudichon A, Astagneau P. Infections nosocomiales et infections associées aux soins. *Encycl Méd Chir AKOS Traité Médecine Elsevier-Masson*. 29 sept 2021;Article 4-0970:1-8.
75. Dancer SJ. Controlling hospital-acquired infection: focus on the role of the environment and new technologies for decontamination. *Clin Microbiol Rev*. oct 2014;27(4):665-90.

## *Références bibliographiques*

76. Borer A, Gilad J, Yagupsky P, Peled N, Porat N, Trefler R, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in institutionalized adults with developmental disabilities. *Emerg Infect Dis.* sept 2002;8(9):966-70.
77. Han JH, Sullivan N, Leas BF, Pegues DA, Kaczmarek JL, Umscheid CA. Cleaning Hospital Room Surfaces to Prevent Health Care-Associated Infections: A Technical Brief. *Ann Intern Med.* 20 oct 2015;163(8):598-607.
78. Herwaldt LA, Boyken LD, Coffman S, Hochstetler L, Flanigan MJ. Sources of *Staphylococcus aureus* for patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Perit Dial Int J Int Soc Perit Dial.* 2003;23(3):237-41.
79. Eveillard M, Lescure FX, Eb F, Schmit JL. Portage, acquisition et transmission de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline en milieu communautaire. Conséquences en terme de politique de prévention et d'antibiothérapie. *Médecine Mal Infect.* 2002;32(12):717-24.
80. Calfee DP, Durbin LJ, Germanson TP, Toney DM, Smith EB, Farr BM. Spread of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) among household contacts of individuals with nosocomially acquired MRSA. *Infect Control Hosp Epidemiol.* juin 2003;24(6):422-6.
81. Ajao AO, Johnson JK, Harris AD, Zhan M, McGregor JC, Thom KA, et al. Risk of acquiring extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella* species and *Escherichia coli* from prior room occupants in the intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* mai 2013;34(5):453-8.
82. Nseir S, Blazejewski C, Lubret R, Wallet F, Courcol R, Durocher A. Risk of acquiring multidrug-resistant Gram-negative bacilli from prior room occupants in the intensive care unit. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* août 2011;17(8):1201-8.

## *Références bibliographiques*

83. Mitchell BG, Dancer SJ, Anderson M, Dehn E. Risk of organism acquisition from prior room occupants: a systematic review and meta-analysis. *J Hosp Infect.* nov 2015;91(3):211-7.
84. Cohen B, Liu J, Cohen AR, Larson E. Association Between Healthcare-Associated Infection and Exposure to Hospital Roommates and Previous Bed Occupants with the Same Organism. *Infect Control Hosp Epidemiol.* mai 2018;39(5):541-6.
85. Wu YL, Yang XY, Ding XX, Li RJ, Pan MS, Zhao X, et al. Exposure to infected/colonized roommates and prior room occupants increases the risks of healthcare-associated infections with the same organism. *J Hosp Infect.* févr 2019;101(2):231-9.
86. Parer S, Lotthé A, Chardon P, Poncet R, Jean-Pierre H, Jumas-Bilak E. An outbreak of heterogeneous glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus* related to a device source in an intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* févr 2012;33(2):167-74.
87. Archibald LK, Corl A, Shah B, Schulte M, Arduino MJ, Aguero S, et al. *Serratia Marcescens* Outbreak Associated With Extrinsic Contamination of 1% Chlorxylenol Soap. *Infect Control Hosp Epidemiol.* oct 1997;18(10):704-9.
88. Umezawa K, Asai S, Ohshima T, Iwashita H, Ohashi M, Sasaki M, et al. Outbreak of drug-resistant *Acinetobacter baumannii* ST219 caused by oral care using tap water from contaminated hand hygiene sinks as a reservoir. *Am J Infect Control.* 1 nov 2015;43(11):1249-51.
89. Clarivet B, Grau D, Jumas-Bilak E, Jean-Pierre H, Pantel A, Parer S, et al. Persisting transmission of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* due to an environmental reservoir in a university hospital, France, 2012 to 2014. *Eurosurveillance.* 2016;21(17):30213.
90. Asai S, Umezawa K, Iwashita H, Ohshima T, Ohashi M, Sasaki M, et al. An outbreak of blaOXA-51-like- and blaOXA-66-positive *Acinetobacter baumannii* ST208 in the emergency intensive care unit. *J Med Microbiol.* nov 2014;63(Pt 11):1517-23.

## *Références bibliographiques*

91. Cadot L, Bruguière H, Jumas-Bilak E, Didelot MN, Masnou A, de Barry G, et al. Extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* outbreak reveals incubators as pathogen reservoir in neonatal care center. *Eur J Pediatr.* avr 2019;178(4):505-13.
92. Kanamori H, Parobek CM, Juliano JJ, Duin D van, Cairns BA, Weber DJ, et al. A Prolonged Outbreak of KPC-3-Producing *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella pneumoniae* Driven by Multiple Mechanisms of Resistance Transmission at a Large Academic Burn Center. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 5 déc 2016 [cité 1 mai 2023]; Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.01516-16>
93. Sorbets E, Evrevin M, Jumas-Bilak E, Masnou A, Lotthé A, Thuret R, et al. An outbreak of *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract infections following outpatient flexible cystoscopy. *Am J Infect Control.* 2019;47(12):1510-2.
94. Vonberg RP, Weitzel-Kage D, Behnke M, Gastmeier P. Worldwide Outbreak Database: the largest collection of nosocomial outbreaks. *Infection.* 2011;39:29-34.
95. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infect Dis.* 2006;6(1):1-8.
96. Règlement no 94-03 du 25 Chaouel 1414 correspondant au 6 avril 2004 portant émission d'une pièce de monnaie métallique de vingt (20) dinars algériens. *J Off Répub Algér Démocr Pop.* 7 sept 1994;(56):18.
97. ISO 7218. Microbiologie des aliments — Exigences générales et recommandations [Internet]. 2007. Disponible sur: <https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/8ddbc785-e1b1-4fdc-a69b-a03f74448aa7/iso-7218-2007>
98. Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Guide de bonnes pratiques [Internet]. CCLIN Sud-Ouest; 2016. Disponible sur: [https://www.cpias-nouvelle-aquitaine.fr/wp-content/uploads/2015/08/Surv\\_microbio\\_environnement.pdf](https://www.cpias-nouvelle-aquitaine.fr/wp-content/uploads/2015/08/Surv_microbio_environnement.pdf)

## *Références bibliographiques*

99. Aillón-García P, Parga-Landa B, Guillén-Grima F. Effectiveness of copper as a preventive tool in health care facilities. A systematic review. *Am J Infect Control*. 25 févr 2023;S0196-6553(23)00081-0.
100. Montero DA, Arellano C, Pardo M, Vera R, Gálvez R, Cifuentes M, et al. Antimicrobial properties of a novel copper-based composite coating with potential for use in healthcare facilities. *Antimicrob Resist Infect Control*. 5 janv 2019;8:3.
101. Colin M, Klingelschmitt F, Charpentier E, Josse J, Kanagaratnam L, De Champs C, et al. Copper Alloy Touch Surfaces in Healthcare Facilities: An Effective Solution to Prevent Bacterial Spreading. *Mater Basel Switz*. 6 déc 2018;11(12):2479.
102. Steindl G, Heuberger S, Springer B. Antimicrobial effect of copper on multidrug-resistant bacteria. *Vet Med Austria*. 2012;99:38-43.
103. Souli M, Galani I, Plachouras D, Panagea T, Armaganidis A, Petrikkos G, et al. Antimicrobial activity of copper surfaces against carbapenemase-producing contemporary Gram-negative clinical isolates. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68(4):852-7.
104. Hinsla-Leasure SM, Nartey Q, Vaverka J, Schmidt MG. Copper alloy surfaces sustain terminal cleaning levels in a rural hospital. *Am J Infect Control*. 2016;44(11):e195-203.
105. Schmidt MG, Attaway HH, Fairey SE, Howard J, Mohr D, Craig S. Self-disinfecting copper beds sustain terminal cleaning and disinfection effects throughout patient care. *Appl Environ Microbiol*. 2019;86(1):e01886-19.
106. Ibrahim Z, Petrusan AJ, Hooke P, Hinsla-Leasure SM. Reduction of bacterial burden by copper alloys on high-touch athletic center surfaces. *Am J Infect Control*. 2018;46(2):197-201.
107. Casey AL, Adams D, Karpanen TJ, Lambert PA, Cookson BD, Nightingale P, et al. Role of copper in reducing hospital environment contamination. *J Hosp Infect*. 2010;74(1):72-7.

## *Références bibliographiques*

108. Rai S, Hirsch BE, Attaway HH, Nadan R, Fairey S, Hardy J, et al. Evaluation of the antimicrobial properties of copper surfaces in an outpatient infectious disease practice. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2012;33(2):200-1.
109. Schmidt MG, von Dessauer B, Benavente C, Benadof D, Cifuentes P, Elgueta A, et al. Copper surfaces are associated with significantly lower concentrations of bacteria on selected surfaces within a pediatric intensive care unit. *Am J Infect Control.* 2016;44(2):203-9.
110. Inkinen J, Mäkinen R, Keinänen-Toivola MM, Nordström K, Ahonen M. Copper as an antibacterial material in different facilities. *Lett Appl Microbiol.* 2017;64(1):19-26.
111. Schmidt MG, Attaway HH, Sharpe PA, John Jr J, Sepkowitz KA, Morgan A, et al. Sustained reduction of microbial burden on common hospital surfaces through introduction of copper. *J Clin Microbiol.* 2012;50(7):2217-23.
112. Marais F, Mehtar S, Chalkley L. Antimicrobial efficacy of copper touch surfaces in reducing environmental bioburden in a South African community healthcare facility. *J Hosp Infect.* 2010;74(1):80-2.
113. Choi SI, Chang MS, Kim T, Chung KH, Bae S, Kim SH, et al. Evaluation of copper alloys for reducing infection by methicillin resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin resistant *Enterococcus faecium* in intensive care unit and in vitro. *Korean J Intern Med.* sept 2021;36(5):1204-10.
114. Karpanen TJ, Casey AL, Lambert PA, Cookson BD, Nightingale P, Miruszenko L, et al. The antimicrobial efficacy of copper alloy furnishing in the clinical environment: a crossover study. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2012;33(1):3-9.
115. Souli M, Antoniadou A, Katsarolis I, Mavrou I, Paramythiotou E, Papadomichelakis E, et al. Reduction of environmental contamination with multidrug-resistant bacteria by copper-alloy coating of surfaces in a highly endemic setting. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2017;38(7):765-71.

## *Références bibliographiques*

116. Xu J, Moore JE, Millar BC. Ribosomal DNA (rDNA) identification of the culturable bacterial flora on monetary coinage from 17 currencies. *J Environ Health*. mars 2005;67(7):51-5.
117. Pachter B, Kozer L, Pachter S, Weiner M. Dirty money? A bacteriologic investigation of US currency. *Infect Med*. 1997;14(7):574-574.
118. Espírito Santo C, Morais PV, Grass G. Isolation and Characterization of Bacteria Resistant to Metallic Copper Surfaces. *Appl Environ Microbiol*. mars 2010;76(5):1341-8.
119. Airey P, Verran J. Potential use of copper as a hygienic surface; problems associated with cumulative soiling and cleaning. *J Hosp Infect*. nov 2007;67(3):271-7.
120. Tolba O, Loughrey A, Goldsmith CE, Millar BC, Rooney PJ, Moore JE. Survival of epidemic strains of nosocomial- and community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on coins. *Am J Infect Control*. juin 2007;35(5):342-6.
121. Salgado CD, Sepkowitz KA, John JF, Cantey JR, Attaway HH, Freeman KD, et al. Copper surfaces reduce the rate of healthcare-acquired infections in the intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2013;34(5):479-86.

## Évaluation des propriétés biocides du cuivre et son impact sur la baisse des infections associées aux soins.

### Résumé :

**Introduction :** Les infections associées aux soins représentent une cause majeure de morbidité et de mortalité dans les établissements de santé. Le cuivre, reconnu pour ses propriétés biocides intéressantes, suscite un intérêt croissant pour son usage comme surface auto-désinfectante visant à limiter la biocontamination dans ces établissements.

**Méthodes :** Dans ce travail, nous avons évalué l'efficacité antibactérienne et antifongique du cuivre *in vitro* et *in situ* ainsi que la résistance bactérienne à ce métal. Pour cela la survie *in vitro* de sept souches bactériennes multi-résistantes, isolées des prélèvements des malades hospitalisés, ainsi que celle de trois souches fongiques ont été testées sur des coupons de cuivre. Nous avons également installé des surfaces en cuivre dans trois services de l'établissement hospitalier Didouche Mourad. Les échantillons prélevés à partir de ces surfaces ainsi que des surfaces témoins ont été mis en culture pour dénombrer et identifier les flores bactériennes et fongiques présentes. Dans un troisième temps, des pièces de 20 dinars Algériens ont été prélevées pour rechercher des souches bactériennes résistantes au cuivre. La survie des souches isolées de ces pièces, était ensuite testée sur du cuivre pur.

**Résultats :** Les résultats ont montré que le cuivre présente une activité bactéricide puissante *in vitro* contre une majorité de microorganismes (ex ; *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Penicillium sp*). Ces résultats ont été confirmés au niveau des services par la diminution des charges bactériennes de 95.77% ainsi que les fréquences des contaminations bactériennes (- 63.75%) et fongiques (- 37.50%). On a également montré qu'aucune bactérie isolée des pièces de monnaies n'était résistante au cuivre pur ce qui assure une utilisation sûre de ce métal en milieu de soin.

**Conclusion:** L'installation des surfaces en cuivre dans les structures sanitaires constituent donc une solution fiable contribuant à contrôler la propagation des germes responsables des infections associées aux soins.

**Mots clés :** cuivre, antibactérien, antifongique, infections, soins, hôpital.

## **Evaluation of the biocidal properties of copper and its impact on the reduction of healthcare-associated infections.**

### **Abstract:**

**Introduction:** Healthcare-associated infections represent a major cause of morbidity and mortality in healthcare settings. Copper, recognized for its interesting biocidal properties, is attracting growing interest for its use as a self-disinfecting surface aimed at limiting biocontamination in these establishments.

**Methods:** In this work, we evaluated the antibacterial and antifungal effectiveness of copper in vitro and in situ as well as bacterial resistance to this metal. For this, the in vitro survival of seven multi-resistant bacterial strains, isolated from samples from hospitalized patients, as well as that of three fungal strains were tested on copper coupons. We also installed 105 copper surfaces in three departments of the Didouche Mourad hospital. Approximately 315 samples were taken from these surfaces as well as control surfaces and cultured to enumerate and identify the bacterial and fungal flora present. Thirdly, 200 Algerian 20 dinar coins were collected to look for bacterial strains resistant to copper. The survival of the strains isolated from these pieces was then tested on pure copper.

**Results:** The results showed that copper exhibits powerful bactericidal activity in vitro against a majority of microorganisms (e.g. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, *Penicillium* sp). These results were confirmed at the service level by the reduction in bacterial loads as well as the frequencies of bacterial and fungal contamination. It was also shown that no bacteria isolated from coins was resistant to pure copper, which ensures the safe use of this metal in healthcare settings.

**Conclusion:** The installation of copper surfaces in sanitary structures therefore constitutes a reliable solution contributing to control the spread of germs responsible for healthcare associated infections.

**Key words:** copper, healthcare, antibacterial, antifungal, infections, hospital.

تقييم خصائص النحاس كمبيد حيوي وتأثيرها على الحد من العدوى المرتبطة بالرعاية الصحية.

ملخص :

المقدمة: تمثل العدوى المرتبطة بالرعاية الصحية سبباً رئيسياً للمراضة والوفيات في أماكن الرعاية الصحية. يجذب النحاس، المعروف بخصائصه كمبيد حيوي مثير للاهتمام، اهتماماً متزايداً لاستخدامه كسطح مطهر ذاتياً يهدف إلى الحد من التلوث الحيوي في هذه المؤسسات.

الطرق: في هذا العمل، قمنا بتقييم فعالية النحاس المضادة للبكتيريا والفطريات في المختبر وفي الموقع وكذلك مقاومة البكتيريا لهذا المعدن. ولهذا الغرض، تم اختبار البقاء على قيد الحياة في المختبر لسبع سلالات بكتيرية متعددة المقاومة، معزولة من عينات من المرضى في المستشفى، بالإضافة إلى ثلاث سلالات فطرية على كورونات النحاس. كما قمنا أيضاً بتركيب 105 سطحاً نحاسياً في ثلاثة أقسام بمستشفى ديدوش مراد. تم أخذ ما يقارب 315 عينة من هذه السطوح بالإضافة إلى سطوح المراقبة وتم زراعتها لتعداد والتعرف على النباتات البكتيرية والفطرية الموجودة. ثالثاً، تم جمع 200 قطعة نقدية جزائرية من فئة 20 ديناراً للبحث عن سلالات بكتيرية مقاومة للنحاس. ثم تم اختبار بقاء السلالات المعزولة من هذه القطع على النحاس النقي. النتائج: أظهرت النتائج أن النحاس يُظهر نشاطاً قوياً مبيداً للجراثيم في المختبر ضد غالبية الكائنات الحية الدقيقة (مثل الإشريكية القولونية، والمكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين، والمبيضات البيضاء، والبنسيلليوم). وقد تأكدت هذه النتائج على مستوى الخدمة من خلال انخفاض الأحمال البكتيرية وكذلك تكرارات التلوث البكتيري والفطري. كما تبين أيضاً عدم وجود بكتيريا معزولة من العملات المعدنية مقاومة للنحاس النقي، مما يضمن الاستخدام الآمن لهذا المعدن في أماكن الرعاية الصحية.

الاستنتاج: إن تركيب الأسطح النحاسية في منشآت الرعاية الصحية يشكل حلاً موثقاً يساعد في السيطرة على انتشار الجراثيم المسؤولة عن العدوى المرتبطة بالرعاية الصحية.

الكلمات المفتاحية: النحاس، مضاد للجراثيم، مضاد للفطريات، الالتهابات، الرعاية الصحية، مؤسسات الرعاية الصحية.