

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

## Mémoire de fin d'études

Présenté par

**KARA MOSTEFA Zoubida**

Pour l'obtention du diplôme de

**Master en biologie**

**Spécialité: Microbiologie fondamentale**

Thème

**Les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) et  
leur formation de biofilm sur les biomatériaux.**

Soutenue publiquement le 03/07/2019

Devant le jury

<b>President</b>	<b>:</b>	<b>Mr BEKKADA Ahmed</b>	Professeur	<b>U. Tissemsilt</b>
<b>Examineur</b>	<b>:</b>	<b>Mme AIT Chabane Ouiza</b>	MCB	<b>U. Mostaganem</b>
<b>Encadreur</b>	<b>:</b>	<b>Mr DJIBAOUI Rachid</b>	Professeur	<b>U. Mostaganem</b>

*Thème réalisé principalement au :*

Laboratoire Vétérinaire Régional de Mostaganem (LVRM).

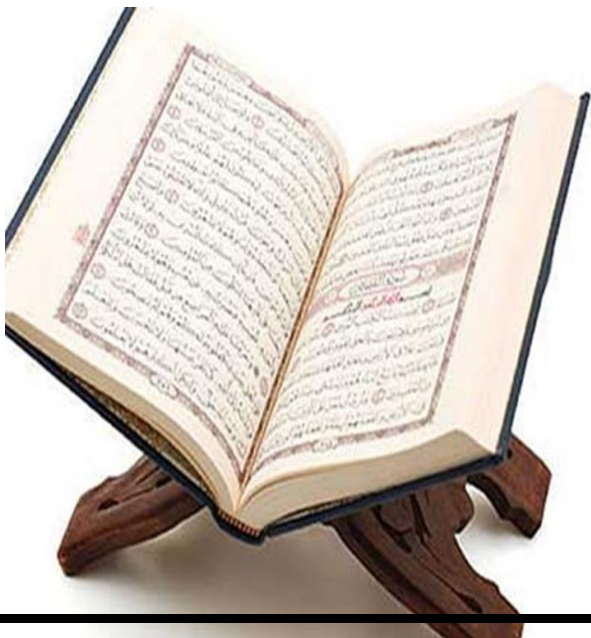
**Année universitaire : 2018 – 2019**

## بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

اقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ (1) خَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ عَلَقٍ (2) اقْرَأْ  
وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ (3) الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ (4) عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ  
يَعْلَمُ (5)

سورة العلق: الآية من 1 الى 5

عَنْ أَبِي الدَّرْدَاءِ، قَالَ: سَمِعْتُ رَسُولَ اللَّهِ ﷺ يَقُولُ: "مَنْ سَلَكَ  
طَرِيقًا يَبْتَغِي فِيهِ عِلْمًا سَهَّلَ اللَّهُ لَهُ طَرِيقًا إِلَى الْجَنَّةِ، وَإِنَّ الْمَلَائِكَةَ  
لَتَضَعُ أجنحتها لِطالِبِ الْعِلْمِ رِضًا بِمَا يَصْنَعُ، وَإِنَّ الْعَالِمَ لَيَسْتَغْفِرُ لَهُ مَنْ  
فِي السَّمَوَاتِ وَمَنْ فِي الْأَرْضِ حَتَّى الْعَيْتَانِ فِي الْمَاءِ، وَفَضَّلَ الْعَالِمَ  
عَلَى الْعَابِدِ كَفَضَّلَ الْقَمَرَ عَلَى سَائِرِ الْكَوَاكِبِ". رواه أبو داود  
والترمذي



"تَعَلَّمُوا الْعِلْمَ، وَعَلِّمُوهُ النَّاسَ،  
وَتَعَلَّمُوا لَهُ الْوَقَارَ وَالسَّكِينَةَ،  
وَتَوَاضَعُوا لِمَنْ يَعْلَمُكُمْ عِنْدَ الْعِلْمِ،  
وَتَوَاضَعُوا لِمَنْ تَعَلَّمُوهُ الْعِلْمَ، وَلَا  
تَكُونُوا جَبَابِرَةَ الْعُلَمَاءِ، فَلَا يَقُومُ

عَلَيْكُمْ بِهِمْ"

# Remerciement

Un projet de fin d'étude ne se réalise jamais seul et par nos propres moyens. C'est pour cela je souhaiterai ici remercier toutes les personnes qui ont participé à ces cinq années d'aventure scientifique et humaine

**J**e remercie avant tous, *Dieu* le tout puissant pour la volonté, la santé, et la patience qu'il m'a donné durant toutes les longues d'années d'études afin que je puisse arriver là.

**J**e tiens à remercier en premier lieu le professeur *Djibaoui Rachid* pour m'avoir encadré et accepté la responsabilité de ce travail « je vous remercie pour votre aide, pour le choix du thème, votre gentillesse, votre patience, de votre générosité, de votre disponibilité, et le temps que vous m'avez accordé pour relire patiemment chacun de mes chapitres en corrigeant les pages mot par mot, votre collaboration dans les articles que vous aviez partagé avec moi autour de mon sujet et qui étaient très utiles et qui ont enrichi ma partie bibliographique, ainsi pour la confiance de me laisser libre de mes choix. J'ai eu un grand honneur de travailler sous votre direction, bénéficier de vos remarques, compétences, idées... je prie le bon dieu de vous garder pour toutes les promotions qui suivent, et de vous faire atteindre les plus hauts grades de réussite ».

**M**r *Bekkada Ahmed* « Je tiens à le remercier chaleureusement pour avoir accepté de présider le jury lors de ma soutenance du mémoire et pour la qualité exceptionnelle dont il a fait preuve pour coordonner celle-ci ».

**M**me *Aït Chabane Ouïza* qui a eu la gentillesse d'être rapporteurs et d'examiner ce manuscrit « Je vous remercie à la fois pour vos remarques pertinentes, ainsi que pour votre intérêt pour mes recherches et la discussion captivante que nous avons eu lors de ma soutenance du mémoire ».

**U**ne pensée particulière à notre équipe pédagogique de la faculté de la science et de la vie : le chef de département Mr *Kadem* « Pour votre disponibilité », Le chef de parcours Mr *Bahr Foad* « pour votre gentillesse de répondre à nos interrogations et pour ses orientations malgré l'étroitesse du temps qui lui est imparti pour ses nombreuses responsabilités pédagogiques et scientifiques », le chef des stages Mr *Chaalal Abdelmalek* « pour votre aide de régler les papiers et les autorisations pour nous puissions pratiquer nos stages convenablement ».

**J**e remercie également Mr *Bouabdelli* le responsable des laboratoires pédagogiques à l'université Abdelhamid Ibn Badis, ainsi Mr *Benbouziane Djilali* ingénieur supérieur de laboratoire de microbiologie N°3 à la faculté des sciences de la nature et de la vie et Mr *Sowan Abdelkader* le magasinier de l'université qui nous aide et oriente dans la fourniture de la majorité des produits qu'on avait besoin pour réaliser notre stage.

**E**t un remerciement spécial à tous les enseignants qui ont contribué à ma formation dans ces 5 années universitaires ainsi que pour leur soutien, leur dévouement et le respect dont ils ont fait preuve à mon égard.

**J'**adresse aussi mes plus sincères remerciements à tous les chefs de services de l'établissement public hospitalier de Mostaganem pour leur bonne humeur contagieuse et pour leur soutien technique dans toutes les circonstances et l'acceptation de prélever les échantillons pathologiques dans leurs services.

Avec un immense merci à Mr *Kara Lhbib*, je garderai un souvenir impérissable des campagnes d'échantillonnages qui étaient tellement matinales mais tellement agréables.

Mes vifs remerciements vont également à Mme : *Kara Slimane Samia*, *Madjahed Sarra* et Mr : *Saim Yahia* « Je vous remercie pour avoir participé dans ce travail, et pour m'avoir initié et guidé dans le bon chemin de la recherche en me poussant à valoriser mon travail ».

Je tiens à remercier, mes deux « supers » aides soignantes de santé publique à l'hôpital Che Guevara : *Btam Badra* et *Baalache Marwa* pour leur aide et leur intérêt pour mon travail.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements et ma profonde Gratitude au Mr *Benalioua* le directeur du laboratoire d'hygiène de la Wilaya de Mostaganem, pour m'avoir offert l'opportunité de réaliser la plus importante partie de mon mémoire y compris le traitement de mes échantillons dans son laboratoire.

Je vais profiter de l'occasion de saluer et remercier chaleureusement tout le personnel rencontré dans ce laboratoire où j'avais séjourné est surtout à ma chère cousine *Bennaouda Behia*, je suis très touchée de l'honneur et la confiance qu'elle m'a donnée, je vous considère comme une mère et je veux vous dire que « je vais jamais oublier votre compréhension, et votre encouragement, sincèrement sans votre aide ça aurait été difficile même impossible d'avancer dans mon travail, Soyez assurée ici de mon plus profond respect et de ma sincère gratitude ».

Je tiens également à remercier Mr *Kébir Ahmed* le Directeur du Laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem (LVRM) pour avoir accepté mon incorporation dans leur cellule de travail et m'accueillir dans leur équipe, et mis à ma disposition les moyens pour terminer le reste de mes manipulations spécifiques ainsi tous les collaborateurs qui n'ont pas hésité de m'aider pour que ce travail sera réussi, merci à vous.

J'ai eu cependant la chance d'être entourée d'une personne qui s'appelle *Benkhamkham Neziha*, qui m'a beaucoup aidé et qui a été toujours très ouverte et accueillante, je vous dis que j'ai passé en votre sympa présence une période très enrichissante et sympathique, ainsi pour le fait qu'elle a contribué à la réussite de ce stage ».

Et une pensée amicale à mes collègues de la promotion de Master 2 « Microbiologie Fondamentale », pour leur soutien et leur aide et pour les sympathiques moments qu'on a passé ensemble.

Sans oublier tout le personnel de bibliothèque qui nous aide toujours à la recherche de l'information scientifique et technique.

La liste est longue mais il me tient particulièrement à cœur de remercier toutes les personnes qui m'ont consacré une partie de leur temps et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, Trouvez ici mes sincères reconnaissances.

Enfin, merci à vous chers lecteurs, si vous avez des questions ou des suggestions, n'hésitez pas à joindre mon email : imanograce.123@gmail.com

## *Dédicace*

*Je* dédie ce travail en guise de témoignage d'un grand respect et d'une profonde reconnaissance :

### *A mon très cher grand- père maternel: Benhenneda Kamel*

A la mémoire de mon grand père qui a été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite. Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis.

### *A ma très chère grand- mère maternelle : Takarli Noria*

Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.

### *A ma très chère mère : Benhenneda Salima*

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes cotés pour me consolider quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

### *A mon père : Kara Mostéfa mohammed*

Pour le gout de l'effort que vous avez suscité de moi, et pour l'amour, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Puisse ce travail témoigner de ma profonde affection et de ma sincère estime.

### *A mon cher grand frère : Abdelnour*

Pour toute l'ambiance dont tu m'as entouré, pour toute la spontanéité et ton élan chaleureux, Je te dédie ce travail. Puisse Dieu le tout puissant exhausser tous tes vœux.

### *A toute la famille Benhenneda, mes oncles Kacimou, Madani, Abdelkader et Abdelghani, ainsi que mes tantes.*

Merci de m'avoir accueillie parmi vous pendant toutes ces années, Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir. Que Dieu le tout puissant vous préserve, vous accorde santé, bonheur, et vous protège de tout mal.

*A mes très chères cousines : Maraf Nafissa et Benbernou Hadjar*

En souvenir d'une enfance dont nous avons partagé, et aux plus agréables moments. Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour que je les porte pour vous.

*A mon oncle : Takarfi Harrag et son épouse, Hadja et mes frères de vie*

*Ali, Karim et Zahira*

Merci de m'avoir toujours inculqué le sens de la responsabilité, l'optimisme et de la confiance en soi face aux difficultés de la vie. Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Votre patience sans fin, votre compréhension et vos encouragements sont pour moi le soutien indispensable qui m'a toujours orienté dans les pénibles moments.

*A ma très chère sœur de cœur, ma poupée d'amour : Bensmaine Khadidja*

Ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments de solitude et de souffrance. Merci d'être toujours à mes côtés, par ta présence, par ton amour dévoué et ta tendresse, en témoignage de mon amour, de mon admiration et de ma grande affection, je te prie de trouver dans ce travail l'expression de mon estime et mon sincère attachement. Je prie dieu le tout puissant pour qu'il te donne bonheur et prospérité.

*A Allal Fatma zahra*

Doctorante en pharmacie de Blida, on se rencontre jamais face à face, notre contacte c'était par écrite et par voix seulement, c'est une amie sur le monde virtuel « facebook » depuis quelques mois elle devient parmi mes chères amies, Je suis chanceuse de t'avoir à mes côtés. Puisses-tu trouver dans mon travail le témoin de mon amour et de mon affection je prie que le bon dieu te protège et j'aimerais bien un jour on peut se rencontre en vie réelle.

# Liste des abréviations

## A

- **ADH** : Arginine Di-Hydrolase.
- **Agr** : Accessory Gene Regulator.
- **ATCC** : American Type Culture Collection.
- **ATNC** : Agents Transmissibles Non Conventionnels.
- **ATP** : Adénosine Tri-Phosphate.

## B

- **BAP** : Biofilm Associated Protein.
- **BCC** : Bouillon Cœur-Cervelle.
- **BHIB** : Brain Heart Infusion Broth.
- **BLC** : Bactériémies Liées au Cathéter.
- **BMR** : Bactéries Multi Résistantes.
- **BPCO** : Broncho Pneumopathie Chronique Obstructive.

## C

- **CAUTIs** : Catheters - Associated Urinary Tract Infections.
- **CCI** : Service de Chirurgie Infantile.
- **CDC** : Center for Disease Control and Prevention.
- **CLSM** : Confocal Laser Scanning Microscope.
- **CMI** : Concentration Minimale Inhibitrice.
- **CRP** : Protéine-C Réactive.

## D

- **DGGE** : Denaturing Gradient Gel Electrophoresis.
- **DI-GMPc** : Di-Guanosine Monophosphate Cyclique.
- **DMSO** : Di-Méthyl Sulfoxyde.
- **DO** : Densité Optique.

## E

- **ECBU** : Examen Cyto Bactériologique des Urines.
- **EDTA** : Ethylène Diamine Tétra-acétique Acide.
- **EPH** : Etablissement Public Hospitalier.
- **EPS** : Extracellular Polymeric Substances.

## F

- **FDA** : Fluorescéine Di-Acétate.

## G

- **Glu** : Glucose.
- **HA** : Hyaluronic Acid.
- **HAP** : Hydroxyapatite.

## I

- **IAS** : Infections Associées aux Soins.
- **Ica** : Inter Cellular Adhesion.
- **ILDm** : Infections Liées aux Dispositifs Médicaux.

L

- **IOAM** : Infections Ostéo-Articulaires sur Matériel.
- **ISO** : Infections du Site Opératoire.
- **IUN** : Infections Urinaires Nosocomiales.
- **LDC** : Lysine Décarboxylase.
- **MEB** : Microscope Electronique à Balayage.
- **MH** : Mueller-Hinton.
- **MSCRAMM** : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules).

M

N

- **NNIS** : National Nosocomial Infections Surveillance.

O

- **ODC** : Ornithine Décarboxylase.
- **ONPG** : Ortho- Nitrophenyl-<sup>2</sup> - Galactoside.

P

- **PAVM** : Pneumopathies Acquisées sous Ventilation Mécanique.
- **PCR** : Polymerase Chain Reaction.
- **PCT** : Procalcitonine.
- **PIA** : Polysaccharide Intercellulaire Adhésine.
- **PSM** : Phenol-Soluble Modulins.

Q

- **PTH** : Prothèse de Hanche.

R

- **QS** : Quorum Sensing.
- **RAPD** : Random Amplified Polymorphic DNA.
- **RCA** : Rouge Congo Agar.

S

- **SAD** : Sonde A Demeure.
- **Sar** : Staphylococcal Accessory Regulator.
- **SARM** : *S. aureus* Résistant à la Meticilline.
- **SCN** : Staphylocoques à Coagulase Négative.
- **SCP** : Staphylocoques à Coagulase Positive.
- **SSCP** : Single Strand Conformation Polymorphism.

T

- **TCP** : Plaque de Culture de Tissus.
- **TDA** : Tryptophane DésAminase.
- **TNF-±** : Tumor Necrosis Factor - alpha.
- **TPS** : Tampon Phosphate Salin.

U

- **TSB** : Bouillon Tryptone Soja.
- **UFC** : Unité Faisant Colonie.
- **UHMWPE** : Ultra High Molecular Weight Polyéthylène.
- **UTI** : Urinary Tract Infections.

## Résumé

Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) constituant normaux de la microflore cutanée et muqueuse de l'homme sont les espèces les plus fréquemment isolées des infections liées aux dispositifs médicaux (ILDM). Leur principal facteur de virulence est leur capacité à adhérer à la surface des biomatériaux et à former un biofilm<sup>1</sup>

Dans cette optique, ce travail porte sur une étude microbiologique de 12 dispositifs médicaux DM y compris : (Sonde urinaire, sonde d'intubation orotrachéale, cathéter périphérique, pansement, et plaque en acier de la fixation de l'os) récoltés de différents services de l'hôpital de Chéguivara à Mostaganem) afin d'identifier les pathogènes responsables de ces infections, de déterminer leur profil d'antibiorésistance et leur pouvoir de production de slime.

Le diagnostic estime que sur ces 12 prélèvements analysés, 66.66 % se sont révélés positifs dont 75 % sont des SCN, avec la prédominance de l'espèce *S. epidermidis*.

L'étude de l'antibiogramme a montré une importante résistance aux bêta-lactamine (Oxacilline OX et céfoxitine FOX) qui atteint les 100 % pour l'ensemble des souches isolées. Et la Vancomycine VA demeure la molécule de choix contre les infections à Staphylocoques.

La détection de production de slime par les trois techniques TCP, TM, et RCA révèle que les méthodes TM et TCP semblent plus fiables à celle du rouge Congo, dont la technique en tube présentait une bonne corrélation avec la technique de plaque de Culture de Tissu pour les souches fortement productrices de biofilm.

La grande capacité d'adhérence de la souche *S. epidermidis* provenait d'une sonde vésicale placée plus de 7 j, nous confirme que la durée d'implantation joue un rôle primordiale dans l'installation des biofilms et par conséquent les sondes en latex ne peuvent pas être laissés dans le corps plus d'une semaine, ainsi que la bonne diffusion visuelle de biofilm sur la gélose au sang pour toutes nos souches testées montre probablement leurs capacités d'adhérer à la surface du LATEX : matériau constituant les sondes urinaires.

**Mots clés:** Les Staphylocoques à coagulase négative (SCN), Infections liées aux dispositifs médicaux (ILDM), biomatériaux, l'antibiorésistance, biofilm, infections nosocomiales IN, *S.epidermidis*, Slime, LATEX.

# Abstract

Coagulase-negative staphylococci (SCN), which are normal components of human skin and mucous microflora, are the most frequently isolated species from medical device-related infections (ILD). Their main virulence factor is their ability to adhere to the surface of biomaterials and form a biofilm.

With this in mind, the present work focuses on a microbiological study of 12 medical devices (urinary catheter, orotracheal intubator probe, peripheral catheter, dressing, and bone fixation steel plate) harvested from different departments of the Chéguivara hospital in Mostaganem) to identify the pathogens responsible for infections, to determine their antimicrobial resistance profile and their ability to produce the slime.

The diagnosis reveals that of 12 samples analyzed, 66.66% were positive, of which 75% are the SCN involved, with a predominance of *S. epidermidis*.

The antimicrobial resistance study showed significant resistance to beta-lactam (Oxacillin OX and cefoxitin FOX) reaching 100% for all isolated strains. And Vancomycin VA remains the molecule of choice against Staphylococcal infections.

The detection of slime production by the three TCP, TM, and CRA techniques reveals that the TM and TCP methods seem more reliable than the Congo red, whose tube technique has a good correlation with the tissue culture plate technique. For high biofilm producing strains.

The large capacity of the *S. epidermidis* strain adherence originated from a bladder probes placed more than 7 days, confirms that the implantation time plays a key role in the installation of biofilms, and consequently the latex probes can't be maintained in the body for more than a week and the good visual diffusion of biofilm on blood agar for all our strains tested confirms probably their ability to adhere to the surface of LATEX: material constituting the urinary catheters.

**Key words:** Coagulase-negative staphylococci (SCN), Medical device-related infections (ILD), biomaterials, antimicrobial resistance, biofilm, nosocomial infections IN, *S. epidermidis*, Slime, LATEX.

## ملخص

تعد البكتيريا العنقودية المكون الطبيعي للميكروفلورا الجلدية و المخاطية , و هي من الانواع التي تعزل بكثرة في العدوى المرتبطة بالأجهزة الطبية , حيث ان تثبتها على اسطح المواد الحيوية و تشكيل البيوفيلم هو العامل الرئيسي لامراضيتها.

و في هذا السياق , قمنا في هذا العمل بدراسة ميكروبيولوجية لبعض الأجهزة الطبية المختلفة , من بينها الخاصة ب: ( قسطرة المثانة. قسطرة القصبة الهوائية , القسطرة المحيطية , ضمادة طبية , لوحة تثبيت عظام فولاذية...الخ) تم اخذهم من عدة مصالح بمستشفى - شيفار - بمستغانم , بهدف تحديد الميكروبات المسؤولة عن هذه العدوى و تحديد مقاومتها للمضادات الحيوية , و كذا قدرتها على تشكيل البيوفيلم.

كشفت عملية التشخيص انه من بين هذه العينات التي تم تحليلها 66,66 % منها كانت ايجابية , حيث 75 % كان سببها المكورات العنقودية سالبة الكواغيلاز, مع سيادة النوع *S. epidermidis*

اظهرت دراسة مقاومة المضادات الحيوية مقاومة للبيتا-لاكتامين مع بقاء الفانكوميسين المضاد الحيوي الفعال ضد الالتهابات العنقودية.

اظهر الكشف عن الطبقة المخاطية Slime بطرق TCP , TM و RCA ان الاولى و الثانية هما الاكثر فعالية من الثالثة و ان طريقة الانابيب متوافقة مع طريقة الصفيحة عند السلالات الاكثر انتاجا للبيوفيلم.

اثبتت قدرة التثبيت العالية للنوع *S. epidermidis* , المؤخوذ من جهاز القسطرة البولية المزروعة لمدة 7 ايام ان مدة الزرع تلعب دور اساسي في تركيب البيوفيلم و ان جهاز القسطرة البولية المصنوع من اللاتكس لا يمكن ابقاءه داخل الجسم لاكثر من اسبوع.

و اظهر الانتشار الواسع و المرئي للبيوفيلم على وسط اغار الدم لجميع سلالاتنا المختبرة قدرتها على امكانية تثبتها على سطح اللاتكس : المادة الحيوية المكونة للقسطرة البولية.

**الكلمات المفتاحية :** المكورات العنقودية سالبة الكواغيلاز, الالتهابات المرتبطة بالأجهزة الطبية , المواد الحيوية , مقاومة المضادات الحيوية , بيوفيلم , عدوى المستشفيات , *S. epidermidis* , Slime , اللاتكس.

# Liste des Figure

N° de figure	Titre de la Figure	Page
<b>Figure 1</b>	Les deux grands groupes des <i>Staphylococcus</i> selon la coagulase .....	5
<b>Figure 2</b>	Observation de cocci à Gram positif en amas (ex : <i>Staphylococcus</i> ).....	8
<b>Figure 3</b>	L'aspect de <i>S. epidermidis</i> au microscope électronique à balayage.....	20
<b>Figure 4</b>	<i>S. epidermidis</i> poussant dans des milieux liquides crée un bouillon trouble.....	21
<b>Figure 5</b>	L'aspect des colonies de <i>S.epidermidis</i> sur :(a) Gélose nutritive, (b) Milieu chapman, (c) Gélose au sang non hémolytique.....	21
<b>Figure 6</b>	Identification de <i>S. epidermidis</i> API® Staph .....	21
<b>Figure 7</b>	Répartition des infections nosocomiales en fonction du site.....	25
<b>Figure 8</b>	Organigramme de la prévalence des principaux microorganismes isolés lors d'infection nosocomiale.....	26
<b>Figure 9</b>	Quelques dates d'apparition des biomatériaux .....	29
<b>Figure 10</b>	Classification des biomatériaux .....	30
<b>Figure 11</b>	Répartitions des quatre catégories de biomatériaux .....	30
<b>Figure 12</b>	Produits en acier inoxydable : (a) Clous en inox, (b) Prothèse de l'épaule, (c) Vis orthopédique en inox, (d) Arc dentaire en acier inoxydable.....	31
<b>Figure 13</b>	Exemples des biomatériaux métalliques fabriquées par des alliages Cobalt - Chrome : (a) Prothèse totale de la hanche en alliage CoCr, (b) Implants dentaires en CoCr (c) Stent en alliage CoCr (d) Pince fémorale en alliage de CoCr.....	32
<b>Figure 14</b>	Produit en titane: (a) Prothèse de cotes en titane expansible, (b) Les tiges des prothèses de hanche sont généralement en TiAl6V4, (c) Implants dentaires, (d) Electrode de pacemaker.....	33
<b>Figure 15</b>	Produits en Nitinol (NiTi) : (a) Accolades, (b) Stent (c) Agrafe d'ostéotomie.....	33
<b>Figure 16</b>	Têtes (PTH) Albumine-Albumine .....	34
<b>Figure 17</b>	Bridge en Zircone.....	35
<b>Figure 18</b>	Structure microporeuse des céramiques phosphocalciques .....	35
<b>Figure 19</b>	Prothèse a base de verre bioactifs .....	36
<b>Figure 20</b>	Exemple des polymères : (a) Cotyle d'une tige en polyéthylène, (b) greffes vasculaires, (c) Valve cardiovasculaire, (d) Prothèse mammaire, (e) Bouclier fémorale glisse sur un plateau tibial en polyéthylène .....	37
<b>Figure 21</b>	Fibres de cellulose .....	39

## *Liste des Figure*

<b>Figure 22</b>	Produits en chitine : (a) fils de suture en chitine, (b) peau artificiel.....	40
<b>Figure 23</b>	Corail (porosité 50%) .....	40
<b>Figure 24</b>	Molécule de collagène .....	41
<b>Figure 25</b>	Exemples des différents problèmes rencontrés au niveau des biomatériaux (a) Dégradation et production des dérivés toxiques, (b) Corrosion, (c) Manque de standards, (d) Absorption tissulaire, (e) Calcification, (f) Déformation avec le temps et détérioration lors de la stérilisation, (g) Réactions immunitaires, hypersensibilité, inflammatoire et d'incompatibilité et cicatrisation, (h) Adhésion des protéines, cellules, bactéries en surface et la formation de biofilms.....	42
<b>Figure 26</b>	Biomatériaux répertoriés en fonction de leur bioactivité .....	46
<b>Figure 27</b>	Biomatériaux dans un corps humain.....	46
<b>Figure 28</b>	Les principales IN dues à l'implantation d'un corps étrangers.....	47
<b>Figure 29</b>	Principales voies d'acquisitions des MO lors d'un sondage vésical.....	50
<b>Figure 30</b>	Développement des biofilms bactériens sur une sonde urinaire observée par microscopie électronique.....	51
<b>Figure 31</b>	Répartition des SCN responsables d'IUN.....	52
<b>Figure 32</b>	Principales voies de colonisation du cathéter vasculaire.....	55
<b>Figure 33</b>	MO responsables des bactériémies liées au cathéter (BLC).....	56
<b>Figure 34</b>	Les voies de la colonisation bactérienne pouvant conduire au développement d'une pneumonie nosocomiale.....	57
<b>Figure 35</b>	Répartitions des Mo responsables des infections nosocomiales dans le service de réanimation.....	58
<b>Figure 36</b>	Fréquence des principales espèces pathogènes parmi les isolats cliniques d'infections associées aux implants orthopédiques.....	61
<b>Figure 37</b>	Interactions entre le dispositif et le tissu vivant (cas de l'implantation dans un tissu vascularisé).....	62
<b>Figure 38</b>	L'interaction bactéries / biomatériaux et la formation de biofilm.....	63
<b>Figure 39</b>	Les Animacules observé par Antonie Van Leeuwenhoek.....	64
<b>Figure 40</b>	Visualisation de <i>Staphylococcus spp</i> par un microscope confocale sur un implant médical.....	67
<b>Figure 41</b>	Les étapes de formation de biofilm chez <i>S. epidermidis</i> .....	68
<b>Figure 42</b>	Synthèse de l'adhésine polysaccharidique PIA.....	70

# Liste des Figure

<b>Figure 43</b>	Organisation génétique du groupe de gènes ica de <i>S. epidermidis</i> .....	70
<b>Figure 44</b>	Etapes principales de formation du biofilm de <i>S. epidermidis</i> sur un implant transcutané.....	71
<b>Figure 45</b>	Biofilm bactérien formé sur un implant médical.....	75
<b>Figure 46</b>	Les trois mécanismes de résistance du biofilm aux ATB .....	76
<b>Figure 47</b>	Diagramme d'un biofilm médical.....	77
<b>Figure 48</b>	Principales infections associées à la présence de biofilms.....	78
<b>Figure 49</b>	Les étapes de la sonication utilisée dans les laboratoires de bactériologie.....	83
<b>Figure 50</b>	Principe des techniques de quantification des biofilms en microplaques.....	84
<b>Figure 51</b>	Principe de la mesure de la biomasse par la méthode au CV.....	85
<b>Figure 52</b>	Principe de la méthode BioFilm Ring Test® .....	87
<b>Figure 53</b>	Mécanisme des biomatériaux.....	91
<b>Figure 54</b>	Schéma représentant la traversée d'un biofilm par un bactériophage.....	93
<b>Figure 55</b>	L'efficacité d'un hydrogel chargé en phages pour éviter l'établissement d'un biofilms sur des cathéters.....	93
<b>Figure 56</b>	Arbre décisionnel.....	96
<b>Figure 57</b>	Mode d'emploi pour la préparation de la souche de référence <i>S. aureus</i> ATCC 33862.....	100
<b>Figure 58</b>	Protocole du recherche de <i>Staphylococcus</i> dans les échantillons pathologiques récoltés (Etapes de : Prélèvement- enrichissement- isolement et purification)	101
<b>Figure 59</b>	Les différents échantillons prélevés à l'hopitale de Chéguévara.....	102
<b>Figure 60</b>	Schéma indiquant le site de prélèvement de la sonde urinaire.....	102
<b>Figure 61</b>	Prélèvement d'un cathéter périphérique.....	103
<b>Figure 62</b>	Ecouvillon chargé des bactéries après le passage sur le fixateur en acier.....	103
<b>Figure 63</b>	Technique d'écouvillonnage sur un pansement.....	104
<b>Figure 64</b>	Schéma indiquant le site de prélèvement de la sonde d'intubation orotrachéale.....	104
<b>Figure 65</b>	Organigramme de l'identification des espèces de SCN.....	106
<b>Figure 66</b>	Identification d'une espèce de <i>S. epidermidis</i> par le logiciel « Logi-Bacter ».....	112
<b>Figure 67</b>	Préparation de l'inoculum.....	114
<b>Figure 68</b>	Technique de lecture par pied de coulisse.....	114

## *Liste des Figure*

<b>Figure 69</b>	Les étapes de la méthode de culture en plaques (TCP) : a- Remplissage de la microplaque par TSB, b- Coloration par CV, c- Lecture de la DO par le lecteur Elisa.....	117
<b>Figure 70</b>	Dépôt des fragments des sondes vésicales sur la gélose au sang.....	119
<b>Figure 71</b>	Répartition des prélèvements selon le contenu bactérien.....	120
<b>Figure 72</b>	Répartition des infections nosocomiales associées aux soins dues au <i>Staphylococcus</i> dans les différents d'EPH de Mostaganem selon l'âge.....	121
<b>Figure 73</b>	Répartition des prélèvements selon le sexe.....	122
<b>Figure 74</b>	Aspect macroscopique des colonies de <i>Staphylococcus</i> sur milieu Chapman.....	124
<b>Figure 75</b>	Aspect macroscopique des colonies de <i>Staphylococcus</i> sur gélose nutritive.....	124
<b>Figure 76</b>	Aspect macroscopique des colonies de <i>Staphylococcus</i> Sur gélose au sang.....	125
<b>Figure 77</b>	Observation de l'aspect microscopique des staphylocoques par le microscope optique Grossissement $\times 100$ avec l'huile à immersion.....	125
<b>Figure 78</b>	Résultat de la production de la catalase par les cocci à Gram positif isolés.....	126
<b>Figure 79</b>	Résultats du test d'oxydase.....	126
<b>Figure 80</b>	Résultats de test de coagulase pour les cocci à Gram positif isolés.....	127
<b>Figure 81</b>	Répartition des Staphylocoques isolées des dispositifs médicaux étudiés selon la coagulase.....	127
<b>Figure 82</b>	Aspect du milieu citrate de simmons.....	128
<b>Figure 83</b>	L'aspect du milieu TSI après l'incubation.....	128
<b>Figure 84</b>	Aspect du test de Mannitol- Mobilité : a- Mannitol –mobilité - b- Mannitol + mobilité.....	129
<b>Figure 85</b>	Aspect du test de décarboxylase.....	130
<b>Figure 86</b>	Test d'ONPG : a- Aspect du test positif ; b- Aspect du test négatif.....	130
<b>Figure 87</b>	Mise en évidence de la production d'uréase.....	131
<b>Figure 88</b>	Aspect d'indole négatif.....	131
<b>Figure 89</b>	Aspect de tryptophane désaminase TDA.....	132
<b>Figure 90</b>	Aspect du test VP négatif.....	132
<b>Figure 91</b>	Aspect du test RM positif.....	133
<b>Figure 92</b>	Résultat du test de désoxyribonucléase. <b>A-</b> Dnase +, <b>B-</b> Dnase - .....	133

## *Liste des Figure*

<b>Figure 93</b>	le bouillon nitraté, A- après l'ajout de réactif de Griess (NIT I et NIT II), B- Après l'ajout de la poudre Zinc.....	134
<b>Figure 94</b>	Résultats de type respiratoire.....	135
<b>Figure 95</b>	Résultats d'antibiogramme d'une souche isolée à partir d'une sonde d'intubation orotrachéale du bloc opératoire.....	139
<b>Figure 96</b>	Taux de résistance et sensibilité aux antibiotiques des souches de Staphylocoques isolées des dispositifs médicaux.....	140
<b>Figure 97</b>	Détection du biofilm par la méthode TCP : A- Modérée, B- absente, C- Forte	143
<b>Figure 98</b>	Résultats de la quantification de la formation de biofilm <i>in vitro</i> par les souches de SCN isolées à partir de différents biomatériaux implantés.....	143
<b>Figure 99</b>	Détection du Slime par la méthode en tubes TM A- Non adhérente. B- Faiblement adhérente. C – fortement adhérente.....	144
<b>Figure 100</b>	Culture de <i>S. epidermidis</i> sur gélose Rouge Congo.....	145
<b>Figure 101</b>	Diffusion de biofilm sur gélose au sang.....	146
<b>Figure 102</b>	Vue de la face de l'université Abdelhamid Ibn Badis.....	An 3
<b>Figure 103</b>	Plan de masse N°03 ex (Lita).....	An 3
<b>Figure 104</b>	Vue de la face de l'établissement public hospitalier -Chéguévara- Mostaganem...	An 3
<b>Figure 105</b>	Les différents blocs de l'hôpital de Chéguivara.....	An 3
<b>Figure 106</b>	Vue de la face du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Mostaganem.....	An 3
<b>Figure 107</b>	Les services des deux pavillons du laboratoire.....	An 3
<b>Figure 108</b>	Vue de la face du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem.....	An 3
<b>Figure 109</b>	Représentation schématique de l'organigramme structurel et fonctionnel du LVRM	An 3
<b>Figure 110</b>	Demande d'hospitalisation.....	An 4
<b>Figure 111</b>	Fiche patient.....	An 4
<b>Figure 112</b>	Fiche d'implantation d'un dispositif médicale (exemple cathéter).....	An 4
<b>Figure 113</b>	Fiche d'identification bactérienne.....	An 8

# Liste des tableaux

N° du Tab	Titre du tableau	Page
<b>Tableau 1</b>	Répartition des SCN en fonction de l'hôte.....	7
<b>Tableau 2</b>	Galerie biochimiques d'identification des SCN.....	9
<b>Tableau 3</b>	Classification phénotypique des espèces et sous-espèces du genre <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative.....	13
<b>Tableau 4</b>	Mécanismes de résistance des SCN aux antibiotiques.....	19
<b>Tableau 5</b>	Prévalence des infections nosocomiales par pays .....	25
<b>Tableau 6</b>	Les quatre classes des dispositifs médicaux.....	28
<b>Tableau 7</b>	Quelques biomatériaux métalliques et ses alliages et leur usage.....	33
<b>Tableau 8</b>	Quelques biomatériaux céramiques et leur usage.....	36
<b>Tableau 9</b>	Quelques biomatériaux polymères et leur usage.....	38
<b>Tableau 10</b>	Biomatériaux d'origine naturelle et leur usage.....	41
<b>Tableau 11</b>	Principaux constituant de la matrice du biofilm.....	66
<b>Tableau 12</b>	Les importants variables dans la fixation des cellules microbiennes et la formation de biofilm.....	72
<b>Tableau 13</b>	Caractéristiques des 12 patients inclus dans cette présente étude.....	99
<b>Tableau 14</b>	Galerie biochimique d'identification de souches isolées.....	108
<b>Tableau 15</b>	Concentrations et diamètres critiques des antibiotiques utilisés.....	115
<b>Tableau 16</b>	Classification de l'adhérence bactérienne par la technique TCP.....	117
<b>Tableau 17</b>	Répartition des prélèvements selon les services de l'hôpital.....	122
<b>Tableau 18</b>	Répartition des prélèvements selon la nature des dispositifs médicaux.....	123
<b>Tableau 19</b>	Nature des matériaux qui constituent les dispositifs implantables.....	123
<b>Tableau 20</b>	Caractères biochimiques différentiels des staphylocoques.....	136
<b>Tableau 21</b>	Identification de différentes espèces de Staphylocoques par le logiciel « Logi-Bacter » selon le site d'insertion et le type de DM.....	138
<b>Tableau 22</b>	Diamètres des zones d'inhibitions de l'antibiogramme.....	140
<b>Tableau 23</b>	Dépistage des souches testés pour la détection de la formation de biofilm par les trois méthodes TCP, TM et RCA.....	146
<b>Tableau 24</b>	Principaux tests réalisés sur le genre <i>Staphylococcus</i> .....	Anx 1
<b>Tableau 25</b>	Exemples de stratégies préventives et thérapeutiques pour le traitement d'infections sur implants dues aux Staphylocoques.....	Anx 2
<b>Tableau 26</b>	Les laboratoires qui font partie de l'institut national de médecine vétérinaire.....	Anx 3

## Liste des annexes

N° des Annexes	Titre du tableau	page
<b>Annexe 1</b>	Principes de quelques tests biochimiques et métaboliques d'identification des Staphylocoques.....	I
<b>Annexe 2</b>	Exemples de stratégies préventives et thérapeutiques pour le traitement d'infections sur implants dues aux Staphylocoques.	VII
<b>Annexe 3</b>	Présentation des lieux de travail.....	IX
<b>Annexe 4</b>	Fiches administratifs de l'hôpital Ché guivara.....	XVI
<b>Annexe 5</b>	Matériel (Appareils- outils).....	XIX
<b>Annexe 6</b>	Milieux de cultures.....	XX
<b>Annexe 7</b>	Tampons, solvants, colorants, réactifs et autres produits.....	XXIV
<b>Annexe 8</b>	Fiche d'identification bactérienne.....	XXVI

# Table des matières

- Douaa
- Remerciement.
- Dédicace.
- Liste des abréviations.
- Résumé.
- Liste des figures.
- Liste des tableaux.
- Liste des annexes.

## PARTIE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
---------------------------	----------

### *Chapitre I : Les Staphylocoques à coagulase négative(SCN).*

<b>1 Historique</b> .....	<b>3</b>
<b>2 Généralités sur les Staphylocoques</b> .....	<b>3</b>
<b>3 Classification</b> .....	<b>4</b>
<b>4 La différence entre les <i>Staphylococcus</i> à coagulase positive (SCP) et les <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative (SCN)</b> .....	<b>4</b>
<b>5 Les <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative (SCN)</b> .....	<b>6</b>
5.1 GENERALITE .....	6
5.2 HABITAT ET REPARTITIONS DES ESPECES .....	6
5.3 CARACTERES BACTERIOLOGIQUES .....	8
5.4 L'IDENTIFICATION DES STAPHYLOCOQUES A COAGULASE NEGATIVE (SCN) .....	12
5.5 EPIDEMIOLOGIE .....	17
5.6 CARACTERISTIQUES GENERALES DES INFECTIONS CAUSEES PAR LES SCN .....	17
5.7 LES MECANISMES PATHOGENES DES STAPHYLOCOQUES A COAGULASE NEGATIVE ....	18
5.8 LA RESISTANCE DES SCN AUX ANTIBIOTIQUES .....	18
<b>6 L'espèce de <i>Staphylococcus epidermidis</i></b> .....	<b>19</b>
6.1 DEFINITION .....	19
6.2 TAXONOMIE .....	20
6.3 CARACTERES MORPHOLOGIQUES .....	20
6.4 CARACTERES CULTURAUX .....	21
6.5 CARACTERES BIOCHIMIQUES .....	22
6.6 EPIDEMIOLOGIE .....	22
6.7 INVASION IMMUNITAIRE .....	22
6.8 FACTEUR DE VIRULENCE .....	23
6.9 TRAITEMENT .....	23

## *CHAPITRE II : La pathogénicité des SCN.*

<b>1</b>	<b>Généralité sur les infections nosocomiales .....</b>	<b>24</b>
1.1	DEFINITION .....	24
1.2	FREQUENCE ET INCIDENCE .....	24
1.3	L'ORIGINE OU SOURCE DES INFECTIONS NOSOCOMIALES .....	25
1.4	LES DIFFERENTES CATEGORIES D'INFECTIONS NOSOCOMIALES ET LEURS SITES INFECTIEUX .....	25
1.5	LES PRINCIPAUX GERMES RESPONSABLES D'INFECTIONS NOSOCOMIALES .....	26
1.6	MODE DE TRANSMISSION .....	27
1.7	FACTEURS DE RISQUES .....	27
<b>2</b>	<b>Un dispositif médical (DM) .....</b>	<b>28</b>
2.1	DEFINITION .....	28
2.2	LES CLASSES DES DM .....	28
<b>3</b>	<b>Les biomatériaux .....</b>	<b>28</b>
3.1	QU'UN CE QU'UN BIOMATERIAU ? .....	28
3.2	HISTORIQUE .....	29
3.3	LES DIFFERENTS TYPES DES BIOMATERIAUX ET LEURS UTILISATIONS .....	29
3.4	LES AVANTAGES ET LES INCONVENIENTS DES BIOMATERIAUX .....	42
3.5	LES DOMAINES D'APPLICATION DES BIOMATERIAUX .....	43
3.6	LES PROPRIETES DES BIOMATERIAUX .....	43
3.7	LES MATERIAUX ET LE MILIEU VIVANT .....	44
3.8	IMPLANT DES BIOMATERIAUX .....	46
<b>4</b>	<b>Les principales infections nosocomiales dues à l'implantation des biomateriaux:...</b>	<b>47</b>
4.1	LES INFECTIONS ASSOCIEES AU SONDAGE URINAIRE .....	47
4.2	LES INFECTIONS ASSOCIEES AUX CATHETERS VASCULAIRES .....	53
4.3	LES PNEUMOPATHIES ACQUISES SOUS VENTILATION MECANIQUE (PAVM) .....	57
4.4	LES INFECTIONS OSTEO-ARTICULAIRES SUR MATERIEL (IOAM) .....	59
4.5	LES INTERACTIONS DES BIOMATERIAUX .....	61

## *Chapitre III : La formation de biofilm à SCN sur les biomatériaux implantés et les moyens de lutte.*

<b>1</b>	<b>Historique et découverte de biofilm a Staphylocoques .....</b>	<b>64</b>
<b>2</b>	<b>Du'est ce qu'un biofilm ? .....</b>	<b>65</b>
<b>3</b>	<b>Composition et organisation .....</b>	<b>65</b>
3.1	COMPOSITION .....	65
3.2	ORGANISATION .....	67
<b>4</b>	<b>Architecture et mécanisme de la formation du biofilm à SCN .....</b>	<b>67</b>

<b>5</b>	<b>Les étapes de formation de biofilm sur un implant médical : modele de <i>S.epidermidis</i></b>	<b>68</b>
	.....	
5.1	ATTACHEMENT INITIAL .....	68
5.2	L'ACCUMULATION .....	69
5.3	DETACHEMENT DU BIOFILM .....	70
<b>6</b>	<b>Les facteurs favorisant la formation d'un biofilm .....</b>	<b>71</b>
6.1	LES CARACTERISTIQUES DE LA SURFACE .....	71
6.2	LES CARACTERISTIQUES DU MILIEU .....	72
6.3	LES CARACTERISTIQUES DES MICROORGANISMES .....	72
<b>7</b>	<b>Les mécanismes régulateurs de la formation de biofilms .....</b>	<b>72</b>
7.1	LE QUORUM SENSING .....	72
7.2	LA REGULATION MOLECULAIRE EN BIOFILM CHEZ LES STAPHYLOCOQUES.....	73
<b>8</b>	<b>Biofilms et infections nosocomiales: pourquoi le traitement medical est souvent inefficace ?.....</b>	<b>75</b>
<b>9</b>	<b>Mécanismes de résistance des biofilms .....</b>	<b>76</b>
9.1	RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES .....	76
9.2	LA RESISTANCE A L'IMMUNITE .....	77
<b>10</b>	<b>Les infections associées à des biofilms .....</b>	<b>78</b>
<b>11</b>	<b>Diagnostic d'une infection à biofilm .....</b>	<b>81</b>
11.1	DIAGNOSTIC INDIRECT D'INFECTION A BIOFILM, SIGNES CLINIQUES .....	81
11.2	LES OUTILS UTILISES POUR DIAGNOSTIQUER LES INFECTIONS LIEES AUX BIOFILMS ....	81
<b>12</b>	<b>Méthodes d'étude <i>in vitro</i> des biofilms .....</b>	<b>84</b>
12.1	MESURE DE LA BIOMASSE .....	85
12.2	MESURE DE LA VIABILITE CELLULAIRE .....	86
12.3	MESURE DE LA MATRICE .....	87
12.4	METHODES DYNAMIQUES .....	88
<b>13</b>	<b>Stratégies thérapeutiques pour lutter contre les biofilms .....</b>	<b>88</b>
13.1	LES MESURES PREVENTIVES QUI EMPECHENT LA FORMATION DES BIOFILMS .....	88
13.2	TRAITEMENTS CURATIFS POUR L'ELIMINATION DES BIOFILMS DEJA FORMES .....	89
13.3	LES NOUVELLES APPROCHES ANTIBIOFILMS : LES APPORTS DE RECHERCHE ACTUELS.	90

## **PARTIE II : PARTIE EXPERIMENTALE**

### *Chapitre I : Matériel et Méthodes.*

<b>1</b>	<b>Principes de l'étude.....</b>	<b>95</b>
1.1	PROBLEMATIQUE .....	95
1.2	OBJECTIFS .....	95

1.3	CONDUITE A TENIR PRATIQUE .....	96
<b>2</b>	<b>Procédure d'étude .....</b>	<b>97</b>
2.1	TYPE D'ETUDE .....	97
2.2	LIEUX D'ETUDE .....	97
2.3	LA PERIODE D'ETUDE.....	97
2.4	LA POPULATION D'ETUDE .....	97
2.5	CRITERES D'INCLUSION .....	98
2.6	CRITERES D'EXCLUSION .....	98
2.7	RECUEIL DES DONNEES .....	98
<b>3</b>	<b>Matériel et méthodes.....</b>	<b>100</b>
3.1	PREPARATION DE LA SOUCHE DE REFERENCE .....	100
3.2	PRELEVEMENTS DES MATERIAUX .....	101
3.3	TRANSPORT DES ECHANTILLONS.....	104
3.4	TRAITEMENT DES ECHANTILLONS .....	104
3.5	ISOLEMENT .....	105
3.6	IDENTIFICATION.....	107
3.7	ETUDE DU COMPORTEMENT DES SOUCHES ISOLEES VIS-A-VIS DES ANTIBIOTIQUES ..	113
3.8	ETUDE DU BIOFILM STAPHYLOCOCCIQUE IN VITRO .....	116

## *Chapitre II : Résultats et discussions.*

<b>1</b>	<b>Résultats du prélèvement .....</b>	<b>120</b>
1.1	EFFET DE L'AGE DES PATIENTS SUR LA REPARTITION DES INFECTIONS .....	120
1.2	EFFET DU SEXE DES PATIENTS SUR LA REPARTITION DES INFECTIONS .....	121
1.3	REPARTITION DES PRELEVEMENTS SELON LES SERVICES DE L'HOPITAL .....	122
1.4	REPARTITION DES PRELEVEMENTS SELON LA NATURE DES DM .....	122
1.5	REPARTITION DES PRELEVEMENTS SELON LES BIOMATERIAUX ANALYSES .....	123
<b>2</b>	<b>Résultats des analyses bactériologiques .....</b>	<b>123</b>
2.1	ISOLEMENT .....	123
2.2	IDENTIFICATION DES ISOLATS .....	123
2.3	IDENTIFICATION PAR LE LOGICIEL « LOGIBACTER » .....	135
<b>3</b>	<b>L'antibiogramme .....</b>	<b>138</b>
<b>4</b>	<b>Etude de biofilm .....</b>	<b>141</b>
4.1	DETECTION DE LA SLIM PAR TCP, TM, RCA .....	141
4.2	CORRELATION ENTRE LES TROIS METHODES .....	145
4.3	QUANTIFICATION VISUELLE D'UN BIOFILM PAR DIFFUSION SUR GELOSE AU SANG ....	146
	<b>Conclusion .....</b>	<b>147</b>

- Références bibliographiques.
- Annexes.

*Fin*

# *Première partie*

## *Partie bibliographique*



*« C'est la théorie qui décide de ce que nous pouvons observer ... Si les faits ne correspondent pas à la théorie changez les faits »*

*Albert Einstein*

L'hôpital est un lieu où l'on traite, mais c'est également un lieu où le risque d'infection est très important et où les germes deviennent de plus en plus résistants. De ce fait, les infections contractées au niveau de l'hôpital sont reconnues comme des problèmes majeurs de santé publique de par leur fréquence, leur coût et leur gravité qui touche aussi bien les patients et leurs entourages que l'ensemble des professionnels de santé (**Chibi, 2015**).

L'OMS estime qu'entre 5 à 12 % des patients hospitalisés dans le monde développent une infection nosocomiale associée aux soins (**IAS**) dont plus de 60 % sont dues à l'implantation d'un dispositif médical ou chirurgicale (**Kara Terki, 2014**).

En fait, les biomatériaux sont souvent indispensables à la médecine actuelle et durant leur prise en charge, la plus part des malades hospitalisés sont exposés à cet acte, toutefois la multiplication bactérienne sur ces dispositifs implantables peut être à l'origine de nombreuses pathologies nosocomiales notamment lors d'interventions invasives (prothèses, cathéters ...) (**Kara Terki, 2014 ; Bali et Djebbas, 2015**).

Un des exemples les plus connus de micro-organismes qui sont souvent associés à ces infections qui sont dues à la présence d'un matériel étranger, sont les staphylocoques à coagulase négative (**SCN**) qui comptent parmi les bactéries les plus répandues de la peau humaine et de la microflore des muqueuses, avec prédominance *Staphylococcus epidermidis* où leur principal facteur de virulence est leur capacité à former un biofilm (**Ogara et Humphreys, 2001 ; Daouadji, 2010 ; Bali et Djebbas, 2015**).

Le Center for Disease Control and Prevention (**CDC**), estime qu'environ 65% des infections bactériennes sont dues à la présence des biofilms, qui constitue actuellement un problème majeur en clinique et qui est la cause de l'augmentation de la mortalité et du coût de traitement du fait que cette forme de vie confère aux bactéries une résistance importante aux antibiotiques et aux attaques du système immunitaire (**Chibi, 2015 ; Bali et Djebbas, 2015**).

C'est dans cette optique que nous envisageons dans ce présent travail, d'étudier la mise en évidence de la présence de SCN dans les surfaces des biomatériaux et de vérifier la capacité de *S. epidermidis* isolée des différents services à l'hôpital Cheguivara à former un biofilm.

Ce présent manuscrit comporte deux parties :

▪ **La première partie :**

Est consacrée à une synthèse bibliographique, qui contient 3 chapitres :

➤ **Le premier chapitre :**

Présente des connaissances générales sur les *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN) qui sont en sujet dans lequel nous allons traiter les différents méthodes biochimiques et moléculaires disponibles pour les identifier, ainsi de leur habitat, et de leur pouvoir pathogène en mettant en valeur l'espèce *S. epidermidis*.

➤ **Le deuxième chapitre :**

Développe la pathogénicité de ce groupe de bactérie en basant surtout dans le cas où ils sont multipliés sur les biomatériaux et/ou ils sont impliqués dans les infections chroniques nosocomiales.

➤ **Le troisième chapitre :**

Ça sera une étude d'un modèle de formation de biofilms à SCN sur un biomatériau, dans cette partie on va voir les effets néfastes de ces biofilms et on va donner à la fin des stratégies pour lutter contre ces agents nuisibles puis on va exposer des approches actuelles et futures pour prévenir et traiter ces infections nosocomiales qui sont liées aux implants médicaux.

▪ **Et la seconde partie :**

Est réservée à la présentation du matériel et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail. Cette partie présente aussi les résultats obtenus.

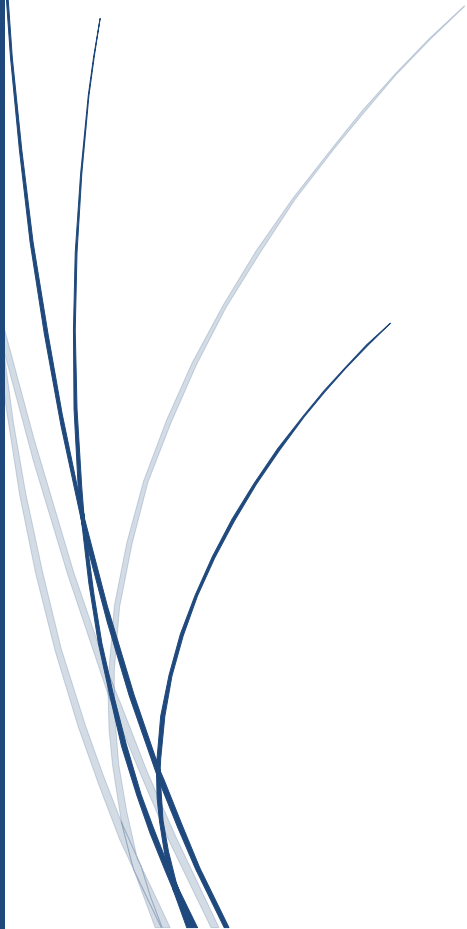
Une conclusion générale propose une mise en lumière des résultats essentiels et trace les perspectives qui ont été ouvertes par ce travail.

Les objectifs spécifiques de ce travail étaient de :

- Rechercher et détecter les infections liées aux dispositifs médicaux (**ILD**).
- Identifier et caractériser les staphylocoques à coagulase négatives responsables de ces infections.
- Etudier la sensibilité et la résistance de différents isolats des SCN par la méthode d'antibiogramme et dire pourquoi le traitement médical est parfois inefficace.
- Evaluer la capacité des souches de SCN isolées à adhérer et à former un biofilm sur les biomatériaux.

Chapitre I

# Les Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN)



Les infections bactériennes sont la cause majeure de la morbidité et de la mortalité en milieu hospitalier et la plus part du temps ces infections sont en relation avec les SCN. Dans un souci d'une meilleure connaissance de ces infections Staphylococciques, il est nécessaire d'étudier ce genre de bactéries en détails, d'une façon précise afin de trouver des solutions de protection contre ces derniers (**Kara Terki, 2014**).

## **1 Historique :**

Dès l'avènement de la microbiologie, la bactériologie en l'occurrence les staphylocoques ont été l'objet de nombreuses investigations menées par d'éminents microbiologistes à l'instar de Koch, Pasteur, Ogston et Rosenbach (**Chibi, 2015**).

En 1878, Robert Koch souligne le rôle pathogène de bactéries se présentant sous forme de cocci positivement colorés par les colorants de Gram (**Bakhoun et Ndeye, 2004**).

Ces cocci seront ensuite, isolées puis identifiées à partir du pus d'un furoncle et d'ostéomyélite par le scientifique français Louis Pasteur en 1880 (**Daouadji, 2010 ; Bakhoun et Ndeye, 2004**).

Puis baptisés en 1883 par le chirurgien écossais Alexander Ogston sous le nom du *Staphylococcus*, qui provient de l'association de deux mots grecs "staphylle" qui signifie « grappe de raisin » et de « kokkos » qui signifie "graine" (**Trouillet, 2017**).

En 1884, et par Auton Julius Friedrich Rosenbach ils sont obtenus en culture pure et classés en fonction de la pigmentation de leurs colonies: en *Staphylococcus aureus* du latin "orange" et *Staphylococcus albus*, du latin "blanche" (**Bakhoun et Ndeye, 2004**).

Ainsi, il montrait que *S. aureus* était responsable de furoncles et d'infections des plaies alors que *S. epidermidis* colonisait la peau (**Daouadji, 2010**).

## **2 Généralités sur les Staphylocoques :**

Les staphylocoques constituant normaux de la microflore cutanée et muqueuse, sont les bactéries les plus fréquemment isolées des cathéters. Dans le cas des cathéters, comme en chirurgie orthopédique, ce sont les staphylocoques, bactéries commensales de la peau, qui seront le plus souvent incriminés (**Afissa, 2014**).

De nombreuses souches de staphylocoques possèdent la capacité de produire du biofilm, ce qui leur permet d'adhérer plus facilement à du matériel médical. Ils sont responsables de la grande majorité des infections causées par des biofilms (**Afissa, 2014**).

Ils sont potentiellement pathogènes essentiellement dans certaines circonstances : implantation de corps étrangers et/ou déficit immunitaire (**Bali et Djebbas, 2015**).

Ils représentent une proportion importante parmi les bactéries responsables d'infections graves. Ils sont observés dans de multiples situations cliniques, aussi bien en pathologie communautaire qu'en pathologie nosocomiale (Afissa, 2014).

Les espèces les plus impliquées dans les infections sont (Bakhoum et Ndeye, 2004):

- *S. aureus*, le plus pathogène.
- *S. epidermidis*, souvent considéré comme un opportuniste.
- *S. saprophyticus*, responsable d'infections urinaires chez la femme jeune.
- Et à fréquence moindre on trouve, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*, et *S. auricularis* (Michael et Loreen 1988 ; Curie, 2003).

### 3 Classification :

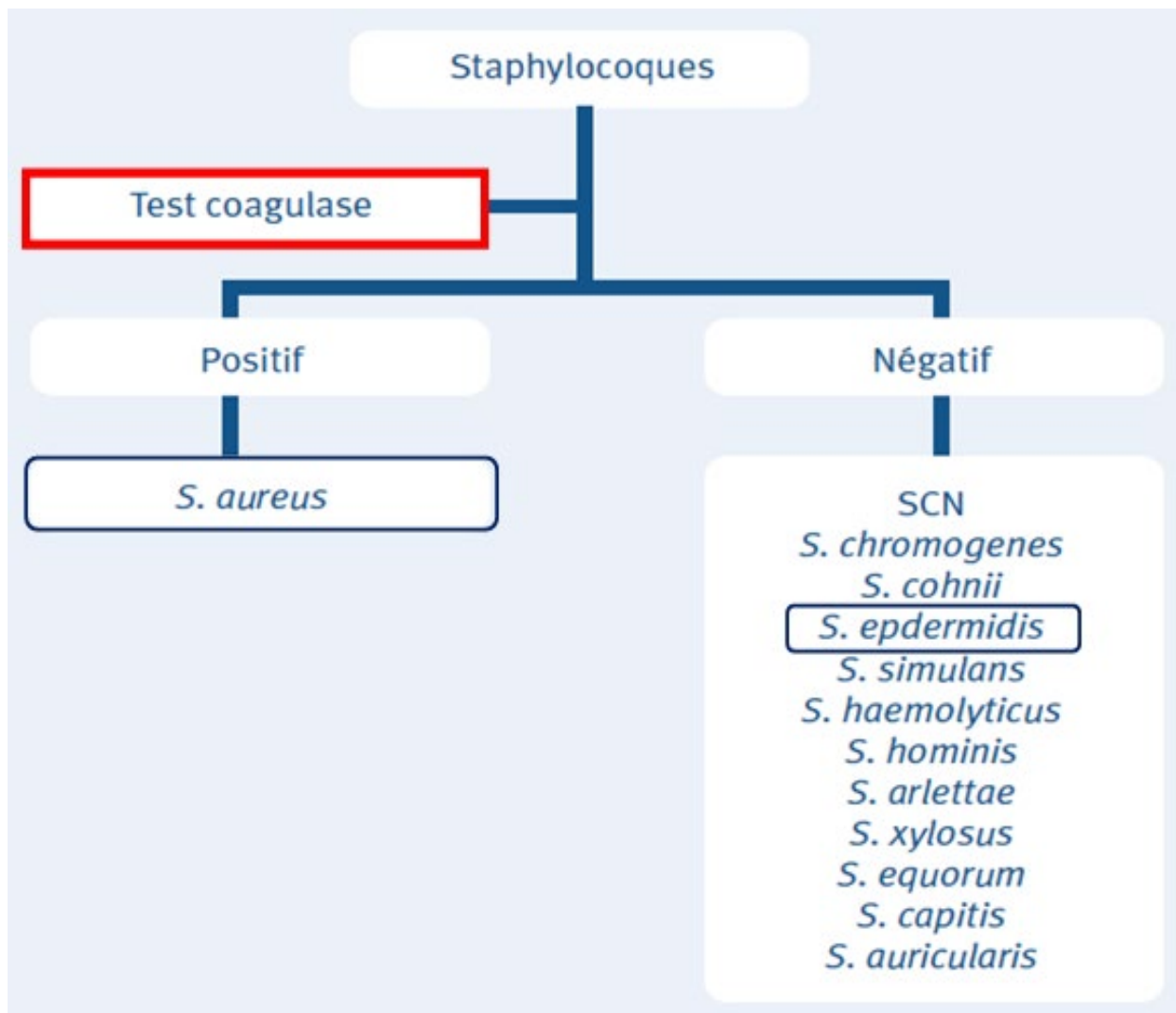
La classification des staphylocoques a connu de nombreux bouleversements, mais avec la découverte de nouvelles méthodes d'identification au cours des dernières décennies. Les Staphylocoques appartiennent aujourd'hui à la famille des *Staphylococaceae*. Cette dernière, avec *Bacillaceae*, *Planococcaceae*, *Listeriaceae*, *Paenibacillaceae* et d'autres familles appartient à l'ordre des *Bacillales* de la classe *Bacilli*. Les *Bacilli* font partie du phylum des *Firmicutes*, qui comprend les bactéries à Gram-positif avec un ADN plutôt faible en contenu G+C. Les *Staphylococaceae* comprennent quatre genres : *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Planococcus* et *Stomatococcus*. Le genre *Staphylococcus* montre qu'il existe actuellement 47 espèces et 23 sous-espèces (Lanne, 2016) qui est largement divisés en deux grands groupes :

- ❖ Le premier groupe comprend : les Staphylocoques à coagulase positive (SCP).
- ❖ Le deuxième groupe comprend : les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) (Bisognano, 2000).

### 4 La différence entre les *Staphylococcus* à coagulase positive (SCP) et les *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN) :

✓ Le critère de base de la classification des espèces de staphylocoques reste la production de **coagulase libre** : enzyme responsable de la coagulation des sérums humain et cunicole (Bali et Djebbas, 2015).

- Ceux produisant une coagulase libre : *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. schleiferi*...  
→ Ils sont appelés : *Staphylococcus* à Coagulase Positive (SCP).
- Ceux n'en produisant pas : *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. hemolyticus*...  
→ Ils sont appelés *Staphylococcus* à Coagulase Négative (SCN) ou *Staphylococcus* non *aureus* (Bergon, 2016) (Figure 1).



**Figure 1:** Les deux grands groupes des *Staphylococcus* selon la coagulase  
(Dufour *et al.* , 2009).

- ✓ De plus, à la différence de *S. aureus*, les staphylocoques « blancs » principalement *S. epidermidis* (70%) font naturellement partie des flores cutané-muqueuses de l'homme. Ces staphylocoques sont potentiellement pathogènes essentiellement dans certaines circonstances comme l'implantation de corps étrangers (Bali et Djebbas, 2015)
- ✓ En outre, la majorité des SCN sont incapables de fermenter le mannitol contrairement aux SCP (*S. aureus*), donc leur identification plus complète repose sur des caractères bactériologiques classiques tels que (nitratase, phosphatase, ornithine décarboxylase, fermentations sucrées ...) (Decoster, 2005) (annexe 1).

**5 Les *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN) :****5.1 Généralité :**

Longtemps opposés aux « Staphylocoques dorés » réputés dangereux, ou « Staphylocoques blancs », actuellement, on les désigne sous le nom de « Staphylocoques à coagulase négative », car contrairement aux *S. aureus*, la plupart d'entre eux sont dépourvus de cette enzyme. Ils étaient considérés comme de simples commensaux de la peau et des muqueuses car ils sont omniprésents (**Decoster, 2005**).

Comme groupe, les espèces de SCN sont parmi les bactéries les plus fréquemment isolées au sein des laboratoires de microbiologie clinique. Un des problèmes majeurs rencontré dans les laboratoires se situe au niveau de la discrimination entre les souches cliniquement importantes possédant un potentiel pathogénique et les souches présentes dans les échantillons comme contaminants. La majorité des infections causées par les SCN sont d'une importance assez élevée pour justifier une hospitalisation (**Francis, 1997**).

Parmi eux on trouve quelques espèces pathogènes opportunistes pour l'homme et les mammifères, telles que *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. caprae*, et *S. hominis*. Ainsi, depuis la découverte de l'implication de certaines espèces de SCN dans des infections humaines, l'identification plus précise des membres du groupe des SCN présente un intérêt majeur (**Corbiere, 2006**).

**5.2 Habitat et répartitions des espèces :**

Les SCN sont largement répandus dans la nature et sont couramment isolés de la flore commensale cutanée, des glandes et des muqueuses des mammifères et des oiseaux. Ils sont parfois retrouvés dans la bouche, le sang, les glandes mammaires ainsi qu'au niveau des appareils intestinal, génital et respiratoire de ces hôtes.

Les staphylocoques peuvent subsister dans l'environnement de leurs hôtes, comme les primates, qui constitueraient les hôtes naturels majeurs de ce genre bactérien (**Corbiere, 2006**) (**Tableau 1**).

Tableau 1: Répartition des SCN en fonction de l'hôte (Kloss et Lambe, 1981).

Hôte	Homme	Homme et animaux	Animaux
Les espèces	<i>S.schleiferi schleiferi</i>	<i>S.cohnii</i>	<i>S.orelettoe</i>
	<i>S.lugdunensis</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.caprae</i>
	<i>S.capitis</i>	<i>S.haemolyticus</i>	<i>S.carnosum</i>
	<i>S.saccharolyticus</i>	<i>S.intermedius</i>	<i>S.caseolyticus</i>
	<i>S.hominis</i>	<i>S.saprophyticus</i>	<i>S.chromogenes</i>
		<i>S.simulans</i>	<i>S.delphini</i>
		<i>S.warneri</i>	<i>S.equarum</i>
		<i>S.xylois</i>	<i>S.felis</i>
			<i>S.gallinarium</i>
			<i>S.hyicus</i>
			<i>S.kloosii</i>
			<i>S.lentus</i>
			<i>S.muscosae</i>
			<i>S.pscifermetans</i>
			<i>S.schleiferi coagulans</i>
			<i>S.scicuri</i>
		<i>S.vitulus</i>	

Cette répartition varie légèrement selon l'âge, les habitudes, le mode de vie, et une éventuelle antibiothérapie (Decoster, 2005).

#### Des exemples :

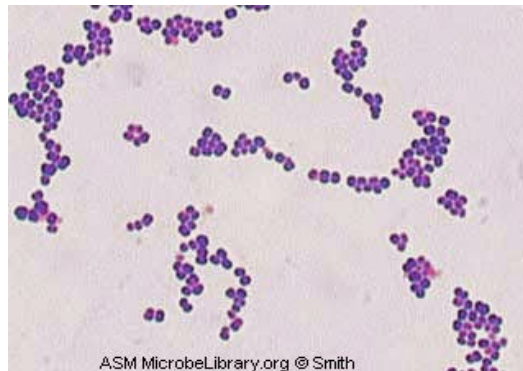
- Chez l'homme *S. epidemidis* domine largement, en particulier sur la peau, mais sur certains sites on trouve aussi d'autres espèces.
- *S. capitis* sur le cuir chevelu.
- *S. auricularis* dans le conduit auditif externe.
- *S. hominis* ou *S. hoemolyticus* sur les zones sèches.
- Sur les muqueuses intestinales ou nasales on isole surtout *S. epidermidis*.
- Et sur la muqueuse vaginale *S. epidermidis* et *S. saprophyticus* (Decoster, 2005)

### 5.3 Caractères bactériologiques :

#### 5.3.1 Caractères morphologiques et structuraux :

A l'examen microscopique, les staphylocoques dont les SCN se présentent sous l'aspect de coques en petits amas, en diplocoques ou en très courtes chaînettes de 3 à 5 éléments positivement colorés au Gram (**Kloss et Lambe, 1981 ; Bakhoun et Ndeye, 2004**).

Ils sont immobiles, non sporulés, ne possédant pas de capsule visible au microscope optique sauf pour de très rares souches, ils ont une catalase positive, et oxydase négative (**Bisognano, 2000 ; Heilmann et Peters, 2014**) (Figure 2).



**Figure 2** : Observation de cocci à Gram positif en amas (ex : *Staphylococcus*) (**Verdier et al., 2015**).

#### 5.3.2 Caractères cultureux :

- ✓ La plupart des SCN ont un métabolisme aéro-anaérobie facultatif, poussant sur les milieux ordinaires en aérobiose et anaérobiose à l'exception de *S. saccharolyticus* qui est catalase négative (**Bisognano, 2000 ; Bakhoun et Ndeye, 2004**).
- ✓ Leur température optimale de croissance est de +30 à +45°C avec un maximum à 37°C et le pH varie entre 4,8 à 9,4 avec un optimum à 7,5 (**Bakhoun et Ndeye, 2004**).

Ils sont peu exigeants :

- ✓ Certaines souches nécessitent cependant une forte pression en CO<sub>2</sub> pour une croissance optimale ainsi que la présence d'autres métabolites tels que l'hémine ou la ménadione.
- ✓ Cependant, certains facteurs de croissance sont indispensables pour la multiplication de ces germes ; ce sont la Vitamine B1 et l'acide nicotinique (**Bergon, 2016**).

### 5.3.3 Caractères biochimiques et métaboliques des Staphylocoques :

L'étude des différents caractères biochimiques et métaboliques des souches de SCN a permis le développement de galeries d'identification API Staph rapides et efficaces, permettant de définir les différents profils biochimiques de souches appartenant à une même espèce (Michael et Loreen, 1988 ; Bakhoun et Ndeye, 2004) (Tableau 2).

**Tableau 2:** Galeries biochimiques d'identification des SCN (Verdier *et al.*, 2015).

<i>Staphylococcus</i>	Diamètres des colonies (S)>5mm	Croissance anaérobie en thioglycare	Lysostaphine (R à 50µg/ml)	Hémolyse (érythrocytes de boeuf)	Réduction de nitrate	Phosphatase	Novobiocine (R à 1.6µg/ml)	Coagulase	Fructose	Galactose	Mannose	Xylose/arabinose	Ribose	Maltose	Lactose	Saccharose	Trhéalose	Turanose	Mélicitose	Manitol	Xylitol
<i>saprophyticus</i>	+	+/ $\pm$	+	-	-	(+)	+	-	+	-	-	-	-	+	(+)	+	+	+	-	+	+/ $\pm$
<i>epidermidis</i>	-	+	+	-/ $\pm$	+/ $\pm$	+	-	-	+	(+)	(+)	-	-	+	(+)	+	-	v	(-)	-	-
<i>haemolyticus</i>	(+)	$\pm$ C	+	(+)	+	(-)	-	-	-+	v	-	-	(-)	+	-+	+	+	v	-	+/-	-

Légende : + positif ;  $\pm$  faible ; - : négatif ; V : variable ; ces signes indiquent une fréquence de 90 à 100 p.100 ; entre ( ) ils indiquent une fréquence de 70 à 89 p.100 ;  $\pm$ C : gradient avec de grosses colonies.

### 5.3.4 Caractères généraux (annexe 1) :

#### Test de catalase et oxydase :

Toutes les SCN possèdent une catalase à l'exception de *S. saccharolyticus*, et ce sont des germes dépourvus d'oxydase en dehors de *S. lentus*, *S. sciuri*, *S. caseolyticus*, *S. fleurettii*, et *S. vitulinus* qui ont oxydase positive (Mendes, 2005 ; Corbiere, 2006).

#### Production d'Uréase :

Les souches de *S. epidermidis*, *S. intermedius* et la plupart des souches de *S. saprophyticus* sont uréase positive (Kloss et Lambe, 1981).

**✚ Production d'acétoïne :**

Montel *et al.* (1996) ont montré la corrélation entre une forte production de diacétyle et d'acétoïne *in vitro* par des souches de *S. saprophyticus* et de *S. warneri* (Corbiere, 2006).

**✚ Production de décarboxylases :**

La production de l'ornithine décarboxylase (ODC) concerne essentiellement l'espèce *S. lugdunensis* et secondairement certaines souches de *S. epidermidis* dont l'enzyme a cependant une activité retardée (Kloss et Lambe, 1981).

**✚ Production de la bêta-galactosidase :**

Ce test est positif pour *S. intermedius*, et la plus part des souches de *S. saprophyticus* et *S. xylosus*. Par contre les souches de *S. schleiferi* sont faiblement positives ou ont une positivité retardée (Kloss et Lambe, 1981).

**✚ Réduction des Nitrates :**

La plupart des souches de *S. xylosus*, *S. equorum* et *S. lentus* étaient capables de réduire le nitrate en nitrite à 30°C. Cependant cette activité était retrouvée de façon beaucoup plus sporadique chez *S. saprophyticus*, *S. succinus* et *S. warneri* (Aurore, 2014).

**✚ Utilisation des hydrates de carbone :**

Chez *S. xylosus* une grande variété des hydrates de carbone tels que (glucose, fructose, mannose, maltose, xylose, mannitol, saccharose et glycérol...) est métabolisée en acides (Dordet et Frisoni, 2007),

**✚ Sensibilité à la lysostaphine et au lysozyme :**

Toutes les Staphylocoques y compris les SCN sont sensibles à la lysostaphine et résistent au lysozyme (Mendes, 2005).

**✚ Test à la benzidine :**

Ce test est positive chez *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. haemolyticus*, et *S. xylosus* (Karl et Wesley, 1975).

**✚ Test à la nitrofurantoïne:**

Les SCN sont plus sensibles aux nitrofuranes (Mendes, 2005).

**✚ Test à la bacitracine :**

La plupart sont résistants à la bacitracine (Corbiere, 2006).

#### ✚ Test au composé vibriostatique O/129 :

En méthode de diffusion sur gélose de Mueller-Hinton les Staphylocoques apparaissent résistants et ne présentent généralement aucune zone d'inhibition de croissance autour du disque (Mendes, 2005).

#### ✚ Sensibilité à la Polymyxine B (300 unités) :

*S. epidermidis*, *S. aureus* et quelques souches de *S. hominis* sont résistantes avec un diamètre d'inhibition inférieur à 10 mm (Kloss et Lambe, 1981).

#### ✚ Activité phosphatasique :

Les souches productrices de la phosphatase alcaline sont : *S. schleiferi*, *S. intermédius*, *S. hyicus* et la plupart des souches de *S. epidermidis* (Michael et Loreen, 1988).

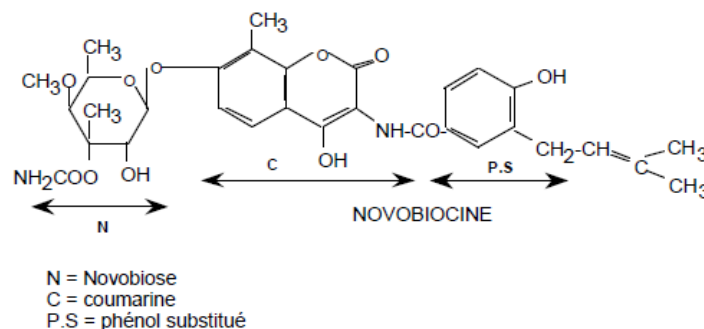
#### ✚ Recherche de la pyrrolidonylarylamidase :

Les souches productrices de cette enzyme sont *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*, *S. schleiferi* et *S. intermedius* (Kloss et Lambe, 1981).

#### ✚ Résistance à la Novobiocine :

Les staphylocoques sont habituellement classés selon le critère de sensibilité ou de résistance à la novobiocine. Cette dernière est un antibiotique bacteriostatique peu utilisée en thérapeutique, pouvant s'avérer très actif sur les bactéries à Gram positif, en particulier les SCN. Son action consiste en l'inhibition de la réplication de l'acide désoxyribonucléique (ADN), ce qui empêche la fixation de l'ATP sur la sous-unité <sup>2</sup> de l'ADN-gyrase, phénomène fournissant l'énergie nécessaire au fonctionnement de cette enzyme. Ainsi, son action se limite à la sous-unité <sup>2</sup>, contrairement à celle des quinolones qui s'étend à la sous-unité <sup>±</sup> avec pour conséquence le relâchement du surenroulement et le clivage de l'ADN.

La structure de la novobiocine dérive de la coumarine et elle présente dans sa formule un sucre : le novobiose, et un phénol substitué (Kloss et Lambe, 1981).



La concentration minimale inhibitrice (CMI) de cet antibiotique est supérieure ou égale à 1,6µg /ml. Ainsi les souches de staphylocoques se développant dans un bouillon contenant une quantité de novobiocine à cette concentration ou ayant sur gélose un diamètre d'inhibition inférieur ou égale à 15mm pour un disque chargé de 5µg de l'antibiotique sont dites novobiocine résistantes. Ce sont généralement les souches de *S. saprophyticus*, *S. cohnii cohnii*, *S. cohnii urealyticum* et *S. xylosus* (Kloss et Lambe, 1981).

#### ✚ Résistance à la Méthicilline :

La recherche de la résistance à la méthicilline ou recherche des bactéries multi-résistantes (BMR) est essentielle dans l'antibiothérapie anti-staphylococcique.

En effet, La multi-R aux antibiotiques, notamment à la méthicilline et aux aminoglycosides, est fréquemment rencontré chez *S. epidermidis* et *S. haemolyticus*, fréquemment isolés en milieu hospitalier (Verdier *et al.*, 2015).

De plus, ces souches présentent une multi-résistance simultanée à la plupart des antibiotiques actifs sur les staphylocoques, notamment l'érythromycine, la clindamycine, les tétracyclines, le chloramphénicol, la gentamycine, les bêta-lactamines en général (Kloss et Lambe, 1981).

## 5.4 L'identification des staphylocoques à Coagulase negative (SCN) :

### 5.4.1 Les méthodes phénotypiques :

Les critères phénotypiques utilisés pour orienter l'identification incluent :

- La résistance à la novobiocine.
- La recherche de l'activité oxydasique (Corbiere, 2006) (Tableau 3).
- La taille des colonies.
- La production de pigments caroténoïdes.
- Les conditions de croissance.
- Et divers tests biochimiques, ces derniers comprennent la recherche de la production d'acide à partir de différents glucides et de certaines enzymes, tels que la hyaluronidase, la nitrate réductase et de l'activité hémolytique sur gélose au sang.

Toutes les SCN sont capables de croître sur milieu thioglycolate en conditions anaérobies, excepté *S. arlettae*, *S. auricularis*, *S. kloosii*, *S. succinus* et *S. vitulinus*. Ces différents tests, couplés à d'autres tests métaboliques, sont commercialisés sous forme de galeries miniaturisées API® Staph (Kloss et Lambe, 1981 ; Corbiere, 2006).

**Tableau 3:** Classification phénotypique des espèces et sous-espèces du genre *Staphylococcus* à coagulase négative (Corbiere, 2006).

Espèce et sous- espèces à coagulase négative		
Sensibilité à la novobiocine et à l'oxydase négative	Résistance à la novobiocine et à l'oxydase négative	Résistance à la novobiocine et à l'oxydase positive
<i>S. auricularis</i>	<i>S. arlettae</i>	<i>S. fleurettii</i>
<i>S. capitis</i> subsp. <i>capitis</i>	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>cohnii</i>	<i>S. lentus</i>
<i>S. capitis</i> subsp. <i>ureolyticus</i>	<i>S. cohnii</i> subsp. <i>urealyticum</i>	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>carnaticus</i>
<i>S. caprae</i>	<i>S. equorum</i> subsp. <i>equorum</i>	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>rodentium</i>
<i>S. carnosus</i> subsp. <i>carnosus</i>	<i>S. equorum</i> subsp. <i>linens</i>	<i>S. sciuri</i> subsp. <i>sciuri</i>
<i>S. carnosus</i> subsp. <i>utilis</i>	<i>S. gallinarum</i>	<i>S. vitulinus</i>
<i>S. chromogenes</i>	<i>S. hominis</i> subsp. <i>novobiosepticus</i>	
<i>S. condimenti</i>	<i>S. kloosii</i>	
<i>S. epidermidis</i>	<i>S. nepalensis</i>	
<i>S. felis</i>	<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>bovis</i>	
<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i> subsp. <i>saprophyticus</i>	
<i>S. hominis</i> subsp. <i>hominis</i>	<i>S. succinus</i> subsp. <i>casei</i>	
<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. succinus</i> subsp. <i>succinus</i>	
<i>S. muscae</i>	<i>S. xylosus</i>	
<i>S. pasteurii</i>		
<i>S. piscifermentans</i>		
<i>S. saccharolyticus</i>		
<i>S. schleiferi</i> subsp. <i>schleiferi</i>		
<i>S. simulans</i>		
<i>S. warneri</i>		

#### 5.4.2 Les méthodes moléculaires :

Des méthodes génotypiques basées sur la détection du polymorphisme des acides nucléiques ont été introduites en identification bactérienne. En raison de l'avènement de l'amplification génique telle que la **PCR** (amplification de séquence d'ADN par polymérisation en chaîne) et des progrès technologiques (séquenceurs automatiques, banques de données accessibles par Internet, acquisition et analyses informatiques de profils électrophorétiques...), ces méthodes sont de plus en plus utilisées (Corbiere, 2006).

##### 5.4.2.1 Les techniques basées sur la PCR « Polymerase Chain Reaction »

La technique PCR connaît de nombreuses applications telles que :

- La PCR espèce ou genre- spécifiques.
- La PCR multiplex.
- La PCR quantitative (dite en temps réel)
- Et la RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA) (Corbiere, 2006).

**A. Les PCR genre ou espèce- spécifiques :**

Dans le cas des espèces de SCN, peu de couples d'amorces espèce-spécifiques ont été développés. Seules 7 espèces peuvent actuellement être identifiées par cette méthode : *S. carnosus*, *S. epidermidis*, *S. equorum*, *S. saprophyticus*, *S. simulans*, *S. warneri* et *S. xylosus*. Néanmoins, l'identification des SCN basée sur les séquences de l'ARNr 16S semble avoir un pouvoir discriminant limité lorsque les espèces sont phylogénétiquement très proches. D'autres amorces ciblant des espèces de SCN impliquées dans les pathogénies opportunistes humaines et bovines, comme *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. simulans* et *S. warneri* ont été développées.

- Par exemple **Martineau et al., (1996)** ont développé des amorces ciblant l'espèce *S. epidermidis* par criblage de banques d'ADN génomique, qui leur a permis d'isoler des séquences d'ADN chromosomique spécifiques pour cette espèce.
- **Forsman et al., (1997)** ont séquencé la région inter-génique entre les ADNr 16S et 23S et développé des amorces spécifiques de *S. epidermidis*. Cela leur a permis d'identifier des souches de cette espèce isolées de mammites bovines.
- Pour l'espèce *S. saprophyticus*, **Martineau et al., (2000)** ont développé un couple d'amorces spécifiques grâce à une approche par RAPD, et l'ont utilisé pour identifier des souches d'origine clinique (**Corbiere, 2006**).

**B. PCR multiplex :**

La PCR multiplex est une technique de polymérisation en chaîne qui utilise plusieurs couples d'amorces dans une même réaction. Elle a l'avantage de permettre un gain de temps par rapport à une PCR qui utilise un seul couple d'amorces (**Corbiere, 2006**).

Les exemples dans la littérature qui décrivent l'utilisation de la PCR multiplex concernent la caractérisation de la résistance aux antibiotiques des souches de *S. epidermidis* d'origine clinique. Ainsi, **Stuhlmeier et Stuhlmeier (2003)** ont appliqué la technique de PCR multiplex pour la caractérisation des souches de cette espèce résistantes à la méthicilline.

De même, les travaux de **Martineau et al., (2000)** rapportent l'utilisation de trois couples d'amorces permettant de caractériser dans la même réaction les souches de *S. epidermidis* résistantes à l'oxacilline, à la gentamicine ou à l'érythromycine (**Corbiere, 2006**).

**C. PCR en temps réel :**

Cette méthode a été utilisée comme méthode d'identification des souches cliniques de SCN.

Edwards *et al.*, (2001) développèrent un système original de quatre sondes couplées deux à deux et ciblant certaines régions variables de l'ADNr 16S, permettant notamment l'identification des espèces *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. hominis*, *S. lugdunensis*, *S. saprophyticus*, *S. sciuri*, *S. simulans* et *S. warneri* grâce aux profils caractéristiques des courbes d'hybridation (Corbiere, 2006).

#### D. RAPD (Randomly Amplified Polymorphic DNA):

La **RAPD** est une méthode basée sur l'analyse du polymorphisme des fragments d'ADN amplifiés par **PCR** à l'aide d'une courte amorce oligo-nucléotidique (10 nucléotides). Une étude récente a mis l'accent sur l'utilité de la méthode **RAPD** pour une discrimination rapide des souches de SCN impliquées dans des infections transfusionnelles (Corbiere, 2006).

##### 5.4.2.2 Les techniques d'analyse du polymorphisme de l'ADN :

Le polymorphisme du génome bactérien est une autre approche utilisée pour identifier les espèces de SCN. Celui-ci peut être analysé au niveau de la séquence, mais aussi au niveau du génome tout entier. Ainsi, plusieurs techniques ont été développées, comme par exemple la (**SSCP**) Single Strand Conformation Polymorphism, la (**DGGE**) Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, et la (**TTGE**) Temporal Temperature Gradient gel Electrophoresis qui explorent le polymorphisme des ADN sous forme dénaturée, ou encore les non dénaturés. Enfin, la (**PFGE**) Pulsed Field Gel Electrophoresis permet d'étudier le polymorphisme des génomes bactériens dans leur ensemble après une macro restriction (Corbiere, 2006).

##### 5.4.2.3 Séquençage de gènes :

Le genre *Staphylococcus* étant complexe et sans cesse remanié, certains auteurs se sont attachés à étudier la phylogénie et à identifier les staphylocoques grâce au séquençage de gènes. De nombreux gènes sont des cibles potentielles pour identifier les SCN.

- Le premier à avoir été ciblé fut le gène codant les ARNr 16S. Ce gène s'avère être trop conservé au sein de ce genre pour permettre une bonne discrimination entre les espèces.
- Une étude récente a montré que du fait du caractère conservé des séquences codant les ARN ribosomiaux, la spécificité des amorces ciblant le *rrn16S* pourrait être limitée par leur faible capacité à discriminer des espèces taxonomiquement proches, comme c'est le cas de *S. xylosus* et *S. equorum*.
- Certaines études se sont attachées à utiliser d'autres gènes, plus pertinents pour séparer les espèces, Comme par exemple le gène *hsp60*, qui code une protéine de choc thermique de 60 kDa, a été séquencé et comparé chez 40 espèces et sous-espèces de staphylocoques.

L'analyse phylogénétique basée sur le gène *hsp60* s'est révélée intéressante car ce gène est conservé au sein du genre *Staphylococcus* tout en présentant une bonne diversité de séquence inter-espèces, donc constitue un bon moyen de les discriminer.

- **Drancourt et Raoult (2002)** ont basé l'identification des espèces de staphylocoques sur la comparaison des séquences du gène *rpoB*, qui code pour la sous-unité bêta de l'ARN polymérase. Ce gène est suffisamment divergent entre espèces pour être utilisable comme outil d'identification, et l'arbre phylogénétique qui en a résulté s'est avéré très bien corrélé avec celui construit sur la base des séquences du gène *hsp60*.
- Enfin, le gène *sodA* codant la superoxyde dismutase manganèse-dépendante a été séquencé chez plusieurs espèces et sous-espèces de staphylocoques par **Poyart et al., (2001)**. Ce gène présente lui aussi une grande diversité de séquence inter-espèces, et a permis l'élaboration d'une base de données de séquences *sodA* de staphylocoques de référence. Cette dernière a servi au développement de nouvelles techniques d'identification telle que la « Staph-Array », basée sur l'utilisation de sondes d'espèce spécifique (**Corbiere, 2006**).

#### 5.4.2.4 Hybridations :

L'hybridation ADN-ADN est actuellement la méthode de référence pour identifier les bactéries au niveau de la famille, du genre ou de l'espèce. Leur principe est applicable à des fragments d'ADN. Diverses sondes marquées peuvent être utilisées pour la détection, l'identification et le typage des bactéries. Parmi les techniques correspondante est la ribotypie. Le ribotypage est une méthode est utilisée actuellement pour typer des souches de staphylocoques, **Gory et al., (1999)** ont développé des sondes oligonucléotidiques ciblant l'ADNr 16S pour identifier les espèces *S. carnosus*, *S. warneri* et *S. saprophyticus*. Ces sondes sont spécifiques par hybridation en dot-blot (ARN/ADN). En hybridation *in situ*, seules les sondes ciblant *S. carnosus* et *S. warneri* ont été spécifiques (**Corbiere, 2006**).

D'autres travaux se sont attachés à développer des sondes ciblant d'autres gènes que ceux codant les ARN ribosomaux pour l'identification des staphylocoques. Par exemple, **Goh et al., (1996)** ont montré qu'une région de **600 pb** du gène codant la protéine de choc thermique HSP60 isolée chez différentes espèces de staphylocoques pouvait être utilisée comme sonde spécifique d'espèce. Ainsi ils ont développé des sondes spécifiques de *S. epidermidis*, *S. lugdunensis* et *S. saprophyticus*. Leur méthode a permis par la suite d'identifier avec succès les espèces *S. sciuri*, *S. caseolyticus*, *S. hominis*, *S. warneri* et *S. capitis* (**Corbiere, 2006**). Les puces à ADN, qui associent sur une même surface l'utilisation d'un certain nombre de sondes spécifiques, constituent une autre voie exploitée pour identifier les SCN.

Ainsi, la puce développée par **Couzinet et al., (2005)** a permis d'identifier 30 espèces appartenant au genre *Staphylococcus*, dont 23 SCN, sur la base du gène *rrn16S*. Seules les espèces *S .carnosus*, *S .lugdunensis* et *S .saprophyticus* ne purent pas être identifiées par cette méthode (**Corbiere, 2006**).

### 5.5 Epidémiologie :

Selon l'étude du National Nosocomial Infections Surveillance (**NNIS**), Les SCN représentent 9% des bactéries responsables d'infections nosocomiales, tous sites confondus.

Ils sont également responsables de 4% des infections urinaires d'origine nosocomiale.

Une étude japonaise plus récente retrouve même jusqu'à 10% de SCN isolés dans les urines. Dans les différentes spécialités médico-chirurgicales, *S .epidermidis* est l'espèce dont les manifestations cliniques sont les plus fréquentes (**Herard et al., 1998**). *S. epidermidis* est particulièrement retrouvé dans les bactériémies rencontrées à l'hôpital, dans les infections des shunts ventriculo-péritonéaux, dans les infections sur cathéters de dialyse péritonéale, ainsi que dans les infections sur prothèses valvulaires cardiaques. En urologie : *S. epidermidis* est isolé dans les infections urinaires à SCN avec une fréquence qui varie de 36 à 48%. On la retrouve plus particulièrement chez les patients hospitalisés et/ou porteurs d'une sonde vésicale (**Bakini et Nigri, 2014**). Il faut signaler aussi le cas particulier des infections urinaires dues à *S. saprophyticus* frappant surtout les femmes jeunes (**Decoster, 2005**) Tous sites confondus, *S. haemolyticus* est le second des SCN le plus souvent isolé. On le retrouve plus fréquemment associé aux endocardites sur valves natives, bactériémies, péritonites et infections sur cathéters veineux centraux. Il est responsable de 1,5% des infections urinaires et représente de 7,2 à 22% des infections urinaires à SCN (**Herard et al., 1998**).

### 5.6 Caractéristiques générales des infections causées par les SCN :

1. La plupart des infections sont d'origine nosocomiale.
2. Les espèces acquises de façon nosocomiale sont à **>80%** représentées par *S. epidermidis*.
3. Les espèces acquises de façon nosocomiale sont à **>80%** résistantes aux **B-lactamines** (Résistance hétéro-typique) et à au moins trois autres antibiotiques (multi-résistance).
4. Les infections impliquent généralement des dispositifs médicaux agissants comme corps étrangers (cathéters, sondes, etc.).
5. Le retrait du corps étrangers est requis pour permettre une guérison de l'infection.
6. Les infections sont souvent indolores, avec de longues périodes de latence entre la contamination de l'appareil médical et l'apparition des symptômes de la maladie (**Francis, 1997**).

## 5.7 Les mécanismes pathogènes des staphylocoques à coagulase négative :

### 5.7.1 Toxines :

La pathogénie des infections à SCN, bien qu'encore mal connue, diffère sensiblement de celle des infections à *S. aureus* (Laydi, 2013). Des études *in vitro* ont montré la production de delta-toxine par *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* et *S. haemolyticus*. Son rôle exact dans l'infection est en cours de recherche (Herard *et al.*, 1998).

### 5.7.2 Enzymes :

Par définition, les SCN ne produisent pas de coagulase, mais ils produisent la lipase, la fibrinolysine et une variété de protéase. La lipase, en hydrolysant les lipides, permet aux SCN de coloniser les glandes sébacées de la peau. Le rôle spécifique des autres enzymes n'est pas clairement défini, mais il est probable qu'elles participent à la colonisation de ces bactéries ou du moins à leur persistance dans l'environnement (Herard *et al.*, 1998).

### 5.7.3 L'organisation en biofilm et la production de «slime» :

Les capacités d'adhésion des staphylocoques aux cellules humaines, aux matrices extracellulaires et aux corps étrangers sont des facteurs essentiels des processus de colonisation et d'infection, aboutissant à la formation de ces communautés structurées de cellules bactériennes entourées d'une matrice polymérique autoproduite et adhérant à une surface inerte ou vivante, que sont les biofilms (Afissa, 2014). Cette organisation confère aux bactéries une protection accrue en diminuant l'action des antibiotiques, avec de lourdes conséquences en matière de risque nosocomial. Le «slime» est une substance visqueuse extracellulaire «glucuronoconjuguée» produite par certains SCN. Plusieurs études montrent que le «slime» permet aux SCN d'adhérer aux surfaces lisses comme celles des cathéters. Le «slime» semble inhiber le chimiotactisme des polynucléaires neutrophiles, ce qui diminue la phagocytose. Il aurait d'autres effets sur la réponse immunitaire en interférant au niveau de la sécrétion de lymphokines par les lymphocytes T helper. Ces propriétés dues au «slime» pourraient caractériser les souches nosocomiales et permettraient la distinction entre simples contaminants et isolants potentiellement pathogènes (Herard *et al.*, 1998).

## 5.8 La résistance des SCN aux antibiotiques :

La résistance des SCN est comparable à celle observée chez *S. aureus*, leurs fréquences de résistances peuvent même parfois être plus élevées notamment chez *S. epidermidis* et *S. haemolyticus*, fréquemment responsables d'infections nosocomiales (Kara Terki, 2014). Certains opposent des résistances naturelles utiles pour les identifier.

- *S. saprophyticus* résistant à la novobiocine et à la fosfomycine.
- *S. epidermidis* (comme *S. aureus* d'ailleurs) résistant à la polymyxine.
- *S. haemolyticus* résistant à la bacitracine ect... (Decoster, 2005).

Les mécanismes impliqués sont également identiques à ceux décrits pour *S. aureus* ils comprennent : la synthèse d'enzymes inactivatrices, la modification de la cible des antibiotiques et des systèmes d'efflux qui diminuent la concentration de l'antibiotique dans la bactérie (Decoster, 2005 ; Kara Terki, 2014) (Tableau 4).

**Tableau 4 : Mécanismes de résistance des SCN aux antibiotiques (Kara Terki, 2014).**

Antibiotiques	Mécanismes de résistance
Les bêta-lactamines	Une production d'enzymes (penicillinases) ou par modification de la cible PLP.
Les glycopeptides	Epaississement de la paroi bactérienne qui piège les glycopeptides dans les couches superficielles en les empêchant d'atteindre la membrane cytoplasmique où le peptidoglycane est synthétisé.
Les aminosides	Production d'enzymes à partir d'un plasmide R. ces enzymes sont de trois catégories : les phospho-transférases, les adényltransférases et les acétyltransférases.
Les macrolides, lincomycines, streptogramines (MLS)	Modification de la cible.
Les tetracyclines	Sécrétion d'une protéine qui empêche la pénétration intra-bactérienne de l'antibiotique.
Les fluoroquinolones	Une modification de la cible.

## 6 L'espèce de *Staphylococcus epidermidis* :

### 6.1 Définition :

*S. epidermidis* appartient au groupe des staphylocoques à coagulase négative (SCN) (Otto, 2009). Elle est l'un des agents les plus fréquemment responsables d'infections nosocomiales particulièrement associé aux infections à corps étranger (Nilsson *et al.*, 1998 ; Bezoui, 2016).

Il doit son nom à sa principale niche écologique (Trouillet, 2017). Ces organismes comptent parmi les bactéries les plus répandues de la peau humaine et de la microflore des muqueuses, et présentent des problèmes uniques dans le diagnostic et le traitement des infections impliquant la formation de biofilms sur des biomatériaux implantés (Ogara et Humphreys, 2001). Cette espèce exprime moins de facteurs de virulence tels que la sécrétion de toxines ou la résistance au système immunitaire, mais sa capacité à former des biofilms très mucoïdes lui permet de devenir un pathogène opportuniste (Helwo et Embil, 2007).

Les personnes les plus susceptibles d'être infectées sont les toxicomanes par voie intraveineuse, les nouveau-nés, les personnes âgées et les utilisateurs de cathéters ou d'autres appareils artificiels (Nilsson *et al.*, 1998).

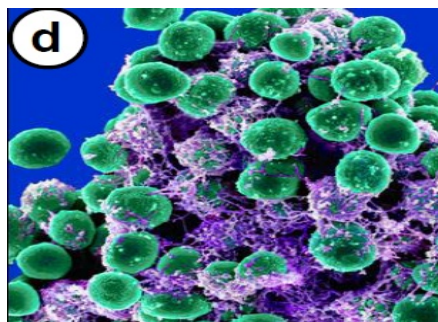
## 6.2 Taxonomie :

Selon la 9ème édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, *S. epidermidis* est classée parmi les bactéries à Gram positif pauvres en Guanine-Cytosine (Otto, 2009) :

<b>Règne</b>	: Bactéria
<b>Embranchement</b>	: Firmicutes.
<b>Classe</b>	: <i>Bacilli</i> .
<b>Ordre</b>	: <i>Bacillales</i> .
<b>Famille</b>	: <i>Staphylococcaceae</i> .
<b>Genre</b>	: <i>Staphylococcus</i> .
<b>Espèces</b>	: <i>Staphylococcus epidermidis</i> (Ayom et Antohony, 2013).

## 6.3 Caractères morphologiques :

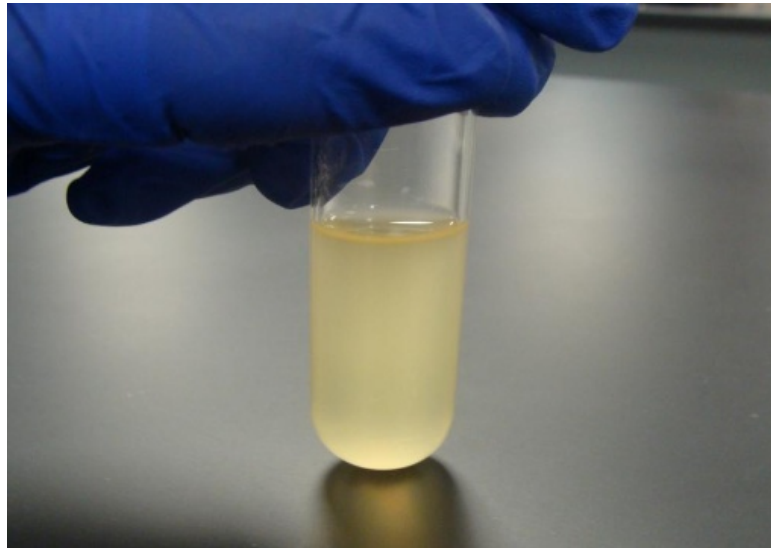
*S. epidermidis* apparaît comme une cocci à coloration de Gram positive, il peut être isolé, en diplocoque ou en amas, dont les amas sont les plus caractéristiques, Il a un diamètre d'environ 0,5 à 1,5  $\mu\text{m}$  (Nilsson *et al.*, 1998) (Figure 3).



**Figure 3** : L'aspect de *S. epidermidis* au microscope électronique à balayage (Vandecandelaere, 2012).

#### 6.4 Caractères cultureux :

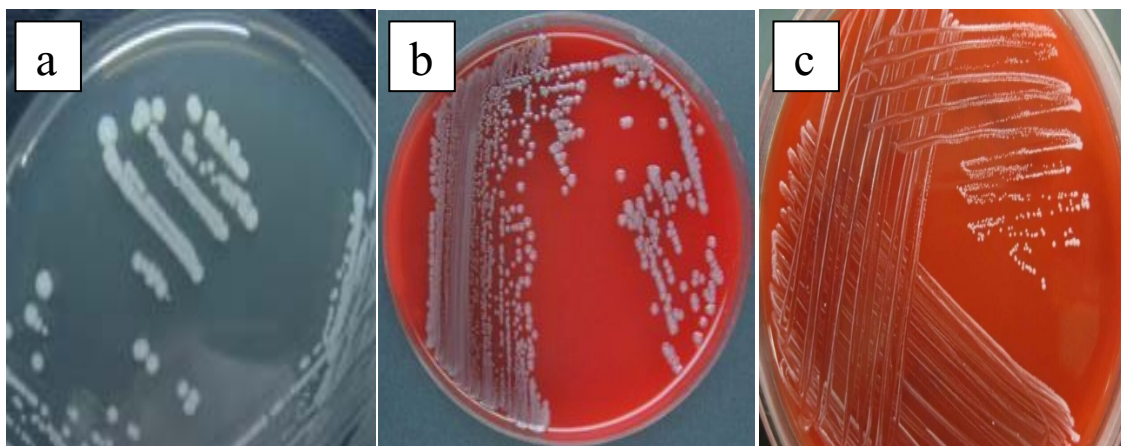
En bouillon ordinaire, la culture est rapide, *S. epidermidis* se multiplie en quelques heures, formant un trouble homogène ou un dépôt (**Bakhom et Ndeye, 2004**) (**Figure 4**).



**Figure 4 :** *S. epidermidis* poussant dans des milieux liquides crée un bouillon trouble.

(<http://www.scienceprofonline.com/microbiology/use-of-liquid-nutrient-broth-media-for-growing-bacteria-2.html>)

En milieu solide, les colonies se présentent séparément et en grappes irrégulières d'où leur nom (**Bauer, 2016**). Ils sont en générale non pigmentées, brillantes, crémeuses, blanches, de 1 à 2 mm de diamètre après une incubation d'une nuit (**Nilsson et al., 1998**) (**Figure 5**).



**Figure 5 :** L'aspect des colonies de *S. epidermidis* sur :(a) Gélose nutritive, (b) Milieu chapman, (c) Gélose au sang non hémolytique.

(<http://coproweb.free.fr/pagbac/bacgen1.htm#SOMMAIRE>)

### 6.5 Caractères biochimiques:



Figure 6 : Identification de *S. epidermidis* API® Staph (Afissa, 2014).

### 6.6 Epidémiologie :

Les infections de *S. epidermidis* sont associées à des dispositifs intra-vasculaires tels que (les valves cardiaques prothétiques, shunts, etc.), mais elles surviennent également fréquemment dans (les articulations prothétiques, les cathéters et les grandes plaies...) (Bukhari, 2004).

Les infections par cathéter et les infections urinaires induites par cathéter entraînent une grave inflammation et une sécrétion de pus. Dans ces cas, la miction est extrêmement douloureuse.

La septicémie et l'endocardite sont également des maladies associées à *S. epidermidis*. Leurs symptômes vont de la fièvre, des maux de tête et de la fatigue à l'anorexie et à la dyspnée.

- ✓ La septicémie est particulièrement répandue à la suite d'infections néonatales, en particulier dans les très faibles poids à la naissance.
- ✓ L'endocardite est une infection des valves cardiaques et des parties de la paroi interne du muscle cardiaque (Dietrich *et al.*, 2013).

*S. epidermidis* est susceptible de contaminer l'équipement de soins aux patients et les surfaces environnementales, ce qui pourrait expliquer l'incidence élevée de *S. epidermidis* en milieu hospitalier (Bukhari, 2004).

### 6.7 Invasion immunitaire :

*S. epidermidis* a la capacité de contrecarrer le système immunitaire inhibant spécifiquement le chimiotactisme (sécrétion des leucotoxines), l'opsonisation et la phagocytose via la formation de biofilm diminue l'efficacité de la réponse immunitaire de l'hôte et induit l'invasion facile des infections associées (Afissa, 2014).

### 6.8 Facteur de virulence :

L'organisme produit des couches visqueuses qui forment un biofilm hydrophobe. Ce film est adhésif sur des biopolymères hydrophobes de prothèses, créant des maladies telles que l'endocardite. Le gène *icaADBC* s'est avéré coder à la fois pour la capsule polysaccharidique et l'adhésine intracellulaire polysaccharidique utilisée dans la formation du biofilm. Le biofilm de *S. epidermidis* est constitué de grappes de cellules incorporées dans une substance visqueuse extracellulaire ayant jusqu'à 160 µm d'épaisseur, dépassant 50 cellules.

Les biofilms en tant que tels agissent comme une barrière à la diffusion des antibiotiques et de la défense de l'hôte. Un autre facteur de virulence potentiel actuellement à l'étude est la liaison du fibrinogène de *S. epidermidis*, le gène complet, appelé **fbe**, était constitué d'un cadre de lecture ouvert de 3 276 nucléotides codant pour une protéine, appelée **Fbe**, d'une masse moléculaire déduite d'environ 119 **kDa**.

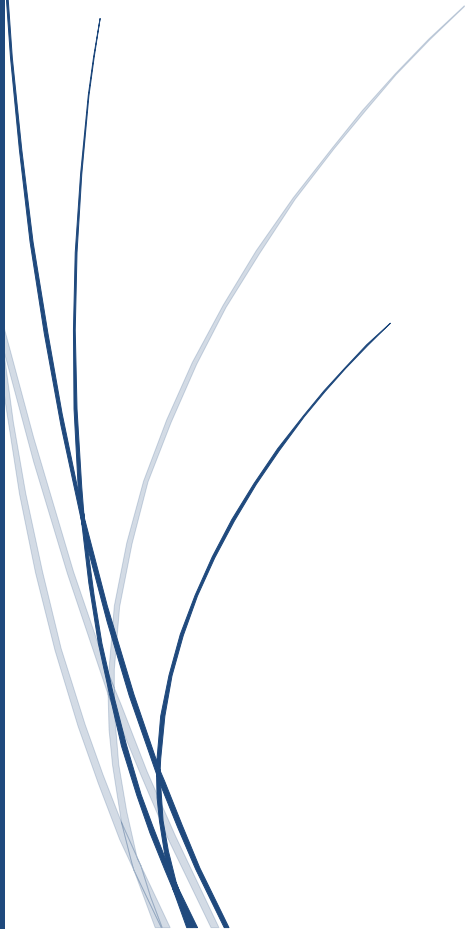
Les biomatériaux implantables sont instantanément recouverts de composants plasmatiques circulants, comme le fibrinogène, favorisant l'adhésion des cellules hôtes. Une complication qui peut survenir est lorsque des bactéries contaminants adhèrent aux mêmes composants sur les surfaces des biomatériaux, entraînant une infection. Bien que de nombreuses recherches aient été menées sur le facteur de virulence de *S. epidermidis*, peu de travaux ont été effectués pour comprendre son mode d'action (**Nilsson et al., 1998**).

### 6.9 Traitement :

Comme *S. epidermidis* fait partie de la flore humaine normale, il a développé une résistance à de nombreux antibiotiques courants tels que la méthicilline, la novobiocine, la clindamycine et la benzylpénicilline. En conséquence, la vancomycine ou la rifampicine sont utilisées pour traiter ce genre d'infection (**Bukhari, 2004**). En plus de la prophylaxie antibiotique, les stratégies préventives de lutte contre les infections liées au dispositif médical de *S. epidermidis* sont axées sur le développement de biomatériaux améliorés et de systèmes d'écorce électrique destinés à empêcher la colonisation bactérienne (**Ogara et Humphreys, 2001**).

Chapitre II

# La pathogénicité des SCN



Bien que les staphylocoques à coagulase négative (SCN) constituent une composante majeure de la microflore normale de l'homme, leur rôle dans les infections nosocomiales a été reconnu et bien documenté au cours des deux dernières décennies. L'augmentation des infections par ces organismes a été corrélée avec l'usage d'appareils médicaux et le nombre croissant de patients immunodéprimés en milieu hospitalier (**Irlinger, 2008**) le but de ce chapitre est d'étudier la pathogénicité des SCN profondément en se basant surtout sur le cas où ces germes sont responsables des infections nosocomiales qui sont dues à l'implantation des biomatériaux.

## **1 Généralité sur les infections nosocomiales :**

### **1.1 Définition :**

Le terme nosocomial, vient du grec « nosos » signifiant maladie et secondairement de « nosokomeone » qui signifie hôpital; il qualifie ce qui se rapporte à ce milieu, ce qui se contracte lors d'un séjour hospitalier. L'infection nosocomiale est une infection acquise dans le cadre d'une activité de soins, qu'elle soit ambulatoire ou hospitalière. Elle est généralement acquise plus de 48h après l'admission (**Afissa, 2014**).

Pour les infections du site opératoire (**ISO**), on considère comme nosocomiales les infections survenues dans les 30 jours suivant l'intervention, ou, s'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant, dans l'année qui suit l'intervention (**Benmahdi, 2017**).

Une infection est dite associée aux soins (**IAS**) si elle survient au cours ou au décours d'une prise en charge (diagnostique, thérapeutique, palliative, préventive ou éducative) d'un patient, et si elle n'était ni présente, ni en incubation au début de la prise en charge (**Bakini et Nigri, 2014**). Les infections liées aux soins sont contractées à l'occasion d'un acte médical. Elles génèrent un coût économique et humain considérable. Les identifier, connaître leur mode de transmission est un préalable indispensable (**Afissa, 2014**).

### **1.2 Fréquence et incidence :**

La fréquence globale des infections nosocomiales (**IN**), mesurées par des études internationales, varie entre 5 et 10% des hospitalisés.

Actuellement, l'OMS estime que plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent d'IN en permanence. Dans les pays développés, qui disposent d'hôpitaux modernes, entre 5 à 10 % des patients admis contractent une ou plusieurs infections. Un taux qui dépasse parfois 25 % dans les pays en développement (**Chibi, 2015**). En Algérie, Les différentes enquêtes réalisées au niveau des structures de santé sur les infections nosocomiales donnent un taux de prévalence national de 12 et 15% (**Afissa, 2014**). Les IN représentent un taux maximal de

prévalence en Egypte et en Maroc plus élevé que les autre pays avec un nombre important des patients infectés (**Bakini et Nigri, 2014**) (**Tableau 5**)

**Tableau 5** : Prévalence des infections nosocomiales par pays (**Bakini et Nigri, 2014**).

Pays	Patients infectés		Infections		Taux de prévalence a par hôpital
	Nbre	Taux % (IC 95 %)	Nbre	Taux (%)	Min-max
Algérie	103	6,3 (5,2-7,6)	127	7,9	2,1-13,0
Egypte	114	9,9 (8,3-11,8)	125	10,9	0,0-30,2
Italie	44	11,9 (8,8-15,6)	53	14,3	5,4-15,3
Maroc	18	6,7 (4,0-10,4)	18	6,7	0,0-24,7
Tunisie	134	11,0 (9,3-12,9)	160	13,2	6,8-14,9
Tot	413	8,9 (8,1-9,8)	483	10,5	0,0-30,2

### 1.3 L'origine ou source des infections nosocomiales :

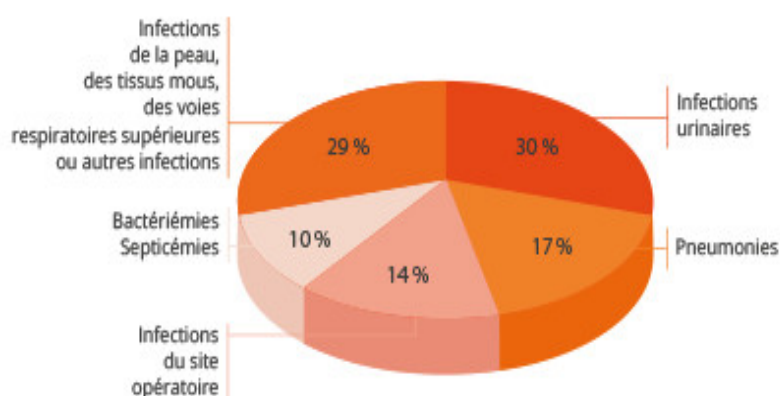
L'origine principale de ces infections est :

- Le manque de pratiques d'hygiène qui est la cause majeure de transmission des bactéries.
- Et d'autre part, les progrès de la médecine et de la chirurgie avec par exemple des soins et des thérapeutiques de plus en plus agressifs qui peuvent être des sources possibles d'infection (**Chibi, 2015**).

### 1.4 Les différentes catégories d'infections nosocomiales et leurs sites infectieux :

Le site d'une infection est variable selon l'unité de soins, selon le recrutement du service, selon les thérapeutiques et les mesures préventives (**Afissa, 2014**).

La figure suivante montre la répartition des IN en fonction du site dont les services les plus touchés sont par ordre décroissant (**Konan et al., 2009**).



**Figure 7** : Répartition des infections nosocomiales en fonction du site.

(<https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/infections-nosocomiales>)

Parmi les infections nosocomiales, on trouve :

- **Les infections urinaires** : sont les plus nombreuses, elles représentaient (30%) de l'ensemble des infections nosocomiales contractées.
- Viennent ensuite les **pneumonies** (16,7%) : qui sont souvent concomitantes à l'intérieure de site respiratoires.
- **Les infections des sites opératoires** : les services les plus touchés sont la réanimation avec des proportions moyennes de l'ordre de 13.5 % de personnes infectées, et la chirurgie (de 7 % à 9 % selon le type).
- De plus, les **bactériémies/septicémies** : qui représentent environ 10 % des IN.
- **Des infections de la peau et les tissus mous** ou encore des voies respiratoires supérieures sont également observées à 29 % (Laydi, 2013 ; Afissa, 2014).

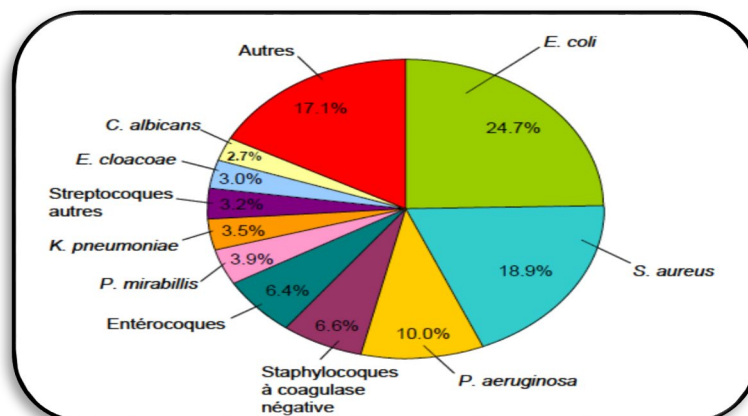
Certaines de ces infections, en particulier parmi les infections pulmonaires et les septicémies, sont graves et peuvent entraîner la mort (Laydi, 2013).

### 1.5 Les principaux germes responsables d'infections nosocomiales:

Les agents infectieux responsables des infections nosocomiales sont des micro-organismes tels que les parasites et les champignons, bactéries, virus, agents transmissibles non conventionnels (ATNC) tel que le prion (Bakini et Nigri, 2014).

- Cependant les germes nosocomiaux qui sont souvent rencontrés sont : les bactéries.
- Elles sont dominées par les Staphylocoques, les entérobactéries et les bactéries du genre *Pseudomonas* (Figure 8).

Ces bactéries nosocomiales sont souvent caractérisées par leur multi résistance ; on les appelle des (BMR : bactéries multi résistantes) (Bakini et Nigri, 2014).



**Figure 8** : Organigramme de la prévalence des principaux microorganismes isolés lors d'infection nosocomiale (Vandecandelaere, 2012).

**1.6 Mode de transmission :**

On distingue 4 modes de transmission des infections nosocomiales :

- 1) **L'auto-infection:** le malade s'infecte avec ses propres germes, les « portes d'entrée » sont les lésions des muqueuses, les lésions cutanées (plaies, brûlures, maladies de peau).
- 2) **L'hétéro-infection:** le germe responsable de l'IN provient d'un autre malade, la transmission étant le plus souvent manu-portée, par le personnel soignant intervenant auprès de plusieurs patients, disséminant ainsi les germes d'une personne à l'autre. C'est le mode de contamination le plus fréquent lors d'épidémies.
- 3) **La xéno-infection:** dans ce cas les agents pathogènes sont transmis par des personnes venant de l'extérieur (personnels soignants, visiteurs, sous-traitants), et présentant eux-mêmes une pathologie infectieuse, déclarée ou en cours d'incubation.
- 4) **L'exo-infection:** ce mode de transmission est issu, soit d'un dysfonctionnement technique d'un matériel (filtre à air, autoclave...etc), soit d'une erreur commise dans l'exécution des procédures de traitement (**Bakini et Nigri, 2014 ; Benmahdi, 2017**).

**1.7 Facteurs de risques :**

Les facteurs de risques favorisant le portage des infections Nosocomiales sont :

- L'immunodépression : (aplasie, leucopénie, leucémie, cancer, SIDA).
- Pathologies chroniques : le diabète, l'insuffisance rénale terminale, insuffisance hépatique, incontinence urinaire, la dialyse, certaines dermatoses chroniques (eczéma, psoriasis)
- Certaines pathologies aiguës motivant l'hospitalisation : polytraumatismes, brûlures, défaillance viscérale aiguë.
- La résistance aux antibiotiques.
- Etat nutritionnel perturbé : La dénutrition est un facteur favorisant important pour tous les sites d'infection. Ainsi que l'obésité favorise les abcès pariétaux post-opératoires.
- Les antécédents neuro-vasculaires et l'alcoolisme.
- L'âge : De plus l'âge (avant 1 an et après 65ans) peut être un facteur de risque majoré.
- La présence de dispositifs médicaux implantés (biomatériaux) (**Bakini et Nigri, 2014 ; Kara Terki, 2014**), c'est ce que nous intéresse beaucoup plus.

## 2 Un dispositif médical (DM) :

### 2.1 Définition :

Un dispositif médical (**DM**) est définis comme tout instrument, appareil accessoire, machine, outil, implant, réactif ou agent d'étalonnage in vitro, logiciel, matériel, ou autre article similaire ou apparenté dont l'action principale voulue, sur ou dans le corps humain, n'est pas obtenue par des moyens exclusivement pharmacologiques, immunologiques ou métaboliques, et qui est destiné(e) à être utilisé(e) chez l'homme à des fins médicales (**Bakini et Nigri, 2014**) ( **Tableau 6** ). Les DM quand ils sont destinés à être implantés dans le corps humain ou qu'ils doivent être mis en contact avec des tissus ou des organes vivants sont fabriqués à partir de matériaux qualifiés de **biomatériaux** (**Sorel, 2005**).

### 2.2 Les classes des DM :

**Tableau 6** : Les quatre classes des dispositifs médicaux (**Rabarin, 2018**).

Classe	Types de dispositif	Niveau de risque
<b>Classe I</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>dispositifs médicaux non invasifs ou invasifs mais à usage temporaire &lt;1h.</li> </ul>	Faible degré de risque
<b>Classe Iia</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>dispositifs médicaux invasifs et stériles usage temporaire ou court terme et ceux à long terme (entre 1h et 30 j).</li> </ul>	Degré moyen de risque
<b>Classe IIb</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dispositifs médicaux invasifs, implantables et stériles long terme, temporaire et chirurgical &gt;30j</li> </ul>	Potentiel élevé de risque
<b>Classe III</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dispositifs médicaux invasifs à long terme en contact avec le coeur, système circulatoire et nerveux</li> </ul>	Potentiel très sérieux de risque

## 3 Les biomatériaux :

### 3.1 Qu'un ce qu'un biomatériau ?

Selon la définition de **Chester (1981)** : il s'agit de tout matériau non vivant utilisé dans un dispositif médical et visant à remplacer ou traiter un tissu, un organe ou une fonction avec une durée de contact supérieure à trois semaines (**Mokaddem et Boutaous, 2015**).

Les biomatériaux ont été développés pour préserver l'intégrité et le confort de vie des personnes souffrant de déficiences fonctionnelles graves ou victimes d'accidents. L'objectif de leur développement est de permettre la fabrication de dispositifs d'assistance corporelle capables de suppléer les fonctions des organes lésés (Pariante *et al.*, 2005 ; Arioua, 2007).

### 3.2 Historique :

Historiquement, les premiers biomatériaux sont apparus au XVI<sup>ème</sup> siècle. Il s'agissait de cuir bouilli, de bois, de métaux ou encore d'or ou de platine. Ensuite, au cours du XIX<sup>ème</sup> siècle, les premières greffes naturelles sont tentées afin d'éviter une éventuelle amputation des membres. L'arrivée du pétrole permet le développement des polymères au début du XX<sup>ème</sup> siècle. Puis avec le développement des techniques d'élaboration de matériaux, les alliages et les céramiques entre autres apparaissent au cours des 70 dernières années. **La figure 9** montre l'apparition de quelques biomatériaux au cours du temps et notamment l'apparition des verres bioactifs en 1971 (Arioua, 2007).

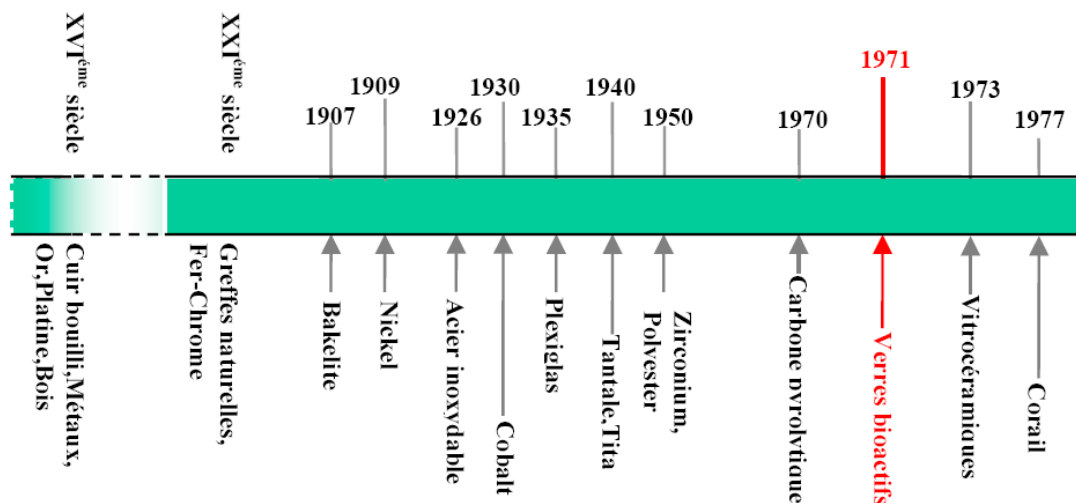


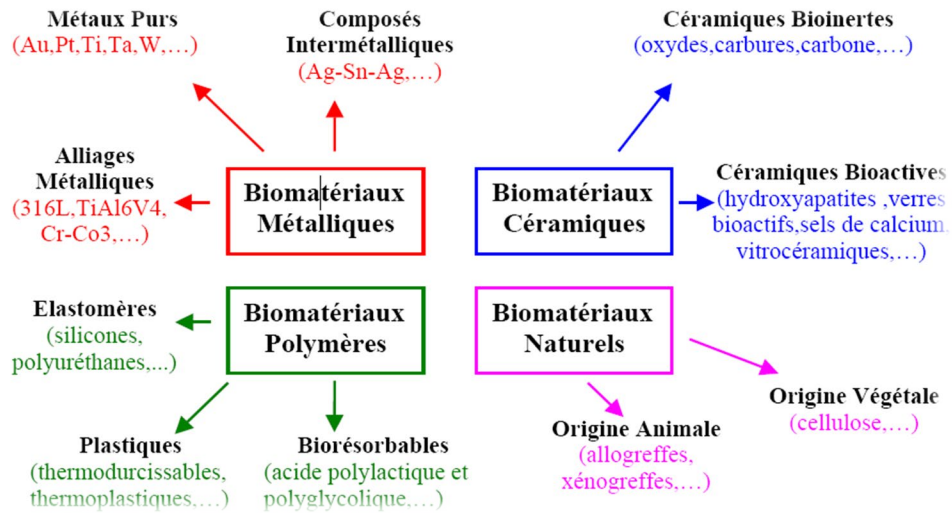
Figure 9 : Quelques dates d'apparition des biomatériaux (Arioua, 2007).

### 3.3 Les différents types de biomatériaux et leurs utilisations :

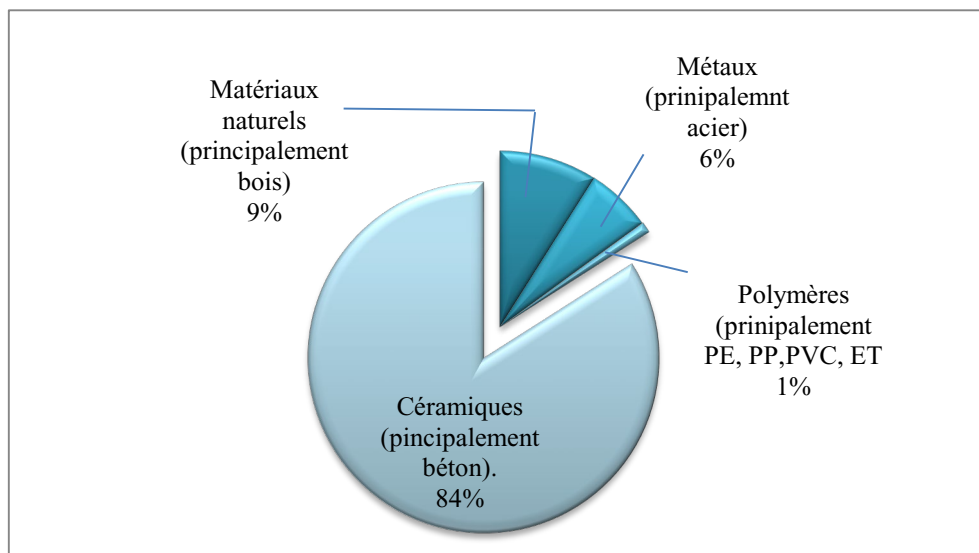
La plupart des matériaux utilisés aujourd'hui viennent du travail des laboratoires biologiques. Ce travail consiste à évaluer des matériaux existants parfois modifiés de façon à remplir leurs nouvelles fonctions. Les biomatériaux peuvent être soit inertes (alumine, zircone, titane, polymères...), soit actifs (céramiques de phosphate de calcium en HAP et <sup>2</sup> TCP, vitrocéramiques...), soit résorbables (<sup>2</sup> TCP, bioverres, polymères...) (Mansouri, 2009).

Il existe donc une grande diversité de biomatériaux que l'on peut classer en quatre grandes catégories suivant leur nature (**Figure 10 et 11**) :

- Les biomatériaux métalliques
- Les biomatériaux céramiques
- Les biomatériaux à base de polymères de synthèse
- Les biomatériaux d'origine naturelle (**Hubert, 2011**).



**Figure 10** : Classification des biomatériaux (Arioua, 2007).



**Figure 11** : Répartitions des quatre catégories de biomatériaux (Ashby, 2011).

### 3.3.1 Les métaux et alliages métalliques :

#### 3.3.1.1 Définition :

Ce sont en quelque sorte "les ancêtres" des biomatériaux dans la mesure où ce sont les premiers à avoir été utilisés pour faire des implants (Hubert, 2011).

Les **métaux** utilisés dans les implants médicaux sont en fait **des alliages** (combinaison de plusieurs constituants : 2 au minimum dont **un au moins est métallique**) (Ben Jaber, 2010).

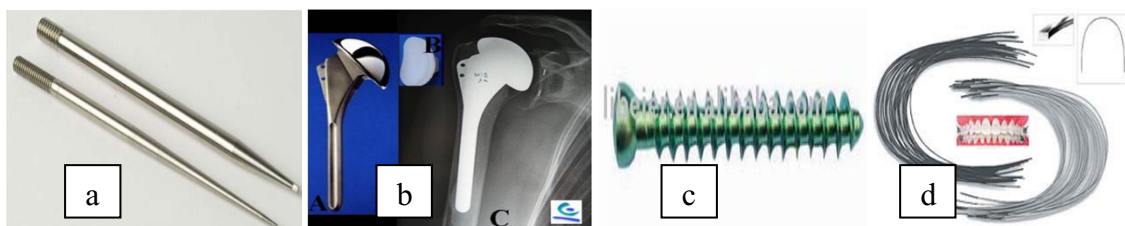
#### 3.3.1.2 Les différents types des biomatériaux métalliques :

- Parmi les biomatériaux métalliques, le plus important par les volumes est sans doute **l'acier inoxydable**, encore largement utilisé en chirurgie orthopédique.
- On utilise également des **alliages cobalt, chrome, molybdène, du tantale, etc.**
- Il faut également mentionner particulièrement **le titane et ses alliages**, qui sont utilisés principalement en chirurgie orthopédique et pour réaliser des implants dentaires.
- **Les alliages à mémoire de forme** sont une variante intéressante de cette catégorie (Ben Jaber, 2010).

##### 3.3.1.2.1 Les aciers inoxydables :

L'acier inoxydable n'est approprié que pour un implant temporaire comme les plaques de fixation de l'os, les vis et les clous de la hanche (Ben Jaber, 2010) (Figure 12).

L'acier inoxydable et plus particulièrement **les types 316 et 316 L**, sont les plus largement utilisés dans la fabrication des implants (Ben Jaber, 2010).



**Figure 12** : Produits en acier inoxydable : (a) Clous en inox, (b) Prothèse de l'épaule, (c) Vis orthopédique en inox, (d) Arc dentaire en acier inoxydable (Ben Jaber, 2010).

##### 3.3.1.2.2 Les alliages Cobalt-Chrome :

Il existe 2 types des alliages Cobalt-Chrome:

- 1- l'alliage Co-Cr-Mo destiné à être coulée.
- 2- l'alliage Co-Ni-Cr-Mo façonné par forgeage à chaud.

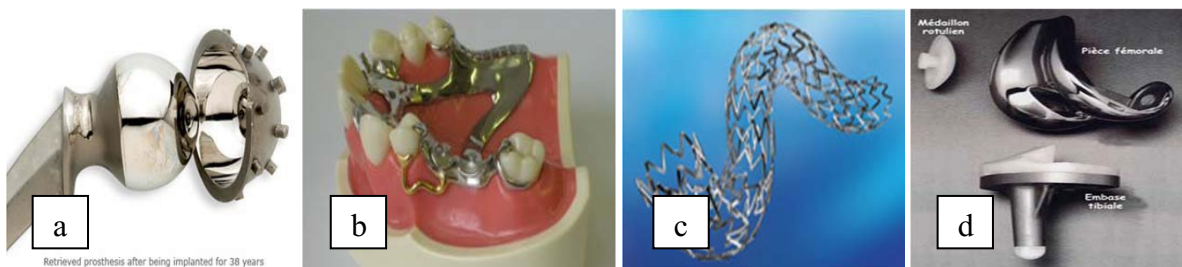
- Les alliages coulables Co-Cr-Mo ont été utilisés pour plusieurs décennies dans la médecine dentaire et récemment pour la fabrication des implants articulaires.
- Les alliages forgeables Co-Ni-Cr-Mo sont relativement nouveaux et sont utilisés pour faire les tiges de prothèses pour les articulations lourdement chargés comme le genou et la hanche.

Quatre types d'alliages Co-Cr sont recommandés pour les implants chirurgicaux:

- 1- L'alliage coulable Co-Cr-Mo type **F75**.
- 2- L'alliage forgeable Co-Cr-W-Ni type **F90**.
- 3- L'alliage forgeable Co-Ni-Cr-Mo type **F562**.
- 4- L'alliage forgeable Co-Ni-Cr-Mo-W-Fe type **F563** (Ben Jaber, 2010).

Actuellement seulement 2 parmi les 4 alliages cités sont fréquemment utilisés dans la fabrication des implants, le coulable Co-Cr-Mo (**F 75**) et le forgeable Co-Ni-Cr-Mo (**F 562**).

Les éléments de base de cet alliage sont le Cobalt et le Chrome avec un pourcentage en Cobalt dépassant 60% (Ben Jaber, 2010) (Figure 13).



**Figure 13** : Exemples des biomatériaux métalliques fabriqués par des alliages Cobalt-Chrome : (a) Prothèse totale de la hanche en alliage CoCr, (b) Implants dentaires en CoCr (c) Stent en alliage CoCr (d) Pince fémorale en alliage de CoCr (Ben Jaber, 2010).

### 3.3.1.2.3 Le titane et ses alliages:

Le titane est l'un des métaux les plus biocompatibles, avec l'or et le platine, c'est-à-dire qu'il résiste totalement aux fluides corporels. Il est plus léger mais moins rigide que CoCr et l'acier inox (Ben Jaber, 2010).

Plusieurs alliages de titane sont développés dont : le plus couramment utilisé dans le biomédical est le TiAl6V4 (TA6V) qui peut être sujet au relargage de Vanadium toxique pour l'homme (Ben Jaber, 2010) (Figure 14).

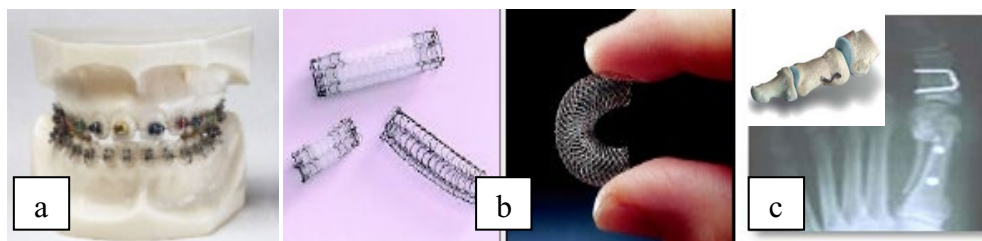


**Figure 14** : Produit en titane: (a) Prothèse de cotes en titane expansible, (b) Les tiges des prothèses de hanche sont généralement en TiAl6V4, (c) Implants dentaires, (d) Electrode de pacemaker (Mansouri, 2009 ; Ben Jaber, 2010).

**3.3.1.2.4 Les alliages à mémoire de forme :**

Les alliages à mémoire de forme sont des matériaux actifs (Ben Jaber, 2010).

Il existe actuellement trois types d’alliages à mémoire de forme : les alliages à base Ni-Ti (Figure 15), les alliages à base Cu-Zn- Al et les alliages à base Cu-Al-Ni (Mansouri, 2009).



**Figure 15** : Produits en Nitinol (NiTi) : (a) Accolades, (b) Stent (c) Agrafe d’ostéotomie (Mansouri, 2009 ; Ben Jaber, 2010).

**3.3.1.3 Propriétés et utilisations :**

**Tableau 7** : Quelques biomatériaux métalliques et ses alliages et leurs usages. (Mansouri, 2009).

biomatériaux (métaux)	Utilisation
Aciers inoxydables	Pacemaker (électrode), plaques et vis d’ostéosynthèse, agrafes divers.
Co-Cr-Mo	Implants articulaires, implants dentaires.
Les alliages à base Ti-6Al-4V.	Implants articulaires, plaques et vis d’ostéosynthèse, pacemaker, implants dentaires, éléments de chirurgie reconstructive.
les alliages à base Ni-Ti	Implants orthopédiques, stents, agrafes divers.

### 3.3.2 Les céramiques :

#### 3.3.2.1 Définition :

Les céramiques sont des matériaux non métalliques, non organiques qui nécessitent pour leur formation, un traitement en pression et en température (frittage).

La structure générale des céramiques est bi-phasique : phase vitreuse (matrice), et phase cristalline (aiguille cristallisées). Ils se caractérisent par une température de fusion élevée, une rigidité, une légèreté, une résistance à la chaleur et à la corrosion, et une fragilité, qui déterminent leurs domaines d'application.

Elles incluent des oxydes (alumine et zircone), des carbures (silicium, tungstène), des borures, des nitrures, des sulfures et des composés intermétalliques (Mansouri, 2009).

#### 3.3.2.2 Les différents types des céramiques :

- Les céramiques utilisées dans la fabrication des implants peuvent être classées en deux catégories:
  - ❖ Les céramiques bio-inertes ou non résorbables (relativement inerte).
  - ❖ Les céramiques bioactives ou résorbables ou biodégradables (non inertes) (Ben Jaber, 2010).

##### 3.3.2.2.1 Les céramiques bio-inertes :

Les céramiques bio-inertes (alumine  $Al_2O_3$ , Zircone  $ZrO_2$ , Vitrocéramiques denses) sont des matériaux stables dans le temps, fragiles très rigides, de faible usure, de faible coefficient de frottement, de très bonne tolérance et chimiquement inertes, leurs rôle est essentiellement mécanique. On les rencontre dans les têtes des prothèses orthopédiques (hanche, genou, épaule), ainsi qu'en odontologie pour les prothèses dentaires (Mansouri, 2009) (Figure 16 et 17)

- **La céramique d'alumine  $Al_2O_3$**  : est obtenue à partir d'une poudre d'oxyde d'aluminium compressée à très haute  $T^\circ$  ( $1600C^\circ$ ) pour les prothèses de hanche.



Figure 16 : Têtes (PTH) Alumine-Alumine (Mansouri, 2009).

- **La céramique de Zircon ZrO<sub>2</sub>** : est obtenue à partir d'une poudre d'oxyde de zirconium compressée à très haute T° (située entre 1400 et 1500) (Arioua, 2007).



**Figure 17** : Bridge en Zircon (Mansouri, 2009).

### 3.3.2.2.2 Les céramiques bio-actives :

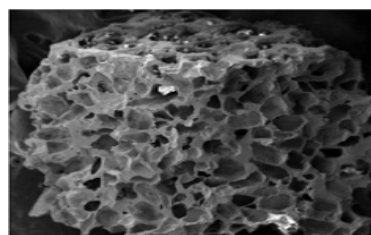
Dans ce type de céramiques on rencontre généralement les céramiques de phosphate de calcium et les bioverres SiO<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>CaO Na<sub>2</sub>O (Mansouri, 2009).

#### ➤ **Les céramiques de phosphate de Calcium :**

Ils sont produits en chauffants à > de 1000 °C et sous pression, La fabrication de ces produits fait intervenir de nombreuses variables qui conditionnent leur comportement biologique : composition élémentaire, nature des phases minérales, micro et macroporosité, présence d'impureté.

❖ Les différents produits existants sont :

- Le phosphate tricalcique (<sup>2</sup> TCP) (Figure 18).
- L'hydroxyapatite (HAP).
- Les produits biphasés (Mansouri, 2009).



**Figure 18** : Structure microporeuse des céramiques phosphocalciques (Ben Jaber, 2010).

#### ➤ **Les bioverres SiO<sub>2</sub>P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>CaO Na<sub>2</sub>O:**

Ces verres sont utilisés en chirurgie réparatrice dans de nombreuses parties du corps humain dont les dents, les genoux, les hanches. Toutefois ces implants sont utilisés en verre massifs et afin d'optimiser la repousse osseuse, il serait intéressant qu'ils se présentent sous une forme poreuse (Mansouri, 2009) (Figure 19).



Figure 19 : Prothèse a base de verre bioactifs (Ben Jaber, 2010).

### 3.3.2.3 Propriétés et utilisations :

Tableau 8 : Quelques biomatériaux céramiques et leur usage  
(Mokaddem et Boutaous 2015).

Biomatériaux « Céramiques »	Utilisations
Oxydes d'aluminium	Implants de la hanche, les implants dentaires, remplacement cochléaire
Zircone	Implants de la hanche
Le phosphate de calcium	Substituts osseux, des revêtements de surface sur remplacement total de l'articulation, échafaudages cellulaires
Le sulfate de calcium	Des substituts de greffe osseuse
Carbone	Revêtements de valve cardiaque, des implants orthopédiques
Verre	Des substituts de greffe osseuse, des charges pour matériaux dentaires

### 3.3.3 Les polymères et autres matières molles :

#### 3.3.3.1 Définition :

Les polymères sont des substances constituées de grandes molécules, formées par la répétition d'un même motif dit motif constitutif, petite structure périodique qui se répète tout le long de la chaîne, composé d'une ou de plusieurs unités de base (monomère) (Mansouri, 2009).

❖ Selon le nombre de type de monomère, on trouve :

- **Les homopolymères** : constitués d'un seul type de monomère.
- **Les copolymères** : constitués de plusieurs types de monomères (Mansouri, 2009).

#### 3.3.3.2 Les principaux Classes des polymères :

Il est possible de classer les polymères selon différents critères :

**A. Selon leur mode d'application** : on peut distinguer :

- **Les implants préformés** : (ex : prothèses, sondes, fils,...etc.)
- **Les implants injectables** : où les macromolécules : sont en réalité dissoutes dans un liquide pour former un gel.

B. Selon leur origine : on distingue :

- **Les polymères naturels** : c'est-à-dire trouvés en l'état dans la nature (ex : acide hyaluronique extrait de crêtes de coq).
- **Les polymères artificiels ou régénérés** : obtenus par modification chimique d'un polymère naturel (ex : latex, collagène, réticulé, etc....).
- **Les polymères synthétiques** : entièrement fabriqués par l'homme à partir de petites molécules réactives, appelées monomères.

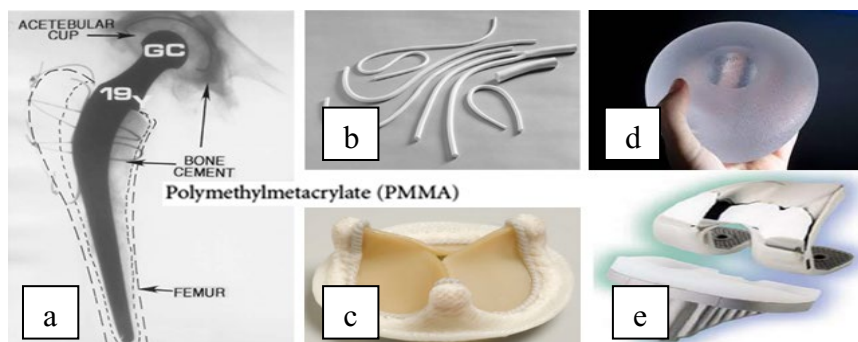
C. Selon leur mise en œuvre et leur comportement mécaniques : on distingue :

- **Les polymères thermoplastiques** : peuvent être déformés plastiquement sous l'effet de la température (Mansouri, 2009).
- **Les polymères thermodurcissables** : ne peuvent pas être recyclés, car leur forme, conférée dans un moule selon un processus chimique, est définitive, Ils sont plus durs et plus rigides que les polymères thermoplastiques.

Les principaux polymères thermodurcissables sont :

→ Les époxydes → Les phénoliques → Les polyamides.

- **Les élastomères (caoutchoucs)** : se caractérisent par leur grande déformabilité, avec par exemple des allongements réversibles jusqu'à 1000 % de leur longueur initiale. Les plus utilisés sont : la silicone et le polyuréthane.
- **Les élastomères thermoplastiques** : appartiennent à une nouvelle catégorie de polymères qui allient la déformabilité des élastomères à la recyclabilité des thermoplastiques (Mansouri, 2009) (Figure 20).



**Figure 20** : Exemple des polymères : (a) Cotyle d'une tige en polyéthylène, (b) greffes vasculaires, (c) Valve cardiovasculaire, (d) Prothèse mammaire, (e) Bouclier fémorale glisse sur un plateau tibial en polyéthylène (Bazin, 2010 ; Ben Jaber, 2010).

### 3.3.3.3 Propriétés et applications :

Les utilisations des polymères dans le domaine des biomatériaux sont extrêmement nombreuses (Gerdemann, 2001) (Tableau 9).

**Tableau 9 : Quelques biomatériaux polymères et leur usage (Hubert, 2011 ; Mokaddem et Boutaous 2015).**

Biomatériaux «Polymères »	Utilisations
Les silicones	sont utilisées pour les prothèses mammaires et divers implants en chirurgie plastique. Articulations des doigts, la peau artificielle, lentilles intraoculaires, les cathéters...
Le poly-méthacrylate de méthyle	est employé dans les ciments de prothèses orthopédiques, les obturations et prothèses dentaires et en cranioplastie.
Les polymères bio-résorbables (PGA, PLA, polydioxanone)	sont utilisés notamment pour la réalisation de matériels d'ostéosynthèse résorbables ou de planchers orbitaires et dans la chirurgie du septum nasal ainsi qu'en chirurgie esthétique.
Différents composites à base d'acryliques	ont été proposés en chirurgie orale et maxillo-faciale (Comblement, reconstruction).
Le polyéthylène à haute densité (PEHD ou UHMWPE)	a été largement utilisé pour les implants orthopédiques, en particulier pour les surfaces portantes articulaires (prothèse de hanche ou de genou).
Parmi les polymères fluoro-carbonés, le (PFTE)	est utilisé dans les membranes pour la régénération tissulaire guidée, l'augmentation des tissus mous, patchs vasculaires.
Les poly-éther-éther-cétones (PEEK), notamment renforcés par des fibres de C	peuvent être employés pour la réalisation d'implant et de plaques d'ostéosynthèse en chirurgie maxillo-faciale.
Chlorure de polyvinyl	Tubes, prothèses faciales
Polyéthylène (PE)	Hanche et du genou implants, les tendons et les ligaments artificiels, greffons vasculaires synthétiques, les prothèses dentaires, les implants faciaux
Nylon	Sutures chirurgicales, segments gastro- intestinaux, tubes trachéales
Polyester	Sutures résorbables, la fixation des fractures, des échafaudages cellulaires, les pansements de la peau, des dispositifs d'administration de médicaments

### 3.3.4 Les matériaux d'origine naturelle :

#### 3.3.4.1 Définition :

Les matériaux naturels ne constituent qu'une faible partie des matériaux implantés, bien qu'il existe des variations énormes selon les spécialités chirurgicales. Ceci est dû : d'une part à la difficulté ou à l'impossibilité de se procurer des matériaux endogènes (prothèses mammaires, implants dentaires par exemple), et d'autre part aux risques potentiels présentés par les matériaux naturels d'origine animale ou provenant de donneurs (Mansouri, 2009).

#### 3.3.4.2 Les différents types de biomatériaux naturels :

Leur synthèse est réalisée naturellement par un organisme ou une plante (Mokaddem et Boutaous 2015). C'est pour ça qu'ils se différencient en biomatériaux d'origine végétale et biomatériaux d'origine animale (Hubert, 2011) Parmi ceux-ci nous citons :

##### ✚ La cellulose :

C'est un glucide complexe (polysaccharide), constituants principal des parois des cellules végétales. La véritable cellulose n'existe pas dans les tissus animaux, elle est insoluble dans tous les solvants habituels, donc elle est facile à séparer des autres constituants des plantes. Elle est traditionnellement utilisée pour les membranes de dialyse notamment comme ciment de prothèse de hanche (Mansouri, 2009) (Figure 21).

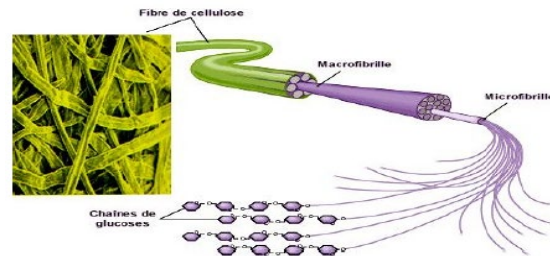
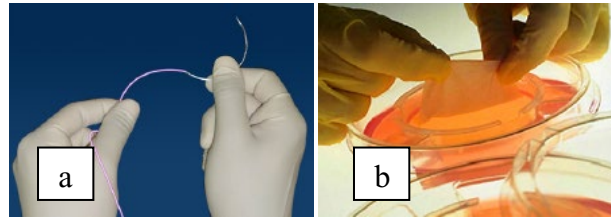


Figure 21 : Fibres de cellulose (Mansouri, 2009).

##### ✚ La chitine :

Après la cellulose, la chitine est le polysaccharide le plus répandu dans la nature, ces principales sources sont les crustacés marins (Crabes, Crevettes, Langoustines) et les insectes (Fourmies, Blattes, et Coléoptères) celle-ci entre dans la composition de leur cuticule (chez les Crustacés, les Cuticules sont constituées de 55 à 85 % de chitine).

Elle confère la rigidité et la résistance aux organiques qui en contiennent. Elle est donc biodégradable, biorésorbable et susceptible d'application pour les fils de structure, la chirurgie reconstructive et la peau artificielle (Mansouri, 2009) (Figure 22).



**Figure 22 :** Produits en chitine : (a) fils de suture en chitine, (b) peau artificiel  
(Mansouri, 2009).

#### ✚ Les fucanes :

Sont des polysaccharides sulfatés extraits des algues brunes marines. Ces polysaccharides possèdent de nombreuses propriétés biologiques intéressantes en pharmacologie et en médecine (activité anticoagulante, anti-inflammatoire, anticonceptionnelle, antivirale...). Ils sont des produits de substitution et régénération osseuses, utilisés comme greffes et dispositifs implantables (Mansouri, 2009).

#### ✚ Les dextrans :

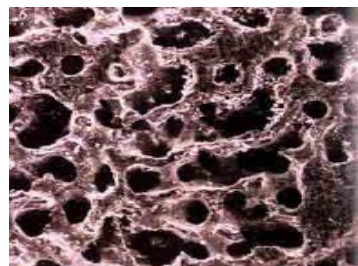
Sont préparés par transformation de saccharose par des bactéries. Ils sont utilisés pour les prothèses vasculaires (Mansouri, 2009).

#### ✚ Le corail naturel :

Il pourrait être utilisé en chirurgie orthopédique et/ou maxillo-faciale comme des substituts osseux, grâce à sa possibilité de recolonisation par les cellules osseuses. Il est composé à 99 % de carbonate de calcium en phase cristalline.

Il conserve après traitement thermique une structure poreuse (varie selon les espèces de coraux considérés) qui lui confère des propriétés ostéo-inductrices.

Il a été décrit comme étant biocompatible et résorbable en 4 mois environ par Guillemain et en 1987, il est bien toléré par les ostéoblastes et offre une surface pour la colonisation, l'attachement et la différenciation cellulaire (Mansouri, 2009) (Figure 23).



**Figure 23 :** Corail (porosité 50%) (Mansouri, 2009).

**Le collagène :**

C'est une substance protéique (il est composé de 3 protéines et a une structure en super hélice) soutenant diverse structures dans l'organisme. Le corps humain est composé d'environ 25% de collagène. Il est susceptible d'application pour le remplacement tissulaire (tissus durs ou mous), cornée, cicatrisation...etc (Mansouri, 2009) (Figure 24).

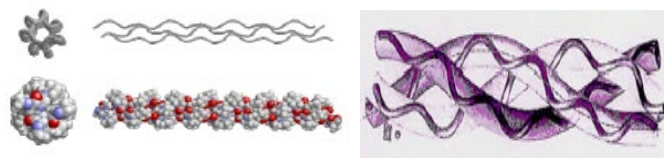


Figure 24 : Molécule de collagène (Mansouri, 2009).

**3.3.4.3 Propriétés et utilisation :**

Tableau 10 : Biomatériaux d'origine naturelle et leur usage (Mansouri, 2009 ; Laydi, 2013).

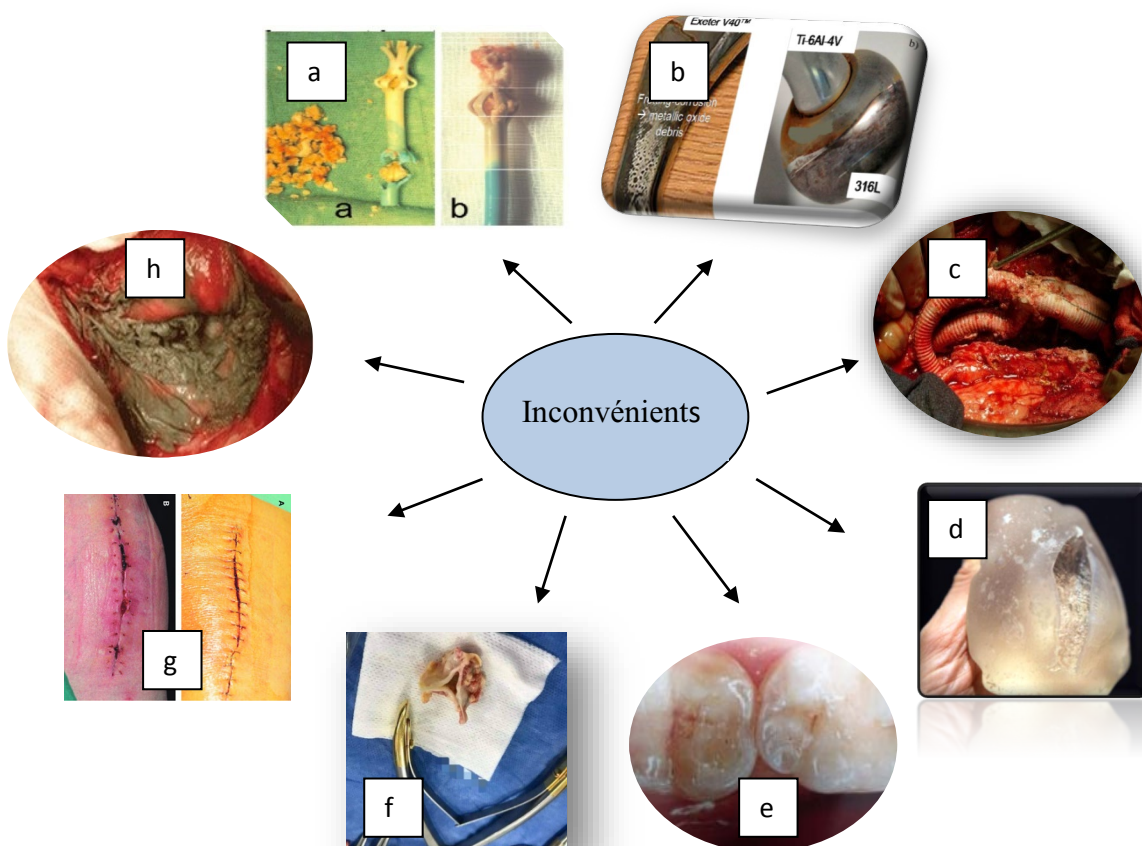
Biomatériaux « Naturels »	Utilisations
<b>Biomatériaux d'origine végétale.</b>	
<b>Les fucanes</b> : polysaccharides extraits des algues marines.	Anticoagulants, anti complémentaires.
<b>La cellulose</b> : dérivée des parois cellulaires.	Utilisée pour les membranes de dialyse ou comme ciment de prothèse de hanche.
<b>Les dextrans</b> : préparés par transformation de saccharose par des bactéries.	Agroalimentaire.
<b>Les alginates de sodium</b>	Ingénierie tissulaire, agroalimentaire.
<b>Biomatériaux d'origine animale</b>	
<b>La chitine</b> : polysaccharide extrait des carapaces de crustacés	utilisée pour les fils de suture, la chirurgie reconstructive et la peau artificielle.
<b>Le corail</b> extrait des madréporaires	utilisé en chirurgie orthopédique et maxillo-faciale
<b>Le collagène</b> , d'origine animale ou humaine.	dont les applications sont: la cosmétologie et la chirurgie esthétique, les pansements et éponges homéostatiques, les implants oculaires et pansements ophtalmologiques, la reconstitution de tissus mous et durs à l'aide de mélanges collagène facteurs de croissance-hydroxyapatite, la peau artificielle (derme).

### 3.4 Les avantages et les inconvénients des biomatériaux:

#### ✚ Les avantages :

- Les biomatériaux sont utilisés pour préserver l'intégrité et le confort de vie des personnes souffrant de déficiences fonctionnelles graves ou victimes de blessures ou de brûlures.
- Ils permettant la récupération de fonction des organes.
- Ils ont la capacité de réparer les tissus endommagés et de réduire les douleurs (**Mansouri, 2009 ; Ben Jaber, 2010 ; Mokaddem et Boutaous 2015**).

#### ✚ Les inconvénients :



**Figure 25 :** Exemples des différents problèmes rencontrés au niveau des biomatériaux : (a) Dégradation et production des dérivés toxiques, (b) Corrosion, (c) Manque de standards, (d) Absorption tissulaire, (e) Calcification, (f) Déformation avec le temps et détérioration lors de la stérilisation, (g) Réactions immunitaires, hypersensibilité, inflammatoire et d'incompatibilité et cicatrisation, (h) Adhésion des protéines, cellules, bactéries en surface et la formation de biofilms (**Kemppainen *et al.*,1993 ; Gerdemann, 2001 ; Mansouri, 2009 ; Ben Jaber, 2010 ; Laissani, 2010 ; ; Mokaddem et Boutaous 2015**).

### 3.5 Les domaines d'application des biomatériaux :

#### **Cardiovasculaire:**

Les valves cardiaques, le matériel pour circulation extracorporelle, cœur artificiel, assistance ventriculaire, stimulateurs cardiaques, prothèses et endoprothèses vasculaires (**Belilita, 2012**).

#### **Chirurgie plastique et reconstructive:**

Matériaux et implants pour chirurgie esthétique, drains de chirurgie, colles tissulaires, peau artificielle, sutures résorbables (**Belilita, 2012**).

#### **Chirurgie orthopédique:**

Prothèses articulaires (hanche, coude, genou, poignet), orthèses, ligaments et tendons artificiels, cartilage, matériel de remplacement ou comblement osseux, chirurgie du rachis, réparation de fractures (vis, plaques, clous, broches) (**Belilita, 2012**).

#### **Endocrinologie- chronothérapie:**

Pancréas artificiel, pompes portables et implantables, systèmes de libération contrôlée de médicaments, biocapteurs (**Mansouri, 2009**).

#### **Odontologie et stomatologie:**

Matériaux de restauration, comblement dentaire et osseux, traitements prophylactiques, orthodontie, traitements du parodonte et de la pulpe, implants, reconstruction maxillo-faciale (**Belilita, 2012**).

#### **Ophthalmologie:**


Implants, lentilles, coussinets de récupération, produits visqueux de chambre postérieure (**Belilita, 2012**).

#### **Radiologie et imagerie:**

Produits de contraste, produits embolismique, produits pour radiologie interventionnelle (**Belilita, 2012**).

#### **Urologie et néphrologie:**

Dialyseurs, poches, cathéters et tubulures pour dialyse, rein artificiel portable, prothèses de pénis, matériaux pour traitement de l'incontinence (**Mansouri, 2009 ; Belilita, 2012**).

 **Autres domaines :** système de libération contrôlée de médicaments ou de gènes, biocapteurs, encapsulations cellulaire, néo-intestin (**Mokaddem et Boutaous 2015**).

### 3.6 Les propriétés des biomatériaux :

Les biomatériaux doivent avoir des propriétés mécaniques et physico-chimiques aussi proches que possibles des propriétés de l'organe ou de la partie de l'organe. Ces propriétés peuvent être regroupées selon trois grands thèmes (**Mansouri, 2009**):

### **3.6.1 Propriétés mécaniques :**

Les propriétés mécaniques (modules d'élasticité, dureté, résistance à la compression, etc) doivent être aussi proches que possible des propriétés de l'organe remplacé. Elles doivent être garanties après implantation.

Il est important de signaler qu'en fonction du type d'essai réalisé sur un échantillon, les modules d'Young obtenus peuvent être différents. Ceci s'explique principalement par les propriétés mécaniques de l'échantillon (comme l'anisotropie) mais également par l'essai lui-même. Dans les méthodes expérimentales de caractérisation, de nombreux paramètres influencent la mesure des propriétés mécaniques ou physiques : les dimensions, les conditions aux limites des échantillons, les modes de changements (statique ou dynamique), la précision des moyens de mesures...etc (**Mansouri, 2009**).

### **3.6.2 Propriétés physico-chimiques :**

Les propriétés physico-chimiques (forme, taille, T° de traitement, composition chimique, corrosion, biodégradation...etc.) ont également une importance au niveau de la stérilisation, la stérilité des matériaux implantables doit pouvoir être garantie et implique que ces matériaux puissent être stérilisés de façon à ne pas être vecteurs de germes (**Mansouri, 2009**).

### **3.6.3 Propriétés biologiques :**

Les caractéristiques biologiques (bioadhésion, réactions allergiques et toxiques, biodégradation...) se définissent par la réaction du vivant au contact des matériaux. Le matériau ne doit pas introduire de toxicité, ni par lui-même ni par ses produits de dégradation ou de relargage. Les biomatériaux doivent répondre à un cahier des charges précis afin de permettre une réponse biologique optimale (**Mansouri, 2009**).

### **3.7 Les matériaux et le milieu vivant :**

Les réactions de l'organisme à un système implanté dépendent étroitement du milieu d'implantation et de la nature du matériau. Le corps étranger implanté va provoquer au sein de l'organisme des réactions chimiques et physiques (électriques, mécaniques, rhéologiques, ...etc.) qui entraînent des réactions biologiques.

Dans tous les cas ces réactions conduisent à une modification de l'interface matériau- milieu vivant qui se traduit par l'interposition d'une couche de protéines, voire de minéraux à la surface du matériau et une adaptation des tissus environnants. La science des biomatériaux était née et enrichissait le vocabulaire biomédical d'une série de nouveaux mots destinés à définir les interactions entre un organisme vivant et un matériau (**Mansouri, 2009**).

Du fait que les biomatériaux entrent en contact avec le corps humain, ils doivent posséder une propriété ou un ensemble de propriétés regroupées dans le terme « **biocompatibilité** » en plus de ses propriétés mécaniques (Sorel, 2005).

### **3.7.1 La biocompatibilité :**

La biocompatibilité est la capacité d'un matériau à être accepté par un être vivant. Elle se définit aujourd'hui, comme le contrôle permanent des influences réciproques entre l'organisme et le matériau de façon que l'un n'ait pas d'effets défavorables sur l'autre (aucun phénomène de rejet ni de toxicité n'est observé) (Pariente *et al.*, 2005).

- ✓ La biocompatibilité d'un matériau est régie par deux mécanismes :
  - Les effets du matériau sur le milieu.
  - Et les effets du milieu sur le matériau.
- ✓ Les principaux facteurs qui influencent la biocompatibilité sont :
  - La composition chimique du matériau.
  - Et leurs propriétés physiques tels que (la topographie de surface, la géométrie, l'énergie de surface...) (Mansouri, 2009).

### **3.7.2 La biodégradation:**

C'est la capacité d'un matériau à être décomposé par des MO vivants (bactéries, enzymes, champignons...).

La mesure de la biodérabilité d'un matériau permet d'évaluer son impact sur l'environnement, elle dépend des caractéristiques du matériau, de son procédé de fabrication, et des paramètres physico-chimiques et microbiologiques du milieu de dégradation (sol, eau, ect...).

On distingue deux types de dégradation :

- Une dégradation purement chimique déterminée par le milieu uniquement.
- Une dégradation purement biologique déterminée par les cellules.

Les débris d'usure (surfaces en frottement dans les prothèses articulaires) ou de dégradations posent un problème particulier :

- Lorsqu'ils sont de petite taille (inférieurs à quelques dizaines de microns) ces débris ne sont pas encapsulés, ils sont intégrés par les macrophages qui essaient de les dégrader à l'intérieure même de la cellule.
- Lorsque ces débris ne sont pas facilement dégradables par le système enzymatique ou lorsque les produits sont toxiques pour la cellule, il en résulte une inflammation chronique difficile à traiter.

Afin de mieux intégrer les matériaux au milieu vivant, on a souvent essayé de les associer avec des protéines adhésives comme fibronectines, le collagène, la vitronectine, la laminine, ou même des cellules, ces voies de recherche sont actuellement en plein développement (Mansouri, 2009).

**3.7.3 La biorésorption:**

Un matériau biorésorbable, destiné à se résorber et à être remplacé par un tissu vivant, disparaît complètement après biodégradation à plus ou moins long terme (Mansouri, 2009).

**3.7.4 La bioactivité :**

Selon Hench (1990) la bioactivité désigne les caractéristiques d'un matériau lui permettant d'obtenir une liaison avec les tissus environnants sans interposition d'une couche fibreuse (contact direct entre le tissu et le matériau). Elle dépend directement des propriétés chimiques et physico-chimiques du matériau, et s'oppose à la bio-inertie (aucune réaction n'a lieu entre le matériau et les tissus vivants, la couche fibreuse d'encapsulation est de faible épaisseur, voire difficilement observable) (Mansouri, 2009) (Figure 26).

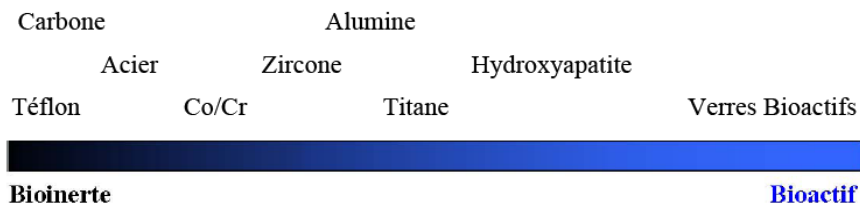


Figure 26 : Biomatériaux répertoriés en fonction de leur bioactivité (Arioua, 2007).

**3.8 Implant des biomatériaux :**

Aujourd'hui les biomatériaux sont utilisés pratiquement partout au niveau du corps humain. La figure suivante montre les points les plus concernés par l'implantation des principaux biomatériaux dans un corps humains (Mokaddem et Boutaous, 2015).

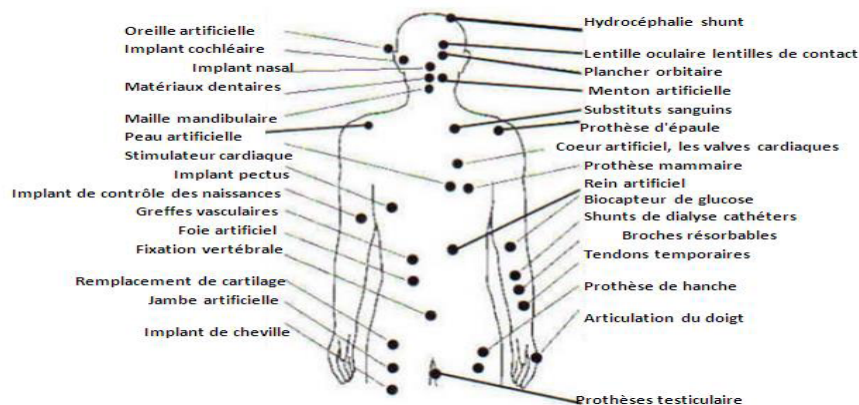


Figure 27 : Biomatériaux dans un corps humain (Mokaddem et Boutaous, 2015).

#### 4 Les principales infections nosocomiales dues à l'implantation des biomatériaux:

En effet, il a été rapporté que 60 à 70% des IN sont liées à l'implantation de DM (les cathéters veineux centraux, les sondes urinaires, les prothèses orthopédiques, les valves cardiaques artificielles, les dispositifs intra-utérins, les lentilles de contact) (Afissa, 2014) (Figure 28).

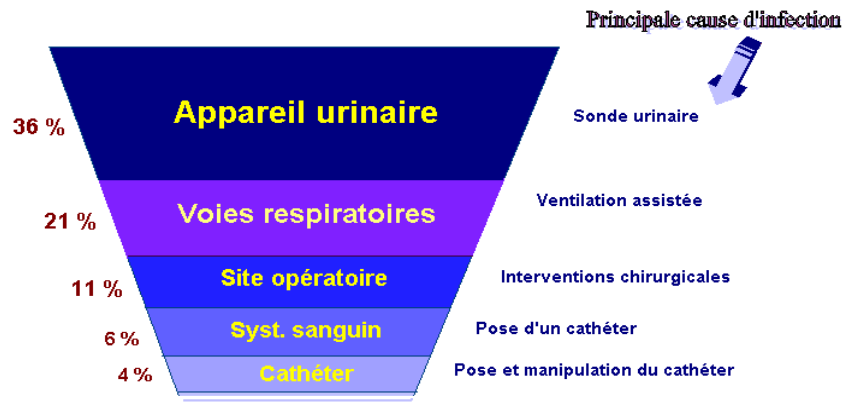


Figure 28 : Les principales IN dues à l'implantation d'un corps étrangers.

(<https://ddd3650equipe10.weebly.com/classification.html>)

#### 4.1 Les infections associées au sondage urinaire :

##### 4.1.1 Définition de quelques termes :

##### 4.1.1.1 Les infections urinaires :

Sont les infections nosocomiales les plus fréquentes. Elles sont souvent associées à la réalisation d'un cathétérisme des sondes urinaires (Auger, 2012).

##### 4.1.1.2 Sondage urinaire :

Est défini par l'introduction d'une sonde dans la vessie qui consiste à vider cette dernière de son urine par un tube de caoutchouc qui traverse l'urètre (Boukhelifa, 2017).

Il peut être unique (sondage itératif), répété (sondage intermittent plusieurs fois par jour) ou permanent (sondage à demeure) (Auger, 2012).

##### 4.1.1.3 La sonde urinaire :

Est un dispositif tubulaire creux destiné à être introduit dans la vessie en passant par l'urètre pour évacuer l'urine sans avoir à déplacer physiquement, injecter un médicament ou bien diagnostiquer l'état de vessie. De longueur et de diamètre variables, elle possède à son extrémité un raccord conique permettant son raccordement à une poche de recueil des urines et une extrémité distale de forme variable selon l'indication et le concepteur (Boukhelifa, 2017).

#### 4.1.1.3.1 Les différents types de sondes urinaires :

Une sonde urinaire est caractérisée par :

- Sa forme, droite ou béquillée.
- Sa longueur (20 à 40 cm).
- sa charrière qui désigne le diamètre externe et qui correspond à 1/3 de mm, à choisir en fonction du calibre du méat urinaire qui varie de 3 à 8 mm.
- le matériau la constituant. Les différences de surface entre les matériaux influencent l'adhérence des micro-organismes (**Auger, 2012**):
  - **Le latex** : élastomère naturel hautement résistant et souple mais qui est irritant pour les muqueuses et peut être allergisant. Il présente des aspérités favorisant l'adhérence. Les sondes en latex ne peuvent pas être maintenues plus de 7 jours et tendent à disparaître. L'enduction de silicone, d'hydrogel ou de téflon (**PTFE** : poly Tétra Fluro Erthylène) permet d'obtenir une meilleure tolérance et de limiter les incrustations en rendant la surface de la sonde plus lisse. Ces sondes peuvent être poussées pendant 1 à 4 semaines (**Auger, 2012**).
  - **Le PVC (Polychlorure de Vinyl)** : il est non irritant pour les muqueuses et présente une résistance moyenne à l'incrustation. Il est utilisé pour les sondages intermittents (**Auger, 2012**).
  - **La silicone** : élastomère de synthèse qui présente une grande inertie chimique, une résistance à la chaleur et à l'incrustation. Les sondes en silicone sont bien tolérées et peuvent être posées 1 mois, mais leur coût est élevé (**Auger, 2012**).

#### 4.1.1.3.2 Les sondes urinaires le plus couramment utilisées, sont :

- **Les sondes de Mercier et de Nélaton** : qui sont des sondes vésicales sans système de fixation. Elles sont utilisées pour le sondage ponctuel ou le sondage intermittent, par exemple lors d'une hyperplasie de la prostate ou de la présence d'un obstacle comme des caillots ou des calculs, ou pour des instillations vésicales de médicaments.
- **la sonde de Foley** : qui est une sonde à deux voies, avec un ballonnet gonflé à l'intérieur de la vessie pour permettre la fixation de la sonde. Elle est notamment utilisée pour le sondage à demeure (**Auger, 2012**).

#### 4.1.1.4 L'infection du tractus urinaire :

Une infection du tractus urinaire associée à :

- la présence d'au moins un des signes suivant : fièvre ( $>38^{\circ}\text{C}$ ), impériosité mictionnelle, pollakiurie, brûlure mictionnelle ou douleur sous-pubienne, en l'absence d'autre cause infectieuse ou non.
- Et le critère biologique suivant à l'**ECBU** (Examen Cyto Bactériologique des Urines) lors d'un sondage vésical ou autre abord de l'arbre urinaire en cours ou dans les 7 jours précédents : Une bactériurie  $\geq 10^5$  micro-organismes/ml avec au plus 2 micro-organismes différents. La leucocyturie n'est pas contributive en présence d'un sondage urinaire.

La colonisation correspond à la présence d'un ou plusieurs micro-organismes dans l'arbre urinaire sans manifestation clinique. Les concepts de la bactériurie asymptomatique et de colonisation correspondent à la même entité, seul le terme de colonisation est désormais admis. La colonisation est désormais exclue du champ des infections urinaires associées aux soins. Le risque infectieux est lié à la méthode de sondage utilisée, à la durée du sondage, au type de sonde utilisé et au terrain du patient. Le risque est plus important en cas de sondage à demeure (**SAD**) (**Auger, 2012**).

#### **4.1.2 La physiopathologie et l'infection urinaire sur sonde :**

Le tractus urinaire est normalement stérile, à l'exception des derniers centimètres de l'urètre distal qui sont colonisés par des flores périnéales, digestives et génitales. Plusieurs mécanismes permettent de lutter contre l'envahissement de la vessie par des MO :

- La longueur de l'urètre.
- Les caractéristiques physico-chimiques de l'urine telle que le pH et l'osmolarité.
- Le flux mictionnel.
- Les immunoglobulines urinaires...

Le sondage urinaire provoque une rupture de cette barrière de protection par :

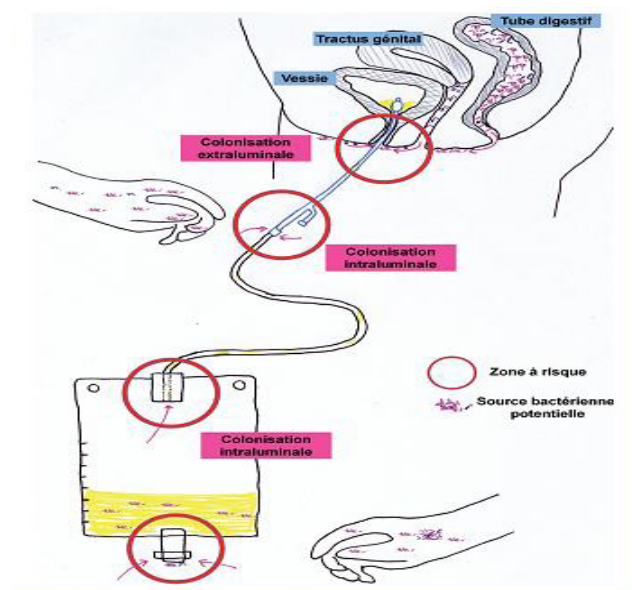
- une action mécanique érosive sur la muqueuse urothéliale.
- la perturbation du flux mictionnel avec la présence quasi-constante de résidus,

Le développement d'un film muqueux constitué de protéines de l'hôte sur toute la surface de la sonde, constituant des récepteurs permettant l'adhérence des bactéries et la formation de biofilm (**Auger, 2012**).

En présence d'une sonde urinaire, les micro-organismes requièrent donc moins de facteurs de virulence pour coloniser et établir une infection du tractus urinaire que ceux infectant un tractus urinaire fonctionnel (**Auger, 2012**).

En dehors des rares acquisitions par voie hématogène, 2 modes d'entrée des bactéries par voie ascendante ont été décrits, qui peuvent s'associer chez un même patient sondé (**Figure 29**) :

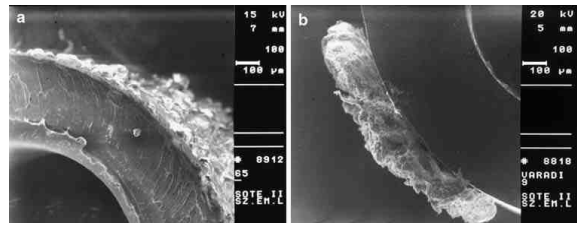
- **la voie extraluminaire** : des bactéries endogènes peuvent être introduites directement lors de la mise en place de la sonde ou migrer du méat urinaire vers la vessie, le long du film muqueux développé sur la surface de la sonde. Cette voie est le mode d'entrée majoritaire des bactéries au cours des CAUTIs (66 %).
- **la voie endoluminaire** : des bactéries exogènes peuvent pénétrer à l'intérieur de la lumière de la sonde par contamination du système de drainage, notamment lors de la manipulation de la connexion sonde-collecteur d'urine, ou par contamination du sac collecteur avec reflux des urines collectés vers la vessie par exemple au moment de la mobilisation du patient. Ces bactéries exogènes sont véhiculées par le personnel de santé et peuvent diffuser selon un mode épidémique. Cette voie est désormais réduite grâce à l'utilisation quasi-constante de systèmes clos (**Auger, 2012**).



**Figure 29** : Principales voies d'acquisitions des MO lors d'un sondage vésical  
(Bakini et Nigri, 2014).

Ainsi, les sondages urinaires de longue durée entraînent une colonisation quasi-permanente des urines, avec la formation de biofilm sur la surface interne et externe de la sonde.

Cette colonisation peut être le point de départ des IUN chez 10 % des patients sondés. L'infection du tractus urinaire peut être limitée à la vessie (cystite) ou se compliquer d'une atteinte rénale (pyélonéphrite), caractérisée par la survenue de fièvre et de douleurs lombaires, avec un risque à court terme de bactériémie ou de choc septique (**Auger, 2012**) (**Figure 30**).



**Figure 30** : Développement des biofilms bactériens sur une sonde urinaire observée par microscopie électronique (**Auger, 2012**).

#### 4.1.3 Epidémiologie :

Les données épidémiologiques disponibles peuvent se heurter au problème de l'absence de distinction entre la colonisation et l'infection urinaire, par manque de renseignements cliniques. Néanmoins, il ressort que 30% des infections nosocomiales sont des infections urinaires, ce qui leur confère la première place chez les patients adultes hospitalisés en soins de suite et de réadaptation, soins de longue durée, médecine et obstétrique, ainsi que la deuxième place dans les services de réanimation et de chirurgie (**Auger, 2012**).

Les infections urinaires (**IU**) liées au sondage vésical représentent 80% des infections urinaires nosocomiales, l'incidence d'acquisition d'une infection urinaire sur sonde varie de 3 à 10% par jour de sondage, avec un risque cumulé de 100% après 30 j (**Herard et al., 1998**).

De plus, la sonde vésicale représente la voie de contamination dans 70 à 80% des bactériuries chez la femme et dans 20 à 30% chez l'homme (**Herard et al., 1998**).

#### 4.1.4 Facteurs de risques associés aux dispositifs de drainage :

##### 4.1.4.1 Les facteurs extrinsèques :

Principal facteur de risque de survenue d'une IU sur sonde est la durée du sondage vésical, qui est responsable de l'augmentation du risque linéaire avec le temps (5 à 10 % par jour de sondage). Elles sont également liées (dans 20 % des cas) à des gestes sur des voies urinaires tels que l'endoscopie (cystoscopie) et la chirurgie urologique (**Bakini et Nigri, 2014**).

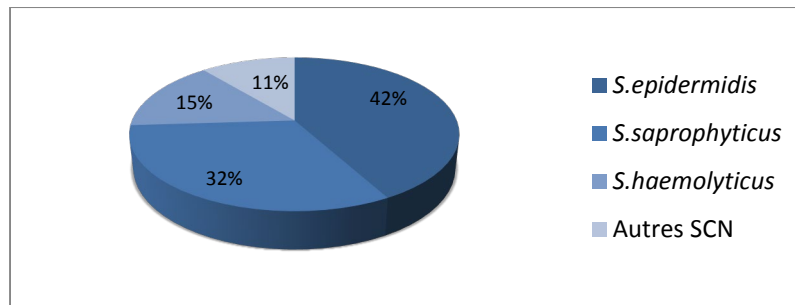
##### 4.1.4.2 Les facteurs intrinsèques :

Ce sont des facteurs fréquemment retrouvés, et 3 d'entre eux sont considérés comme majeurs:

- Le sexe féminin avec un risque multiplié par deux par rapport à un homme.
- Une antibiothérapie préalable.
- Une faute septique lors des soins du système de sondage (**Bakini et Nigri, 2014**).

#### 4.1.5 Les MO responsables des infections liées aux sondages urinaires :

Les infections urinaires nosocomiales sont dues à des derniers centimètres de l'urètre distal où il est colonisé par la flore digestive (Entérobactéries, Streptocoques, anaérobies), la flore cutanée (Staphylocoques à coagulase négative, Corynébactéries) et la flore génitale (Lactobacilles chez la femme) dont la contamination qui touche les patients porteurs de sonde vésicale concerne plus particulièrement les SCN (**Bakini et Nigri, 2014**) (**Figure 31**).



**Figure 31** : Répartition des SCN responsables d'IUN (**Herard et al., 1998**).

#### 4.1.6 Traitement :

Toutes les infections du tractus urinaire justifient un traitement, dont le choix est basé sur la nature des MO et de leur sensibilité aux ATB. Les bactéries associées aux biofilms étant moins sensibles aux antibiotiques, il y a un risque de récurrence de l'infection : il faut retirer la sonde urinaire, ou la changer lorsque le drainage est indispensable (**Boukhelifa, 2017**).

#### 4.1.7 Prévention : Plusieurs mesures préventives sont indispensables :

##### 4.1.7.1 Eviter le sondage vésical abusif :

Les indications et la durée du sondage doivent être limitées au strict nécessaire. Des études sur la justesse de l'utilisation des sondages urinaires ont indiqué que 21 à 38 % des sondages était non justifiés. Des alternatives au sondage à demeure comme l'étui pénien, le cathéter sous-pubien ou le sondage évacué sont associées à un taux d'infections urinaires plus faible, elles sont donc à privilégier lorsque cela est possible. L'échographie sous pubienne est préférable au sondage pour mesurer le résidu vésical (**Auger, 2012**).

##### 4.1.7.2 Utiliser un système « clos » :

Les systèmes clos permettent de réduire considérablement la bactériurie : elle est présente dans 95% des cas après 96 heures de sondage avec un système ouvert, alors qu'elle est présente dans 50 % des cas après 14 jours de sondage chez l'homme et 11 jours chez la femme avec un système clos (**Auger, 2012**).

**4.1.7.3 Application des bons protocoles d'insertions des sondes :**

La pose de la sonde doit être réalisée avec asepsie. Le personnel soignant doit se désinfecter les mains et mettre des gants avant toute manipulation du système. Pour éviter les reflux, le sac collecteur doit être en position basse, mais sans contact avec le sol, et être changé régulièrement avant qu'il ne soit trop rempli. Le changement systématique de la sonde vésical n'est pas recommandé (Auger, 2012).

**4.1.7.4 Le choix de la sonde :**

Une faible charrière et un ballonnet de volume inférieur à 10 ml semblent réduire les irritations et le risque d'infections urinaires lors du sondage à demeure. Après chirurgie urologique, il est cependant nécessaire de maintenir un diamètre élevé pour l'évacuation de caillots. Les sondes enduites de silicone ou d'hydrogel permettent de diminuer l'adhérence des bactéries.

D'autres moyens de prévention sont envisagés comme la prise de canneberge. En effet, la consommation d'extraits de canneberge a été proposée pour prévenir les infections urinaires. Ce produit limiterait, par le fructose et les substances proanthocyanidiniques qu'il contient, l'adhérence des bactéries sur les cellules uro-épithéliales tapissant la muqueuse vésicale. En revanche, certaines mesures ne sont pas recommandées telles que : la présence d'antiseptique dans le sac collecteur, l'antibioprophylaxie. Les irrigations ou instillations vésicales d'agents antimicrobiens (Auger, 2012).

**4.2 Les infections associées aux cathéters vasculaires :****4.2.1 Définition du cathéter vasculaire :**

Est un DM consistant en un tube, de largeur et de souplesse variables, et fabriqué en différentes matières selon les modèles ou les usages pour lesquels ils sont destinés.

Le cathéter est destiné à être inséré dans la lumière d'une cavité du corps ou d'un vaisseau sanguin et permet le drainage ou l'infusion de liquides, ou encore un accès pour d'autres DM.

La procédure d'insertion d'un cathéter se nomme le cathétérisme (Bazin, 2010).

La mise en place d'un dispositif intra-vasculaire peut répondre à plusieurs besoins :

- Assurer un abord vasculaire pour l'administration de médicaments, de solutés de nutrition parentérale, de produits sanguins.
- Permettre la mesure des paramètres hémodynamiques (Auger, 2012).

**4.2.2 Les différents types de cathéters vasculaires :**

❖ On distingue les cathéters intra-vasculaires utilisés pour des courtes durées :

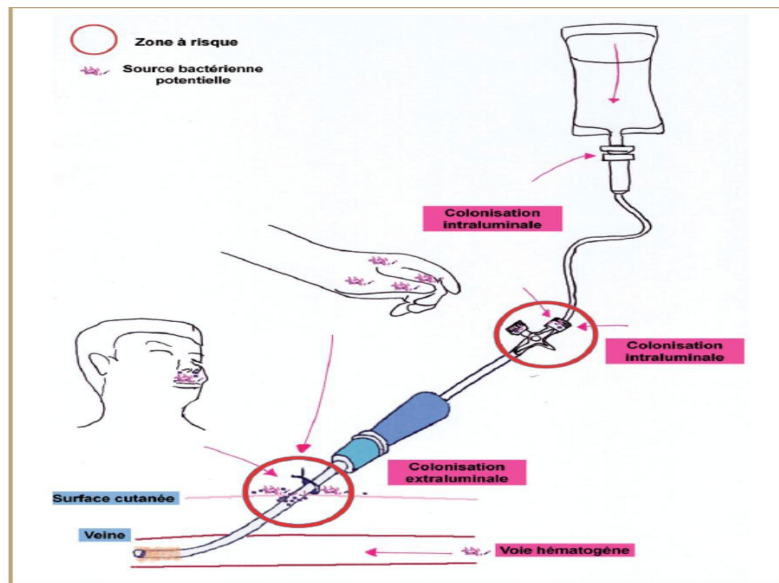
- Les cathéters veineux périphériques, insérés au niveau de la veine de la main ou de l'avant-bras pour une durée très courte de 2 à 4 jours.
  - Les cathéters artériels périphériques, insérés au niveau de l'artère radiale ou fémorale pour le monitoring des paramètres hydrodynamiques ou pour permettre un accès vasculaire pour des prélèvements répétés de gaz du sang.
  - Les cathéters veineux centraux, insérés dans des conditions d'asepsie chirurgicale dans la veine sous-clavière, jugulaire interne ou fémorale.
- ❖ Et les cathéters intra-vasculaires utilisés pour de longues durées :
- les chambres à cathéter, insérées chirurgicalement pour un traitement répété de plus de 3 mois ou veinotoxique ou en l'absence de capital veineux.

Les biomatériaux couramment utilisés pour former les cathéters vasculaires sont la silicone, le PTFE, le polyuréthane et le PVC. Le matériau utilisé influence le dépôt de protéines d'adhérence de l'hôte telles que l'albumine, le fibrinogène, la fibronectine... et par conséquent l'attachement des bactéries et la formation de biofilm. Les cathéters vasculaires en silicone semblent plus à risque d'infections que ceux formés de PTFE, de polyuréthane ou de PVC (Auger, 2012).

#### 4.2.3 Physiopathologie :

4 voies de colonisation des cathéters intra-vasculaires par MO sont décrites (Figure 32) :

- **La voie extraluminale** : les bactéries migrent à partir du site d'insertion et en suivant la surface externe du cathéter, le long du trajet sous-cutané. Les bactéries proviennent de la flore cutanée ou, moins fréquemment, de la flore oropharyngée du patient, de l'environnement hospitalier à partir des mains du personnel soignant ou d'un antiseptique contaminé. Cette porte d'entrée est moins importante pour les chambres implantables grâce à leur implantation dans une loge hermétique sous cutanée.
- **La voie intraluminale** : les bactéries migrent le long de la lumière du cathéter, à partir des connexions aux lignes de perfusion. Les bactéries proviennent alors également de la flore cutanée du patient ou des mains des personnels soignants.
- **La voie hématogène** : lors d'une bactériémie occasionnée par un foyer infectieux à distance, les bactéries présentes dans le sang peuvent s'attacher à la portion intravasculaire du cathéter. Elle est considérée comme rare (<10 %).
- **L'administration d'une préparation injectable contaminée** : rare également (Auger, 2012).



**Figure 32** : Principales voies de colonisation du cathéter vasculaire (Bakini et Nigri, 2014).

#### 4.2.4 Epidémiologie :

Au contact du flux sanguin, la surface des cathéters se recouvre d'un film constitué d'éléments de l'hôte, comme des plaquettes ou des protéines (albumine, fibronectine, fibrinogène...), qui va favoriser la formation de biofilm. Ce dernier peut se former moins de 24 heures après l'insertion du cathéter. La formation de biofilm a tendance à être plus importante sur la surface externe pour le cathéter mis-en place depuis moins de 10 j. Pour ceux mis en place depuis plus de 30 jours, la formation de biofilm dans la lumière du cathéter semble prédominer (Auger, 2012).

#### 4.2.5 Facteurs de risque des infections associées aux cathéters vasculaires

Ce sont les facteurs qui sont liés à la pose du cathéter tels que :

- la nature du cathétérisme (périphérique ou central).
- les conditions de pose du cathéter :(programmée ou en situation d'urgence et le Site d'insertion du cathéter central).
- défaut d'asepsie : Lavage des mains absent ou inapproprié.
- Préparation cutanée non conforme au référentiel.
- Antiseptiques inadaptés.
- Les conditions de pose et l'expérience de l'opérateur.
- Le site d'insertion choisi, durée du cathétérisme.
- Fréquence et conditions de manipulations de la ligne veineuse.
- Type de soluté perfusé (composition, pH, osmolarité, débit de perfusion) (Bakini et Nigri, 2014).

#### 4.2.6 Les MO responsables des infections liées aux cathéters vasculaires :

Pour les cathéters à émergence cutanée, les MO les plus fréquemment impliqués dans les bactériémies associées sont principalement ceux de la flore cutanée comme *S. aureus* et les SCN, suivis de *Candida* sp, et des entérobactéries (Bakini et Nigri, 2014) (Figure 33).

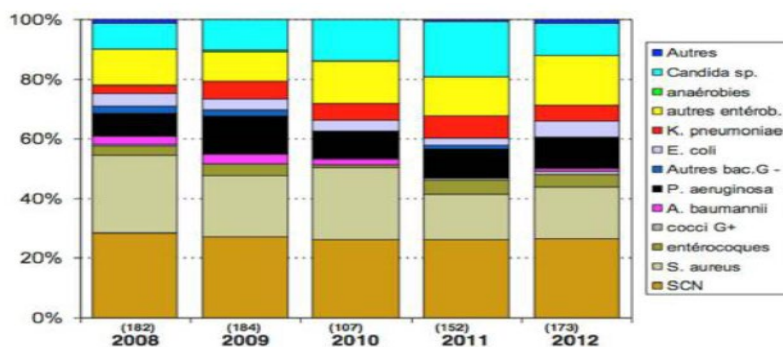


Figure 33 : MO responsables des bactériémies liées au cathéter (BLC) (Bakini et Nigri, 2014).

#### 2.1.2- Le diagnostic :

Le diagnostic de BLC se fera à l'aide de prélèvement d'hémocultures différentielles de prélèvement de pus au niveau du site d'insertion de la culture du cathéter (Auger, 2012).

#### 4.2.7 Prévention t traitement :

Pour prévenir les infections liées aux dispositifs intra-vasculaires, il faut tout d'abord limiter les facteurs de risques. A côté des facteurs de risque liés au malade qui sont difficilement contrôlables. Quelques mesures sont essentielles :

- Restreindre la pose d'un cathéter vasculaire aux indications pertinentes et en limiter la durée par une réévaluation fréquente.
- Réaliser une désinfection des mains du personnel soignant avant la manipulation du cathéter par friction hydroalcoolique, ainsi qu'une antiseptie cutanée avant l'insertion du cathéter avec la Chlorhexidine alcoolique ou la polyvidone iodée alcoolique.
- Choisir un site d'insertion au membre supérieur plutôt qu'au membre inférieur chez l'adulte. Il est recommandé de ne pas insérer un cathéter en regard d'une articulation.
- Examiner le site d'insertion au moins une fois par jour à la recherche de signes locaux.

Une approche pour l'éradication des biofilms déjà formé sur les cathéters intravasculaires est de réaliser un traitement intra-luminal du cathéter sous forme de « verrou antibiotique ». Une forte concentration d'agent antimicrobien est injectée in situ de façon à remplir la lumière du cathéter, pendant une durée suffisamment longue (e 12h) (Auger, 2012).

### 4.3 Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) :

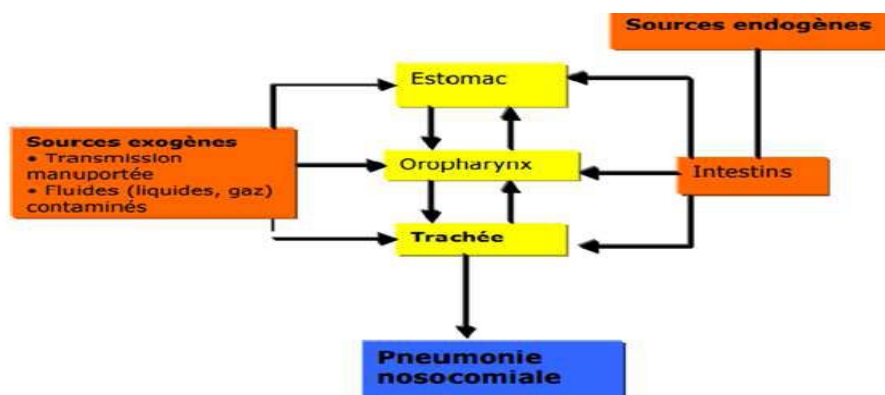
#### 4.3.1 Définition d'une PAVM :

Une PAVM correspond à « toute pneumonie survenant chez un malade dont la respiration est assistée par une machine, soit de manière invasive par l'intermédiaire d'un tube endotrachéal ou d'une trachéotomie, soit de manière non invasive par l'intermédiaire d'un masque facial ou d'un autre procédé, dans les 48h précédant la survenue de l'infection » (**Auger, 2012**).

La pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) pourrait aussi bien être nommée pneumopathie liée à la sonde d'intubation. Cette dernière favorise les deux principaux mécanismes reconnus comme à l'origine de la PAVM. Le biofilm bactérien qui se dépose dans la sonde d'intubation est un des mécanismes de développement des pneumonies acquises sous ventilation mécanique (**Bezoui, 2016**).

#### 4.3.2 Physiopathologie:

Contrairement à d'autres matériels biomédicaux placés dans des zones stériles (pacemaker et cavités cardiaques, prothèses et articulations, etc.), la sonde d'intubation est placée à travers la cavité oro-pharyngée jusque dans la trachée où se trouvent de nombreuses bactéries résidentes. D'autres bactéries peuvent les rejoindre en migrant de la sphère oropharyngée en suivant soit la surface externe de la sonde, via le ballonnet, soit la surface interne lors des aspirations. Le mécanisme d'acquisition principal est la micro-inhalation de sécrétions contenant des MO pathogènes, endogènes ou exogènes (transmission croisée à partir d'un autre patient ou de l'environnement), colonisant les voies aériennes supérieures et digestives (**Auger, 2012 ; Bezoui, 2016**) (**Figure 34**).



**Figure 34** : Les voies de la colonisation bactérienne pouvant conduire au développement d'une pneumonie nosocomiale (**Bezoui, 2016**).

### 4.3.3 Epidémiologie :

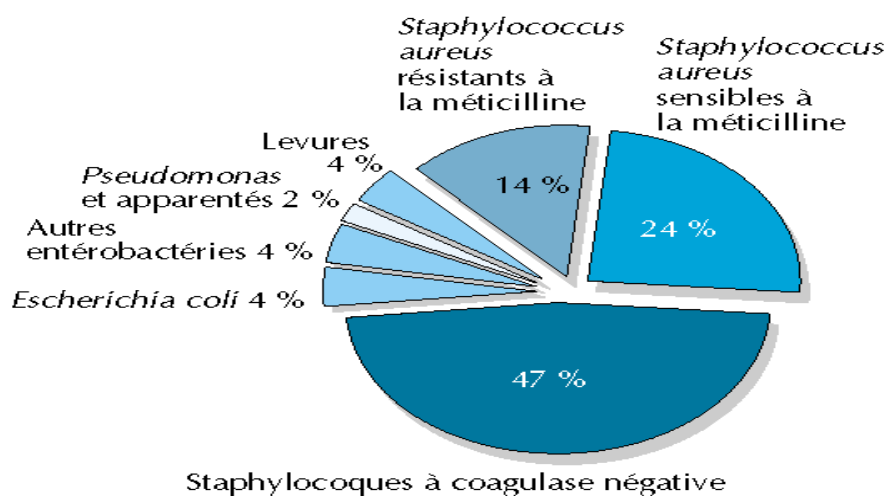
Les pneumopathies associées aux soins représentent environ 15 % des infections nosocomiales et occupent, avec les infections des sites opératoires, le deuxième rang des sites infectés. Leur incidence varie entre 0.5 à 1 cas pour 100 admissions, et augmente de 6 à 20 fois chez les patients, adultes ou enfants, sous ventilation mécanique. Ce qui place les pneumopathies acquises sous ventilation au 1<sup>er</sup> rang des infections nosocomiales en réanimation (**Auger, 2012**). Les patients atteints de ces pneumopathies nécessitent une ventilation mécanique et un séjour prolongés ainsi que des antibiothérapies souvent lourdes, responsables d'un surcoût non négligeable. La mortalité attribuable aux PAVM pourrait excéder 10 % (**Bezoui, 2016**).

### 4.3.4 Facteurs de risques :

Les facteurs de risques prédisposant au développement d'une pneumonie chez un patient ventilé mécaniquement sont nombreux :

- Certains sont liés au patient lui-même comme l'âge, la présence d'une BPCO (Broncho Pneumopathie Chronique Obstructive) ou d'une diminution de l'état de conscience.
- D'autres facteurs sont « modifiables » comme le décubitus dorsal, la nutrition parentérale, une prophylaxie des ulcères de stress, le changement fréquent des circuits du ventilateur, la prévention des auto-extubations, une pression basse dans le ballonnet de la sonde d'intubation et une antibiothérapie large spectre préalable (**Bezoui, 2016**).

### 4.3.5 Les MO responsables des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) :



**Figure 35 :** Répartitions des MO responsables des infections nosocomiales dans le service de réanimation (**Guibert et Boithias, 1999**).

**4.3.6 Prévention :**

Les efforts de prévention peuvent être dirigés selon 3 axes majeurs :

- limiter l'exposition au risque en privilégiant la ventilation non invasive, en réduisant la durée de ventilation mécanique par des protocoles de sevrage et en évitant extubations non programmées et/ou ré intubations (**Auger, 2012**)
- limiter la colonisation bactérienne des voies aériennes supérieures et digestives en antiseptiques, en réservant la prophylaxie antiulcéreuse aux patients à haut risque d'ulcère de stress.
- prévenir l'inhalation en installant le patient en position demi-assise (30°), en vérifiant régulièrement la pression du ballonnet de la sonde endotrachéale, en aspirant les sécrétions sous-glottiques (**Bezoui, 2016**).

**4.3.7 Traitement :**

Différentes techniques ont été proposées pour la réduction du biofilm bactérien comme imprégnation de la sonde d'intubation par l'argent qui a des propriétés antibactériennes C'est la technique actuellement la plus développée. Cette technique a été très critiquée et ne permet pas de retenir actuellement la sonde imprégnée d'argent comme technique de routine pour prévenir la PAVM car une baisse significative de la colonisation pulmonaire n'a été montrée que sur des modèles animaux. D'autres techniques consistant à aspirer, à brosser ou à détruire le mucus par photosensibilisation sont en cours d'évaluation et n'ont pour l'instant démontré leur efficacité que sur la diminution du biofilm (**Bezoui, 2016**).

**4.4 Les infections ostéo-articulaires sur matériel (IOAM) :****4.4.1 Définition:**

Les infections ostéo- articulaire sur matériel (**IOAM**) constituent l'une des complications les plus redoutées en chirurgie (**Bezoui, 2016**).

**4.4.2 Le matériel utilisé en chirurgie orthopédique :**

Le matériel utilisé en chirurgie orthopédique peut être :

- Du matériel d'ostéosynthèse, comprenant le matériel interne apposé à l'os ou situé en position centromédullaire (plaques, clous, vis, greffons, ligaments artificiels, ...) et les fixateurs externes.
- Des prothèses, considérées comme définitives. Leurs ablations ne peuvent être envisagées qu'au prix d'une dégradation fonctionnelle importante.
- Des substituts osseux et allogreffes (**Bezoui, 2016**).

#### 4.4.3 Physiopathologie et épidémiologie :

Les implants se recouvrent de protéines de l'hôte rapidement après leur pose, favorisant l'attachement des bactéries puis la formation de biofilm, à l'origine d'infections ostéo-articulaires sur matériel.

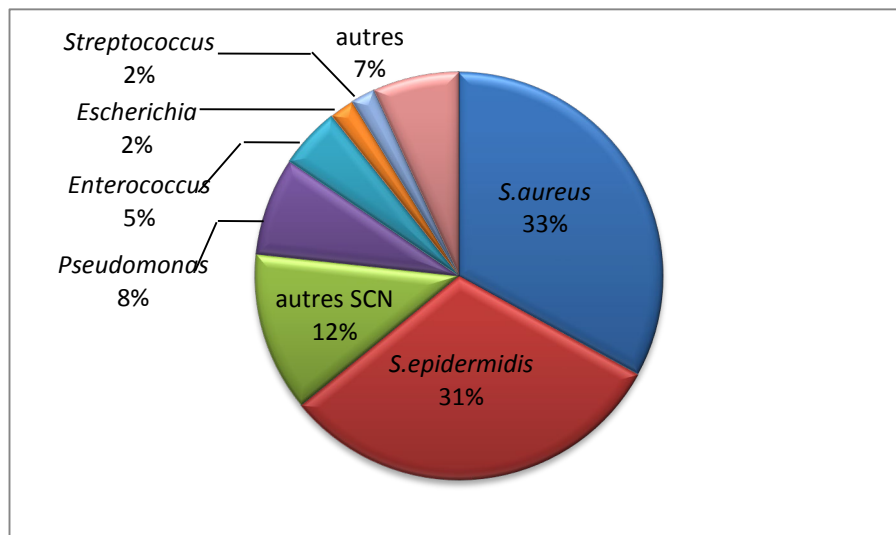
Un inoculum bactérien inférieur à 1000 unités formant colonies est considéré comme suffisant pour déclencher le processus infectieux. Le biofilm s'étend en quelques heures à quelques jours à toute la surface du matériel, expliquant qu'un lavage chirurgical tardif au-delà de 15 j soit inefficace. Ces constatations physiopathologiques expliquent la nécessité de l'ablation du matériel le plus souvent, surtout lorsque l'infection est ancienne, l'implant descellé ou l'état immun du patient défavorable.

Les bactéries peuvent provenir :

- d'une contamination directe de l'extérieur :
  - **Lors d'un geste invasif** : il s'agit d'infection sur site opératoire ou d'infection après un geste thérapeutique ou diagnostique.
  - **Post-traumatique** : l'os et son matériel peuvent être exposés à l'air lors l'effraction cutanée provoquée par un agent vulnérant ou par une fracture ouverte, des escarres, des vascularités, des artérites ...
- D'une contamination par contiguïté : l'infection des parties molles peut se propager aux structures ostéo-articulaires à proximité en suivant préférentiellement des territoires de drainage lymphatique.
- D'une contamination par voie hématogène (**Bezoui, 2016**).

#### 4.4.4 Les MO responsables des infections ostéo-articulaires sur matériel (IOAM) :

Les staphylocoques sont les bactéries le plus souvent isolées dans les infections sur matériel orthopédique. La fréquence des souches de staphylocoque à coagulase négative (particulièrement *S. epidermidis*) rejoint celle du *S. aureus*. Les infections sont le plus souvent mono-microbiennes (90 %). Parmi les autres bactéries isolées, les streptocoques (<sup>2</sup> - hémolytiques ou non hémolytiques), entérocoques, *P. aeruginosa*, les entérobactéries (*E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *P. mirabilis*) et les anaérobies (*Propionibacterium acnes*) sont à retenir. Il faut cependant souligner qu'en présence de matériel, n'importe quelle espèce bactérienne peut être impliquée, y compris *Brucella*, *Pasteurella*, *Listeria*, *Haemophilus*, *Campylobacter* (**Bezoui, 2016**) (**Figure 36**).



**Figure 36** : Fréquence des principales espèces pathogènes parmi les isolats cliniques d'infections associées aux implants orthopédiques (**Bauer, 2016**).

#### 4.4.5 Prévention :

Les mesures générales de prévention des infections en chirurgie orthopédique et traumatologique sont :

- la préparation cutanée.
- l'antibioprophylaxie par voie systémique, codifiée par la Conférence de consensus « antibioprophylaxie en milieu chirurgical chez l'adulte ».
- l'antibiothérapie locale à visée prophylactique sous forme de ciments imprégnés d'antibiotiques, qui est recommandée dans le cadre d'arthroplastie de première intention.

La mise en place de mesures préventives à réduit le risque d'infection pré-opératoire à moins de 1 % pour les prothèses de hanche et à moins de 2 % pour les prothèses de genou (**Auger, 2012**).

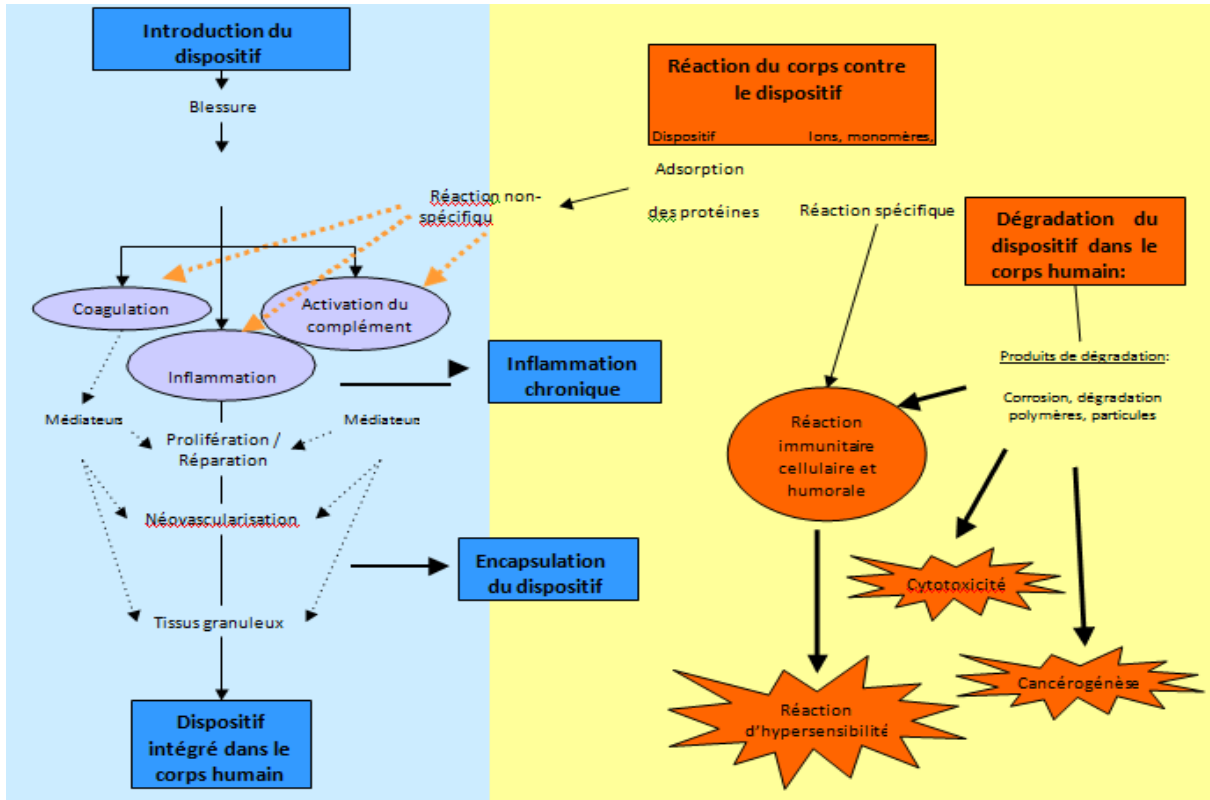
#### 4.5 Les interactions des biomatériaux :

##### 4.5.1 Interaction tissus- biomatériau : « Processus de guérison et de réaction de l'hôte contre le dispositif » :

L'implantation d'un biomatériau génère souvent une blessure donnant lieu à un saignement. C'est donc généralement le sang qui entre en contact avec l'implant en premier lieu.

La guérison suite à la blessure consécutive à l'implantation du biomatériau peut se décomposer en quatre phases (**Sorel, 2005**) (**Figure 37**) :

- 1) **L'hémostase:** les plaquettes contrôlent le saignement par la coagulation. L'adhésion se fait sur les protéines en surface du biomatériau. Le caillot formé joue le rôle de matrice provisoire pour la régénération du tissu en bouchant les interstices autour du biomatériau implanté (Mokaddem et Boutaous, 2015).
- 2) **L'inflammation:** la formation du caillot induit la production de molécules (cytokines) qui déclenchent le recrutement de cellules inflammatoires (neutrophiles, monocytes, lymphocytes, macrophages). Ces cellules tentent alors de digérer les débris de tissus et le biomatériau par un processus appelé phagocytose. Les facteurs de croissance générés autour de la blessure initient alors la mitose (réplication cellulaire) des tissus connectifs (frontière de la blessure) (Mokaddem et Boutaous, 2015).
- 3) **La prolifération de cellules :** est due aux facteurs de croissance et a pour conséquence l'encapsulation du biomatériau dans du tissu fibreux. Pour les implants permanents, une fine capsule restera présente de manière permanente. Le seul cas où il n'y a pas de tissu fibreux constituant une capsule est l'os car le contact peut se faire directement sur le phosphate de calcium (Mokaddem et Boutaous, 2015).
- 4) **La remise en forme :** vient enfin et produit du tissu fonctionnel à partir du nouveau tissu (en général une cicatrice persiste toutefois) (Sorel, 2005).



**Figure 37 :** Interactions entre le dispositif et le tissu vivant (cas de l'implantation dans un tissu vascularisé) (Sorel, 2005).

#### 4.5.2 L'interaction bactérie-biomatériau et risque infectieux : le biofilm.

L'infection sur matériaux prothétiques débute par l'adhérence des bactéries à la surface.

L'adhérence bactérienne sur une surface implantée dépend de différents paramètres :

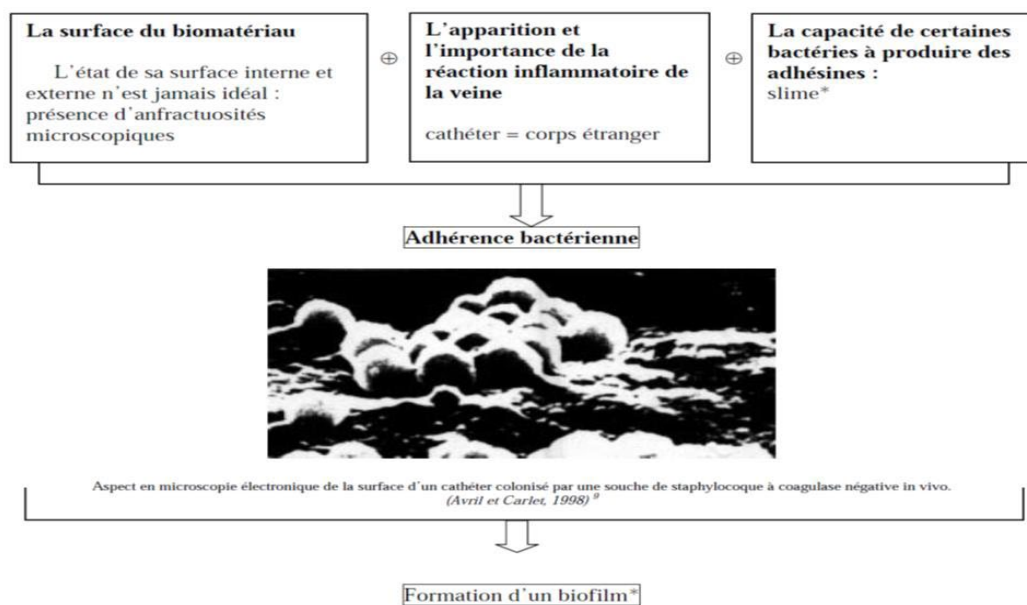
- Les facteurs de l'hôte (âge, immunodéficience, état physique).
- La nature de la souche (les microorganismes qui sont impliqués dans le développement des infections sur corps étrangers sont très nombreux).
- Et les propriétés physicochimiques de la surface.

De nombreux travaux réalisés *in vitro* montrent, que l'adhérence des bactéries sur des matériaux synthétiques est fortement influencée par les protéines de l'hôte adsorbées sur la surface de l'implant.

Comme par exemple l'interaction entre *Staphylococcus* et les protéines de l'hôte adsorbées sur les dispositifs médicaux impliquent des récepteurs bactériens de nature protéique.

Ces récepteurs appelés adhésines reconnaissent des domaines spécifiques des protéines telles que la fibronectine, le fibrinogène ou la fibrine.

Les micro-organismes infectieux peuvent être introduits au cours de l'implantation ou dériver d'une bactériémie temporaire. Ils adhèrent à des biomatériaux et prolifèrent pour former un biofilm. L'adhérence bactérienne est considérée comme un facteur de virulence, car elle conduit les bactéries à produire des exo-polysaccharides, des protéines, des acides nucléiques et des lipides, à travers lesquels les bactéries se développent dans une matrice protectrice (**figure 38**), cette matrice assure la stabilité mécanique du biofilm (**Bauer, 2016**).

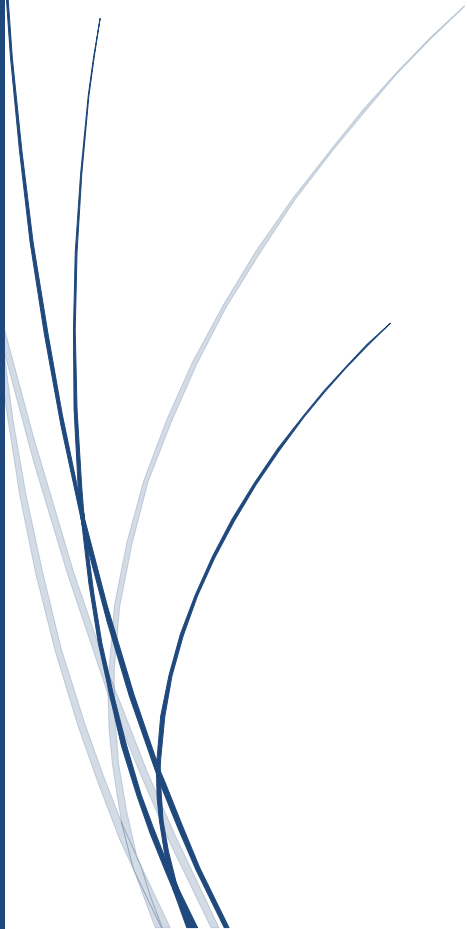


**Figure 38** : L'interaction bactéries / biomatériaux et la formation de biofilm  
(Bakini. B ; Nigri, 2014).



## Chapitre III

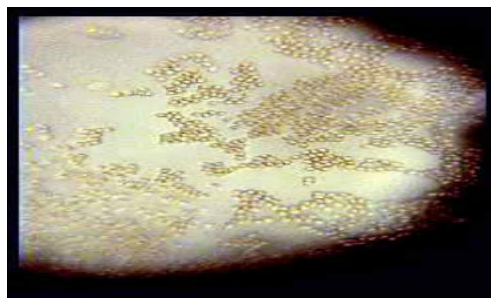
La formation de biofilm à SCN  
sur les biomatériaux implantés  
et les moyens de lutte.



Comme nous avons déjà vu dans les chapitres précédents que la principale espèce responsable des infections dues à la présence d'un matériel étranger est: *S. epidermidis*, son facteur majeur de virulence est leur capacité d'adhérer aux matériaux et de favoriser la formation de biofilm (Daouadji, 2010), ce qui provoque une résistance importante aux antibiotiques, et aux attaques du système immunitaire, ce qui place les cliniciens face à une difficulté d'éradiquer ces MO (Afissa, 2014), Nous allons voir dans cette partie des généralités sur la formation des biofilms à SCN et ce que cela implique pour le traitement.

### **1 Historique et découverte de biofilm à Staphylocoques :**

La découverte des biofilms est attribuée à l'inventeur du microscope, **Antoni Van Leeuwenhoek**, qui observa vers **1683** des MO issus d'un échantillon de grattage de sa propre surface dentaire, et qu'il les nomma «animacules» (Meriemeche et Nadir, 2016) (Figure 39)



**Figure 39 :** Les animacules observé par **Antonie Van Leeuwenhoek** (Florence, 2014).

En **1933**, lors d'expériences visant à observer la croissance d'algues sur des lames de verre placées dans un aquarium, **Henrici** observa des communautés bactériennes fixées sur ces lames. Il a été délégué l'hypothèse que la plupart des bactéries vivant en milieu aqueux ne sont pas sous la forme planctonique, mais plutôt elles sont organisées sous forme de communautés sessiles fixées à une surface. Le concept de « biofilm » est né, mais le terme en lui-même n'est pas encore utilisé (Florence, 2014 ; Chibi, 2015).

En **1943**, **Claude Zobella** montré que, dans le milieu marin, la quantité de bactéries fixées sur un substrat est largement supérieure à la quantité de bactéries libres dans la phase liquide (Chatane et Ziadi 2017).

En **1969**, **Jones** travaille sur des filtres de stations de traitements des eaux, et mit en évidence grâce à l'utilisation d'un **MEB** la présence d'une matrice saccharidique en colorant au rouge de ruthénium et au tétroxyde d'osmium (Florence, 2014).

Enfin, c'est dans les années **1970** que l'étude des biofilms a réellement pris son essor, sous l'impulsion de **Characklis** qui démontra que la matrice d'exopolymères donne aux biofilms une résistance aux désinfectants puis de **Costerton** qui développa la notion de biofilm (**Florence, 2014**).

En **1982**, **Christensen** et ses collaborateurs ont été les premiers à observer la formation d'un biofilm chez une souche de *S. epidermidis* isolée d'un cathéter. Ils ont noté la formation d'un film gluant, filamenteux sur des tubes de cultures, puis ils ont visualisé cette substance extracellulaire par une coloration au bleu alcian en **MEB**. Ces auteurs ont noté que la plupart des souches avaient une production variable de cette substance qui dépendait du milieu et de la supplémentation en glucose. Ils ont suggéré que la formation de biofilm était un facteur critique dans la pathogénèse de *S. epidermidis* (**Kara Terki, 2014**).

Ces faits ont été confirmés la même année par **Peters et al., (1982)** qui ont montré une corrélation entre la capacité de colonisation du matériel médical par *S. epidermidis* et les infections nosocomiales (**Kara Terki, 2014**).

## **2 Qu'est ce qu'un biofilm ?**

Il existe plusieurs concepts pour le biofilm, mais actuellement, la définition communément admise est celle établie en **2002** par **William Costerton (Jamal, 2015)**:

« Le biofilm est un ensemble de microorganismes, formé de la même espèce ou d'espèces différentes, qui forment une communauté (**Ziad et Hayoun, 2016**), adhérente à des surfaces biotiques ou abiotiques et caractérisée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice d'exopolymères (**Chatane et Ziadi 2017**). Ces surfaces peuvent prendre plusieurs formes ; minérales (roche) ou organiques (peau, tube digestif des animaux, racines et feuilles des plantes), industrielles (canalisation, surface alimentaires ou coques des navires) ou médicales (prothèse, cathéter, valves cardiaques) » (**Ziad et Hayoun, 2016**).

Le biofilm constitue le mode de vie majoritaire des micro-organismes, par opposition à l'état planctonique, libre et isolé dans l'environnement (**Chibi, 2015**).

## **3 Composition et organisation :**

### **3.1 Composition :**

Dans la plupart des biofilms, les microorganismes représentent moins de 10 % de la masse sèche, alors que la matrice peut représenter jusqu'à plus de 90 % (**Daouadji, 2010**).

### 3.1.1 Les microorganismes :

A l'état naturel les biofilms sont des communautés bactériennes au sein des quelles on peut trouver de nombreuses espèces différentes (**Daouadji, 2010**).

Ce phénomène est lié aux conditions environnantes, plus souvent qu'à la nature même des microorganismes (**Chatane et Ziadi, 2017**).

Cependant, les staphylocoques ne forment pas de biofilms avec d'autres espèces bactériennes. Il est rare de trouver plus d'une souche bactérienne au sein d'un même biofilm. Ceci pourrait s'expliquer par des mécanismes de quorum sensing spécifiques des staphylocoques qui inhiberaient l'expression des facteurs de virulence d'autres bactéries (**Daouadji, 2010**).

### 3.1.2 La matrice :

La matrice est un environnement dynamique dans lequel les cellules microbiennes et les composantes sont organisés de manière à utiliser tous les éléments nutritifs disponibles. Elle exerce différents rôles :

- ✓ Elle assure la cohésion de chaque micro-colonie, les protège, absorbe l'eau et piège les petites particules circulantes.
- ✓ Elle fournit des nutriments dissous et élimine leurs déchets.
- ✓ Elle est composée principalement de :
  - L'eau : (jusqu'à 97%) est la majeure partie du biofilm qui est responsable de l'écoulement des nutriments à l'intérieur de la matrice du biofilm.
  - Des exo-polysaccharides (**EPS**) : éléments structuraux majeur de biofilm.
  - Des protéines, y compris des enzymes, l'ADN, les polysaccharides et de l'ARN.
  - Débris issus des matières en contact avec les surfaces.

La composition de la matrice varie selon l'espèce et les conditions de croissance (**Chatane et Ziadi, 2017**) (**Tableau 11**).

**Tableau 11** : Principaux constituant de la matrice du biofilm (**Bezoui, 2016**).

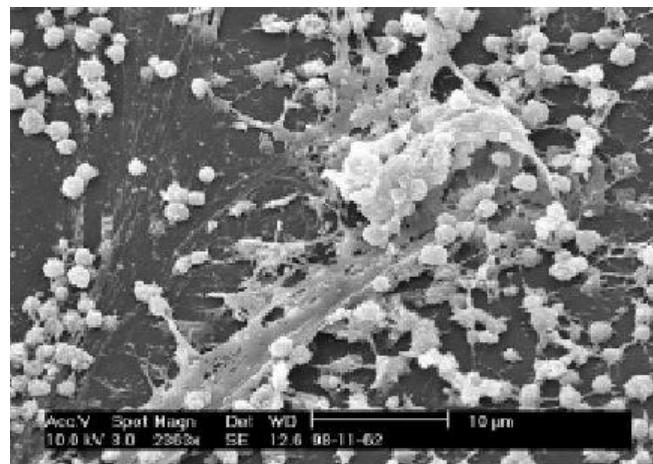
Component	% of matrix
Eau	Environ 97 %
Cellules microbiennes	2-5 % (beaucoup d'espèces)
Polysaccharides Homo/ hétéro polysaccharides	1-2 % (Neutre et polyanionique)
Protéines (Extracellulaire et résultants de lyse) ADN et ARN	< 1-2 % (beaucoup y compris les enzymes)
Ions	< 1-2 % ( lyse cellulaire).

### **3.2 Organisation :**

- Les microorganismes sont organisés à l'intérieur de la matrice sous forme de micro-colonies.
- Les micro-colonies au sein des biofilms sont séparées par des canaux aqueux qui forment un réseau de circulation permettant, d'une part d'acheminer l'oxygène et les nutriments dans les régions enfouies du biofilm, et d'autre part d'évacuer les déchets.
- Le matériel soluble peut diffuser à travers la matrice d'EPS et être utilisé par les bactéries.
- Le biofilm n'est pas un environnement homogène car il présente des zones à teneurs variables en oxygène ou en nutriments et qui présentent des valeurs de **pH** différentes.
- Les régions au centre des agrégats bactériens sont généralement anaérobies et pauvres en nutriments, alors que celles situées près des canaux ou de l'interface entre le biofilm et le liquide sont mieux oxygénées et plus riches en nutriments (**Chatane et Ziadi, 2017**).

### **4 Architecture et mécanisme de la formation du biofilm à SCN :**

Les SCN sont responsables de la grande majorité des infections causées par les biofilms. Ceci est dû au fait que ces germes sont présents en grand nombre dans la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal. Les biofilms à *S. epidermidis* sont à l'origine d'infections chroniques et nosocomiales, le plus souvent en rapport avec l'utilisation des implants médicaux. Ces infections sont plus difficiles à traiter et nécessitent un remplacement plus fréquent des implants médicaux (**Kara Terki, 2014**) (**Figure 40**).

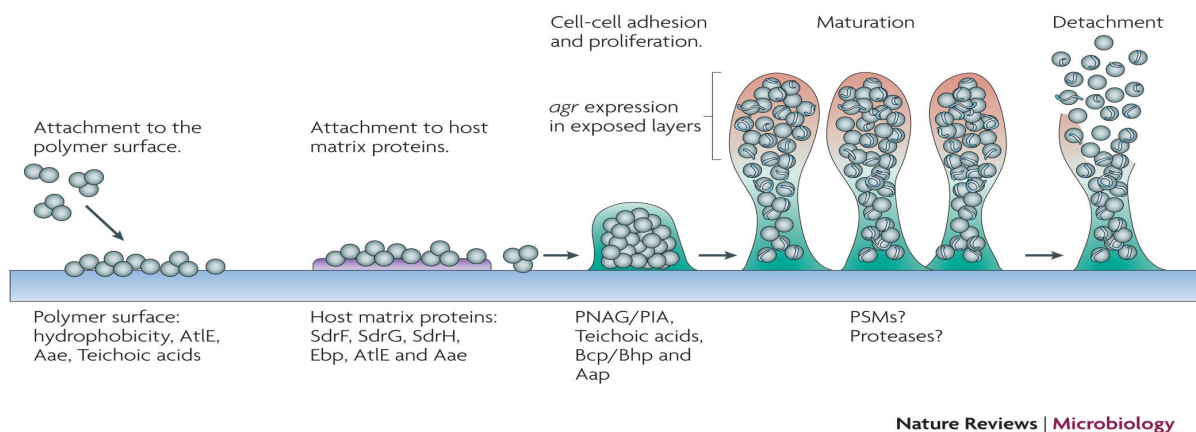


**Figure 40 :** Visualisation de *Staphylococcus spp* par un microscope confocale sur un implant médical (**Kara Terki, 2014**).

**5 Les étapes de formation de biofilm sur un implant médical : modèle de *S. epidermidis***

**Mack et al., (1994)** ont proposé un modèle de formation de biofilm en deux phases chez les staphylocoques : l'attachement initial et l'accumulation (**Figure 41**).

Ils ont montré que ces deux phases peuvent être génétiquement séparées. Le détachement de cellules du biofilm mature permet la dissémination des bactéries et la colonisation de nouveaux sites d'infection chez l'homme (**Kara Terki, 2014**).



**Figure 41** : Les étapes de formation de biofilm chez *S. epidermidis* (Otto, 2009).

**5.1 Attachement initial :**

**5.1.1 L'attachement à une surface abiotique :**

L'adhésion des staphylocoques aux DM peut survenir au début après l'implantation, ou à des instants ultérieurs, voire plusieurs mois après implantation. L'adhérence microbienne aux biomatériaux dépend largement des caractéristiques de la surface des cellules bactériennes et de la nature des polymères des matériaux utilisés (**Kara Terki, 2014**).

L'adhésion initiale est réversible au départ, puis progressivement irréversible, est régie par l'équilibre entre 3 forces physico-chimiques fondamentales non spécifiques (Van derwaals ou hydrophobes, électrostatiques, et interactions acide/base) (**Bali et Djebbas, 2015**).

Parmi les molécules impliquées dans l'adhésion directe in vitro aux surfaces abiotiques, on retrouve :

- Autolisine Atl E.
- L'acide techoiques.
- Les protéines de surfaces SSP-1 (280KDa) et SSP-2 (250KDa).
- Et la protéine biofilm associated protein (BAP) (**Bali et Djebbas, 2015**).

### **5.1.2 L'attachement à une surface biotique :**

L'attachement des staphylocoques à une surface biotique que ça soit aux tissus hôtes (épithélium, peau...), ou à la surface de dispositifs médicaux recouvert des protéines de la matrice extracellulaire se fait par (Kara Terki, 2014):

- Protéines de surface, dite (MSCRAMM : microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules) (Otto, 2009).

### **5.2 L'accumulation :**

Après l'attachement à la surface, les bactéries vont se multiplier et s'accumuler. Cette phase est caractérisée par l'agrégation intercellulaire pouvant s'accomplir par une variété molécules telles que les protéines d'adhésion ou le plus souvent par les exopolymères saccharidiques et par la structuration conduisant à l'obtention d'une communauté mature (Kra terki, 2014 ; Bali et Djebbas, 2015).

La croissance du biofilm, mieux connue pour *S. epidermidis* que *S. aureus*, implique essentiellement une adhésion entre les bactéries et la synthèse de la matrice extracellulaire.

- L'adhésion intercellulaire est médiée par PIA (Bali et Djebbas, 2015).

#### **5.2.1 Le Polysaccharide intercellulaire adhésine (PIA) :**

Le PIA est un homopolymère linéaire de 130 résidus  $\beta$ -N- acetylglucosamine découvert chez *S. epidermidis* par Mack (1992). Il est principalement localisé à la surface de la cellule. Il joue un rôle important dans l'adhésion intercellulaire et de ce fait, a été reconnu comme un facteur crucial dans la colonisation de matériel médical par *S. epidermidis* (Dietrich *et al.*, 2013).

Il composé de deux fractions polysaccharidiques :

**Fraction I** : supérieure à 80 % contient 15 à 20 % de résidus diacétylés et est donc chargée positivement.

**Fraction II** : représente 20%, présente la même structure que la fraction I mais contient un plus petit nombre d'ester liant la succinate et est donc anionique (Daouadji, 2010).

#### **5.2.2 Gènes contrôlant la sunthèse de PIA et la formation de biofilm chez *S. epidermidis* :**

La synthèse du PIA est codée par le locus *ica* pour « Inter Cellular Adhesion », qui contient l'opéron *ica*. Celui-ci est composé de 4 gènes : *icaA*, *icaD*, *icaB* et *icaC* et un gène *ica R* qui joue un rôle dans la régulation, en tant que répresseur (Bakhoum et Ndeye, 2004) (Figure 42 et 43).

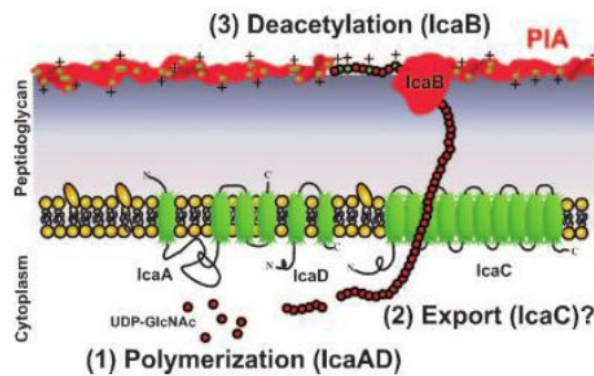


Figure 42 : Synthèse de l'adhésine polysaccharidique PIA (Kara Terki, 2014).

Cet opéron contient tous les gènes nécessaires à la production d'adhésine polysaccharidique, a été identifié par mutagenèse par transposon pour isoler des souches de *S. epidermidis* mutantes déficientes en formation de biofilms (Ogara et Humphreys, 2001).

Il est très fréquemment isolé du génome de souches multirésistantes de *S. epidermidis* à l'origine d'infections liées à la présence d'implants, mais ne se retrouve que rarement dans celui des souches saprophytes de la peau et des muqueuses.

Le gène *ica* est un meilleur marqueur de la pathogénicité d'une souche que la capacité à se multiplier et à former un biofilm (Bali et Djebbas, 2015).

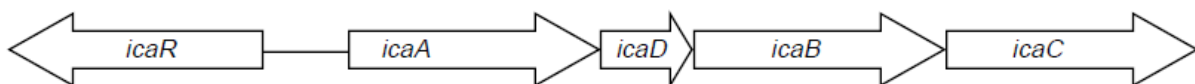
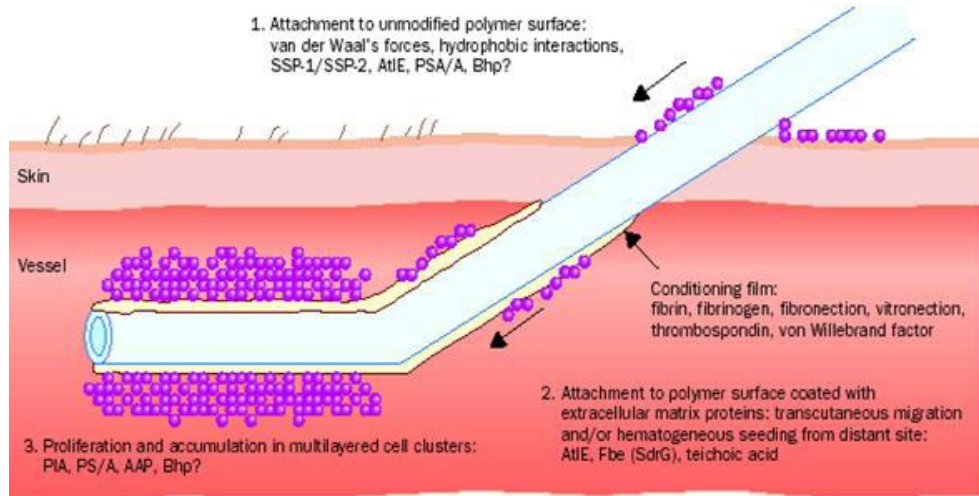


Figure 43 : Organisation génétique du groupe de gènes *ica* de *S. epidermidis* (Ogara et Humphreys, 2001).

### 5.3 Détachement du biofilm :

La dispersion du biofilm joue un rôle très important dans les infections associées aux biofilms. Le principal mécanisme de détachement du biofilm utilisé est la production d'enzymes extracellulaires ou des surfactants qui dégradent et solubilisent les différents composants de la matrice du biofilm. Ainsi, les principaux facteurs de détachement sont les protéases, les DNases et les surfactants PSM (Phenol-soluble modulins). A ceux-ci, il faut ajouter le système de quorum sensing *agr* qui contrôle la production de ces enzymes et des PSM dégradant la matrice du biofilm et certaines conditions environnementales, telles que la carence en glucose dans le milieu de culture ( Kara Terki, 2014) (Figure 44).



**Figure 44 :** Etapes principales de formation du biofilm de *S. epidermidis* sur un implant transcutané (Bali et Djebbas, 2015).

## 6 Les facteurs favorisant la formation d'un biofilm :

Le développement d'un biofilm est un processus séquentiel complexe qui fait intervenir de nombreux mécanismes physico-chimiques et biologiques. Ce développement est influencé par trois composants : la surface, le milieu, et les microorganismes ; ainsi que les interactions existantes entre ces composants (Chatane et Ziadi, 2017) (Tableau 12).

### 6.1 Les caractéristiques de la surface :

Le contact d'un matériau avec un fluide contenant des bactéries est un support potentiel pour la formation d'un biofilm (Chatane et Ziadi, 2017):

**a) La rugosité :** plus une surface est rugueuse, plus la colonisation de cette surface par des micro-colonies est importante.

**b) Les propriétés chimiques d'une surface :** peuvent exercer une influence sur le taux d'attachement. Les micro-organismes se fixent plus facilement à des surfaces hydrophobes et non polarisées comme le Téflon et le plastique.

**c) La présence préalable de films protéiques :** comme le sang, les larmes, l'urine.....etc influencent l'attachement de bactéries à cette surface, et favorise la formation de biofilm (Chatane et Ziadi, 2017).

**6.2 Les caractéristiques du milieu :**

Le mode de culture est une caractéristique importante qui peut modifier fortement l'adhésion des organismes ainsi que les conditions environnementales telles que :

- a) **La disponibilité de nutriments** : excès ou carence.
- b) **Les différents stress physicochimiques** : pH, température présence de composés bactéricides ....etc.
- c) **Composition de milieu** : présence de calcium, magnésium, phosphate, glucose ...etc semble faciliter l'adhésion à un support (**Chatane et Ziadi, 2017**).

**6.3 Les caractéristiques des microorganismes :**

Les pili, exprimés par les bactéries, sont impliqués dans l'adhésion bactéries- cellules et les EPS, synthétisés par les bactéries, facilitent aussi la fixation aux surfaces. L'adhésion est également sous la dépendance de l'état physiologique de la bactérie, le caractère hydrophobe, de sa charge électrique globale et de l'énergie libre de la surface (**Chatane et Ziadi, 2017**).

**Tableau 12** : Les importants variables dans la fixation des cellules microbiennes et la formation de biofilm (**Chatane et Ziadi, 2017**).

Propriétés du substrat	Propriétés du milieu	Propriété de la cellule
Texture ou rugosité	La vitesse d'écoulement	Hydrophobicité de la surface cellulaire
Hydrophobicité	pH	Fimbriae
Film de conditionnement	Température	Flagelles
	Cations	Substances polymériques extracellulaires
	Présence d'agents antimicrobiens	

**7 Les mécanismes régulateurs de la formation de biofilms :**

**7.1 Le quorum sensing :**

**7.1.1 Les molécules impliquées dans le quorum sensing :**

La densité des bactéries et leurs contacts cellulaires facilitent la communication intercellulaire via un mécanisme appelé le « Quorum sensing » (QS), qui implique la production, la sécrétion et la détection, par les bactéries, de petites molécules signal appelées des auto-inducteurs (AI). Chez les bactéries à Gram négatif, l'AI est une homosérine lactone, alors que chez les bactéries à Gram positif, c'est un oligopeptide appelé phéromone. Le QS permet aux bactéries d'adopter un comportement spécifique à la vie en communauté, par régulation de leur expression génétique en réponse à la densité cellulaire via la production d'AI. Plusieurs études ont mis en évidence le rôle du QS dans la formation des biofilms (**Arioua, 2007**).

### **7.1.2 Rôle du quorum sensing :**

Le quorum sensing régule la physiologie du biofilm en modulant la taille de la population du biofilm. Il initie les phénomènes de dispersion des bactéries planctoniques à partir du biofilm. Le quorum sensing aurait aussi un rôle dans la détermination de l'épaisseur du biofilm. Il peut réprimer ou stimuler l'expression de certains caractères, comme par exemple la motilité ou certains facteurs de virulence extracellulaires, comme les protéases (**Ziad et Hayoun, 2016**).

### **7.1.3 Altération du quorum sensing :**

L'altération des mécanismes de quorum sensing peut aboutir à d'importantes modifications phénotypiques des micro-organismes du biofilm, par exemple une sensibilité augmentée à des antibiotiques ou à des antiseptiques, ou des anomalies dans le cycle de développement du biofilm, surtout lors des étapes de formation et de dispersion (**Ziad et Hayoun, 2016**).

Il existe une autre régulation génétique de la formation de biofilms à SCN, différentes des mécanismes du quorum sensing (**Chalvet, 2009**).

## **7.2 La régulation moléculaire en biofilm chez les staphylocoques:**

Chez les staphylocoques, les systèmes régulateurs sont gouvernés principalement par 2 locus :

- L'opéron « accessory gene regulator » (*agr*).
- Et l'opéron « staphylococcal accessory regulator » (*sar*).

Ces systèmes sont dit « accessoires » car ils ne sont pas essentiels à la croissance mais ils sont activés à certaines phases de la croissance cellulaire ou lors de certaines conditions environnementales (**Kara Terki, 2014**).

### **7.2.1 Le système “Accessory Gene Regulator” (AGR) :**

L'opéron *agr* est un régulateur global exprimé en fin de phase de croissance qui :

- Contrôle l'expression de plus de 100 facteurs de virulence.
- En plus de codé pour un système à deux composant.

L'opéron *agr* a la particularité d'exprimer un système de recensement de la population. Les deux systèmes fonctionnent de manière coordonnée et permettent à l'opéron *agr* de sonder à tout moment la densité cellulaire par le mécanisme « quorum sensing ».

- Chez *S. epidermidis*, dans la phase initiale de la colonisation où la densité cellulaire est faible, le système *agr* est quasi inactif et les protéines de surfaces principalement des adhésines sont exprimées permettant la colonisation.
- Quand la densité cellulaire augmente, le système *agr* devient actif et réprime l'expression des protéines de surface. Il active la production des enzymes de dégradation extracellulaire dont certaines sont nécessaires pour l'acquisition nutritionnelle *in vivo*.
- Il active aussi la synthèse d'exotoxines permettant aux staphylocoques de s'échapper du site de l'infection et de s'étendre à de nouveaux sites.
- Le système *agr* intervient également dans le processus de dispersion des biofilms en activant l'expression de petits peptides tensio-actifs (phenol-soluble modulins ou PSM) responsables de la dislocation du biofilm (Kara Terki, 2014).

### **7.2.2 Le système *Sar* « Staphylococcal Accessory gene Regulator » :**

Un deuxième système de régulation indépendant du système *agr*, désigné *sar* pour « Staphylococcal Accessory gene Regulator », a été identifié par des expériences de mutagenèse. Le système régulateur *sar* comporte au minimum trois promoteurs différents (P1, P2 et P3) conduisant à la synthèse de trois transcrits désignés respectivement *sarA*, *sarB* et *sarC*.

Les transcrits *sarA* et *sarB* sont principalement exprimés en phase exponentielle de croissance et le transcrit *sarC* est principalement exprimé en phase post-exponentielle de croissance.

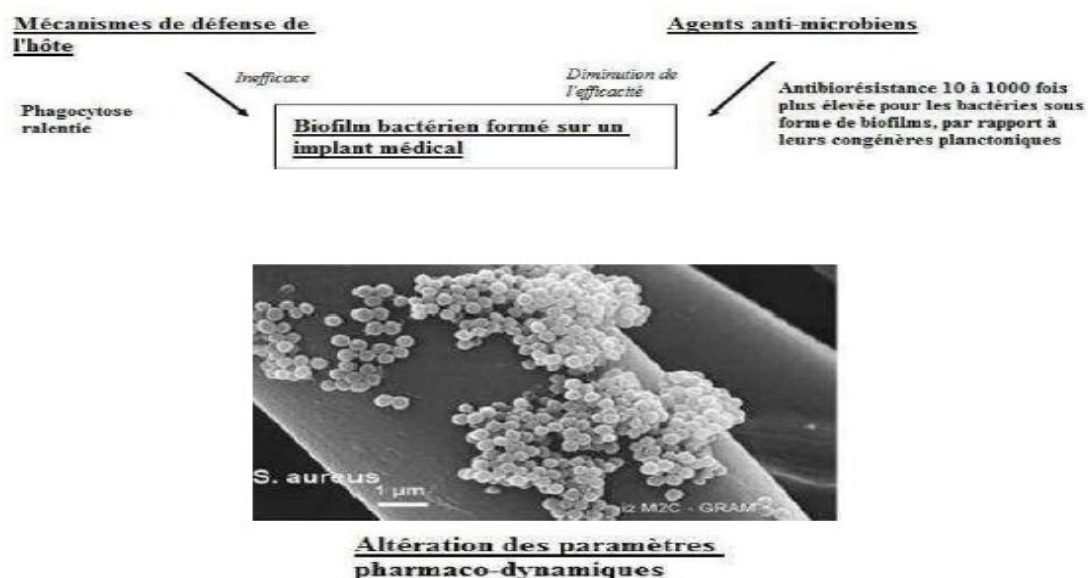
Les mutants *sar-* présentent un déficit marqué de leur fixation à la fibronectine alors que le système *agr* n'a pas d'influence sur cette dernière. *SarA* contrôle l'expression d'environ 120 gènes, y compris le système *agr* (Kara Terki, 2014).

## 8 Biofilms et infections nosocomiales: pourquoi le traitement médical est souvent inefficace ?

L'antibiorésistance développée par les biofilms bactériens pose de sérieux problèmes en matière de santé publique, puisqu'elle rend difficile le traitement des infections due à des biofilms. En effet, L'antibiorésistance d'une bactérie vivant sous forme de biofilm est 10 à 1000 fois plus élevée que celle de la bactérie de la même espèce vivant sous forme planctonique. Cependant, tous les biofilms ne manifestent pas une insensibilité aux traitements antibiotiques.

**Cerca et al., (2005)** ont démontré l'importance de la production de biofilm dans le développement d'infections et de maladies qui confère la résistance à des antibiotiques, par comparaison quantitative de la sensibilité aux antibiotiques de *S. epidermidis* sous la forme sessile et planctonique. Les résultats ont montré que les bactéries productrices de biofilm étaient **résistantes aux antibiotiques** qui inhibent la synthèse de la paroi cellulaire, mais étaient sensibles aux inhibiteurs de la synthèse d'ARN et des protéines, tandis que les cellules planctoniques sont étaient sensibles pour les deux à la fois.

**Alcaraz et al., (2003)** ont démontré que la plupart des souches de SCN productrices de slime étaient résistantes à l'oxacilline. La présence de biofilms sur des implants médicaux est à l'origine d'IN, souvent difficiles à traiter. Les biofilms sont plus résistants à la réponse immune de l'hôte que leurs congénères sous forme planctonique (**Afissa, 2014**) (**Figure 45**).



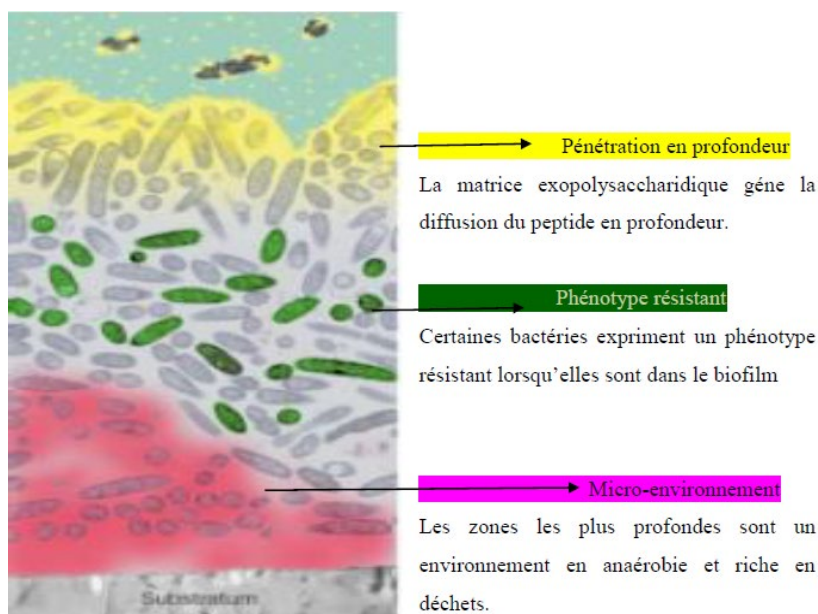
**Figure 45 :** Biofilm bactérien formé sur un implant médical (**Daouadji, 2010**).

## 9 Mécanismes de résistance des biofilms :

### 9.1 Résistance aux antibiotiques :

Trois hypothèses principales sont avancées afin d'expliquer les mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques :

- 1) La première repose sur une notion de barrière physique qui expliquerait la pénétration lente et incomplète de certains antibiotiques.
- 2) La seconde hypothèse s'appuie sur les modifications phénotypiques observées dans certains biofilms dont les micro-organismes constituants pourraient présenter des formes plus résistantes.
- 3) La dernière hypothèse est liée à l'environnement spécifique du biofilm dont les zones les plus profondes, riches en résidus acides, pauvres en oxygène et en nutriments, pourraient gêner l'action de l'antibiotique (**Kara Terki, 2014**) (**Figure 46**).



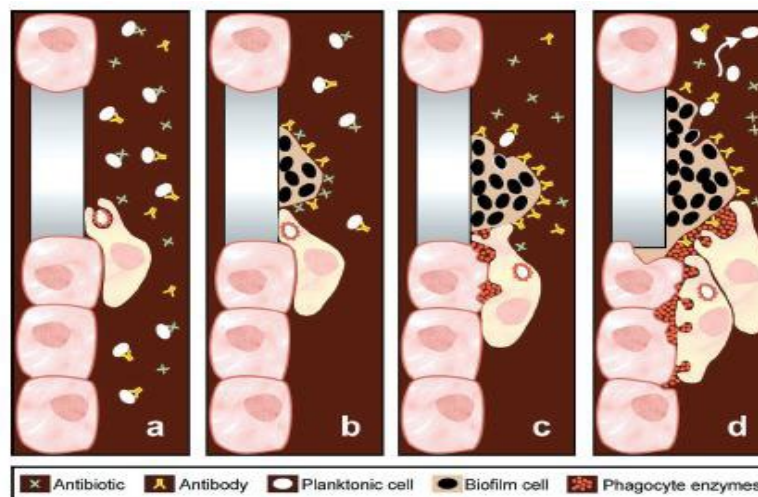
**Figure 46** : Les trois mécanismes de résistance du biofilm aux ATB (**Kara Terki, 2014**).

Ces trois hypothèses reposent sur la nature communautaire et multi-cellulaire du biofilm. La plupart des spectres antibiotiques ont été étudiés sur des formes planctoniques et doivent maintenant être étudiés sur des modèles de biofilms plus complexes. Ainsi, de nouvelles concentrations minimales d'inhibition et de nouvelles associations médicamenteuses doivent être envisagées. Les recherches actuelles essaient d'envisager des molécules capables de rompre ou d'empêcher la formation de la matrice polysaccharidique, voire d'agir sur les signaux de différenciation du « quorum sensing » (**Aouati, 2009 ; Kara Terki, 2014**).

## 9.2 La résistance à l'immunité :

En plus de leur résistance accrue aux antibiotiques, les biofilms sont protégés vis-à-vis du système immunitaire des hôtes infectés. La taille des biofilms est tout d'abord un frein important au processus de phagocytose.

Contrairement aux bactéries planctoniques, qui peuvent être neutralisées par le système immunitaire, les bactéries sessiles du biofilm sont protégées par ce dernier contre l'immunité naturelle (**figure 47**). Cependant, si l'action directe des cellules phagocytaires est mise en difficulté, leurs enzymes peuvent entraîner des lésions des tissus environnant le biofilm et favoriser la dissémination de l'infection par contiguïté voire à distance. La matrice extracellulaire est également une barrière au système immunitaire de l'hôte car elle empêche la reconnaissance des antigènes bactériens par les anticorps (**Chatane et Ziadi, 2017**).

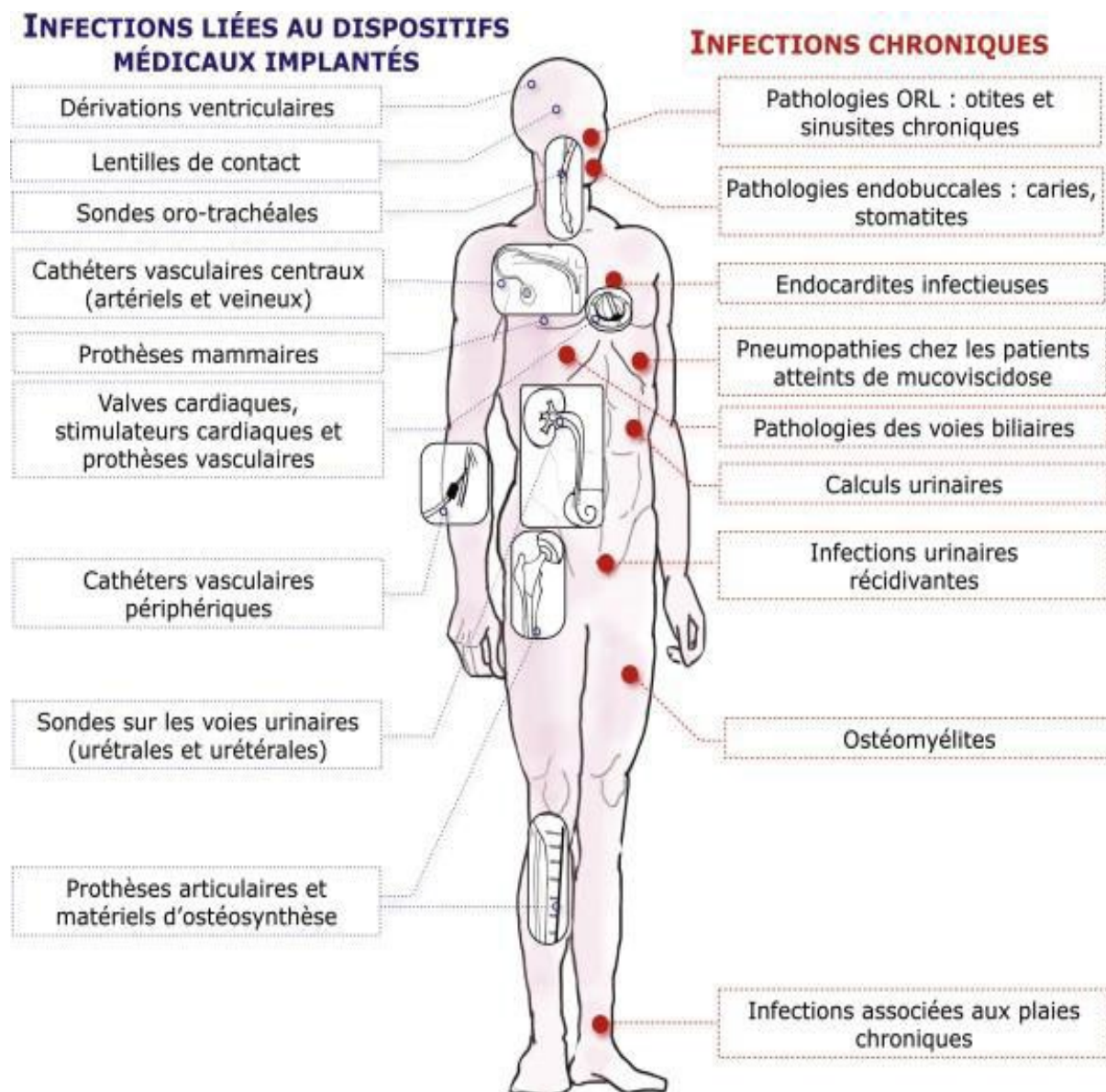


**Figure 47** : Diagramme d'un biofilm médical (**Chatane et Ziadi, 2017**).

- a)** Les bactéries planctoniques peuvent être éliminées par les mécanismes de défense naturels (Anticorps, phagocytes...) et elles sont sensibles aux antibiotiques.
- b)** Les bactéries peuvent adhérer entre elles pour former un biofilm notamment sur une surface inerte; cette communauté, sessile, est résistante aux anticorps, aux phagocytes et aux antibiotiques.
- c)** Les phagocytes sont attirés par les biofilms. La phagocytose est inopérante mais les enzymes phagocytaires sont libérées localement.
- d)** Les enzymes phagocytaires vont endommager les tissus autour du biofilm et des bactéries planctoniques vont essaimer du biofilm. Cette libération peut être la cause d'une dissémination de l'infection et d'une infection aiguë dans un tissu voisin (**Chatane et Ziadi, 2017**).

**10 Les infections associées à des biofilms :**

Au niveau médical, la formation de biofilm est reconnue comme responsable du développement ou de l'exacerbation de nombreuses infections chroniques, telles que les parodontites, **les infections sur matériel médical**, les pneumonies chez les patients atteints de mucoviscidose, les infections chroniques du tractus urinaire (UTI), les otites moyennes chroniques, les prostatites chroniques ... (Auger, 2012) (Figure 48).



**Figure 48 :** Principales infections associées à la présence de biofilms (Chatane et Ziadi, 2017).

**Etude de quelques exemples :**

**✚ L'endocardite infectieuse :**

Elle correspond au développement d'un biofilm localisé principalement aux valves cardiaques **(David et Jean, 2012)**.

- Les staphylocoques (*S. aureus* et SCN) occupent la première place des bactéries incriminées devant les streptocoques et les entérocoques.
- Lorsque les germes passent dans la circulation sanguine (bactériémie ou fongémie), ils vont pouvoir adhérer et coloniser la surface des structures valvulaires participant à la formation de masses friables de quelques millimètres ou centimètres appelées végétations.
- A partir de ces végétations, l'infection peut s'étendre à l'ensemble de la valve générant une destruction progressive avec possible perforation et ulcération valvulaire, rupture de cordages et abcès annulaire.

Parmi les symptômes, on observe :

1. Un syndrome infectieux se traduisant par un épisode fébrile dans 90% des cas.
2. Des signes cardiaques : l'apparition d'un souffle d'insuffisance valvulaire ou plus rarement de sténose (végétation obstructive), un tableau d'insuffisance cardiaque gauche (œdème aigu du poumon) ou droite (œdème des membres inférieurs, turgescence jugulaire, hépatomégalie) peut apparaître.
3. Des manifestations emboliques (formation de caillots sanguins) : les accidents vasculaires cérébraux sont fréquents.
  - Le diagnostic se fait sur un faisceau d'arguments cliniques (symptômes vus précédemment) mais aussi échocardiographiques et microbiologiques :
  - Le traitement repose sur une antibiothérapie prolongée, adaptée aux MO incriminés, associée pour 50% des patients à une chirurgie valvulaire **(Fabrice et Dijos, 2014)**.

**✚ La mucoviscidose :**

C'est une maladie génétique autosomique récessive, causé par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa*, qui est capable d'infecter de manière durable les poumons en se montrant extrêmement résistant aux antibiotiques les plus puissants. De plus, le système immunitaire de ces individus, en répondant de façon excessive à cette infection, endommage le tissu pulmonaire **(Bezoui, 2016)**.

Parmi ces symptômes : hyperviscosité ou épaissement des sécrétions émises par le corps :

- au niveau des poumons, l'apparition d'une toux persistante, une susceptibilité aux bronchites puis à un stade évolué, une insuffisance respiratoire chronique.
- au niveau du pancréas, une insuffisance pancréatique avec diarrhées abondantes entraînant parfois un retentissement sur la croissance.
- l'association à un diabète est très fréquente compte tenu de l'insuffisance pancréatique.
- au niveau digestif, des risques d'occlusion du tube digestif.
- d'autres organes sont touchés de manière inconstante et généralement à des stades évolués, notamment le cœur (**Chatane, Ziadi, 2017**).

**✚ Infections associées aux plaies chroniques :**

On estime que 1 à 2 % de la population des pays développés souffrent de plaies chroniques comme les ulcères des membres inférieurs ou les complications cutanées liées au diabète. Soixante pour cent d'entre elles (contre 6 % des plaies aiguës) sont colonisées par des bactéries ou des champignons sous forme de biofilms poly-microbiens tolérants aux antibiotiques qui ralentissent ou empêchent la cicatrisation en favorisant un état d'inflammation chronique (**David et Jean, 2012**).

**✚ Infections urinaires récidivantes :**

Classiquement attribuées à de multiples épisodes de néo-colonisation depuis le tractus digestif, en effet ces les souches d'*E. coli* uro-pathogènes qui sont capables de coloniser les cellules de l'épithélium vésical et de former de larges agrégats intracellulaires entourés d'une matrice correspondant à un biofilm qui constituerait le réservoir de bactéries pathogènes entre chaque épisodes infectieux (cystites, pyélonéphrites) (**David et Jean, 2012**).

**✚ Biofilms de la plaque dentaire et caries dentaires :**

Dans la cavité buccale, les surfaces dentaires et gingivales baignent en permanence respectivement dans la salive et le fluide gingival qui représentent donc un milieu humide et chaud, permettant la croissance d'une remarquable collection de microorganismes.

La parodontite et les caries sont des symptômes les plus remarquables des maladies infectieuses qui sont dus à la cavité buccale dans lesquelles les biofilms buccaux jouent un rôle causal (**Bezoui, 2016**).

**✚ Pathologies buccodentaires et oto-rhino-laryngologie (ORL) :**

Il a été démontré, grâce à des prélèvements cliniques et des modèles *in vivo*, que les bactéries responsables d'otites moyennes chroniques (*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*) formaient des structures typiques des biofilms.

Cette observation a permis de comprendre en partie les difficultés thérapeutiques rencontrées dans ces situations cliniques et la nécessité fréquente d'une prise en charge chirurgicale.

Ces complications concernent donc de nombreux patients dans des contextes de soins très variés. Plusieurs approches thérapeutiques sont actuellement utilisées afin de prévenir le développement des biofilms ou d'essayer de les éradiquer (**David et Jean, 2012**).

## **11 Diagnostic d'une infection a biofilm :**

### **11.1 Diagnostic indirect d'infection à biofilm, signes cliniques :**

En fonction du micro-organisme responsable, de nombreux critères cliniques sont souvent utilisés pour le diagnostic indirect d'une infection associés aux biofilms par exemple :

- Présence d'une infection plus de 30 jours.
- Présence d'une infection subaiguë.
- Réinfection à l'arrêt du traitement.
- Présence d'une infection intermittente (exacerbation).
- Présence d'un séquestre, de nécrose ou de corps étranger synthétique.
- Réponse aux stéroïdes ou inhibiteurs TNF-alpha.
- Présence d'un biofilm visible (**Bezoui, 2016**).

### **11.2 Les outils utilisés pour diagnostiquer les infections liées aux biofilms :**

#### **11.2.1 Procédures diagnostiques conventionnelles :**

##### **11.2.1.1 Les tests sanguins non spécifiques :**

Plusieurs tests de laboratoire sont utilisés pour détecter l'inflammation et l'infection bactérienne possible par un agent pathogène. Ces essais, cependant, ne sont pas spécifiques pour la présence de bactéries et peuvent être trompeurs lorsqu'elles sont interprétées de manière incorrecte.

- Le nombre de globules blancs et leur répartition cellulaire dans le sang ne sont pas assez discriminatifs pour affirmer ou infirmer une infection.
- En Europe, la vitesse de sédimentation (**VS**) ne s'utilise habituellement plus comme moyen de diagnostic d'une infection.
- La protéine-C réactive dans le sérum (**CRP**) est élevée après chaque geste chirurgical et se normalise en l'espace de quelques semaines. C'est pour cette raison que des contrôles à répétition donnent de meilleures informations qu'une valeur unique en postopératoire,

une augmentation de la CRP après une diminution initiale post-chirurgicale parle en faveur d'une infection.

- La mesure des leucocytes dans le liquide synovial et la répartition représentent un test simple, rapide et précis pour différencier une infection de prothèse d'un descellement aseptique. Dans une étude récente, la valeur de la procalcitonine (PCT) après une chirurgie orthopédique peut être utilisée (**Bezoui, 2016**).

#### **11.2.1.2 Microbiologie conventionnelle :**

- L'utilisation de plusieurs cultures de sang. Présente plusieurs inconvénients, des faux négatifs peuvent émerger quand un traitement antibiotique a été administré avant l'échantillonnage du sang.
- La coloration de Gram du liquide synovial et du tissu périprothétique montre une spécificité élevée (97%) mais généralement une sensibilité basse (26%). Ces examens devraient donc être évités.

C'est pour ça qu'il est primordial si possible d'arrêter toute antibiothérapie deux semaines avant d'effectuer des prélèvements tissulaires pour les cultures microbiologiques, et la sensibilité de ces cultures peut ainsi aller de 65% à 90%.

Lors de prélèvements d'échantillons en préopératoire, il faudrait prélever au moins trois spécimens afin d'augmenter les chances de trouver un germe. Il ne faut cependant pas oublier que des cultures peuvent être négatives à cause, d'un nombre très bas de germes, d'un moyen de culture et de transport inapproprié, d'organismes très fragiles ou d'un temps de transport trop important entre la salle d'opération et le suivi microbiologie (**Bezoui, 2016**).

#### **11.2.1.3 Etude histopathologique :**

L'analyse histologique des prélèvements préopératoires est rarement réalisée en routine.

Pourtant elle permettrait de faire un diagnostic d'infection avec une sensibilité de plus de 80 % et une spécificité de plus de 90 % mais elle existe cependant d'importantes variations inter-observateurs et chez un même malade en fonction des sites prélevés. Cette variation dépend de façon très importante de la pathologie (**Boukhelifa, 2017**).

### 11.2.2 Nouvelles méthodes de diagnostic :

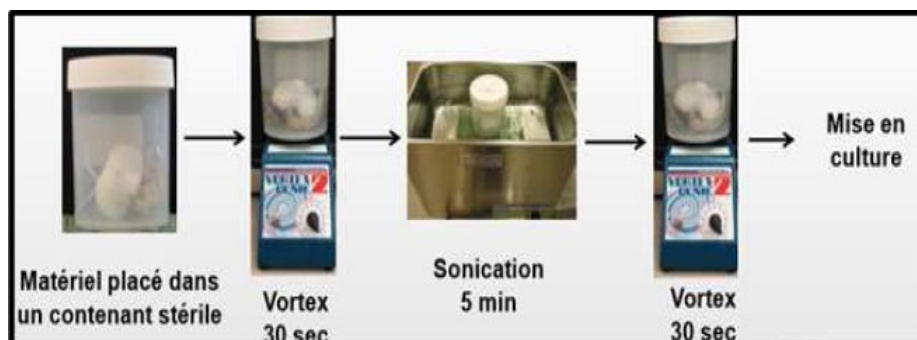
#### 11.2.2.1 Sonication des implants :

L'utilisation de la sonication pour des implants explantés provoque un décollement des micro-organismes de la surface d'un implant et augmente de façon significative la sensibilité de la culture, surtout si le patient a été ou est encore sous traitement antibiotique

Cette Méthode (traitement aux ultrasons) permet le détacher, en douceur, des biofilms de la surface. À cet effet, l'implant est plongé dans un liquide (solution de Ringer stérile) au laboratoire de microbiologie, afin que les ultrasons agissent sur l'ensemble de la surface.

Dans un bain à ultrasons spécialement conçu pour cette méthode, les implants sont brièvement soumis à des ultrasons de basse fréquence et de faible intensité. Le biofilm se détache alors de l'implant sous l'effet de micro-courants, de forces de cisaillement et d'oscillation de microbulles, sans que les structures cellulaires ne soient détruites. Les microbes sortent de leur matrice et redeviennent planctoniques.

Les microorganismes ainsi, recueillis dans le liquide de sonication sont ensuite mis en culture et au besoin, identifiés par PCR (**Bezoui, 2016**) (**Figure 49**).



**Figure 49** : Les étapes de la sonication utilisée dans les laboratoires de bactériologie (**Boukhelifa, 2017**).

Les indications de la sonication est pour l'ensemble des infections associées à des implants :

- Implants orthopédiques (prothèses articulaires, ostéosynthèses).
- Stimulateurs cardiaques, défibrillateurs automatiques implantables, valves cardiaques.
- Prothèses mammaires.
- Implants analogues pouvant être retirés de l'organisme dans des conditions d'asepsie

Les fragments osseux et les tissus mous ne peuvent pas être analysés par cette technique de sonication (**Bezoui, 2016**).

### 11.2.2.2 Microcalorimétrie :

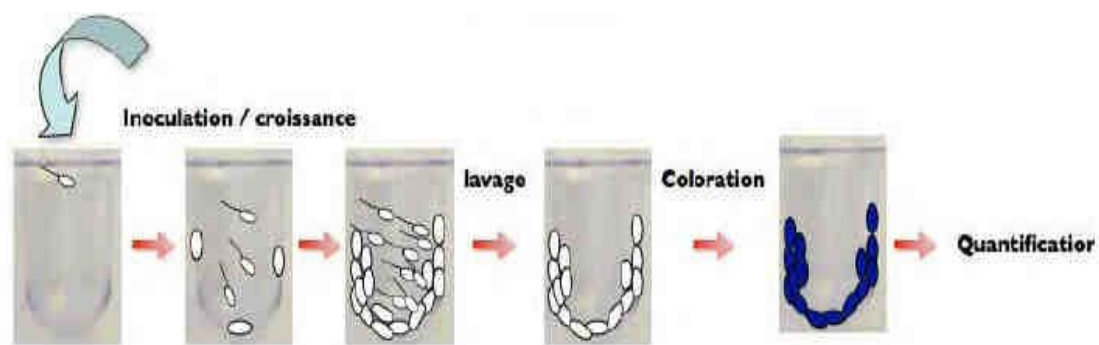
Le microcalorimétrie isotherme (IMC) est une technique prometteuse et particulièrement adaptée à l'étude des échantillons microbiologiques dans des environnements complexes ou hétérogènes car elle ne nécessite pas la clarté optique de l'échantillon et est capable de détecter l'activité métabolique d'aussi peu que 10 cellules. Ce procédé présente l'avantage qu'il permet la détection de la biomasse bactérienne sans enlever le biofilm de la surface de l'échantillon. La microcalorimétrie a été utilisée pour la détection rapide et précise des micro-organismes soit par exemple dans les liquides céphalorachidiens, des concentrés de plaquettes et pour des tests de sensibilité aux antibiotiques (Bezoui, 2016).

### 12 Méthodes d'étude in vitro des biofilms :

De nombreuses méthodes d'étude de la formation et du développement des biofilms ont été utilisées au cours des dernières années :

- Des méthodes d'observation par microscopie (microscope à fluorescence, microscope confocal à balayage laser, microscope électronique à balayage),
- Des méthodes de numération des bactéries après détachement des biofilms par sonication, frottement...
- Et vortex des surfaces.

Ces techniques permettent d'obtenir des informations détaillées mais sont difficiles et longues à réaliser. C'est pourquoi des modèles d'étude *in vitro* en microplaques ont été développés (Auger, 2012). Après 24 à 48 h de culture, un biofilm peut se former au fond de la microplaque. Des étapes de lavage éliminent les bactéries n'ayant pas adhéré, puis on peut observer et quantifier la formation de biofilm grâce à l'ajout d'un composé coloré ou fluorescent (Gerdemann, 2001) (Figure 50).



**Figure 50:** Principe des techniques de quantification des biofilms en microplaques (Bezoui, 2016).

La détection de biofilm formé repose sur :

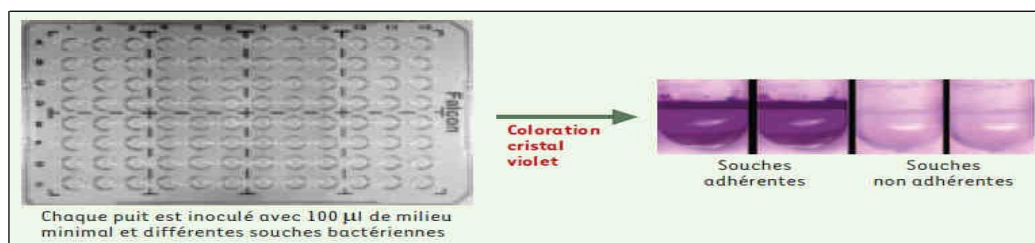
- La mesure de biomasse (quantification de la matrice et des bactéries vivantes ou non).
- De la variabilité (quantification des bactéries vivantes).
- Ou de la matrice (quantification des composants spécifiques de la matrice).

### **12.1 Mesure de la biomasse :**

#### **12.1.1 Méthode de plaque de culture de tissus (TCP) :**

Chaque puits de la microplaque est inoculé avec une suspension bactérienne. Après incubation de la microplaque, des étapes de lavage, de mise en contact avec le CV : qui est un colorant basique qui se lie aux molécules de surface chargées négativement et aux polysaccharides de la matrice extracellulaire (Les bactéries vivantes, Les bactéries mortes, et la matrice exo-polysaccharidique sont donc colorées par le CV) (Auger, 2012).

De nouvelles étapes de lavage et de redissolution du colorant sont nécessaires pour mettre en évidence la formation de biofilm par une coloration violette (**Figure 51**). La densité optique, mesurée par spectrophotométrie à 560 nm dans un lecteur de microplaque, est proportionnelle



à la quantité de biomasse dans le puits de la microplaque (Auger, 2012).

**Figure 51:** Principe de la mesure de la biomasse par la méthode au CV (Auger, 2012).

#### **12.1.2 Méthode du rouge Congo agar (RCA) :**

Cette technique proposée par Freeman *et al.*,(1989) requiert l'utilisation d'un milieu solide préparé d'un bouillon coeur cerveau (BHIB) additionné de 5% de saccharose et de rouge Congo. Le Rouge Congo a été préparé séparément en solution aqueuse concentrée et autoclavée à 121°C pendant 15 minutes. Cette solution est ajoutée ensuite aux autres constituants du milieu (en surfusion à 55°C). Le milieu ainsi préparé est ensuiteensemencé avec une anse d'une suspension de la souche bactérienne et incubé à 37° 24h à 48h (Kara Terki, 2014). Le colorant rouge Congo interagit directement avec certains polysaccharides

bactériens formant un slime et donnant des colonies noires sur milieu CRA contrairement aux colonies non productrices qui restent rouge (Kara Terki, 2014).

### **12.1.3 Syto9 :**

Le syto9 est un colorant vert fluorescent qui diffuse passivement à travers les membranes cellulaires et se lie à l'ADN présent à la fois chez les bactéries vivantes et chez les bactéries mortes, ainsi qu'à la matrice extracellulaire. Il a été utilisé pour la détection et la numération des bactéries au microscope confocal à balayage laser (CLSM) et pour les tests de quantification des biomasses des biofilms bactériens et fongiques (Auger, 2012).

## **12.2 Mesure de la viabilité cellulaire :**

Il peut être intéressant de différencier les bactéries vivantes des mortes, notamment lorsque l'on teste l'effet d'agents antimicrobiens sur les bactéries au sein du biofilm (Auger, 2012).

### **12.2.1 XTT (sel de tétrazolium) :**

Le XTT est un composé jaune pouvant être réduit par les bactéries métaboliquement actives en formosan, un colorant orange. Le formosan est soluble dans l'eau et peut être directement quantifié par spectrophotométrie. Le test au XTT a été largement utilisé pour la quantification de cellules viables dans les cultures de bactéries planctoniques (Auger, 2012).

### **12.2.2 Résazurine:**

La résazurine est un colorant non toxique de couleur bleue qui peut être réduit par les bactéries métaboliquement actives en résorufine, un composé rose fluorescent. La quantité de résorufine, mesurée par fluorimétrie, est directement proportionnelle au nombre de bactéries viables présentes dans le milieu. La résazurine a souvent été employée pour l'évaluation de la viabilité des bactéries planctoniques. Plus récemment, elle a été utilisée avec succès pour la quantification de la formation de biofilm en microplaque et pour évaluer l'efficacité d'agents antimicrobiens dans la lutte contre les biofilms (Auger, 2012).

### **12.2.3 FDA (fluorescéine diacétate) :**

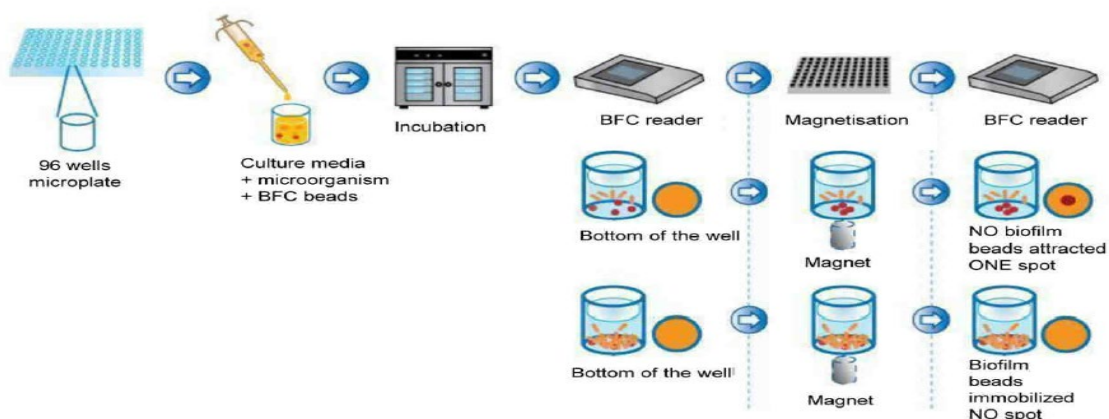
Le FDA est un composé non fluorescent hydrolysable en un composé jaune, absorbant à 490 nm et très fluorescent, par des estérases intra et extracellulaires non spécifiques produites par les bactéries et les champignons viables. Une étude a montré la supériorité du test au FDA pour la quantification des biofilms par rapports aux tests utilisant le XTT et le Syto9. Les estérases responsables du clivage du FDA forment un groupe d'enzymes dont l'activité

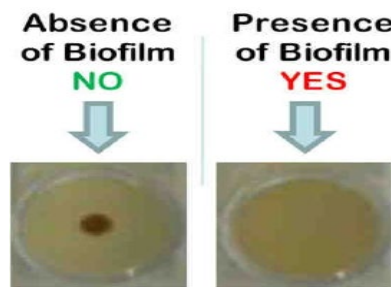
semble plus malgré les changements phénotypiques (Auger, 2012). Ainsi, une autre méthode en microplaque appelée Ring Test<sup>®</sup> a été développée plus récemment (Auger, 2012).

### 12.3 Mesure de la matrice :

#### 12.3.1 BioFilm Ring Test<sup>®</sup> :

La technique Ring Test<sup>®</sup> est basée sur l'immobilisation de billes magnétiques par la formation de biofilm au fond d'une microplaque. Les billes magnétiques sont rajoutées dans chaque puits contenant le milieu de culture et la microplaque est mise à incuber. Après ajout de liquide de contraste, une première lecture est réalisée. La microplaque est ensuite placée sur un support magnétique constitué de 96 aimants centrés sur chaque puits. Après contact magnétique, les billes libres vont se placer au fond du puits formant un spot rouge, tandis que celles bloquées par un biofilm vont rester en place (figure 52). Une seconde lecture est faite. Les images de chaque puits avant et après magnétisation sont analysées par un logiciel Biofilm Control<sup>®</sup> qui donne un indice de biofilm (BFI) allant de 0 à 30 : un BFI bas correspond à une faible mobilité des billes magnétiques et donc à une formation. La technique Ring Test<sup>®</sup> n'a été validée qu'avec le milieu de culture BHI (Brain Heart Infusion) filtré dans des microplaques en polystyrène. Par rapport aux méthodes basées sur la coloration des biofilms, cette technique ne présente pas d'étape de lavage ni d'étape de coloration, ce qui limite les variations de résultats liées à l'opérateur et simplifie la technique. De plus, le Ring Test<sup>®</sup> permettrait de détecter plus précocement la formation de biofilm, dès l'étape d'adhérence des bactéries à la surface de la microplaque (Auger, 2012).





**Figure 52** : Principe de la méthode BioFilm Ring Test<sup>®</sup> (Auger, 2012).

#### **12.4 Méthodes dynamiques :**

En parallèle des méthodes en microplaques, il existe des systèmes de chambres en flux, c'est-à-dire continuellement approvisionnées en nutriments avec une élimination des déchets. Le biofilm se forme dans des conditions hydrodynamiques choisies et l'environnement peut être facilement contrôlé et/ou modifié. De plus, ces systèmes permettent un monitoring du biofilm formé, sans le détruire, à l'aide d'un microscope confocal à balayage laser. On peut ainsi obtenir des images de biofilms à tous les stades de leur développement (Auger, 2012).

### **13 Stratégies thérapeutiques pour lutter contre les biofilms :**

La lutte contre les biofilms peut se définir selon deux axes principaux :

- Soit empêcher la formation de biofilms.
- Soit lorsqu'ils sont déjà présents, les détruire (Chalvet, 2009).

#### **13.1 Les mesures préventives qui empêchent la formation des biofilms :**

Il existe plusieurs moyens, parmi eux :

##### **13.1.1 Hygiène :**

La stérilisation des dispositifs médicaux est l'un des maillons de l'hygiène hospitalière en concourant à la lutte contre la formation de biofilms. Cependant Quel que soit le mode : par nettoyage, rinçage ou séchage... ne sont pas suffisants pour lutter définitivement contre la formation des biofilms. C'est pour ça que d'autre méthode de recherches sont consacrées et les idées principales sont les suivantes (Bakini et Nigri, 2014 ; Bezoui, 2016):

##### **13.1.2 Les dispositifs imprégnés de substances hydrophiles :**

L'adhérence bactérienne dépend fortement des propriétés physicochimiques des matériaux constituant les dispositifs médicaux implantés, notamment leur hydrophobicité et les charges

présentes à leur surface. Les dispositifs médicaux constitués de polymères hydrophiles à leur surface permettent de limiter l'adhérence des bactéries (Bezoui, 2016).

### **13.1.3 Les dispositifs imprégnés d'argent ou de substances antimicrobiennes :**

L'argent limiterait l'attachement et la croissance des bactéries. Des analyses ont montré que ces systèmes seraient efficaces pour prévenir les bactériuries lors des sondages de courte durée. Le nitrofurane aurait les mêmes propriétés.

L'argent a également montré son efficacité dans la prévention de la formation de biofilm pour les dispositifs intra-vasculaires mis en place moins de 10 j (Auger, 2012).

Des sondes urinaires recouvertes d'antiseptique ont également été testées : la formation de biofilm serait moins importante sur des sondes urinaires recouvertes de Gendine, un antiseptique constitué de Violet de gentiane et de chlorhexine, que sur des sondes urinaires en hydrogel imprégnées d'argent et sur des sondes urinaires non recouvertes d'agents antimicrobien. Les cathéters intravasculaires imprégnés de chlorhexidine et d'argent mis en place pendant moins de 14 j ont montré une réduction du risque d'IN d'environ 40% (Auger, 2012).

### **13.1.4 Les agents chélateurs :**

Certains cations métalliques comme le calcium, le magnésium, ou le fer peuvent être impliqués dans le développement et le maintien de la structure de la matrice du biofilm.

Les agents chélateurs déstabiliseraient la structure du biofilm. De plus certains agents chélateurs comme l'EDTA (Ethylène Diamine Tétra-acétique Acide) ou le citrate de sodium possèdent également une activité antimicrobienne.

Des études ont été menées avec la lacto-ferrine, un agent chélateur du fer, dans le cadre des IU sur sonde mais de tels dispositifs n'ont pas encore été développés (Auger, 2012).

### **13.1.5 L'éthanol :**

Des études récentes qui sont actuellement en cours d'évaluation clinique montrent que l'utilisation de « verrou antimicrobien » à base d'éthanol permettrait de limiter les infections liées aux cathéters de longue durée dues à certaines bactéries (principalement les SCN). En effet la combinaison de 4% de citrate de sodium et de 30% d'éthanol préviendrait la formation de biofilm par des souches cliniques pendant 72 h (Auger, 2012).

### **13.2 Traitements curatifs pour l'élimination des biofilms déjà formés :**

Une fois le biofilm formé, il est très difficile de l'éliminer. Dans le cadre des infections associées à un dispositif invasif, la réussite du traitement est très souvent conditionnée par l'ablation du dispositif (**Bezoui, 2016**).

#### **13.2.1 Elimination mécanique du biofilm :**

Le nettoyage mécanique reste aussi l'un des moyens les plus applicables pour lutter contre les biofilms présents sur les implants médicaux, il permet de les éliminer en détachant les MO de leur support, grâce aux forces de cisaillement importantes créées (**Bezoui, 2016**).

#### **13.2.2 L'antibiothérapie :**

Les ATB les plus efficaces qui pénètrent bien dans le biofilm sont : les fluoroquinolones et la rifampicine. Une étude a également montré que l'association amoxicilline-acide clavulanique pénètre bien dans le biofilm, de même que la fosfomycine et la ciprofloxacine mais plus lentement. Le cotrimoxazole a en revanche une pénétration beaucoup plus réduite. D'autre part, les antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne, comme les glycopeptides, sont peu efficaces sur l'élimination des biofilms car de nombreuses bactéries ont un taux de croissance ralenti. Les macrolides ont montré leur efficacité dans la réduction des exopolysaccharides du biofilm : ils favorisent alors la pénétration des autres antibiotiques. De nouvelles molécules comme le ceftobiprole, une céphalosporine de 4<sup>ème</sup> génération, sont à l'étude (**Auger, 2012**). Cependant l'antibiothérapie reste trop peu souvent efficace et ne doit pas remplacer le retrait du dispositif lorsque cela est possible (**Bezoui, 2016**).

#### **13.2.3 L'ablation du dispositif :**

L'ablation d'un matériel implanté est souvent recommandée, car son maintien expose à un risque élevé d'échec thérapeutique. Cette décision peut être problématique pour certains dispositifs (stimulateur cardiaque, prothèse orthopédique) en raison des conséquences pour le patient et des coûts associés à l'immobilisation prolongée et à la pose d'un second matériel après antibiothérapie (**Bezoui, 2016**).

Malgré leurs intérêts respectifs, toutes ces approches présentent de multiples limites, et il est probable que le développement de traitements plus efficaces et plus ciblés passera par une meilleure compréhension des mécanismes à l'origine de ces limitations. Compte-tenu de l'importance considérable des biofilms et des problèmes qu'ils posent, de nombreuses pistes

de recherche sont consacrées à la lutte contre leurs formations. Ce sont souvent les nouvelles technologies qui sont utilisées (Bezoui, 2016).

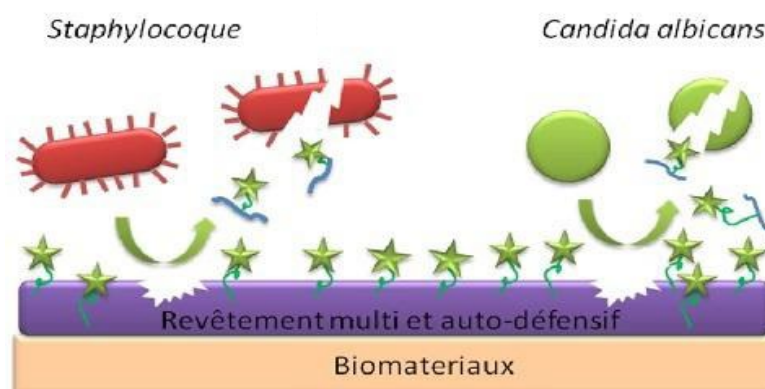
### **13.3 Les nouvelles approches antibiofilms : les apports de recherche actuels**

#### **13.3.1 Revêtement biocompatible auto défensif destinés aux biomatériaux :**

La prévention de la colonisation des implants par des pathogènes responsables d'infections nosocomiales est une préoccupation médicale et économique majeure (Bezoui, 2016).

L'immobilisation de molécules antimicrobiennes sur des biomatériaux pourrait être une alternative envisageable pour empêcher la formation de tels biofilms. Dans ce contexte, les chercheurs viennent de mettre au point le premier revêtement biocompatible auto défensif vis-à-vis à des bactéries.

Ce revêtement, obtenu par la technique couche-par-couche, est à base de polysaccharides, le chitosan (CHI) et l'acide hyaluronique (HA). Il contient également de la cateslytine (CTL), un peptide endogène antibactérien et antifongique qui a été greffé sur HA (HA-CTL), la libération des peptides antimicrobiens (CTL) est obtenue par le pathogène lui-même qui produit l'enzyme responsable de la dégradation du revêtement. Il empêche donc la prolifération des bactéries les plus communs et virulents responsables des maladies nosocomiales, produisent de la hyaluronidase, une enzyme responsable de la dégradation du film et de la libération de CTL. La libération du CTL antimicrobien favorise ainsi l'élimination des pathogènes (Bakini et Nigri, 2014 ; Bezoui, 2016) (Figure 53).



**Figure 53: Mécanisme des biomatériaux (Auger, 2012).**

D'autres revêtements retardent la fixation des micro-organismes par le jeu de forces de répulsion. Les antibiotiques ou le système immunitaire auraient alors le temps d'agir contre les micro-organismes non fixés. Cette technique de lutte contre les biofilms reste néanmoins

peu efficace car la matrice extracellulaire qui se forme autour des prothèses peut elle-même être initiatrice de la formation de biofilms (**Bezoui, 2016**).

### **13.3.2 Vers un vaccin antibiofilm :**

Pour inhiber l'adhésion des MO, on peut utiliser la **vaccinologie**. Des vaccins sont actuellement en cours de développement, comme par exemple les vaccins contre les caries, le but de la vaccinologie est de former des IgA qui vont inhiber les phénomènes responsables de l'adhésion des micro-organismes (**Chalvet, 2009**).

Plusieurs vaccins ciblant *S. epidermidis* sont en cours d'évaluation. Cette vaccination pourrait concerner des patients pour lesquels l'implantation d'un matériel tel que stimulateur cardiaque, valve cardiaque mécanique ou prothèse articulaire est programmée, ou encore chez les patients à risque d'infection chronique (mucoviscidose, infection urinaire) (**Bezoui, 2016**).

### **13.3.3 Inhiber le quorum sensing :**

On peut aussi essayer d'agir au niveau des molécules de signalisation du quorum sensing, afin de perturber l'architecture du biofilm et ses propriétés d'antibiorésistance (**Chalvet, 2009**).

Chez les Staphylocoques, le quorum sensing peut être inhibé par le peptide inhibant RNAIII (RIP : est un heptapeptide, et en sa présence, les bactéries ne sont plus virulentes et ne causent pas de maladie) (**Bezoui, 2016**). De plus l'inhibition de la biosynthèse de di-GMPc par le sulfathiazole ou le fluorouracile est également une approche similaire proposée.

Bien qu'une étude clinique ait montré que l'utilisation de cathéters imprégnés de 5-fluorouracile permettait de réduire le risque de colonisation bactérienne (**Bezoui, 2016**).

### **13.3.4 Cibler la matrice expopolysaccharidique :**

En règle générale, la matrice est composée de polysaccharides et de protéines associés à des lipides et des acides nucléiques, mais cette composition est variable, qualitativement et quantitativement, en fonction des souches et des conditions de croissance.

Par exemple, le poly-N acétylglucosamine est le composant majoritaire des biofilms à Staphylocoques. En fonction de la composition des biofilms, différentes enzymes sont utilisables comme les protéases, cellulases, polysaccharides dépolymérase, alginate lyases, dispersin B ou DNase (**Auger, 2012**). Dont « **La dispersine B** » est une enzyme bactérienne capable de dégrader le polymère de Nacétyl-glucosamine de la matrice du biofilm de plusieurs espèces bactériennes dont *S. epidermidis* (**Bezoui, 2016**). Certains bactériophages

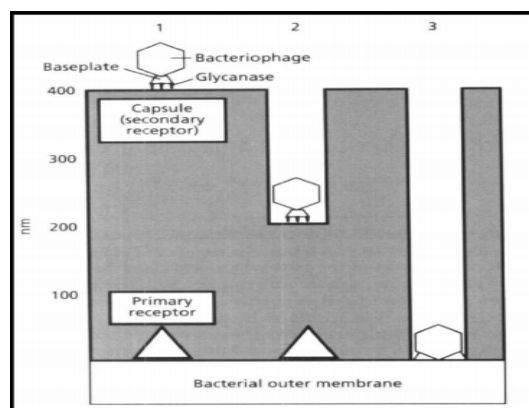
peuvent aussi produire des enzymes comme le polysaccharide dépolymérase qui peuvent dégrader la matrice des biofilms (Auger, 2012).

### 13.3.5 Utilisation des bactériophages :

Les bactériophages sont des prédateurs naturels des bactéries. Ils exercent sur elle un pouvoir bactéricide et c'est précisément ce pouvoir qui est recherché comme alternative aux antibiotiques. Une fois qu'une bactérie est infectée par un phage lytique, elle est complètement détruite. De plus, l'existence de résistances des bactéries face aux antibiotiques ne restreint en rien l'aptitude des phages à détruire ces bactéries, et c'est bien là l'intérêt principal de la phagothérapie visée actuellement (Bezoui, 2016).

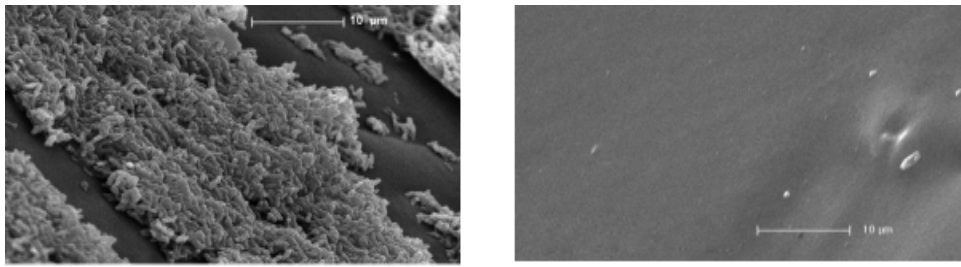
Pour venir à bout d'un biofilm installé, il est intéressant de combiner des moyens physiques ou chimiques avec des antibiotiques, la combinaison d'un phage et d'un antibiotique permet à ce dernier d'atteindre sa cible.

En effet, de nombreux phages codent pour des glycanases qui s'attaquent à la matrice polysaccharidique, réduisent son épaisseur et permettent la progression à la fois du phage et de l'antibiotique vers l'intérieur du biofilm (Bezoui, 2016) (Figure 54 et 55).



**Figure 54 :** Schéma représentant la traversée d'un biofilm par un bactériophage (Bezoui, 2016).

Des bactériophages peuvent être instillés localement au niveau des cathéters. Par exemple l'activité de phages T4 réduit de façon notable les biofilms dans des modélisations in vitro. On n'observe pas de diminution de la sensibilité aux phages avec l'âge du biofilm (Bezoui, 2016).



**Figure 55** : L'efficacité d'un hydrogel chargé en phages pour éviter l'établissement d'un biofilms sur des cathéters (**Bezoui, 2016**).

### **13.3.6 Elimination ciblée d'une espèce microbienne au sein du biofilm :**

Cette méthode d'éradication des biofilms consiste à déstabiliser l'écosystème du biofilm en désorganisant totalement sa structure intime, par l'élimination ciblée d'une espèce bactérienne, que l'on aura choisi au préalable (**Bezoui, 2016**).

### **13.3.7 Potentialisation de l'action des antibiotiques :**

Un certain nombre d'études ont démontré l'efficacité d'un traitement par un courant électrique contre l'établissement de biofilms de *S. epidermidis* (**Ogara et Humphreys, 2001**).

Cette approche consiste à combiner une antibiothérapie avec le passage d'un courant électrique à basse tension ou à ultrasons à basse fréquence à travers le biomatériau implanté.

La génération d'électrolytes (les protons, les ions hydroxydes, les intermédiaires réactifs de l'oxygène, l'oxygène et l'hydrogène...) permet d'éliminer des bactéries planctoniques ou sous forme de biofilms, on parle d'effet bio-acoustique ou d'effet bioélectrique (**Ogara et Humphreys, 2001 ; Bezoui, 2016**).

Le mécanisme de cette synergie est mal connu, on peut penser qu'il résulte d'une perturbation de l'organisation membranaire de bactéries permettant ainsi une meilleure diffusion de l'antibiotique au sein du biofilm (**Bezoui, 2016**), mais à nos jours, ces approches n'ont pas encore été testées dans un contexte clinique (**Ogara et Humphreys, 2001**).

### **13.3.8 Biofilms et plantes médicinales :**

Plusieurs plantes médicinales, huiles essentielles, et produits naturels présentent des pistes très intéressantes pour stopper des infections liées à des biofilms :

Certaines, comme **la canneberge**, inhibent **l'adhésine** : (protéine utilisée par les bactéries pour adhérer aux surfaces, à la base de la formation des biofilms). Le jus de canneberge est

### **Chapitre III La formation de biofilm à SCN sur les biomatériaux implantés et les moyens de lutte**

---

d'ailleurs utilisé traditionnellement pour enrayer les infections urinaires qui sont, comme nous l'avons vu, reliées à des biofilms **(Bezoui, 2016)**.

Comme *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis* qui ont prouvé une activité antibactérienne et antibiofilm efficace contre les biofilms formés par le genre *Staphylococcus* et autres bactéries. Toutefois, les solutions désinfectantes à base de *Laurus nobilis* sont les plus efficaces pour enlever les bactéries fixées sur les surfaces d'acier inoxydable.

Ceci est en conformité avec l'étude de **Mahboubi, G. Hagi (2008)**, qui ont constaté que l'huile de *Mentha pulegium* montre un fort effet bactéricide contre *S. epidermidis*, mais à faible valeur CMI et CMB que l'étude suscitée. Cette différence est probablement attribuable à la différence dans la composition chimique de l'huile **(Bezoui, 2016)**.

De plus une analyse biochimique d'une étude récente menée par Sanjida Topa à l'université de Technologie en Australie montre que le produit naturel Cinnamaldehyde : constituant essentiel de cannelle huiles provoque la dégradation du biofilm à un degré stupéfiant par la réduction d'un messager secondaire central dans la genèse de biofilm, un monophosphate de guanosine dimère, attribué à des propriétés antimicrobiennes du cinnamaldéhyde à la modulation des cascades de signalisation intracellulaire **(Kravariotis, 2018)**.

# *Deuxième partie*

## *Travail pratique*



*« La meilleure façon d'avancer : c'est de mettre les idées en action »*

*Eric Gimbert*

## Matériel et Méthodes

“Chacun peut croire à la vérité, et aux méthodes rationnelles qui permettent de la découvrir. Chacun peut s'opposer aux consignes des autorités en place. Mais qui va jusqu'à se consumer soi-même, jour après jour, pour défendre sa cause ?”

*Robert M. Pirsig.*

### **1 Principes de l'étude :**

#### **1.1 Problématique :**

Les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont souvent associés à des infections dues à la présence d'un matériel étranger. L'usage des dispositifs médicaux est important dans le traitement des maladies chroniques toutefois la multiplication bactérienne sur ces dispositifs implantables peut être à l'origine de nombreuses pathologies nosocomiales notamment lors d'interventions invasives (prothèses, cathéters ...). La principale espèce responsable de ces infections est *S. epidermidis*, son principal facteur de virulence est leur capacité à former un biofilm .Le problème majeur avec cette forme de vie est qu'elle confère une résistance importante aux antibiotiques et aux attaques du système immunitaire (**Daouadji, 2010**).

#### **1.2 Objectifs :**

- Rechercher et détecter les infections nosocomiales sur différents implants médicaux récoltés de différents services d'EPH de Mostaganem.
- Identifier et caractériser les différents germes bactériens en cause, intéressé surtout sur les staphylocoques à coagulase négative (SCN).
- Déterminer la sensibilité et la résistance de différents isolats des SCN par la méthode d'antibiogramme et dire pourquoi le traitement médical est parfois inefficace.
- Evaluer la capacité des isolats de SCN à adhérer sur ces biomatériaux implantés et à formé un biofilm.

1.3 Conduite à tenir pratique :

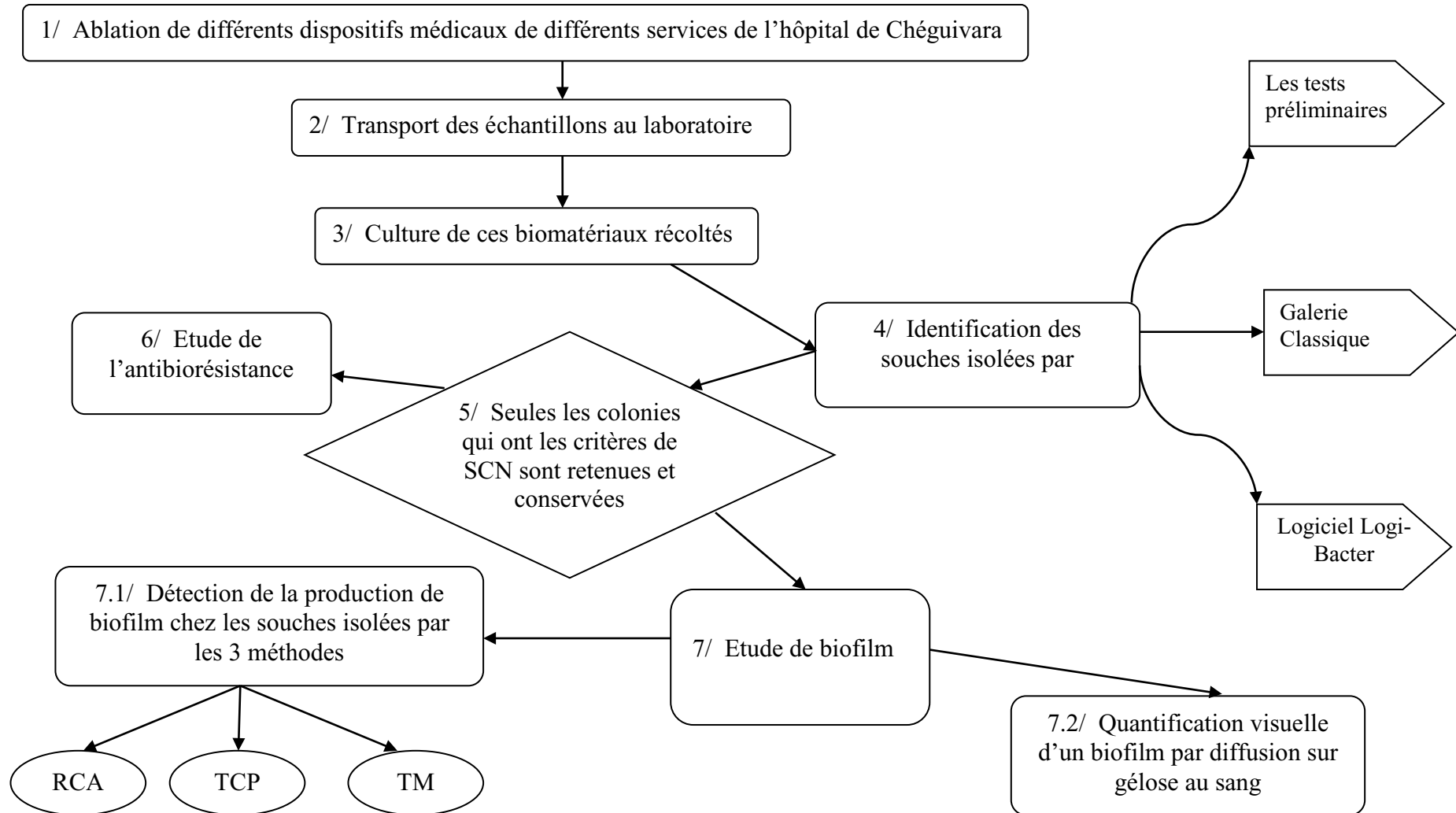


Figure 56 : Arbre décisionnel.

### 2 Procédure d'étude :

#### 2.1 Type d'étude :

Il s'agit d'une étude prospective descriptive portant sur les cas d'une infection nosocomiale sur un biomatériau implanté (sonde urinaire, d'intubation, cathéter, plaque en acier, pansement).

#### 2.2 Lieux d'étude :

Notre travail est divisé en quatre parties : Chaque partie est réalisée dans un lieu (**annexe 3**) :

##### La préparation des milieux de cultures

- a été réalisée au niveau du Laboratoire de Microbiologie (N° 3) de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Abdelhamid Ibn Badis- Mostaganem (durant toute la durée du stage).

##### L'échantillonnage

- Se fait au niveau de différents services d'hôpital de Chéguévara- Mostaganem (pendant 5j).

##### Le traitement des échantillons pathologiques récoltés

- S'effectué au niveau du laboratoire d'hygiène de la Wilaya de Mostaganem (dans une période d'un mois).

##### L'identification et l'étude de la formation de biofilm

- Sont effectués au niveau du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem (LVRM) (au cours de 3 semaines).

#### 2.3 La période d'étude :

Est étalée presque sur une période de deux mois, allant du 04/03/2019 au 25 /04/2019.

#### 2.4 La population d'étude :

12 patients ont été inclus dans cette étude qui présente une pathologie nécessitant la pose d'un dispositif médical.

### 2.5 Critères d'inclusion :

L'ensemble des critères d'inclusion qui devait être présent pour permettre l'inclusion d'un patient dans l'étude sont:

- Tout nouveau cathéter veineux maintenu plus de 24 h posé dans des conditions d'asepsie chirurgicale (Quel que soit le type de cathéter (périphérique, central), à une ou plusieurs lumières et quel que soit le site)
- Toute nouvelle sonde vésicale maintenue plus de 48h ; et posée dans des conditions d'asepsie de soin.
- Tout patient ayant un biomatériau implanté ou un matériel infecté.
- Ont été également incluses dans notre étude toutes les souches de SCN, isolées des prélèvements à visée diagnostique de tous les malades hospitalisés.

### 2.6 Critères d'exclusion :

Ont été exclues de l'étude tous les autres germes qui poussent avec notre souches d'intérêt.

### 2.7 Recueil des données :

- ✓ Un questionnaire a été rempli systématiquement pour :
  - Tout nouveau patient ayant accordé l'hospitalisation (**Demande d'hospitalisation**).
  - Surveillance des patients maintenus un implant médicale (**fiche patient**)
  - Chaque nouveau dispositif médicale posé (**exemple : fiche cathéter**) (**annexe 4**)
  
- ✓ Les informations recueillies sur chaque patient, y compris : l'âge, le sexe, le type de service, le type du dispositif prélevé, la date de placement, la date de prélèvement, la durée d'implantation et les renseignements médicaux des malades... etc, ont été recueillis et enregistrées (**Tableau 13**).

## Matériel et Méthodes

**Tableau 13:** Caractéristiques des 12 patients inclus dans cette présente étude.

N°	Age des patients	Sexe (H/F)	Pathologie	Service	Type de dispositif prélevé	Date de placement	Date de prélèvement	Durée du DM
1	16 ans	H	Disposer d'une prothèse de la jambe	Orthopédie homme (Ortho H)	Cathéter périphérique	04/03/2019	05/03/2019	24 h
2	26 ans	H	Plaie infecté	Orthopédie homme	Cathéter périphérique	04/03/2019	05/03/2019	24 h
3	72 ans	H	Cassures de l'os et plaie infecté	Orthopédie homme	Fixateur en acier	19/02/2019	05/03/2019	15 j
4	75 ans	H	Néphrectomie	Urologie	Sonde vésicale	27/02/2019	05/03/2019	7 j
5	3 ans	H	Malformation ano-rectal	CCI	Cathéter périphérique	01/03/2019	05/03/2019	4 j
6	32 ans	F	Myélite (Inflammation aiguë de la moelle épinière).	Neurologie	Sonde vésicale	27/02/2019	05/03/2019	7 j
7	48 ans	H	Amputation d'un pied	Chirurgie homme	pansement	08/03/2019	10/03/2019	48h
8	34 ans	F	Diabétique	ORL	Cathéter périphérique	09/03/2019	10/03/2019	24h
9	23 ans	H	Faiblesse	Gastrologie	Cathéter périphérique	10/03/2019	10/03/2019	1h
10	31 ans	H	Cal vicieux	Bloc opératoire	Tube d'intubation oro-trachéale	10/03/2019	10/03/2019	4 h
11	39 ans	H	Maladie de crohn	Gastrologie	Sonde vésicale	28/02/2019	10/03/2019	12 j
12	82 ans	F	Tumeur stromale	Bloc opératoire	Tube d'intubation oro-trachéale	10/03/2019	10/03/2019	2 :30 h

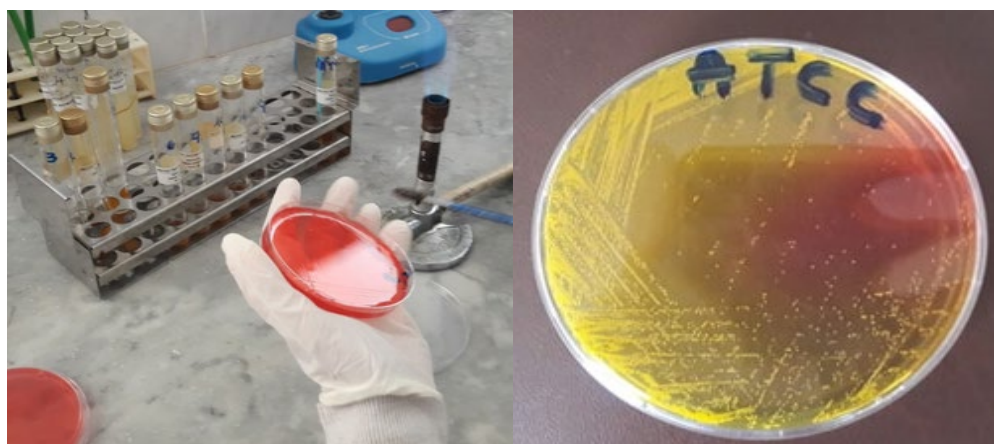
### 3 Matériel et méthodes :

- Les divers matériel et outils utilisés dans ce travail sont mentionnés dans l'**annexe 5**.
- La composition et le mode de préparation des milieux de cultures qui ont servi à notre étude sont rapportés en détail dans l'**Annexe 6**.
- Les différents tampons, solutions, colorants et réactifs utilisés pendant nos expériences sont illustrés dans l'**annexe 7**. Ces derniers ont été préparés et stockés selon les indications des fournisseurs.
- Les souches inclus dans cette étude : les Staphylocoques à coagulase négative (SCN), isolées à partir de divers prélèvements (**Tableau 13**), au niveaux de différents services d'EPH de Mostaganem.
- Et une souche de référence *S. aureus* ATCC 33862 de phénotype sauvage est utilisé pour comparer les résultats de notre travail.

#### 3.1 Préparation de la souche de référence :

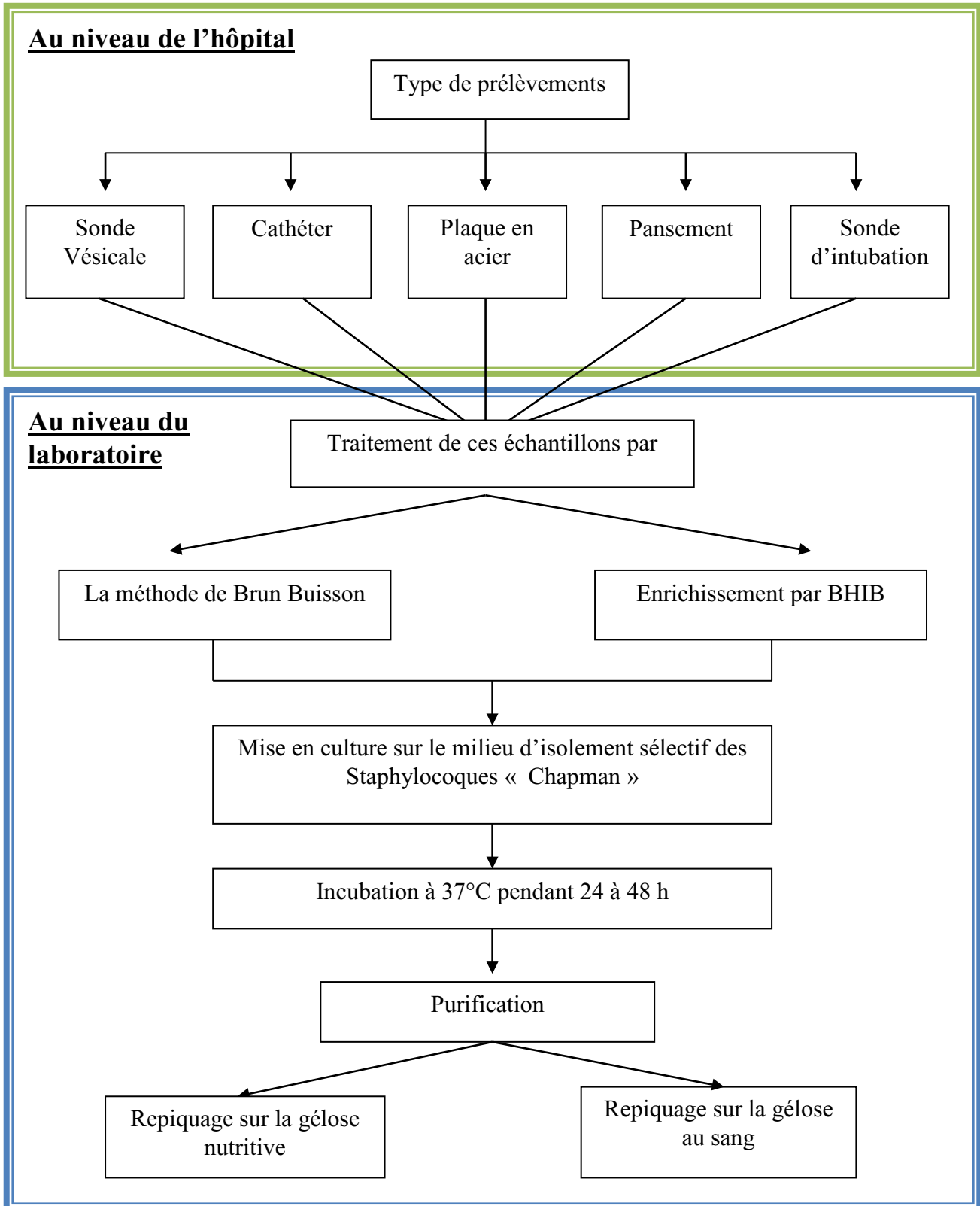
Les culti-loops sont des oeses prêtes à l'emploi à usage unique, contenant des bactéries viables stabilisés (**Prier *et al.*, 1973**).

Premièrement, en fait sortir l'oesse de son étui. On casse ensuite le manche de l'oesse et le placer directement dans le tube contenant 5 ml du bouillon BHIB pour l'enrichissement. On met le tube dans une étuve à 37°C jusqu'à dissolution complète du film de gélatine. Après l'incubation le tube est agité doucement par un vortex de façon à remettre les bactéries en suspension. Par la suite on prend à l'aide de cette sonde une goutte de la suspension et on l'ensemence par la méthode des quadrant sur le milieu Chapman et on incube à 37°C pendant 24 à 48h (**Prier *et al.*, 1973**) (**Figure 57**).



**Figure 57** : Mode d'emploi pour la préparation de la souche de référence *S. aureus* ATCC 33862.

## 3.2 Prélèvements des matériaux :



**Figure 58 :** Protocole de la recherche de *Staphylococcus* dans les échantillons pathologiques récoltés (Étapes de : Prélèvement- enrichissement- isolement et purification).

## Matériel et Méthodes

Dans une période de 5 jours, 12 dispositifs médicaux de différents types (sonde vésicale, cathéter périphérique, sonde d'intubation orotrachéale, plaque en acier, pansement de soin...) ont été prélevés des patients hospitalisés plus de 24 h dans différents services d'EPH de Mostaganem (**Figure 59**).

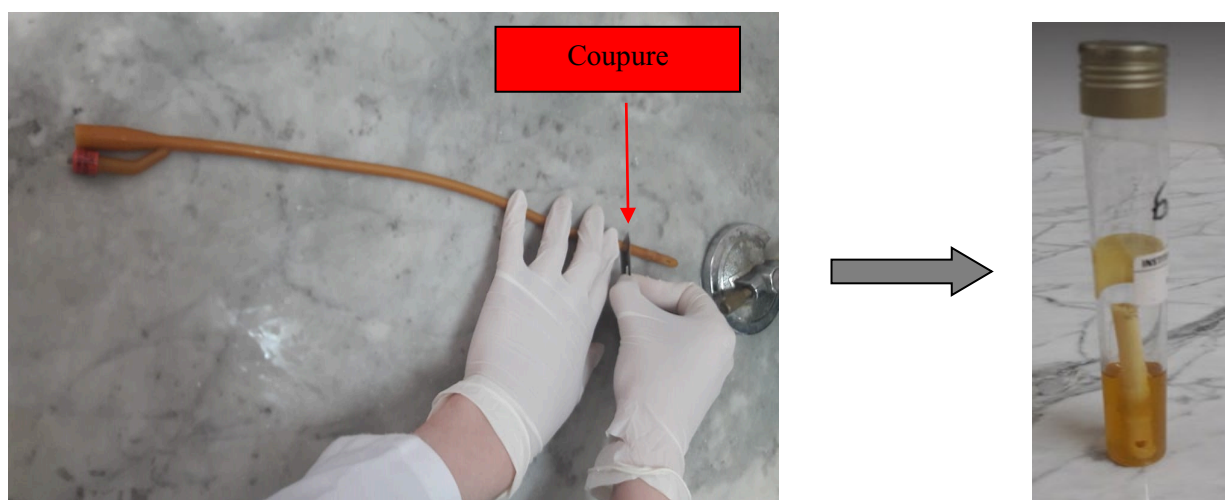


**Figure 59** : Les différents échantillons prélevés à l'hôpital de Chéguévara.

L'ablation des dispositifs médicaux sont effectués dans des conditions d'asepsie comme suit :

### ✚ Prélèvements des sondes urinaires :

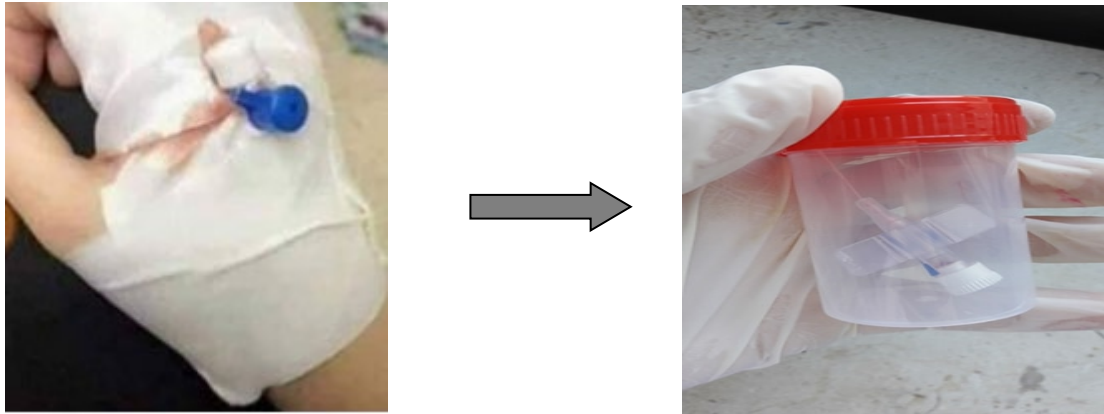
Après retrait des sondes des patients, des segments de 10 cm de leurs extrémités intra vésical sont coupés par des lames et mis dans des tubes à essai (**Kara Terki, 2014**) (**Figure 60**).



**Figure 60** : Schéma indiquant le site de prélèvement de la sonde urinaire.

### ✚ Prélèvements des cathéters :

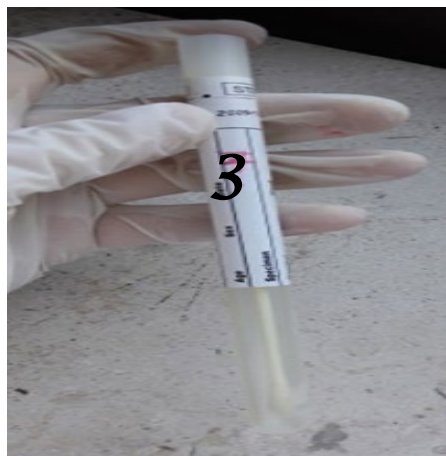
Après l'ablation des cathéters, (la totalité de leurs extrémités distales de la partie insérée pour les cathéters courts et 5cm pour les cathéters longs). Puis, mis dans des flacons en plastiques stériles, bien scellées et adressées au laboratoire (**Afissa, 2014**) (**Figure 61**).



**Figure 61** : Prélèvement d'un cathéter périphérique.

### ✚ Plaque de fixation de l'os en acier :

L'ablation de la plaque est un peu difficile à réaliser donc l'écouvillonnage reste la méthode la plus adaptée et la plus utilisée (**Figure 62**). Cette méthode consiste à faire passer une tige de coton sur la plaque en acier, dans un mouvement en Z combiné à une rotation. Il est préférable de ne pas prélever sur les bords de la plaque (**Meriemeche et Nadir, 2016**).



**Figure 62** : Ecouvillon chargé des bactéries après le passage sur le fixateur en acier.

### ✚ Bonde à gaz :

Le prélèvement s'effectue aussi à l'aide d'un écouvillon sec et stérile, en passant cet instrument sur la paroi de la matière à analyser comme suit (**Chibi, 2015**) (**Figure 63**) :

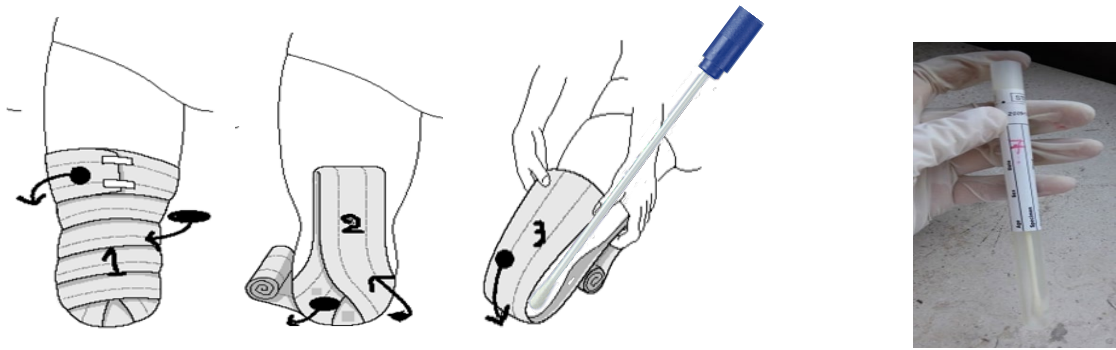


Figure 63 : Technique d'écouvillonnage sur un pansement.

### ✚ Sonde d'intubation orotrachéale :

Après le retrait de la sonde, sa partie interne est coupée avec une lame stérile et introduite avec asepsie dans un tube à essai comme suit :

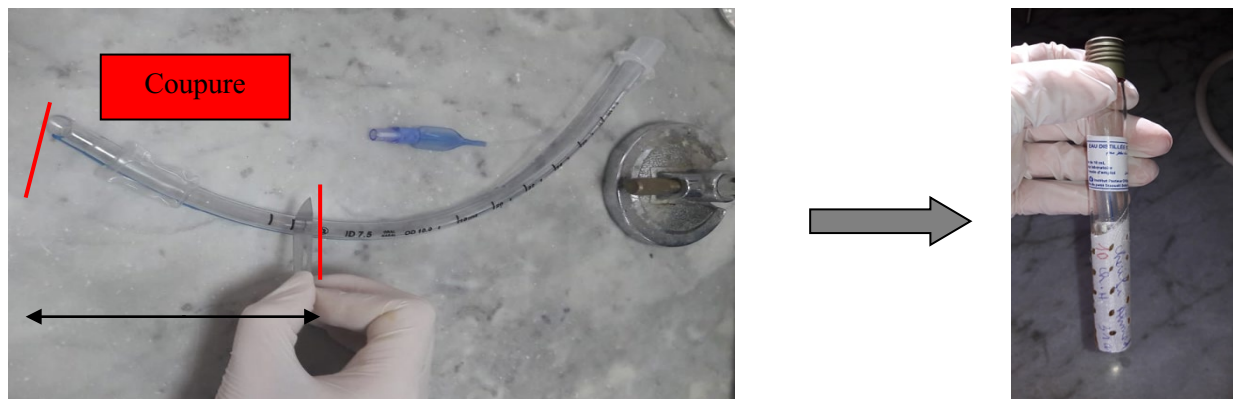


Figure 64 : Schéma indiquant le site de prélèvement de la sonde d'intubation orotrachéale.

### 3.3 Transport des échantillons :

Tous les dispositifs médicaux prélevés, et les écouvillons contenant les échantillons à analyser, sont immédiatement acheminés au laboratoire (Il faut que le temps du transport des prélèvements ne dépasse pas 2 heures dans une température ambiante) (Meriemeche et Nadir, 2016).

### 3.4 Traitement des échantillons :

Le diagnostic et la détection des infections nosocomiales qui sont liée aux dispositifs médicaux nécessitent l'application d'un protocole pour le traitement de ces échantillons, pour cela nous sommes référées à deux techniques:

### 3.4.1 L'enrichissement par BHIB:

Le traitement des échantillons (1, 2, 3, 4,5, 6, 7, 10,12) a été basé sur un enrichissement à fin de favoriser la croissance des Staphylocoques et augmenter leurs nombre pour une meilleure détection. Une quantité suffisante de bouillon BHIB (bouillon cœur cerveau) à été mise dans un tube à essai pour immerger chaque échantillon. Par la suite, l'incubation se fait dans une étuve à 37°C pendant 1 à 2 h (**Meriemeche et Nadir, 2016**). Après homogénéisation des milieux d'enrichissement, 0.1 ml est prélevée et ensemencée sur les milieux d'isolement (**Ziad et Hayoun, 2016**).

### 3.4.2 La technique de « Brun-Buisson » (1987) :

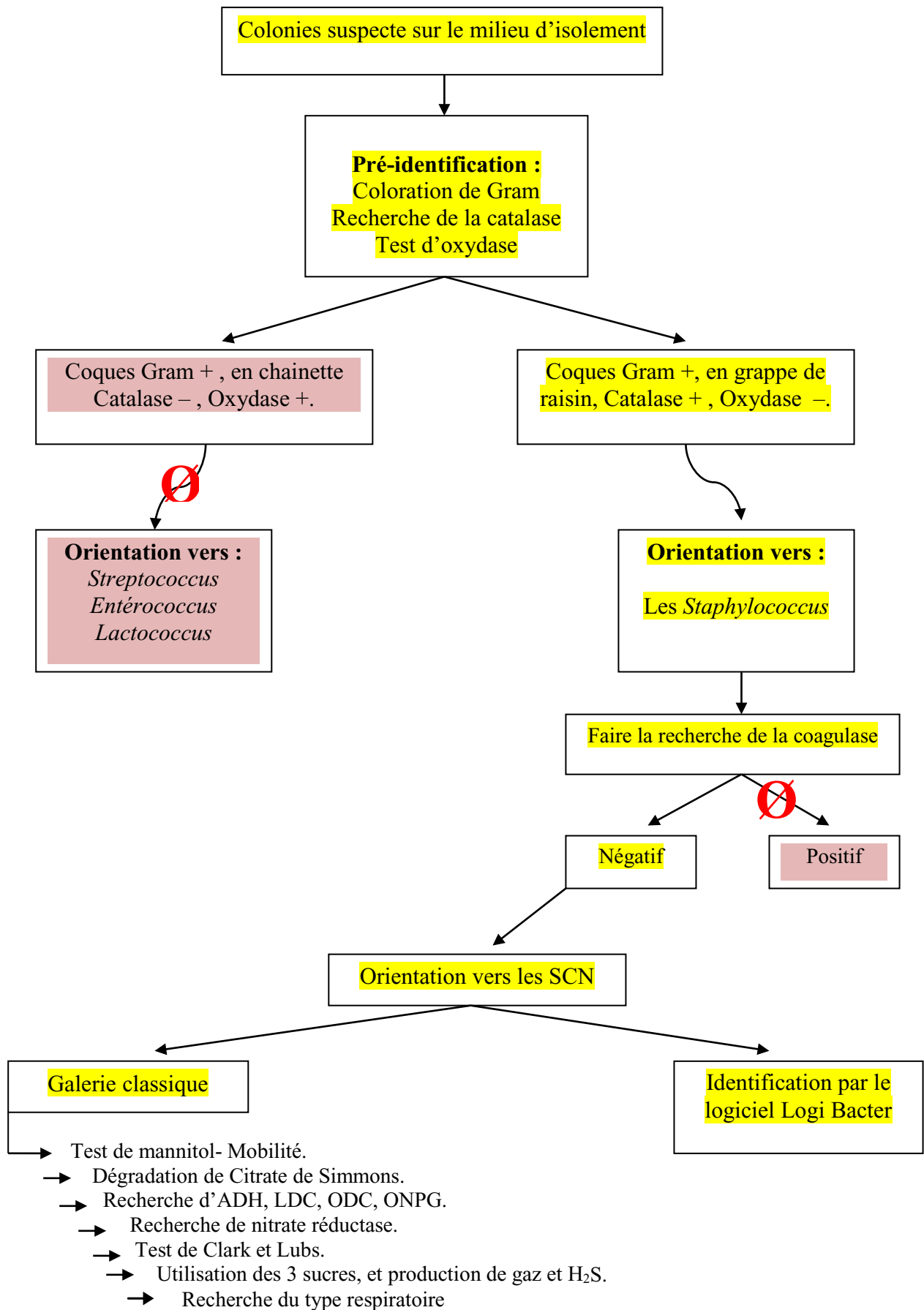
C'est une autre méthode qui nécessite l'ablation de l'implant médical par la culture quantitative de Brun Buisson (**1987**) qui est dérivée de la méthode de Cléri.

Cette technique consiste à recueillir le segment de dispositif à analyser et le mettre dans 1 ml de sérum physiologique pour les cathéters périphériques, et 5 ml pour les sondes sans désobstruction. Après agitation au vortex 0,1 ml de la solution est reprise avec une micropipette puis étalé sur le milieu de culture; Après incubation à 37 °C pendant 3 jours, le nombre d'unité formant colonies sera déterminé. Seuil d'infection est de  $10^3$  UFC/ml (**Amara et Khaldi, 2015**). Dans notre étude, seuls les échantillons (8 ,11) sont traités par la méthode de Brun buisson.

### 3.5 Isolement :

L'isolement direct est pratiqué sur le milieu Chapman, 0.1 ml est ensemencé en surface du milieu, puis purifié sur le même milieu, l'incubation est effectuée à 37°C pendant 24 à 48 h, les souches ont été conservées sur gélose nutritive inclinée à 4°C.

## Matériel et Méthodes



**Figure 65 :** Organigramme de l'identification des espèces de SCN.

### 3.6 Identification :

L'identification comporte une série d'étapes, se succédant le plus souvent dans un ordre déterminé. Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures. (Afissa, 2014).

#### 3.6.1 Examen macroscopique :

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. Cet examen permet de déterminer la forme des colonies, leur couleur, l'aspect des bords de colonies, la consistance, le relief.

#### 3.6.2 Examen microscopique après Coloration de Gram:

Cet examen permet non seulement d'observer la morphologie des cellules et leurs modes de regroupement, mais aussi de différencier ces bactéries à Gram négatif des bactéries à Gram positif. La coloration est effectuée en plusieurs étapes :

Un frottis de colonie à tester fixé à la chaleur est coloré pendant une minute au **violet de gentiane** et rincé rapidement à l'eau courante, traité pendant une minute par une solution de **Lugol**, de nouveau rincé rapidement. On soumet alors le frottis coloré à une étape de décoloration en le traitant avec **l'éthanol 95%**. À ce stade les cellules gram- seront incolores, les cellules Gram positif violettes. On soumet ensuite le frottis à une contre coloration de 30 secondes à la **fushine** pour colorer les cellules gram- présentes. Après un bref rinçage, on sèche le frottis ; on l'examine à l'objectif à immersion (grossissement % 1000).

#### 3.6.3 Recherche de l'oxydase :

Une partie de la colonie est étalée sur un disque d'oxydase qui est imbibé de l'eau distillée. La réaction est considérée comme étant positif après apparition d'une couleur violette.

#### 3.6.4 Recherche de la catalase :

Ce test permet de différencier les staphylocoques des streptocoques, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée, placée sur une lame, et réagit dans une goutte de peroxyde d'hydrogène (**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**). Une réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène).

## Matériel et Méthodes

### 3.6.5 Recherche de la coagulase:

Ce test consiste à rechercher la Staphylocoagulase responsable de la coagulation du plasma. Cette enzyme active la prothrombine et la transforme en thrombine, qui à son tour, transforme le fibrinogène en fibrine (**Hamtat et Moghrani, 2017**).

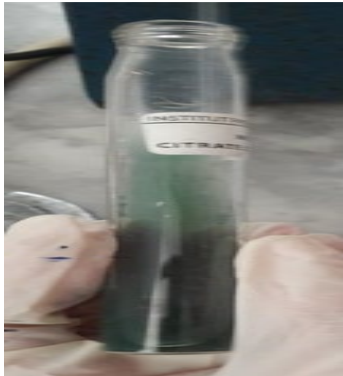
La production de la coagulase libre par *Staphylococcus aureus* provoque une coagulation du plasma qui se traduit par la formation d'un caillot de coagulation par contre *S. epidermidis* et *S. saprophyticus* ... (*S. blans*) qui sont dépourvues de cette enzyme (**Chatane et Ziadi, 2017**). Le sérum de lapin est utilisé pour la détection de la coagulase libre produite ou non par nos souches testés (**Annexe 7**).

À partir d'une culture pure et jeune de 18 heures de la souche à étudier, nous réalisons une subculture en BHIB (coeur-cervelle). Dans un tube à hémolyse contenant 0,5ml de plasma du lapin sont introduit 0,5ml de la suspension bactérienne déjà préparée, puis on incube à 37°C pendant 1 à 2 heures voire 24 heures. Un témoin négatif est préparé en mélangeant le BHIB au plasma du lapin. Ces témoins ne sont pas ensemencés. La prise en masse recherchée par inclinaison du tube est observée, au point que le tube peut être retourné. Un caillot moins compact, visible avant la 24<sup>ème</sup> heure doit être considéré comme positif; car il peut être suivi de redissolution provoquée par la fibrinolyse entraînant une fausse réaction négatif (**Aouati, 2009**). La souche de contrôle est l'espèce: *S. aureus* ATCC 33862.




### 3.6.6 Galerie classique :

Principe, techniques et règles d'interprétation des tests effectués sont résumés dans ce tableau.

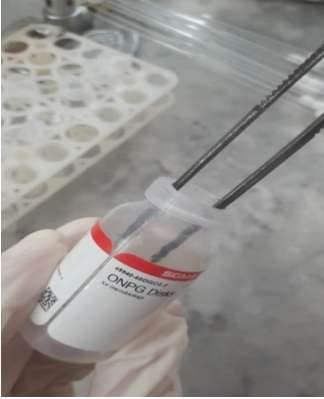



**Tableau 14 :** Galerie biochimique d'identification des souches isolées.

Milieu	Mode d'ensemencement	Photo	Caractères recherchés	Lecture et interprétations
Citrate de simmons	Ensemencement de la pente de la gélose par des stries longitudinales et l'incubation est réalisée à 37 °C pendant 24h.		Utilisation de citrate.	<b>Citrate + :</b> Virage de milieu au bleu et une culture de colonie sur la pente.


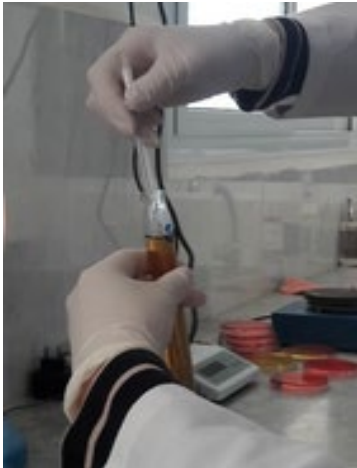
## Matériel et Méthodes

<b>TSI</b>	<p>Ensemencement de la pente de la gélose par des stries serrées, puis le culot par piqure centrale et l'incubation est réalisée à 37°C pendant 24h.</p>		<p>Lactose. Glucose. Saccharose. Gaz Production d'H<sub>2</sub>S</p>	<p><b>Lactose+</b> : Virage de la pente au jaune. <b>Saccharose+</b> : Virage au jaune au milieu du tube. <b>Glucose+</b> : Virage de culot au jaune. <b>Gaz+</b> : Apparition des bulles ou des poches gazeuses qui décalent la gélose au fond des tubes. <b>Production d'H<sub>2</sub>S</b> : Noircissement du milieu.</p>
<b>Mannitol- Mobilité</b>	<p>Ensemencement par piqure centrale, et l'incubation est réalisée à 37°C pendant 24h.</p>		<p>Fermentation du mannitol.  La mobilité.</p>	<p><b>Mannitol+</b> : Coloration jaune du milieu. <b>Mobilité+</b> : Apparition de la diffusion des bactéries dans la gélose de part et d'autre de la piqure centrale.</p>
<b>Milieu Moeller (ODC, LDC, ADH)</b>	<p>Chaque milieu est ensemencé et incubés à 37°C pendant 24h, si le tube n'est pas plein, le recouvrir par une vaseline stérile afin de placer le milieu en anaérobiose.</p>		<ul style="list-style-type: none"> <li>- Ornithine</li> <li>- Lysine</li> <li>- Arginine</li> </ul>	<p><b>ADH + ou LDC + ou ODC +:</b> Coloration violette indique la dégradation du substrat (arginine ; lysine ou ornithine) par la bactérie</p>

## Matériel et Méthodes

<b>Suspension bactérienne + disque d'ONPG</b>	<p>Consiste à ajouter un disque d'ONPG dans une suspension bactérienne dense, l'incubation est effectuée à 37°C pendant 30 min.</p>		<p>Béta-galctosidase</p>	<p><b>ONPG+:</b> La bactérie possède la <sup>2</sup>-galactosidase, elle hydrolyse l'ONPG en ONP (produit coloré jaune)</p>
<b>Urée-indole</b>	<p>On prélève quelques colonies et on les émulsionne dans un 1ml du milieu urée-indole, l'incubation est effectuée à 37 °C pendant 24h.</p>		<p>Uréase. Indole. TDA.</p>	<p><b>Uréase+ :</b> Virage du milieu au rouge/rose. <b>Indole+ :</b> Apparition d'un anneau rouge en surface après l'ajout de quelques gouttes de réactifs de Kovacs. <b>TDA+ :</b> Coloration rouge après l'ajout de réactif RM.</p>
<b>Clark et Lubs</b>	<p>Ensemencement du milieu par l'ajout de quelques gouttes de la suspension bactérienne au milieu, ne pas visser le bouchon à fond, puis incubé à 37 °C pendant 24h.</p>		<p>Type fermentaire.</p>	<p><b>Test VP+ :</b> Apparition d'un anneau rouge cerise après l'ajout des réactifs VPI et VP II. <b>Test RM+ :</b> Coloration rouge après l'ajout de réactif RM.</p>
<b>Bouillon nitraté</b>	<p>Ensemencement du milieu avec une suspension bactérienne et l'incubation est réalisée à 37°C/24h.</p>		<p>Réduction de nitrate en nitrite.</p>	<p><b>Nitrate réductase+ :</b> Virage au rouge du milieu après l'ajout des deux réactifs NIT I et NIT II</p>

## Matériel et Méthodes

Gélose à ADN	<p>cultures fraîches de 18h qui a été cultivés sur gélose au sang estensemencé par stries sur la gélose à ADN, puis Incuber à 37°C pendant 24h. La révélation de l'activité se fait en vaporisant à la surface de la gélose une solution d'acide chlorhydrique (HCl).</p>		<p>Dégradation de l'AND</p> <p><b>Dnase +:</b> L'apparition d'une zone claire autour de la strie.</p>
Viande foie	<p>Régénérer le milieu 20 min, maintenu en surfusion dans un bain-marie (45-50°C), Ensemencer le milieu par spires très serrés. refroidir dans eau jusqu'à la solidification, et incubé à 37 °C durant 24h.</p>		<p>Type respiratoire</p> <p><b>Aérobic strict:</b> Culture à la surface.  <b>Anaérobic strict:</b> Culture partout sauf à la surface.  <b>Aéro- anaérobic facultatif:</b> Culture dans tout le tube  <b>Microaérophile:</b> Culture qu'à un endroit précis du tube</p>

### 3.6.7- Identification par le logiciel d'identification bactérienne « Logi-Bacter » :

L'identification manuelle est une méthode fastidieuse pour la recherche du profil d'identification pour chaque isolat. Pour minimiser le temps, on travail par un logiciel d'identification bactérienne qui s'appelle « **Logi-Bacter** » (**Figure 66**) qui est crée par le chef de service de microbiologie médicale « **Bouزيد djalal** » rencontré au laboratoire vétérinaire régionale de Mostaganem, ce logiciel regroupe plus de 6000 genres et espèces différentes classer d'une manière hautement organisés, Ce que nous devons faire, c'est juste de cocher à chaque caractère d'un micro-organisme par (+) pour un résultat positive ou (-) selon les résultats qu'on a obtenues en réalisant des tests biochimiques et enzymatiques (**la galerie classique**). Les résultats apparus rapidement donnent le ou les taxons les plus probables.

## Matériel et Méthodes

Logibacter

### Identification

ONPG: Positif  
 ADH: Positif  
 LDC: Négatif  
 ODC: Négatif  
 Citrate: Négatif  
 H<sub>2</sub>S: Négatif  
 Uréé: Positif  
 TDA: Négatif  
 Indole: Négatif  
 VP: Négatif  
 RM: Positif

Gas: Négatif  
 Glucose: Positif  
 Lactose: Positif  
 Saccharose: Positif  
 Salicin:   
 Mannitol: Négatif  
 Mobilité: Négatif  
 Catalase: Positif  
 Oxydase: Négatif

Nitrate: Positif  
 Esculine:   
 Hippurate:   
 Tellurite:   
 Coagulase: Négatif  
 Lecithinase:   
 Gram: Positif  
 Forme: Coccis

Aerobic growth  
 Anaerobic growth  
 Culture sur G0  
 Culture à 45 C  
 Culture à 42 C  
 Culture sur MacConkey  
 Culture en bile inscoulée  
 Culture en NaCl 6,5 %  
 Aspect colonies\*  
 Couleur colonies\*  
 Hémolysé\*

Initier | Taxon recherché | Chercher |  Toutes souches

Germe	Prob	#diff	Similarité	Catalase	Oxydase	ONPG	ADH	LDC	ODC	Cit	H <sub>2</sub> S	Uré
▶ Staphylococcus epidermidis	70,5%	0	70,45%	Positif	Négatif	Négatif	Variable	Négatif	Variable	Négatif	Variable	Var
Staphylococcus pasteurii	47,7%	0	75,00%	Positif	Négatif	Négatif	Variable		Négatif			Pos
Staphylococcus devriesei	43,2%	0	79,17%	Positif	Négatif	Négatif	Positif					Var
Staphylococcus saprophyticus	43,2%	0	67,86%	Positif	Négatif	Variable	Variable		Négatif			Var
Staphylococcus cohnii spp urealyticum	43,2%	0	63,33%	Positif	Négatif	Variable	Variable		Négatif			Pos
Staphylococcus xylosum	40,9%	0	60,00%	Positif	Négatif	Variable	Variable		Négatif			Var

Profil Requête | Ent | 1 sur 1256 | Rechercher

Figure 66: Identification d'une espèce de *S. epidermidis* par le logiciel « Logi-Bacter ».

### 3.7 Etude du comportement des souches isolées vis-à-vis des antibiotiques :

#### 3.7.1 Antibiogramme :

##### 3.7.1.1 Principe :

C'est une méthode qui reflète l'aspect quantitatif de sensibilité bactérienne aux antibiotiques. Elle est d'un intérêt capital pour le clinicien qui doit établir ou rectifier une thérapie déjà entreprise.

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. Il sert également à :

- La surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne.
- L'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles.

La sensibilité aux antibiotiques est étudiée par la méthode de diffusion en milieu solide par la méthode de disque, selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Cette méthode permet de déterminer la sensibilité des bactéries à croissance rapide vis-à-vis d'une gamme d'antibiotiques (**Labiody, 2016**).

##### 3.7.1.2 Milieu de culture :

Le milieu retenu pour la majorité des espèces bactériennes est celui de Mueller-Hinton (**MH**) (**annexe 6**), Ce milieu permet la croissance de nombreuses bactéries et ne contient pas d'inhibiteurs des antibiotiques (**Labiody, 2016**).

##### 3.7.1.3 Préparation de l'inoculum :

A partir d'une culture jeune et pure de 18 à 24 heures sur milieu GN on prépare une suspension bactérienne dans l'eau physiologique stérile (0.9% NaCl) de façon à obtenir un inoculum d'une opacité équivalente à 0.5 McFarland, l'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable (**Rahal, 2011**) (**Figure 67**).



**Figure 67 :** Préparation de l'inoculum.

### **3.7.1.4 Ensemencement :**

Après avoir introduit un écouvillon stérile dans l'inoculum ajusté au témoin d'opacité standard. Le milieu MH est ensemencé par écouvillonnage. Laisser sécher les boîtes 10 minutes avant de déposer les disques.

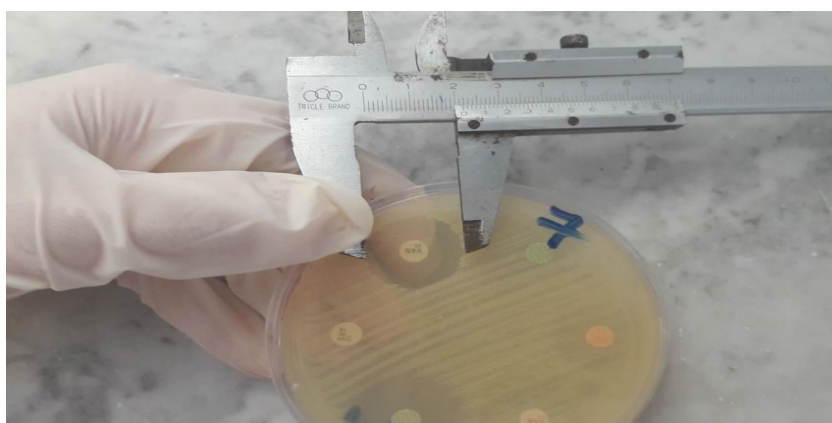
### **3.7.1.5 Dépôt des disques et incubation :**

Poser les disques en appuyant légèrement pour qu'ils adhèrent bien à la gélose.

Les disposer à 15 mm minimum de la périphérie de la boîte de manière à ce que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas.

### **3.7.1.6 Lecture :**

Mesurer la zone d'inhibition en millimètre à l'aide d'un pied de coulisse (**Figure 68**). Se rapporter aux tableaux d'interprétation des zones d'inhibition fournis par les fabricants de disques (**Tableau 15**) et Classifier la bactérie dans l'une des catégories (**S**) Sensible, (**R**) Résistante ou (**I**) Intermédiaire (**Rahal, 2011 ; Labiod, 2016**).



**Figure 68:** Technique de lecture par pied de coulisse.

## Matériel et Méthodes

### 3.7.1.7 Choix des antibiotiques utilisés :

Selon la recommandation du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, le choix des antibiotiques testés sur les différentes souches bactériennes isolées, repose d'une part, sur l'identification du genre et son profil habituel vis-à-vis des antibiotiques et d'autre part sur le spectre d'activité de chaque antibiotique (**Labiou, 2016**). Dans notre travail les disques d'antibiotiques, utilisés pour les essais de diffusion sur disque, sont mentionnés dans le tableau 15.

**Tableau 15** : Concentrations et diamètres critiques des antibiotiques utilisés (**Rahal, 2011**).

Antibiotiques testés	Symbole	Charge du disque	Diamètres critiques (mm)		
			R	I	S
<b>Béta-lactamine :</b>					
Oxacilline	<b>OX</b>	1 µg	d 10	11-12	e 13
Céfoxitine	<b>FOX</b>	30 µg	d 24	----	e 25
Céfazoline	<b>CZ</b>	30 µg	d 8	----	e 32
<b>Macrolides</b>					
Erythromycine	<b>E</b>	15 µg	d 13	14-22	e 23
Lincomycine	<b>LCN</b>	15 µg	d 2	8-16	e 17
Pristinamycine	<b>PT</b>	15 µg	< 19	19-21	e 22
Spiramycine	<b>Sp</b>	100 µg	d 1	2-3	e 4
<b>Glycopéptides</b>					
Vancomycine	<b>VA</b>	30 µg	d 4	8-16	e 17
<b>Lincosamides</b>					
Clindamycine	<b>CMN2</b>	2 µg	d 14	15-20	e 21
<b>Autres</b>					
Chloramphénicol	<b>C</b>	30 µg	d 12	13-17	e 18
Triméthoprime + sulfaméthoxazole	<b>SXT</b>	1.25/23.75 µg	d 10	11-15	e 16
Rifamycine	<b>RA</b>	5 µg	d 16	17-19	e 20

### 3.8 Etude du biofilm Staphylococcique *in vitro* :

#### 3.8.1 Détection de la production de biofilm chez les souches isolées :

Cette partie de l'expérimentation a porté sur la détection de la formation de biofilm chez les souches isolées. En l'occurrence trois méthodes ont été employées :

- ✓ Technique de microplaque 96 puits par coloration au cristal violet (**TCP**).
- ✓ méthode de culture en tube (**TM**).
- ✓ Et méthode par ensemencement sur milieu Rouge Congo (**RCA**).

##### 3.8.1.1 Méthode de plaque de culture de tissus (TCP) :

Elle a été décrite en **1985** par le groupe de recherche de **Christensen**, qui a pour but d'évaluer quantitativement la formation de biofilm.

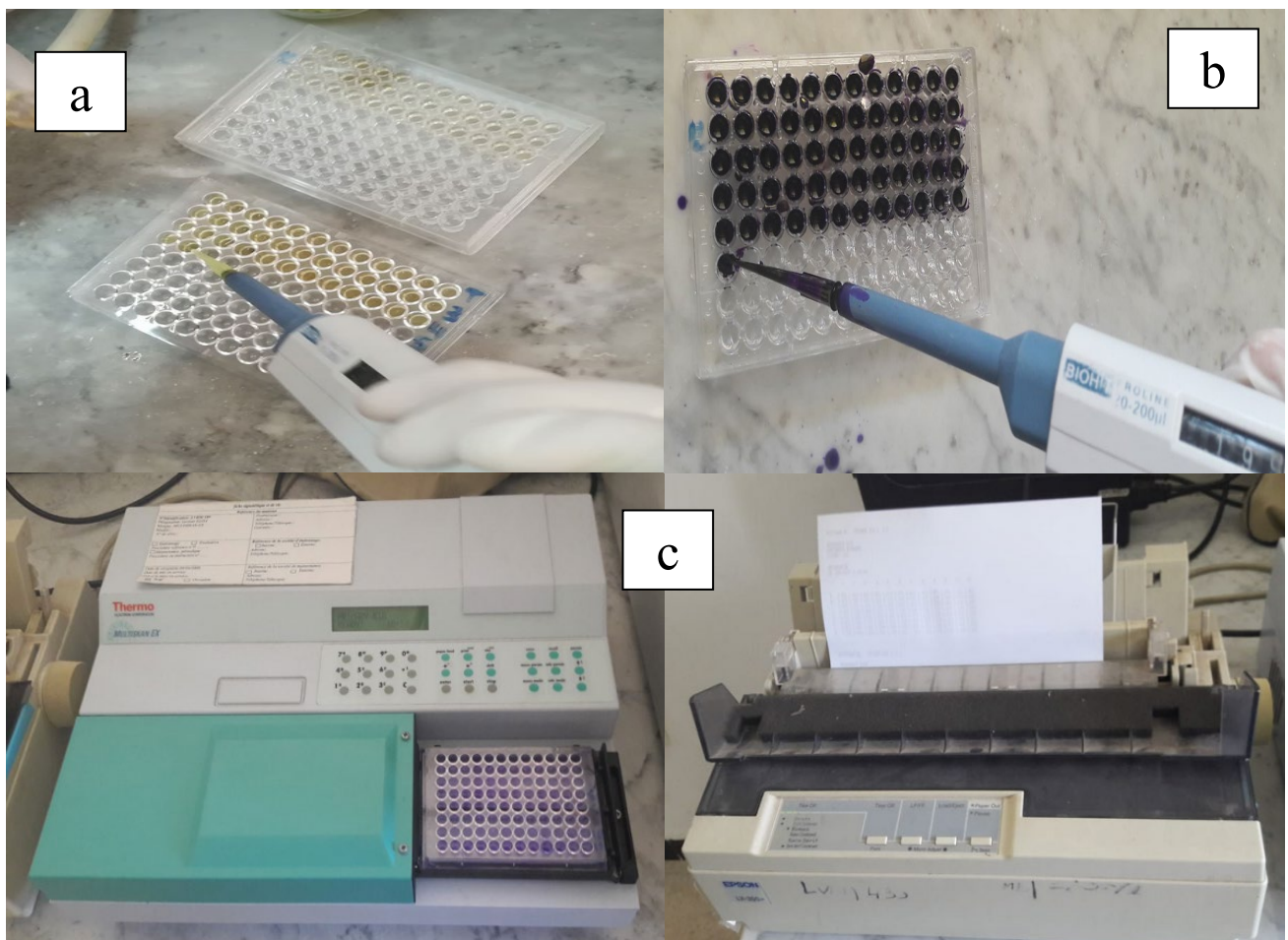
- À partir d'une culture pure et jeune de 18 h, on ensemence 5 ml de **TSB** (Bouillon Tryptone Soja), qu'on incube à 37°C pendant 18 à 24h.
- Après incubation des dilutions appropriées sont effectuées afin d'obtenir une suspension bactérienne équivalente à  $10^8$  UFC/ml par ajustement de la densité optique au standard 0,5 McFarland
- Les puits stériles d'une microplaque en polystyrène de 96 puits sont remplis avec 150µL de cette suspension bactérienne. Les puits de la colonne 12 servant de contrôle, sont remplis avec 150 µl de milieu TSB (**Boukhelifa, 2017**).
- Après incubation à 37°C pendant 24h en condition statiques, les puits de la microplaque sont vidés de leur contenu puis lavés trois fois consécutives avec 0.2 mL d'eau physiologique stérile pour éliminer les bactéries libres planctoniques.
- Les cellules bactériennes adhérentes à la paroi interne des puits et formant un biofilm sont colorées par le cristal violet 0.1% (m/v).
- Après 10 à 15 minutes, la solution de cristal violet est éliminée et les puits sont lavés trois fois avec de l'eau distillée afin d'éliminer toute trace de colorant non fixé.
- Les microplaques renversées sont couvertes de papier absorbant et laissées sécher à la température ambiante pendant 15 minutes.
- Enfin, les puits sont remplis de nouveau avec 150µL d'une solution d'éthanol (95%) pour libérer le colorant fixé au sein des cellules emprisonnées dans le biofilm ainsi formé (**Kaf Nemer et Hammoumi, 2017**).
- La densité optique (DO) de tous les puits sont déterminées par l'intermédiaire d'un lecteur ELIZA à une longueur d'onde de 610 nm (**Boukhelifa, 2017**) (**Figure 69**).

## Matériel et Méthodes

Selon les travaux de **Christensen *et al.* (1985)** et de **Hola et Ruzicka. (2011)**, les souches compte tenu de leur pouvoir adhérent, ont été classées en trois catégories : non adhérentes, faiblement adhérentes et hautement adhérente (**Boukhelifa, 2017**) (**Tableau 16**).

**Tableau 16** : Classification de l'adhérence bactérienne par la technique TCP (**Kaf Nemer et Hammoumi, 2017**).

Valeurs DO	Adhérence	Formation de biofilm
< 0.120	Non adhérente	Non formatrice
0.120-0.240	Faiblement adhérente	Faiblement formatrice
≥ 0.240	Fortement adhérente	Fortement formatrice



**Figure 69** : Les étapes de la méthode de culture en plaques (TCP) : a- Remplissage de la microplaque par TSB, b- Coloration par CV, c- Lecture de la DO par le lecteur Elisa.

### **3.8.1.2 La méthode en tube (TM) :**

Le bouillon coeur cervelle mis dans des tubes à hémolyse avec un volume de 3.5 ml et inoculé par anse de platine par chaque bactérie et incubé à 37°C pendant 24 heures .Au lendemain de la culture, les tubes ont été lavés avec du TPS (Tampon phosphate salin) et séchés. La couche de biofilm adhérente dans chaque tube est colorée avec du Crystal violet (0.1 %) pendant 15 min .Les tubes sont ensuite lavés avec de l'eau distillée stérile et séchés toute la nuit à température ambiante.

La formation de biofilm a été considérée comme positive lorsqu'un film visible borde le mur et le fond du tube, les expériences ont été réalisées en duplica. (**Bentiba et Bentiba, 2017**).

### **3.8.1.3 Détection de la production de slime sur milieu Rouge Congo Agar (RCA) :**

Cette technique qualitative consiste à l'ensemencement des souches testées pour leurs capacités à produire un biofilm sur milieu Rouge Congo (**Annexe 6**). C'est une méthode indirecte qui permet de distinguer entre les souches productrices de slime de celles qui n'en produisent pas, en se basant sur la couleur de leurs colonies. Les souches sont ensemencées par stries en surface du milieu Rouge Congo coulé en boîtes Pétri et incubé à 37° pendant 24h à 48h. L'évaluation de la couleur des colonies est réalisé selon **Satorres et Alcaraz (2007)**. Les colonies des souches non productrices de Slime sont de couleur rose rouge tandis que celle qui ont la capacité à produire un slime sont de couleur noire (**Bentiba et Bentiba, 2017**).

### **3.8.2 Quantification visuelle d'un biofilm par diffusion sur gélose au sang :**

L'importance du rôle des SCN dans les infections urinaires nosocomiales (**IUN**) est due à leurs grandes capacités à coloniser les sondes ainsi que l'organisation particulière de ces bactéries en biofilm qui est une source d'infection (**Bali et djebasse, 2015**)

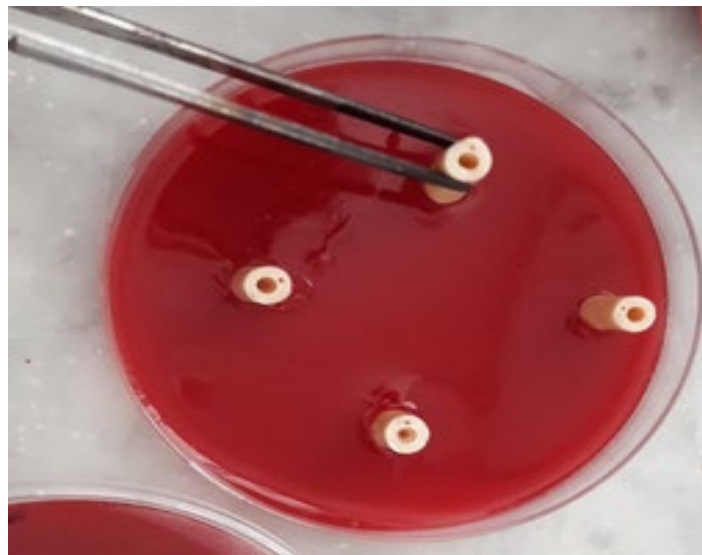
La détection des biofilms présents sur les surfaces internes des sondes urinaires est conditionnée par le choix ainsi que la réussite du protocole appliqué dans le traitement de ces dispositifs médicaux. Ainsi le traitement doit être basé sur la stérilisation et désinfection de la sonde urinaire en premier (**Boukhelifa, 2017**).

## Matériel et Méthodes

---

De ce fait, des fragments de sondes seront soigneusement et aseptiquement découpés en disque de 1 cm d'épaisseur et autoclavés à 121°C pendant 15min.

Ces fragments sont ensuite placés dans une suspension bactérienne d'une densité ajustée à une DO de 0,1 et incubés pendant 48 h (temps habituellement considéré propice pour confirmer une infection associée au soin). Après incubation, les fragments sont récupérés, lavés abondamment et plusieurs fois à l'eau distillée stérile pour éliminer toutes bactéries planctoniques. Enfin ces disques sont soigneusement déposés en surface d'un milieu gélose au sang préparé à base de gélose Columbia additionnée de 5% du sang humain, coulé en boîte de pétri (**figure 70**). Celles-ci sont incubées couvercle vers le haut à 37°C pendant 48h (**Boukhelifa, 2017**).



**Figure 70** : Dépôt des fragments des sondes vésicales sur la gélose au sang.



## Résultats et discussions

« Le motif le plus important du travail à l'école, à l'université, dans la vie, est le plaisir de travailler et d'obtenir, de ce fait, des résultats qui serviront à la communauté ».

*Albert Einstein.*



## Résultats et discussion

### 1 Résultats du prélèvement :

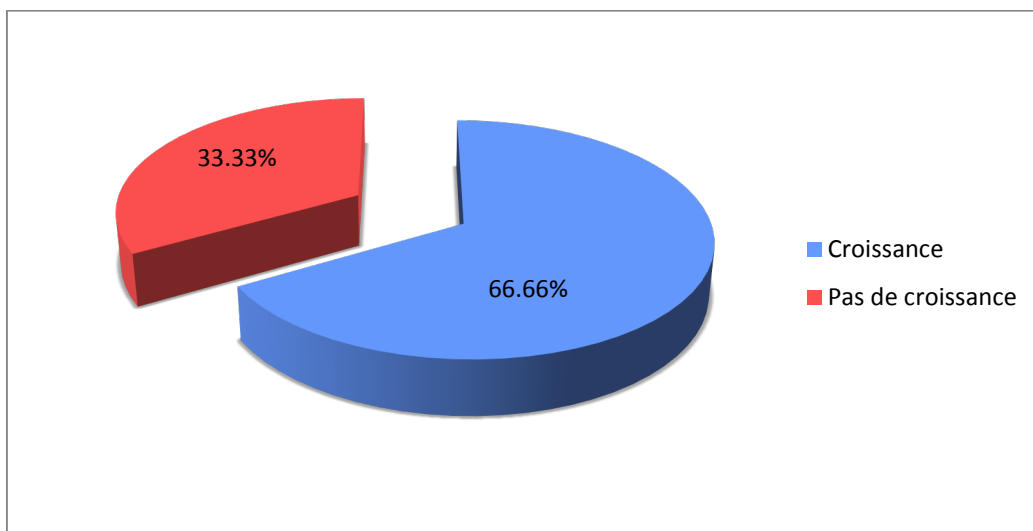
Parmi 12 dispositifs médicaux prélevés à partir de différents services d'hôpital de Chéguivara, un nombre de 8 souches de *Staphylococcus* a été obtenu.

On peut dire que la contamination peut avoir deux origines :

- Soit au niveau du patient donc au cours du prélèvement lui-même.
- Soit au cours de l'insertion de ces biomatériaux.

Dans les deux situations, la principale cause est le manque d'hygiène qui engendre l'inoculation des bactéries de l'environnement qui ne sont pas en relation avec l'infection mais qui peuvent coloniser le malade et provoquer chez lui des infections nosocomiales (IN).

Sur les 12 prélèvements analysés, 66.66 % se sont révélés positifs (développement bactérien), (**figure 71**), nous considérons comme négatifs, les prélèvements qui ne présentent aucun signe de culture au bouillon BHIB ou bien ne montrent pas de croissance après la culture sur le milieu Chapman.



**Figure 71** : Répartition des prélèvements selon le contenu bactérien.

#### 1.1 Effet de l'âge des patients sur la répartition des infections :

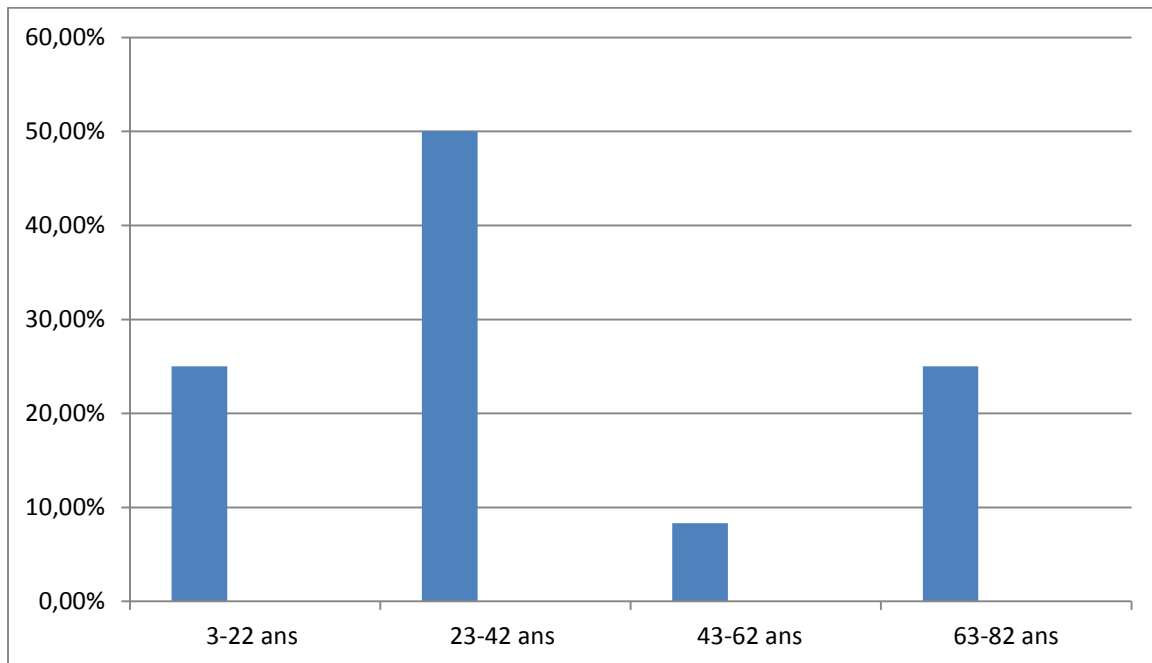
L'âge des patients varie de 03 et 82 ans, il constitue un des facteurs de risque important liés aux patients.

Nos résultats montrent que la majorité des patients ayant une infection nosocomiale (50%) ont un âge compris entre 23 et 42 ans, et une proportion non négligeable (25%) a un âge supérieur à 63 ans et entre 3 et 22 ans (**Figure 72**).

## Résultats et discussion

Ces résultats ne s'accordent pas avec les données qui ont décrit que l'âge est un facteur de risque infectieux au-delà de 1 an et après 75 ans ou ceci peut aisément s'expliquer par l'importance de la morbidité chez le sujet âgé. Plusieurs auteurs, signalent que les personnes âgées sont les plus sensibles et les plus vulnérables aux infections. Cette vulnérabilité est multifactorielle (Bezzar, 2014).

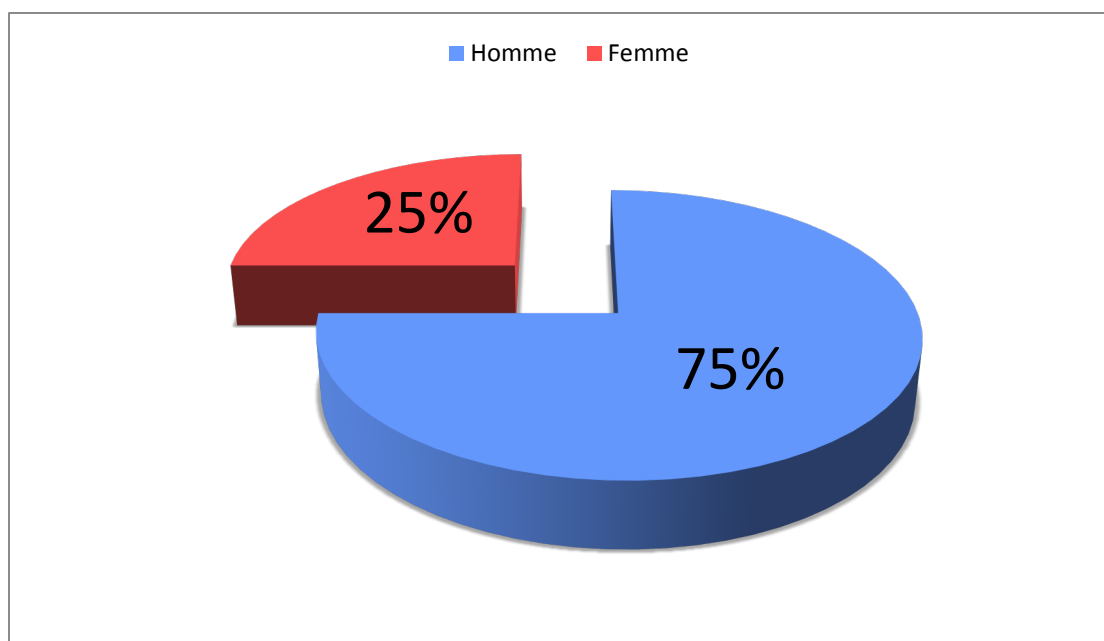
Effectivement Lucet (2000) a signalé que l'âge avancé agissait en réduisant les défenses de l'hôte et augmentait également la durée des interventions. La raison qui explique que les patients âgés sont les plus souvent victimes d'infections nosocomiales est la durée d'hospitalisation qui est généralement plus longue que celle des patients plus jeunes (Afissa, 2014).



**Figure 72:** Répartition des infections nosocomiales associées aux soins dues au *Staphylococcus* dans les différents d'EPH de Mostaganem selon l'âge.

### 1.2 Effet du sexe des patients sur la répartition des infections :

Dans cette étude, l'infection sur ces biomatériaux est significativement plus fréquente chez les hommes avec un taux de 75 % dans les services concernés par notre étude (Figure 73), cela peut être expliqué par le fait que le nombre d'homme durant cette période est plus important. Cela concorde avec les résultats de la majorité des études sur les infections sur les implants médicaux comme celle réalisée en 2014 dans différents services à l'hôpital « Mohamed Boudiaf » d'Ouargla qui a montré que 56 % des cas étaient du sexe masculin (Afissa, 2014)



**Figure 73 :** Répartition des prélèvements selon le sexe.

### 1.3 Répartition des prélèvements selon les services de l'hôpital :

Le tableau 17 regroupe le nombre de prélèvements effectués au niveau de chaque service dont la majorité (25 %) est issu du service d'orthopédie homme.

**Tableau 17 :** Répartition des prélèvements selon les services de l'hôpital.

Service	Nombre de prélèvement	Taux de prélèvement
Orthopédie homme (Orth H)	3	25 %
Urologie	1	8,33 %
Service de chirurgie infantile (CCI)	1	8,33 %
Neurologie	1	8,33 %
Chirurgie homme	1	8,33 %
ORL	1	8,33 %
Gastrologie	2	16.66 %
Bloc opératoire	2	16.66 %
Totale	12	100 %

### 1.4 Répartition des prélèvements selon la nature des DM :

Le tableau 18 regroupe le nombre de prélèvements effectués selon le type du matériel implanté dont la plupart (41.66 %) sont des cathéters vaineux périphériques.

## Résultats et discussion

**Tableau 18 :** Répartition des prélèvements selon la nature des dispositifs médicaux.

Type de prélèvement	Nombre de prélèvement	Pourcentage
Cathéters vinueux périphériques	5	41.66 %
Sondes vésicales	3	25 %
Sondes d'intubation orotrachéale	2	16.66 %
Pansement	1	8,33 %
Fixateur de l'os	1	8,33 %
Total	12	100 %

### 1.5 Répartition des prélèvements selon les biomatériaux analysés :

La nature des matériaux qui constituent ces différents DM sont illustrées dans le tableau 19.

**Tableau 19 :** Nature des matériaux qui constituent les dispositifs implantables.

Type de dispositif	Matériaux	Fabricant
Cathéters vinueux périphérique	Polyuréthane	KDM Allemangne
Sondes vésicales	Latex	MAIS CO
Sondes d'intubation orotrachéale	Silicone	CHINA
Pansement	Polystyrène	CHINA
Fixateur de l'os	Acier inoxydable	B/BRAUM U.S.A

## 2 Résultats des analyses bactériologiques :

### 2.1 Isolement :

L'étude microbiologique de 12 matériaux récoltés de différents services à aboutit un isolement de 8 souches Staphylococciques.

### 2.2 Identification des isolats :

#### 2.2.1 Examen macroscopique (Aspect des colonies) :

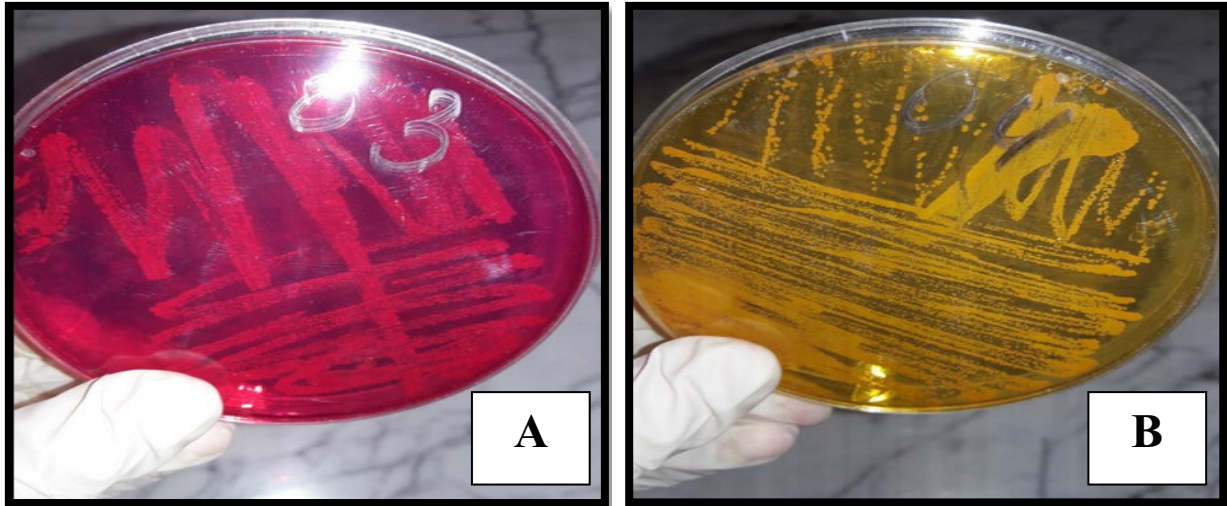
La mise en culture de divers échantillons cliniques sur le milieu solide Chapman a décelé après 48h d'incubation à 37°C une croissance bactérienne, dont lequel on observe deux aspects : Dans la figure à gauche (**A**) les colonies appariassent non pigmentées (blanchâtres), brillantes, arrondies à bords régulier de 1 à 2 mm de diamètre sans virage de milieu, il s'agit peut être des staphylocoques blancs. Dans la figure à droite (**B**) les colonies sont pigmentées

---

## Résultats et discussion

---

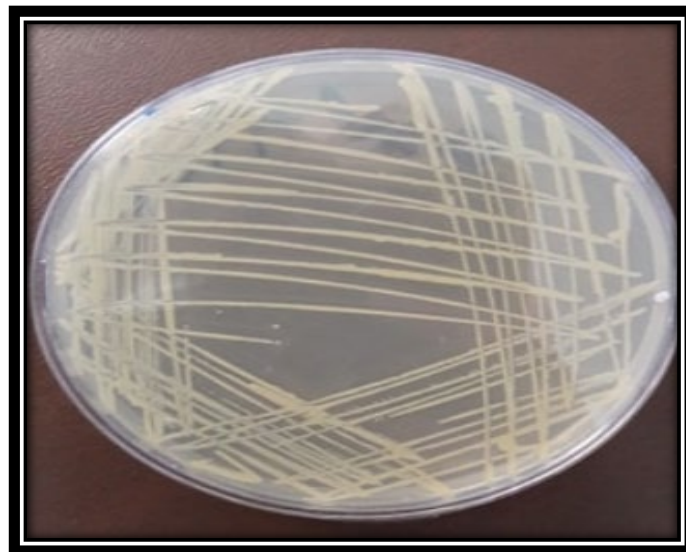
en jaunes avec une acidification du milieu, il s'agit probablement de *S. aureus* (**Figure 74**). Comme ils ont tous une odeur caractéristique **dirty sneakers (Baskets sales)**, et un aspect visqueux, dont la bactérie se colle sur la surface de gélose.



**Figure 74** : Aspect macroscopique des colonies de *Staphylococcus* sur milieu Chapman.

Les repiquages successifs sur les deux milieux utilisés (Gélose nutritive, et gélose au sang) effectués à partir de différentes colonies bactériennes ont révélé la présence des espèces bactériennes apparaissent généralement comme suit :

Sur la gélose nutritive, après 24h d'incubation, on a observé des colonies arrondies bombées, opaque à contour nets de 1 mm de diamètre et de couleur beige (**Figure 75**).



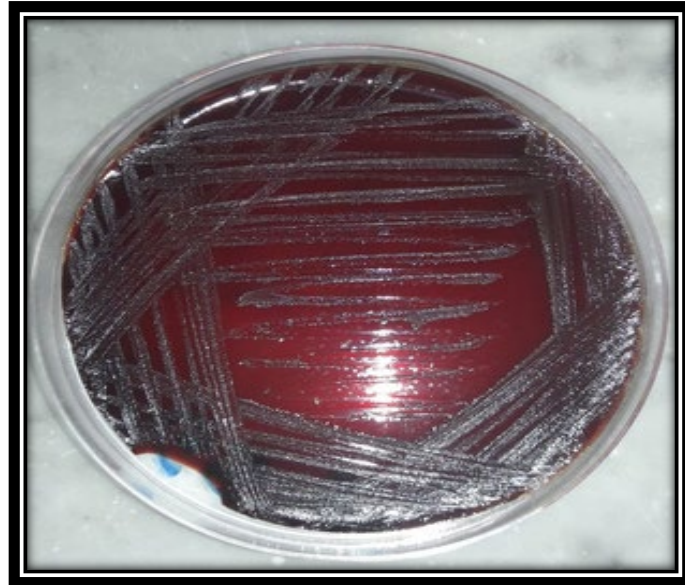
**Figure 75**: Aspect macroscopique des colonies de *Staphylococcus* sur gélose nutritive.

---

## Résultats et discussion

---

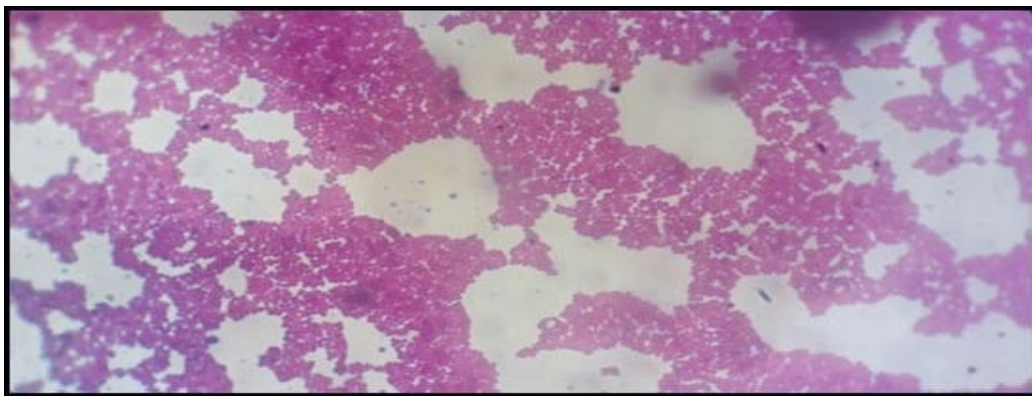
Sur la gélose au sang frais, la culture des Staphylocoques montre des colonies grisâtres brillantes, non hémolytiques, d'un diamètre variant entre 1 à 2 mm, après une incubation d'une nuit à 37°C (**Figure 76**).



**Figure 76:** Aspect macroscopique des colonies de *Staphylococcus* Sur gélose au sang.

### 2.2.2 Examen microscopique après coloration de Gram :

L'examen microscopique après coloration différentielle de Gram a montré la présence d'un seul aspect « cocci sphériques » isolées, regroupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappes de raisin, colorés en violet (Gram positif) (**Figure 77**) ce qui confirme la pureté de ces souches , Les amas sont caractéristiques du genre *Staphylococcus* (**Tableau 20**).



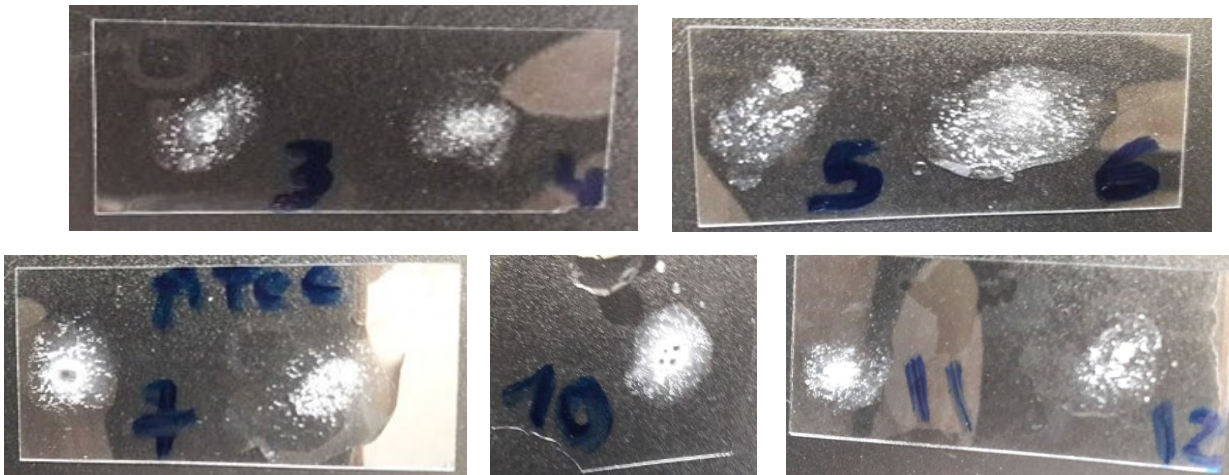
**Figure 77:** Observation de l'aspect microscopique des staphylocoques par le microscope optique Grossissement  $\times 100$  avec l'huile à immersion.

## Résultats et discussion

Ces caractéristiques morphologiques observés sur ces trois milieux de cultures (Chapman, gélose nutritive et gélose au sang frais) et sous microscope sont tout à fait similaires à celles des bactéries du genre *Staphylococcus* et permettent de les distinguer des autres bactéries. Donc, elles permettent l'orientation du diagnostic vers le genre *Staphylococcus*.

### 2.2.3 Test de catalase :

Toutes les souches analysées sont des catalases positives (**Figure 78**) ce qui représente un pourcentage 100% dont la présence de la catalase se matérialise par la production de bulles (**Tableau 20**).



**Figure 78** : Résultat de la production de la catalase par les cocci à Gram positif isolés.

### 2.2.4 Test d'oxydase :

En principe, la réaction positive s'est traduite par l'apparition d'une coloration violette à l'endroit où la colonie a été déposée soit immédiatement, soit quelques secondes après, Comme il n'y a pas eu de coloration c'est-à-dire que les résultats obtenus étaient négatif pour l'ensemble des bactéries (**Figure 79**). Toutes les souches testées sont dépourvues d'oxydase (**Tableau 20**).

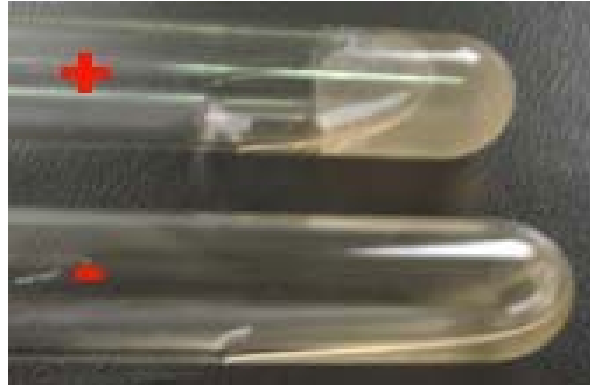


**Figure 79** : Résultats du test d'oxydase.

## Résultats et discussion

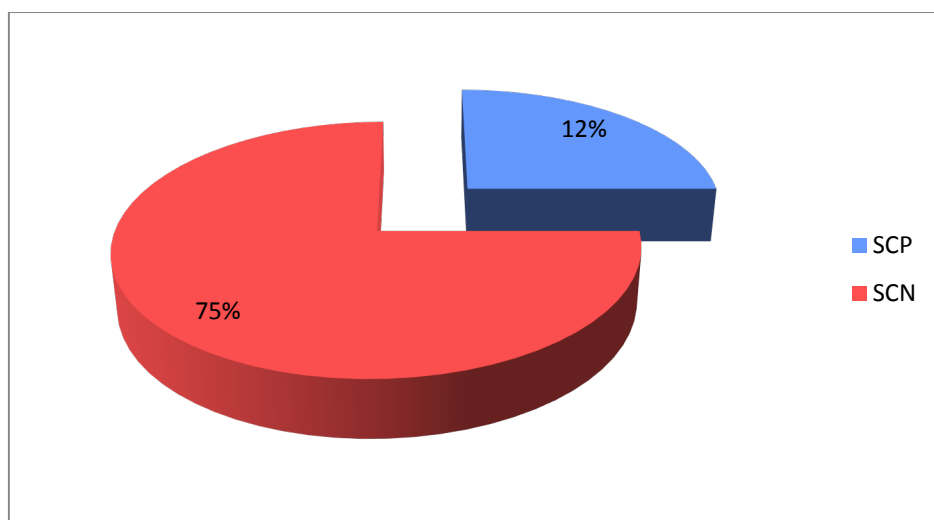
### 2.2.5 Test de coagulase :

Après 24 heures d'incubation à 37°C, l'observation visuelle des tubes N° (5 et 7) en position inclinée à 90°C ont révélés l'apparition d'un caillot (la prise en masse du mélange au point où les tubes peuvent être retournés) due à la présence de l'enzyme coagulase ou staphylocoagulase, indiquant une réaction positive (coagulase positive) (**Figure 80**).



**Figure 80:** Résultats de test de coagulase pour les cocci à Gram positif isolés.

Sur les 8 souches appartenant au genre *Staphylococcus*, 2 (25%) souches pures non redondantes ont été identifiées à l'espèce *S. aureus* par la mise en évidence d'une coagulase libre. Le reste des souches (75%) appartient aux espèces de SCN. **La figure 81** illustre une dominance primordiale des staphylocoques à coagulase négative (SCN), ce qui pourrait s'expliquer par leur prédominance dans la flore commensale cutanée et leur capacité d'adhérer à la surface des dispositifs médicaux (**Tableau 20**).

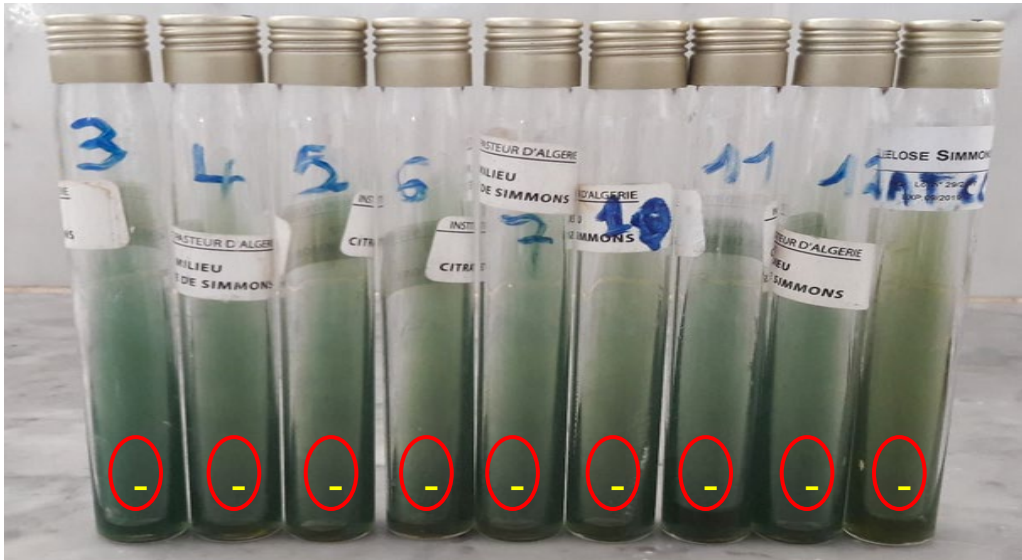


**Figure 81:** Répartition des Staphylocoques isolées des dispositifs médicaux étudiés selon la coagulase.

## Résultats et discussion

### 2.2.6 Dégradation du citrate de simmons :

L'absence de la culture bactérienne, et l'absence de l'acidification du milieu (Milieu inchangé) (**Figure 82**) indique que les bactéries n'utilisent pas le citrate comme seule source de carbone, toutes les bactéries testées ne possèdent pas de citrate perméase : **Citrate -** (**Tableau 20**).



**Figure 82:** Aspect du milieu citrate de simmons.

### 2.2.7 Utilisation des 3 sucres (Lac, Glu et Sac) production d'H<sub>2</sub>S et gaz :

Le virage de la pente, le milieu et le culot du tube au jaune, veut dire que les souches testées sont fermentés les 3 sucres (Lac, Sac, Glu) par contre l'absence du noircissement et les bulles d'air indique que les souches ne produisent ni gaz ni H<sub>2</sub>S (**Figure 83**) (**Tableau 20**).



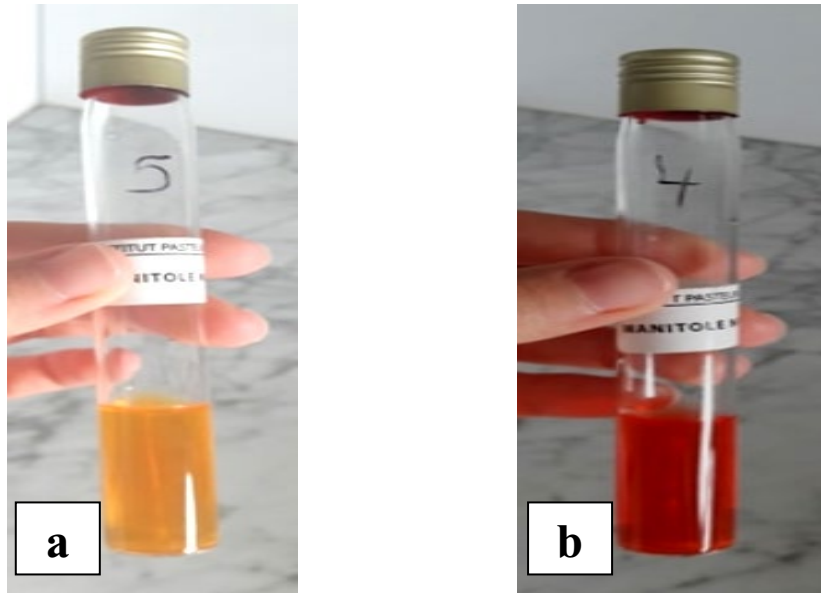
**Figure 83 :** L'aspect du milieu TSI après l'incubation.

## Résultats et discussion

### 2.2.8 Test de Mannitol- Mobilité :

C'est une gélose molle conditionnée en tubes et qui permet d'étudier la fermentation du mannitol et la mobilité des germes. Certaines souches ont fermenté le mannitol dont la fermentation de ce dernier a été matérialisée par un virage du milieu au jaune (a), par contre d'autres espèces n'ont pas utilisé le mannitol (b) (Figure 84)

En ce qui concerne la mobilité les ont uniquement poussé le long de la strie d'ensemencement, elles sont dites : **Mobilité – (Tableau 20)**.



**Figure 84** : Aspect du test de Mannitol Mobilité :

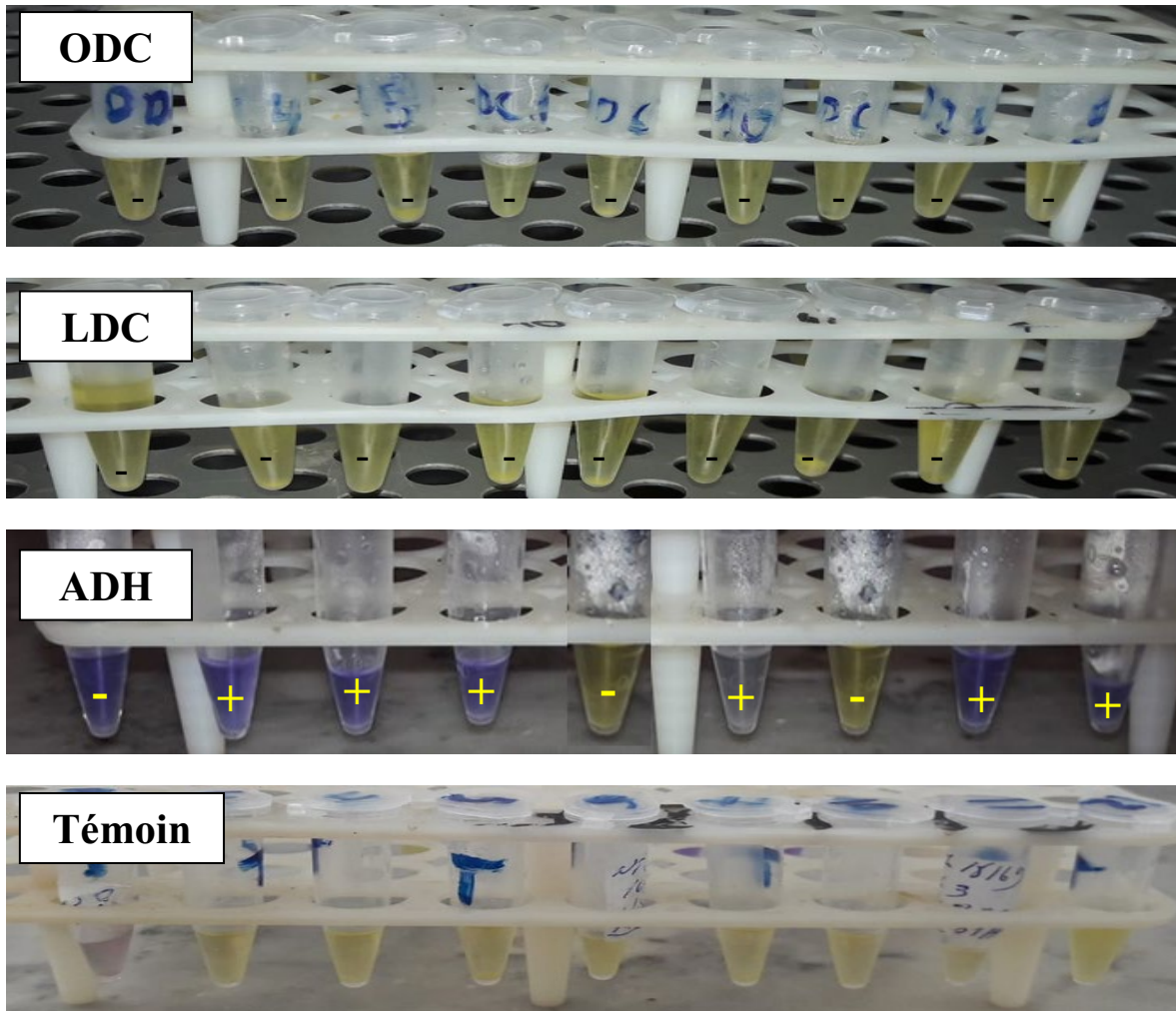
**a** : Mannitol –mobilité – **b** : Mannitol + mobilité –

### 2.2.9 Production de décarboxylases LDC, ODC, ADH :

Les milieux de Moëller (**LDC** : lysine décarboxylase, **ODC** : ornithine décarboxylase, **ADH** : arginine dihydrolase) permettent de montrer la présence de ces enzymes par la mise en évidence de l'acidification du milieu et sa ré-alcalinisation éventuelle.

Après avoir effectué les tests nous avons obtenu les résultats suivants (**Tableau 20**).

Pour toutes les souches de Staphylocoques, les deux milieux de moëller LDC et ODC ont changé de couleurs et sont devenus jaunes car les milieux sont devenus acides donc négatif car il aurait fallu avoir une ré-alcalinisation. En ce qui concerne le milieu ADH nous avons eu des résultats différents, dont la majorité des cas le milieu n'a pas changé de couleur et il est resté violet donc ADH positif, par contre les souches (N° 5, 7 et *S. aureus* ATCC 33682) ont données des réactions négatives (**Figure 85**).



**Figure 85:** Aspect du test de décarboxylase.

#### 2.2.10 Production de la <sup>2</sup>-galactosidase (Test d'ONPG) :

Certaines souches étaient pourvues de la <sup>2</sup>-galactosidase, elles ont donné un résultat positif c'est-à-dire ONPG+ ou le milieu utilisé devient jaune (a), alors que d'autres ont donné un résultat négatif avec le test ONPG –c'est-à-dire le milieu restait incolore (b) (Figure 86) (Tableau 20).



**Figure 86 :** Test d'ONPG : a- Aspect du test positif ; b- Aspect du test négatif.

---

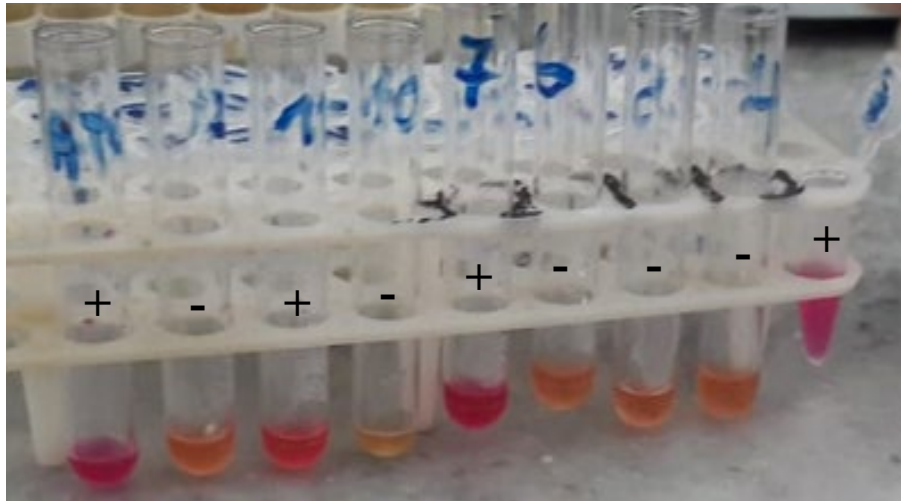
## Résultats et discussion

---

### 2.2.11 Test d'urée-indole :

#### 2.2.11.1 Production d'uréase :

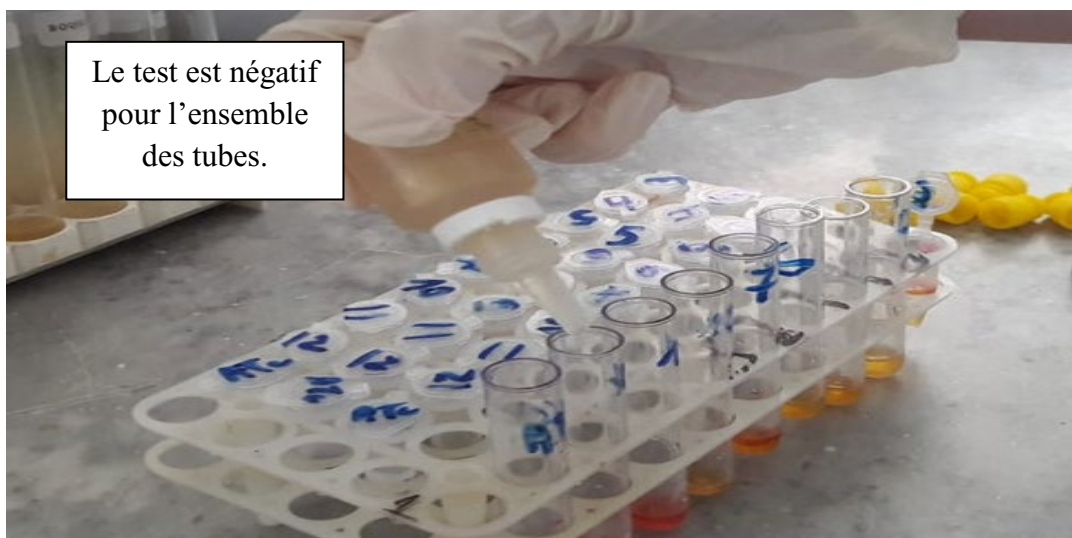
Certains tubes montrent une coloration orange donc pas d'alcalinisation du milieu donc l'urée n'a pas été hydrolysée : **Urease -**, d'autres présentent une coloration rose fuschia, donc il y a eu libération d'ammoniac due à l'hydrolyse de l'urée : **Urease + (Figure 87) (Tableau 20)**.



**Figure 87** : Mise en évidence de la production d'uréase.

#### 2.2.11.2 Production d'indole :

La présence d'indole se matérialise par un anneau rouge, après addition du réactif de Kovacs. Les souches testées ne présentent pas cet anneau par ce que ces bactéries ne dégradent pas le tryptophane en indole, elles sont tout indole négatif (**Figure 88) (Tableau 20)**.



**Figure 88** : Aspect d'indole négatif.

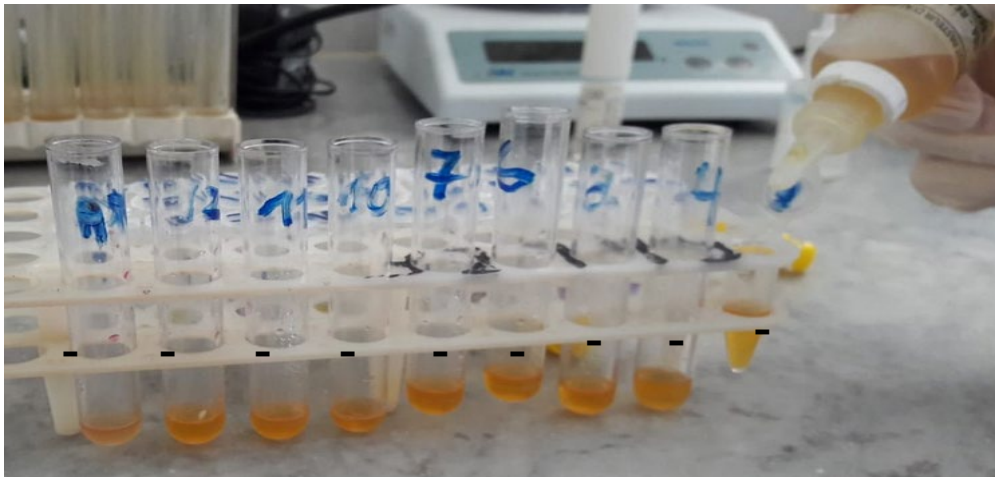
---

## *Résultats et discussion*

---

### 2.2.11.3 Recherche de tryptophane désaminase (TDA) :

La tryptophane désaminase (TDA) est une enzyme qui dégrade (désamination) le tryptophane en acide indole-pyruvique et  $\text{NH}_3$ , l'acide indole-pyruvique est mis en évidence grâce à la coloration brune caractéristique qu'il donne avec le perchlorure de fer ( $\text{FeCl}_3$ ). L'absence de précipité brun indique l'absence d'acide indole pyruvique issu de la désamination du Trp, donc nos souches sont de TDA – (**Figure 89**) (**Tableau 20**).



**Figure 89** : Aspect de tryptophane désaminase TDA.

### 2.2.12 Tests RM - VP :

Le test VP (Vosges-Proskauer) s'est fait sur le milieu Clark et Lubs et met en évidence la production d'acétoïne. Si le milieu reste incolore donc le test VP est négatif, par contre Si le milieu donne une couleur rose à rouge donc le test VP est positif

Toutes les souches testées étaient VP négatif car après ajouts des réactifs VP 1 et VP 2 il n'y a pas eu de réaction (**Figure 90**) (**Tableau 20**).



**Figure 90** : Aspect du test VP négatif.

## Résultats et discussion

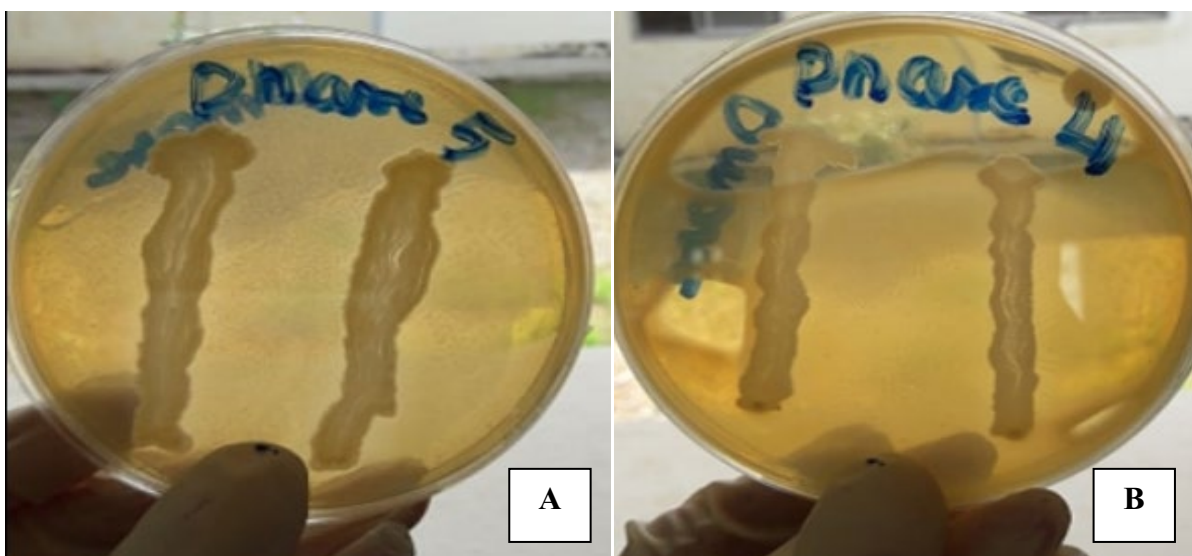
Concernant le test RM, les souches étaient RM positif car le milieu est devenu rouge après l'addition du réactif de rouge de méthyle (**Figure 91**) (**Tableau 20**).



**Figure 91:** Aspect du test RM positif.

### 2.2.13 La recherche de la désoxyribonucléase (Test de Dnase) :

La gélose à l'ADN est un milieu solide qui permet la recherche de la désoxyribonucléase, en particulier celle des staphylocoques. Cette enzyme hydrolyse l'ADN en nucléotides. Pour la lecture, on inondera le milieu avec une solution d' HCl. Dans la figure à gauche (**A**), on peut voir apparaître une zone claire (halo) autour de la strie tandis que le reste est opaque, la souche est donc DNase +. Par contre cette zone est absente dans la deuxième boîte (**B**) la souche est donc Dnase – (**Figure 92**) (**Tableau 20**).



**Figure 92 :** Résultat du test de désoxyribonucléase. **A-** Dnase +, **B-** Dnase -

## Résultats et discussion

### 2.2.14 Réduction de nitrate :

Le milieu reste inchangé après l'ajout de réactif de Gress (NIT I et NIT II) (A), on ajoute alors de la poudre de zinc qui joue le même rôle que la nitrate réductase vis à vis des nitrates Pas de coloration (B) (Figure 93) : les nitrates ont été transformés par la bactérie au delà des nitrites. La bactérie possède cette enzyme : **Résultat Nitrate Réductase positif (Tableau 20)**.

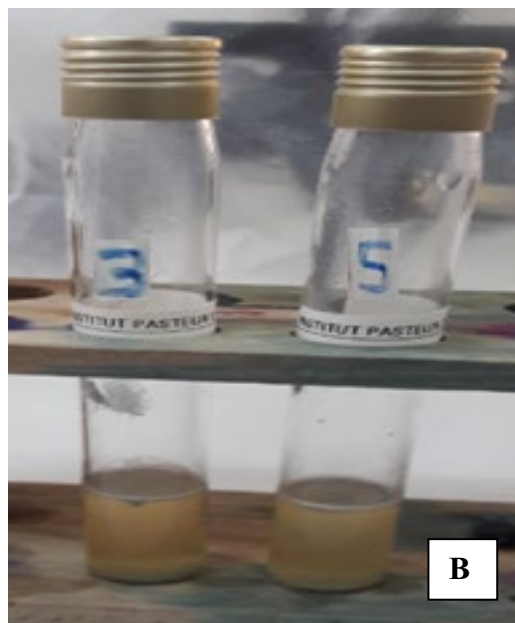
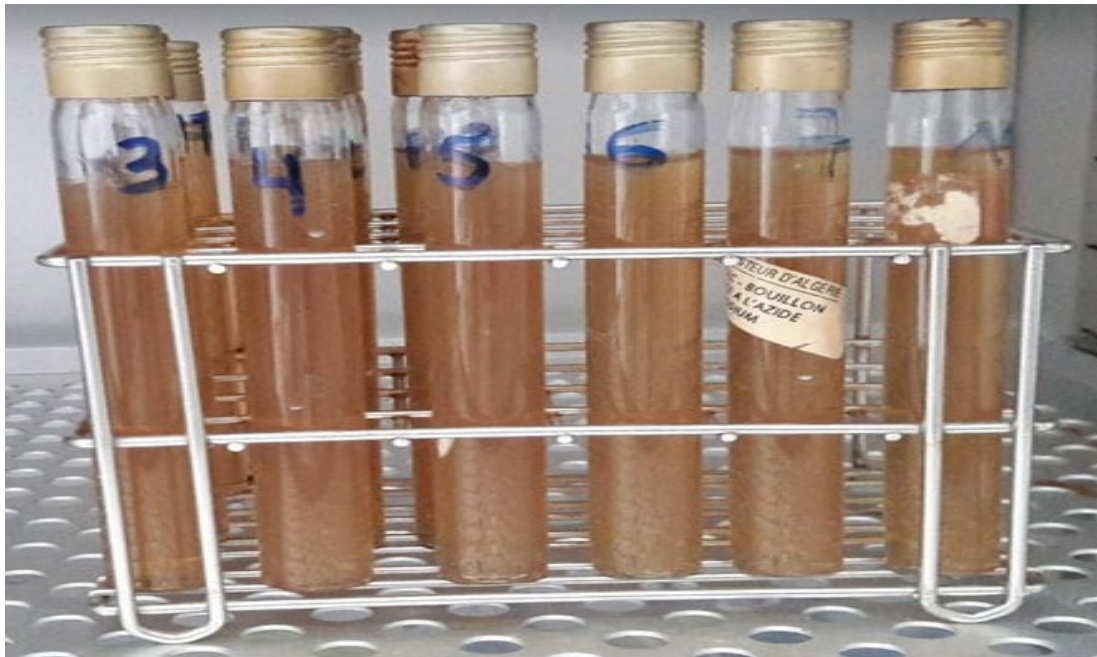


Figure 93 : Le bouillon nitraté

A- Après l'ajout de réactif de Griess (NIT I et NIT II), B- Après l'ajout de la poudre Zinc.

### 2.2.15 Test de viande foie (VF):

Ce test permet d'étudier le type respiratoire de la bactérie. On observe que les bactéries se sont développées dans toute la longueur du tube (**Figure 94**), elles n'ont donc pas forcément besoin de dioxygène pour se développer. Elles sont tous des aéro-anaérobies facultatives (**Tableau 20**).



**Figure 94** : Résultats de type respiratoire.

### 2.3 Identification par le logiciel « LogiBacter » :

Ce processus d'identification consiste à reconnaître une bactérie inconnue en définissant son appartenance à une espèce. Il repose sur le choix d'un ensemble de tests biochimiques, enzymatiques et métaboliques réalisés par la galerie classique qu'on a appliqués. Cet ensemble constitue un kit d'identification. Après le remplissage des fiches d'identification bactérienne (**annexe 8**) en fonction du profil des résultats obtenus qui sont résumé dans le tableau ci-dessous en négligeant quelques tests douteux (**tableau 20**) le logiciel va donner les probabilités d'appartenance à chaque espèce. On retient l'espèce la plus probable qui à un pourcentage le plus élevé :

## *Résultats et discussion*

**Tableau 20:** Caractères biochimiques différentiels des staphylocoques.

Echantillon Test	ATCC	3	4	5	6	7	10	11	12
<b>Aspect</b>	<b>Coques en grappes de raisin</b>								
<b>Gram</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Type respiratoire</b>	<b>Aéro-Anaérobie facultatifs</b>								
<b>Catalase</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Oxydase</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Coagulase</b>	+	-	-	+	-	+	-	-	-
<b>Citrate</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Glucose</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Lactose</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Saccharose</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>H<sub>2</sub>S</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Gaz</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>Mannitol</b>	+	-	-	+	-	+	-	-	-
<b>Mobilité</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>RM</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>VP</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>NR</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<b>Dnase</b>	+	-	-	+	-	+	-	-	-
<b>Uréase</b>	+	+	-	-	-	+	-	+	-
<b>Indole</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>TDA</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>ONPG</b>	-	+	+	-	+	-	+	+	+
<b>LDC</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>ODC</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>ADH</b>	-	+	+	-	+	+	-	+	+
<b>Témoin</b>	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Les résultats de la galerie biochimique classique en tube après 24 heures d'incubation ont confirmés que ces bactéries font partie du genre *Staphylococcus*, les différentes espèces appartenant à ce genre sont mentionnées dans le **tableau 21** selon le site d'insertion et le type de biomatériau implanté :

Les résultats bactériologiques de notre étude placent les SCN avec l'espèce *S. epidermidis* en tête des germes responsables d'infection nosocomiale sur les implants médicaux.

En France, *S. epidermidis* représente 82.5% des staphylocoques à coagulase négatif isolés d'infections liées aux cathéters. Aux Etats-Unis, il est la cause de plus 50% des infections liées aux biomatériaux. En Algérie, elle représente 31% des souches isolées à partir des sondes vésicaux et responsable de 56 % des infections liées au cathétérisme.

A la différence de *S. aureus*, *S. epidermidis* peut adhérer à des polymères inertes sans interaction intermédiaire avec des molécules de l'hôte, ce qui peut expliquer la prédominance **(Afissa, 2014)**.

D'après nos résultats on constate que les souches sont le plus souvent isolées du service du bloc opératoire, même si la durée d'implantation des sondes d'intubations orotrachéales n'est pas assez longue (ça dure quelques heures le temps d'opération) cela peut être expliqué par l'état de santé fragilisée des patients qui ont des maladies chroniques, cancéreux (tumeur stromale, et cal vicieux) parce qu'ils sont immunodéprimés.

Par contre, tous les dispositifs médicaux analysés sont contaminés sauf pour le cas des cathéters, un sur 5 récoltés est contaminé. Cette contamination est récupéré à partir du service pédiatrie pourrait être due à l'âge précoce du l'enfant et son petit poids, on est devant un cas d'un enfant de 3 ans avec un risque infectieux qui à une malformation ano-réctale, Soit par la durée du cathétérisme qui dépasse les 48h.

Cela nous amène à comprendre que le temps d'implantation des biomateriaux dans le corps humaine joue un rôle primordial dans la multiplication des bactéries et l'acquisition des infections nosocomiales associées aux soins.

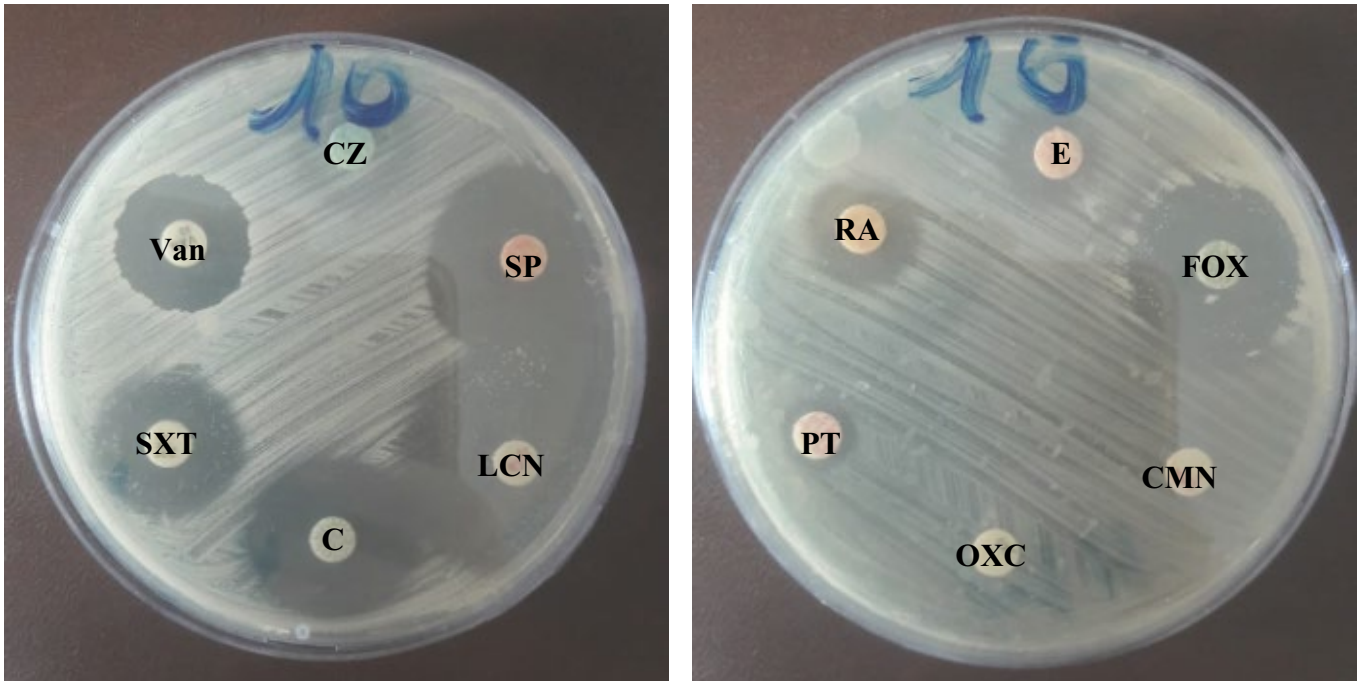
## *Résultats et discussion*

**Tableau 21** : Identification de différentes espèces de Staphylocoques par le logiciel « **Logi-Bacter** » selon le site d'insertion et le type de DM.

Service	Nombre de prélèvements					Type de souche isolée
	5 Cathéters Périphériques	3 Sondes vésicales	2 Sondes d'intubations	1 Pansement	1 Fixateur de l'os	
	Nombre des souches obtenues					
Orthopédie homme					1	<i>S.epidermidis</i>
Urologie (CCI)	1	1				<i>S.epidermidis</i>
Neurologie		1				<i>S.epidermidis</i>
Chirurgie homme				1		<i>S.aureus</i>
ORL						0
Gastrologie		1				<i>S.epidermidis</i>
Bloc opératoire			2			2 <i>S.epidermidis</i>
<b>Nombre de prélèvements</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>8</b>

### 3 L'antibiogramme :

L'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques des espèces isolées à partir des dispositifs médicaux, aux niveaux des huit services de l'hôpital de Chéguivara s'avère d'une importance primordiale, vu qu'elle oriente le choix des traitements et permet de réduire la pression de sélection exercée par les antibiotiques (**Figure 95**).



**Figure 95 :** Résultats d'antibiogramme d'une souche isolée à partir d'une sonde d'intubation orotrachéale du bloc opératoire.

Rappelons que pour notre étude, le traitement des différentes DM a été entrepris uniquement dans le but d'isoler les SCN. De ce fait, seules les colonies suspectées appartenir au ce genre sont retenues et repiquées à nouveau sur leurs base des critères d'identification, pour cela sur 8 espèces identifiées, nous avons effectué des antibiogrammes pour les 6 isolats cliniques appartenant à SCN et une souche de référence *S. aureus* ATCC 33862, les résultats obtenus sont illustrées dans le **tableau 22** et la **figure 96**.

Les espèces de Staphylocoques ont présenté des taux de résistance à toutes les familles d'antibiotiques sauf aux glycopeptides, et plus précisément la vancomycine (Van)

Les résultats portés sur la **figure 96** montrent que les souches des SCN cliniques isolées présentent une résistance totale (100 %) à la famille de <sup>2</sup>-Lactamines (OX, FOX). Quant aux macrolides, le taux le plus important a été observé pour l'érythromycine (**E**) (71.42%), et une résistance intermédiaire vis à vis les autres antibiotiques testés qui varie entre 14.28% et 42.85%. Les SCN étudiés ont montré un pourcentage de sensibilité élevé pour les autres antibiotiques qui varie entre 42.85 et 85.71 %.

## Résultats et discussion

**Tableau 22:** Diamètres des zones d'inhibitions de l'antibiogramme.

ATB	SYM S	Diamètres des zones en millimètres						
		<i>S.aureus</i> ATCC 883862	3	4	6	10	11	12
Oxacilline	OXC	0	8	0	0	0	0	9
Vancomycine	Van	19	18	20	21	18	22	20
Clindamycine	CMN	0	17	0	27	0	24	22
Erythromicine	E	0	6	20	12	13	16	13
Spiramycine	Sp	12	21	7	8	26	30	24
Lincomycine	LCN	0	14	12	9	25	32	18
Cefoxitine	FOX	15	19	24	20	23	22	21
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	SXT	27	24	0	21	20	26	20
Pristamycine	PT	22	22	9	28	11	30	26
Cefazoline	CZ	25	0	19	0	0	17	24
Chloramphénicol	C	22	18	33	7	25	30	19
Rifamycine	RA	23	0	19	32	12	0	26

Les légendes :

ATB : antibiotiques.

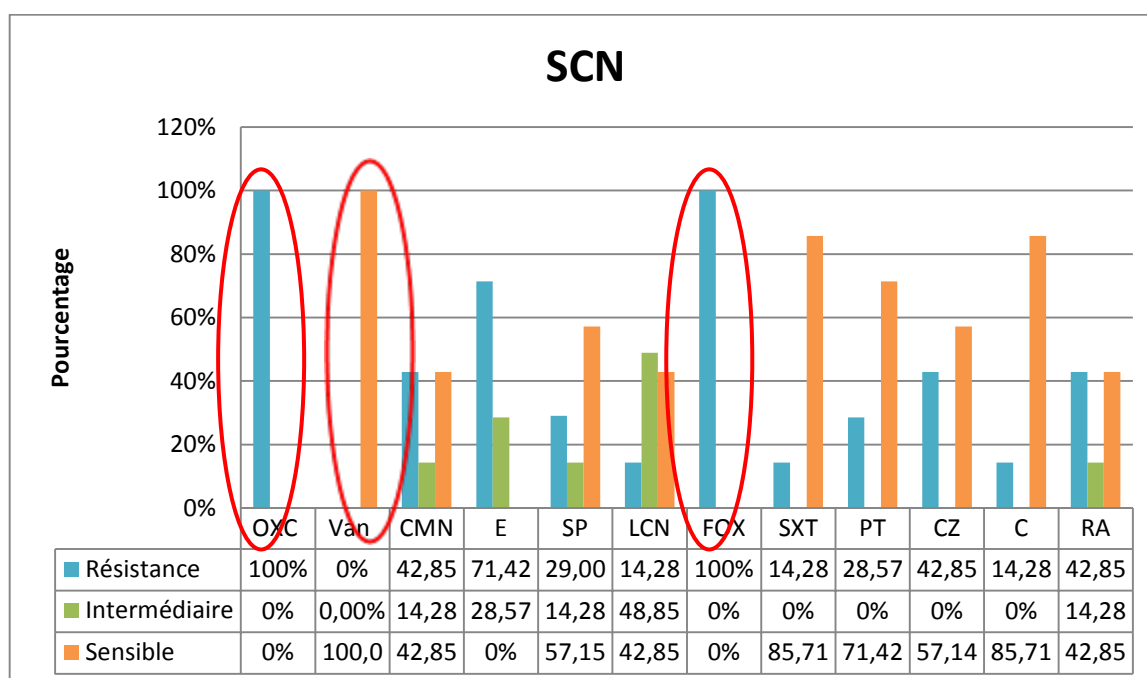
SYM : Symboles.

S : souches.

Résistante.

Sensible.

Intermédiaire.



**Figure 96 :** Taux de résistance et sensibilité aux antibiotiques des souches de Staphylocoques à coagulase négative isolées des dispositifs médicaux.

Le pourcentage de résistance élevé et l'apparition des souches résistantes à l'oxacilline OX et à la Céfoxitine FOX est probablement dû à la pression de sélection exercée par ces molécules. Le risque de sélection de bactéries résistantes est variable pour chaque antibiotique et chaque espèce bactérienne. Conformément à plusieurs auteurs, les antibiotiques doivent traverser une épaisse couche constituée d'exopolysaccharides, d'ADN et de protéines afin de pouvoir atteindre leurs cibles. Ces antibiotiques pénètrent difficilement dans les biofilms des staphylocoques. Les staphylocoques ne sont pas tués par ces concentrations et sont alors amenés à établir des résistances. L'utilisation excessive et inadaptée des antibiotiques est la principale responsable de l'émergence des résistances **(Bali et djebasse, 2015)**.

La surveillance de la résistance des souches aux antibiotiques doit être continue et systématique, la coopération permanente entre cliniciens et microbiologistes est nécessaire pour un double objectif : thérapeutique et prophylactique **(Bali et djebasse, 2015)**.

La production de slime, par certaines bactéries, est considérée comme l'un des facteurs les plus importants qui favorisent l'adhérence bactérienne aux surfaces médicales, ce qui leur confère une protection vis à vis la phagocytose et l'action antimicrobienne des ATB. Ainsi, le slime permet aux bactéries de former des biofilms. En effet, la détection de production de slime peut être utilisée comme un bon indicateur pour déterminer le potentiel pathogénique des bactéries **(Chatane et Ziadi, 2017)**

#### **4 Etude de biofilm :**

##### **4.1 Détection de slime par les méthodes TCP, TM, et RCA :**

###### **4.1.1 Technique de plaque de Culture de Tissu (TCP) :**

Afin de quantifier les capacités de production de biofilms par les souches étudiées, l'essai de coloration au CV est souvent préféré en raison de sa simplicité et sa fiabilité. Cette méthode permet une culture et une quantification *in vitro* de biofilms bactériens.

Le CV est un colorant qui se fixe sur les polysaccharides du peptidoglycane et colore sans spécifier toutes les biomasses, toutes sortes de cellules vivantes ou mortes, aussi bien que la matrice (composée de substances polymériques extracellulaires) du biofilm bactérien.

## ***Résultats et discussion***

---

Ce colorant fait de ce test utile un moyen pour estimer la réponse global en mode biofilm d'un isolat. À travers cette méthode, une souche peut être classée comme ; non formatrice, faiblement formatrice, moyennement formatrice ou fortement formatrice de biofilm (**Chatane et Ziadi, 2017**).

La bactérie va initialement adhérer sur une surface de polystyrène (plaque à 96 puits), se multiplier et produire un biofilm bactérien. Le CV colore les structures polysaccharidiques des bactéries incluses dans le biofilm et des bactéries sous forme planctonique. Un lavage à l'eau distillée permet d'éliminer l'excès de colorant ainsi que les bactéries planctoniques. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de biofilm produite. Une mesure de la DO permet d'avoir une approche quantitative sur la capacité d'une bactérie à produire un biofilm (**Vieu, 2014**).

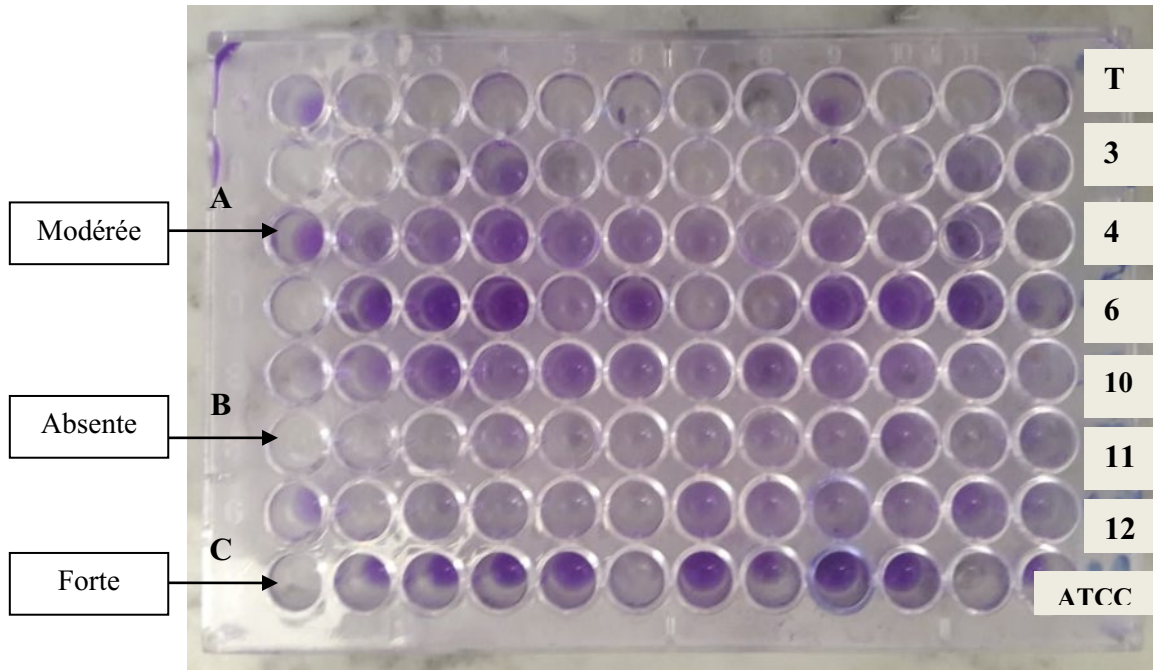
Les résultats obtenus, ont permis de mettre en évidence la capacité de certaines souches de SCN isolées à former des biofilms en microplaque (**Tableau 23**).

Les souches (***S. aureus* ATCC 33862, et N° 6**) sont caractérisées par une forte production de biofilm suivie par une production moyenne par les souches (**4 et 10**) et enfin une production faible voire absente par le reste des isolats (**Figure 97**).

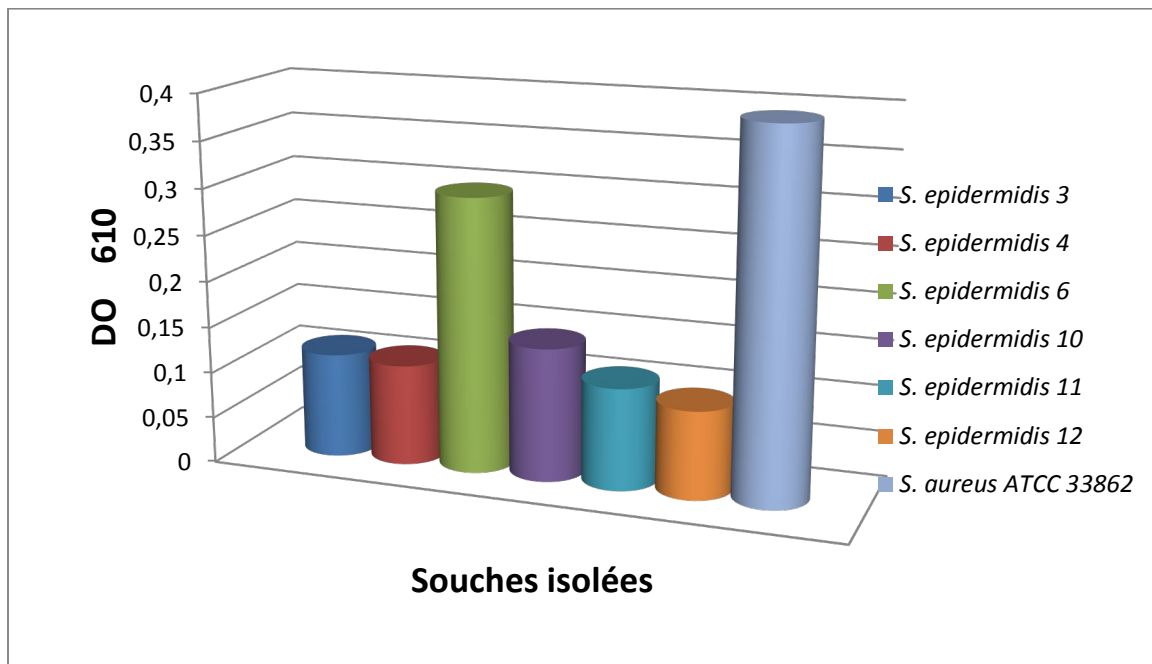
Les valeurs des densités optiques (DO) obtenues par le lecteur d'absorbance pour microplaques ont été converties en histogramme sur Excel (**Figure 98**). La valeur moyenne des puits de control (sans Biofilm) est égale à 0.120

D'après l'analyse des histogrammes par comparaison des différentes valeurs, la densité optique de la souche *S. aureus* ATCC 33862 était plus élevée que celle des autres souches cliniques de SCN isolées, ce qui traduit sa capacité à former un biofilm. En outre, sur les 6 isolats de SCN, la DO de la souche *S. epidermidis* N°6 est 4 fois plus élevée que la DO du témoin ( $DO_t \times 4$  d DO) ce qui la classe comme fortement formatrice de biofilm.

Celle-ci provenait d'une sonde urinaire placée plus de 7 jours chez une femme hospitalisée dans le service de neurologie qui a une myélite (Inflammation aiguë de la moelle épinière), cela nous confirme que le temps de sondage chez des patients hospitalisés pouvant provoquer une **IAS** (infection nosocomiale associées aux soins) comme il joue un rôle majeur dans l'installation de biofilm.



**Figure 97 :** Détection du biofilm par la méthode TCP :A- Modérée, B- absente, C- Forte.



**Figure 98 :** Résultats de la quantification de la formation de biofilm *in vitro* par les souches de SCN isolées à partir de différents biomatériaux implantés.

#### 4.1.2 Méthode en tubes TM :

La méthode en tubes (TM) semble facile à réaliser mais la lecture des résultats peut-être difficile, car plusieurs auteurs stipulent que la formation du biofilm est considérée comme positive quand un film visible recouvre la paroi et le bas du tube.

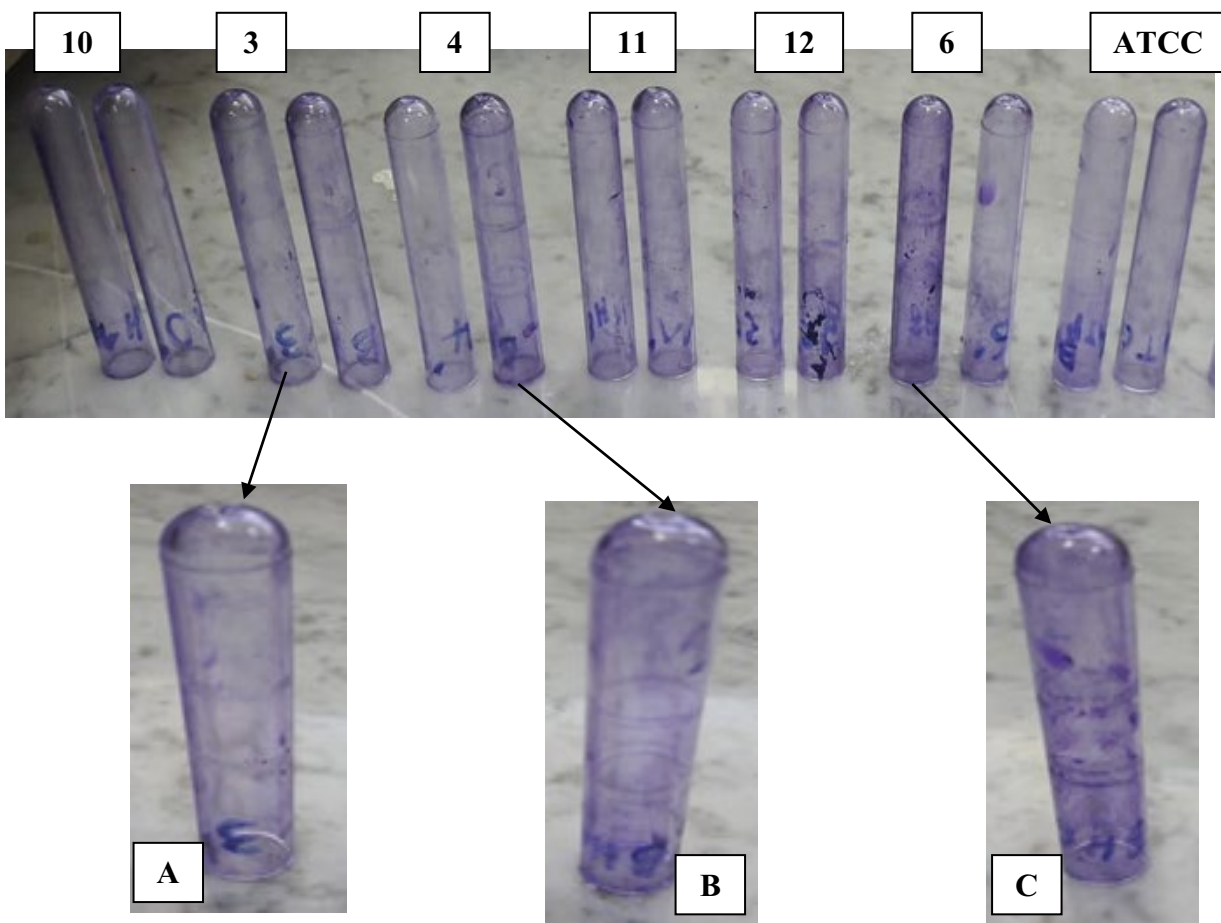
## Résultats et discussion

Alors que d'autres considère que la formation d'un anneau à l'interface liquide n'est pas indicative de la formation du biofilm (**Bentiba et Bentiba, 2017**).

Les résultats obtenus indiquent que 57.14 % des souches présentées dans cette étude ont été formatrices du biofilm et que 42.86% de ces souches ne le sont pas (**Figure 99**).

Dans notre étude, la technique en tube présentait une bonne corrélation avec la technique TCP pour les souches fortement productrices de biofilm. Par conséquent, il était difficile de différencier entre les souches faiblement et non productrices de biofilm (**Tableau 23**).

**Bali et Djebas., (2015)** ont indiqué que sur 31 souches de Staphylocoques isolées de différents DM à l'hôpital d'EL Oued – Ouargla, dont 24 souches sont (SCN), un pourcentage de 77.41% des souches sont responsables des ILDM (cathéters et sondes urinaires) sous des conditions optimisées ont été productrice de Slime contre 22.58% des souches produisent le biofilm par la méthode de TM.



**Figure 99** : Détection du Slime par la méthode de culture en tubes TM  
A- Non adhérente. B- Faiblement adhérente. C – fortement adhérente.

### 4.1.3 Evaluation de la formation de biofilm par la méthode RCA :

Cette méthode qualitative se base sur le caractère phénotypique des souches ensemencées sur milieu Rouge Congo. Les résultats obtenus nous ont permis de constater que les 6 souches de SCN n'étaient pas susceptibles de produire un slime et montre un phénotype négatif dans le milieu (**Figure 100**) (**Tableau 23**).



**Figure 100:** Culture de *S. epidermidis* sur gélose Rouge Congo.

### 4.2 Corrélation entre les trois méthodes :

D'après nos résultats la méthode TCP semble être plus efficace que la méthode de Rouge Congo. **Hassan et al. (2011)** estiment que la méthode TCP est une méthode de criblage la plus fiable, sensible et reproductible pour la détection de la formation du biofilm.

Globalement et d'après les résultats phénotypiques obtenus (**tableau 23**), on conclue que la détection du biofilm par les méthodes TM et TCP semblent plus fiables à celle du rouge Congo. Ces observations sont similaires à celles rapportés par **Mathur et al. (2006)**, qui ont démontré que le test en microplaque a été très satisfaisant en termes de détection de phénotype biofilm-positif et à celles d'**Oli et al. (2012)**, qui ont montré que cette technique est la plus fiable pour la détection de la formation de biofilm chez des souches cliniques.

D'ailleurs, les travaux de **Taj et al. (2012)** ont décelé que le dépistage par la technique RCA n'est pas recommandé pour l'étude de la formation de biofilm et l'étude de **Poliana de castro melo et al. (2013)** a montré que la méthode RCA devrait être utilisée comme un test complémentaire à la méthode de microplaque (**Chatane et Ziadi, 2017**).

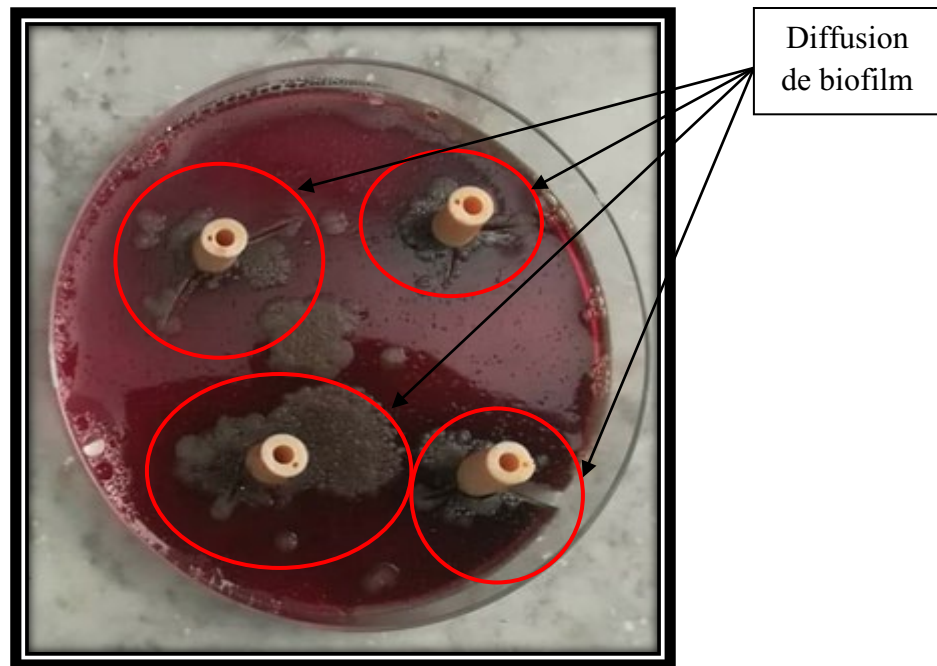
## Résultats et discussion

**Tableau 23** : Dépistage des souches testés pour la détection de la formation de biofilm par les trois méthodes TCP, TM et RCA

Technique	Nombre des souches		
	Absence	Modérée	Fort
TCP	3	2	1
TM	3	2	1
RCA	6	0	0

### 4.3 Quantification visuelle d'un biofilm par diffusion sur gélose au sang :

Le teste de gélose au sang à donné des résultats positifs pour toutes les sondes urinaires dont on observe une bonne diffusion de biofilm au bout de 48 heures. Donc nos souches ont la capacité d'adhérer sur la surface des sondes urinaires (**Figure 101**). Selon la technique décrite par **Djeribi et al. (2012)**, le détachement et la diffusion du biofilm formé à l'intérieur de la sonde urinaire est détecté sur gélose au sang (**Boukhelifa, 2017**).



**Figure 101** : Diffusion de biofilm sur gélose au sang.

## *Conclusion*

---

### **Conclusion générale et perspectives :**

A la fin de ce travail, nous pouvons dire que les infections nosocomiales ont un impact majeur sur la santé publique. La morbidité et la mortalité associée au développement de ces infections est importante, avec notamment l'augmentation de la durée d'hospitalisation.

Les services les plus touchés sont les unités de soins intensifs, en partie en raison de leur sévérité des pathologies des patients concernés, en partie parce que le taux de dispositifs médicaux utilisés est plus importants que dans le reste de l'hôpital.

L'utilisation des dispositifs médicaux est fréquemment associée au développement des infections nosocomiales qui sont causées majoritairement par les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) qui présentent souvent des profils de résistance aux antibiotiques et leur pouvoir d'adhérer sur les surfaces des implants médicaux.

Ce travail nous a permis de montrer que sur 12 dispositifs médicaux (Sondes vésicales, sondes d'intubations oro-trachéales, cathéter périphériques, pansement, et plaque en acier pour la fixation de l'os) récoltés dans les différents services de l'établissement public hospitalier – Chéguivara (Orthopédie homme, Urologie, **CCI** : Service de chirurgie infantile, neurologie, chirurgie homme, **ORL** : Oto-Rhino-Laryngologie, gastrologie, bloc opératoire) 8 implants étaient infectés.

L'analyse bactériologique de différents dispositifs médicaux a mis en évidence les infections nosocomiales associées aux biomatériaux, par des Staphylocoques dont les SCN représentent les germes les plus fréquemment isolés par rapport aux SCP.

L'identification biochimique par galerie classique des 8 souches Staphylococciques isolées montre la prédominance de *S. epidermidis*.

L'étude de profil d'antibiorésistance des souches des *S. epidermidis* isolées révèle une fréquence importante des souches multirésistantes à divers antibiotiques spécifiquement aux  $\beta$ -lactamines (oxacilline, céfoxitine). La vancomycine (VA) a montré des activités sur la totalité des espèces à SCN, cet antibiotique demeure la molécule de choix contre les infections Staphylococciques.

L'évaluation de formation de biofilm de nos isolats par les 2 techniques (TCP, TM) a révélé que la quasi-totalité des souches des SCN isolées des différents dispositifs médicaux ont le pouvoir d'adhérer sur ces derniers en formant des communautés sessiles. La technique RCA n'a pas montré une formation de biofilm chez toutes les souches de SCN testées.

L'adhésion de *S. epidermidis* aux surfaces serait un facteur non négligeable dans la résistance bactérienne aux antibiotiques ce qui rend très difficile et impossible de détruire les

## *Conclusion*

---

bactéries sous forme sessile. Cela pose de graves problèmes de santé publique puisque les traitements systémiques de routine des patients atteints une infection nosocomiale sur un dispositif médicale se révèlent le plus souvent inefficaces.

Dans l'attente d'un progrès dans la lutte contre les biofilms, leurs maitrises passe actuellement par la prévention des infections sur dispositif médical qui reposent sur le respect de quelques principes fondamentaux ,des programmes de surveillance rigoureux devraient être proposés à notre EPH et à tous les établissements de soins, respecter les conditions d'asepsie recommandées pour la pose et pour la manipulation de ces dispositifs , et particulièrement la désinfection des mains par friction hydroalcoolique et la préparation cutanée du site d'insertion mais aussi la maitrise de la durée d'implantation du matériau qui influence le taux de formation de biofilm.

En perspectives de ce travail, il sera intéressant de pouvoir approfondir nos recherches sur les biofilms en appliquant des études *in vivo* et observer le biofilm par le microscope confocale à balayage afin de mieux comprendre le mécanisme par lequel se forme un biofilm, ainsi d'étudier les facteurs favorisant l'accrue de cette forme de vie, en mettant l'accent sur l'identification des gènes des SCN responsables de ces infections liées aux dispositifs médicaux (**ILD**M).

Les Stratégies actuelles visent à interrompre l'adhérence et l'accumulation des SCN et de garder ces bactéries dans la phase planctonique la moins virulente, afin de restaurer l'efficacité des antibiotiques et réduire le risque d'infection autour de l'implant.

L'utilisation de vaccins pour prévenir l'infection aux Staphylocoques sur matériaux prothétiques est un domaine de recherche en évolution.

Il faut focaliser nos efforts aussi non seulement sur la lutte contre les biofilms mais aussi sur la recherche des matériaux plus résistants qui empêchent l'adhésion bactérienne en modifiant les propriétés physico-chimiques pour créer des surfaces antiadhésives, par l'incorporation des agents antimicrobiens dans des polymères constitutifs des dispositifs médicaux.

La multiplication de SCN sur les surfaces des biomatériaux implantables demeure un objet dont nous ne comprenons pas tous ces secrets. Ce travail n'est qu'une pierre à l'édifice qui aura contribué à fournir des outils pour mieux le percer.

## Références bibliographiques

- **AFISSA HS (2014)**, Etude de l'antibiorésistance des souches de Staphylocoques isolées à partir des dispositifs médicaux à l'hôpital de Mohamed Boudiaf. Mémoire du master. Université Kasdi Merbah. Ouargla (Algérie), 67 p.
- **AMARA I ; KHLDI Z (2015)**, Isolement, identification et étude de l'antibiorésistance des souches bactériennes isolées à partir de services de réanimation et d'hémodialyse de CHU Ouargla. mémoire du master. Université Kasdi Merbah. Ouargla (Algérie), 98 p.
- **AOUATI H (2009)**, Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Mémoire du master. Université Mentouri- Constantine (Algérie) , 123 p.
- **ARIOUA M (2007)**, Elaboration et caractérisation d'un substitut osseux poreux à base de verre bioactif. Thèse du doctorat. Université de Valenciennes. Lyon, 115 p.
- **ASHBY MF (2011)**, Matériaux et environnement, 6 p.
- **AUGER M (2012)**, Formation de biofilm in vitro par des souches cliniques d'*Escherichia coli* : impact de la modification des conditions expérimentales. Mémoire du master. Université de Nantes, 90 p.
- **AUORE V (2014)**, Adaptation de *Staphylococcus xylosus* à la matrice carnée, impact des composés nitrosés et utilisation des sources de fer. Thèse du doctorat. Université Blaise Pascal, Toulouse (France), 244 p.
- **AYOM P ; ANTOHONY H (2013)**, Staphylococci Gram positive Cocci- BMLS-FT-009.
- **BAKHOUM I ; NDEYE MS (2004)**, Contrôle de qualité et validation de différentes micro-méthodes d'identification bactérienne. Thèse du doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal en Afrique de l'Ouest, 119 p.
- **BAKINI B ; NIGRI M (2014)**, Synthèse bibliographique sur les infections des dispositifs médicaux en milieu hospitalier. Rapport du stage. Université Kasdi Merbah. Ouargla (Algérie), 64 p.
- **BALI T ; DJEBBAS A (2015)**, Résistance aux antibiotiques des Staphylocoques formant un biofilm sur les implants médicaux. Mémoire du master. Université Kasdi Merbah. Ouargla (Algérie), 75 p.

- **BAUER T (2016)**, Nouveaux ciments acryliques inhibiteurs de l'adhérence bactérienne-Biomatériaux, Thèse du doctorat. Université Sorbonne. Paris (France), 87 p.
- **BAZIN L (2010)**, Initiation aux biomatériaux. Cours IFIPS Biomatériaux. Université Paris Sud, Bât 510 91405 Orsay Cedex (France), 89 p.
- **BELILITA K (2012)**, Caractérisation optique des biomatériaux soumis à la Fatigue. Mémoire du master. Université Ferhat Abbas. Sétif (Algérie), 67 p.
- **BEN JABER M (2010)**, Biomateriaux pour la conception de prothèse-Biomaterials for prothesis design, 106 p.
- **BENMAHDI L (2017)**, Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique : bactériologie et biofilm. Thèse de doctorat. Université Ahmed ben bella. Oran (Algérie) ,180 p.
- **BENTIBA K ; BENTIBA L, (2017)**, Evaluation de la capacité des souches de *Staphylococcus spp* à former des biofilms dans l'industrie laitière. Mémoire du Master. Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana (Algérie), 72 p.
- **BERGON L (2016)**, *S. capitis*, *S. caprae* et *S. lugdunensis* : rôle dans les infections ostéo-articulaires et impact du biofilm sur la sensibilité aux antibiotiques, Thèse du doctorat, Université de Paul Sabatier. Toulouse (France), 93 p.
- **BEZZAR N (2014)**, Caractérisation génétique par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) des souches de *Staphylococcus aureus* d'origine hospitalière. Mémoire du master. Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen (Algérie), 63 p.
- **BEZOUÏ M (2016)**, Biofilms bactériens et leur Implication en pathologie humaine, Thèse du doctorat, Université Mohammed v-rabat, 170 p.
- **BISOGNANO C (2000)**, Impact de la résistance antibiotique et des fluoroquinolones sur l'adhérence à la fibronectine de *Staphylococcus aureus* : étude fonctionnelle et mécanismes moléculaires. Thèse du doctorat. Université de Genève, 110 p.
- **BOUKHELIFA H (2017)**, Formation de biofilm in vitro par des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* isolées de sondes urinaires. Mémoire du master. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen (Algérie), 64 p.
- **BUKHARI M (2004)**, *Staphylococcus epidermidis*.
- **CHALVET A (2009)**, Les biofilms et la peau. Thèse du doctorat. Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. Paris (France) 160 p.

- **CHATANE I ; ZIADI C (2017)**, Analyse phénotypique et quantification de la formation de biofilm par les bactéries d'intérêt médical. Mémoire du master. Université des Frères Mentouri. Constantine (Algérie), 100 p.
- **CHIBI A (2015)**, Evaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* isolées de CHU Tlemcen. Mémoire du master. Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen (Algérie), 79 p.
- **Corbiere S (2006)**, les staphylocoques à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons, Thèse de doctorat, Université de Blaise Pascal. Clermont-Ferrand, 144p.
- **CURIE M (2003)**, Staphylocoques *In* Bactériologie- P 29-36.
- **DAOUADJI DS (2010)**, Détection de biofilm a staphylocoques sur cathéters veineux, Mémoire du master. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen (Algérie) ,99 p.
- **DAVID L ; JEAN MG (2012)** , Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale ? *Infections associées aux biofilms*. Vol: 28 (8-9), p 727-739.
- **DECOSTER A (2005)**, FLM, Staphylocoques, 6 p.
- **DIETRICH M ; ANGHARAD PD ; LLINOS GH ; JEEVES R ; PASCOE B ; JOHANNES KM ; KNOBLOCH ; HOLGER R ; THOMAS S ; DIETRICH WM, (2013)** - *Staphylococcus epidermidis In* biomaterial associated infections : Immunological and Antimicrobial Strategies, P 25-56.
- **DORDET E ; FRISONI (2007)**, *Staphylococcus xylosus* : cartographie du génome et diversité génétique. Biochimie, Biologie Moléculaire. Université Blaise Pascal - Clermont-Ferrand II; Université d'Auvergne - Clermont-Ferrand I.P 251.
- **DUFOUR S ; SCHOLL D ; DOHOO I ; BAILLARGEON J, (2009)**, Infections à SCN : Problème mineur pour vos vaches, mais majeur pour votre troupeau, Journal canadien de recherche sur la mammite bovine, P 30-32.
- **FABRICE C ; DIJOS M (2014)**, Endocardite infectieuse, Revue, Vol 64.
- **FLORENCE B J (2014)**, Identification et caractérisation des exopolymères de biofilms de bactéries marines. P 3.
- **FRANCIS M (1997)**, Développement de tests de diagnostic basés sur l'ADN pour l'identification de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus epidermidis* associés aux infections chez l'humain. Mémoire du master. Université Laval. Québec, 120 p.

- **GERDEMANN SJ (2001)**, Titanium Process Technologies, in Advanced Materials and processes, volume 159, issue 7, Material Park, Ohio (United States): American Society, 122 p.
- **GUIBERT M ; BOITHIAS C (1999)**, Les infections nosocomiales néonatales Médecine thérapeutique- Pédiatrie Vol 2, N° 2, P 95-103.
- **HAMTAT N ; MORGHANI R (2017)**, La prévalence de *Staphylococcuse aureus* et *Escherichia coli* multi-résistantes isolées de lait cru. Mémoire du master. Université Abdelrahmane Mir – Bejaia (Algérie), 56 p.
- **HEILMANN C ; PETERS G (2014)**, Biologie et pathogénicité de *Staphylococcus epidermidis*-Agents pathogènes Gram-positifs Presse ASM Washington, P 560-571.
- **HELWO RM ; EMBIL JM (2007)**, What to do with Coagulase- Negative Staphylococci. The Canadian journal of CEM, p19-20.
- **HERARD A ; BRASME L ; JAUSSAUD R ; COLIN J ; VERNET-GARNIER V ET LARDENNOIS B, (1998)**, Place actuelle des staphylocoques à coagulase négative en urologie. Progrès en Urologie. Vol: 8(6): P 579-585.
- **HUBERT M (2011)**, Modélisation de la transformation de biomatériaux par un modèle de percolation. Thèse du doctorat. Université Blaise Pascal, Paris (France), 99 p.
- **IRLINGER F (2008)**, Safety assessment of dairy microorganisms: coagulase-negative Staphylococci. International Journal of Food Microbiology. Vol: 126(3) p 302-310.
- **JAMAL D (2015)**, Influence de stress environnementaux sur les propriétés physicochimiques de jeunes biofilms en cours de formation : Etude par spectroscopies vibrationnelles infrarouge-Raman et de force AFM. P 30.
- **KAF NEMER NH ; HAMMOUMI S (2017)**, Evaluation de la contamination bactérienne et formation de biofilm sur endoscopes digestifs EPH Maghnia et Ghazaouet. Mémoire du Master. Université Abou Bekr Belkaid –Tlemcen (Algérie), 90p.
- **KARA TERKI I (2014)**, Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au

CHU de Tlemcen, Thèse du doctorat, Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen (Algérie), 132 p.

- **KARL HS ; WESLEY EK, (1975)**, Isolation and Characterization of Staphylococci from Human Skin “*Amended Descriptions of S. epidermidis and S. saprophyticus and Descriptions of Three New Species: S. cohnii, S. haemolyticus, and S. xylosus. International journal of systematic bacteriology*” Vol 25(1) printed in USA. P 50-61.
- **KEMPPAINEN E ; TALJA M ; RIIHELA M ; POHJONEN T ; TORMALA P ; ALFTHAN O (1993)**, A bioresorbable urethral stent. An experimental study. *Urol Res.* Vol 3(21), 235p.
- **KLOSS WE ; LAMBE JR, (1981)**, *Staphylococcus* In Manual of clinical Microbiology, 4<sup>th</sup> edition P 222-235.
- **KONAN H ; SEBERA A ; KWIZERA E (2009)**, Réduction des infections nosocomiales par la stérilisation Projet d'intégration, Certification Professionnelle TSIBH, Université de Technologie de Compiègne UTC (France).
- **KRAVARIOTIS A (2018)**, Hardly diagnostics- what spice can break up Biofilm West McCoy Lane, Santa Maria.
- **LABIOD R (2016)**, Valorisation des huiles essentielles et des extraits de *Satureja calaminthanepeta* : activité antibactérienne, activité antioxydante et activité fongicide. Thèse du doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba (Algérie), 162 p.
- **LAISSANI N (2010)**, Influence du renforcement sur les propriétés mécaniques des matériaux dentaires. Mémoire du master. Université Ferhat Abbas. Setif (Algérie), 118 p.
- **LANNE S (2016)**, *Staphylococcus saccharolyticus* : à propos d'un cas d'infection de dispositif cardiaque implantable, enjeux de l'identification et pathogénicité d'un germe méconnu. Thèse du doctorat. Université de Rouen, Caen, 93 p.
- **LAYDI FZ (2013)**, Effet de la nature des biomatériaux sur la différenciation des cellules souches mésenchymateuses. Thèse du doctorat. Université de Lorraine. Paris (France), 152 p.
- **MANSOURI N (2009)**, Contribution à l'étude du comportement mécanique des prothèses dentaires totales. Mémoire du master. Université de Batna (Algérie), 122 p.

- **MENDES S (2005)**, Etude des variants métaboliques dans le genre *Staphylococcus*, caractérisation in vitro et étude prospective in vivo. Thèse du doctorat. Université de Nantes. Paris (France), 122 p.
- **MERIEMECHE L ; NADIR F (2016)**, Etude de la formation de biofilms associés aux plaies chroniques du pied diabétique. Mémoire du master. Université des Frères Mentouri Constantine (Algérie), 88 p.
- **MICHAEL AP ; LOREEN AH (1988)**, Laboratory, Clinical, and Epidemiological Aspects of Coagulase-Negative Staphylococci- *Clinical microbiology reviews*. Vol: 1 (3), p 281-299.
- **MOKADDEM A ; BOUTAOUS A (2015)**, Structures et Propriétés des Biomatériaux. Cours en ligne. Université des Sciences et de la Technologie Mohamed Boudiaf USTO-MB. Oran (Algérie), 28 p.
- **NILSSON L ; FLOCK P ; LINDBERG G (1998)**, Une protéine liant le fibrinogène de *Staphylococcus epidermidis* - *Infection and Immunity*. Vol : 66 (6), P 2666-2673.
- **OGARA JP ; HUMPHREYS H (2001)**, *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. *Journal of Medical Microbiology*. University of Ireland, Galway. Vol: 50 (9), P 582-587.
- **OTTO M (2009)**, *Staphylococcus epidermidis* - the accidental pathogen - *Nature Reviews Microbiology*. Vol: 7 (8), P 555–567.
- **PARIENTE JL ; BORDENAVE L ; CONORT P (2005)**, Biomatériaux, Biomatériels et Biocompatibilité. *Progrès en urologie*. Vol : 15, P 887-890.
- **PRIER JE ; BARTOLA E ; FRIEDMAN H (1973)**, *Quality Control In Microbiology*. University Park Press, Baltimore.
- **RABARIN F (2018)**, Les dispositifs médicaux, P 19.
- **RAHAL K (2011)**, Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (Médecine humaine et vétérinaire), 6<sup>ème</sup> édition -Tali-Maamar. H. avec la collaboration dd l'OMS - Institut Pasteur d'Algérie – Alger, 195 p.
- **SOREL S (2005)**, La biocompatibilité des dispositifs médicaux : définition, mécanismes et évaluations - Exemple la biocompatibilité des membranes de dialyse. Thèse de doctorat. Université de Nantes. Paris (France), 136 p.

- **TROUILLET S (2017)**, Physiopathologie des infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Mémoire du master. Ecole pratique des hautes études. Lyon (France), 31 p.
- **VANDECANDELAERE N (2012)**, Elaboration et caractérisation de biomatériaux osseux innovants à base d'apatites phosphocalciques dopées. Thèse du doctorat. Université de Toulouse (France), 400 p.
- **VERDIER I ; GERARD L ; YVES G ; VANDENESCH F (2015)**, Cour de Staphylocoques, Faculté de Médecine Laennec, Lyon, Service de Pédiatrie, Hôpital Edouard Herriot, Lyon.
- **Vieu G (2014)**, Diversité génétique des isolats de *Staphylococcus aureus* producteurs de toxine de Panton-Valentine isolés au CHU de Toulouse. Étude de 37 cas de patients à l'hôpital des enfants. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Toulouse (Paris) – Paul Sabatier. Faculté des sciences pharmaceutiques.
- **ZIAD Y ; HAYOUN K (2016)**, L'influence des propriétés physicochimiques sur l'adhésion bactérienne. Mémoire du master. Université des Frères Mentouri. Constantine (Algérie), 82 p.

**Ressources internet :**

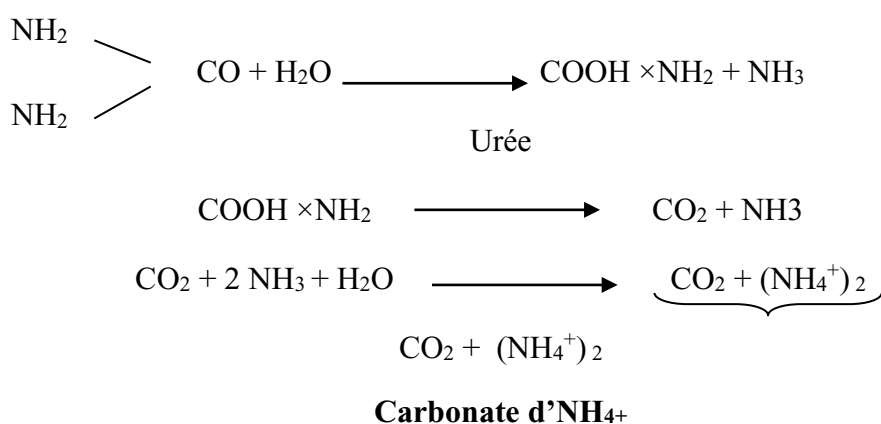
- <http://coproweb.free.fr/pagbac/bacgen1.htm#SOMMAIRE-> Bactériologie générale, 10/05/2019
- <http://www.scienceprofonline.com/microbiology/use-of-liquid-nutrient-broth-media-for-growing-bacteria-2.html> , date de consultation 12/02/2019.
- [https://ddd3650equipe10.weebly.com/classification.html-](https://ddd3650equipe10.weebly.com/classification.html) Les infections nosocomiales, date de consultation 25/02/2019.
- [https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/infections-nosocomiales,](https://www.inserm.fr/information-en-sante/dossiers-information/infections-nosocomiales) Infections nosocomiales, date de consultation 25/02/2019.

## Annexe 1

### « Principes de quelques tests biochimiques et métaboliques d'identification des Staphylocoques »

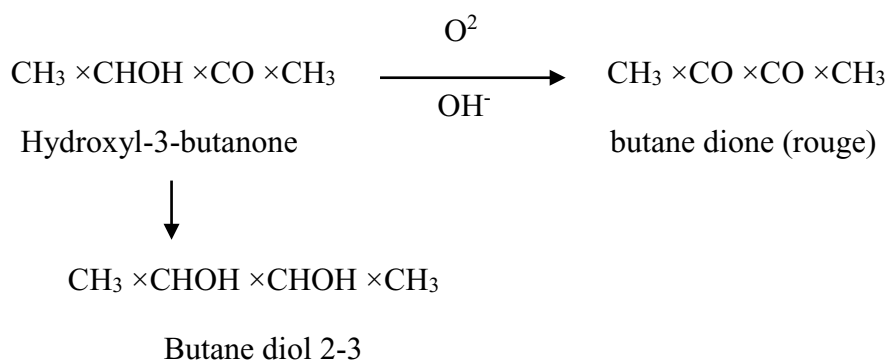
#### 1- Production d'uréase :

L'uréase est une enzyme inductible, sa recherche repose sur la libération d'ions ammonium qui alcalinisent le milieu, entraînant le virage du rouge de phénol du jaune au rouge cerise (**Bakhoum, et Ndeye, 2004**). Les réactions chimiques mises en jeu peuvent être décrites de la façon suivante (**Kloss et Lambe, 1981**).



#### 2- Production d'acétoïne :

L'**acétoïne** en langage courant, ou **hydroxy-3-butanone** ou encore dans la nomenclature ancienne **Acétyl-Méthyl-Carbinol (AMC)** : est un produit de dégradation du glucose au cours de la fermentation 2-3 butylène glycolique en passant par l'acétolactate et le diacétyl. Elle peut également être obtenue par condensation de deux molécules de pyruvate (**Bakhoum, et Ndeye, 2004**). La réaction chimique mises en jeu peut être décrite de la façon suivante (**Kloss et Lambe, 1981**):



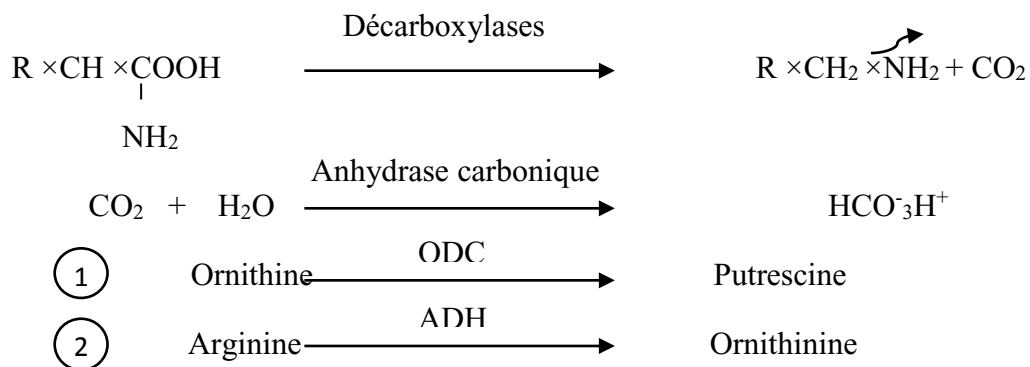
Cette technique, la mise en évidence de l'acétoïne est certes effective, celle de l'alcool et de la di-acétoïne correspondante est réelle et non négligeable.

Il existe entre autres, la méthode conventionnelle de (VP) Voges-Proskauer miniaturisée ou non, incorporée aux méthodes biochimiques d'identification des staphylocoques du commerce (Kloss et Lambe, 1981):

### 3- Production de décarboxylases :

Les décarboxylases sont des enzymes qui sont actives à pH acide ; le milieu d'étude sera donc acidifié par la fermentation du glucose puis réalcalinisé par l'action des décarboxylases sur le substrat qui est un acide aminé.

Les décarboxylases scindent les acides aminés avec formation de l'amine correspondante et libération de dioxyde de carbone selon la réaction suivante (Kloss et Lambe, 1981):



Ces enzymes sont dites induites et leur synthèse est favorisée par un pH acide allant de 3,5 à 5,5 et des conditions d'anaérobiose obtenues en recouvrant le puits d'huile de paraffine.

Leur caractérisation se fera par la mise en évidence de la modification du pH du milieu lié à la production d'amine qui l'alcalinise.

Les enzymes recherchées le plus souvent sont :

- l'ornithine décarboxylase (ODC)
- l'arginine dihydrolase (ADH)
- la lysine décarboxylase (LDC) (Kloss et Lambe, 1981):

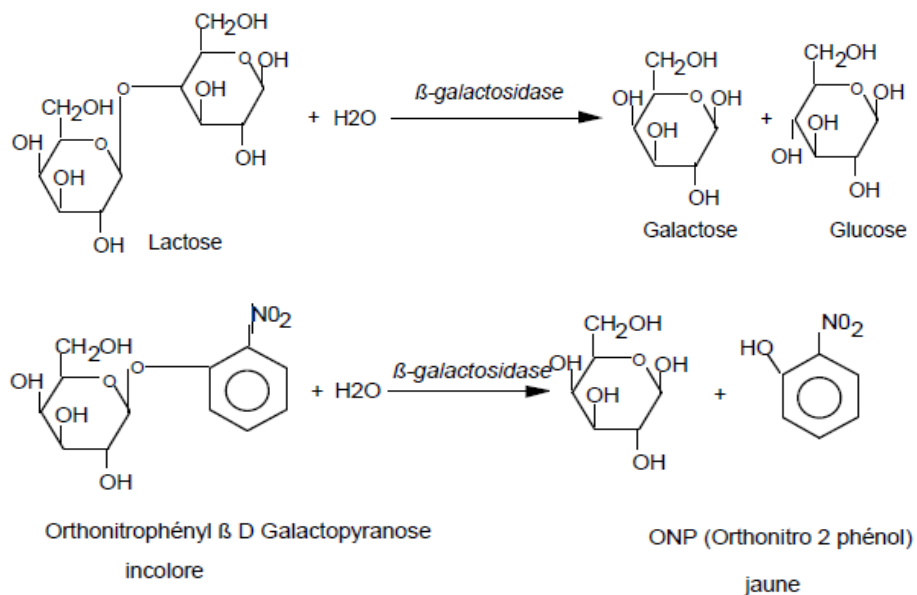
### 4- Production de la bêta-galactosidase :

La β-galactosidase est une enzyme bactérienne inductible, existant à un niveau de base dans le milieu intracellulaire, capable de scinder la molécule de lactose en sucres simples que sont le glucose et le galactose après avoir traversé la paroi cellulaire sous l'action de la bêta-galactosidase perméase (Bakhoum, et Ndeye, 2004).

Le terme **ONPG** hydrolase est plus à propos que celui de bêta galactosidase dans la mesure où il précise que le substrat utilisé est l'**ONPG** et non le lactose (**Bakhoum, et Ndeye, 2004**).

En effet, il existe des germes qui reconnaissent l'ONPG du côté du nitro-2-phénol et non de celui du bêta-galactoside. Ces germes ont donc une activité **ONPG** hydrolase tout en ne fermentant pas le lactose (**Bakhoum, et Ndeye, 2004**).

Le test à l'**ONPG** est une technique relativement simple, basée sur l'action directe de l'enzyme sur une molécule chromogène pouvant être l'orthonitrophényl- bêta-D-galactopyranoside, ou le 2-naphtol-bêta-Dgalactopyranoside. Ceux-ci sont utilisés comme substrats et libèrent respectivement l'orthnitrophénol jaune et le bêta-naphtol qui se combine au sel de Fast blue B en solution dans le 2-méthoxyéthanol pour donner une coloration rouge pourpre (**Bakhoum, et Ndeye, 2004**). Les réactions chimiques mises en jeu peuvent être décrites de la façon suivante (**Kloss et Lambe, 1981**):

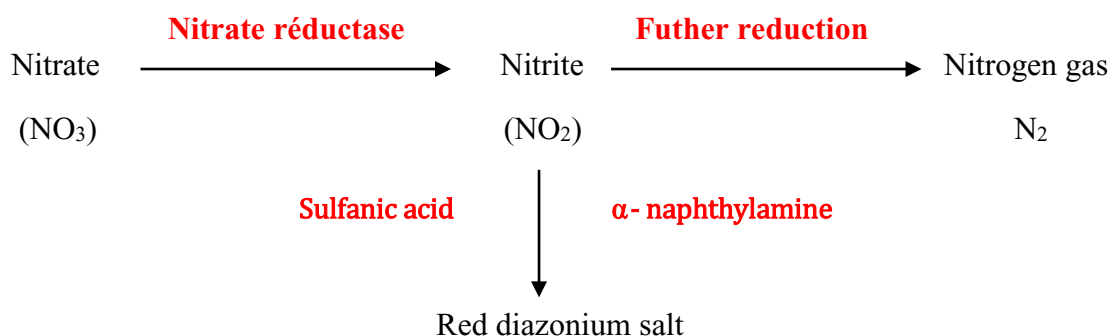


## 5- Réduction des Nitrates

La réduction des nitrates et des nitrites constitue un des caractères taxonomiques importants chez les staphylocoques lors de leur identification.

Ce test permet d'étudier la réaction de réduction des nitrates en nitrites sous l'action du nitrate réductase de type B (NRB) produite par certains staphylocoques.

La réaction sera mise en évidence par l'addition d'acide sulfanilique et d'alpha-naphtylamide qui révèlent la présence de l'ammoniaque libéré (**Kloss et Lambe, 1981**):



### 6- Utilisation des hydrates de carbone

Les glucides sont utilisés de 3 manières différentes par les staphylocoques : soit après conversion par l'action d'isomérases, soit après hydrolyse en sucres simples, ou directement s'ils sont fournis sous une forme simple (glucose, fructose)

L'assimilation étudiée surtout par la voie fermentaire mais également par la voie oxydative se traduit presque toujours par l'accumulation de dérivés acides quelle que soit la voie de dégradation. Ces acides sont responsables d'une variation de pH détectée par le virage de la coloration du milieu grâce à un indicateur coloré qui peut être le bromocrésol poupre (BCP), le rouge de phénol (RP) (Kloss et Lambe, 1981).

### 7- Sensibilité à la lysostaphine et au lysozyme :

La lysostaphine est constituée d'un ensemble de 3 enzymes dont la principale est une endopeptidase qui coupe spécifiquement les ponts pentapeptides du peptidoglycane.

Le lysozyme est une enzyme qui clive les chaînes polysaccharidiques du peptidoglycane.

La réaction se fait à l'aide de disques chargés de 100 $\mu\text{g}$  de lysostaphine et 50 $\mu\text{g}$  de lysozyme déposés sur des boîtes de Pétri pour antibiogramme (gelose MH) ou dans des tubes contenant 2 ml de tampon phosphate avec un témoin.

C'est une réaction peu stable car le résultat varie en fonction de la richesse en glycane du point interpeptidique (Kloss et Lambe, 1981).

### 8- Test à l'oxydase et test à la benzidine :

Ils permettent de détecter les cytochromes chez les staphylocoques, la réaction repose sur le virage du DMSO (diméthyl sulfoxyde) au bleu en présence de cytochrome. Cependant la réaction à la benzidine se fait après extraction par défécation à l'aide de l'acide trichloroacétique (Kloss et Lambe, 1981).

#### 9- Test à la nitrofurantoïne :

Réalisé par la méthode de diffusion en gélose à l'aide de disque chargé de 300 $\mu$ g de nitrofurantoïne sur la gélose Mueller-Hinton (MH), il consiste à la recherche d'une sensibilité (15 mm) des staphylocoques à ce composé (**Kloss et Lambe, 1981**).

#### 10- Test à la bacitracine :

Il consiste à la recherche d'une résistance des staphylocoques à l'aide d'un disque chargé à 0,02 UI de bacitracine par la méthode de diffusion en gélose (10 - 25 mm) (**Kloss et Lambe, 1981**).

#### 11- Test au composé vibriostatique :

Les staphylocoques résistent à ce composé, c'est le 2,4 diamino 6,7 di-isopropylpteridine concentré à 0,5 mg par disque (**Kloss et Lambe, 1981**).

#### 12- Sensibilité à la Polymyxine B (300 unités) :

Le test se fait par la méthode de diffusion en gélose Trypticase Soja Agar additionnée de sang à 5%. Après une incubation de 24 heures à 35°C (**Kloss et Lambe, 1981**).

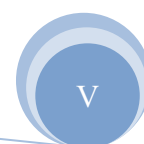
#### 13- Activité phosphatasique :

La détection de la phosphatase alcaline se fait par l'utilisation d'un substrat chromogène tel que la **phénolphthaleïne diphosphate** ou le **nitrophénol** qui sont susceptibles de libérer les composés colorés correspondants après action de l'enzyme (**Kloss et Lambe, 1981**).

#### 14- Recherche de la pyrrolidonylarylamidase :

Selon le même principe qui régit la détermination d'une activité enzymatique, le substrat utilisé pour la recherche de la pyrrolidonase est le pyrrolydonyl  $\beta$ -naphtylamide qui sera scindé en  $\alpha$ -pyrrolidone et  $\beta$ naphtylamine qui se combine au P-dimethyl aminocinnamaldehyde (réactif PYR de Carr-Scarborough).

Cette réaction initialement prévue pour la recherche des streptocoques du groupe A nécessite quelques modifications pour être adaptée à l'identification des staphylocoques : quelques colonies d'une culture sur gélose de 24 heures sont ensemencées dans un bouillon contenant 0,01% du réactif PYR à une turbidité équivalente à l'étalon 1 de MacFarland. Après 2 heures à 35°C, le réactif PYR ajouté au milieu sans agitation entraîne un virage du milieu au rouge-violet en 2 minutes si la réaction est positive (**Kloss et Lambe, 1981**).



**Tableau 24** : Principaux tests réalisés sur le genre *Staphylococcus* (Mendes, 2005).

Test	<i>Staphylococcus</i>
Fermentation du glucose	+ (-)*
Croissance en anaérobiose (thioglycolate)	+(-)*
Acidification du glycérol	+(-)
Lysostaphine (disque 100 µg)	S (R)
Lysozyme (disque 50 µg)	R
Oxydase (cytochrome C)	-(+) <sup>b</sup>
Nitrofurantoïne (disque 300 µg)	S (Å15mm)
Bacitracine (disque 00.2 UI)	R
Composé O/129 (disque 0.5 mg)	R (6-10 mm)

\* ( ) : Souches présentant un caractère différent.

**b** : *S. sciuri*, *S. lentus*, *S. caseolyticus*.

## Annexe 2

**Tableau 25** : Exemples de stratégies préventives et thérapeutiques pour le traitement d'infections sur implants dues aux Staphylocoques (**Bauer, 2016**).

Therapeutic/Prophylactic Strategy	Mode of action
<b>Immunisation</b>	
PNAG/PIA	Target polysaccharide mediated biofilm
rCifA/rCLFB	Stimulates antibody production to the surface protein, clumping factor A and B
rlsfB	Vaccine versus conserved iron-sequestering protein in Staphylococci
Cna-FnBp	Fusion of fnb and cna create recombinant protein to prevent Staphylococcal biofilm adhesion
SecC	Recombinant vaccine to surface exposed protein C in <i>S.epidermidis</i>
<b>Attachement</b>	
Charge modification	Hydrophylic negatively charged surfaces repel bacteria and prevent attachment
Metals e.g. silver, copper	Prevent bacterial adhesion
Hydrophilic polysaccharides/ resins	Bind to biomaterial to create hydrophilic coating preventing attachment
<b>Enzymatic disruption</b>	
Lysostaphin	Cleaves cross linking pentaglycine, causing cell lysis
Dispersin B	Glycoside hydrolase enzyme, degrades PIA/ PNAG
DNase I	Degrades cell surface- associated nucleic acids directly or indirectly
V8	Scrine protease which cleave peptide bonds, such as Glutamic acid, to disupt protein mediated biofilm
<b>Photodynamic treatment</b>	
TBO	Generation of free radicals and cytotoxic reactive oxygen species
Chlorine (c6)	Generation of free radicals and cytotoic reactive oxygen species
<b>Antiseptics</b>	

<b>N-acetyl-LCysteine (NAC)</b>	Disrupts disulfide bonds and inhibits amino acid utilization
<b>Ethanol</b>	Membrane disruption and protein denaturation
<b>chlorohexidine</b>	Destabilizes the bacterial cell wall and targets bacterial cytoplasm
<b>Chelators</b>	
<b>Apo- transferrin</b>	Inhibits Staphylococcal biofilm attachment to surfaces
<b>EDTA</b>	Chelator of metal ions with high affinity for magnesium
<b>EGTA</b>	Chelator of metal ions with affinity for calcium
<b>PGG</b>	Chelates iron and enhances expression of iron-regulated genes
<b>Quorum sensing targets</b>	
<b>AIP</b>	Induces activation of agr system with increased levels of proteases and PSMs
<b>PSMs</b>	Surfactant properties to disrupt Staphylococcal biofilm
<b>Small molecules/sortase inhibitors</b>	
<b>C2DA</b>	Chemical messenger which signals prevention and dispersion of biofilm
<b>diarylacrylonitriles</b>	Sortase inhibitor, inhibition of Staphylococcal biofilm formation
<b>Aryl ethyl ketones</b>	Sortase inhibitor, inhibition of Staphylococcal biofilm formation
<b>Vinyl sulfones</b>	Inhibition of sortase A mediated linkage of fibronectin to the cell surface

## Annexe 3

### « Présentation des lieux de travail »

#### 1 Université Abdelhamid Ibn Badis :

##### 1.1 Définition :

L'université de Mostaganem ou université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem (arabe : ) est une université située à Mostaganem en Algérie, fondée en **1978** (ex-Institut de technologie agricole, ITA **1970**). L'université compte **10** sites universitaires répartis à travers la ville de Mostaganem.

Elle est classée par le *U.S. News & World Report* au 115<sup>e</sup> rang du classement régional **2016** des universités arabes.



**Figure 102** : Vue de la face de l'université Abdelhamid Ibn Badis.

##### 1.2 Historique:

- ✓ En **1969**, Création de l'Institut de technologie agricole (I.T.A. de Mostaganem) qui formait des Ingénieurs en agronomie appliquée, sous le nom de Hadj benabdellah Benzaza.
- ✓ En **1978**, Création du Centre universitaire, qui a ouvert ses portes avec des formations supérieures en sciences exactes, biologie, en tronc commun de sciences médicales.



## 2 Hôpital de chéguévara :

### 2.1 Historique

La ville de **Mostaganem** a hérité du temps de la colonisation d'un hôpital qui a été baptisé, en 1965, «Ernesto Che Guevara» dans le cadre de la coopération médicale algéro-cubaine qui a pris fin en 1984.



**Figure 104 :** Vue de la face de l'établissement public hospitalier -Chéguévara- Mostaganem.

### 2.2 Statut juridique de l'HPD

Arrêté n°2770 du 06 Février portant création des services et de leurs unités constitutives au sein de l'EPH de Mostaganem.

### 2.3 Mission de l'hôpital

L'Hôpital Principal de Mostaganem assure un rôle de référence, de formation des personnels et de soutien au patient de la wilaya. Outre les missions générales d'un établissement hospitalier, l'hôpital principal de Mostaganem possède une vocation régionale dans les domaines de la formation, de la recherche, de l'expertise et du traitement des maladies tropicales.

### 2.4 Les différents services de l'hôpital :

Hôpital de type pavillonnaire dispose de 5 blocs cliniques et médico-techniques qui réalisent des activités d'hospitalisation, des activités de consultations et des actes techniques médico-chirurgicaux , chaque blocs comporte différents services :



Figure 105: Les différents blocs de l'hôpital de Chéguivara.

### 3 Laboratoire d'hygiène de la wilaya de Mostaganem :

#### 3.1 Site géographique:

Le laboratoire d'hygiène de la wilaya de Mostaganem est situé à lala kheira à coté de l'UCTMC (ex DAT) et de la polyclinique, en face du cimetière chrétien.



Figure 106 : Vue de la face du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Mostaganem.

#### 3.2 Description générale :

Le laboratoire en lui même est constitué de deux parties séparé par un haule qui sert de salle d'attente des patients.

- L'aile droite c'est le coté administratif, où il ya une salle de réception, salle de réunion, le bureau de chef se service, et deux petits bureaux pour les secrétaires.
- L'autre aile serve du service technique, ce dernier est constitué de deux pavillons :

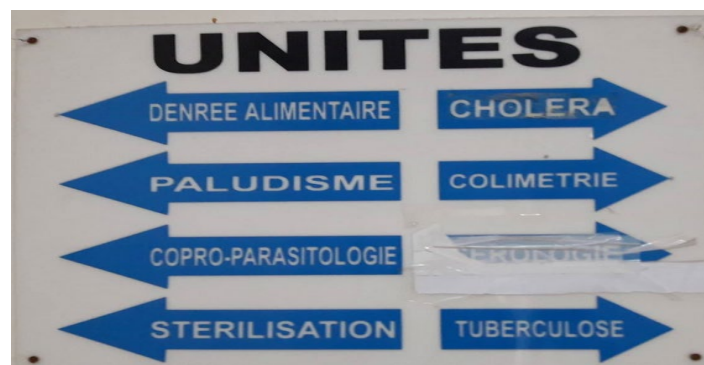


Figure 107 : Les services des deux pavillons du laboratoire.

Comme il ya 2 grandes salles de réserves, l'une des produits possédant un système réfrigérant. Et l'autre salle pour la verrerie et les produits chimiques.

## 4 Laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem (LVRM) :

### 4.1 Définition:

Le laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem (LVRM) comme les autres laboratoires vétérinaires de l'institut national de la médecine vétérinaire, il est implanté de façon à assurer un encadrement sanitaire adéquat et répondre aux demandes de diagnostic et d'analyse émanant aussi bien du secteur public et secteur privé.

### 4.2 Historique:

Il a été créé en Octobre 1976 au sein de la direction générale de l'ORAVIO, la quelle aussi s'est établie dans les locaux de l'hôpital vétérinaire de la wilaya de Mostaganem.



Figure 108 : Vue de la face du laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem.

Il comprend les wilayas de : **Tiaret, Tissemsilt, Mascara, Relizane, Chlef et Mostaganem** qui font partie de l'institut national de médecine vétérinaire.

Tableau 26 : Les laboratoires qui font partie de l'institut national de médecine vétérinaire.

Wilaya	Distance/ Iv	Mode d'acheminement
<b>Mostaganem</b>	—	Route
<b>Chlef</b>	150 Km	Route
<b>Relizane</b>	60 Km	Route
<b>Mascara</b>	80 Km	Route
<b>Tiaret</b>	150 Km	Route
<b>Tissemsilt</b>	200 Km	Route

### 4.3 Le plan architectural :

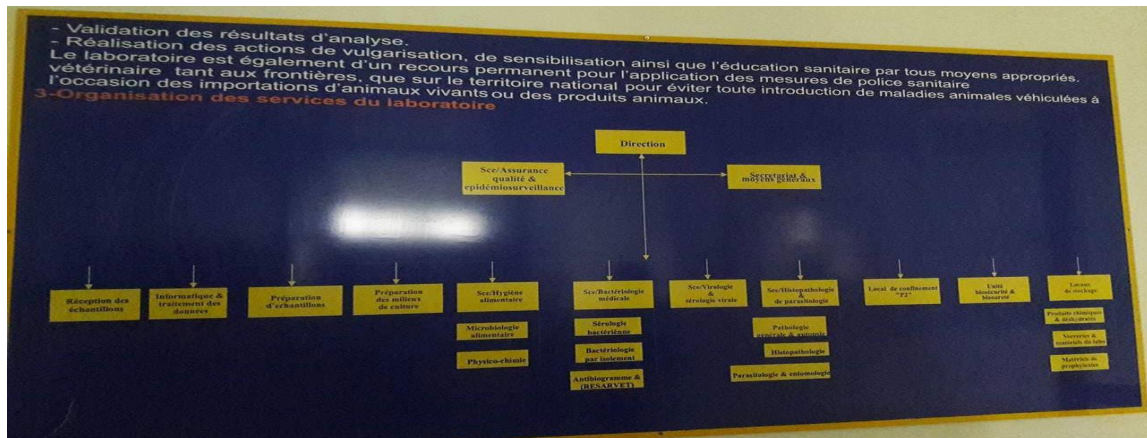


Figure 109 : Représentation schématique de l'organigramme structurel et fonctionnel du LVRM.

### 4.4 Les différents services de LVRM :

- Service réception des échantillons
- Service bactériologie médicale.
- Service hygiène alimentaire.
- Service sérologie bactérienne.
- Service de physico-chimie.
- Service d'autoclavage et préparation des milieux de culture (entrée).
- Service d'autoclavage et préparation des milieux de culture (sortie).
- Service virologie et sérologie virale.
- Service histopathologie et de parasitologie.

### 4.5 Les principales missions du LVRM:

- Aider les services vétérinaires, dans les domaines de la santé et le bien-être de l'animal et de l'hygiène publique vétérinaire.
- Effectuent des analyses d'hygiène et microbiologie alimentaire, virologiques, bactériologiques, sérologiques et virales, histologiques, physico-chimiques, parasitologiques...ect
- Assurer la vulgarisation dans le domaine de l'hygiène et de la santé animale.
- Participer à l'élaboration de la carte épidémiologique.
- Cordonner à la mise en place des mesures de prophylaxie sanitaire.
- Assurer de diagnostic vétérinaire para-chimique des maladies et des affections chez les animaux.

# Annexe 4

## « Fiches administratifs de l'hôpital Ché Guivara »

ETABLISSEMENT PUBLIC  
HOSPITALIER DE MOSTAGANEM

### Demande d'Hospitalisation

Service : ..... Spécialiste : .....

Nom du praticien ayant accorder l'hospitalisation : .....

Grade : .....

#### PATIENT

Nom : ..... Nom de jeune fille : .....

Prénom : ..... Age : .....

Nom de la salle : ..... N° de lit d'hospitalisation : .....

Heure d'hospitalisation : .....

#### MALADIE ORIENTE OU ADRESSE PAR

Nom et prénom du médecin : .....

Grade : .....

Secteur - Unité - Service : .....

#### GARDE MALADE

Nom et prénom du garde malade : .....

Type de pièce d'identité présente : .....

Signature,

Date et Visa du Patient

A ....., le ..... 20.....

Figure 110 : Demande d'hospitalisation.

**1 fiche = 1 patient avec au moins**

**Un cathéter maintenu plus de 48h**

**DONNEES ADMINISTRATIVES ET TERRAIN**

Nom (Les 3 premières lettres) |\_|\_|\_|

Prénom (Les 3 premières lettres) |\_|\_|\_|

Sexe ( |1| Masculin - |2| Féminin) |\_|

Age

Date d'admission dans le service de |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| jj/mm/aaaa

**EVOLUTION DANS LE SERVICE**

Patient décédé dans le service de réanimation ( |1| Oui - |2| Non) |\_|

Si oui, date de décès |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| jj/mm/aaaa

Date de sortie du service |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| jj/mm/aaaa

Date de fin de surveillance |\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_|\_| jj/mm/aaaa

(Si le patient est toujours dans le service en fin de surveillance)

**Figure 111 : Fiche patient.**



# Annexe 5

## « Matériel (Appareils- outils) »

Pour la réalisation de ce travail nous avons utilisé divers matériel :

### I- Appareils :

Bec bunsen - microscope optique - étuve - bain marie - pH mètre – vortex - agitateur + plaque chauffante - densitomètre - four pasteur - autoclave - balance de précision – distillateur - haute - réfrigérateur - éliza et son lecteur.

### II- Outils :

Micropipette de 150  $\mu$ m - embouts de 1 ml - pipette graduée - pipette pasteur - pro-pipette - tubes secs stériles - portoir - porte lames - flacons de 250 ml stériles - tubes à essais - fiole 1000 ml - erlenmeyer 500ml - bécher 1000 ml - porte verreries - eppendorfs - flacons de prélèvement - lames - boites de pétries - gant anti chaleur - gants en plastiques stériles - bac profond - corbeille métallique - pince en bois - pince métallique - seringue - ciseau - pissette - papier absorbant - spatule – aluminium - anse de platine - aimant magnétique - marqueur indélébile - baguette pour fermeture hermétique -briquet – blouse.

# Annexe 6

## « Milieux de culture »

### I- Les milieux de cultures liquides :

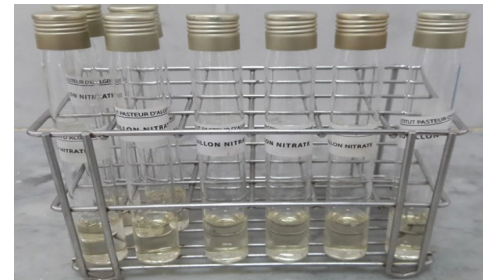
#### 1 Brain heart broth BHIB (pH =7.4) :

- Infusion de cervelle de veau.....12.5g
- Infusion de coeur de boeuf.....5.0g
- Peptone.....10.0g
- Glucose.....2.0g
- Chlorure de sodium.....2.0g
- Phosphatase di sodique.....5g



#### 2 Bouillon nitraté (BN) (pH 7.2) :

- Infusion cœur-cervelle.....25.0 g
- Nitrate de sodium.....10 g



#### 3 Bouillon Tryptone Soja (TSB) (pH 7.3) :

- Peptone (origine non-animale)..... 5g
- Glucose .....0.6g
- NaCl .....1.25g
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> .....0.6 g
- Eau distillée q.s.p.....250 ml



#### 4 Urée-indole (pH 7) :

- Urée.....2.0 g
- L-tryptophane.....0.3 g
- Chlorure de sodium.....0.5 g
- Di-hydrogénophosphate.....0.1
- Hydrogénophosphate de potassium.....0.1 g
- Rouge de phénol.....0.025 g



### 5 Milieu Clark et Lubs (CL) (pH 7.5) :

- Peptones.....5g
- Glucose.....5g
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.....5g
- Eau distillée q.s.p.....1L



### 6 Milieu de Milieu de Moeller LDC- ADH – ODC (pH 6.8) :

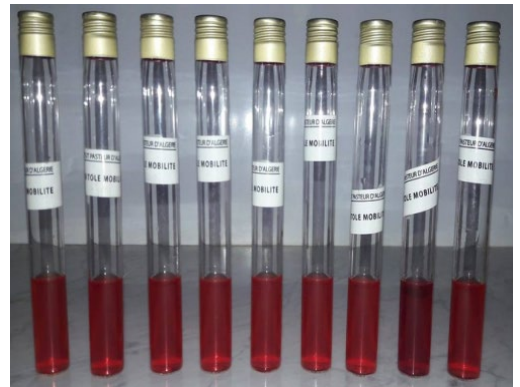
- Arginine ou Lysine ou Ornithine.....0.2 g
- Extraits de levure.....1.0 g
- Glucose en faible quantité.....1.0 g
- Pourpre de bromocrésol.....5.0 g
- NaCl.....2.0 g



## II- Les milieux de cultures semi-solides :

### 1 Milieu mannitol – mobilité (MM) (pH 7.6) :

- Peptone tryptique de viande.....10g
- Mannitol.....7.5g
- Nitrate de potassium.....1g
- Rouge de phénol..... 0.04g
- Agar .....4g



## III - Les milieux de cultures solides :

### 1 Milieu de Chapman (pH =7.6) :

- Extrait de viande (bovin ou porcin).....1g
- Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin)....10g
- Chlorure de sodium.....75g
- Mannitol.....10g
- Agar.....15g
- Rouge de phénol.....0,025g



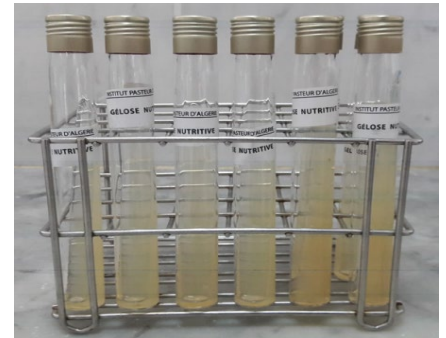
**2 Gélose nutritive (GN) (pH =7.3) :**

- Peptone.....10.0g
- Extrait de viande.....5g
- Chlorure de sodium.....5g
- Agar.....10.0g



**3 Gélose nutritive inclinée pour la conservation (pH =7.3) :**

- Peptone.....10.0g
- Extrait de viande.....5g
- Chlorure de sodium.....5g
- Agar.....10.0g



**4 Gélose Mueller-Hinton (MH) (pH =7.3) :**

- Infusion de viande de boeuf..... 300ml
- Peptone de caséine.....17.5g
- Amidon de maïs.....1.5g
- Agar.....10.0g



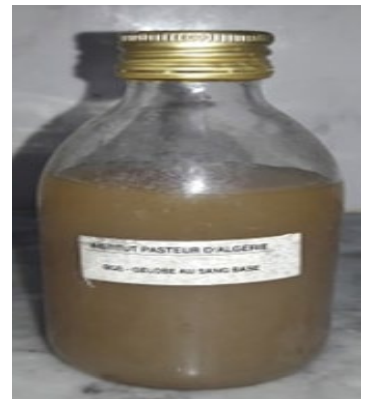
**5 Gélose au Sang (Milieu de base columbia + le sang) (pH=7.3) :**

- Mélange spécial de peptones.....23g
- Amidon.....1g
- NaCl.....5g
- Agar.....10g



**6 Gélose à ADN (pH =7.3) :**

- Tryptone .....20 g
- Acide désoxyribonucléique.....2 g
- Chlorure de Sodium.....5 g
- Agar.....15 g



### 7 Milieu TSI (Triple sugar iron) (pH =7.4) :

- Extrait de viande de bœuf.....3g
- Extrait de levure.....3g
- Peptone.....20g
- Chlorure de sodium.....5g
- Citrate ferrique.....0.3g
- Thiosulfate de sodium.....0.3g
- Lactose.....10g
- Glucose.....1g
- Saccharose.....10g
- Rouge de phenol.....0.05g
- Agar.....12g
- Eau distillée q.s.p.....1000 ml



### 8 Milieu citrate de simmons (pH = 7.1) :

- Sulfate de magnésium.....0.2g
- Phosphate monoammonique.....1g
- Phosphate bipotassique.....1g
- Chlorure de sodium.....5g
- Citrate de sodium.....2g
- Bleu de bromotymol.....0.08g
- Agar.....15g
- Eau distillée q.s.p.....1L



### 9 Rouge Congo Agar (pH=7) :

- TSB..... 37g
- Saccharose.....50g
- Rouge Congo..... 0.8g
- Agar .....10g
- Eau distillée..... 1L



# Annexe 7

## « Tampons, solvants, colorants, réactifs et autres produits »

### I- Les tampons :

#### 1 Tampon phosphate salin (PBS) :

- NaCl .....8 g
- Kcl.....0.2 g
- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> .....1.44 g
- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> .....0.24g



### II- Les solvants

#### 1 L'eau physiologique :

- Chlorure de Sodium.....9g
- Eau distillée .....1000 mL



#### 2 L'eau distillée :

### III- Les colorants :

#### 1 Violet de gentiane:

- Phénol..... 2.0 g
- Violet de gentiane..... 1.0 g
- Éthanol à 90°..... 10 ml
- Eau distillée..... 100 ml



#### 2 Lugol:

- Iodure de potassium..... 2.0 g
- Iode métalloïde..... 1.0 g
- Eau distillée .....300 ml



#### 3 Alcool (éthanol)

#### 4 Fuschine:

- Fuchine basique..... 1.0g
- Phénol..... 5.0 g
- Éthanol à 90°.....10 ml
- Eau distillée .....100 ml



### IV- Les réactifs :

#### 1 Sérum de lapin :

##### 1.1 Composition :

- Serum de lapin lyophilisé..... 1 flacon: 10 ml
- Diluant (oxalate de sodium)..... 1 ampoule: 10 ml

##### 1.2 Préparation :

10 ml de solvant additionné stérilement dans le flacon de plasma de lapin lyophilisé. Agiter pour favoriser la dissolution en évitant la formation de mousse.

#### Plus :

Voges-Proskauer I et II (**VP I et II**), Nitrate I et II (**NIT I et II**), rouge de méthyle (**RM**), Kovax, l'huile à immersion, l'huile de vaseline stérile, eau oxygénée (**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>**), Solution acide (**Kcl**), solution base (**NaOH**), disques d'oxydase, disques d'**ONPG**, acide chlorhydrique ou chlorure d'hydrogène (**Kcl**), les additifs du milieu **VF**, la poudre du Zinc



### V- Autres produits :



#### Une souche de *Staphylococcus aureus* ATCC 33862

C'est une souche qui a été fournie par le laboratoire vétérinaire régionale de Mostaganem (LVRM), elle a été utilisée comme souche de référence dans notre étude, après qu'elle ait subi tous les tests d'identification.



**Le sang** additionnée à la gélose Columbia é été prélevé de la poche du sang des donneurs sain à l'hôpital de Chéguivara.

# Annexe 8

## « Fiche d'identification bactérienne »

Référence:  
Date :

Logibacter®

Espèce :  
Identifiant :

CARACTERES CULTURAUX ET MICROSCOPIQUES

Caractères cultureux	Aspect colonies	Couleur colonies	Coloration de Gram
Aerobic growth <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Adhérente	<input type="checkbox"/> Blanchâtres	<input type="checkbox"/> Positif
Anaerobic growth <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Bords entiers	<input type="checkbox"/> Bleuâtre	<input type="checkbox"/> Négatif
Culture sur GN <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Brillantes	<input type="checkbox"/> Brunâtres	<input type="checkbox"/> Bipolaire
Culture a 45 C° <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Rondes	<input type="checkbox"/> Grisâtres	<input type="checkbox"/> Variable
Culture a 42 C° <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Contours irréguliers	<input type="checkbox"/> Jaunâtres	
Culture sur Maconkey <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Convexes	<input type="checkbox"/> Noirâtres	
Culture en bile-esculine <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Crémeuse	<input type="checkbox"/> Orangâtre	<b>Forme bactérienne</b>
Culture en NaCl 6,5 % <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Frisée	<input type="checkbox"/> Rosâtres	<input type="checkbox"/> Bacille
Hémolyse <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Grandes, Larges	<input type="checkbox"/> Rougeâtres	<input type="checkbox"/> Bâtonnet incurvé
Beta hémolyse <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Granuleuse	<input type="checkbox"/> Translucides	<input type="checkbox"/> Cocci
Alpha hémolyse <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	<input type="checkbox"/> Lisses	<input type="checkbox"/> Verdâtres	<input type="checkbox"/> Cocci ovoïde
	<input type="checkbox"/> Moyennes	<input type="checkbox"/> Violacées	<input type="checkbox"/> Coccobacille
	<input type="checkbox"/> Muqueuse		<input type="checkbox"/> Corynéforme
	<input type="checkbox"/> Ondulée		<input type="checkbox"/> Hélicoïdale
	<input type="checkbox"/> Opaques		<input type="checkbox"/> Polymorphe
	<input type="checkbox"/> Petites, discrètes		<input type="checkbox"/> Tige filamenteux
	<input type="checkbox"/> Plates		
	<input type="checkbox"/> Rugueuses		
	<input type="checkbox"/> Saillante		
	<input type="checkbox"/> Visqueuse		

TESTS BIOCHIMIQUES

Oxydase  Oui  Non    Catalase  Oui  Non

Réactions enzymatiques	Fermentation sucres	Autres tests
ONPG <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Gaz <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Nitrate <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
ADH <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Glucose <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Esculine <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
LDC <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Lactose <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Hippurate <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
ODC <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Saccharose <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Tellurite <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Citrate <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Salicine <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Coagulase <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
H2S <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Mannitol <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Lécithinase <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
Urée <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	Mobilité <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non	
TDA <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
Indole <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
VP <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		
RM <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non		

IDENTIFICATION

Bactérie retenue : ..... agent pathogène de .....

Dont éléments l'ayant évoqués sont :

Tableau lésionnel

Tableau clinique

Forte suspicion du demandeur

Origine du prélèvement  spécifique a l'Hôte  présente dans l'Environnement  présente dans l'Eau

Validation par responsable technique

---

F-011-x Fiche d'identification bactérienne version 01 du 27/03/2017

Figure 113 : Fiche d'identification bactérienne.



Enfin, c'est le moment...le moment que j'attendais il y'a depuis longtemps, 18 ans de se réveiller tôt, de diligence au travail, de patience, et de surmonter les difficultés, j'ai eu des moments difficiles, des problèmes familiales, j'ai perdu l'espoir et parfois en désespoir de cause, mais j'étais debout après chaque chute pour continuer le chemin qui me menait vers mon rêve. La chose la plus importante pour moi c'était toujours *mes études*, et voilà aujourd'hui j'ai approuvé que ma défense sur mes études, et les considérait parmi mes priorités, était la discision la plus juste dans ma vie personnelle « el hamdoulillah », merci à dieu et à tous ceux qui m'ont soutenu, maintenant je suis fière de toute cette sacrifice qui ce traduit par ce travail simple dont il est devant vous et que j'ai le fait avec amour et plaisir.

Malgré la pression et l'étroitesse du temps au cours de réalisation de ce travail, mais également ont été pour moi une période d'épanouissement intellectuel, le stage m'a conduit vers des terrains nombreux, diversifiés et parfois plus fascinants encore que je ne pouvais imaginer, il m'a donnée l'occasion d'appliquer les idées théoriques, et microbiologiques...

je vais faire profiter de mes expériences de dire aux promotions qui arrivent, que la lutte contre vous-même et contre la société sont toujours les deux batailles qui vous accompagneraient tout le long du chemin. Et le secret du bonheur et de la réussite est de faire ce que vous aimez faire parce quand vous aimez une chose vous devrez automatiquement ajouter votre touche personnelle dans vos propre travail qui vous essentiellement démarquer des autres, le plagiat est vraiment mal vu par les universités. J'espère que à partir de mon travail vous aurez l'aide dans votre exposées et vos recherches scientifiques et techniques, je vous souhaite que de courage et de vivre ces sentiments que j'ai essayé maintenant de les transmettre avec ces mots issus du cœur.

Et pour terminer je veux juste vous dire que le chemin est souvent long entre les rêves de métier et leur accomplissent « j'ai pu terminer l'école mais je ne devrais jamais terminer l'éducation » c'est en tout cas dans cette direction que j'espère pouvoir mener des recherches futures pourquoi pas ? je souhaite poursuivre mes études supérieurs et pouvoir accéder à un plus haut niveau d'études nchallah , mon désire est de devenir une professeur dans cette université et de faire partie d'une équipe de recherche pédagogique et d'approfondir mes connaissances théoriques et pratiques déjà acquise, compléter ma formation initiale pour atteindre ainsi un niveau de perfection supérieur et de pouvoir apprendre d'autres nouveautés dans les différents domaines de science de la nature et de la vie en générale.

*nchallah*

**Nom et prénom :** Kara Mostéfa Zoubida (**Surnom :** Imene).

**Encadreur :** Djibaoui Rachid.

**Titre de mémoire de fin d'étude :** Les Staphylocoques à coagulase

Négative (SCN) et leur formation de biofilm sur les biomatériaux.

**Secteur d'intérêt :** Microbiologie médicale.

**Lieu de dépôt :**

- Bibliothèque de la faculté des sciences de la nature et de la vie à l'université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem.
- Laboratoire centrale du l'hôpital d'Ernesto ché guevara à Mostaganem.
- Laboratoire d'hygiène de la Wilaya de Mostaganem.
- Laboratoire vétérinaire régional de Mostaganem (LVRM).

**Date de soutenance :** 03 - 07 - 2019.

**Résumé :**

Les staphylocoques à coagulase négative (**SCN**) constituant normaux de la microflore cutanée et muqueuse de l'homme sont les espèces les plus fréquemment isolées des infections liées aux dispositifs médicaux (**ILDM**). Leur principal facteur de virulence est leur capacité à adhérer à la surface des biomatériaux et à former un biofilm.

Dans cette optique, ce travail porte sur une étude microbiologique de 12 dispositifs médicaux **DM** y compris : (Sonde urinaire, sonde d'intubation orotrachéale, cathéter périphérique, pansement, et plaque en acier de la fixation de l'os) récoltés de différents services de l'hôpital de Chéguivara à Mostaganem) afin d'identifier les pathogènes responsables de ces infections, de déterminer leur profil d'antibiorésistance et leur pouvoir de production de slime.

Le diagnostic estime que sur ces 12 prélèvements analysés, 66.66 % se sont révélés positifs dont 75 % sont des **SCN**, avec la prédominance de l'espèce *S. epidermidis*.

L'étude de l'antibiogramme a montré une importante résistance aux bêta-lactamine (Oxacilline **OX** et céfoxitine **FOX**) qui atteint les 100 % pour l'ensemble des souches isolées. Et la Vancomycine VA demeure la molécule de choix contre les infections à Staphylocoques.

La détection de production de slime par les trois techniques **TCP**, **TM**, et **RCA** révèle que les méthodes **TM** et **TCP** semblent plus fiables à celle du rouge Congo, dont la technique en tube présentait une bonne corrélation avec la technique de plaque de Culture de Tissu pour les souches fortement productrices de biofilm.

La grande capacité d'adhérence de la souche *S. epidermidis* provenait d'une sonde vésicale placée plus de 7 j, nous confirme que la durée d'implantation joue un rôle primordiale dans l'installation des biofilms et par conséquent les sondes en latex ne peuvent pas être laissés dans le corps plus d'une semaine, ainsi que la bonne diffusion visuelle de biofilm sur la gélose au sang pour toutes nos souches testées montre probablement leurs capacités d'adhérer à la surface du **LATEX** : matériau constituant les sondes urinaires.

**Mots clés:** Les Staphylocoques à coagulase négative (**SCN**), Infections liées aux dispositifs médicaux (**ILDM**), biomatériaux, l'antibiorésistance, biofilm, infections nosocomiales (**IN**), *S. epidermidis*, Slime, LATEX.

