

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

**République Algérienne Démocratique et Populaire**

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**

**Centre Universitaire Salhi Ahmed – NAAMA**

**Institut des Sciences et de Technologie**

**Département des Sciences de la Nature et de la Vie**



En vue de l'obtention du **diplôme de MASTER Académique**

En : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté Par : M<sup>elle</sup> ALLALI Ouamayma et M<sup>elle</sup> KOUARI Djedia

Intitulé

***Evaluation de la formation du biofilm par Staphylococcus aureus isolées des différents cathéters***

Soutenu, devant le jury composé de :

<b>Président</b>	Mr AMROUCHE Abdel Ilah	Pr	CUN Naama
<b>Encadreur</b>	Mme LAGHA Nouria	M.C.A	CUN Naama
<b>Examinatrice</b>	Mme BENGHALEM Ibtissem	M.A.B	CUN Naama

Session : (Juillet 2021)

Promotion : 2020 / 2021



*Dans le cadre de ce travail, nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant de nous donner la force et la volonté d'achever ce modeste travail.*

*En second lieu, nous tenons à remercier notre chère encadreur **LAGHA Nouria** avec tous nos profonds gratitude pour nous donner l'opportunité de réaliser ce projet de recherche et de nous guider avec tous ses efforts.*

*Nous souhaitons aussi exprimer notre vif remerciement à tout les membres de jury*

*A Mr **AMROUCHE Abdel Ilah** qui nous a fait le très grand honneur de présider notre jury.*

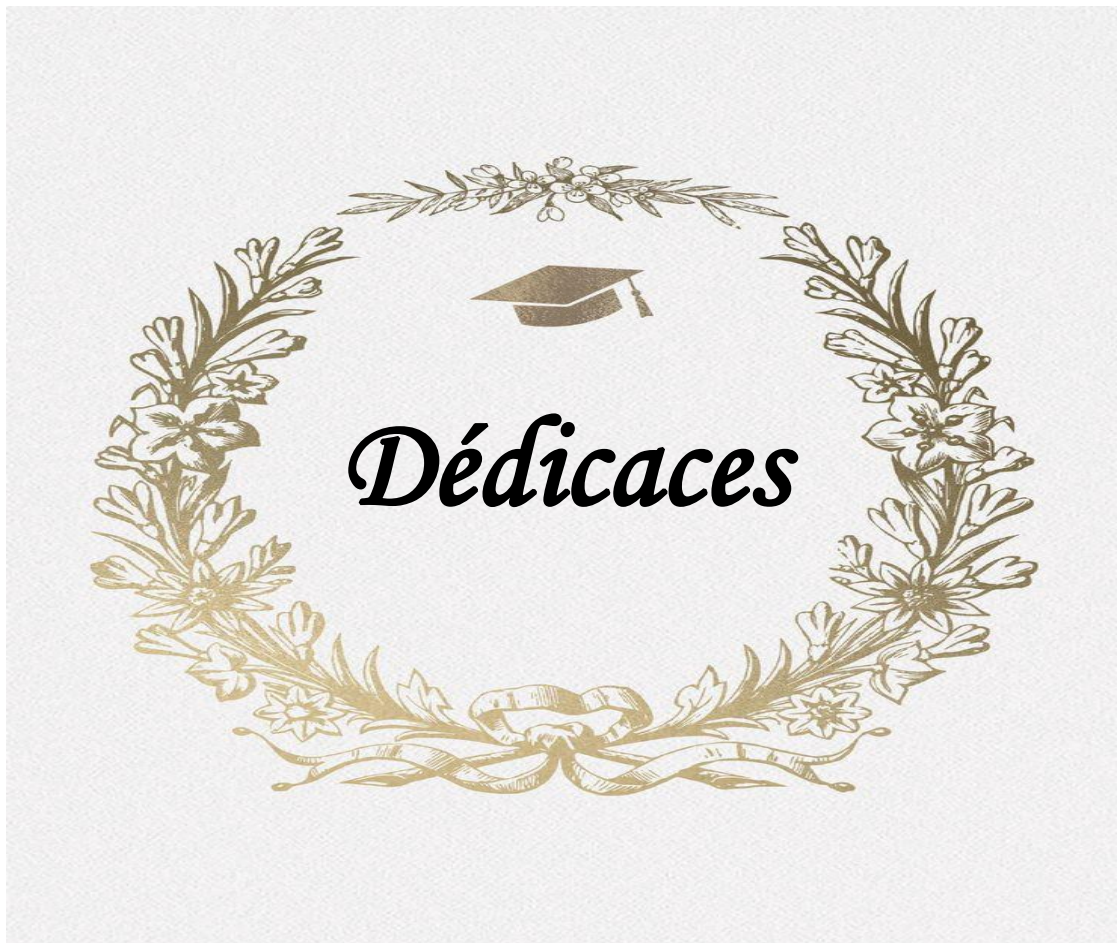
*A Mme **BENGHALEM Ibtissem** d'avoir accepté d'examiner notre travail.*

*Nous profitons cette occasion pour remercier tous les enseignants de département de sciences de vie et de nature qui nous ont donné les bases de la recherche durant ces cinq années.*

*Notre profonds remerciement à nos familles pour tout le support matériellement et moralement, à tout ceux qui nous ont aidé de près ou de loin à réaliser ce travail.*

*Nos derniers remerciements à nos collègues d'étude.*

*Merci* 



*Je dédie ce travail:*

*A mes précieuses parents*

*Ma source d'amour et de patience pour ses encouragement, support et ses prières.*

*Sans vous, je n'aurais pas obtenue ce succès.*

*Je vous dédie mon profond amour et respect, je vous souhaite une longue vie,  
santé et bonheur.*

*A ma chère sœur Latifa, mes chères frères (Fethi, Tayyeb, Lakhdar et Abdssamed),  
pour nos sourires et nos amusement.*

*A la mémoire de mon oncle **Abbass Abdallah** qui m'a quitté et que dieu repose son  
âme, pour son support durant ma vie.*

*A tout mes amies pour tout les moments inoubliables que nous avons partagées.*

*A mon binôme **Oumayma** pour tout les efforts afin de réussir ce travail.*

*« Djedia »*

*Je dédie ce travail:*

*A mon cher père et à ma mère bien-aimée,  
À qui elle est créditée d'avoir atteint ce rang . Au symbole de la tendresse*

*A qui j'ai sacrifié mon bonheur et ma réussite...*

*A ma mère, ma copine de ma vie...*

*A ma chère grand-mère « Maryam » et à mon oncle ( Ibrahim,  
Ahmed et Mustafa )*

*A ma tante (Zahra, Fatiha, Hajar, et à mes frères, Aya Siham, Huda, Samira,  
Fatima, Iman, RashidaRuqayya, Sarah, Asmaa, Habiba, Wasilah, Asmaa 2,  
Sumaya, Hajira et Hafizah).*

*A mes frères Omar, Amer, Bashir, Ibrahim et Abdul Qadir.*

*A mes amis de toujours Kawther, Abeer, Ghazlan, Fatima,  
Wafaa, Kenzah, Wasila, Noor al-Huda et à ceux qui m'ont aidé dans ce  
mémoire Huda Sadok Iman et Abeer Qasso.*

*Et à l'innocence sont Moataz, Abdul Hadi, Abdul Latif, Hadeel, Hisham,  
Riyad, Fatima, Aisha, Khadija, Nihal, Anfal, Khalil, Amir, Moez et Hamida.*

*« Oumayma »*

## Table de matières

Remerciement .....	I
Dédicaces .....	II
Résumé .....	VIII
Liste des abréviations .....	XI
Liste des figures .....	XII
Liste des tableaux .....	XIII
Introduction Générale .....	01

### Partie I : Synthèse Bibliographique

#### Chapitre I : Généralités associées aux dispositifs médicaux

1. Les infections associées aux dispositifs médicaux .....	02
2. Les différents types de cathéter .....	03
2.1. Les cathéters veineux périphériques (CVP) .....	03
2.2. Les cathéters veineux centraux .....	04
3. Les voies de contaminations .....	04
3.1. Contamination extraluminale .....	05
3.2. Contamination endoluminale .....	05
3.3. Contamination hématogène .....	06
4. Colonisation du cathéter .....	06
5. Les types infection liée aux cathéters .....	07
5.1. Les infections bactériémiques liées au cathéter .....	07
5.2. Les infections liées au cathéter non bactériémiques .....	07
6. Bactéries impliquées dans les Infections liées au cathéter .....	07

#### Chapitre II : généralité sur *Staphylococcus aureus*

1. Historique .....	09
2. Taxonomie .....	09

3. Habitat .....	11
4. Caractéristiques structurales et physiologiques .....	11
5. Facteurs de virulence .....	12
6. Épidémiologie .....	14
6.1. Réservoir .....	14
6.2. Transmission .....	14
7. Les infections à <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
7.1. Types d'infection .....	15
7.1.1. Les toxémies .....	15
7.1.2. Les infections suppuratives .....	15
7.2. Acquisition de l'infection .....	15
7.2.1. Les infections communautaires .....	15
7.2.2. Les infections nosocomiales .....	15

### **Chapitre III : Généralités sur le biofilm et la résistance aux antibiotiques**

1. Historique .....	17
2. Définition du biofilm .....	17
3. Les étapes de formation du biofilm .....	18
3.1. L'adhésion réversible .....	19
3.2. L'adhésion irréversible .....	19
3.3. Prolifération .....	20
3.4. Maturation .....	20
3.5. Dispersion .....	20
4. Biofilm sur cathéter .....	21
5. L'organisation du biofilm .....	21
5.1. Composition .....	21
5.2. Organisation .....	21
6. Les facteurs favorisant la formation du biofilm .....	22
6.1. Caractéristiques de la surface .....	22
6.2. Caractéristiques du milieu .....	22
6.3. Les propriétés des cellules .....	23
7. Le Quorum sensing du <i>Staphylococcus aureus</i> .....	23

8. La résistance du <i>Staphylococcus aureus</i> aux antibiotiques .....	23
--	----

## Partie II : Matériel et méthodes

1. Prélèvements .....	27
2. Ensemencement .....	27
3. Isolement et purification .....	27
4. Identification .....	27
4.1. La recherche de la coagulase .....	27
4.1.1. Principe .....	27
4.1.2. Technique .....	28
4.1.3. Lecture .....	28
4.2. Test de DNase (Désoxyribonucléase) .....	28
4.2.1. Principe .....	28
4.2.2. Technique .....	28
4.2.3. Lecture .....	28
4.3. Galerie API Staph .....	29
4.3.1. Préparation de la galerie .....	29
4.3.2. Préparation de l'inoculum .....	29
4.3.3. Inoculation de la galerie .....	29
4.3.4. Lecture et interprétation .....	30
5. Conservation .....	30
6. Antibiogramme .....	30
6.1. Principe .....	30
6.2. Technique .....	31
6.3. Application des disques des ATB .....	31
6.4. Lecture .....	32
7. Evaluation de la formation du biofilm in vivo .....	32
7.1. Méthode de plaque de culture des tissus (TCP) .....	32
7.1.1. Principe .....	32
7.1.2. Technique .....	32
7.1.3. Lecture .....	33
7.2. Méthode de Rouge Congo Agar .....	33

7.2.1. Principe .....	33
7.2.2. Technique.....	33
7.2.3. Lecture .....	34

***Partie III : Résultats et Discussion***

<b>Résultats .....</b>	<b>35</b>
1. Prélèvements .....	35
1. Identification .....	36
1.1. Examen macroscopique .....	36
1.2. Examen microscopique .....	36
1.3. Recherche de coagulase .....	37
1.4. Test du DNase .....	38
2. Antibiogramme .....	38
3. Evaluation de la formation du biofilm .....	39
3.1. Méthode de plaque de culture des tissus (TCP) .....	39
3.2. Méthode du Rouge Congo Agar .....	42
<b>Discussion .....</b>	<b>44</b>
<b>Conclusion .....</b>	<b>48</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>49</b>
<b>Annexes</b>	



### ***Résumé :***

*Staphylococcus aureus* est une bactérie commensale de l'homme, c'est une flore résidente de la peau humaine, des muqueuses et la fosse nasale comme une niche principale donc elle peut facilement contaminer les plaies ouvertes et accéder à la circulation et provoquer des dommages à l'hôte.

C'est un pathogène responsable de la grande majorité des infections aux dispositifs médicaux causées par la production de biofilm qui représente un facteur principal de virulence de cette bactérie qui est impliqué dans un large spectre des maladies parce qu'il s'adapte rapidement aux défenses immunitaires humaines et sa multirésistance aux antibiotiques .

Notre mémoire est basée sur une comparaison des résultats des différents articles scientifiques pour évaluer la capacité de *Staphylococcus aureus* à former un biofilm sur des cathéters , cette évaluation est faite par deux méthodes : la TCP (culture de tissu en plaque ) et la RCA (Rouge Congo Agar) qui donnent des résultats rapides et fiables.

Mots clé : *Staphylococcus aureus*, l'hôte, infections, dispositifs médicaux, biofilm, cathéters .

## الملخص :

المكورات العنقودية الذهبية هي بكتيريا تعيشية للإنسان ، و هي مقيمة في جلد الإنسان ، الأغشية المخاطية و تجويف الأنف كمكان رئيسي لذلك يمكنها و بسهولة تلويث الجروح المفتوحة و الوصول الى الدورة الدموية و التسبب في أضرار للمضيف .

هي عامل مُمرض مسؤول عن الغالبية من العدوى الناتجة عن الأجهزة الطبيّة بسبب إنتاج الأغشية الحيوية التي تمثل عاملاً رئيسياً في ضراوة هذا البكتيريا التي تشارك في مجموعة واسعة من الأمراض لأنها تتكيف بسرعة مع الدفاعات المناعية للإنسان و مقاومتها للعديد من المضادات الحيوية .

تعتمد مذكرتنا على مقارنة نتائج مقالات علمية مختلفة لتقييم قدرة المكورات العنقودية الذهبية على تكوين الغشاء الحيوي على القنطير ، و يتم ذلك بطريقتين : طريقة زراعة الأنسجة في الصفيحة TCP و طريقة آغار الكونغو الأحمر RCA.

**الكلمات المفتاحية :** المكورات العنقودية الذهبية ، المضيف ، العدوى ، الأجهزة الطبيّة ، الغشاء الحيوي ، أنابيب القسطرة .

### ***Abstract :***

*Staphylococcus aureus* is a commensal bacteria of humans, it is a resident flora of human skin, mucous membranes and nasal cavity as a main niche so it can easily contaminate open wounds and access the blood circulation and cause damages to the host.

It is a pathogen that's responsible for the vast majority of infections to medical devices caused by the production of biofilm that represents a main virulence factor of this bacteria that is involved in a wide spectrum of diseases because it adapts quickly to human immune defences and its multiresistance to antibiotics .

Our memoir is based on a comparison of the results of different scientific articles to evaluate the ability of *Staphylococcus aureus* to form a biofilm on catheters, this evaluation is done by two methods : TCP (plate tissue culture ) and RCA (Red Congo Agar) which give fast and reliable results.

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, host, infections, medical devices, biofilm, catheters .

## Liste des abréviations

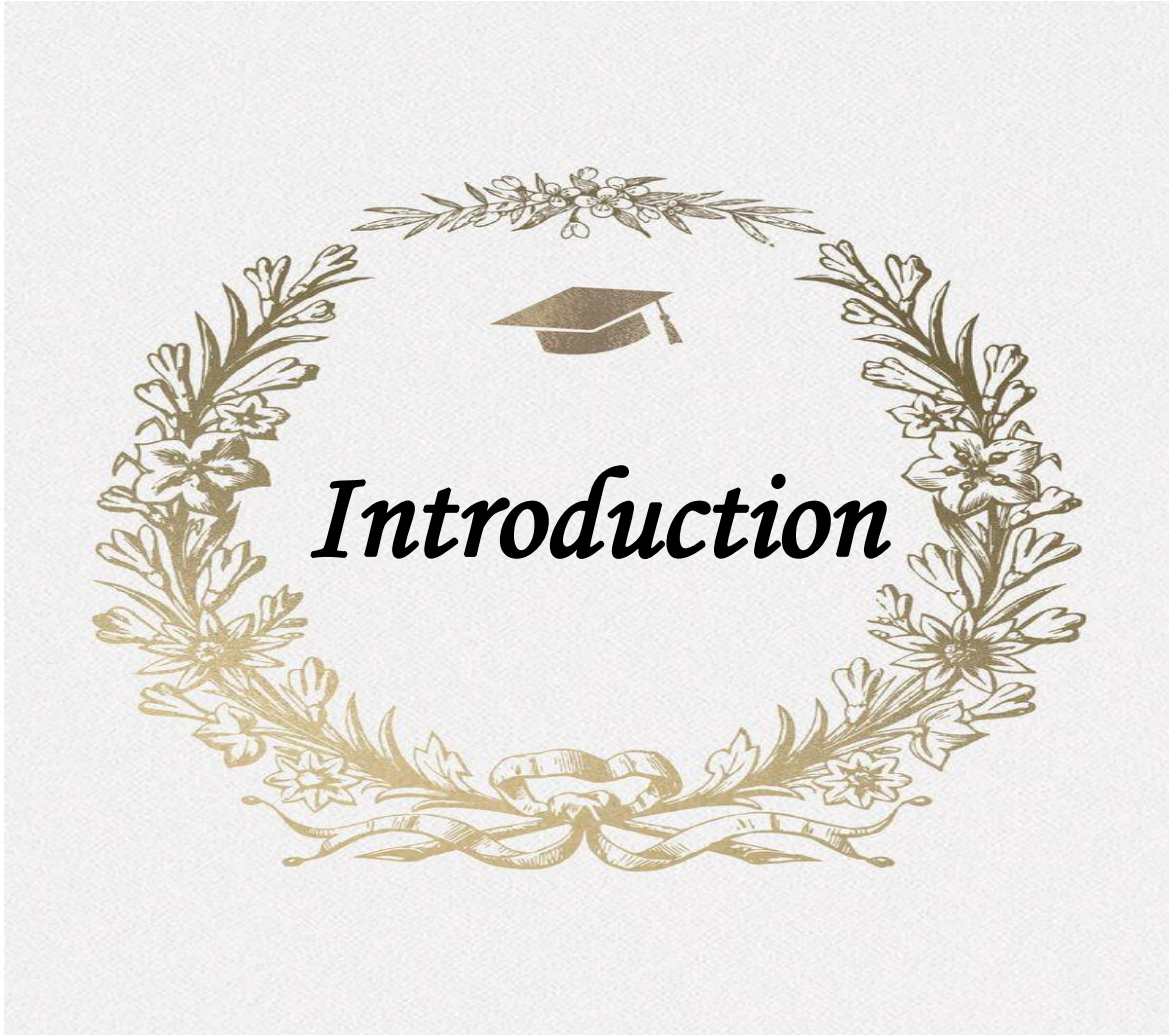
- ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- ARN** : Acide ribonucléique.
- ATB** : Antibiotique.
- AW** : Activity water.
- BHIB** : Bouillon Cœur Cerveau
- CAT** : Chloramphénicol acétyltransferase.
- CifA** : Clumping factor A.
- CifB** : Clumping factor B.
- CVC** : cathéter veineux centraux.
- CVP** : cathéter veineux périphérique .
- EPS** : Substances Polymériques Extracellulaires
- FAME** : Fatty Acid Modifying Enzyme .
- GC %** : Pourcentage de guanine et cytosine.
- IAS** : Infection associés aux soins.
- ILC** : Infection liée au cathéter .
- LPS** : lipopolysaccharide.
- OMS** : Organisation mondiale de santé.
- PH** : Potentiel hydrogène.
- PLP** : Protéines liant la pénicilline.
- QS** : Quorum sensing.
- RCA** : Red Congo Agar.
- S.albus** : Staphylococcus albus .
- S.aureus**: Staphylococcus aureus .
- TCP** : Culture de tissus en plaque.
- UFC** : Unité formant colonie .

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Schéma d'un cathéter veineux .....	03
<b>Figure 02</b> : Cathéter vasculaire : principales voies d'acquisition des micro-organismes .....	06
<b>Figure 03</b> : Micrographie électronique à balayage du <i>Staphylococcus aureus</i> , cocci disposé comme des grappes de raisins.....	11
<b>Figure 04</b> : Les facteurs du virulence de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	13
<b>Figure 05</b> : Les étapes de la formation d'un biofilm par <i>Staphylococcus aureus</i> sur Cathéters, visualisées par microscopie électronique à balayage .....	18
<b>Figure 06</b> : La structure complexe des biofilm bactériens.( a)  Microcolonies dans le biofilm mature. (b)   Au moment de la dispersion .....	22
<b>Figure 07</b> : Test DNase chez <i>Staphylococcus aureus</i> .....	29
<b>Figure 08</b> : Antibiogramme .....	32
<b>Figure 09</b> : La lecture de microplaque TCP .....	33
<b>Figure 10</b> : Les phénotypes de la production du slime .....	34
<b>Figure 11</b> : Résultats de la comparaison des prélèvements des 4 études.....	35
<b>Figure 12</b> : Culture de <i>S.aureus</i> sur Chapman.....	36
<b>Figure 13</b> : Aspect microscopiques des cellules après la coloration du Gram du <i>S.aureus</i> .....	37
<b>Figure 14</b> : Résultat du test de la coagulase du <i>S.aureus</i> .....	37
<b>Figure 15</b> : Résultat de l'antibiogramme du <i>S.aureus</i> .....	38
<b>Figure 16</b> : Le profil de résistance / sensibilité aux ATB de la souche <i>S.aureus</i> .....	39
<b>Figure 17</b> : Les résultats de TCP après la quantification de DO avec la lecture ELISA.....	41
<b>Figure 18</b> : Les valeurs de DO obtenues par la lecture d'absorbance pour microplaque .....	41
<b>Figure 19</b> : Aspect des colonies de <i>S.aureus</i> sur milieu RCA.....	43
<b>Figure 20</b> : Comparaison des résultats de la méthode de RCA des 4 études.....	43

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01</b> : Fréquence relative des microorganismes isolés dans les bactériémies Nosocomiales à porte d'entrée potentiellement associée à un dispositif invasif.....	02
<b>Tableau 02</b> : Les différents types de cathéters.....	04
<b>Tableau 03</b> : Étiologie des Bactéries des cathéters veineux périphérique.....	08
<b>Tableau 04</b> : Présentation des espèces qui constituent le genre <i>Staphylococcus aureus</i> .....	10
<b>Tableau 05</b> : Les facteurs de virulence de <i>S.aureus</i> et leur mode d'action.....	13
<b>Tableau 06</b> : La résistance du <i>S.aureus</i> aux certains antibiotiques.....	24
<b>Tableau 07</b> : Liste des antibiotiques testés.....	31



*Introduction*

Dans le domaine de la santé 65% des infections bactériennes sont dues à la présence de biofilm (**Cclin, 2014**). Les infections urinaires nosocomiales (IUN) représentent 40% et occupent le premier rang de l'ensemble de ces infections (**Ben arab et al., 2007 ; Wang et al., 2008**).

Les dispositifs médicaux utilisés (sondes urinaires, sondes d'intubation, cathéters) constituent un terrain propice au développement de pathologies nosocomiales.

De plus en plus, en milieu hospitalier, que ce soit à l'hôpital ou en clinique l'utilisation des techniques de surveillance des patients comme les sondes urinaires, la mesure de la pression veineuse centrale, l'implantation de prothèses, les perfusions .....etc, sont des techniques favorisant l'apparition d'infections hospitalières. Les infections acquises à l'hôpital sont une réalité préoccupante surtout dans des services à haut risque qui accueille des patients extrêmement vulnérables à la colonisation et par conséquent à l'infection (**Rebiahi, 2012**).

*Staphylococcus aureus* est l'une des causes majeures des infections communautaire et nosocomiales et le plus souvent incriminé dans des infections aiguës et chroniques dont la plus part sont dues à sa capacité à adhérer sur les implants médicaux et à former des biofilm, Ce qui peut expliquer sa remarquable résistance aux antibiotiques, sa virulence et ses propriétés de survie sur une variété de surfaces (**Tomaras et al., 2003 ; Lee et al., 2008**).

Dans ce contexte et en tenant compte du pouvoir pathogène de *Staphylococcus aureus*, cette présente étude vise dans un premier temps à montrer l'implication de ce germe dans les infections associées aux dispositifs médicaux.

Dans l'environnement naturel, les micro-organismes sont attachés à une surface, organisés en communautés structurées et englobés dans une matrice d'exopolymères. Ce mode de développement, appelé biofilm, est le mode de vie majoritaire des bactéries (**Haras, 2005**). Il a été démontré que ces structures est la source de problèmes de biocontamination dans divers domaines tels que la santé, l'environnement et l'industrie (**Jefferson, 2004 ; Haras, 2005 ; Dubois-Brissonnet et al., 2006**).

L'objectif de ce travail est de réaliser une synthèse des résultats des études réalisées sur le thème " Evaluation de la formation du biofilm par *Staphylococcus aureus* isolées des différents cathéters" ici en Algérie pour évaluer la capacité de ce germe à former du biofilm sur les dispositifs médicaux.



*PARTIE I*  
*Synthèse*  
*Bibliographique*

## Chapitre I : Généralités associées aux dispositifs médicaux :

### 1. les infections associées aux dispositifs médicaux :

Les infections associées aux soins (IAS), reconnues à travers le monde comme un problème de santé publique, sont à l'origine d'un accroissement significatif de la mortalité, de la morbidité et du coût de prise en charge des patients (Njall et al., 2013). Leur fréquence et leur gravité sont particulièrement élevées en milieu de soins intensifs en raison des pathologies présentées par les patients (Tableau 01), des comorbidités associées ainsi que la densité des techniques invasives utilisées (Brun-Buisson et al., 2005).

L'OMS estime qu'entre 5 et 12 % des patients hospitalisés dans le monde développent une infection associée aux soins (IAS) dont plus de 60 % sont associées à l'implantation d'un dispositif médical ou chirurgical (Espinasse et al., 2010). Parmi les 190 millions de patients hospitalisés chaque année dans le monde, environ 9 millions sont touchés par des infections nosocomiales avec un taux de mortalité près de 10% (Togo et al., 2010).

**Tableau 01: Fréquence relative des microorganismes isolés dans les bactériémies nosocomiales à porte d'entrée potentiellement associée à un dispositif invasif (Espinasse et al., 2010).**

Porte D'entrée (nombre)	Urinaire (n=100)	Cathéter central (n=549)	Cathéter veineux périphérique (n=249)	Chambre à cathéter implantable (n=229)	Pleure – pulmonaire (n=477)
<i>S.aureus</i>	7	27	37	17	22
Stapylocoque à coagulase négative	3	40	33	38	9
<i>E.coli</i>	52	3	4	4	9
<i>Klebsiella, Enterobacter, Serratia</i>	15	9	12	12	18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	5	4	4	14
Autre	17	17	10	10	28

## 2. Les différents types de cathéter :

Le cathéter (Tableau 02)(vient du grec kathiénai, plonger) est un tube de longueur variable, de Calibre millimétrique, flexible ou rigide, en métal, verre, gomme, caoutchouc ou matière plastique, destiné à être introduit dans un canal, un conduit, un vaisseau ou un organe creux pour l'explorer, injecter un liquide ou vider une cavité (**Garnier et al., 2004**).

Le cathétérisme veineux (Figure 01) consiste en l'introduction dans le système veineux, par voie trans-cutanée ou par abord chirurgical, d'un cathéter court ou long, mono ou multi lumière(s). Il intéresse soit les veines superficielles, on parle alors de cathétérisme veineux périphérique, soit les troncs veineux profonds, on parle dans ce cas de cathétérisme veineux central (**Avenard et al., 2001**).

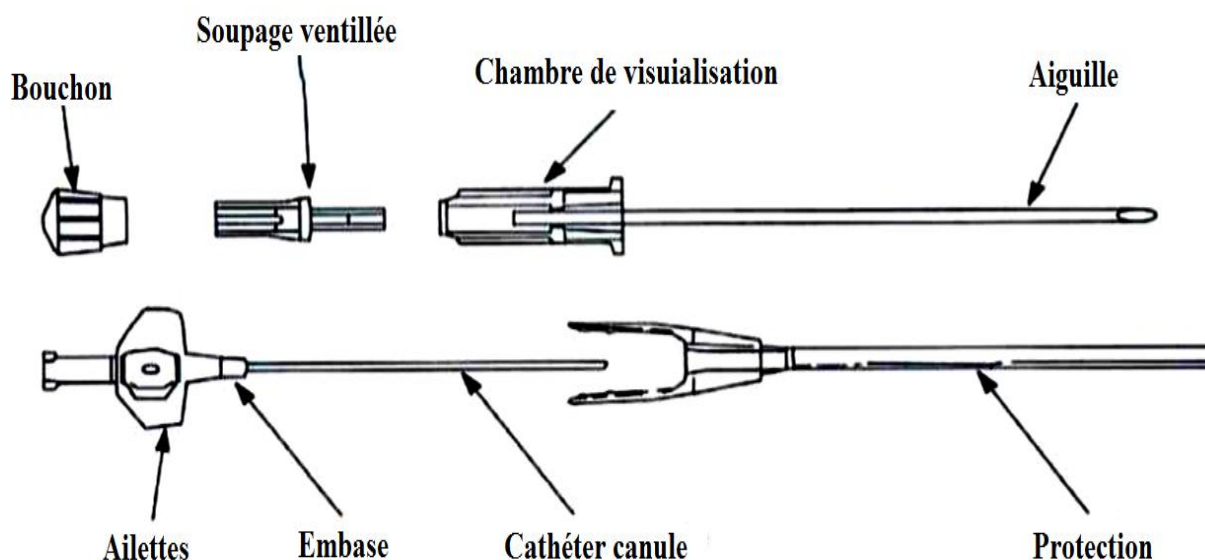


Figure 01 : Schéma d'un cathéter veineux (**Hajjar et al., 2005**).

### 2.1. Les cathéters veineux périphériques (CVP):

Sont les dispositifs médicaux les plus utilisés dans les hôpitaux du monde entier (**Zhang et al., 2013**). Ils sont vitaux pour l'administration des liquides et des médicaments et pour la transfusion sanguine. Sa mise en place aisée et rapide permet l'administration des traitements et des solutés de remplissage ce qui explique leurs grandes utilisations. (**Veyssier et al., 1998**) ; (**Brun-Buisson et Parienti, 2013**).

Plus de la moitié des patients hospitalisés sont porteurs d'un cathéter veineux, le plus souvent périphérique. (**Brun-Buisson et Parienti, 2013**).

## 2.2. Les cathéters veineux centraux :

Les cathéters veineux centraux sont les implants médicaux les plus à risque par rapport au développement d'une infection nosocomiale (**Klevins, 2005**).

Ceci pose de graves problèmes de santé publique puisque les traitements systémiques de routine des patients atteints d'infections de ce type se révèlent le plus souvent inefficaces (**Donlan, 2008**). Elles sont surtout responsables d'une mortalité d'environ 6% pouvant atteindre près de 20% dans les services de réanimation (**Pebret, 2003**).

**Tableau 02: Les différents types de cathéters (Cagny, 2014).**

Type de cathéters vasculaire	Cathéter artériel périphérique (CAP)	Cathéter veineux périphérique (CVP)	Cathéter veineux central (CVC)
<b>Site anatomique d'insertion et spécificités éventuelles</b>	Artère radiale ou fémorale. Monitoring des paramètres hémodynamiques et accès vasculaire pour prélèvements répétés de gaz du sang	Veines de l'avant-bras, de la main ou du pied chez le nouveau-né.	Inséré dans des conditions d'asepsie chirurgicale dans la veine sous-clavière, jugulaire interne, ou fémorale.
<b>Durée moyenne de maintien habituellement observée</b>	Courte	Très courte 2 à 4 jours	Courte

## 3. Les voies de contaminations :

L'insertion du cathéter intraveineux fournit un portail d'entrée pour les bactéries d'un environnement extérieur non stérile (Figure 02) à environnement intérieur stérile. Le précurseur de l'infection sanguine est habituellement la colonisation de dispositif, les bactéries trouvées adhérant aux surfaces extra-ou intra-luminales des cathéters sont la principale source et cause de septicémie (**Widmer, 2005 ; Mermel, 2011 ; Zhang et al., 2013**).

Post-attachement, De nombreuses communautés microbiennes forment des biofilms. En raison d'une résistance accrue aux antibiotiques, les bactéries dans les biofilms sont difficiles à traiter efficacement (**Zhang et al, 2013**).

### **3.1. Contamination extraluminale :**

La colonisation par voie extraluminale du cathéter est le mécanisme le plus fréquemment évoqué pour les cathéters à émergence cutanée (65%). Celle-ci survient le plus souvent lors de la pose du cathéter, et serait alors évitable par une asepsie rigoureuse (**Mimoz et al., 2001**).

La contamination se fait par migration des micro-organismes sur la surface externe du cathéter à partir du point d'insertion cutanée. C'est la principale voie de contamination et de colonisation (**Pourreau, 2008**).

Les bactéries des flores cutanées du patient ou oropharyngées du professionnel, ou provenant d'un antiseptique contaminé migrent via le site d'insertion, suivant la surface externe du cathéter le long du trajet sous-cutané. Cette contamination peut aussi survenir secondairement lors de la réalisation des pansements du site d'insertion (**Espinasse et al., 2010**).

### **3.2. Contamination endoluminale :**

La contamination endoluminale ou intraluminale (**35%**) se fait par migration des micro-organismes par l'intérieur de la lumière du cathéter depuis les lignes de perfusion . Ce mode de contamination est dû principalement à l'introduction de micro-organismes dans les tubulures lors des manipulations (**Pourreau., 2008**).

Les micro-organismes présents sur les mains du personnel soignant et venant contaminer le pavillon et la lumière du cathéter, à partir du contact lors de la manipulation des raccords sur la ligne veineuse (injection, déconnexion) ou par une préparation injectable contaminée (**Mimoz et al., 2001**). Elle devient prépondérante pour les cathéters maintenus au-delà de 4 jours (CVP) ou de 7-10 jours (CVC), soit les cathéters qui ont été le plus manipulés (**Pourreau, 2008 ; Espinasse et al., 2010**). Cette contamination est majoritairement due à des staphylocoques à coagulase négative (**Espinasse et al., 2010**).

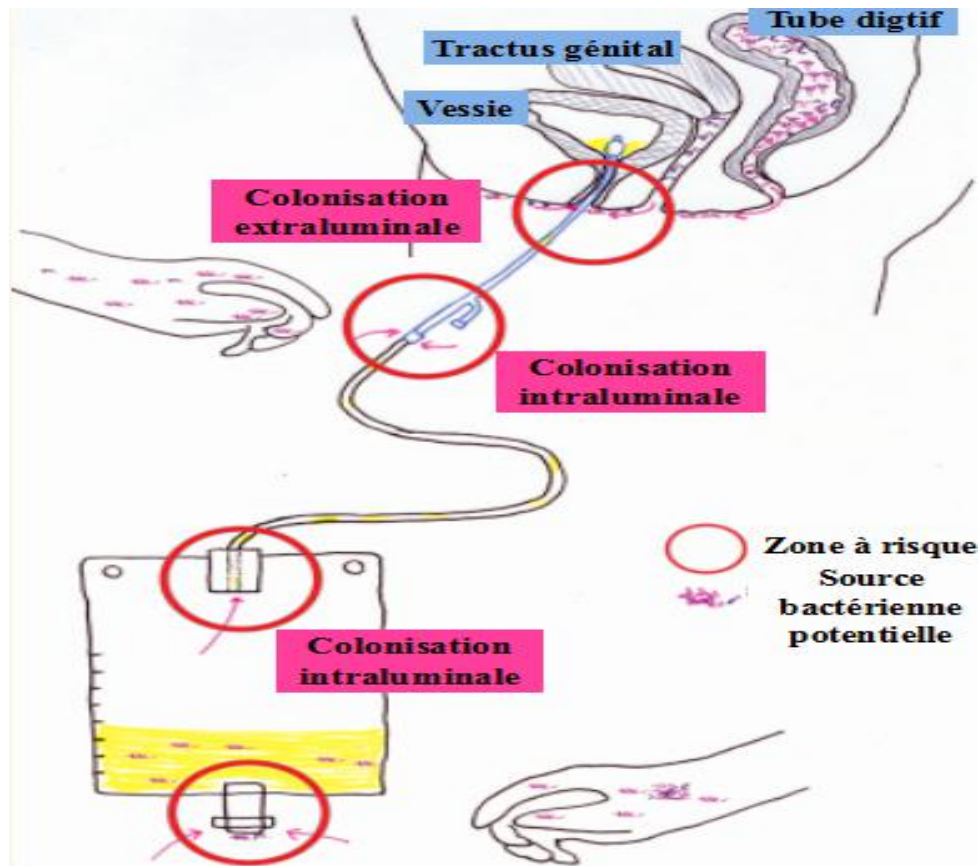


Figure 02 : Cathéter vasculaire : principales voies d'acquisition des micro-organismes (Espinasse et al., 2010).

### 3.3. Contamination hématogène :

Ce mode de contamination à partir d'une source endogène à distance a été constaté dans des études prospectives de suivi quotidien de la flore (Coloby, 2007).

L'importance de ce mode d'acquisition reste cependant inconnue (Caron, 2003).

### 4. Colonisation du cathéter :

La présence d'une culture positive de l'extrémité du cathéter en « quantité significative » (> 15 UFC par la technique semi quantitative, > 1000 UFC/ml en technique quantitative), en l'absence de signes généraux d'infections attribués au cathéter. Localement, il peut exister un érythème, mais sans suppuration locale franche. La colonisation peut provenir d'un foyer à distance aux mêmes germes que celui isolé du cathéter (Pourreau, 2008).

### 5. Les types infection liée aux cathéters :

Dans cette rubrique, on distingue :

**5.1. Les infections bactériémiques liées au cathéter**, définies par :

Une bactériémie survenant chez un patient porteur d'un cathéter, et dans les 48 heures :

- Une culture positive du site d'insertion au même germe ou
- Une culture du cathéter >10<sup>3</sup> UFC/ml au même germe ou
- Des hémocultures périphériques et centrales positives au même germe avec :
  - Rapport hémoculture centrale/ hémoculture périphérique >5
  - Délai différentiel de positivité des hémocultures centrales / périphériques >2 heures.

**5.3. Les infections liées au cathéter non bactériémiques :**

- Elles sont retenues en l'absence d'hémoculture positive, avec une culture du cathéter positive à >10<sup>3</sup> UFC/ml.
- Purulence de l'orifice d'entrée du cathéter ou tunellite (infection locale).
- Régression totale ou partielle des signes infectieux dans les 48heures suivant l'ablation du cathéter (infection générale).

**6. Bactéries impliquées dans les Infections liées au cathéter :**

Pour les cathéters à émergence cutanée, les microorganismes les plus fréquemment impliqués dans les bactériémies associées sont principalement ceux de la flore cutanée(Tableau 03), essentiellement les staphylocoques à coagulase négative (38%) puis les *Staphylococcus aureus* (27%), les *Candida sp* et les *entérobactéries*.

**Tableau 3 : Étiologie des Bactéries des cathéters veineux périphérique (Boudelal, 2013) .**

	<b>Bactéries</b>	<b>Pourcentage d'infection (%)</b>
<b><u>Gram positif</u></b>	<i>Staphylocoques blancs</i>	<b>32.5</b>
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<b>19.1</b>
	Autre Bactéries à Gram +	<b>4.8</b>
<b><u>Gram négatif</u></b>	<i>Entérobactéries</i>	<b>34.9</b>
	<i>P.aeruginosa</i>	<b>25.3</b>

	Autre Bactéries à Gram -	2.4
--	--------------------------	-----

## Chapitre II : Généralités sur *Staphylococcus aureus*

### 1. Historique :

Les *Staphylococcus aureus* ont été d'abord identifiées comme des bactéries pathogènes au 19<sup>e</sup> siècle. Dans 1880, Alexander Ogston a observé pour la première fois des grappes de bactéries ressemblant à du raisin dans le pus d'un abcès chirurgical dans une articulation du genou et les a nommées *Staphylococcus* (staphyle grec, «une grappe de raisin; kokkos,« grain ou baie) (Khan, 2017) .

En 1884, le médecin allemand Friedrich Julius Rosenbach a pu faire croître les organismes en culture pure et les a classés selon leur pigmentation : *S.aureus* (dorées) et *S.albus* (blanches). Ces bactéries ont été initialement classées sous le genre des *Micrococcus*. Dans les années 1900 les genres *Staphylococcus* et les *Micrococcus* ont été regroupés au sein de la famille des *Micrococcaceae* mais après certaine période la famille des *Staphylococcaceae* qui inclue le genre *Staphylococcus* était créée grâce à des analyses chimiques qui peuvent différencier entre les deux genres précédents (Accarias, 2014) .

### 2. Taxonomie :

Les staphylocoques appartiennent à la famille des Staphylococcacæ qui appartient au phylum des Firmicutes, à la classe des Bacilli et à l'ordre des Bacillales et contiennent cinq genres : *Jeotgalicoccus*, *Macrococcus*, *Nosocomiicoccus*, *Salinicoccus* et *Staphylococcus* .

La classification du Staphylocoque a été réalisée sur la base d'analyses des séquences des gènes codants pour l'ARN ribosomal (ARNr) 16S . Ce dernier comprend 45 espèces et sous espèces (Tableau 04) dont dix sept ont été retrouvées chez l'homme. La coloration de Gram, la morphologie des colonies sur milieux gélosés et divers tests biochimiques ont permis l'identification du genre *Staphylococcus* et l'espèce *Staphylococcus aureus*. En cas de résultats contradictoires entre les tests de la coagulase et d'agglutination, l'identification peut être effectuée des galeries de tests biochimiques ou des sondes nucléiques spécifiques de *Staphylococcus aureus* (Touaitia, 2016).

**Tableau 04 : Présentation des espèces qui constituent le genre *Staphylococcus* (Garrity et al., 2002) .(\*espèces retrouvées chez l'homme)**

1. <i>Staphylococcus arlettae</i>	24. <i>S. intermedius</i> *
2. <i>S. aureus subspecies aureus</i> *	25. <i>S. kloosii</i>
3. <i>S. aureus subspecies anaerobius</i>	26. <i>S. lentus</i>
4. <i>S. auricularis</i> *	27. <i>S. lugdunensis</i> *
5. <i>S. capitis subspecies capitis</i> *	28. <i>S. lutrae</i>
6. <i>S. capitis subspecies urealyticus</i>	29. <i>S. muscae</i>
7. <i>S. caprae</i> *	30. <i>S. pasteurii</i> *
8. <i>S. carnosus subspecies carnosus</i>	31. <i>S. piscifermentans</i>
9. <i>S. carnosus subspecies utilis</i>	32. <i>S. pulvereri</i>
10. <i>S. chromogenes</i>	33. <i>S. saccharolyticus</i> *
11. <i>S. cohnii subspecies cohnii</i> *	34. <i>S. saprophyticus subspecies saprophyticus</i> *
12. <i>S. cohnii subspecies urealyticus</i>	35. <i>S. saprophyticus subspecies bovis</i>
13. <i>S. condimentii</i>	36. <i>S. schleiferi subspecies schleiferi</i> *
14. <i>S. delphini</i>	37. <i>S. schleiferi subspecies coagulans</i>
15. <i>S. epidermidis</i> *	38. <i>S. sciuri subspecies sciuri</i>
16. <i>S. equorum</i>	39. <i>S. sciuri subspecies carnaticus</i>
17. <i>S. felis</i>	40. <i>S. sciuri subspecies rodentium</i>
18. <i>S. fleurettii</i>	41. <i>S. simulans</i> *
19. <i>S. gallinarum</i>	42. <i>S. succinus</i>
20. <i>S. haemolyticus</i> *	43. <i>S. vitulinus</i>
21. <i>S. hominis subspecies hominis</i> *	44. <i>S. xylosum</i> *
22. <i>S. hominis subspecies novobioceticus</i>	45. <i>S. warneri</i> *
23. <i>S. hyicus subspecies hyicus</i>	

Selon la 9<sup>ème</sup> édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, l'espèce *S. aureus* est classé comme suivant :

**Règne :** Procaryota

**Domaine :** Bacteria

**Division:** Firmicutes

**Classe :** Bacilli

**Ordre :** Bacillales

**Famille :** Staphylococcaceae

**Genre :** *Staphylococcus*

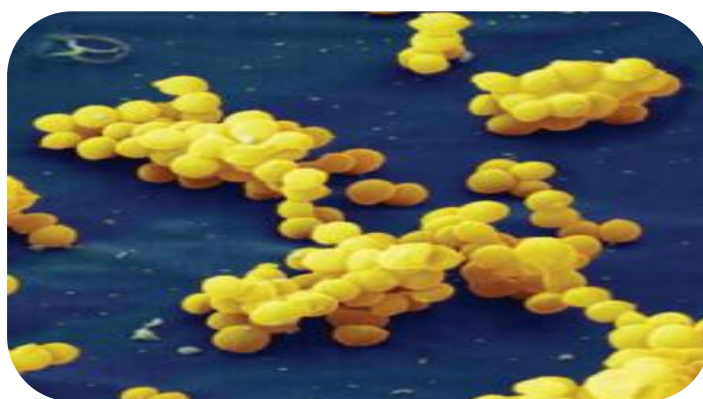
**Espèce :** *Staphylococcus aureus*

### 3. Habitat :

*S. aureus* est une bactérie qui coexiste avec la peau et les muqueuses, principalement de la cavité nasale. D'autres endroits où les bactéries peuvent entrer, comprennent le pharynx, les intestins, le périnée et les aisselles (Guillemot, 2015) . Il est hautement adaptable et résilient et peut survivre à un large éventail d'habitats.

Les bactéries peuvent être rarement isolées du sol, de l'eau douce, du sable de plage, de l'eau de mer ou des surfaces végétales. Plus précisément, il existe largement dans les poussières dispersées dans l'air et sur les surface (Touaitia, 2016) .

### 4. Caractéristiques structurales et physiologiques :



**Figure 03 : Micrographie électronique à balayage du *Staphylococcus aureus*, cocci disposé comme des grappes de raisins (Prescott, 2008).**

*Staphylococcus aureus* est une bactérie à Gram positif et a une forme sphérique (cocci). Il est généralement disposé en amas , diplocoques pour former les colonies(Figure03). L'observation sous un microscope électronique à balayage a montré que les cellules sphériques se rapprochent avec une surface qui possède nombreux protéines . Le diamètre de ce cocci varie de 0,5 à 1,0  $\mu\text{m}$ . Il est immobile , non sporulé , rarement encapsulé et porter une enveloppe qui protège la membrane cytoplasmique entourant une paroi épaisse et riche en peptidoglycane et en acides téichoïques (Enany, 2017) .

*S.aureus* est un organisme aéro-anaérobie facultatif qui forme des colonies avec une pigmentation jaunes dorées , due aux caroténoïdes produits par l'organisme , assez grandes sur un milieu gélosé riche en nutriments. En raison de la production de quatre types d'hémolysine cet organisme présente généralement des phénomènes hémolytiques dans le sang. Ce germe a la capacité de produire la coagulase, un facteur de virulence qui aide à

l'identifier, il est tolérant au sel et peut se développer sur un milieu gélose au sel de mannitol contenant 7,5% de chlorure de sodium et aussi tolérer une faible activité en eau ( $A_w = 0,83$ ). Sa température optimale de croissance est 37°C ( mésophile) , c'est une bactérie neutrophile avec un pH optimale de (7.4 à 7.6 ) (**Touaitia, 2016** ) . La culture de *S.aureus* est rapide sur le milieu sélectif Chapman, après 24h,les colonies observées sont lisses , opaques , plus ou moins bombées avec une pigmentation jaune doré et un diamètre de 1.5 à 2 mm . Ce milieu va subir un virage de couleur vers le jaune orange par conséquence de la fermentation du mannitol par ce cocci. Son matériel génétique est présenté par un seul chromosome circulaire de 2.8 Mb , non stable génétiquement grâce à son faible teneur en guanine et cytosine ( GC%) , il possède aussi constituants génétiques mobiles tels que des plasmides, des prophages issus de phages tempérés ou même des éléments transposables comme les transposons, intégrons, séquences d'insertion, cassettes chromosomiques ou des îlots de pathogenicité (**Malachowa, 2010**).

#### **5. Facteurs de virulence :**

*S.aureus* est un pathogène opportuniste qui produit plusieurs facteurs de virulence (Figure 04) qui ont pour but d'entamer la colonisation des tissus de l'hôte, des facteurs d'inhibition du phagocytose, des toxines qui servent à la lyse cellulaires et engendrer des syndromes pathologiques ( **Alioua, 2015**).

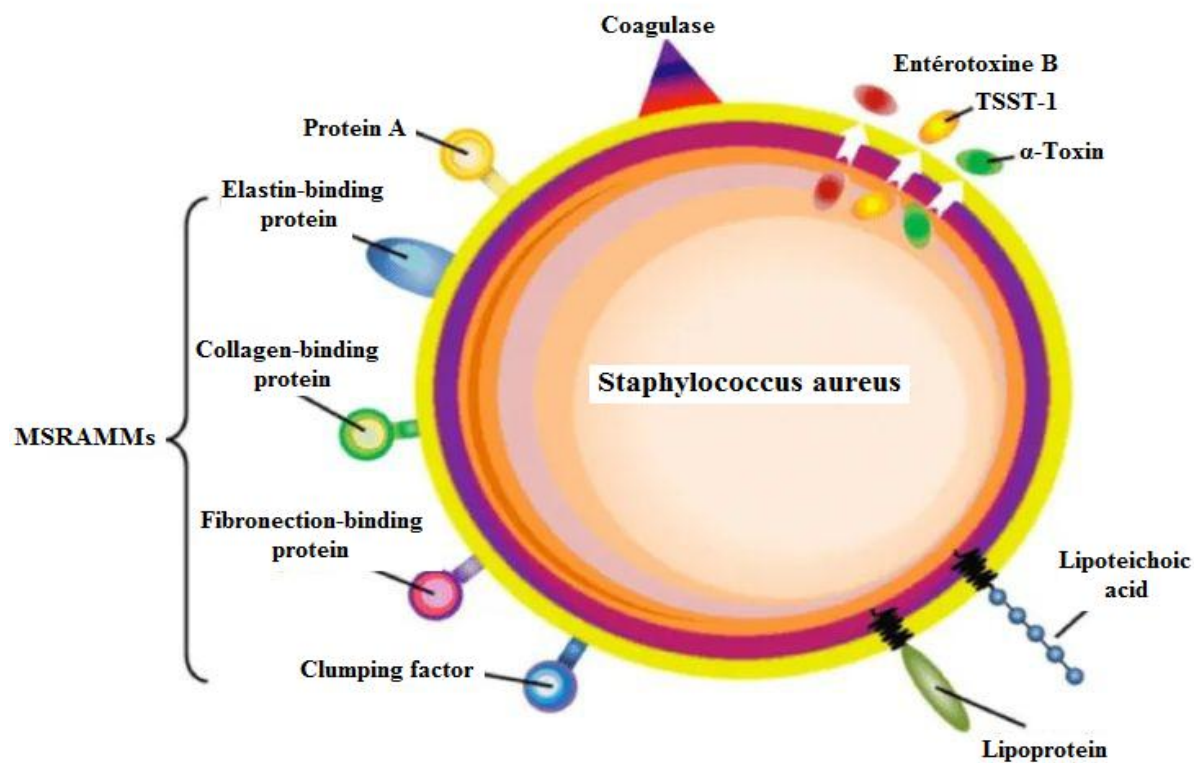


Figure 04 : Les facteurs du virulence de *Staphylococcus aureus*

(Tankechwar, 2021).

Ces facteurs (Tableau 05) permettent cet organisme de réussir en tant qu'agent pathogène qui cause un large éventail d'infections humaines et animales .En fonction de leur mécanisme d'action , ils sont classés comme représentés dans le tableau suivant (Enany, 2017) .

Tableau 05 : Les facteurs de virulence de *S.aureus* et leur mode d'action

(Alioua, 2015)

Toxine/facteur de virulence (gène)	Pouvoir pathogène
Protéine A (spa)	- Invasion des défenses de l'hôte
Collagène lié à la protéine (cna)	- Adhésion au collagène
Fibronectine liée à la protéine A, B (fnbA, B)	-Attachement à la fibronectine
Clumping factor A, B (clf A, B)	- Adhésion au fibrinogène
Staphyloferrin A, B (SA, SB)	- Fixation à la lactoferrine et à la transferrine
Coagulase (coa)	- Liaison au fibrinogène.

Staphylokinase (sak)	- Invasion des défenses de l'hôte
FAME	- Modification des lipides antibactériens de l'hôte
Toxine exfoliative A, B, D (eta , etb ,etd)	- Cause le syndrome de la peau ébouillantée (SSSS), impétigo bulbeux, syndrome de Ritter chez le nouveau-né
Entérotoxine A-E, H (sea-e, h)	- Super antigène (SAg), toxi-infection alimentaire.
$\alpha$ -hémolysine (hla)	- Forme des pores à travers la membrane des cellules contaminées
Hyaluronidase (hysA)	- Invasion des tissus
Leucocidine de Panton-Valentine (lukF-PV, lukS-PV)	- Invasion de l'hôte, lyse des phagocytes de l'hôte
Staphylococcal superantigen-like SSL	- Visent les éléments de la réponse immunitaire innée.

## 6. Épidémiologie :

### 6.1 Réservoir :

Les Staphylocoques sont ubiquistes , ils peuvent vivre :

- En saprophytes dans l'environnement extérieur
- En commensaux les épithéliums de l'homme et des animaux

### 6.2 Transmission :

*Staphylococcus aureus* existe dans différentes parties du corps, telles que la peau, le rectum, le tractus gastro-intestinal et les aisselles. La narine antérieure est le réservoir principal. Ce pathogène peut pénétrer dans la zone de contact de la muqueuse nasale à partir du point symbiotique de la peau, puis interagir avec les ligands des cellules. Une fois les défenses de l'hôte surmontées, *S. aureus* peut se propager aux narines antérieures, rendre l'hôte un porteur nasal de *Staphylococcus aureus* dont les mains sont le vecteur principale pour transmettre ce cocci dès surfaces au née (**Wertheim et al, 2005**). Des études ont mis en évidence que la colonisation nasale humaine peut se mettre aux premiers jours de vie grâce au contact mère-enfant (**Leshem et al, 2012**).

Bien que peu fréquente, la transmission par voie aérienne est une autre voie possible de *S.aureus* dessemination et engendrer des infections nosocomiales ,et aussi cette transmission peut être de façon indirecte par les objets et poussières.( **Ghernaout, 2013**).

## **7. Les infection à *Staphylococcus aureus* :**

### **7.1. Types d'infection :**

**7.1.1. Les toxémies :** En sécrétant des toxines *in vivo* au cours d'une infection par *S.aureus* peut provoquer des pathologies graves telles que le syndrome du choc toxique, qui reste rare mais mortel. En revanche la sécrétion d'entérotoxines, peut conduire à une intoxication alimentaire suite à l'ingestion d'aliments contaminés (**Accarias, 2014**) .

**7.1.2. Les infections suppuratives :** La pénétration du *S.aureus* via l'épithélium, particulièrement à la faveur d'une brèche engendre des infections cutanéomuqueuses qui peuvent rester locales ainsi que, un point de départ des suppurations profondes ou d'infections généralisées et entrainer une septicémie dans certains cas, accompagnées du purpura fulminas (**Jarraud, 2002 ; Kravitz, Dries, Peterson, Shlievert, 2005** ).

### **7.2. Acquisition de l'infection :**

**7.2.1. Les infections communautaires :** Dans une communauté, majoritairement les infections à *S.aureus* sont des infections cutanées ou des tissus mous. Cependant les cas mortels ont également été signalés comme une pneumonie nécrotique ou des septicémies. Ces infection sont fréquentes chez les enfants plus que chez les adultes, même si le système immunitaire est fonctionnel , l'individu infecté n'exprime pas un prédisposition particulière et leurs causes restent mal connues (**Sivaraman, 2009; Maltezou, Giamarellou, 2006; Herold, 2005**).

**7.2.2. Les infections nosocomiales :** Selon l'OMS, les infections nosocomiales sont des « infections survenant chez un patient admis à l'hôpital ou dans un autre établissement de santé pour une raison autre que cette infection et chez qui elle n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission ». Le manque d'hygiène du personnel soignant ou du matériel médical dans les hôpitaux est le biais de la transmission de ces infections. En parallèle, lors d'une chirurgie ou à la suite de soins post-opératoires, les porteurs sains sont également en

risque d'être exposé à une infection à *S.aureus* qui représente la cause principale de bactériémie, d'infections de la peau et des tissus mous d'endocardites et de pneumonies aux hôpitaux (**Boucher, Corey, 2008 ; Keene, Vavagiakis, 2005**).

Les personnes âgées, les jeunes enfants ou les immunodéprimés ont les plus susceptibles à être infectés par ce pathogène. Puisque l'émergence de résistances multiples de *S.aureus* aux antibiotiques, le taux de mortalité causée par ce germe, ne cesse d'augmenter (**Lowy, 2003 ; Solberg, 2000 ; Maltezou, Giamarellou, 2006**).

### **Chapitre 3 : Généralité sur le biofilm et la résistance aux antibiotiques**

#### **1. Historique :**

Les bactéries peuvent adopter deux modes de vie différents , Elles sont soit libres et isolées dans un milieu (état planctonique), soit attachées à une surface ou elles vivent en communauté au sein d'un biofilm (état sessile). **Claude E. Zobell** a été l'un des premiers chercheurs à observer des biofilms en 1943.

Le terme de biofilm a été proposé en 1978 par **Costerton J. W** pour désigner une communauté de micro-organismes enrobés d'une matrice hydratée, riche en polymères extracellulaires, et en contact avec une surface. En 1982 **Christensen et al** 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 culture, puis ils ont visualisé cette substance extracellulaire par une coloration au bleu alcian en microscopie électronique à balayage. Ces auteurs ont écrit 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*. 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.

#### **2. Définition du biofilm :**

Les biofilms bactériens sont généralement définis comme des agrégats de cellules de bactériennes attachés à une surface et enrobés d'une matrice polymérique (**Hall-Stoodley et al., 2004 ; Muhsin et al., 2015**). Les bactéries peuvent tout aussi bien adhérer à une surface biotique, qu'à une surface abiotique (**Muhsin et al.,2015**).Ainsi, le biofilm est défini comme étant une association de microorganismes, dans laquelle les cellules se collent l'une à l'autre sur une surface recouverte par une matrice de substances extracellulaires polymériques produites par les bactéries elle mêmes (**Costerton et al.,1999 ; Hall-Stoodley et al., 2004 ; Muhsin et al., 2015**).

#### **3. Les étapes de formation du biofilm :**

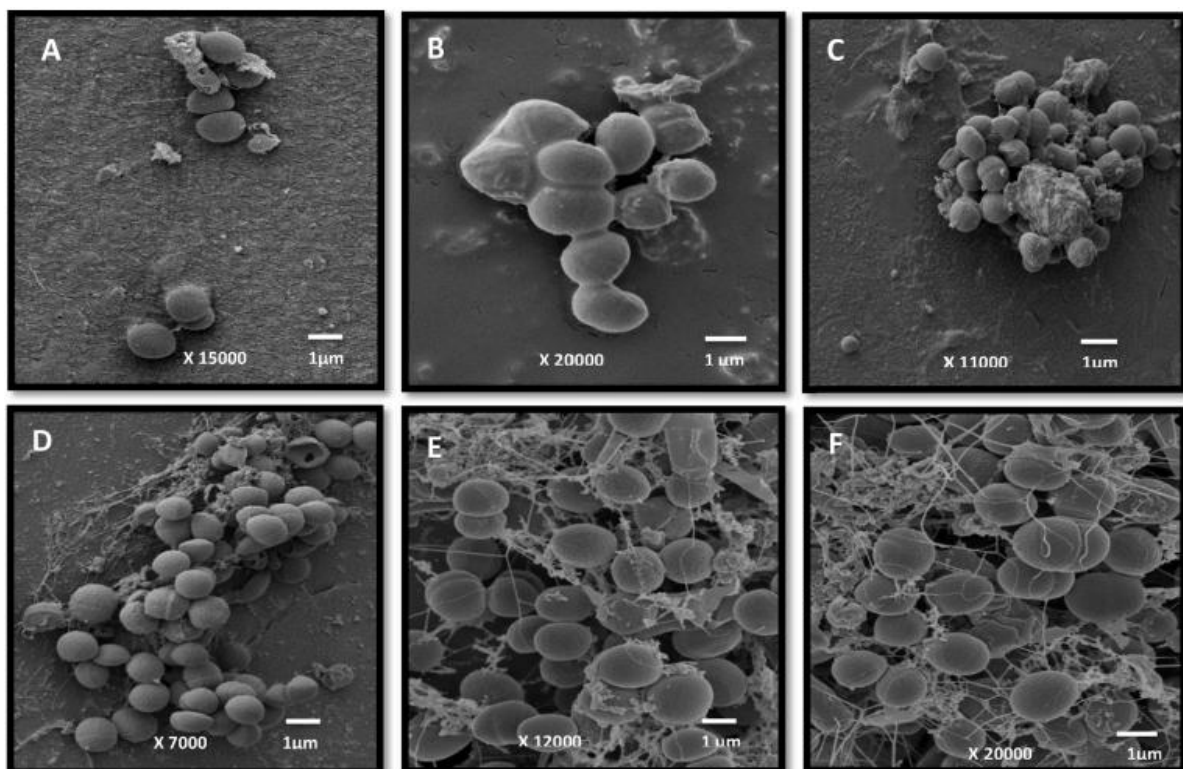
Les biofilms ont un cycle de vie, qui peut être considéré comme un équilibre dynamique entre les phénomènes qui tendent à en augmenter l'épaisseur (multiplication des cellules) et

---

---

les phénomènes qui tendent à en réduire l'épaisseur (mécanismes de détachement). (Squinazi, 2013 ; Baudin, 2017).

Il existe cinq principales étapes du cycle de vie des biofilms (Figure 05) : attachement réversible (ou initial), attachement irréversible, prolifération, maturation et la dispersion (Sauer et al., 2002). Chaque étape de la formation du biofilm est régulée et requiert une reprogrammation de l'expression génique des microorganismes sessiles, résultant d'une réponse à un environnement changeant (Schembri et al., 2003).



**Figure 05 : Les étapes de la formation d'un biofilm par *Staphylococcus aureus* sur catheters, visualisées par microscopie électronique à balayage (Rebiahi et al., 2014).**

**A :** adhésion des cellules sur une surface. **B :** regroupement des cellules en structure tridimensionnelle. **C :** synthèse visible de la matière polysaccharidique. **D :** réticulation entre les différentes cellules par la matière polysaccharidique. **E et F :** maturation du biofilm.

### 3.1. L'adhérence réversible :

Il mise en jeu des interactions faibles entre le microorganisme et la surface: il fait intervenir des interactions physicochimiques de faible énergie telles que les forces de Van Der Waals et électrostatiques. C'est également une étape courte, de l'ordre de minute et pendant cette

période, les forces d'adhésion entre les bactéries et la surface augmentent rapidement (**Dunne, 2002 ; Shurtleff et al., 2002 ; Busscher et van der Mei, 2006 ; Boks et al., 2008**).

La mobilité flagellaire joue également un rôle essentiel dans l'initiation de la plupart des biofilms permettant entre autre de surmonter les forces de répulsion existant entre la cellule et la surface à coloniser, et peut aussi contribuer à l'adhésion cellulaire en augmentant la probabilité de contact entre la cellule et la surface (**Verstraeten et al., 2008**).

Il faut cependant savoir que les bactéries utilisent différentes approches pour former les biofilms. Certaines bactéries formatrices de biofilm ne possèdent pas de flagelles comme *Staphylococcus aureus* et *S.epidermidis*. L'absence de flagelles est compensée par l'existence d'autres molécules adhésives, comme les curli, permettant l'attachement de la bactérie à la surface (**Wang et al., 2004**).

### 3.2. L'adhérence irréversible :

Il mise en jeu des liaisons permanentes entre ces derniers. Il est grandement dépendant des espèces microbiennes et des propriétés physicochimiques du matériau de la surface en jeu (**Renner et Weibel, 2011**).

Il fait intervenir des interactions de plus forte énergie telles que des interactions moléculaires et cellulaires spécifiques. Il s'agit d'une étape plus longue, de l'ordre de l'heure. A cette étape, les interactions spécifiques entre les structures de la surface microbienne et la surface du matériau deviennent prédominantes. En effet, cette étape requiert des liaisons solides entre support et microorganisme via les fonctions adhésives des structures polymériques de surface bactérienne. Pour les bactéries à Gram négatif, il s'agit des pili, des curli, des capsules et du glycocalix et pour les bactéries à Gram positif, ce sont les acides teichoïques, l'acide mycolique, la capsule et le glycocalix (**Prigent-Combaret et al., 2000 ; Van Houdt et Michiels, 2005 ; Prüß et al., 2006 ; Lemon et al., 2008**).

Le flagelle est généralement perdu à cette étape pour laisser place à l'élaboration de ces structures adhésives. C'est également à cette étape que les cellules commencent à synthétiser et à sécréter les polymères de la matrice extracellulaire permettant aux bactéries de consolider leur fixation sur la surface. La synthèse des EPS, qui débute dès les premières étapes d'adhésion, se poursuit pendant la maturation du biofilm et la matrice peut alors occuper jusqu'à 75-95 % du volume d'un biofilm mature (**Kuchma et al., 2005 ; Baudin, 2017**).

### **3.3. Prolifération :**

Une fois les microorganismes sont solidement attachés à la surface, la croissance de biofilm peut se poursuivre. Le développement des microcolonies est observé, l'augmentation de leurs taille par la division cellulaire et la production de matrice extracellulaire aboutit aux structures tridimensionnelles complexes du biofilm (**Chlielewski et Frank, 2003**).

### **3.4. Maturation:**

Le développement et la maturation des biofilms impliquent une communication entre les cellules constituant le biofilm par la détection de molécules signal produites par les microorganismes eux-mêmes et leur donnant une indication sur la densité de cellules présentes dans le milieu (**Baudin, 2017**).

Avec la maturation du biofilm, des changements environnementaux en son sein ont lieu, notamment associés à une diminution de la disponibilité en nutriments, une augmentation de la concentration de métabolites sécrétés, entraînant une modification de l'expression génique des cellules du biofilm (**Tenke et al., 2006 ; Grasteau, 2011**).

### **3.5. Dispersion :**

Lorsque l'épaisseur maximale du biofilm est atteinte, le biofilm subit des phénomènes de dispersion. La dispersion est l'étape permettant aux microorganismes au sein du biofilm de retourner à un état planctonique. Celle-ci permet aux individus de promouvoir une diversité génétique, de fuir un environnement défavorable ou bien de coloniser de nouvelles niches écologiques engendrant la formation d'autres biofilms (**Sauer et al., 2002 ; Parsek et Greenberg, 2005 ; Clutterbuck et al., 2007**).

La dispersion est considérée comme duelle : dispersion active et dispersion passive. La dispersion active est initiée par les bactéries mêmes du biofilm afin de s'échapper de celui-ci. Il s'agit donc d'une dispersion relevant de mécanismes biologiques (**Morgan et al., 2006 ; Baudin, 2017**). La dispersion passive est quant à elle relayée par des forces externes appliquées au biofilm qui décrochent les bactéries du biofilm. Il s'agit donc d'une dispersion relevant de mécanismes physicochimiques (**Davies, 2011 ; Dougald et al., 2012**).

#### **4. Biofilm sur cathéters :**

L'étape initiale des infections sur cathéters intra-vasculaires serait le dépôt d'un film protéique et plaquettaire à la surface du cathéter; Ce film favoriserait l'adhésion et l'accumulation secondaire de microorganismes, de protéines et de plaquettes.

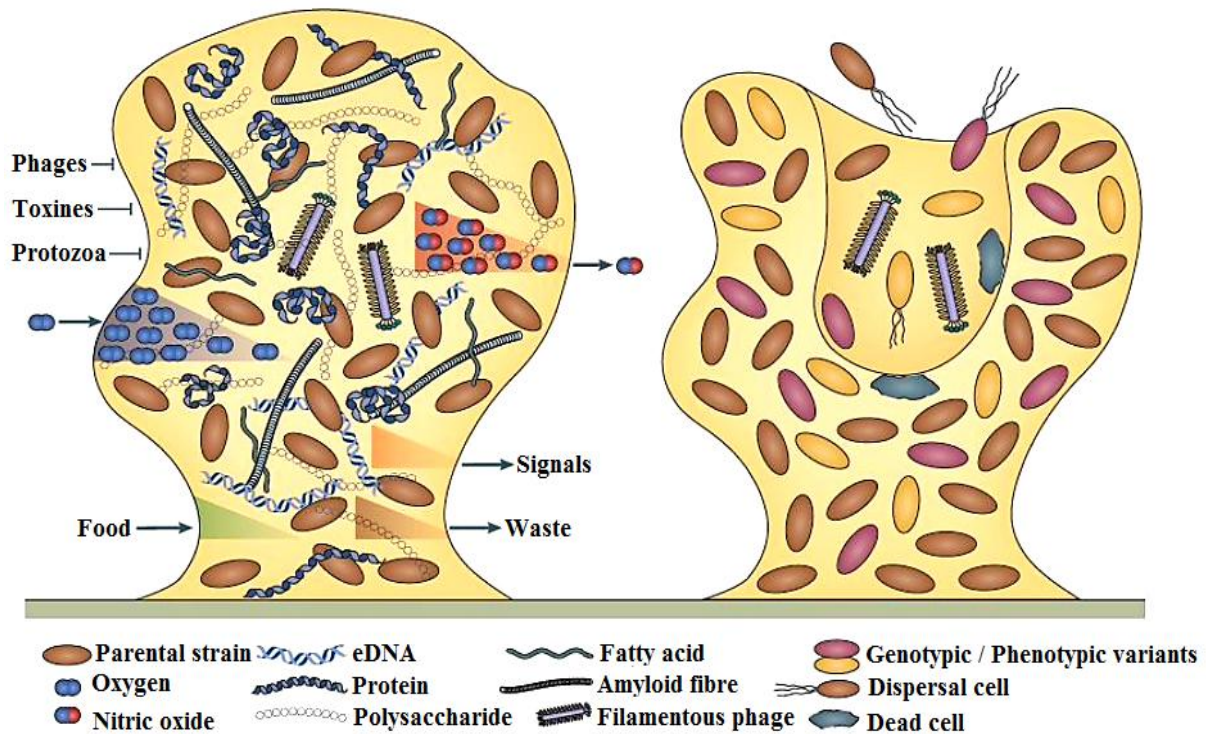
Trois facteurs entraînaient en jeu : l'hôte, chez lequel le déficit de la phagocytose des polynucléaires entraînaient l'incapacité d'éradiquer les germes, le matériel qui servirait d'ancrage aux protéines sériques, et enfin des facteurs liés à la bactérie comme cela a été étudié chez les staphylocoques. Ces bactéries produisent des adhésines, des substances polysaccharidiques favorisent l'adhésion et une substance exopolysaccharidiques, le "slime" qui est excrété lors de la prolifération des staphylocoques adhérant à la surface (**Carrière et Marchandin, 2001**).

#### **5. L'organisation du biofilm :**

**5.1. Composition :** Les microorganismes et la matrice synthétisées sont les composants essentiels d'un biofilm (Figure 06) qui peut être composé non seulement de plusieurs types microbiens ( bactéries, protozoaires, algues, mycètes ) mais aussi il peut être constitué d'un seul type. (**Branger et al., 2007 ; Alnnasouri, 2010**). Ils représentent 2 à 15% de matériel de ce regroupement microbien selon l'espèce qu'il compose. La matrice extra-cellulaire qui représente 50 à % de la masse du biofilm, elle sert à protéger les microcolonies et se compose essentiellement de l'eau, des exopolysaccharides et des débris cellulaires ( protéines, acide nucléique, lipides) (**Bellifa, 2014**).

**5.2. Organisation :** Le biofilm est construit de façon qui assure la circulation du fluide et permettre la nutrition permanente des microorganismes par le biais des canaux aqueux .

C'est un milieu hétérogène puisqu'il présente des régions diversifiées en terme de teneur en oxygène et en nutriments dans lequel les zones au centre sont anaérobies et pauvre en nutriments, alors que les zones situées à l'interface du biofilm ou près des canaux sont les plus riches en nutriments et mieux oxygénées. (**Nadji ; Mizou, 2015**).



**Figure 06 : La structure complexe des biofilms bactériens.( a)| Microcolonies dans le biofilm mature. (b) | Au moment de la dispersion (Dougald, 2012).**

**6. Les facteurs favorisant la formation du biofilm :** La formation du biofilm est influencé par des facteurs principales sont :

### 6.1. Caractéristiques de la surface :

La colonisation des surfaces par les microcolonies est importante lors la surface est plus rugueuse, sa capacité de former un film protéique et sa propriétés physico-chimiques: hydrophobicité, polymérisation influencent cette colonisation (Bellifa, 2014).

### 6.2. Caractéristiques du milieu :

La disponibilité de nutriments et les différents stress physico-chimiques (pH, température, présence de composés bactéricides) sont des conditions environnementales qui peuvent influencer sur la formation du biofilm (Marchal, 2010).

### 6.3. Les propriétés des cellules :

Généralement les bactéries sont chargées négativement et présenter à leur surface des zones hydrophobes. L'attachement des microorganismes sur une surface est influencer par l'hydrophobicité de la surface de la cellule, la capacité de cellule de produire des

exopolysaccharides et la présence des flagelles ou de fimbriae. Lorsque les matériaux sont moins polarisés, les liaisons hydrophobes deviennent importantes. Toutes les souches bactériennes n'ont pas la même capacité à coloniser les surfaces alors il y peut voir une compétition entre eux pour assurer l'adhérence (**Boukhelifa, 2017**).

#### **7. Le Quorum Sensing du *Staphylococcus aureus* :**

Le Quorum sensing est un système de communication entre les cellules, il est basé sur la synthèse, l'émission et la réception des auto-inducteurs, la concentration de ce dernier peut contrôler le développement du biofilm ainsi la synthèse des facteurs de virulence. Chez les bactéries à Gram+, ces molécules sont des oligopeptides. Chez *S. aureus*, ces molécules sont très spécifiques et particulières et peuvent aussi distinguer entre deux souches d'une même espèce. L'expression des facteurs de virulence du *S. aureus* et des staphylocoques en général, est contrôlée par un régulateur global nommé agr (accessory gene regulator). Cette communication permet aussi le phénomène de conjugaison seulement entre les cellules situées dans la même strate de biofilm (**Djeloul, 2010**). Cette régulation est importante pour le moment de l'expression du facteur de virulence pendant l'infection et le développement d'une maladie aiguë, tandis que la faible activité d'Agr est associée à des infections staphylococciques chroniques. En conséquence, les médicaments inhibant l'agr sont évalués pour leur capacité à contrôler les formes aiguës de l'infection à *S. aureus* (**Katherine et Michael, 2015**).

#### **7. La résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques :**

*S. aureus* a développé des aptitudes de résistance approximativement à tous les antibiotiques sur le marché (Tableau 06), ces mécanismes impliqués incluent : la synthèse des enzymes inactivatrices, la modification de la cible des antibiotiques et des systèmes d'efflux pour diminuer la concentration de l'ATB dans la cellule (**Bouhadjar et Terbeche, 2017**).

**Tableau 06 : La résistance du *S.aureus* aux certains antibiotiques  
( Alioua, 2015 ; Touaitia, 2016).**

L'antibiotique	La famille	Mode d'action	Mécanisme de résistance
Pénicilline A et G	Béta-lactamine	Les $\beta$ -lactamines agissent sur les protéines liant la pénicilline (PLP) qui ont une activité transpéptidase sur la paroi, fixation covalente entre les PLP et les $\beta$ -lactamines inhibe des réactions de transglycosylation et transpéptidation consécutif à l'acylation des PLP.	Production de l'enzyme $\beta$ -lactamase qui hydrolyse le cycle $\beta$ -lactame des pénicillines.
Fluoroquinolones	Quinolones	Les fluoroquinolones vont interagir avec les complexes ADN/topoisomérase et inhibe le surenroulement d'ADN.	Mutation ponctuelle au niveau de l'un des (gyrase/topoisomérase) cibles de l'ATB.
Vancomycine et Teicoplanine	Glycopéptides	Ces deux molécules lient avec le dimère D-alanyl-D-alanine qui est en position terminale de la chaîne pentapeptidique du peptidoglycane et inhibent sa synthèse.	D-alanyl-D-alanine se trouve en abondance dans la paroi de <i>S.aureus</i> alors il va piéger et immobiliser l'ATB et réduire sa pénétration dans la bactérie .

Érythromycine / Lincosamide / Clindamycine .	Macrolides	Elle inhibe la synthèse des protéines bactériennes en se liant à la partie 50s du ribosome et empêcher la translocation peptidique.	Modifier la cible ribosomale par méthylation de l'adénine en position 2058 de l'ARNr 23S pour empêcher la fixation de l'antibiotique sur la sous-unité 50S des ribosomes.
Chloramphénicol	Phénicolés	Il empêche la liaison du complexe amino-acyl-ARNt à la sous-unité 50S du ribosome et donc la réaction de transpeptidation.	La sécrétion de l'enzyme chloramphénicol acétyltransferase (CAT) qui neutralise l'antibiotique.
Rifampicine	Ansamycines	Elle inhibe l'ARN polymérase qui est un enzyme responsable de la transcription.	Une mutation sur le gène rpoB qui code la sous-unité $\beta$ de l'ARN polymérase-ADN dépendante pour que l'ATB ne pourra plus agir avec .
Kanamycine / tobramycine/ Néomycine.	Aminosides	Ils inhibent la synthèse protéique, lors la fixation sur la sous-unité 30S du ribosome bactérien.	Production de l'enzyme inactivatrice : Aminoglycoside adényltransferase.
La daptomycine	Lipopeptides	En présence de $Ca^{2+}$ , elle s'intègre dans la membrane cytoplasmique en formant des pores transmembranaires par	Diminuer la fixation d'ATB sur la membrane cytoplasmique grâce à une perte d'une protéine

		polymérisation et entraîner la mort de cellule par fuite ioniques.	membranaire.
Méticilline	Béta-lactamine	Comme tous les $\beta$ -lactamines, elle Inhibe de la synthèse du peptidoglycane de la paroi entraînant la mort de la cellule .	Modification de la cible principale (PLP2) par la PLP2a qui est codé par le gène <i>mecA</i> , elle possède une faible affinité vis-à-vis des $\beta$ -lactamines avec la capacité de catalyser seule l'assemblage du peptidoglycane lorsque les autres PLP sont inactivées.
Tétracycline	Cyclines	Elle agit en niveau de la sous-unité 30S du ribosome et inhiber l'élongation peptidique .	Entraînant un eflux actif au cet ATB par les protéines <i>TetK</i> situées dans la membrane interne ou la protection des sites actifs de ribosome par les protéines <i>TetM</i> et <i>TetO</i> .



*PARTIE II*  
*Matériel et*  
*Méthodes*

Notre sujet "Evaluation de la formation de biofilm par *Staphylococcus aureus* isolées des différents cathéters " concerne une étude en domaine médical dans lequel les dispositifs médicaux doivent être traités.

Pour appliquer notre expériences, on a besoin des échantillons des cathéters qu'on doit les prélever à partir des patients des différents services de l'hôpital qui représente une zone de risque au vu des circonstances dans lesquelles nous vivons actuellement en raison de la pandémie de Coronavirus , qui est considérée comme est une menace sérieuse.

Dans ce cas on a décidé d'avoir besoin que notre étude sera théorique.

Pour cela, dans notre mémoire on va faire une synthèse des résultats des études de même thème.

Dans notre mémoire, nous avons choisi 4 études qui sont :

**Etude N° 1 :**

Thème : « Evaluation de la formation du biofilm par *Staphylococcus aureus* isolé du cathéter veineux périphérique », réalisé par : BOUHADJAR abdelkader et TERBECHE mohamed en 2017 à Tlemcen.

**Etude N° 2 :**

Thème : « Evaluation de la formation du biofilm par *Staphylococcus aureus* isolée de sondes urinaire », Réalisé par : Mr BOUKHELIFA Hocine.en 2017 à Tlemcen.

**Etude N° 3 :**

Thème : «Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souche de *Staphylocoques* isolées de sonde urinaire chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen», réalisée par : Mme KARA TERKI Ibtissem en 2014.

**Etude N° 4 :**

Thème : «Analyse phénotypique et quantitatification de la formation de biofilm par les bactéries d'intérêt médical», Réalisé par : CHATANE Ines et ZIADI Chaima, en 2017 à Constantine.

### **1. Prélèvements :**

Des différents cathéters (cathéters veineux périphériques / sondes urinaires) ont été prélevés à partir des patients adultes hospitalisés plus de 48h dans différents services des hôpitaux (service de Réanimation, service d'Urologie et service de Neurologie).

### **2. Ensemencement:**

Selon la technique quantitative de **Brun Buisson, (1987)** l'extrémité distale des cathéters (5cm) est coupée puis mise dans un tube contenant 5mL de sérum physiologique puis agité au vortex, un volume de 0,1mL est ensemencé par étalement en surface du milieu gélose Chapman sélectif des staphylocoques. Les boîtes ensemencées sont incubées à 37°C pendant 18 à 24 heures.

### **3. Isolement et purification:**

Après incubation, Les colonies sont repérées selon leurs aspects morphologiques puis elles sont isolées et purifiées sur les même milieux jusqu'à l'obtention de colonies pures.

Les *Staphylococcus aureus* donnent des colonies jaunes bombées de 1 à 2 µm de diamètre dégradant le mannitol en acide lactique sur Chapman (abaissement de pH = acidification de milieu).

### **4. Identification :**

L'identification bactérienne est réalisée par les méthodes conventionnelles de microbiologie :

- \* Examen macroscopique, examen microscopique des cultures sélectionnées après la coloration différentielle de gram.
- \* Recherche de coagulase et DNase.
- \* Identification des caractères biochimiques à l'aide des galeries API Staphylocoque.

#### **4.1. Recherche de coagulase :**

##### **4.1.1. Principe :**

Ce test est utilisé pour différencier *S. aureus* des autres cocci à Gram positif. Cette enzyme est produite sous deux formes ; coagulase liée et libre. La coagulase liée est fixée à la paroi bactérienne et réagit directement avec le fibrinogène dans le plasma qui se précipite en une masse visible (**Leboffe et Pierce, 2011**).

#### **4.1.2. Technique :**

Le test est réalisé en mettant une colonie dans un tube contenant 0,5 ml de BHIB puis incubé à 37°C/ 24h.

Après l'incubation on ajoute 0,5 ml de plasma sanguin humain et incubé à 37°C/ 24h.

#### **4.1.3. Lecture :**

Le *Staphylococcus aureus* provoque une coagulation du plasma qui indique une coagulase positive.

### **4.2. Test DNase (Désoxyribonucléase) :**

#### **4.2.1 Principe :**

Certaines bactéries sont capables de dégrader l'acide désoxyribonucléique incluse dans le milieu de culture grâce à la DNase. La mise en évidence chez les *Staphylococcus* d'une DNase thermostable suffit à l'identification des souches *S.aureus* (Denis et al., 2016).

La réaction catalysée est comme suit :



#### **4.2.2. Technique :**

Le test est réalisé sur une boîte de Pétri contenant la gélose à ADN à partir d'une culture de 18h à 24h (souche de *S.aureus* à étudier) ont ensemencé par simple strie centrale sur un milieu gélosé (gélose à l'ADN) puis incubée à l'étuve à 37°C pendant 24h. La mise en évidence de la DNase est révélée par l'ajout d'acide chlorhydrique (HCL) à 2N avec inondation de la boîte de pétri, attendre de 10 à 15 min, Enlever l'excès d'acide et rechercher la présence d'un halo clair autour d'une strie d'ensemencement.

#### **4.2.3. Lecture :**

L'apparition d'une zone claire autour des stries révèle la libération des poly-nucléotides résultant de l'hydrolyse de l'ADN du milieu, et ainsi le résultat est considéré positif.



Figure 7 : Test DNase chez *Staphylococcus aureus* (Chatane et Ziadi, 2017).

### 4.3. Galerie API Staphylocoque :

#### 4.3.1. Préparation de la galerie :

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte. (ne pas inscrire la référence sur le couvercle, celui-ci pouvant être déplacé lors de la manipulation.)
- Sortir la galerie de son emballage individuel.
- Placer la galerie dans la boîte d'incubation.

#### 4.3.2. Préparation de l'inoculum :

- Réaliser une préculture sur gélose Columbia au sang 18-24H à 36°C.
  - Ouvrir une ampoule d'API Staph Medium.
  - Préparer une suspension bactérienne homogène, d'opacité égale à 0,5 de McFarland.
- Utiliser préférentiellement des cultures jeunes (18-24 heures). Cette suspension doit être utilisée extemporanément.

#### 4.3.3. Inoculation de la galerie :

- A l'aide d'une pipette ou d'une PSipette, remplir les tubes de la galerie avec API Staph Mediumensemencé. Ne remplir que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube. Pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant.

- Créer une anaérobiose dans les tests ADH et UREE en remplissant leur cupule d'huile de paraffine pour former un ménisque convexe.
- Renfermer la boîte d'incubation.
- Incuber à 36°C pendant 18-24heures.

#### **4.3.4. Lecture et interprétation :**

- Après incubation, lire les réactions conformément au tableau de lecture en ajoutant 1 goutte de chacun des réactifs suivants :
- Test VP : VP 1 et VP : Attendre 10 minutes. une couleur rose Franche ou violette indique une réaction positive. Une couleur rose pâle ou rose claire obtenue après 10 minutes doit être considérée négative.
- Tests : NIT : NIT 1 NIT 2 : Attendre 10 minutes. Une coloration rouge indique une réaction positive.
- Tests : PAL : ZYM A et ZYM B : Attendre 10 minutes. Une coloration violette indique une réaction positive.

#### **5. Conservation :**

Toutes les souches identifiées sont conservées en double réplique sur une gélose nutritive inclinée +4°C.

#### **6. Antibiogramme :**

##### **6.1. Principe :**

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques (Tableau 07) est réalisée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton (Courvalin et Soussy, 1996). L'interprétation des résultats est effectuée selon les normes et les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (Ca-sfm, 2010). Les disques antibiotiques testés (Bioanalyse) sont représentés dans le tableau suivant :

**Tableau 07 : Liste des ATB testés (Kara Terki, 2014).**

Bactérie	N°	ATB	Abréviation	Charge (µg)
	01	Penicilin	P	10
	02	Oxacilin	OX	5

<i>Staphylococcus aureus</i>	03	Cefoxitin	FOX	30
	04	Gentamicin	GN	10
	05	Tobramycin	Tob	10
	06	Amikacine	AK	30
	07	Vancomycin	VA	30
	08	Rifampim	RA	5
	09	Fosfomycin	FF	200
	10	Acide Fusidique	AF	10
	11	Clindamycin	DA	2
	12	Pristinamycin	PT	15
	13	Erythromycin	E	15
	14	Ofloxacin	OFX	5
	15	Tetracycline	TE	30
	16	Chloramphenicol	C	30
	17	Triméthoprim	TMP	5

### **6.2. Technique :**

Un inoculum est préparé à partir d'une culture pure de 18h sur le milieu d'isolement Chapman. Quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'une anse de platine ou pipette pasteur, déchargées dans 5ml d'eau physiologique stérile à 0.9% (NaCl).

La suspension bactérienne est bien homogénéisée et ajoutée jusqu'à atteindre une opacité équivalente à 0.5 Mc Farland ( $10^8$  UFC/ml) et l'ensemencement sur milieu Mueller-Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile est trempé dans la suspension bactérienne, essoré en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum puis frotté sur la totalité de surface de haut en bas et en stries serrées.

### **6.3. Application des disques d'antibiotiques :**

Déposer les disques à la surface de la gélose inoculée et séchée (Figure 09), en les appliquant délicatement à l'aide d'une pince stérile. Une fois appliqué, les disques ne doivent pas être déplacés. Les disques doivent être laissés de 10 à 15 min à température ambiante pour permettre la diffusion de l'antibiotique.



**Figure 08 : Antibiogramme (Chatane et Ziadi, 2017).**

#### **6.4. Lecture :**

Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont comparés aux valeurs critiques, ensuite la bactérie (*S.aureus*) est classée dans des catégories : sensible, intermédiaire ou résistante.

#### **7. Evaluation de la formation des biofilm in vivo :**

##### **7.1. Méthode de plaque de culture de tissus (TCP) :**

###### **7.1.1. Principe:**

Le test TCP décrit par **O'Toole et al., (2000)** permet une évaluation quantitative de la formation du biofilm.

###### **7.1.2. Technique :**

A partir d'une culture de 18 heures dans le milieu BHIB, les puits d'une microplaque de 96 puits (polystyrène) sont inoculés avec 150  $\mu$ L de la suspension bactérienne ajustée à une DO de 0,1. Les microplaques sont incubées pendant 24 heures à 37°C. Les puits sont lavés trois fois avec l'eau distillée stérile afin d'éliminer les bactéries libres (planctoniques). Les biofilms formés par l'adhérence des organismes sessiles sont colorés avec du cristal violet (0,1%) pendant 15 min. L'excès du colorant est ensuite rincé par un lavage en profondeur avec de l'eau distillée et les plaques sont laissées pour le séchage afin d'évaluer l'importance de la coloration du biofilm (**Stepanovic et al., 2000**).

### 7.1.3. Lecture:

La classification des résultats obtenus présente sur la base du DO témoin. Les souches ont été classées (Figure 09) comme suit :  $DO \leq DO_t$  (Témoin) : non formatrice du biofilm,  $DO_t \times 2 \leq DO \leq DO_t \times 4$  : Modérée,  $DO_t \times 4 \leq DO$  : Fortement formatrice du biofilm (**Christensen et al., 1985**).



**Figure 09 : La lecture de microplaque TCP (Chibi, 2015).**

## 7.2 Méthode du Rouge Congo Agar :

### 7.2.1. Principe:

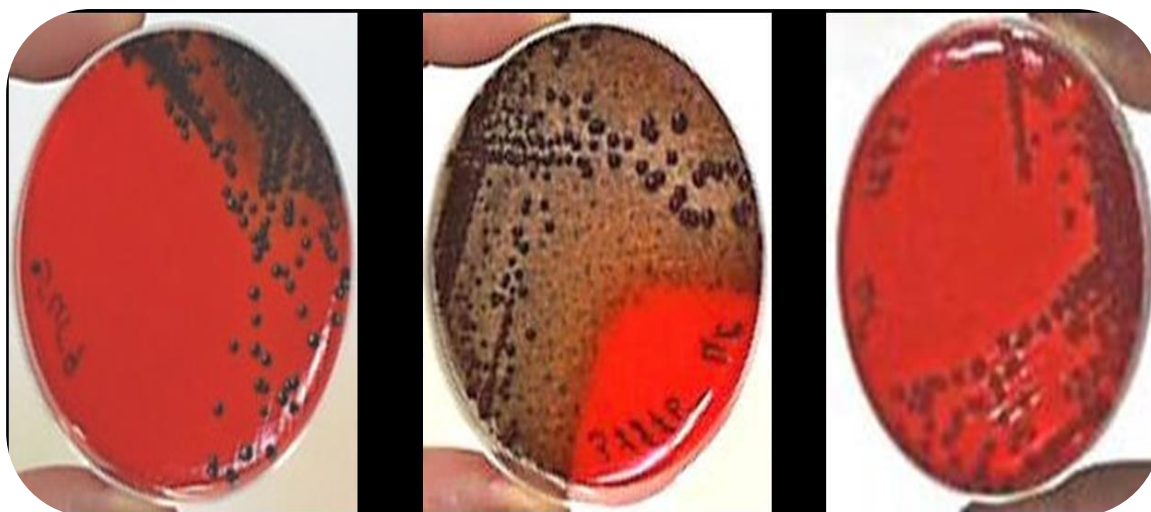
La gélose Rouge Congo Agar est un milieu très convenable pour la détection des souches productrices de slime. Sur ce milieu les souches exprimant le PIA (Polysaccharide Inter-cellular Adhésion) donnent des colonies noires avec une surface rugueuse contre des colonies de couleur rouge et à surface lisse pour les souches PIA négatives (**Ziebuhr et al., 2001**).

### 7.2.2. Technique :

La production de slime a été recherchée sur le milieu Rouge Congo Agar (RCA). Selon **Freeman et al., (1989)**, le milieu a été préparé avec 37 g/L BHIB, 50 g/L de saccharose, 10 g/L d'agar et 0,8 g/L du Rouge Congo Agar, puis autoclavé à 121°C pendant 15 minutes (**Nasr et al., 2012**). Le milieu est ensemencé avec une anse d'une suspension de la souche. La lecture a été faite après **24 heures à 37°C** (**Jain et Agarwal, 2009**).

**7.2.3. Lecture :**

Les souches productrices de slime donnaient des colonies noires à surface rugueuse contre des colonies rouges à surface lisse pour les souches non productrices (Figure 10). Les souches de phénotype variable donnaient des colonies à centre noir et à contour rouge ou à centre rouge et à contour noir (Nasr *et al.*, 2012).



**Figure 10 : Les phénotypes de production de slime (Touati *et al.*, 2007).**

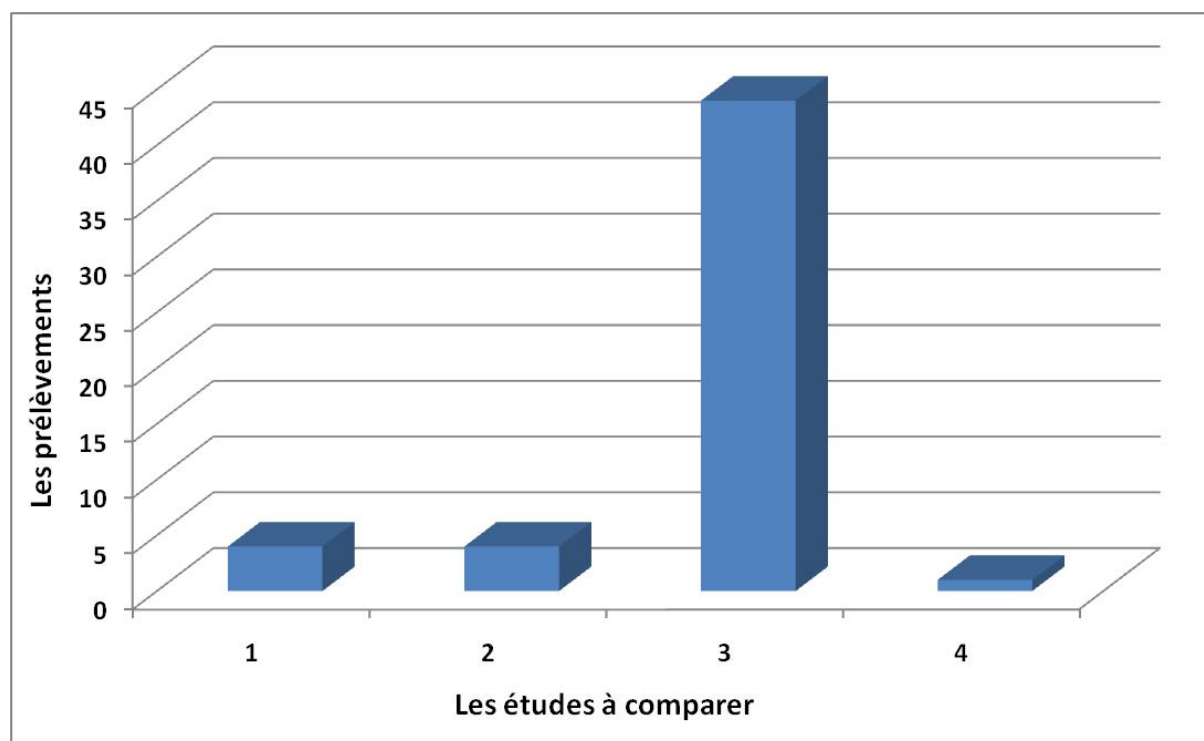


***PARTIE III***  
***Résultats et***  
***Discussion***

Résultats:

1. Prélèvements:

Les prélèvements des 4 études ( Figure 11) étaient réalisés dans différents services des hôpitaux avec des résultats contrastées de façon qu'on a observé que **Mme Kara Terki** en **2014** avait la chance de prélever le grand nombre des prélèvements avec du 250 sondes urinaires à partir les trois services de CHU de Tlemcen et puisse isoler 200 souches du genre *Staphylocoque* dont 44 étaient de l'espèce *Staphylococcus aureus* par apport à **Mr Bouhadjar, Mr Terbeche** en **2017** et **Mr Boukhelifa** en **2017**, ont pu isoler 4 souches de *S.aureus* pour chacune à partir de 28 cathéters veineux périphériques dans le service de réanimation et 12 sondes urinaires dans le service de réanimation de CHU de Tlemcen, dernièrement **M<sup>elle</sup> Chatane** et **M<sup>elle</sup> ZIADI** en **2017** ont pu isoler une seule souche du *S.aureus* après divers prélèvements de patients hospitalisés au niveau de l'Établissement Hospitalier Didouche-Mourad de Constantin.



**Figure 11 : Résultats de la comparaison des prélèvements des 4 études (Bouhadjar et Terbeche, 2017 ; Boukhelifa, 2017 ; Kara Terki, 2014 ; Chatane, Ziadi, 2017).**

## **1. Identification:**

### **1.1. Examen macroscopique:**

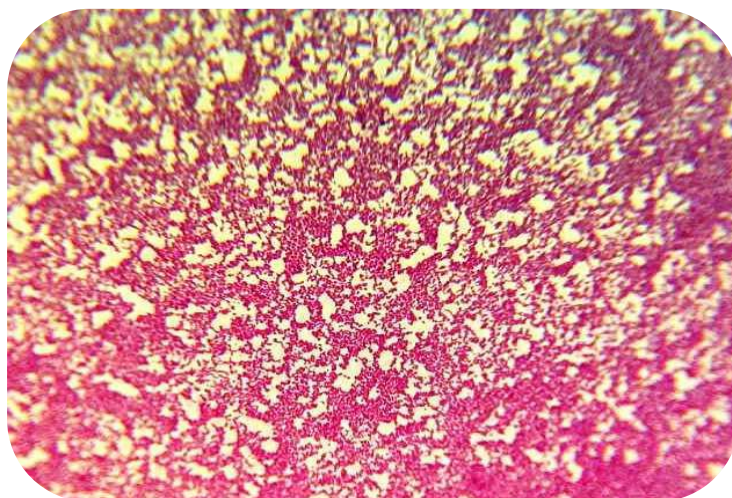
Sur Chapman, les colonies de *Staphylococcus aureus* apparaissent pigmentées et entourées d'une aréole jaune (Figure 12) due à la fermentation du mannitol. Ces colonies sont arrondies à bords réguliers de 1 à 2 mm de diamètre après 24 heures d'incubation à 37°C.



**Figure 12 : Culture du *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman (Chibi, 2015).**

### **1.2. Examen microscopique :**

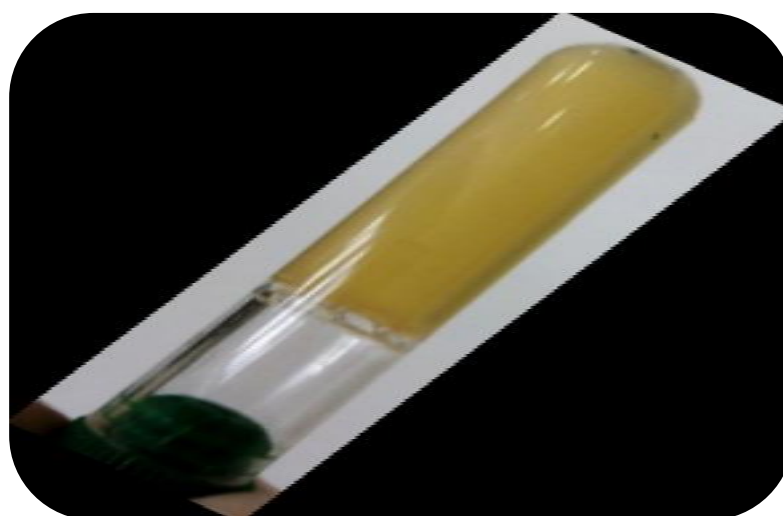
L'examen microscopique après coloration différentielle de Gram (Figure 13) a montré la présence de cocci sphériques isolées, regroupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de *grappes* de raisin, colorés en violet (Gram positif). .



**Figure 13 : Aspect microscopique des cellules après la coloration du Gram du *S.aureus* (grossissement X 100) (Chatane et Ziadi, 2017).**

### **1.3. Recherche de coagulase :**

La coagulase libre permet la différenciation des espèces du genre *Staphylococcus*. En effet, seule l'espèce *S. aureus* peut posséder cette enzyme qui joue un rôle important dans le pouvoir pathogène de la bactérie. Après 2 heures d'incubation à 37°C, l'observation visuelle du tube en position inclinée (Figure 14) à 90°C a révélé l'apparition d'un caillot (la prise en masse du mélange au point où le tube peut être retourné) due à la présence de l'enzyme coagulase ou staphylocoagulase, indiquant une réaction positive (coagulase positive).



**Figure 14 : Résultat du test de la coagulase du *S.aureus* (Chatane et Ziadi, 2017).**

#### **1.4. Test de DNase :**

Toutes les souches *S.aureus* coagulase positive testées pour la mise en évidence de la production d'une DNase par la présence d'un halo claire est visible autour des stries révélée après l'ajout de l'acide chlorhydrique HCl, donc nous considérons nos souches à DNase positive.

#### **2. Antibiogramme :**

L'antibiogramme a été effectué selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique sur gélose et selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (SFM) (2014).

L'utilisation extensive et fréquemment abusive des antibiotiques couplée à un déséquilibre dans l'hygiène hospitalière permet à ces infections une évolution fulgurante traduisant ainsi plusieurs épidémies. Ce mal ne semble pas épargner l'Algérie qui enregistre une fréquence grandissante des staphylocoques résistant aux antibiotiques, ce qui engendre un taux de mortalité élevé et un surcoût tout aussi important (**Rebiahi, 2011**).

En outre, la souche de *S. aureus* apparaît également sensible aux ATB testés (Figure 15) à l'exception de la Pénicilline, Oxacilline, Cefazoline et Cefoxitine ou elle montre une résistance face à ces quatre ATB.



**Figure 15 : Résultats de l'antibiogramme du *S.aureus* (Chatane et Ziadi, 2017).**

Aucune souche résistante à la vancomycine n'a été détecté dans notre étude, ce résultat est comparable à celui obtenu par Abdallah et *al.*, en (2011) qui avait également trouvé que la vancomycine était l'antibiotique le plus efficace sur les staphylocoques uropathogène.

La vancomycine constitue la molécule de choix dans le traitement des infections graves à staphylocoques, ceci incite à une surveillance continue de la sensibilité de ces bactéries aux glycopeptides.

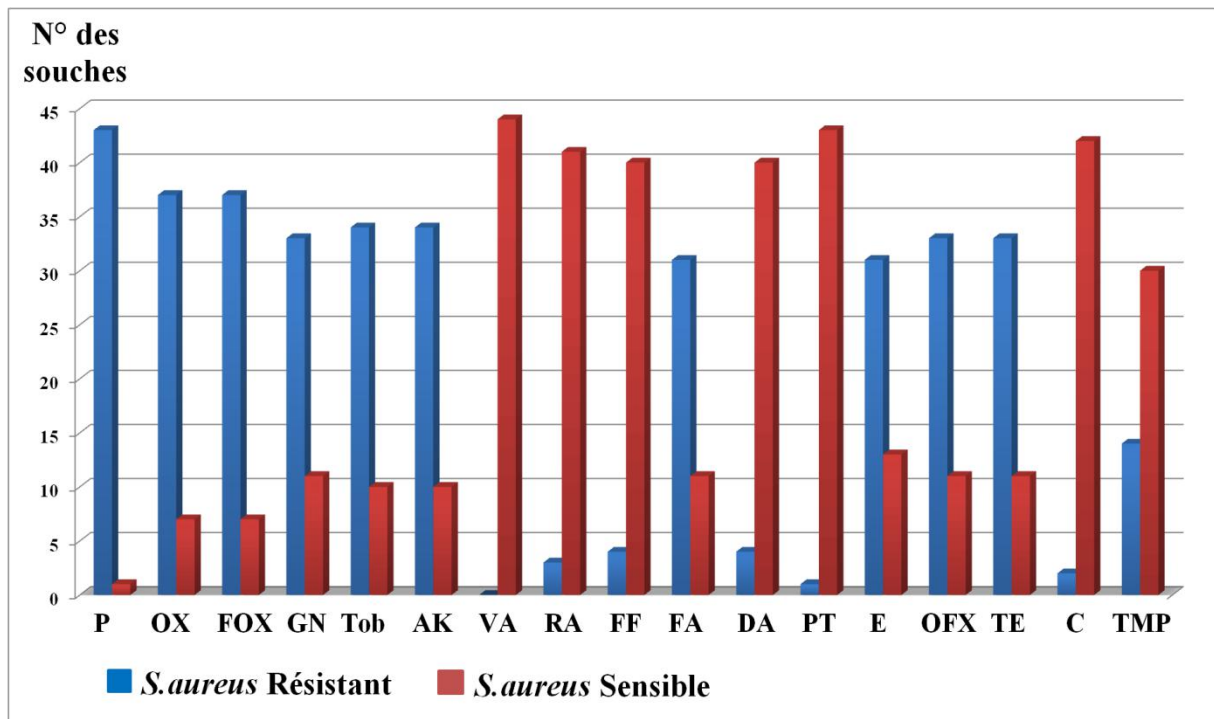


Figure 16 : Le profil de résistance / sensibilité aux ATB de la souche S.aureus (Kara Terki, 2014).

### 3. Evaluation de la formation du biofilm *in vivo* :

#### 3.1. Méthode de plaque de culture des tissus (TCP) :

Selon Mr Bouhadjar et Mr Terbeche en 2017, la quantification de DO avec le lecteur ELISA (Figure 16), la technique de microplaque 96 puits a montré que la plupart des souches isolées des cathéters sont de bonnes formatrices du biofilm avec une DO de 0.43 pour la *S.aureus* 2 qui était fortement formatrice de biofilm et les trois autres souches étaient modérément formatrice du biofilm avec des DO entre 0.18 et 0.39.

Selon Mr Boukhelifa en 2017, les 4 isolats identifiés ont été testé pour leur capacité à produire du biofilm *in vitro*.

Les valeurs des densités optiques (DO) obtenus par le lecteur d'absorbance pour microplaque ont été converties en histogramme sur Excel (Figure 17). La valeur moyenne des puits de contrôle (sans biofilm) est égale à 0.1.

Des 4 souches était plus élevée que celle de témoin, ce qui traduit leur capacité de former un biofilm.

Sur les 4 isolats, la DO de la souche St14 est 4 fois plus élevée que la DO de témoin ( $DO_t \times 4 \leq DO$ ) ce qui classé comme fortement formatrice de biofilm. Celle-ci provenait d'une sonde urinaire placée plus de 7 jours chez une femme de 71 ans hospitalisée dans le service de réanimation, de plus cette souche est une SARM et résiste vis-à-vis la plupart des antibiotiques utilisés, ce qui peut traduire sa grande capacité d'adhésion sur support inerte.

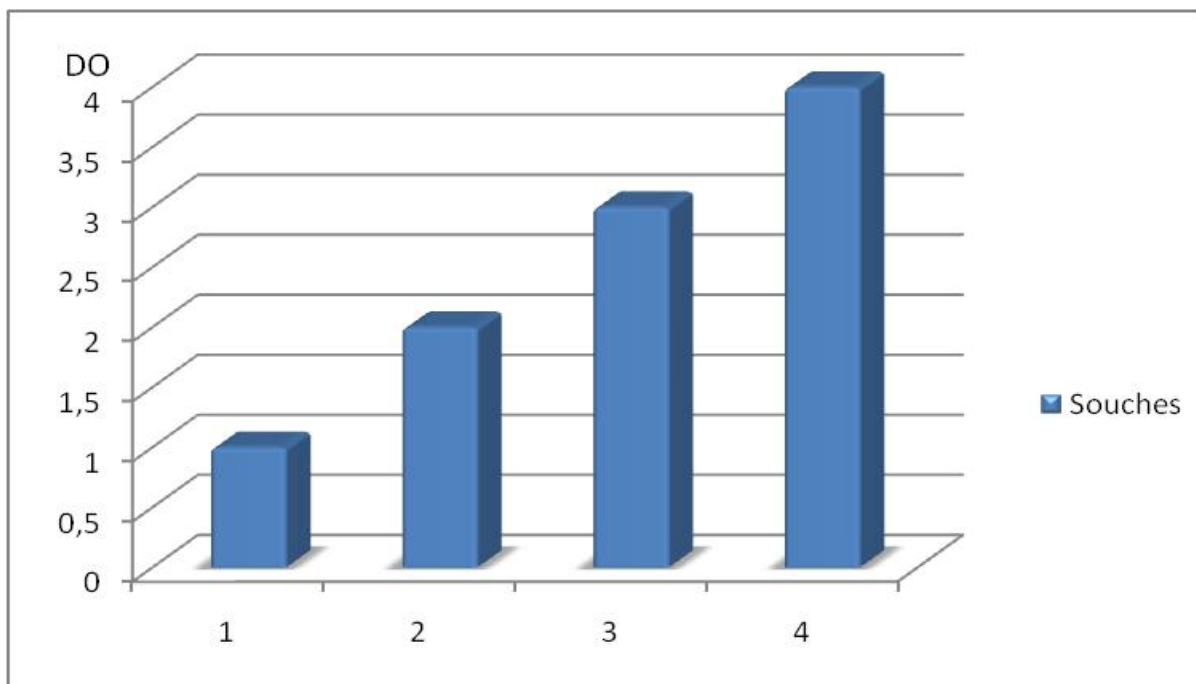
Les souches St16 et St272 avaient une  $DO_t \times 2 \leq DO \leq DO_t \times 4$  les classant ainsi modérément adhérentes aux puits de la microplaque. La souche St9 avait une  $DO \leq DO_t \times 2$  ce qui classé comme non formatrice du biofilm malgré sa résistance à la méticilline (SARM).

Selon **Mme Kara Terki** en **2014**, seulement 60/200 (30%) des souches sont productrices de biofilm avec un taux de 48% chez les souches de *S.epidermidis* et 40,5% chez *S.aureus*. Deux souches dont 1 *S.aureus* et 1 *S.saprophyticus* étaient classées comme fortement productrice de biofilm, 58 modérées et 140/200 sont non formatrices de biofilm.

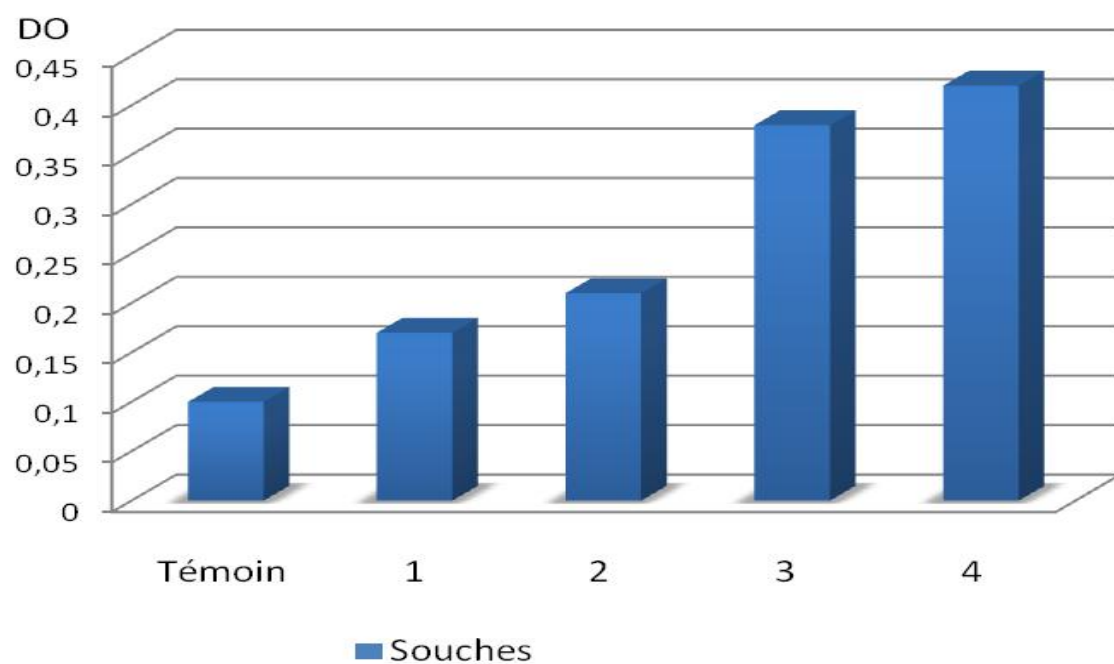
Selon **M<sup>elle</sup> Chatane** et **M<sup>elle</sup> Ziade** en **2017**, après 24 heures d'incubation et en fonction des DO 570 enregistrées, les trois souches ont été localisées dans l'une des catégories suivantes:

- 1) → DO 570 : 0 absence de production.
- 2) → DO 570 : 0 – 0,05 faiblement producteur.
- 3) → DO 570 : 0,05 – 0,15 producteur intermédiaire.
- 4) → DO 570 : > 0,15 fortement producteur.

Par conséquent, suivant les résultats obtenus à l'issus de la technique de coloration au CV, les biofilms formés par les deux souches d'*A.baumannii* appartiennent tous les deux à la catégorie 4 (DO 570 = 0, 29), donc elles sont fortement productrices tandis que le biofilm formé par *S. aureus* appartient à la catégorie 3 (DO 570 = 0,11), donc elle est une productrice intermédiaire.



**Figure 17 : Les résultats de la technique de TCP après quantification de DO avec la lecture ELISA (Bouhadjar et Terbeche , 2017).**



**Figure 18 : Les valeurs des (DO) obtenus par la lecture d'absorbance pour microplaque (Boukhelifa, 2017).**

### **3.1. Méthode du Rouge Congo Agar (RCA) :**

La comparaison entre les 4 études (Figure 19) a montré que :

Selon **Mr Bouhadjar et Mr Terbeche** en **2017**, la recherche de la production de slime sur le milieu Rouge Congo (Figure 18) a révélé que les 4 souches de *Staphylococcus aureus* isolées des cathéters veineux périphériques sont productrices de slime soit **100%** des souches.

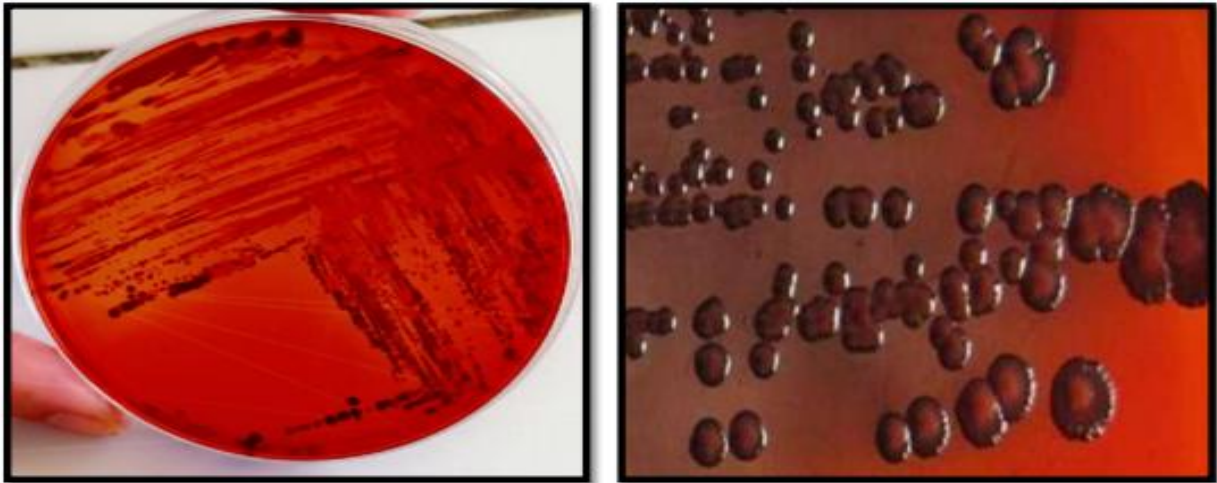
Selon **Mr Boukhelifa** en **2017**, cette méthode qualitative se base sur le caractère phénotypique des souches ensemencées sur milieu Rouge Congo. Les résultats obtenus nous ont permis de constater que les 4 souches isolées de sondes urinaires présentent un phénotype positif dans le milieu Rouge Congo . Ce qui traduit leur capacité de produire le slime.

Selon **Mme Kara Terki** en **2014**, la recherche de la production de slime sur milieu rouge Congo a révélé que 111 souches sur 200 isolées de sondes urinaires sont productrices de slime (Figure19), soit 56,8% des souches de *Staphylococcus aureus*, 53,5% des souches de *Staphylococcus epidermidis* et 63.4% des souches de *Staphylococcus saprophyticus*.

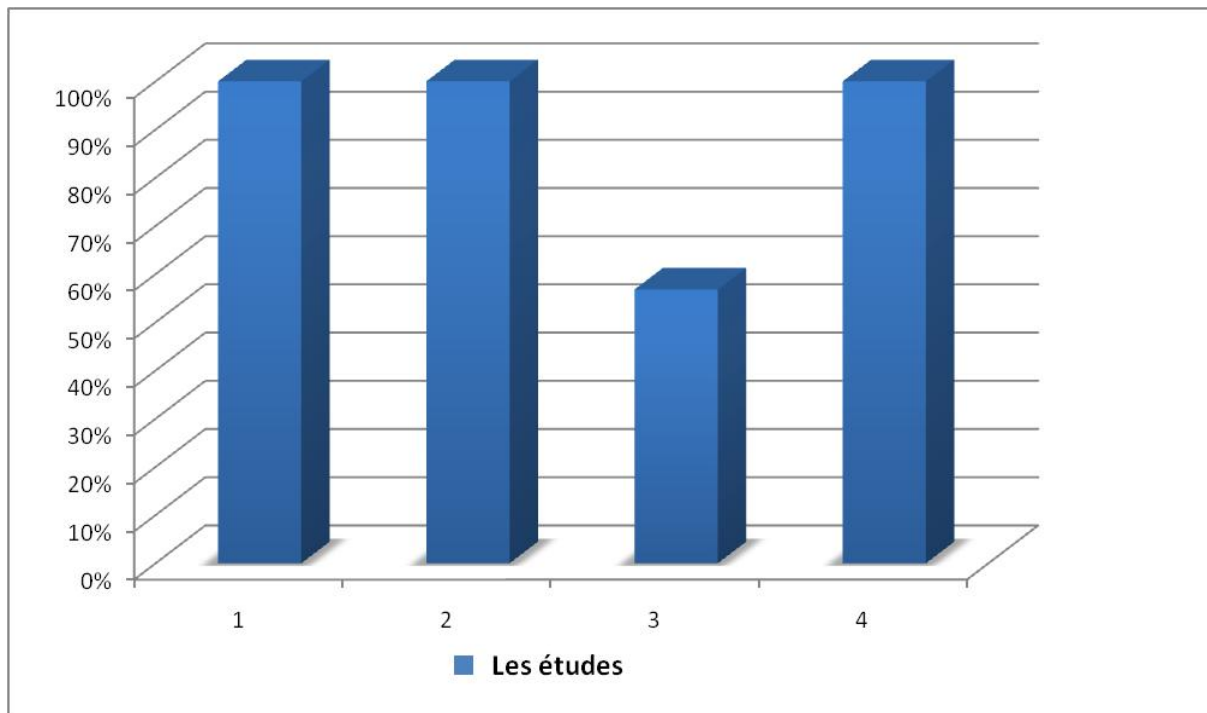
Selon **M<sup>elle</sup> Chatane et M<sup>elle</sup> Ziade** en **2017**, Les trois souches **S1**, **S2** et **S3** ont été testées pour mettre en évidence leurs capacités à forme des biofilms par la méthode RCA dont les résultats.

La recherche de la production de slime sur RCA a révélé, qu'après 24 heures d'incubation 2 souches d'*A.baumannii* (**S1** et **S2**) ont donné naissance à des colonies rouges et son considérées comme non productrices de slime. Seule la souche de *S. aureus* (**S1**), exprimant des colonies noires, est productrice de slime.

Par conséquent, selon cette méthode, la bactérie à Gram négatif *A. baumannii* est incapable produire des biofilms en comparaison avec la bactérie à Gram positif *S. aureus* qui a produit des biofilms importants.



**Figure 19 : Aspect des colonies du S.aureus sur milieu de Rouge Congo Agar (Bouhadjar et Terbeche, 2017).**



**Figure 20 : Comparaison des résultats de la méthode de RCA des 4 études (Bouhadjar et Terbeche, 2017 ; Boukhelifa, 2017 ; Kara Terki, 2014 ; Chatane et Ziadi, 2017).**

**Discussion :**

*Staphylococcus aureus* est l'un des micro-organismes les plus courants responsables des infections à corps étranger telles que les cathéters veineux centraux, les valves cardiaques mécaniques et les sondes urinaires. La détection précoce des biofilms staphylococciques peut être l'une des étapes essentielles pour la prévention et le traitement des infections des dispositifs médicaux.

La pathogénicité des infections à *S. aureus* est liée à sa capacité à coloniser les tissus de l'hôte, à proliférer et à contourner le système de défense immunitaire grâce à des facteurs de virulence spécifiques tels que les facteurs d'adhésion, la production d'enzymes et de toxines **(Lowy et al., 1998)**.

La survie de *S. aureus* dans l'environnement hospitalier est au moins en partie à cause de sa capacité de produire des biofilms. Cette capacité dépend de la production de Polysaccharide Intercellulaire Adhésine (PIA) **(Cramtonet al., 1999)**.

Le PIA est sans doute un élément important dans la formation du biofilm mais il n'est cependant pas indispensable. *S. aureus* est capable de produire du biofilm selon des voies indépendantes du PIA. En l'absence de ce dernier, l'adhésion cellulaire se fait essentiellement par le biais de protéines dont la nature varie d'une souche à l'autre.

L'utilisation extensive et fréquemment abusive des antibiotiques couplée à un déséquilibre dans l'hygiène hospitalière permet à ces infections une évolution fulgurante traduisant ainsi plusieurs épidémies. Ce mal ne semble pas épargner l'Algérie qui enregistre une fréquence grandissante des staphylocoques résistants aux antibiotiques, ce qui engendre un taux de mortalité élevé et un surcoût tout aussi important **(Rebiahi, 2011)**.

Les tests d'évaluation de la résistance de toutes nos souches de staphylocoques aux antibiotiques selon la méthode des disques présentent des résistances associées.

Les souches sont majoritairement résistantes à la pénicilline, à l'oxacilline et à la céfoxitine, avec une prédominance chez les *Staphylococcus aureus* et de leur résistance à l'oxacilline et la céfoxitine pouvant les caractériser comme des SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la métilicine).

Cette multi résistance complique la prise en charge thérapeutique des bactériémies responsables d'infections urinaires nosocomiales sur sonde et expliquerait en partie le caractère nosocomial de cette espèce.

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. De même, au sein des structures hospitalières, la présence d'agents antibactériens est quasi permanente. Les patients qui sont plus ou moins en bonne santé font office de réservoir et le personnel soignant de vecteur. Les bactéries sont alors dans des conditions idéales pour se multiplier et se disséminer. Leur cohabitation permanente avec les antibiotiques leur donne l'opportunité de développer des résistances ou d'acquérir de nouveaux facteurs de résistance auprès d'autres populations bactériennes présentes (**Collomb, 2011**).

Aucune souche résistante à la vancomycine n'a été détectée dans notre étude, ce résultat est comparable à celui obtenu par Abdallah *et al.*, en (2011) qui avait également trouvé que la vancomycine était l'antibiotique le plus efficace sur les staphylocoques uropathogènes.

La vancomycine constitue la molécule de choix dans le traitement des infections graves à staphylocoques, ceci incite à une surveillance continue de la sensibilité de ces bactéries aux glycopeptides puisque l'émergence de souches résistantes à la vancomycine a été déjà décrite au CHU de Tlemcen (**Rebiahi *et al.*, 2011**).

La surveillance de la résistance des souches aux antibiotiques doit être continue et systématique, basée sur une politique de prescription des antibiotiques de chaque service, la prévention des infections nosocomiales et des études épidémiologiques prospectives.

Le mécanisme de formation de biofilm sur une sonde urinaire est simple. Une fois la sonde posée, un film protéique va se déposer à sa surface et favoriser la fixation de micro-organismes et par conséquent entraîner la formation d'un biofilm. Une fois que les bactéries ont colonisé la sonde et l'uro-épithélium, elles s'adaptent au nouvel environnement formé et se procurent des nutriments. La production bactérienne de toxines et d'enzymes dans l'environnement entraîne une dégradation des tissus avoisinants et une libération de nutriments (**Jacobsen, 2008**).

---

---

Plusieurs chercheurs ont étudié les stratégies employées par les micro-organismes pour produire des biofilms, Ils ont montré que les bactéries productrices du biofilm sécrètent certaines substances chimiques qui les protègent contre les désinfectants, les agents antimicrobiens et les systèmes immunitaires de l'hôte (**Saitou, 2009**).

Des méthodes classiques de la détection de la production du biofilm *in vitro* ont été établies, telles que la méthode quantitative de la microplaque 96 puits (**Freeman et al., 1989 ; Mathur et al., 2006**), et la méthode qualitative du Rouge Congo (**Mathur et al., 2006**).

La technique TCP décrite par **Christensen et al., (1985)** est considérée comme un test standard pour la détection de la formation du biofilm. Cette méthode a été rapportée comme étant la plus sensible, précise et reproductible pour la détermination de la formation du biofilm à staphylocoques *in vitro* (**Rasha et al., 2012**). C'est une technique pratique et économique pour l'identification des facteurs et des conditions de cultures optimales pour la formation du biofilm (**Castro Melo et al., 2013**).

Elle permet une détermination quantitative pour comparer l'adhésion des différentes souches et aussi examiner un grand nombre d'isolats simultanément. (**Rasha et al., 2012**).

Pour cette raison **Rasha et ses collaborateurs en 2012** ont proposé la méthode de culture sur RCA comme une alternative à la méthode TCP pour le dépistage de la formation du biofilm par les staphylocoques étant plutôt facile à réaliser, elle prend moins de temps, elle est sensible et spécifique.

La recherche de la production de slime sur le milieu Rouge Congo a révélé que les souches de *Staphylococcus aureus* isolées des cathéters veineux périphériques sont productrices de slime soit **100%** des souches.

La méthode RCA permet l'analyse directe et visuelle des colonies et l'identification des souches productrices de slime (qui donnent des colonies noires sur la gélose rouge) et des souches non productrices (qui donnent des colonies de couleur rouge).

De ce fait, cette méthode ne permet pas un dosage quantitatif de biofilm puisqu'elle est basée seulement sur un changement de couleur de rouge Congo qui va interagir directement avec certains polysaccharides bactériens formant un slime (**Freeman et al., 1989**).

Le slime est définie comme la substance polymérique extracellulaire, également connu sous le nom d'exo-polysaccharides (EPS). Sur le milieu RCA, les souches exprimant le PIA (polysaccharide intercellularadhesin) donnent des colonies noires avec une surface rugueuse contre des colonies de couleur rouge et à surface lisse pour les souches PIA négatif (**Chaieb et al., 2005**). Le Rouge Congo interagit directement avec certains polysaccharides bactériens formant un slime et donnant des colonies noires, contrairement aux colonies non productrices qui restent rouge (**Rewatkar et Wadher, 2013 ; Kara Terki, 2014**).

La véritable nature de slime et les causes de sa formation sont complexes, et de nombreux facteurs interagissent pour créer les conditions nécessaires à la formation de slime. Des facteurs tels que le pH, la température et les niveaux de nutriments organiques jouent un rôle important dans le développement de slime (**Chaudhary et al., 1998**).

Suite à ces techniques et selon plusieurs auteurs (**Mathur et al., 2006 ; Oli et al., 2012**), la méthode du Rouge Congo semble être moins efficace pour détecter la formation du biofilm *in vitro*.

**Taj et al., (2012)** ont montré que le dépistage par la technique du Rouge Congo n'est pas recommandé pour l'étude de la formation du biofilm.

De même **Mathuretal., (2006)** ont découvert que PIA (polysaccharides adhesins intracellulaires) qui influe sur la formation de *Staphylococcus aureus* ne peut pas être détectée par la méthode du Rouge Congo.

La plaque de culture tissulaire est une méthode plus quantitative et fiable pour la détection des staphylocoques producteurs de biofilm par rapport la gélose au rouge Congo. Par conséquent, il peut toujours être utilisé comme méthode de dépistage pour la détection de biofilm.

De plus, l'utilisation de méthodes moléculaires telles que la polymérase La réaction en chaîne (PCR) pourrait amplifier les gènes impliqués dans le biofilm production, et contribuera de manière significative à soutenir les méthodes utilisé dans cette étude, et complète également d'autres méthodes utilisées ailleurs.

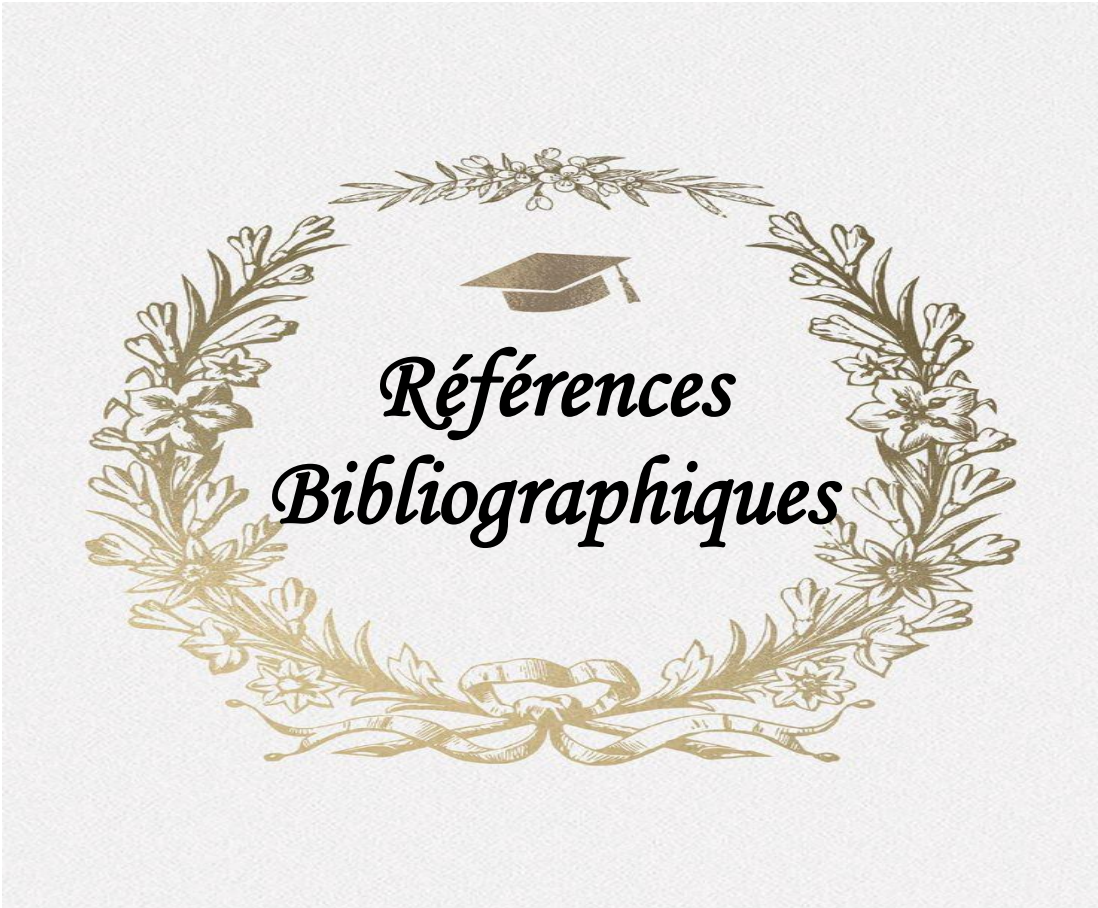


Le développement du biofilm sur la surface des dispositifs médicaux implantables tels que les cathéters, sondes respiratoires ou sondes urinaires représente un obstacle au traitement antimicrobien, dans le cas de ne pas être détecté, il peut rendre des infections chroniques et retarder son contrôle et constituer le facteur clé de la pathogenèse des infections bactériennes aggravées qui sont la cause majeure de la morbidité et la mortalité en milieu hospitalier.

*Staphylococcus aureus* est une bactérie pathogène à une grande importance médicale en raison de leur capacité à provoquer de nombreux types d'infections humaine et à persister à la surface de dispositifs médicaux. Elle représente une résistance très élevée contre la plupart des antibiotiques de marché grâce à sa capacité unique à répondre rapidement à chaque nouvel antibiotique avec ainsi de développer un mécanisme de résistance.

L'évaluation de la formation du biofilm par ce pathogène par les deux techniques TCP (Culture de Tissu en Plaque) et RCA (Rouge Congo Agar), ont montré que *Staphylococcus aureus* est identifiée étant qu'une bactérie fortement formatrice du biofilm qui est considérée comme un facteur de virulence important.

Alors, pour éviter ces infections liées à la formation de biofilm par *Staphylococcus aureus*, il faut maîtriser des précautions visent à diminuer le risque de dissémination et de formation de biofilm pathogènes, ces précautions comprennent un mis en place des règles strictes d'hygiène des mains, la désinfection précise du matériel médicale, le suivi continu de la résistance de cette bactérie aux antibiotiques afin d'améliorer le traitement des infections dues à ce pathogène ainsi que la réduction de la durée d'implantation du cathétérisme afin d'éviter la formation du biofilm.



## A

**Abdallah N M A, Bendary Elsayed S, Mohamed M, Mostafa Y, Metwally El-gohary G, 2011,** Biofilm forming bacteria isolated from urinary tract infection, relation to catheterization and susceptibility to antibiotic. *International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research* .2(10): 172-178.

**Accarias S, 2014,** Thèse de doctorat, Impact du phénotype des macrophages résidents sur la nature de la réponse inflammatoire précoce lors d'une infection par *Staphylococcus aureus*, pages 17 , 38.

**Alioua M A, 2015,** Thèse de doctorat, Les Staphylocoques : sensibilité aux antibiotiques et profil moléculaire de *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline, pages (23-25),(57-72).

**Alnasouri M, 2010,** Etude du développement de biofilms dans des réacteurs de traitement d'eau. Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, France, pages (9-10).

---

## B

**Baudin M, 201,** Couplage de rapporteurs génétiques et d'une molécule active pour l'étude de la dispersion de biofilms. Thèse de doctorat: Biologie. France: Université Paris-Saclay, 158p.

**Bellifa S, 2014,** Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. Thèse de doctorat. Université abou bekr belkaid, Tlemcen. Pages 13 , 17 .

**Ben Arab N, Maaloul I, Hammami B, Marrakchi C H, Hammami A, Ben Jemaâ M, 2007.** Les infections urinaires nosocomiales: Etude de 48 cas. *Rev Tun Infectiol*, 1(4), 16-21.

**Boucher H W, Corey G R, 2008,** Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis*. 1;46 Suppl 5:S344-9. doi: 10.1086/533590. PMID: 18462089.

**Boudelal K, 2013,** Mémoire Master. Evaluation de la Contamination des Dispositifs Médicaux (Cathéters et Sondes) à l'hôpital de Ain\_ Témouchentj p10-55.

**Bouhadjar A A et Terbeche M, 2017**, Evaluation de la formation du biofilm par *Staphylococcus aureus* isolées du cathéter veineux périphérique -CHU Tlemcen- , page 17.

**Boks, N P, Busscher H J, Van Der Mei H C et Norde W, 2008**, Bond-strengthening in staphylococcal adhesion to hydrophilic and hydrophobic surfaces using atomic force microscopy. *Langmuir*, 24, 12990–12994.

**Busscher H J, Van Der Mei, H C, 2006**, Microbial Adhesion in Flow Displacement Systems. *Clin Microbiol Rev.*, 19, 127–141.

**Boukhelifa H, 2017**, Mémoire de Master, Formation de biofilm in vitro par des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* isolées de sondes urinaires, page 19.

**Branger A, Richer M M, Roustel S, 2007**, Quelque système microbien : les biofilms. Dans : *Microbiochimie et alimentation*. Educagri éditions, dijon. p.131-164.

**Brun-Buisson C, Bonmarchand G, Carlet J, Chastre J, Durocher A, Fagon J Y et al 2005**, Risques et maîtrise des infections nosocomiales en réanimation : texte d'orientation SRLF/SFAR. *Réanimation*. ;14:463-71.

**Brun-Buisson C, Parienti J J, 2013**, Infections de cathéters intravasculaires en réanimation. In *Infectiologie en réanimation* (pp. 423-439). Springer Paris.

---



**Caron F, 2003**, Physiopathologie des infections urinaires nosocomiales. *Médecine et maladies infectieuses*. 33 : 438 –446.

**Ca-sfm, 2010**, Comité de l'antibiogramme de la société française de Microbiologie  
Disponible sur: < <http://www.sfm.asso.fr> > (consulté le 16.05.2020).

**Castro Melo P, Ferreira L M , Filho A N, Zafalon L F, Godoy Vicente H I, de Souza V, 2013**, Comparison of methods for the detection of biofilm formation by *Staphylococcus*

*aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Brazilian journal of microbiology*. 44 (1): 1517-8382.

**Cclin, 2014**, Centre de coordination de lutte contre les infections nosocomiales de l'interrégion Nord : les infections nosocomiales. <http://www.cclinparisnord.org/>.

**Chaieb K, Mandouani K, Bakhrouf A, 2005**, Detection of *icaA* and *icaD* loci by Polymerase chain reaction and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* isolated from dialysate and needles in a dialysis unit, *Journal of Hospital Infection*. 61 : 225-230.

**Chatane I, Ziade, C, 2017**, Analyse phénotypiques et quantification de la formation du biofilm par les bactéries d'intérêt médical.

**Chaudhary R C, Reddy A P K, Balasubramanian V, Roy J K, 1998**, Partnership internationally: An overview of India's experiences in rice research. P. 483-509. In: Rainfed Rice for Sustainable Food Security. CRRI, Cuttack, India.

**Chmielewski R A N et Frank J F, 2003**, Biofilm Formation and Control in Food Processing Facilities. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2, 22–32.

**Chibi A, 2015**, Evaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* isolées de CHU Tlemcen. Page 38 - 44

**Christensen G D, Simpson W A, Younger J A, Baddour L M, Barrett F F, Melton D M, 1985**, Adherence of coagulase negative Staphylococci to plastic tissue cultures: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of Clinical Microbiology*. 22:996–1006.

**Coloby P, 2007**, Différents type de sondes urinaires et risque infectieux. Forum du Comité d'Infectiologie de l'AFU. 101ème congrès d'urologie de l'association française d'urologie. 5-7.

**Collomb A, 2011**, Caractérisation de la différence de sensibilité à l'infection par *Staphylococcus aureus* de deux lignés de souris. Thèse doctorat : Médecine vétérinaire, école national vétérinaire de Toulouse .69P

**Clutterbuck, A L, Woods, E J et al, 2007**, Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet Microbial.*, 121 (1-2), 1-17.

**Costerton J W, Stewart P S et Greenberg E P, 1999**, Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284 : 1318–1322.

**Cramton S E, Gerke C, Schnell N F, Nichols W W, Götz F, 1999**, The intercellular adhesion (Ica) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation. *Infect. Immun* ; 67:5427-5433.

---



**Daouadji Djeloul S, 2010**, DETECTION DE BIOFILM A STAPHYLOCOQUES SUR CATHETERS VEINEUX, page 19.

**Davies, D G, 2011**, Biofilm Dispersion, in: Flemming, H.-C., Wingender, J., Szewzyk, U. (Eds.), *Biofilm Highlights*. Springer Berlin Heidelberg, 1–28.

**Denis F, Ploy M C, Martin C, Cattoire V, Barbeyarac B, Barraudo BC, Fumat C, 2016**, Bactériologie médicale : Techniques usuelles, 3ème Edition, Paris: Elsevier Masson, Issy les Moulineaux, 600p.

**Donlan R M, 2008**, Biofilms on central venous catheters: is eradication possible? *Curr.*

**Dubois-Brissonnet F, Briandet R, Bellon-Fontaine M N, 2006**, Agents chimiques ou naturels: des outils de maîtrise de la contamination microbiologique des surfaces.

**Dunne W M J, 2002**, Bacterial adhesion: Seen any good biofilms lately? *Clinical Microbiology Reviews*, 15 (2), 155–166.

---

E

**Enany S, 2017**, FRONTIERS IN *Staphylococcus aureus*, Section 01 , Chapitre 01, p 4-5.

**Espinasse F, Page B, Cottard-Bouille B, 2010**, Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires*, 2010(426), 51-63. Études études médicales ou paramédicales. *Edition heures de France* : 150.

---

F

**Freeman D J, Falkiner F R, Keane C T, 1989**, New method of detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*. 42: 87-84.

---

G

**Garnier M V, Delamare J, Delamare T et al**, Dictionnaire illustré des Termes de Médecine. Paris : Maloine, 2004; 1046P.

**Garrity G M, Johnson K L, Bell J, Searles D B, 2002**, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, second ed. Springer-verlag, New York.

**Grasteau A, 2011**, Sélection de mutations affectant la formation de biofilm chez *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Thèse doctorat en sciences vétérinaires option microbiologie. Université de Montréal, Faculté de médecine vétérinaire, p111.

**Guillemot M D, 2015**, Thèse de doctorat, Impact des antibiotiques sur l'histoire naturelle de la colonisation nasale par *Staphylococcus aureus*, page 19.

---

H

**Hadjad N et Kassou A, 2020**, Prévalence du portage nasal de *Staphylococcus aureus* chez les personnels hospitaliers à Nâama.page : 32 .

**Hajjar J, Verdeil X, Astruc K, Gentil-brevet J, De bels F, 2005**, Prévention des infections liées aux cathéters veineux périphériques.

**Hall-Stoodley L, Costerton J W, Stoodley P, 2004**, Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature reviews Microbiology*, 2(2): 95–108.

**Haras D, 2005** Biofilms et altérations des matériaux: de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. *Matériaux & Techniques*, 93, s-27.

**Henicque, Lerouge M, Thierry S, Viviane Y, Bussy C, Danielle Jefferson K K, 2004**, What drives bacteria to produce a biofilm?. *FEMS microbiology letters*, 236(2), 163-173.

---



**Jacobsen S M, Stickler D J, Mobley H L T, 2008**, Complicated catheter- associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical Microbiology Review*. (21) 1:26-59.

**Jain A, Agarwal A, 2009**, Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. *Journal of Microbiology and Methods*. 76: 88–92.

**Jarraud S, Mougel C, Thioulouse J, Lina G, Meugnier H, Forey F, Nesme X, Etienne J, Vandenesch F, 2002**, Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infect Immun*. Feb;70(2):631-41. doi: 10.1128/IAI.70.2.631-641.2002.11 .

---



**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 de doctorat .Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.

**Kassou A, Hadjadj N H, M Lagha, 2020**, Mémoire de Master, Prévalence du portage nasale de *Staphylococcus aureus* chez les personnels hospitaliers à Nàama, .

**Keene A, Vavagiakis P, Lee M H, Finnerty K, Nicolls D, Cespedes C, Quagliarello B, Chiasson M A, Chong D, Lowy F D, 2005**, Staphylococcus aureus colonization and the risk of infection in critically ill patients. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 26(7):622-8. doi: 10.1086/502591.

**Khan M F, 2017**, “Brief History of Staphylococcus Aureus: A Focus to Antibiotic Resistance”. *EC Microbiology* 5.2 , Page 36.

**Klevins R M, Tokars J I, Andrus M, 2005**, Electronic reporting of infections associated with hmodialysis. *Nephrol . News Issues* 19:37-38,43.

**Kravitz G R, Dries D J, Peterson M L, Schlievert P M, 2005**, Purpura fulminans due to Staphylococcus aureus. *Clin Infect Dis.* 2005 Apr 1;40(7):941-7. doi: 10.1086/428573.

---



**Leboffe M J, Pierce B E, 2011**, A Photographic Atlas for the Microbiology Laboratory. 4<sup>ème</sup> Edition: Marton PUBLISHING Company, 264p.

**Lee H W, Koh Y M, Kim J, Lee J C, Lee Y C, Seol S Y, Cho D T, 2008**, Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. *Clinical microbiology and infection*, 14(1), 49-54.

**Lemon K P, Earl A M, Vlamakis H C, Aguilar C , Kolter R, 2008**, Biofilm development with an emphasis on *Bacillus subtilis*. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 322, 1-16.

**Lemsanni M, 2016**, Thèse de doctorat Les infections nosocomiales en réanimation pédiatrique.

**Leshem E, Maayan-Metzger A, Rahav G, Dolitzki M, Kuint J, Roytman Y, Goral A, Novikov I, Fluss R, Keller N, Regev-Yochay G, 2012**, Transmission of Staphylococcus aureus from mothers to newborns. *Pediatr Infect Dis: J.*31(4):360-3 doi: 10.1097/INF.0b013e318244020e.

**Lowy F D, 2003**, Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Invest.* ;111(9):1265-73. doi: 10.1172/JCI18535.

**Lowy F D, 1998**, *Staphylococcus aureus* infections. *English Journal of Medecine.* 339 : 520-532.

---

*M*

**Malachowa N, DeLeo F R, 2010**, Mobile genetic elements of *Staphylococcus aureus*, pages (3060-3065).

**Maltezou H C, Giamarellou H, 2006**, Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Int J Antimicrob Agents*; 27(2):87-96. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2005.11.004. Epub 2006 Jan 19.

**Marchal M, 2010**, Etude des biofilms bactériens arsénite-oxydants. Thèse de doctorat .Université de Strasbourg, France.

**McDougald D, Rice S A, Barraud N, Steinberg P D, Kjelleberg S, 2012**, Should we stay or 170 should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nat. Rev. Microbiol.* 10, 39–50.

**Mermel L A, 2011**, What is the predominant source of intravascular catheter infections? *Clinical Infectious Diseases.* 52(2):211–212.

**Mimoz O, Rayeh F, Debaene B, 2001**, Infections liées aux cathéters veineux en réanimation. Physiopathologie, diagnostic, traitement et prévention. In *Annales francaises d'anesthesie et de reanimation* (Vol. 20, No. 6, pp. 520-536). Elsevier Masson.

**Morgan, R., Kohn, S., Hwang, S. H., Hassett, D.J. et Sauer, K. (2006)**. BdlA, a chemotaxis regulator essential for biofilm dispersion in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.*, 188, 7335–7343.

**Muhsin J., Ufaq T., Tahir H. et Saadia A. 2015**. Bacterial Biofilm: its composition, formation and role in human infections. *Journal of microbiology and biotechnology*, 4: 1-14.

**Muriel, Avenard M, Aussant M , Decade C , Garnier S, 2004**, Médecine. Paris : Maloine, 1046 P.

---



**Nadji N, Mizou A, 2015**, Mémoire de Master, Détection de la formation de biofilms chez les isolats cliniques de *Pseudomonas aeruginosa*, page 14 .

**Nasr SA, AbuShady H M, Hussein H S, 2012**, Biofilm formation and presence of *ica* AD gene in clinical isolates of staphylococci. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics* 1110-8630.

**Njall C, Adiogo D, Bita A, Ateba N, Sume G, Kollo B, 2013**, Écologie bactérienne de l'infection nosocomiale au service de réanimation de l'hôpital Laquintinie de Douala, Cameroun. *The Pan African Medical Journal*. 2013; 14:140.

---



**Oli A K, Raju S, Nagaveni S, Kelmani Chandrakanth R 2012**, Biofilm formation by Multidrug resistant *Enterococcus faecalis* (MDEF) originated from clinical samples. *Journal of Microbiology and Biotechnology Research*. 2(2).

**O'Toole G A, Kaplan H B, Kolter R, 2000**, Biofilm formation as microbial development. *The Annual Review of Microbiology*. 54: 49- 79.

---



**Parsek M R, Greenberg E P, 2005**, Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends in Microbiology*, 13(1), 27-33.

**Pebret F, 2003**, Maladies infectieuses: toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. Edition heures de France:150.

**Peters G, Locci R, Pulverer G, 1982**, Adherence and growth of coagulase-negative staphylococci on surfaces of intravenous catheters. *Journal of Infectious Diseases* 146, 479-482.

**Pourreau A, 2008**, Thèse de doctorat. Analyse systémique des risques liés aux cathéters veineux centraux en service de réanimation (Doctoral dissertation, Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Etienne).

**Prescott, Harley, and Klein's, 2008**, MICROBIOLOGY, SEVENTH EDITION, chapitre 23, page 582.

**Prigent-Combaret C, Prensier G, Le Thi T T, Vidal O, Lejeune P, Dorel C, 2000**, Developmental pathway for biofilm formation in curli-producing *Escherichia coli* strains: role of flagella, curli and colanic acid. *Environ. Microbiol.*, 2, 450–464.

**Prüß B M, Besemann C, Denton A, Wolfe A J, 2006**, A complex transcription network controls the early stages of biofilm development by *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*, 188, 3731–3739.

---



**Racha A N, Abu Shady H M, Hussein H S, 2012**, Biofilm formation and presence of *icaAD* gene in clinical isolates of staphylococci. *Egyptian Journal of Medical. Human and Genetic* .13: 269–274.

**Réanimateur, Louis S, Clémence J, Nitenberg G, Cclin, 2011**, Paris-Nord. Le cathétérisme .Guide de bonnes pratiques. Recommandations pour l'élaboration de protocoles de soins sur les voies veineuses. Paris, Centre de Coordination de la lutte contre les infections Nosocomiales de l'Inter Région Paris-Nord. 2<sup>ème</sup> version.

**Rebiahi S A, 2012**, Thèse de doctorat. Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur antibioresistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. p158.

**Rebiahi S A, Abdelouahid D E, Rahmoun M, Abdelali S, Azzaoui H, 2011**, Emergence de souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la vancomycine isolées du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (Algérie Nord-ouest). *Médecine et maladies infectieuses* .41 :646–651.

**Rebiahi S A, Rahmouna M, Seddiki S M L, Kadi K, Belhadji F, Chabni N, Kunkel D, 2014**, Infections nosocomiales causées par *Staphylococcus aureus* producteur de biofilm dans l'unité de néonatalogie de l'établissement hospitalier spécialisé mère-enfant de Tlemcen, Algérie, page 233.

**Renner L D, Weibel D B, 2011**, Physicochemical regulation of biofilm formation. *MRS Bull*, 36, 347–355.

**Rewatkar A R, Wadher B J, 2013**, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*-Biofilm formation Methods. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*. Volume 8, Issue 5 , PP 36-40.

---



**Ghernaout Benchouk S, 2013**, Thèse de doctorat, PREVALENCE DU PORTAGE NASALDE STAPHYLOCOCCUS AUREUS :SON ROLE DANS L'INFECTION DU SITE OPERATOIRE, p 15.

**Saitou K, Furuhashi K, Kawakami Y, Fukuyama M, 2009**, Biofilm formation abilities and disinfectant resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cockroaches captured in hospitals. *Biocontrol Science*. 14: 65-68.

**Sauer, K., Rickard, A H, Davies D G, 2007**, Biofilms and biocomplexity. *Microbe*, p 347–353.

**Schembri, M A, Kjærsgaard K, Klemm P, 2003**, Global gene expression in *Escherichia coli* biofilms. *Mol. Microbiol*, p 253–267.

**Shurtleff M E, Mader J T, Camper A K, 2002**, Molecular interactions in biofilms. *Chem. Biol*,p 859–871.

**Sivaraman K, Venkataraman N, Cole A M, 2009** Staphylococcus aureus nasal carriage and its contributing factors. *Future Microbiol.* 4(8):999-1008. doi: 10.2217/fmb.09.79.

**Solberg C O, 2000**, Spread of *Staphylococcus aureus* in hospitals: causes and prevention. *Scand J Infect Dis.* 32(6):587-95. doi: 10.1080/003655400459478.

**Squinazi F, 2013**, Biofilm et Matériaux : des réseaux intérieurs de distribution de l'eau, 4-10.

**Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B S, Vabic-Vlahovic M, 2000**, A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods.* 40: 175–179.

---

Ƨ

**Tankeshwar A, 2019**, Staphylococcus aureus Virulence factors.

**Touaitia R, 2016**, Thèse de doctorat ,Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance, pages (03-06) ,(18-27).

**Touati A, Achour W, Abbassi et al., 2007**, Détection des gènes ica et de la production de slime parmi des souches de *Staphylococcus epidermidis* isolées d'infections liées aux cathéters chez des patients neutropéniques, *Pathologie Biologie*, 55 : 277–282.

**Togo A, Coulibaly Y, Keita M, Traore A, Kante L, Diakite I, Diallo G, 2009**, Infections nosocomiales en chirurgie pédiatrique au Mali. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 22(6), 273-277.

**Tomaras A P, Dorsey C W, Edelman R E, Actis L A, 2003**, Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. *Microbiology*, 149(12), 3473-3484. *Top. Microbiol. Immunol.* 322: 133-16.

**Tenke P, Kovacs B, Jackel M, Nagy E, 2006**, The role of biofilm infection in urology. *World J Urol*, 24, 13-20.

---



**Van H R, Michiels C W, 2005**, Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Res. Microbiol.* 156, 626–633.

**Veyssier P, Domart Y, Liebbe A M, 1998**, Infections nosocomiales. 2e Edt. Masson.p 75-77, 80-81.

**Verstraeten N, Braekenn K, Debkumari B, Fauvart M, Fransaer, J, Vermant J, Micheiels J, 2008**, Living on a surface: swarming and biofilm formation .*Trends Microbiol.*, 16, 496-506.

---



**Wang F D, Chen Y Y, Chen T L, Liu C Y, 2008**, Risk factors and mortality in patients with nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteremia. *American journal of infection control*, 36(2), 118-122.

**Wang M S, Palmer L B, Schwartz J D, Razatos A, 2004**, Evaluating protein attraction and adhesion to biomaterials with the atomic force microscope. *Langmuir*, 20(18),7753-7759.

**Wertheim H F, Melles D C, Vos M C, van Leeuwen W, van Belkum A, Verbrugh H A, Nouwen J L, 2005**, The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet Infect Dis.* 5(12):751-62. doi: 10.1016/S1473-3099(05)70295-4.

**Widmer A F, 2005**, Infections and sepsis from intravascular catheters. *Der Internist.* 46(6):643–651.

---



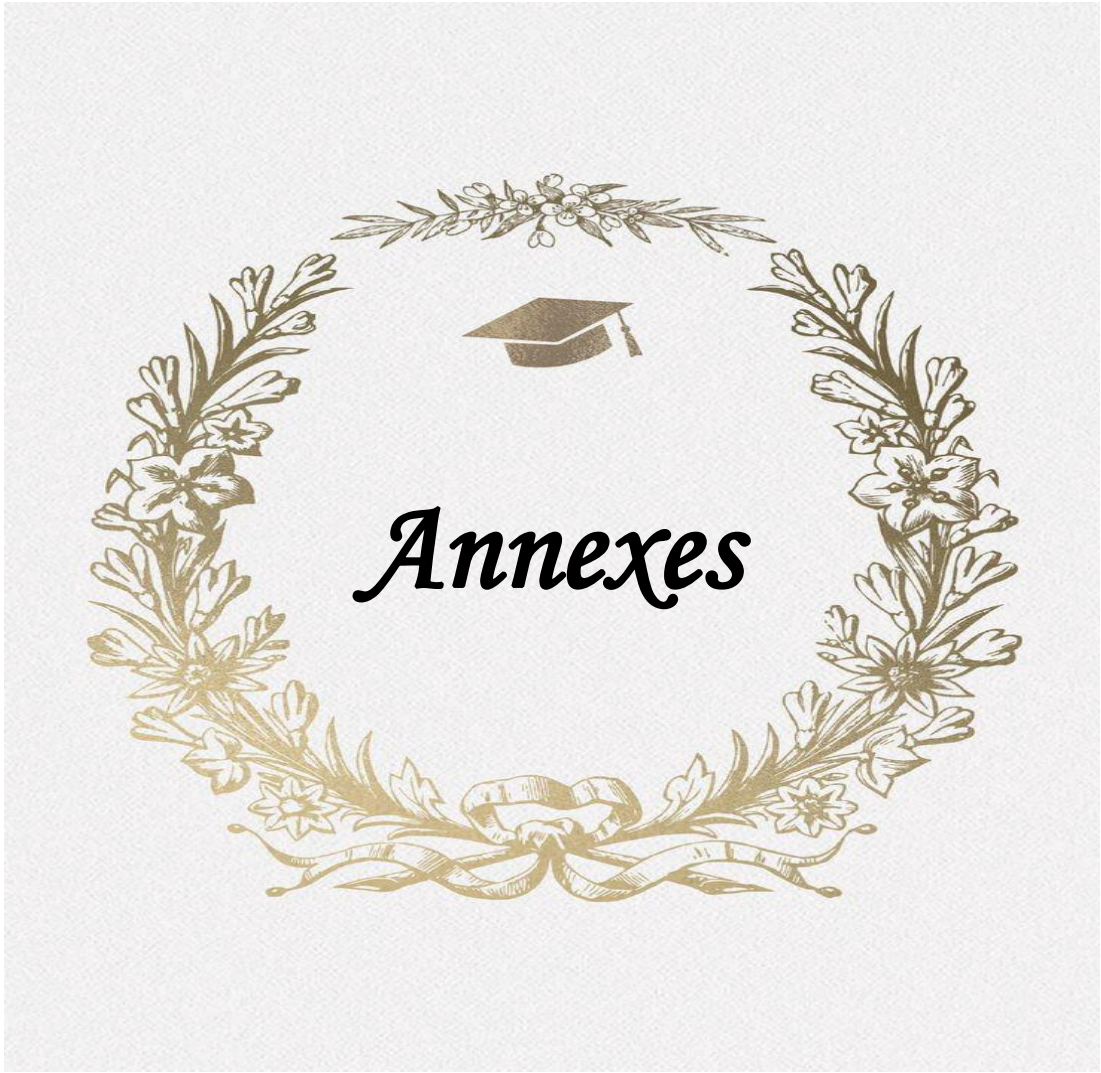
**Zhang I, Morrison M, Nimmo G R, Sriprakash K S, Mondot S, Gowardman J R, George N, Marsh N, Rickard C M, 2013**, Molecular investigation of bacterial communities on the inner and outer surfaces of peripheral venous catheters. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases.* 32:1083–1090.

---

---

**Ziebuhr W, Lobner I, Krimmer V, Hacker J, 2001**, Methods to detect and analyse phenotypic variation in biofilm-forming. *Methods in Enzymology*. 336: 195-203.

---



**Annexe N° 01 :**

**Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* :**

ATB	Charge des disques µg	Diamètre critiques (mm)	
		R	S
<b>Pénicilline</b>	10	≤ 28	≥ 29
<b>Oxacilline</b>	5	10	13
<b>Cefoxitine</b>	30	≤ 21	≥ 22
<b>Gentamicin</b>	10	≤ 12	≥ 15
<b>Erythromycine</b>	15	≤ 13	≥ 23
<b>Vancomycine</b>	30	17	17
<b>Tétracycline</b>	30	≤ 14	≥ 19
<b>Acide fusidique</b>	10	≤ 24	≥ 24
<b>Tobramycine</b>	10	18	≥ 18
<b>Amikacine</b>	30	18	18
<b>Rifampim</b>	5	23	26
<b>Fosfomycin</b>	200	23	23
<b>Acide Fusidique</b>	10	24	≥ 24
<b>Clindamycin</b>	2	19	22
<b>Pristinamycin</b>	15	19	22
<b>Ofloxacin</b>	5	24	≥ 24
<b>Chloramphenicol</b>	30	18	18
<b>Triméthoprime</b>	5	14	17

**Le profil de résistance / sensibilité aux ATB de la souche S.aureus  
(R : Résistant / S : Sensible)**

<b>ATB</b>	<b>N° de S.aureus R</b>	<b>N° de S.aureus S</b>	<b>ATB</b>	<b>N° de S.aureus R</b>	<b>N° de S.aureus S</b>
Penicilin	43	1	Acide Fusidique	31	11
Oxacilin	37	7	Clindamycin	4	40
Cefoxitin	37	7	Pristinamycin	1	43
Gentamicin	33	11	Erythromycin	31	13
Tobramycin	34	10	Ofloxacin	33	11
Amikacine	34	10	Tetracycline	33	11
Vancomycin	0	44	Chloramphenicol	2	42
Rifampim	3	41	Triméthoprim	14	30
Fosfomycin	4	40			

## Annexe N° 02 :

### Préparations des milieux de cultures et solutions :

#### Gélose Chapman:

Extrait de viande de bœuf .....	1g
Peptone .....	10g
Mannitol .....	10g
Chlorure de sodium .....	75g
Rouge de phénol .....	0,025g
Agar .....	15g
pH .....	7,5

#### Gélose Mueller-Hinton :

Infusion de viande de bœuf .....	300g
Hydrolysate de caséine .....	17,5g
Amidon .....	1,5g
Agar .....	17g
pH .....	7,4

#### Rouge Congo Agar :

Cœur cerveau.....	37g
Agar.....	15g
Saccharose.....	36g
Rouge Congo.....	0.8 g

#### Gélose nutritive :

Peptone.....	15g
Extrait de viande .....	10g
Extrait de levure.....	2g
NaCl.....	5g
Agar .....	20g
pH .....	7,6

**Cristal de violet (1%) :**

Cristal violet ..... 1 g  
Eau distillée..... 100 m

**Annexe N° 03 :**

Tableau de lecture de plaque API Staph

Tests	Composants actifs	QTE (mg/cup)	Réactions Enzymes	Résultat	
				Négatif	Positif
<b>0</b>	Aucun		Témoin négatif		
<b>GLU</b>	D-Glucose	1.56	Témoin + (D-GLUcose)  Acidification	Rouge	Jaune
<b>FRU</b>	D-Fructose	1.4			
<b>MNE</b>	D-mannose	1.4			
<b>MAL</b>	D-maltose	1.4			
<b>LAC</b>	D-lactose	1.4			
<b>TRE</b>	D-tréhalose	1.32			
<b>MAN</b>	D-mannitol	1.36			
<b>XLT</b>	Xylitol	1.4			
<b>MEL</b>	D-méliboïse	1.32			
<b>NIT</b>	Nitrate de potassium	0.08	Réduction des NITrates en nitrites	<u>NIT 1 + NIT 2/10min</u> Incolore-rose pale	Rouge
<b>PAL</b>	β-naphtyl phosphate	0.0244	Phosphatase alcalin	<u>ZYM A+ ZYM B/min</u> Incolore beige-rosé	violet
<b>VP</b>	sodium pyruvate	1.904	Production d'acétyl méthylcarbinol (Voge Proskauer)	<u>VP 1 +VP 2/10min</u> Incolore rose pale	Violet-rose

<b>RAF</b>	D-Raffinose	1.56	Acidification	Rouge	Jaune
<b>XYL</b>	D-xylose	1.4			
<b>SAC</b>	D-saccharose	1.32			
<b>MDG</b>	méthyl- $\alpha$ D-glucopyranoside	1.28			
<b>NAG</b>	N-acétyl-glucoamine	1.28			
<b><u>ADH</u></b>	L-arginine	1.904	Arginine DiHydrolase	Jaune	Orange-rouge
<b><u>URE</u></b>	urée	0.73	UREase	Jaune	Rouge-violet

### Résultats d'identification du S.aureus par la galerie API Staph

