



*République algérienne démocratique et populaire*  
*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche*  
*Scientifique*

**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR- KHENCHELA**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT : DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**

## **MEMOIRE**

**Présenté en vue de l'obtention du diplôme de**  
**MASTER ACADIMIQUE**

**FILIERE : BIOLOGIE**  
**OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUE**

### **Thème**

**Identification et caractérisation des *Staphylococcus* dans les milieux hospitaliers « khenchela ».**

### **Présenté par :**

*ARAB SOUAD*  
*BALOULI SARA*

**Soutenu le : 14/06/2018**

### **Jury de soutenance**

Président :	Abaidia.A.G.	M.A.A	Université Abbès Laghrou - Khenchela
Examinatrice:	Messai .A.	M .A.A	Université Abbès Laghrou - Khenchela
Encadreur :	Boutarfa .S.	M.A.A	Université Abbès Laghrou - Khenchela

**Promotion : Juin 2018**



*République algérienne démocratique et populaire*  
*Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche*  
*Scientifique*

**UNIVERSITE ABBES LAGHROUR- KHENCHELA**  
**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DEPARTEMENT : DE BIOLOGIE MOLECULAIRE ET CELLULAIRE**

## **MEMOIRE**

**Présenté en vue de l'obtention du diplôme de**  
**MASTER ACADIMIQUE**

**FILIERE : BIOLOGIE**  
**OPTION : MICROBIOLOGIE APPLIQUE**

### **Thème**

**Identification et caractérisation des *Staphylococcus* dans les milieux hospitaliers « khenchela ».**

### **Présenté par :**

*ARAB SOUAD*  
*BALOULI SARA*

**Soutenu le : 14/06/2018**

### **Jury de soutenance**

Président :	Abaidia.A.G.	M.A.A	Université Abbès Laghrou - Khenchela
Examinatrice:	Messai .A.	M .A.A	Université Abbès Laghrou - Khenchela
Encadreur :	Boutarfa .S.	M.A.A	Université Abbès Laghrou - Khenchela

**Promotion : Juin 2018**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

## ***Remerciements***

Louange à notre Seigneur "**ALLAH**" qui nous a dotés de la merveilleuse faculté de raisonnement. Louange à notre Créateur qui nous a incités à acquérir le savoir.

Nous remercions sincèrement: **M. ABAIDIA A.G** , Maître assistant à l'Université de Khenchela, d'avoir accepté de présider le jury de ce modeste travail.

Nos vifs remerciements vont également à **Mme MESSAI Alima**, Maître assistante à l'Université de Khenchela, d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur **Mme BOUTARFA Soumia**, Maître assistante à l'université de Khenchela, Merci à vous pour votre patience, et votre gentillesse durant notre préparation de ce mémoire ont été déterminants dans la réalisation de notre travail.

Grand merci à nos enseignants et à tout le personnel pédagogique et administratif.

Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

*Remerciements*



*Je remercie en premier lieu dieu tout puissant pour m'avoir donné la force et la volonté d'accomplir ce modeste travail.*

*Je dédie ce modeste travail :*

*À celle qui s'est toujours dévouée et sacrifiée pour moi ; celle qui m'a aidée du mieux qu'elle pouvait pour réussir ; celle qui m'a accompagnée tout au long de ce parcours périlleux ; celle qui a toujours été là dans mes moments de détresse, **ma très chère mère.***

*À celui qui m'a toujours encouragée et soutenue moralement, **mon très chère père.***

*À **mon très chères frères** : Hamza et Abdelhak et à **mes très chères***

***Sœurs** : Nadjet, Zahra, Romana, Thaldja, Karima et Nora.*

*Et à toute la famille Arab En particulier : Zbida, Ahlam, Yasmina, Zoulikha, Yahia, Wail, Raid, Moatez bilah, Hind, Abderahman, Rokia, Zakaria.*

*Et ma grande mère « Hania », et ma oncle « Elwardi ».*

*Et à mes amis : Nabil, Faten, Mouna, Ahlem, Razika, Nessrin.*

*À mon très chère soeurs, mon binôme Sara Balouli je te dédie ce modeste travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*À toute la promotion de microbiologie sans exception, En particulier : Mouna, Ibtissam, Zineb, Afef, Rahma.*

*Nous exprimons également notre gratitude à tous les professeurs et enseignants qui ont collaboré à notre formation depuis notre premier cycle d'étude jusqu'à la fin de notre cycle universitaire.*

*À **mon très cher professeur «Boutarfa Soumia»** qui m'a toujours encouragée et soutenue depuis le début de ma thèse ; celui qui a toujours su trouver les mots pour me redonner la force de continuer et d'aller au bout de cette aventure qu'est la thèse !!*

**SOUAD.**



*Merci Allah*

*De m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve et le bonheur de lever mes mains vers le ciel et dire « ya kayoum ».*

*Je dédie ce modeste travail :*

***A mon père et ma mère :*** *Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour dont ils ne cessent de me combler, mes parents qui ont su construire pour moi un monde parfait. Qu'ALLAH leur procure bonne santé et longue vie.*

***A mes très chères sœurs :*** *Amel, Chaima et Bouthaina, qui étant à mes coté dans les Meilleurs moments comme dans les mauvais, je ne peux exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments d'amour et de tendresse envers vous.*

***A mes très chers frères :*** *Bassem et fouzi, j'ai beaucoup apprécié l'estime et l'amour fraternel que vous me portez. Que dieu vous préserve.*

***A Mon adorable mari wassim...*** *tes sacrifices, ton soutien moral, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études. et ton ca belle famille je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur.*

*Sans oublié ma grand-mère et grand-père. Qu'ALLAH leur procure bonne santé et longue vie.*

***A toute ma belle-famille.***

*Et bien sur À mon très chère sœurs, mon binôme Souad Arab je te dédie ce modeste travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*À toute la promotion de microbiologie sans exception, En particulier : Wafa, Mona, Ibtissam, Zineb, Afef, Rahma.*

*Nous exprimons également notre gratitude à tous les professeurs et enseignants qui ont collaboré à notre formation depuis notre premier cycle d'étude jusqu'à la fin de notre cycle universitaire.*

***À mon très cher professeur «Boutarfa Soumia»*** *qui m'a toujours encouragée et soutenue depuis le début de ma thèse ; celui qui a toujours su trouver les mots pour me redonner la force de continuer et d'aller au bout de cette aventure qu'est la thèse !*

**SARA.**

## Table des matières

Liste des figures .....	VI
Liste des photographies.....	VIII
Liste des tableaux.....	X
Liste des abréviations.....	XI

### Partie I : Synthèse bibliographique

Introduction.....	01
-------------------	----

#### Chapitre I : Généralités sur le genre *Staphylococcus*

I. Généralités sur le genre <i>Staphylococcus</i> .....	03
I.1. Historique et nomenclature.....	03
I.2. Taxonomie et classification.....	04
I.3. Caractère bactériologiques.....	05
I.3.1. Caractères phénotypiques.....	05
I.3.2. Caractères cultureux.....	06
I.4. Habitat.....	07
I.5. Les maladies causées par les staphylocoques.....	07
II. Facteurs de virulences.....	08
II.1. Les toxines formant des pores.....	09
II.2. Les toxines à activité protéolytique.....	09
II.3. Les superantigènes.....	09
II.4. Facteurs structuraux.....	10
II.4.1. Le peptidoglycane.....	10

II.4.2. L'acide téichoïque.....	10
II.4.3. La capsule.....	10
II.5. Les adhésines.....	10
II.6. Exoprotéines enzymatiques et toxiniques.....	11
II.6.1. Coagulase libre.....	11
II.6.2. Lipases.....	11
II.6. 3. Hyaluronidase.....	12
II.6.4. Staphylokinase.....	12

## **Chapitre II : Les infections nosocomiales à staphylocoques**

I. Les infections nosocomiales.....	13
I.1.Définition.....	13
I.2. Origine de l'infection.....	13
I.2.1. Origine endogène.....	13
I.2.2.Origine exogène.....	14
I.3. Les principaux germes responsables d'infections nosocomiales.....	14
I. 4.Fréquence et incidence.....	16
I.5.Les différents types d'infections nosocomiales.....	16
I.5.1.Infections urinaires.....	16
I.5.2. Les broncho-pneumopathies nosocomiales.....	17
I.5.3.Infections du site opératoire.....	17
I.5.4.Bactériémies nosocomiales primaire et secondaire.....	18

I.6. Les autres localisations infectieuses.....	18
II. Staphylocoques et risque infectieux sur les dispositifs médicaux.....	19
II .1. Définition d'un dispositif médical.....	19
II.2. Classification des DM selon leur niveau de risque.....	19
II.3.Biofilms.....	20
II.3.1. Caractéristique de biofilm.....	22
II.3.2. Le cycle de formation d'un biofilms.....	22
II.3.3.Résistance des biofilms aux antibiotiques.....	24
II.3.4. Biofilms et système immunitaire.....	24

## **Partie II : Etude Expérimentale**

### **Matériel et méthodes**

I. Lieu et cadre d'étude.....	26
II. Matériel.....	26
II.2. Milieux de culture solides.....	26
II.3. Milieux de culture liquides.....	26
II.4. Test biochimique.....	27
II.5. Antibiotiques en disques.....	27
III. Méthodes.....	27
III.1. Origine de prélèvement.....	27
III.2. Critères d'inclusion.....	28

<b>III.3. Prélèvement distal protégé.....</b>	<b>28</b>
<b>III.4. Isolement et purification.....</b>	<b>28</b>
<b>III.5. Identification.....</b>	<b>29</b>
<b>III.5.1. Examens macroscopiques.....</b>	<b>29</b>
<b>III.5.2. Examens microscopiques.....</b>	<b>30</b>
<b>III.6. Identification biochimique.....</b>	<b>31</b>
<b>III.6.1. Recherche de la Catalase.....</b>	<b>31</b>
<b>III.6.2. Recherche de coagulase.....</b>	<b>31</b>
<b>III.6.3. Conservation des souches.....</b>	<b>32</b>
<b>III.6.4. Antibiogramme des souches isolées.....</b>	<b>33</b>
<b>III.6.4.1. Le contrôle de qualité.....</b>	<b>33</b>
<b>III.6.4.2. Technique de l'antibiogramme.....</b>	<b>33</b>

## **Résultats et discussions**

<b>I. Résultats descriptifs des dispositifs médicaux.....</b>	<b>36</b>
<b>I.1.</b>	
<b>Prélèvement</b>	
.....	
.....	<b>36</b>
<b>I.2. Répartition des prélèvements selon les dispositifs médicaux de chaque service.....</b>	<b>37</b>
<b>II. Résultats bactériologiques.....</b>	<b>38</b>
<b>II.1. Résultats générale.....</b>	<b>38</b>
<b>II.2. Résultats de chaque service.....</b>	<b>39</b>

<b>II.3.Résultats de chaque dispositif médical.....</b>	<b>40</b>
<b>III.1. Isolement et identification des <i>Staphylococcus spp.</i>.....</b>	<b>41</b>
<b>III.1.1. Aspect des colonies.....</b>	<b>41</b>
<b>III.1.2.Coloration de Gram.....</b>	<b>42</b>
<b>III.1.3. Test catalase.....</b>	<b>42</b>
<b>III.1.4. Test de coagulase libre.....</b>	<b>43</b>
<b>IV. Effet des disques d'antibiotique sur les Staphylocoques.....</b>	<b>44</b>
<b>Conclusion</b>	
.....	51
<b>Références</b>	<b>bibliographiques</b>
.....	53
<b>Annexes</b>	
<b>Résumé</b>	
<b>Abstract</b>	
<b>ملخص</b>	

Liste des figures

**Figure01** : Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (X 20000).....05

**Figure 02** : photos en microscopie électronique à transmission d'une souche de *S. aureus* capsulée (à gauche) et d'un mutant non capsulé (à droite) .....06

**Figure 03** : Répartition des infections nosocomiales validées en fonction du site.....21

**Figure 04** : image d'un biofilms à *Haemophilus influenzae* par microscopie électronique a balayage (MEB). Image obtenue après une croissance de 24heure en milieu LB sur de verre en condition stérile. Au centre de l'image, les bacilles en agrégat sont bien définis. Au cœur et à la base de monticule, sur la gauche de l'image, les bacilles sont moins visibles car ils sont recouverts d'une matrice exopolymères. Barre d'échelle : 2µm.....20

**Figure 05**: Cycle de développement simplifié d'un biofilms.....22

**Figure 06** : Les étapes de coloration de Gram.....30

**Figure 07**: Répartition des prélèvements selon les services.....36

**Figure 08**: Répartition des prélèvements selon les dispositifs médicaux.....38

**Figure 09** : La répartition des cultures positives et négatives.....38

**Figure 10**: Répartition de cultures positives selon les 05 services.....39

**Figure 11**:Les résultats positifs selon les dispositifs médicaux.....40

**Figure 12** : Pourcentage de résistance/sensibilité de Staphylocoques vis-à-vis les MLS.....45

**Figure 13**: Pourcentage de résistance de Staphylocoques vis -à vit les Vancomycine.....46

**Figure 14** : Pourcentage de résistance de Staphylocoques vis -à vit les Nitrofurantion.....47

**Figure 15** : Pourcentage de résistance/sensibilité de Staphylocoques vis -à vit les PEF.....48

**Figure 16**: Pourcentage de résistance/sensibilité de Staphylocoques vis -à vit les Chloramphénicol.....49

**Figure 17** : Pourcentage de résistance de Staphylocoques vis-à vis les 06 antibiotiques testés.....**50**

**Liste des photographies**

**Photographie 01** : Vue générale de laboratoire bactériologique de l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de kenchela.....26

**Photographie 02** : La technique de prélèvement utilisée dans notre travail (prélèvement par un écouvillon).....28

**Photographie 3.1**: La technique d'ensemencement par écouvillon.....29

**Photographie 3.1**: La technique d'ensemencement par anse de platine.....29

**Photographie 04** : Un plasma humain contient des colonies de staphylocoques pour le teste coagulase.....32

**Photographie 05** : La conservation des souches dans la gélose nutritive.....33

**Photographie 06** : La comparaison de l'inoculum avec le Mac Ferland.....34

**Photographie 07** : Les étapes de l'antibiogramme.....35

**Photographie 8.1**: Colonie de *Staphylococcus* manitol +.....41

**Photographie 8.2**: Colonie de *Staphylococcus* manitol - .....41

**Photographie 09**: Aspect des colonies de *Staphylococcus* isolées sur milieu gélose au sang.....42

**Photographie 10** : Résultats de la coloration de Gram..... 42

**Photographie 11**: Résultat du test catalase.....43

**Photographie 12** : Résultat du test de coagulase libre.....43

**Photographie 13** : Effet de l'Erythromycine et la Pristinamycine sur les Staphylocoques isolés à partir des dispositifs médicaux.....45

**Photographie 14** : Effet de Vancomycine sur les Staphylocoques isolés à partir des dispositifs médicaux.....46

**Photographie 15:** Effet de disque d'antibiotique de Nitrofurantion sur les Staphylocoques isolés à partir des dispositifs médicaux.....47

**Photographie 16:** Effet de Péfloxacine sur les Staphylocoques isolés à partir des dispositifs médicaux.....48

**Photographie 17:** Effet de Chloramphénicol sur les Staphylocoques isolés à partir des dispositifs médicaux.....49

**Liste des tableaux**

**Tableau I** : Espèces constituant le genre *Staphylococcus*.....05

**Tableau II** : Différents caractères bactériologiques de *Staphylococcus*.....06

**Tableau III** : Les maladies causées par les Staphylocoques.....08

**Tableau IV** : les modes de transmission exogènes et leur réservoir.....14

**Tableau V** : Germes responsables des infections nosocomiales .....15

**Tableau VI** : prévalence des infections nosocomiales par pays.....16

**Tableau VII**: Classement des dispositifs médicaux et niveau de traitement requis..... 20

**Tableau VIII** : L'antibiogramme pour *Staphylococcus sp.*.....27

**Tableau IX** : Répartition des prélèvements selon les services.....36

**Tableau X** : Répartition des prélèvements selon les dispositifs médicaux de chaque service.....37

**Tableau XI** : Les cultures positives et négatives des 05 services.....39

**Tableau XII** : Les résultats positifs et négatifs selon les dispositifs médicaux.....40

## Liste des abréviations

**ADN** : acide désoxyribonucléique.

**ATB** : Antibiotique.

**BCC** : Bouillon cœur cerveau.

**BMR** : bactéries multi résistantes.

**BN** : Bouillon nutritif.

**C** : Chloramphénicol.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**DM** : dispositif médicale.

**DO**: densité optique.

**E** : Erythromycine.

**Eap** : protéine d'adhérence extracellulaire.

**ECM** : composants de la matrice extracellulaire.

**Eta** : Le gène codant pour la toxine épidermolysine A.

**Etb** : Le gène codant pour la toxine épidermolysine B.

**Etc** : Le gène codant pour la toxine épidermolysine C.

**Etd** : Le gène codant pour la toxine épidermolysine D.

**F** : Nitrofurantion.

**GC %** : Pourcentage en guanine + cytosine du génome (coefficient de Chagraff).

**Gram+** : Gram positif.

**GSC** : gélose au sang cuit.

**IN** : infection nosocomiale.

**ISO** : infection du site opératoire.

**kDa** : kilo Dalton.

**LB** : Luria Bertani.

**Mac**: Mac Farland.

**MEB** : microscopie électronique a balayage.

**MLS** : Macrolides -Lincosamides- Streptogamines.

**MSCRAMMs** : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules.

**NCCLS** : National Committee for Clinical Laboratory Standard

**O<sub>2</sub>H<sub>2</sub>** : L'eau oxygénée.

**OMS** : Organisation mondiale de santé.

**ORL** : oto-rhino-laryngologie.

**PEF** : Péfloxacine.

**PFTs** : pore-forming toxins.

**pH<sub>m</sub>** : pH maximale.

**pH<sub>opt</sub>** : pH optimale potentielle.

**PT** : Pristinamycine.

**QCI**: Contrôle de qualité interne.

***S. albus*** : *Staphylococcus albus*.

***S. aureus*** : *Staphylococcus aureus*.

**Sak** : La staphylokinase.

**SERAMs** : Secretable Expanded Repertoire Adhesive molecules.

**SPE** : substance polymérique extracellulaire.

**TSST** : Toxic shock syndrome toxin.

**VA** : Vancomycine.

# **Partie I**

## **Synthèse bibliographique**

## **Introduction**

Le risque de contracter une infection à l'hôpital a toujours existé. Ce risque c'est accru avec l'évolution des pratiques de soin. Ces pratiques plus efficaces mais souvent plus invasives se sont accompagnées d'une possibilité de contamination par des micro-organismes d'origine endogène ou exogène (**Samou, 2005**).

Il s'agit quasiment toujours d'une infection nosocomiale exposant à un risque élevé d'infection par une bactérie multi résistante (**Kalilou et Coulbaly, 2009**).

Les infections nosocomiales sont des infections secondaires, produites par des agents infectieux présents dans l'environnement hospitalier et contractés par des patients durant leur hospitalisation (**Bousseboua, 2002**).

Les épidémies de ces infections nosocomiales sont presque toujours associées à une transmission inter-humaine, ou à la contamination de dispositifs médicaux (**Ministère de la santé, 2002**).

Les staphylocoques représentent une proportion importante parmi les bactéries responsables d'infections graves. Ils sont observés dans de multiples situations cliniques, aussi bien en pathologie communautaire qu'en pathologie nosocomiale (**Zahlane et al., 2007**).

Les principales espèces responsables des infections dues à la présence d'un matériel étranger sont : *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus*. Leur principal facteur de virulence est leur capacité d'adhérer aux matériaux et de favoriser la formation de biofilm.

Le problème majeur avec cette forme de vie est qu'elle confère une résistance importante aux antibiotiques, et aux attaques du système immunitaire, ce qui place les cliniciens face à une difficulté d'éradiquer ces microorganismes (**Soussy, 2007**).

L'Algérie est pays de nord de l'Afrique où les récentes données de résistance aux antibiotiques indiquent une situation inquiétante. En effet, ces dix dernières années ont été marquées par l'émergence et la dissémination de nouveaux gènes de résistance notamment dans le nord du pays (**Boukhatem et al., 2015**).

Dans ce contexte, notre étude a été entreprise à l'hôpital Ahmed Ben Balla khenchela dans une période allant de moins avril à mai.

Dont les objectifs spécifiques étaient :

- Détecter les dispositifs médicaux infectés en utilisant la méthode quantitative décrite par Brun- Buisson (1987).
- Isoler et identifier les bactéries à Gram positif responsables d'infection liée aux surfaces;
- Etudier le profil de résistance des staphylocoques isolés afin de permettre une meilleure approche thérapeutique, sachant que les infections à staphylocoques représentent un pourcentage important des infections graves et dont la prévalence ne baisse pas malgré les mesures de prévention.

**Chapitre I**  
**Généralités sur le**  
**genre *Staphylococcus***

## I. Généralités sur le genre *Staphylococcus*

Les Staphylocoques sont parmi les bactéries pathogènes les plus importantes chez l'homme et peuvent être divisés en souches pathogènes et souches relativement non pathogènes sur base de la synthèse de coagulase (**Prescott et al., 2007**). Les souches coagulase positive identifiées comme *Staphylococcus aureus* (**Avril et al., 2003 ; Quinn et al., 2011**) produisent souvent un pigment caroténoïde jaune, ce qui leur a valu l'appellation commune de Staphylocoques dorés (**Prescott et al., 2007**), les souches non productrices de coagulase, telles que *Staphylococcus epidermidis* (**Morea et al., 1999 ; Blaiotti et al., 2004**), sont non pigmentées et sont généralement moins invasives, mais elles sont associées de plus en plus comme bactéries pathogènes opportunistes, à des infections nosocomiales graves (**Freney et al., 1999**)

Les staphylocoques peuvent aussi se diviser en producteurs et non producteurs de mucus qui est une couche visqueuse extracellulaire permet aux bactéries d'adhérer à des surfaces lisses. Cette propriété de produire du mucus est proposée comme marqueur des souches pathogènes (**Prescott et al., 2007**).

### I.1. Historique et nomenclature

Les premières descriptions des staphylocoques (bactéries en forme de coques) isolés à partir de plus d'abcès datent de 1871 mais ce n'est que quelques années plus tard que ces travaux permettront de proposer un nom à la bactérie rencontrée. Ainsi en 1878, Robert Koch en Allemagne et Louis Pasteur en 1880 en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine (**Fasquelle, 1974 ; Karthik, 2007**).

Plus tard ; en 1883, Ogston crée le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains (kokkos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). Ogston différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus* (**Spicer, 2003 ; Brech, 1988 ; Stephen et Hawkey, 2006**).

En 1884, en Allemagne Rosenbach donne la première description du genre *Staphylococcus* en obtenant des cultures pures de ces bactéries sur milieu solide. Il différencie ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments produites par les colonies (blanches ou dorées) (**Avril et al., 1992 ; Karthik, 2007**).

En 1885, Zopf a placé les staphylocoques et les microcoques dans le genre *Micrococcus*, séparés par la suite par Fllugge, Evans, Bradford et Niven (1955) qui classent les cocci anaérobies facultatifs et aérobies dans le genre *Staphylococcus* et *Micrococcus*, respectivement. Cette classification est basée sur leur action vis-à-vis de la gélatine et le teste d'oxydation-fermentation du glucose. Une nette distinction basée sur la composition de l'ADN entre les deux genres a été proposée par Silvestri et Hillen (1965). Le pourcentage en bases G+C de l'ADN des microcoques est de 63-73%, comparé à ce lui des staphylocoques 30-39%, indiquant qu'il n'existe pas de relation entre les deux genres (**Stephen et Hawkey, 2006**).

## **I.2. Taxonomie et classification**

La classification des staphylocoques a connu de nombreux bouleversements (**Fauchère et Avril, 2002**).

Actuellement sa position taxonomique est bien définie il s'agit de la famille *Staphylococcaceae* (**Garrity et al., 2002**). Cette famille comporte les genres *Gemella*, *Jeotgalicoccus*, *Salinicoccus*, *Macrococcus*, ainsi que le plus important le genre *Staphylococcus* (**Dworkin et al., 2006**).

Selon la 9<sup>ème</sup> édition du « *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* », les staphylocoques sont classés comme suivant:

**Règne :** *Bacteria* ;

**Division:** *Firmicutes* ;

**Classe :** *Bacilli* ;

**Ordre :** *Bacillales* ;

**Famille :** *Staphylococcaceae* ;

**Genre :** *Staphylococcus* (**Prescott, 2010**).

On distingue plus de quarante espèces de *Staphylococcus* dont 24 sous espèces comme il est indiqué dans le **Tableau I**. Un certain nombre d'entre elles sont trouvées chez l'homme, d'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments (**Avril et al., 1992 ; Quinn et al., 2011**).

Tableau I : Espèces constituant le genre *Staphylococcus* (Bes et Brum, 2002).

Espèces et sous-espèces isolées en clinique humaine	Espèces et sous-espèces isolées principalement chez l'animal, les produits dérivés et l'environnement
<i>S. aureus</i> subspecies <i>aureus</i>	<i>S. arlettae</i>
<i>S. auricularis</i>	<i>S. aureus</i> subspecies <i>anaerobius</i>
<i>S. capitis</i> subspecies <i>capitis</i>	<i>S. capitis</i> subspecies <i>urealyticus</i>
<i>S. caprae</i>	<i>S. carnosus</i> subspecies <i>carnosus</i>
<i>S. cohnii</i> subspecies <i>cohnii</i>	<i>S. carnosus</i> subspecies <i>utilis</i>
<i>S. epidermidis</i>	<i>S. chromogenes</i>
<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. cohnii</i> subspecies <i>urealyticus</i>
<i>S. hominis</i> subspecies <i>hominis</i>	<i>S. condimenti</i>
<i>S. intermedius</i>	<i>S. delphini</i>
<i>S. lugdunensis</i>	<i>S. felis</i>
<i>S. pasteurii</i>	<i>S. fleurettii</i>
<i>S. saccharolyticus</i>	<i>S. gallinarum</i>
<i>S. saprophyticus</i> subspecies <i>saprophyticus</i>	<i>S. hominis</i> subspecies <i>novobiosepticus</i>
<i>S. schleiferi</i> subspecies <i>schleiferi</i>	<i>S. hyicus</i> subspecies <i>hyicus</i>
<i>S. simulans</i>	<i>S. kloosii</i>
<i>S. xylosum</i>	<i>S. lentus</i>
<i>S. warneri</i>	<i>S. lutrae</i>
	<i>S. muscae</i>
	<i>S. piscifermentans</i>
	<i>S. pulvereri</i>
	<i>S. saprophyticus</i> subspecies <i>bovis</i>
	<i>S. schleiferi</i> subspecies <i>coagulans</i>
	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>sciuri</i>
	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>carnaticus</i>
	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>rodentium</i>
	<i>S. succinus</i>
	<i>S. vitulinus</i>

### I.3. Caractères bactériologiques

#### I.3.1. Caractères phénotypiques

Les *Staphylococcus* sont des cocci à coloration de Gram positive d'environ 1 µm de diamètre, se disposant le plus souvent en amas ou grappes de raisin. (Figure 1) Ils sont immobiles et ne produisent pas de spores. S'ils sont généralement capsulés in vivo, ils perdent progressivement leur capsule en culture (Figure 2) (Flandrois, 1997).

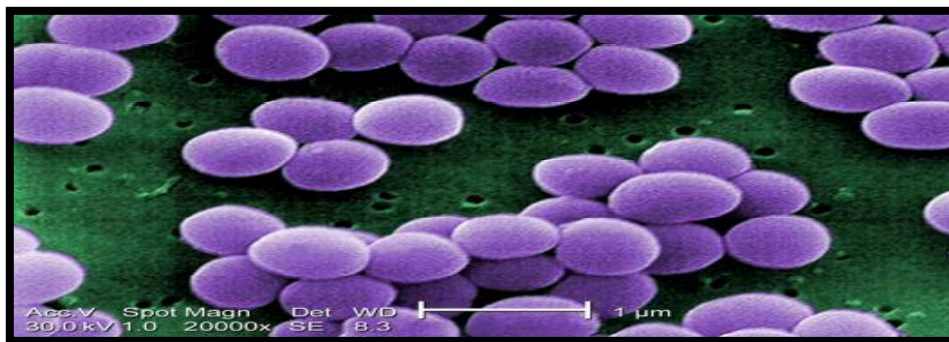
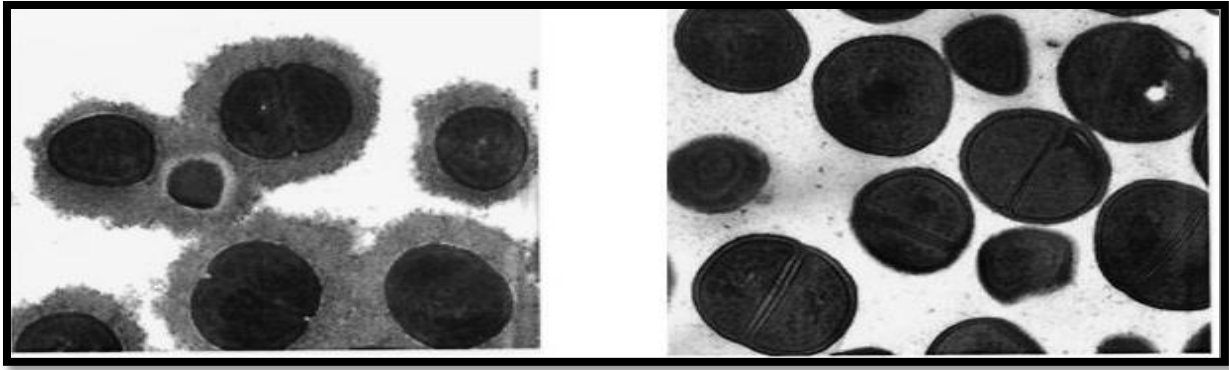


Figure1 : Aspect de *S. aureus* en microscopie électronique (X 20000)

<http://www.futura-sciences.com/fr/news/t/medecine/>



**Figure 2** : photos en microscopie électronique à transmission d'une souche de *S. aureus* capsulée (à gauche) et d'un mutant non capsulé (à droite) (Katherine et Jean ,2004).

### I.3.2. Caractères cultureux

Les staphylocoques se développent en aérobie ou en anaérobie sur la plupart des milieux usuels. Certaines souches nécessitent cependant une forte pression en CO<sub>2</sub> pour une croissance optimale ainsi que la présence d'autres métabolites tels que l'hémine ou la ménadione.

La température optimale de croissance est de +30°C à +45°C avec un maximum à 37°C et le pH varie entre 4,8 à 9,4 avec un optimum à 7,5.

**Tableau II** : Différents caractères bactériologiques de *Staphylococcus* (Prescott *et al.*, 2010).

<b>Morphologie</b>	<b>Regroupé en paire, tétrade ou amas réguliers immobile, non sporulé</b>
<b>Dimension (µm)</b>	<b>0,5-1</b>
<b>Teneur en GC (mol%)</b>	<b>33%</b>
<b>Taille du génome (Mb)</b>	<b>2,8-2,9</b>
<b>Type respiratoire</b>	<b>Aéro anaérobie facultatif</b>
<b>Type trophique</b>	<b>Chimioorganotrophe</b>
<b>Métabolisme</b>	<b>Fermentaire et /ou respiratoire</b>
<b>Autre caractères</b>	<b>Catalase positive- oxydase négative Halophile-mésophile (37°C) et psychrophile (6-12°C) Neutrophile pH<sub>opt</sub>=7 ; pH<sub>m</sub> ; Aw: basse, jusqu'à 0,83</b>

En bouillon, les staphylocoques se multiplient en quelques heures formant un trouble homogène.

Sur gélose ordinaire, les colonies sont lisses, rondes, opaques, plus ou moins bombées avec un diamètre variant de 1,5 à 4 mm. La plupart des souches produisent un pigment jaune doré, parfois jaune citrin.

En milieu gélosé au sang, on observe fréquemment une zone claire d'hémolyse ( $\beta$  hémolyse) autour des colonies.

La plupart des souches de staphylocoques pousse sur un milieu synthétique contenant entre autres du glucose, des sels minéraux, acides aminés dont la cystéine, la vitamine B1 et l'acide nicotinique (**Brun et Bes, 1990 ; Fleurette, 1982 ; Konate, 2001 ; Novick, 1990**).

#### **I .4. Habitat**

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont ubiquitaires, peu exigeantes et capables de vivre dans de nombreux sites, essentiellement en saprophyte de l'environnement extérieur, mais aussi en commensale des épithéliums cutanés et muqueux des hommes et des animaux (**Wertheim et al., 2005**).

Chez l'homme, les staphylocoques en particulier les espèces *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* font partie de la flore résidente cutanée de nombreux individus qui sont des porteurs asymptomatiques.

Ils jouent un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constituent une barrière de colonisation, empêchent l'implantation de bactéries de la flore transitoire (**Wylie et al., 2005 ; Hirsh et al., 2004**).

#### **I .5. Les maladies causées par les staphylocoques**

Les staphylocoques représentent une proportion importante parmi les bactéries responsables d'infections graves (**Tableau III**). Ils sont observés dans de multiples situations cliniques, aussi bien en pathologie communautaire qu'en pathologie nosocomiale (**Zahlane, 2007**).

Tableau III : Les maladies causées par les Staphylocoques (Schaechter *et al.*, 1999).

<b>Infections</b>	<b>Exemples</b>
<b>Infections de la peau et des tissus mous</b>	-Furoncles, abcès -Infections des plaies (traumatiques, chirurgicales) -Cellulite -Impétigo (aussi causé par les Streptocoques)
<b>Bactériémies (souvent avec des abcès métastatiques)</b>	
<b>Endocardites</b>	
<b>Infection du système nerveux central</b>	-Abcès du cerveau -Méningite-rare -Abcès épidual
<b>Infections pulmonaires</b>	- Embolie - Aspiration
<b>Muscles et squelette</b>	- Ostéomyélite - Arthrite
<b>Tractus génito-urinaire</b>	- Abcès rénal - Infection du tractus urinaire inférieur
<b>Maladies provoquées par des toxines</b>	- Syndrome du choc toxique - Intoxications alimentaires (gastroentérites)

## II. Facteurs de virulences

Cette bactérie est solidement armée pour effacer un certain nombre de défenses que son hôte pourrait lui opposer (anticorps, phagocytose ou cytotoxicité), ces parades se distribuent en plusieurs groupes de toxines. La pathogénicité de *S. aureus* est surtout reliée à l'expression de facteurs de virulence. En plus de facteurs structuraux, il a en effet la capacité de sécréter, après invasion, des facteurs d'adhésion, des toxines ou encore des enzymes (Gordon et Lowy, 2008).

### II.1. Les toxines formant des pores

Ces toxines cytolitiques ont la capacité de détruire les cellules de défense de l'hôte en formant des pores au niveau des membranes cellulaires (**Parker et Feil, 2005**). Les PFTs (il ya deux grandes types selon sa structure tridimensionnelle: Les alpha-PFTs et Les bêta-PFTs ou leucotoxines), sont souvent sécrétées sous forme de monomères, leur caractéristique commune est la sécrétion par la bactérie sous forme de protéines libres hydrosolubles (**Lesieur et al., 1997**). En fonction des PFTs des facteurs lipidiques ou protéiques interviennent ensuite pour permettre l'interaction de ces toxines avec les membranes de leurs cibles cellulaires (**Vincenot et al., 2008**).

### II.2. Les toxines à activité protéolytique

Les épidermolysines : Elles font parties des protéases à sérine active, *S. aureus* sécrète la sérine protéase V8 qui clive spécifiquement la liaison peptidique des résidus aspartate et glutamate. Ces protéases à sérine hydrolysent les protéines dont la cible majeure est la desmogléine-1, une protéine desmosomale du stratum granulosum de l'épiderme, expliquant ainsi le décollement observé lors de l'impétigo du jeune enfant dans le syndrome de la peau ébouillantée ou lors d'impétigo bulleux cellulaires (**Vincenot et al., 2008**).

L'épidermolysine atteint la zone du stratum granulosum, par diffusion à travers les capillaires du derme, induisant une perte d'adhérence cellulaire entre les zones de l'épithélium kératinisé engendrant un décollement intra-épidermique (**Gravet et al., 2001**).

Actuellement, quatre épidermolysines isoformes ont été caractérisées (A, B, C, D), les gènes codant pour ces toxines Eta, Etb, Etc, et Etd ont été également caractérisés ; le gène codant l'épidermolysine A est porté par un bactériophage, tandis que celui de l'épidermolysine B est à transmission plasmidique cellulaires (**Vincenot et al., 2008**).

### II.3. Les superantigènes

Les superantigènes sont des molécules présentant une liaison directe à grande affinité avec les antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II des cellules présentant l'antigène, induisant ainsi l'activation polyclonale des lymphocytes T (**Velasco et al., 2005**). *S. aureus* produit trois types de superantigènes : les entérotoxines (dont l'entérotoxine staphylococcique A), la toxine 1 du choc toxique (TSST-1) et les toxines exfoliatives. Les pathologies les mieux connues comme étant associées à ces molécules superantigéniques sont le choc toxique et les dermites exfoliatives (**Merlet, 2010**).

## II.4. Facteurs structuraux

**II.4.1. Le peptidoglycane** : C'est le composant principale de la paroi cellulaire des Gram+. Chez les Staphylocoques il joue un rôle dans l'activation du complément, stimule la sécrétion des cytokines par les macrophages ainsi que l'agrégation des plaquettes, comme il peut avoir une action similaire à celle des endotoxines (**Lowy, 1998**).

**II.4.2. L'acide téichoïque** : Les acides teichoïques sont quantitativement le deuxième composant et sont associés au réseau de peptidoglycanes. Ils atteignent la surface externe et constituent des antigènes importants (**Lowy, 1998**). Ils assurent trois rôles principaux ;

- La protection contre les antimicrobiens et le stress environnemental,
- Le contrôle de l'activité enzymatique et la concentration cationique de l'enveloppe,
- La liaison aux différents récepteurs et surfaces (**Xia et al., 2010**).

**II.4.3. La capsule** : La majorité des staphylocoques produit des microcapsules polysaccharidiques. Certaines souches de *S. aureus* sont aussi capables de produire des exo polysaccharides responsables de la formation de bio films, ce qui confère à la bactérie une forme de résistance (**Lowy, 1998 ; Gordon et Lowy, 2008**)

## II.5. Les adhésines

Ce sont des molécules impliquées dans l'adhésion, classées en deux groupes (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) ou MSCRAMMs et (Secretable Expanded Repertoire Adhesive molecules) ou SERAMs (**Chavakis et al., 2005**).

Les MSCRAMMs constituent une famille de plus de 20 membres qui reconnaissent les composants de la matrice extracellulaire (ECM). Les SERAMs forment un groupe de 5 adhésines, y compris, la protéine A liant le fibrinogène, la coagulase, protéine liant le fibrinogène extracellulaire, la protéine liant l'ECM et la protéine d'adhérence extracellulaire (Eap) (**Chavakis et al., 2005**).

Dans tous les cas, la physiopathologie des infections à Staphylocoques débute par la colonisation des surfaces (peau et muqueuse) grâce à la production de facteurs d'adhésion. Ces facteurs d'adhésion sont capables de reconnaître et de se lier non seulement aux composants de la matrice extracellulaire de l'hôte (fibrinogène, fibronectine, kératine) (**Patti et Hook, 1994 ; Patti et al., 1994 ; Foster et Hook, 1998**), mais aussi aux matériels étrangers

(cathéter, prothèse, valve mécanique,...), expliquant pourquoi *S. aureus* est un germe important d'infections liées aux soins (Lowy, 1998). Ces facteurs d'adhésion sont appelés MSCRAMM (Clarke et Foster, 2006).

## II.6. Exoprotéines enzymatiques et toxiques

Durant l'infection, la production de différentes enzymes comme les protéases, les lipases, les élastases..., facilite la destruction des tissus, l'évasion à la défense de l'hôte, la dissémination systémique et les localisations métastatiques (Gordon et Lowy, 2008).

*S. aureus* sécrète de nombreuses toxines ayant pour objet de détourner ou de neutraliser la réponse immune (Vincenot *et al.*, 2008).

### II.6.1. Coagulase libre

La coagulase est une protéine extracellulaire qui se lie à la prothrombine de l'hôte et forme un complexe appelé staphylothrombine. La thrombine activée transforme donc le fibrinogène en fibrine (Peacock, 2006). C'est la base du test de la coagulase en tube. C'est un marqueur classique de l'identification de *S. aureus* (Langlet, 1999). par l'utilisation d'une plasma sanguine (de lapin, humain...) additionnée d'une colonie de ce souche (Avril *et al.*, 1992). Il n'y a cependant pas d'argument formel en faveur du rôle de la coagulase dans la virulence des souches (Baggett *et al.*, 2004). Cependant, on peut considérer logiquement qu'elle intervient dans la constitution des thrombophlébites staphylococciques et que le caillot permet aux bactéries qu'il contient de se protéger contre les défenses de l'hôte (Bronner *et al.*, 2004 ; Tally, 1999).

### II.6.2. Lipases

Une des façons dans laquelle les cellules hôtes répondent à une infection est des acides gras et des lipides, qui forment des petits trous dans la membrane bactérienne, alors que *S. aureus* produit des enzymes appelées lipases qui détruisent ces acides gras avant de causer des dommages au niveau de la membrane bactérienne (Tally, 1999), ce qui permet à la bactérie de coloniser plus aisément les lésions cutanées (Chamberlain et Brueggemann, 1997 ; Lu *et al.*, 2012).

### II.6. 3. Hyaluronidase

Cette enzyme extracellulaire thermolabile hydrolyse l'acide hyaluronique, substance fondamentale de la matrice du tissu conjonctif, ce qui permet la diffusion tissulaire des *S.aureus* (Makris *et al.*, 2005). Cette enzyme est produite uniquement dans la phase exponentielle de croissance (Poncholi, 2002).

### II.6.4. Staphylokinase

La staphylokinase (Sak) est une enzyme sécrétée de 15,5 kDa codée par un bactériophage (Sako et Tsuchida, 1983 ; Wamel *et al.*, 2006). Cette enzyme permet la conversion du plasminogène humain en plasmine. Cette activation conduit à la lyse des thrombus riches en bactéries et induit la formation de foyers septiques secondaires. Sak présente des propriétés anti-opsonisation. La plasmine activée par Sak est une puissante sérine protéase capable de cliver et d'inactiver l'immunoglobuline G et la fraction C3b humain, inhibant de ce fait, la phagocytose (Rooijackers *et al.*, 2005). La staphylokinase est également capable de cliver la fibrine, l'élastine et le collagène présents autour du site infectieux pour faciliter l'entrée de *S. aureus* (Bokarewa *et al.*, 2006).

Il a été également démontré que la staphylokinase peut se complexer avec deux peptides antimicrobiens, la cathélicidine et l' $\alpha$ -défensine, sécrétés entre autre dans le tractus respiratoire. La cathélicidine est temporellement le premier peptide sécrété. L'association directe avec la cathélicidine induit une augmentation de l'activation de la conversion du plasminogène en plasmine (Braff *et al.*, 2007). La sécrétion d' $\alpha$ -défensine est alors activée. La staphylokinase se lie avec ces défensines pour réprimer leur effet bactéricide (Bokarewa et Tarkowski, 2004 ; Jin *et al.*, 2004 ; Bokarewa *et al.*, 2006).

**Chapitre II**  
**Les infections**  
**nosocomiales à**  
**Staphylocoques**

## I. Les infections nosocomiales

### I.1. Définition

Le terme nosocomial, vient du grec « nosos » signifiant maladie et secondairement de « nosokomeone » qui signifie hôpital; il qualifie ce qui se rapporte à ce milieu, ce qui se contracte lors d'un séjour hospitalier (**Margot et Chantal, 2009 ; Prescott, 2009**).

L'infection nosocomiale est une infection acquise dans le cadre d'une activité de soins, qu'elle soit ambulatoire ou hospitalière. Elle est généralement acquise plus de 48h après l'admission (**Menzinger et al, 2008**).

Les infections nosocomiales sont considérées comme une cause majeure de mortalité et de morbidité chez les patients hospitalisés. Dont les causes sont souvent liées à des procédures thérapeutiques, la pratique des soins infirmiers, du matériel (équipement) à la disposition des professionnels et des utilisateurs, le comportement et les habitudes des patients pendant l'hospitalisation, ainsi que les mesures d'hygiène à l'hôpital adoptées par l'établissement, et leurs conséquences sont souvent graves avec un impact financier, social et psychologique (**Chaib et al., 2016**).

### I.2. Origine de l'infection

Les agents pathogènes responsables d'infection nosocomiale peuvent avoir deux origines :

#### I.2.1. Origine endogène

C'est-à-dire qu'ils font partie de la flore commensale du patient. Les pathogènes sont présents chez le patient avant l'hospitalisation, par exemple au niveau des voies respiratoires, de la peau, de la sphère gastro-intestinale ou génitale (**Horan et al., 2008**). L'hospitalisation entraîne une modification de la flore habituelle du patient au bout de 5 jours d'hospitalisation. Certains gestes invasifs peuvent déplacer des germes d'un endroit où ils sont inoffensifs vers un autre où ils se multiplient différemment et deviennent pathogènes (**Uvmaf, 2011**).

### I.2.2. Origine exogène

C'est-à-dire que le patient a été en contact avec ces organismes au cours de l'hospitalisation. Ces pathogènes peuvent provenir de la flore transitoire ou résidente du personnel soignant ou de visiteurs, de dispositifs médicaux (DM) et même de l'environnement et des locaux hospitaliers. Ces réservoirs de germes sont représentés par des éléments inanimés contaminés (objet, air, surface, aliments, etc...), ou par des êtres humains (le personnel, les visiteurs et les malades eux mêmes) (Uvmaf, 2011).

Il existe quatre modes de transmission exogène :

**Tableau IV : les modes de transmission exogènes et leur réservoir (Lasheras et Monnin, 2008).**

<b>Modes de transmission</b>	<b>Réservoirs de germes</b>
<b>Par contact</b>	-Flore cutanée résidente ou transitoire présente sur les mains des soignants colonise ou infecte les patients ou sur la tenue vestimentaire des soignants; -La flore de l'environnement ; -Plaie ouverte en contact avec des surfaces contaminées ; -Flore des autres patients déposée sur des surfaces ; -L'entourage direct du patient peut-être en cause.
<b>Par gouttelette</b>	Ce sont des sécrétions du rhino-pharynx ou du tractus respiratoire, la source est alors proche du patient.
<b>Par voie aérienne</b>	Il s'agit de microorganismes sur support de poussière ou de cellules squameuses, la source peut être distant du patient.
<b>Par dispositifs médicaux, produits biologiques, aliments</b>	Dans ce cas il n'y a pas nécessité de multiplication des microorganismes sur le support pour que le risque de transmission existe.

### I.3. Les principaux germes responsables d'infections nosocomiales

Tout agent infectieux peut, en principe être responsable d'infection nosocomiale, dès lors que l'infection en cause répond à la définition d'une infection nosocomiale. C'est ce qui explique la diversité des agents responsables.

Les agents infectieux responsables des infections nosocomiales sont des micro-organismes tels que les parasites et les champignons, bactéries, virus (Uvmaf, 2011). Les germes nosocomiaux rencontrés sont souvent des bactéries.

Elles sont dominées par les Staphylocoques, les entérobactéries et les bactéries du genre *Pseudomonas*. Ces bactéries nosocomiales sont souvent caractérisées par leur multi-résistance ; on les appelle des BMR, bactéries multi-résistantes (Bakini et Nigri, 2013).

**Tableau V** : Germes responsables des infections nosocomiales.

	Le germe	Site d'infection	L'infection nosocomiale
Les bactéries	<b>Les Staphylocoques (Margot et Chantal, 2009)</b>		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	- Site chirurgical ; -Nombre considérable de pneumonies ; -Sur cathéter veineux, sonde vasculaire, Prothèses vasculaires.	Bactériémie
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-Sur cathéters de dialyse péritonéale ; -Sur prothèses valvulaires cardiaques ; -Les infections urinaires.	Bactériémie  Urinaires
	<b>Les Entérobactéries (Pitout et Laupland, 2008 ; Arias et Murray, 2009)</b>		
	<i>Escherichia coli</i>	-Infections urinaires	Les infections nosocomiales urinaires
	<i>Enterobacter sp</i>	Abcès cérébraux, pneumonie Voies urinaires	Septicémie
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Pneumonie	Bactériémie
	<b>Les Pseudomonas (Cattoen, 2009)</b>		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-Pulmonaires ; -Infections cutanées ; -ORL, digestives, ostéo-articulaires	Pneumopathies nosocomiales et Septicémies
	<b>Les Clostridium (Margot et Chantal, 2009)</b>		
	<i>Clostridium difficile</i>	Causer des lésions graves	Infections nosocomiales très sévères et épidémiques
	<b>Les entérocoques (Dupont et Plantefève, 2002)</b>		
	<i>Enterococcus faecium</i>	-Infections urinaires ; -Les bactériémies ; -Les endocardites.	Infections nosocomiales très sévères

#### I.4. Fréquence et incidence

La fréquence globale des IN mesurées par des études internationales, varie entre 5 et 10% des hospitalisés (**Vincent et al., 2008**). Actuellement, l'OMS estime que plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent d'IN, en permanence. Dans les pays développés, qui disposent d'hôpitaux modernes, entre 5 à 10 % des patients admis contractent une ou plusieurs infections. Un taux qui dépasse parfois 25 % dans les pays en développement (**Motaouakkil et Aalloula, 2011**).

En Algérie, les enquêtes de prévalence des infections associées aux soins organisées dans Plusieurs hôpitaux d'Algérie ont mis en évidence l'importance de ce problème de santé. Le taux des patients infectés par une ou plusieurs IN varie selon ces enquêtes parcellaires de 15 à 20% (**Ministère de la santé, 2013**).

**Tableau VI** : prévalence des infections nosocomiales par pays (**Rossello et al., 2010**).

Pays	Patients infectés		Infection		Taux de Prévalence par hôpital (%) min –max
	Nbre	Taux%(IC95%)	Nbre	Taux%	
Algérie	103	6,3(5,2-6,7)	127	7,9	2,1-13,0
Egypte	114	9,9(8,3-11,8)	125	10,9	0,0-30,2
Etalie	44	11,9(8,8-15,6)	53	14,3	5,4-15,3
Maroc	18	6,7 (4,0-10,4)	18	6,7	0,0-24,7
Tunisie	134	11,0 (9,3-12,9)	160	13,2	6,4-14,9
<b>Totale</b>	<b>413</b>	<b>8,9 (8,1-9,8)</b>	<b>483</b>	<b>10,7</b>	<b>0,0-30,2</b>

#### I.5. Les différents types d'infections nosocomiales

Le site de l'infection est variable selon l'unité de soins, selon le recrutement du service, selon les thérapeutiques et les mesures préventives. Les principales localisations infectieuses sont illustrées dans la Figure 01 (**Hamza et al., 2010**).

##### I.5.1. Infections urinaires

Elle se définit par la présence dans l'urine d'une germe à une concentration supérieure à  $10^5$  germes par ml .Cette bactériurie est sauf exception, accompagnée d'une

augmentation de la leucocyturie et parfois, associée à des signes cliniques d'infection urinaire haute ou basse.

L'infection urinaire est causée par la prolifération anormale d'agents infectieux dans les voies urinaires basses (uretée, vessie) et /ou haute (néphron, rein) (**Marie, 2008 ; Denis, 2010**)

Une infection urinaire est une infection qui peut toucher une ou plusieurs parties du système urinaire : les reins, les uretères, la vessie et l'urètre. Elle se manifeste le plus souvent par des douleurs ou une sensation de brûlure lors de la miction, parfois par des douleurs abdominales et de la fièvre (**Banacorsi, 2007**).

### **I.5.2. Les broncho-pneumopathies nosocomiales**

Elles représentent environ 15 % des infections nosocomiales constituant un véritable problème de santé publique, ce sont les plus sévères avec des taux de mortalités atteignant 70% chez les patients ventilés et une prolongation d'hospitalisation des patients d'environ 5,9 jours ; les pneumopathies nosocomiales surviennent chez 0,1 à 1% des patients hospitalisés. L'incidence est néanmoins différente selon les secteurs d'hospitalisation ; elle est la plus faible au milieu obstétrical (0,4%), et se situe aux alentours de 7% dans les services de médecine et de chirurgie elle est maximale dans les services de réanimation ou elle est chiffrée entre 10 et 25% et représente 30 à 45 % des infections nosocomiales (**Cordonnier, 1989 ; Colombani, 1993 ; CTNIN 1999**).

### **I.5.3. Infections du site opératoire**

Toute intervention chirurgicale peut se compliquer d'une infection du site opératoire (ISO). L'ISO peut se manifester après un délai variable suivant la contamination qui peut elle-même se produire avant, pendant ou après l'intervention. La mise en place d'un corps étranger (prothèses cardiaques, vasculaires, orthopédiques, drains) est un facteur important d'infections postopératoires (**Dancourt, et Adekambi, 2004**).

Pour les infections du site opératoire (ISO), on accepte comme nosocomiales les infections survenant dans les 30 jours suivant l'intervention ou s'il y a mise en place d'une prothèse ou d'un implant, dans l'année qui suit l'intervention (**Hamza, 2010**).

Les facteurs favorisant la survenue d'une ISO est une chirurgie en région anatomique contaminée ou sale, une durée opératoire supérieure à 50 minutes et un séjour préopératoire supérieur à 6 jours (**Simon et al. ,2007**)

#### **I.5.4. Bactériémies nosocomiales primaire et secondaire**

Une bactériémie est considérée comme primitive lorsqu' aucun foyer n'est retrouvé (**Hamza, 2010**).

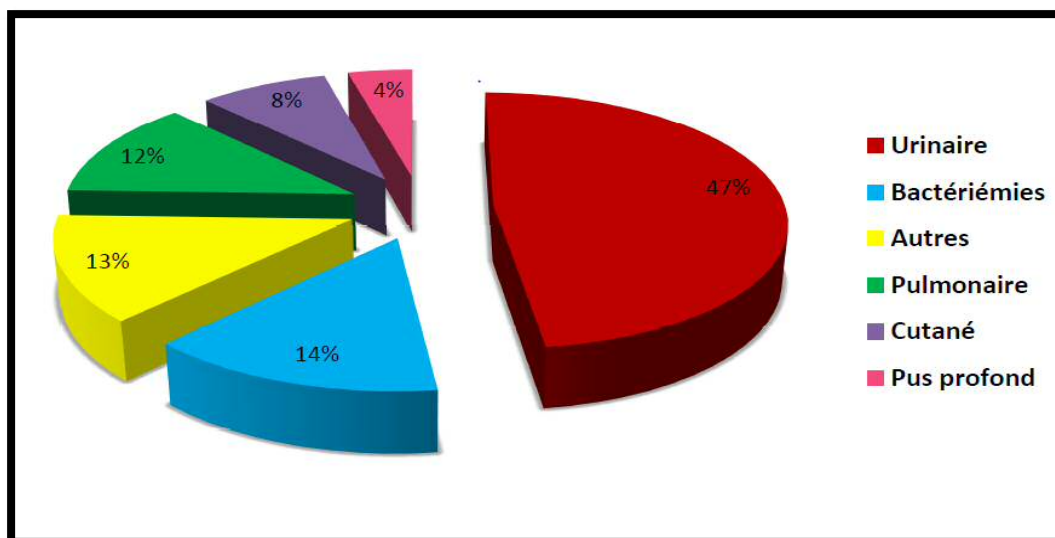
La bactériémie peut se prolonger et entraîner une septicémie. La majorité des septicémies nosocomiales sont dues à des bacilles à Gram négatif (75% des cas) (**Dancourt, et Adekambi, 2004**).

La fréquence des bactériémies nosocomiales est la plus élevée en unité de soins intensifs (44.8%) et en réanimation pédiatrique (35.9%) (**Gayvallet- Montredon ,2002**).

#### **I.6. Les autres localisations infectieuses**

Les infections décrites plus haut sont les quatre types les plus fréquents et les plus importants d'infections nosocomiales, mais il existe de nombreux autres sites potentiels d'infection, par exemple :

- Infections de la peau et des tissus mous : les plaies ouvertes (ulcères, brûlures, escarres) favorisent la colonisation bactérienne et peuvent conduire à une infection généralisée.
- La gastro-entérite est l'infection nosocomiale la plus fréquente chez l'enfant, avec un rota virus comme principal agent pathogène. Dans les pays développés, *Clostridium difficile* est la cause principale des gastro-entérites nosocomiales chez l'adulte.
- Sinusites, autres infections de la sphère ORL, infections de l'œil et de la conjonctive.
- Endométrite et autres infections de l'appareil génital après l'accouchement. (**Ducel et al.,2001**).



**Figure 03 : Répartition des infections nosocomiales validées en fonction du site (Botterel *et al.*, 2004).**

## II. Staphylocoques et risque infectieux sur les dispositifs médicaux

### II. 1. Définition d'un dispositif médical

Un dispositif médical est défini comme tout instrument, appareil accessoire, machine, outil, implant, réactif ou agent d'étalonnage in vitro, logiciel, matériel, ou autre article similaire ou apparenté dont l'action principale voulue, sur ou dans le corps humain, n'est pas obtenue par des moyens exclusivement pharmacologiques, immunologiques ou métaboliques, et qui est destiné(e) à être utilisé(e) chez l'homme à des fins médicales (Ramiro, 2006).

D'autres dispositifs médicaux servent à l'étude, au remplacement ou à la modification de l'anatomie humaine. Les dispositifs médicaux peuvent s'utiliser temporairement, pendant une ou quelques heures. Les DM de court terme peuvent s'utiliser en continu jusqu'à trente jours. L'usage des DM à long terme excède un mois. Il existe différents types de dispositifs médicaux classés soit en fonction de leur rôle ou en fonction du risque qu'ils représentent. (Santé doctissimo, 2014).

### II.2. Classification des DM selon leur niveau de risque

Cette classification concerne les DM autres que les dispositifs médicaux implantables actifs selon leur niveau de dangerosité.

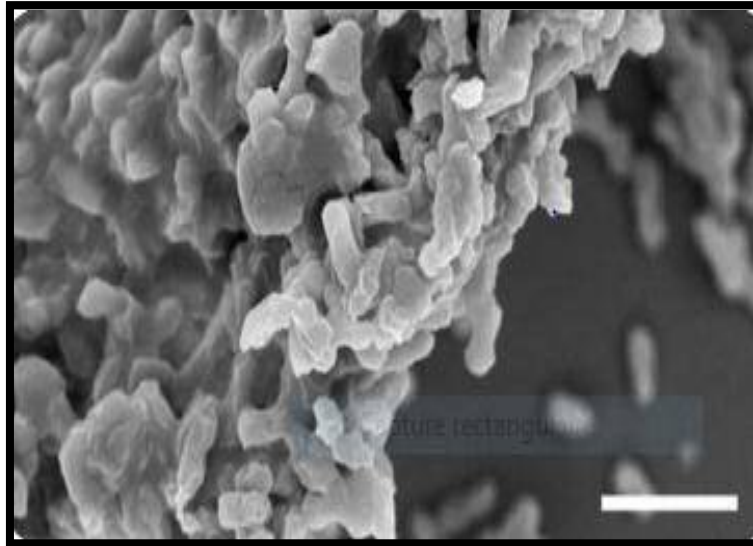
**Tableau VII :** Classement des dispositifs médicaux et niveau de traitement requis.

Destination de matériel	Classement de matériel	Risque infectieux	Traitement requis
Introduction dans le système vasculaire ou dans une cavité ou tissu stérile quelle que soit la voie d'abord Regroupe les dispositifs de contraception et des dispositifs de protection contre les maladies ou contrôle l'administration dans le corps du patient d'un liquide biologique ou d'une substance Exemple : instruments chirurgicaux implants, pincés à biopsie, les hémodialyseurs, pompes à perfusion, le stent coronaire actif ou la prothèse de hanche. ( <b>Santé doc 2014</b> ).	Classe IIb et III Critique	Haut risque	Stérilisation ou usage unique stérile à défaut désinfection à haut niveau
En contact avec muqueuse, ou peau lésée superficiellement Exemple : gastroscopie, colonoscopes, sonde de biométrie, verre à 3 miroirs ( <b>C.CLIN Paris-Nord, 2000</b> )	Classe II a Semi-critique	Risque médian	Désinfection de niveau intermédiaire
En contact avec la peau intacte du patient ou sans contact avec le patient Exemple : tensiomètre, lits lampe à fente ( <b>C.CLIN Paris-Nord, 2000</b> ) comporte les dispositifs non invasifs : les instruments chirurgicaux réutilisables. regroupe les instruments de diagnostic : échographes, lentilles de contact.	Classe I Non critique	Risque bas	Désinfection de bas niveau

### II.3. Biofilms

Le biofilm se définit comme des agrégats de cellules bactériennes irréversiblement associées à une surface inerte enrobée d'une matrice de polymère (**jacques et al., 2010**).

Ce polymère extracellulaire est dit auto induit car synthétisé par les cellules microbiennes et reste pour la plupart accroché à la membrane de celles-ci. Les cellules produisent donc un environnement matriciel généralement constitué de polysaccharides, de protéines, d'acide nucléique, de lipides. Pour les microorganismes, cette matrice sert d'habitat et de protection contre les prédateurs, les agents antimicrobiens et plus généralement les conditions de vie défavorables (**Mah et al., 2003 ; Lewis, 2007 ; sedgely et al., 2008**).



**Figure 04** : Image d'un biofilm à *Haemophilus influenzae* par microscopie électronique à balayage (MEB). Image obtenue après une croissance de 24heure en milieu LB sur de verre en condition stérile. Au centre de l'image, les bacilles en agrégat sont bien définis. Au cœur et à la base de monticule, sur la gauche de l'image, les bacilles sont moins visibles car ils sont recouverts d'une matrice exopolymères. Barre d'échelle : 2 $\mu$ m (**Gallaher *et al.*, 2006**).

La matrice d'exopolysaccharide joue aussi un rôle mineur dans les propriétés d'antibiorésistance des biofilms en se liant directement aux agents antimicrobiens et en les empêchant de pénétrer au sein du biofilm (**Donlan, 2002**).

Les biofilms ont une architecture complexe et irrégulière, en forme de coraux ou de Champignons. Cette architecture n'est pas figée: les micro-organismes bougent à partir du lieu de leurs premières divisions cellulaires : il y a une véritable dynamique interne au sein des biofilms (**Clutterbuck, 2007**).

Les micro colonies de bactéries sont imbriquées au sein d'une matrice d'exopolymères contenant des canaux aqueux et des pores, permettant des échanges d'eau, de nutriments, de déchets, mais aussi d'information et de caractères transmissibles génétiquement (caractères de résistance aux antibiotiques par exemple). L'échange de plasmides au sein des biofilms se fait par des phénomènes de conjugaison. Ainsi, l'organisation en biofilm permet de sélectionner et de répandre des caractères de résistance à des agents antimicrobiens (**Donlan, 2002**).

Dans les régions inaccessibles à ces canaux, par exemple au sein des conglomérats de cellules, des mécanismes de diffusion passive assurent les échanges métaboliques (Stewart, 2003 ; Wanner, 2006).

### II.3.1. Caractéristique de biofilm

La couche la plus profonde du biofilm est constituée par les cellules qui se sont fixées en premier. Ces cellules sont petites, leur métabolisme est anaérobie et leur croissance est lente. La couche superficielle du biofilm est constituée de grandes cellules en aérobiose et à croissance rapide. Entre ces deux couches de cellules, on trouve des cellules en micro aérobiose. L'organisation stratifiée des biofilms s'explique par l'existence de gradients de nutriments, d'ions... . Les nutriments présents dans le milieu extérieur diffusent en plus grande quantité dans les couches superficielles du biofilm. Plus on avance vers les couches profondes du biofilm, moins la diffusion est efficace et plus les concentrations en éléments nutritifs sont basses. Ces gradients permettent d'expliquer la présence de zones de croissance différentes des micro-organismes (Bury-Moné, 2007).

Au sein du biofilm, les micro-organismes morts ou lysés sont réutilisés comme nutriments : on parle de « cannibalisme ». L'ADN libéré lors de la mort programmée de certains micro-organismes du biofilm aurait un rôle structural dans la stabilité des biofilms (Bury-Moné, 2007).

### II.3.2. Le cycle de formation d'un biofilm

On distingue cinq étapes dans le mécanisme de formation des biofilms (Figure 03).

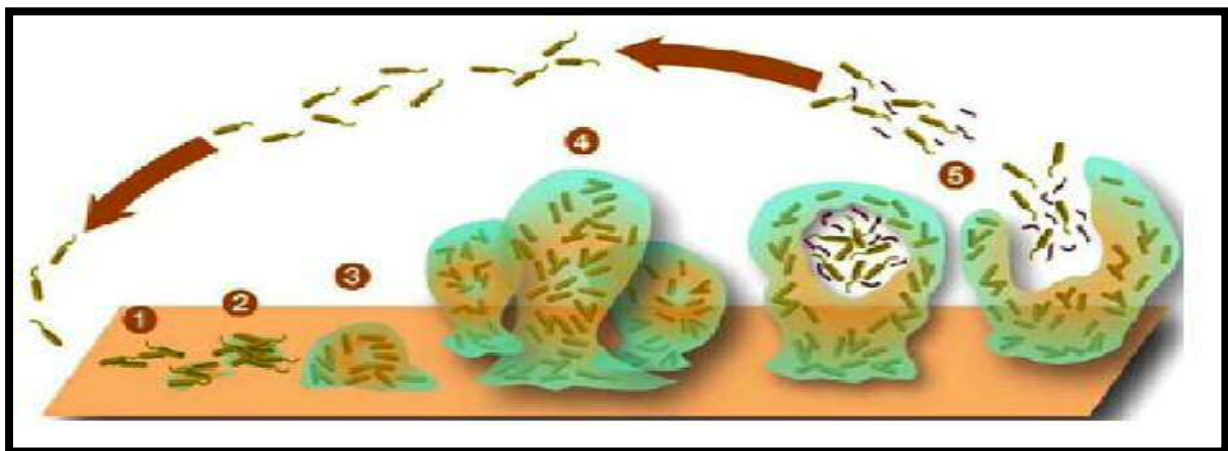


Figure 05: Cycle de développement simplifié d'un biofilm. (Montana State University Center for Biofilm Engineering)

- **Étape 1 : Adhésion réversible à la surface**

Les micro-organismes sont fréquemment perçus comme flottant librement et comme étant solitaires (on dit qu'ils sont planctoniques). (**Phillips *et al.*, 2010**).

Toutefois, dans des conditions naturelles, la plupart des microorganismes ont tendance à adhérer aux surfaces et s'y fixent de façon réversible par des interactions non spécifiques de type liaison hydrogène ou liaison de Van der Waals (**Golovlev, 2002 ; Van Houdt, 2005**) et finalement à former des biofilms (**Stoodley *et al.*, 2002 ; Flemming *et al.*, 2007**) (**Figure05**).

Cette adhésion initiale est réversible. L'étape initiale d'attachement fait intervenir des appendices générateurs de mouvement qui permettent d'approcher la surface à coloniser (**O'Toole et Kolter, 1998**).

- **Étape 2 : Adhésion permanente à la surface**

Puis les bactéries se fixent de façon irréversible et spécifique au substrat grâce à des molécules d'adhésion comme par exemple les pili, et synthétisent une matrice d'exopolysaccharide. Au fur et à mesure que les bactéries se multiplient, leur adhésion devient plus solide (on dit qu'elles sont sessiles) et elles se différencient, en modifiant leur schéma d'expression génique de manière à favoriser leur survie (**Donlan *et al.*, 2002 ; Flemming *et al.*, 2007**) Ce processus est habituellement le résultat d'un type de communication bactérienne appelée « quorum sensing ». Ces rassemblements de bactéries conduisent à la formation de micro colonies dont la différenciation mène à l'élaboration du biofilm (**Costerton *et al.*, 1999**).

- **Étape 3 : Matrice protectrice visqueuse/biofilm**

Une fois fermement attachées, les bactéries commencent à sécréter une matrice environnante appelée substance polymérique extracellulaire (SPE) (**Sutherland ,2001**). Il s'agit d'une matrice protectrice ou « matière visqueuse ». De petites colonies de bactéries forment alors le biofilm initial (**Donlan *et al.*, 2002 ; Hall-Stoodley *et al.*, 2009**).

La composition exacte de la SPE varie selon les micro-organismes présents mais se compose en général de polysaccharides, protéines, glycolipides et ADN bactérien. (**Sutherland, 2001; Flemming *et al.*, 2007; Hall-Stoodley *et al.*, 2009**). On pense que

l'ADN bactérien libéré par les bactéries vivantes ou mortes fournit un composant structurel important pour la matrice SPE du biofilm. (Rice *et al.*, 2001). Les diverses protéines et enzymes sécrétées aident le biofilm à adhérer plus fortement au lit de la plaie (Flemming *et al.*, 2007).

- **Étape 4 et 5 : la maturation et la dispersion de biofilms.**

Les biofilms complètement matures répandent continuellement des bactéries planctoniques, des micro colonies et des fragments de biofilm, on parle d'essaimage du biofilm (Clutterbuck, 2007). Elles se dispersent alors et adhèrent à d'autres parties du lit de la plaie ou à d'autres plaies, formant alors de nouvelles colonies de biofilms (Costerton *et al.*, 1999 ; Donlan *et al.*, 2002). Le fait de vivre dans des communautés microbiennes mixtes typiques des biofilms permet aux micro-organismes de partager leurs « compétences et aptitudes » individuelles pour la survie du groupe (Xavier *et al.*, 2007 ; Hibbing *et al.*, 2010). Ce qui leur donne de nombreux avantages en termes de protection.

### **II.3.3. Résistance des biofilms aux antibiotiques**

De nombreux problèmes associés au développement des biofilms en milieu médical, ont pour origine leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens (antibiotiques et désinfectants). Cette résistance accrue, multifactorielle, est liée aux conditions de vie dans le biofilm (hétérogénéité, accès aux nutriments, oxygène etc.); ou la présence d'une surpopulation de bactéries résistantes (Lewis, 2005). Par conséquent les propriétés physiologiques des microorganismes seront modifiées et induisent des mécanismes de résistance spécifiques qui s'ajoutent aux mécanismes de résistance connus.

Ainsi, alors que les progrès de la médecine moderne permettent de lutter efficacement contre de nombreuses maladies infectieuses, celles qui sont liées à la présence de biofilms, échappent largement à ce type de traitements. Les antibiotiques sont en effet très peu efficaces contre les biofilms.

### **II.3.4. Biofilm et système immunitaire**

Les bactéries sessiles sont protégées de l'action des anticorps par la structure même du biofilm (rôle de la matrice). Les anticorps synthétisés éliminent alors uniquement les bactéries planctoniques qui se sont détachées du biofilm. Ils ne peuvent pas détruire les bactéries du biofilm et endommagent les tissus voisins (Costerton, 1999).

Ces communautés sessiles de micro-organismes exercent un chimiotactisme sur les phagocytes, qui sont alors attirés localement. Mais les biofilms sont résistants aux anticorps, aux phagocytes et aux antibiotiques. Les phagocytes sont donc inefficaces sur les biofilms : la phagocytose n'a donc pas lieu, mais on assiste à une libération massive locale d'enzymes phagocytaires. Les enzymes phagocytaires libérées localement vont endommager les tissus avoisinants et éroder la surface du biofilm, entraînant la libération de bactéries planctoniques qui vont essaimer à partir du biofilm( **Parsek, 2004**).

# **Partie II**

## **Etude expérimentale**

# **Matériel et méthodes**

## I. Lieu et cadre d'étude

Notre étude a été menée à la paillasse de bactériologie à l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de kenchela entre le mois d'Avril et Mai 2018. Les principaux objectifs de notre travail étaient :

- Isolement des bactéries de genre *Staphylococcus* à partir des surfaces de l'hôpital.
- Identification biochimique de ces bactéries.
- Evaluation de l'antibiorésistance des souches d'intérêt isolées.



**Photographie 01** : Vue générale de laboratoire bactériologique de l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de kenchela.

## II. Matériel utilisée

### II.2. Milieux de culture solides

- Gélose Chapman.
- Gélose nutritive.
- Gélose au sang cuit.
- Mueller Hinton.

### II.3. Milieux de culture liquides

- Bouillon nutritif (BN).
- Bouillon cœur cervelle (BCC), [Brain heart broth (BHIB)].

**NB:** -Les compositions des milieux de culture et solutions utilisés dans ce travail sont présentées dans le (**Annexe 01**) et (**Annexe02**). A moins autrement indiqué, tous ces milieux et solutions ont été stérilisés par autoclavage à 121°C pendant 15 min. - Le matériel et les réactifs utilisés ont été mentionnés dans le (**Annexe04**).

## II.4. Test biochimique

- Eau oxygénée à 10 volumes.

## II.5. Antibiotiques en disques

**Tableau VIII** : L'antibiogramme pour *Staphylococcus sp.*

Les Antibiotiques	Abréviations	Charge des disques (µg)
<b>M. L. S</b>		
<b>Erytromycine</b>	<b>E</b>	<b>15</b>
<b>Pristinamycine</b>	<b>PT</b>	<b>15</b>
<b>GLYCOPEPTIDES</b>		
<b>Vancomycine</b>	<b>VA</b>	<b>30</b>
<b>NITROFURANES</b>		
<b>Nitrofurantion</b>	<b>F</b>	<b>300</b>
<b>QUINOLONES</b>		
<b>Péfloxacine</b>	<b>PEF</b>	<b>5</b>
<b>DIVERS</b>		
<b>Chloramphénicol</b>	<b>C</b>	<b>30</b>

## III. Méthodes de travail utilisée

### III.1. Origine de prélèvement

Les prélèvements de surface ont été effectués à l'hôpital Ahmed ben Bella de kenchela, au niveau des services :

- ⇒ Service de chirurgie général d'urologie (homme) ;
- ⇒ Service de médecine interne (homme) ;
- ⇒ Service de chirurgie traumatologie (homme) ;
- ⇒ Service de réanimation ;
- ⇒ Service de laboratoire.

### III.2. Critères d'inclusion

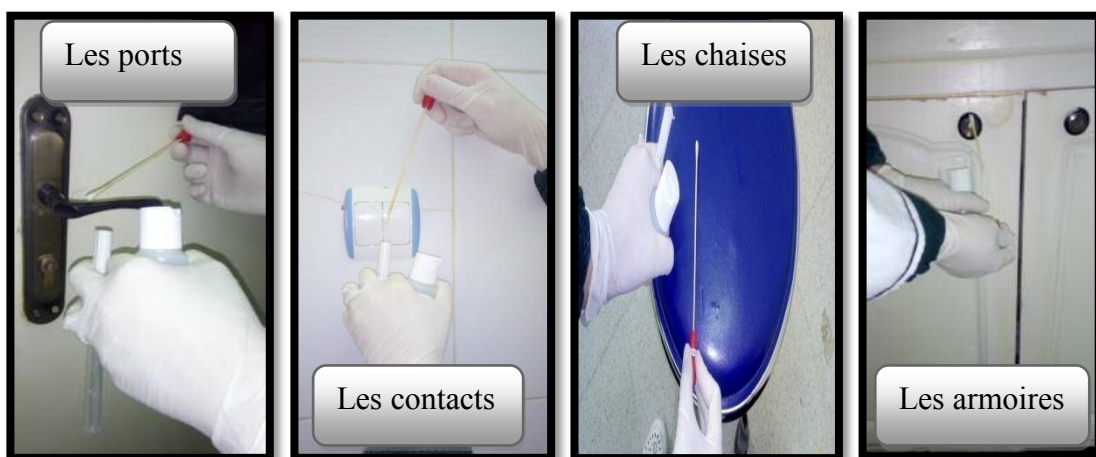
- Tout les surfaces telle que : les tables, les portes, les armoires, les lits...
- Posé dans des conditions d'asepsie.
- Les prélèvements ont été effectués par la technique d'écouvillonnage on utilisant un écouvillon stérile et à usage unique imbibé par l'eau physiologie.

### III.3. Prélèvement distal protégé

Les prélèvements de surfaces sont effectués à l'aide d'un écouvillon stérile humidifié à l'eau distillée stérile. Celui-ci est acheminé rapidement (moins de 2 heures) au laboratoire dans son étui de protection stérile pour être enrichi successivement.

L'écouvillon est ensuite immergé dans un bouillon nutritif liquide incubé à 37 °C pendant 24 heures. Ce bouillon sert ensuite à ensemercer deux nouveaux milieux : gélose aux sangs cuits et le Chapman.

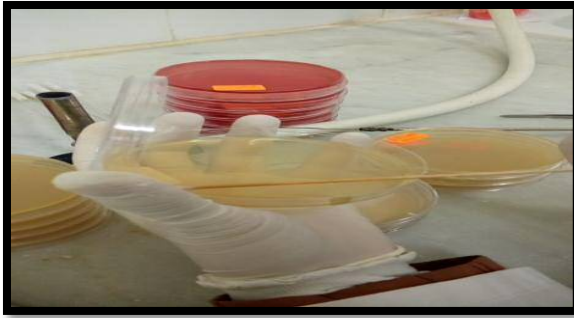
Tous les milieux de culture gélosés sont incubés à 37 °C pendant 24 heures (**Meunier et al., 2005**).



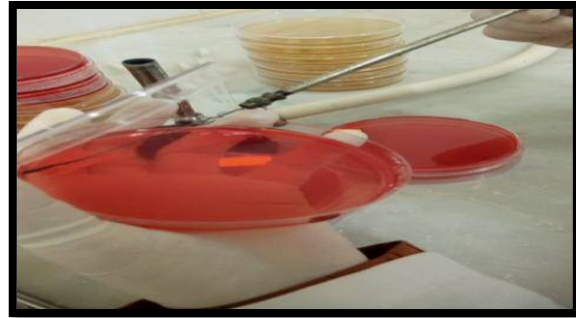
**Photographie 02** : La technique de prélèvement utilisée dans notre travaille (prélèvement par un écouvillon).

### III.4. Isolement et purification

L'isolement direct est pratiqué sur le milieu sélectif (Chapman) et sur le milieu gélose au sang cuit (GSC). A l'aide d'une micropipette on prélève 10µl de liquide et mettre sur le milieu, puis par l'écouvillon ou d'anse de platine ou d'une pipette Pasteur on ensemece sur gélose en boîte de Pétri, de façon à obtenir des colonies bien isolées après une incubation à 37°C pendant 24 heures.



**Photographie 3.1:** La technique d'ensemencement par écouvillon.



**Photographie 3.1:** La technique d'ensemencement par anse de platine.

Afin de confirmer la pureté des souches, nous avons effectué des repiquages successifs sur le milieu gélose nutritive.

### III.5. Identification

L'identification comporte une série des étapes, se succédant le plus souvent dans un ordre déterminé ; les souches isolées ont été identifiées par des techniques microbiologiques standards (la coloration de Gram, catalase et test de coagulase). Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.

#### III .5.1. Identification des staphylocoques

##### III .5.1.1 . Examens macroscopiques

###### • Milieu de Chapman

Le milieu Chapman est un milieu sélectif pour les staphylocoques, sa teneur élevée en chlorure de sodium limite le développement de certains germes autres que *Staphylococcus*. Les microorganismes fermentant le mannitol donnent des colonies jaunes. Ce caractère est un critère d'orientation pour l'identification de *Staphylococcus aureus* (Leyral et Vierling, 2007).

Les colonies entourées d'une zone rouge ou pourpre, mannitol – sont des *Staphylocoque blanc* (Delarras, 2007).

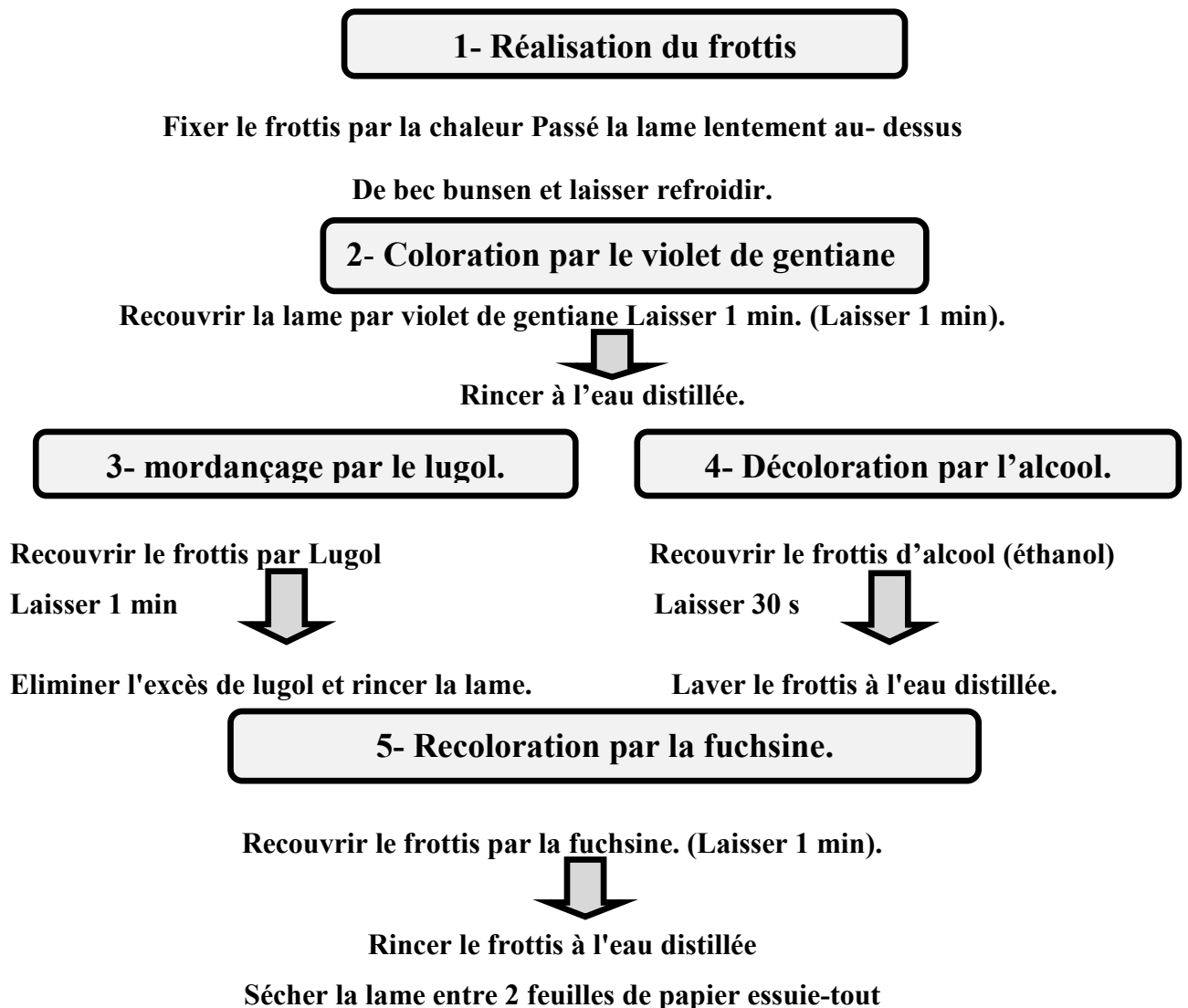
###### • Gélose au Sang Cuit

Sur gélose au sang cuit, en 24 heures les colonies sont circulaires, volumineuses, opaques éventuellement pigmentées et de couleur jaune doré et légèrement bombées ou aplaties; elles présentent une surface luisante et humide (Kloos, 1999).

### III.5.1.2. Examens microscopiques

#### • Coloration de gram

La coloration de Gram est un procédé qui permet de diviser les bactéries en deux groupes distincts : les bactéries à coloration de Gram positive et les bactéries à coloration de Gram négative. Cette coloration permet en plus de préciser la morphologie et le mode de regroupement des cellules. Les bactéries Gram négatif apparaissent colorées en rose tandis que les bactéries Gram positif sont colorées en violet (Prescott *et al.*, 2007).



**Figure 06 :** Les étapes de coloration de Gram.

Une fois séchés, les lames ont été examinées sous microscope optique à l'aide de l'objectif à immersion (x100). Des microphotographies sont réalisées à l'aide d'un microscope triloculaire doté d'un appareil photographique numérique La coloration de Gram est effectuée à partir des colonies cultivées sur gélose au sang cuit présentant l'aspect caractéristique du

*Staphylococcus*. Aussi, elle peut être réalisée à partir du milieu de Chapman, pour confirmer la présence de cocci en diplocoques et en grappes de raisin (Chaala, 2013).

### III.6. Identification biochimique

En plus des caractères morphologiques, l'identification est aussi effectuée sur la base de quelques caractères biochimiques:

#### III.6. 1.Recherche de la catalase

- **Principe**

Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire qui peuvent détruire les peroxydes  $H_2O_2$  dont l'accumulation à un effet létal pour les bactéries.

La catalase a la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) avec dégagement d' $O_2$  sous forme gazeuse selon la réaction suivante :



- **Technique**

A partir d'un milieu solide et aérobie, prélever une quantité suffisante de culture et la mettre en suspension dans une goutte d'eau oxygénée déposée sur une lame.

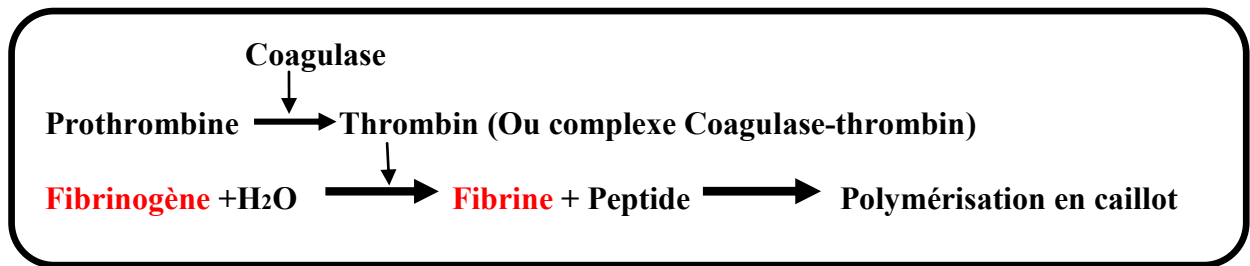
- **Lecture**

La présence de catalase est marquée par la formation immédiate des bulles d' $O_2$  (Joffin et Leyral, 2001).

#### III.6. 2.Recherche de la coagulase

- **Principe**

La propriété de *Staphylococcus aureus* de provoquer la coagulation d'un plasma recueilli sur anticoagulant est un critère important de son identification. Elle est due à la sécrétion d'une enzyme thermostable ; la staphylocoagulase ou coagulase. La staphylocoagulase agit en liaison avec la prothrombine et en absence de calcium.



Parmi les *Staphylococcus*, pratiquement seul *Staphylococcus aureus* la possède, certaines souches de *S. aureus* peuvent en être dépourvues (10 à 15 % en milieu hospitalier), la perte de la coagulase étant souvent reliée à un traitement antibiotique.

Dans l'organisme, l'action de la coagulase est à l'origine de microcaillots de fibrine à l'intérieur desquels les bactéries peuvent proliférer à l'abri des défenses de l'organisme. La recherche de la coagulase de *Staphylococcus* est compliquée par la présence d'un récepteur au fibrinogène provoquant l'agglutination de la souche placée dans un plasma oxalaté (on parle de coagulase « liée »).

- **Technique:**

- Mettre dans un tube 2 ml de plasma humain additionné à des colonies de repiquage.
- Placer le tube à l'étuve à 37°C durant 2 à 24h.



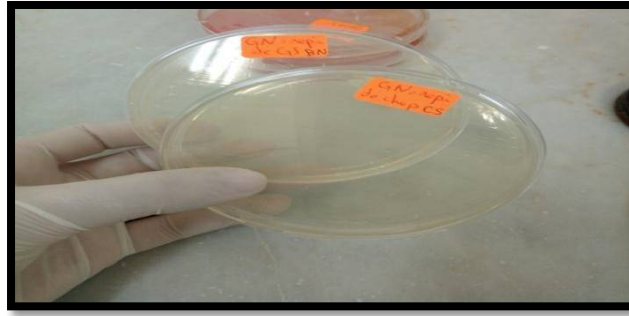
**Photographie 04 :** Un plasma humain contient des colonies de staphylocoques pour le teste coagulase.

- **Lecture:**

- Observer toutes les heures.
- une coagulation pourra être observée par une prise en masse du liquide (**Joffin et Leyral, 2001**).

### III.6.3. Conservation des souches

Les souches sont conservées dans des boites de Pétré à gélose nutritive à une température de 4°C (ces bactéries sont placées dans un état de vie ralentie ou momentanément suspendue donc dans des conditions peu favorables pour leur multiplication).



**Photographie 05 :** La conservation des souches dans la gélose nutritive.

### III.6.4. Antibiogramme des souches isolées

Une fois les étapes d'isolement et d'identification terminées, on passe à l'étude de l'antibiorésistance (résistance et/ou sensibilité vis-à-vis de différents antibiotiques) des bactéries qu'on a pu isoler et identifier à partir de nos prélèvements. Sur le plan théorique, différentes techniques sont utilisées pour cette étude. En milieu solide (gélose), la principale technique connue c'est : la technique des disques. Dans notre étude, la méthode des disques (diffusion en milieu solide ou antibiogramme standard) est utilisée pour l'étude de l'antibiorésistance de toutes les espèces qu'on a pu identifier.

#### III.6.4.1. Le contrôle de qualité

Le contrôle de qualité interne ou QCI est un « auto contrôle », au cours duquel chaque microbiologiste doit contrôler toute technique de laboratoire qu'il pratique ; dans le cas présent il s'agit de la technique de l'antibiogramme. Ce contrôle a pour but d'assurer :

- La précision et la fiabilité de la technique des tests de sensibilité.
- La performance des réactifs utilisés dans les tests.
- La performance du personnel qui effectue les tests et la lecture (**Annexe 3**).

#### III.6.4.2. Technique de l'antibiogramme (CASFM, 2014).

- **Inoculum**

- A partir d'une culture pure de 24 H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % ;
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mac Ferland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm ;



**Photographie 06** : La comparaison de l'inoculum avec le Mac Ferland.

- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible, ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est très fort ;

-L'ensemencement doit se faire après 24h l'incubation de l'inoculum.

- **Ensemencement**

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;

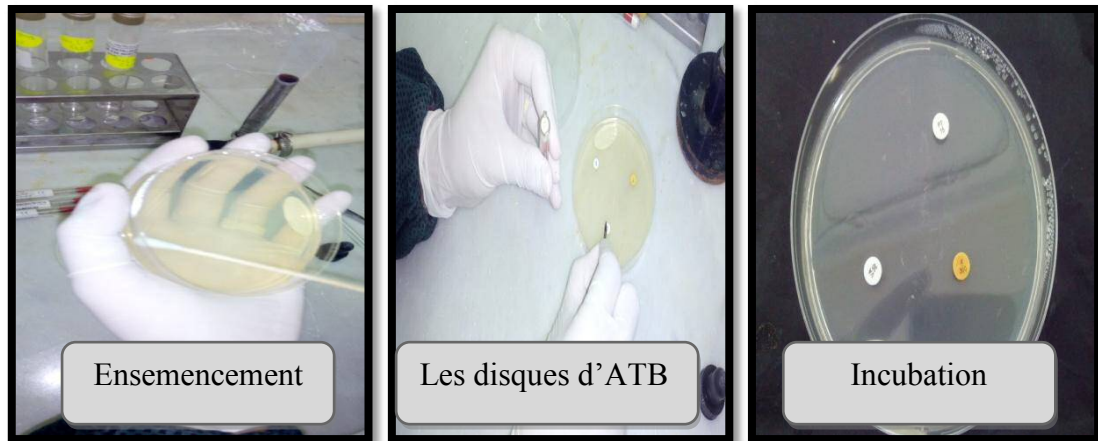
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne en tube, afin de le décharger au maximum ;

- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas en stries serrées;

- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même .Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;

- Application des disques d'antibiotiques ;

- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application .Une fois appliquée le disque ne doit pas être déplacé.



**Photographie 07 :** Les étapes de l'antibiogramme.

- **Incubation**

- Mettre à l'étuve à 37 °C pendant 18 à 24 h.

- **Lecture**

- Mesurer avec précision, les diamètres des zones d'inhibition.

- Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture de **(CASFM, 2014)**.

- Classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistantes.

# **Résultats et discussion**

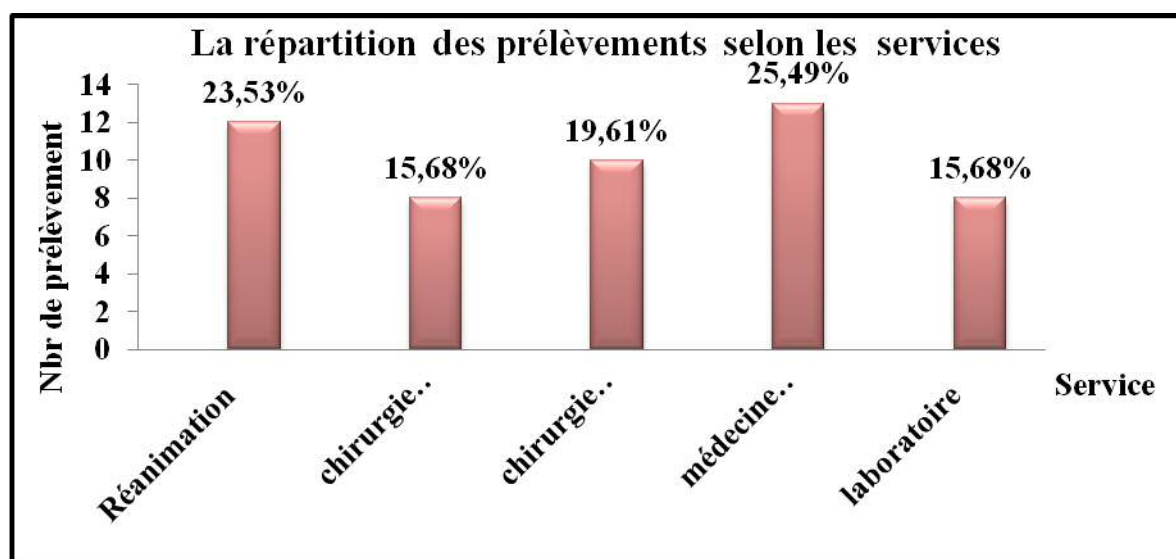
## I. Résultats descriptifs des dispositifs médicaux

### I.1. Prélèvement

Au cours de la période d'étude s'étalant du Avril au Mai 2018, 51 prélèvements à partir des dispositifs médicaux on été collectées aseptiquement à l'établissement publique hospitalier Ahmed ben Bella de kenchela, dont 12 prélèvements à partir de service de réanimation, 08 de service de chirurgie générale d'urologie (homme) ,10 de service de traumatologies (homme),13 de service de médecine interne (homme) et 08 de service de laboratoire.

**Tableau IX :** Répartition des prélèvements selon les services.

Le service	Nombre des prélèvements	Pourcentage
Réanimation	12	23,53%
Chirurgie général d'urologie (homme)	08	15,68%
Chirurgie traumatologie (homme)	10	19,61%
Médecine interne (homme)	13	25,49%
Laboratoire	08	15,68%
Total	51	100%



**Figure 07:** Répartition des prélèvements selon les services.

**I.2.Répartition des prélèvements selon les dispositifs médicaux de chaque service**

Les prélèvements ont été effectués dans les 05 services déjà mentionnée, de tout est concerne les dispositifs médicaux de chaque service, tel que : les chaises, lits, armoires, portes...

La répartition des prélèvements sur les dispositifs médicaux de chaque service été résumé dans le tableau suivant :

**Tableau X : Répartition des prélèvements selon les dispositifs médicaux de chaque service.**

<b>Service/ dispositif médicaux</b>	<b>Chaise</b>	<b>Lit</b>	<b>Armoire</b>	<b>Porte</b>	<b>Fenêtre</b>	<b>Robinier de sale de bain</b>	<b>Autres (table, matériel les...)</b>	<b>Total</b>
Réanimatio n	<b>01</b>	<b>02</b>	<b>02</b>	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>02</b>	<b>03</b>	<b>12</b>
Chirurgie général d'urologie	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>02</b>	<b>01</b>	<b>08</b>
Chirurgie traumatolog ie	<b>01</b>	<b>02</b>	<b>01</b>	<b>02</b>	<b>01</b>	<b>02</b>	<b>01</b>	<b>10</b>
Médecine interne	<b>01</b>	<b>03</b>	<b>02</b>	<b>02</b>	<b>01</b>	<b>03</b>	<b>01</b>	<b>13</b>
Laboratoire	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>01</b>	<b>02</b>	<b>01</b>	<b>08</b>
Total	<b>05</b>	<b>09</b>	<b>07</b>	<b>07</b>	<b>05</b>	<b>11</b>	<b>07</b>	<b>51</b>
Pourcentage	<b>09,80%</b>	<b>17,65%</b>	<b>13,73%</b>	<b>13,73%</b>	<b>09,80%</b>	<b>21,57%</b>	<b>13,73%</b>	<b>100%</b>

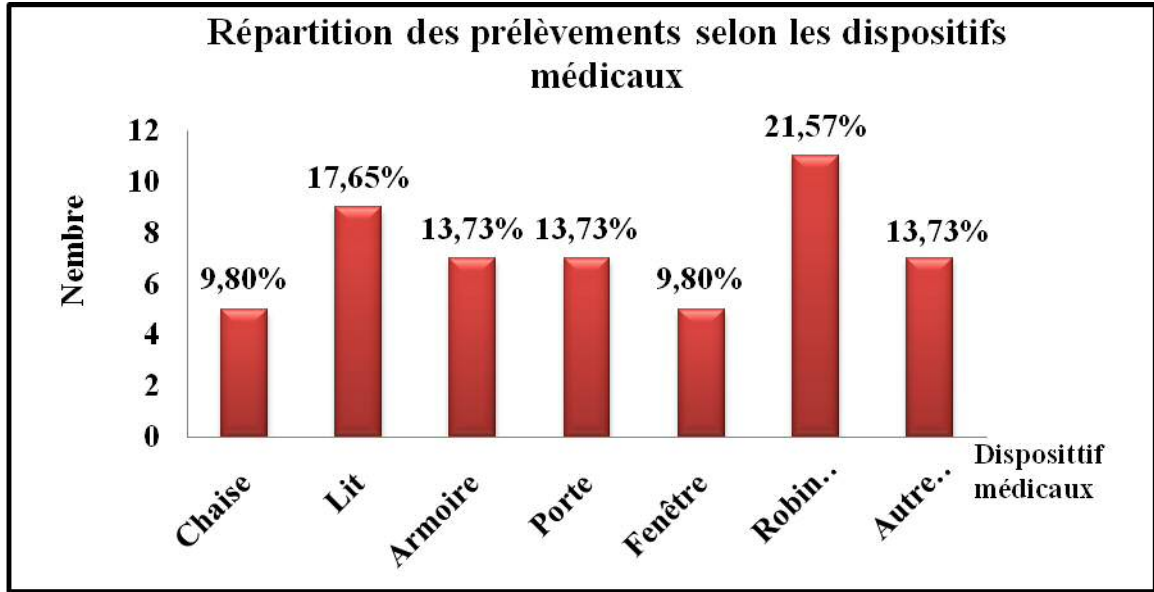


Figure 08: Répartition des prélèvements selon les dispositifs médicaux.

## II. Résultats bactériologiques

### II.1. Résultats générale

Au cours de la période d'étude, 51 prélèvements a partir des dispositifs médicaux on été collectées aseptiquement à l'établissement publique hospitalier Ahmed ben Bella de kenchela. Après l'incubation des milieux de cultures utilisés on a obtenu 36 cultures positives et 15 cultures négatives.

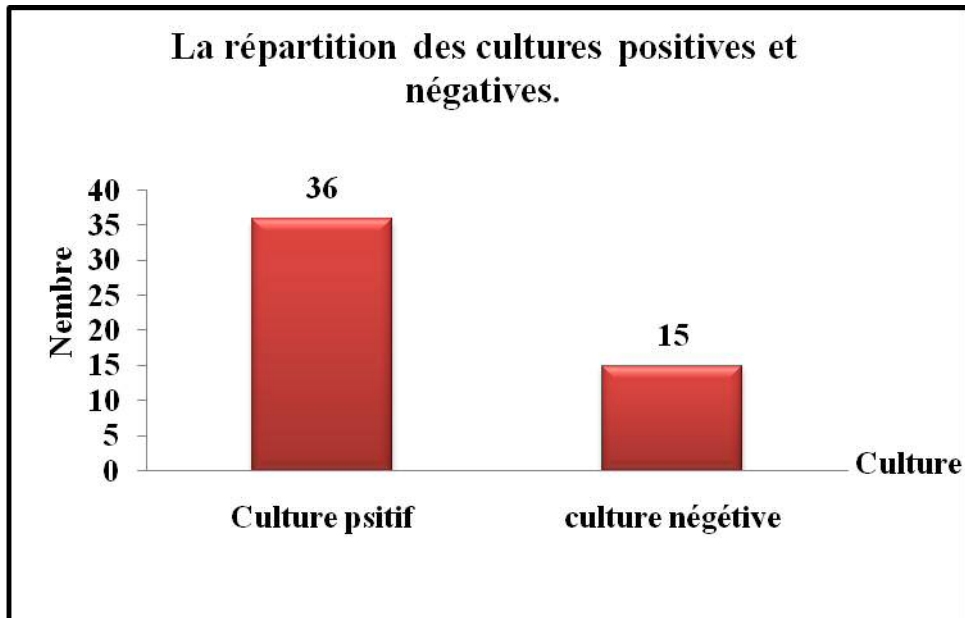


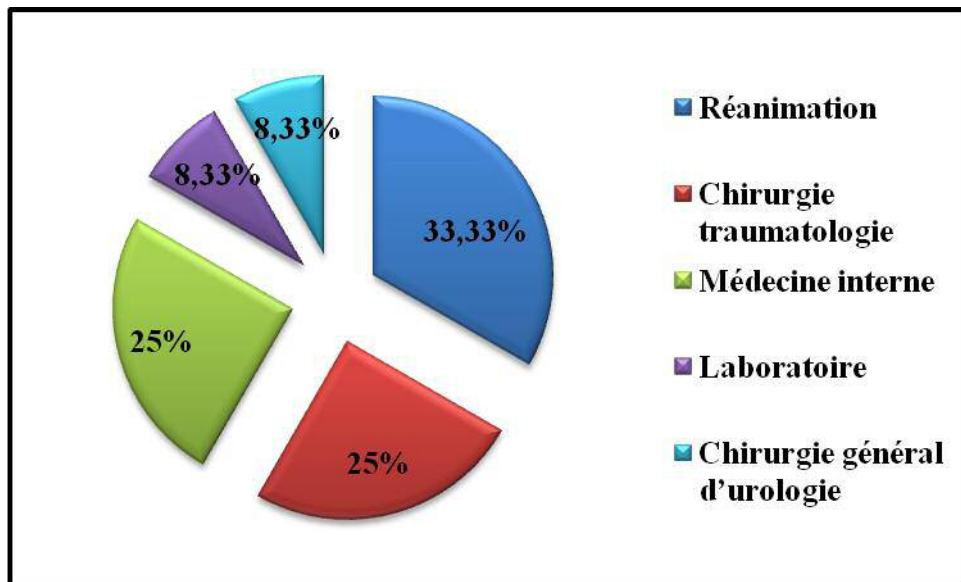
Figure 09 : La répartition des cultures positives et négatives.

## II.2.Résultats de chaque service

Les 36 cultures positifs résulte à partir des 51 prélèvements des dispositifs médicaux on été répartir selon chaque service peut être dupant de sa condition des hygiènes ou dupant de personnage qui port ce genre de bactérie (visiteurs ou malades ou les travailleurs lui même).

**Tableau XI** : Les cultures positives et négatives des 05 services.

Q1Services/Culture	positif	Négatif
Réanimation	12	00
Chirurgie général d'urologie	03	05
Chirurgie traumatologie (homme)	09	01
Médecine interne (homme)	09	04
Laboratoire	03	05
<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>15</b>



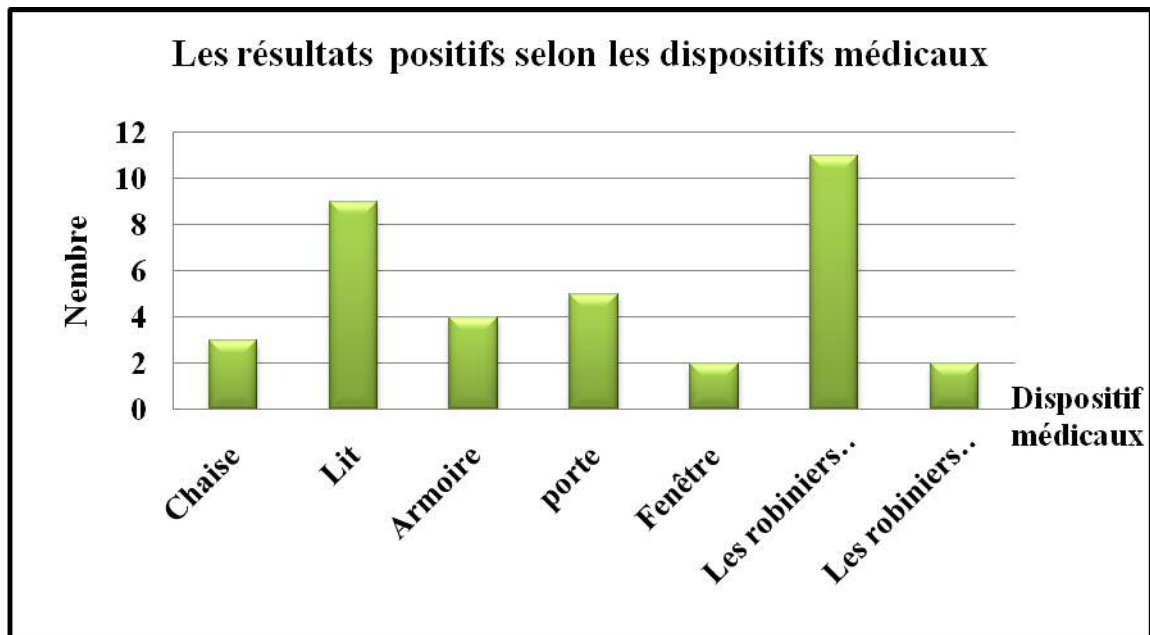
**Figure 10**: Répartition de cultures positives selon les 05 services.

**II.3.Résultats de chaque dispositif médical**

Les résultats positifs des prélèvements de dispositifs médicaux sont défères aussi de dispositif médicaux à autre dupant de sa contamination par ces microorganismes qui peut être due à sa utilisation humain permanent (tel que les robiniers de sale de bain ou les lits).

**Tableau XII :** Les résultats positifs et négatifs selon les dispositifs médicaux.

Dispositif médicaux /résultat	Positif	Négatif
Chaise	03	02
Lit	09	00
Armoire	04	03
Porte	05	2
Fenêtre	02	03
Les robiniers de sale de bain	11	00
Autres (table, matériel...)	02	05
<b>Total</b>	<b>36</b>	<b>15</b>



**Figure 11:**Les résultats positifs selon les dispositifs médicaux.

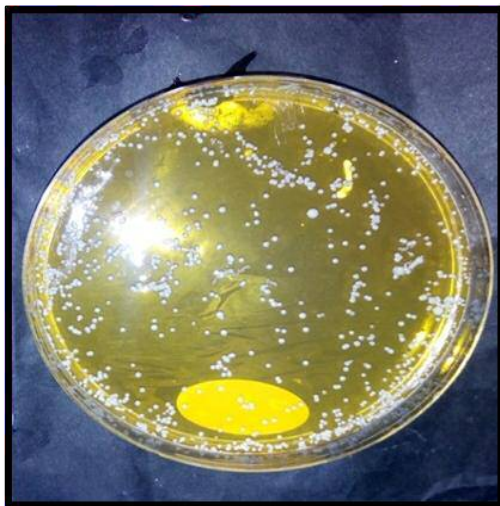
### III.1. Isolement et identification des *Staphylococcus spp*

Un total de 36 isolats positifs de *Staphylococcus* a été isolé à partir des dispositifs médicaux. 12 prélèvements à partir de service de réanimation, 03 de service de chirurgie générale d'urologie, 09 de service de traumatologies, 09 de service de médecine interne et 03 de service de laboratoire.

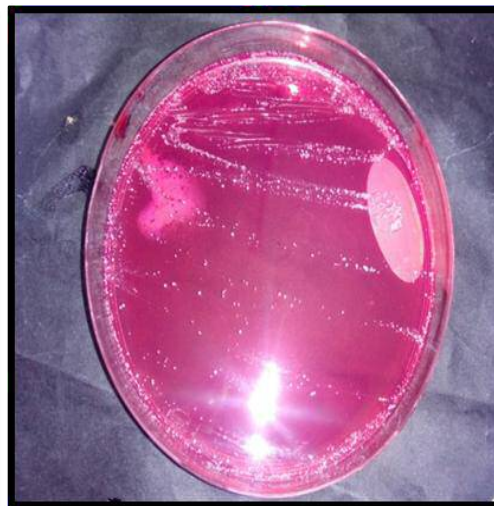
#### III.1.1. Aspect des colonies

Sur les deux milieux de cultures (Chapman, gélose au sang cuit), les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristique du genre *Staphylococcus* ont été prélevées. Sur le milieu Chapman, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une aréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté (Photographie 9.1), sinon les colonies sont de couleur blanche (Photographie 9.2). Ces colonies sont arrondies à bords réguliers de 1 mm de diamètre après 24 heures d'incubation à 37°C.

- 25 boîtes de pétri à colonies de mannitol positive : fermente le mannitol;
- 11 boîtes de pétri à colonies de mannitol négative : ne fermente pas le mannitol.



**Photographie 8.1:** Colonie de *Staphylococcus* mannitol+



**Photographie 8.2:** Colonie de *Staphylococcus* mannitol -

Sur gélose au sang cuit, les colonies ont une couleur blanche ou jaune pigmentée, d'un diamètre variant entre 1 à 3 mm de diamètre, après 24 heures d'incubation à 37°C.



**Photographie 9:** Aspect des colonies de *Staphylococcus* isolées sur milieu gélose au sang.

### III.1.2. Coloration de Gram

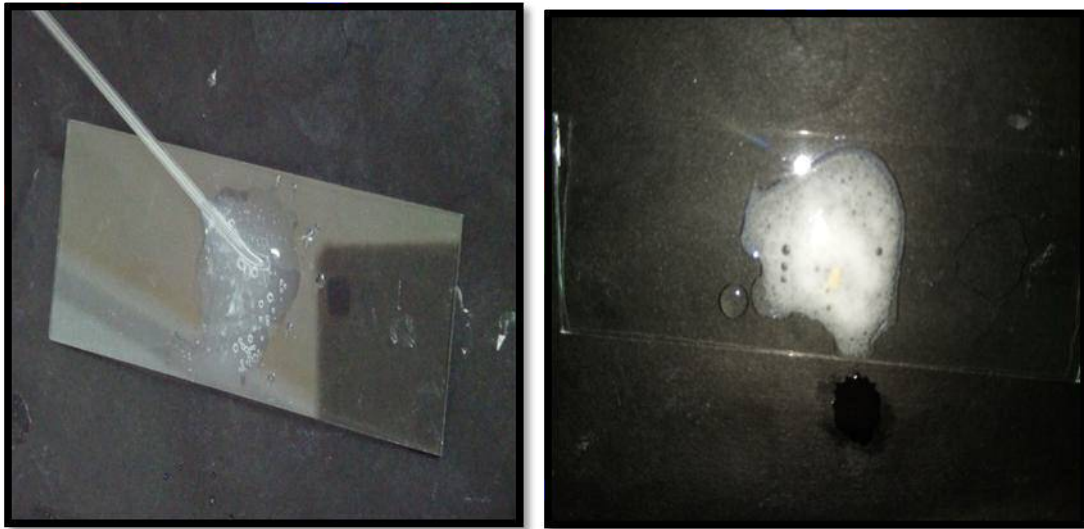
La coloration différentielle pour les 36 isolats isolés met en évidence des cocci sphériques, en grappe de raisin, en paires, colorés en violet.



**Photographie 10 :** Résultats de la coloration de Gram.

### III.1.3. Test catalase

Un test catalase a été pratiqué sur quelques colonies, l'apparition d'un dégagement de bulles met en évidence un test catalase positif.

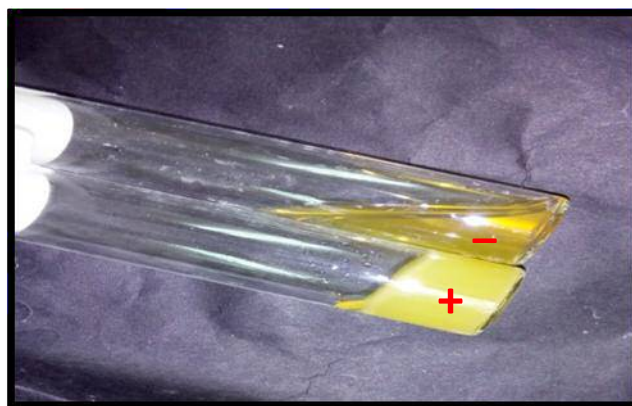


**Photographie 11:** Résultat du test catalase.

#### III.1.4. Test de coagulase libre

Ce test permet la recherche de la coagulase, exo enzyme capable in vitro à partir de plasma humain. Parmi les Cocci Gram +, catalase +, seules les souches de *Staphylococcus aureus* provoquent la coagulation du plasma. Les cocci à Gram positif, catalase positive, testés pour la production d'une coagulase, présentent un phénotype variable (**Photographie 12**).

- 17 souches à coagulase positive : *Staphylococcus aureus*;
- 19 souches à coagulase négative : Autres espèces de staphylocoques.



**Photographie 12 :** Résultat du test de coagulase libre.

**Coagulase positive :** Il y a formation d'un coagulum de fibrine. Le fibrinogène (soluble) a donc été transformé en fibrine (insoluble) la bactérie possède donc une coagulase libre. Elle est dite coagulase libre (+) ou encore coagulase (+).

**Coagulase négative :** Il n'y a pas de formation d'un coagulum de fibrine. Le fibrinogène (soluble) n'a donc pas été transformé en fibrine (insoluble) la bactérie ne possède donc pas de coagulase libre. Elle est dite coagulase libre (-) ou encore coagulase (-).

#### **IV. Effet des disques d'antibiotique sur les Staphylocoques**

L'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques des isolats isolés à partir des dispositifs médicaux, aux niveaux des services de chirurgie traumatologie, chirurgie général d'urologie, médecine interne et réanimation de l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella kenchela, s'avère d'une importance primordiale, vu qu'elle oriente le choix des traitements et permet de réduire la pression de sélection exercée par les antibiotiques.

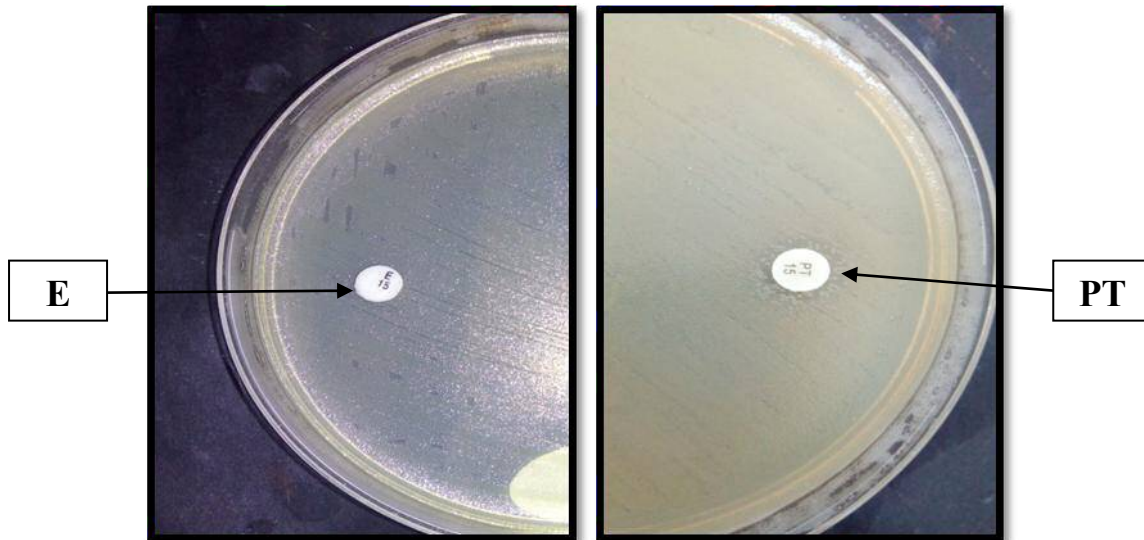
Les tests d'évaluation de la résistance aux antibiotiques ont été réalisés selon la méthode classique de diffusion de l'antibiotique en gélose à partir de disques imprégnés d'antibiotiques, selon les recommandations de la NCCLS.

Les *Staphylococcus* isolés ont été testés vis-à-vis de 06 antibiotiques couramment utilisés en thérapeutique clinique.

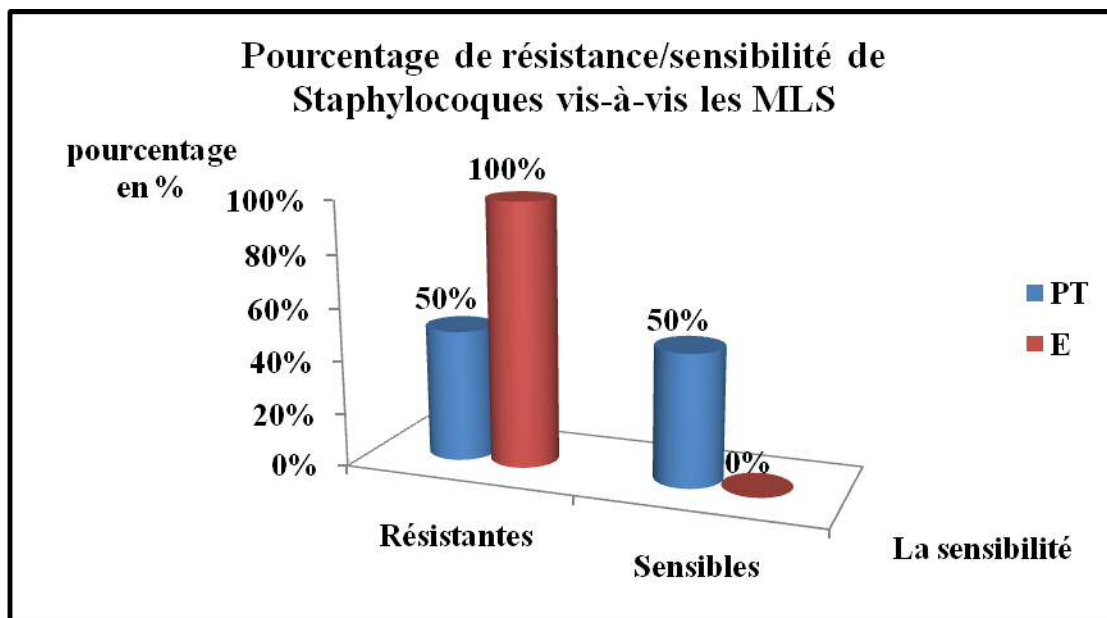
Sur 36 isolats identifiés, nous avons effectué des antibiogrammes, et les résultats obtenus sont les suivants (**Annexe 03**):

- **Pour les M. L. S**

Les Staphylocoques isolés (des *S. aureus* et SCN) présentent une résistance importante de 100 % vis-à-vis l'Erythromycine par contre à la Pristinamycine où elles présentent (50%) qui veut dire une égalité entre la résistance et la sensibilité.



**Photographie 13 :** Effet de l'Erythromycine et la Pristinamycine sur les Staphylocoques isolés à partir des dispositifs médicaux.



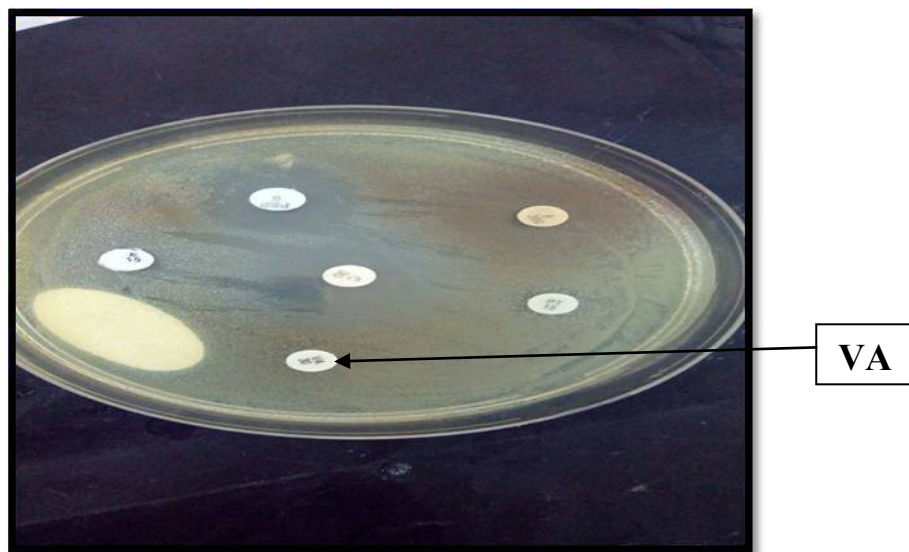
**Figure 12 :** Pourcentage de résistance/sensibilité de Staphylocoques vis-à-vis les MLS.

Les MLS inhibent la synthèse protéique au niveau du ribosome. Ils se fixent tous au niveau de la sous-unité 50S, mais le mécanisme exact de leur action est encore très mal connu (Buu-Hoi, 1985).

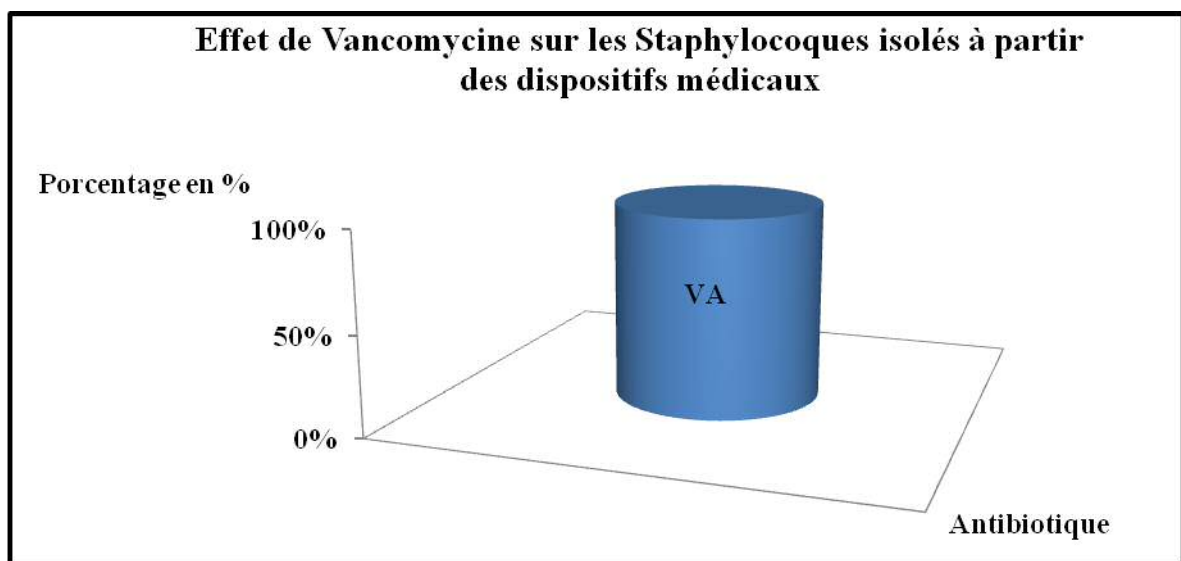
- **Pour les glycopeptides**

Selon le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (2014). Le disque de Vancomycine ne permet pas de différencier les souches Vancomycine « S » et « I » de *Staphylococcus aureus*, ni de différencier les souches Vancomycine « S », « I » et « R » de SCN, car les diamètres d'inhibition sont similaires. La détermination de la CMI de Vancomycine est obligatoire.

Mais ici la totalité des résultats obtenue sont négatifs veut dire les isolats étudiés sont totalement résistantes au Vancomycine, peut être due à la périmé de antibiotique utilisée.



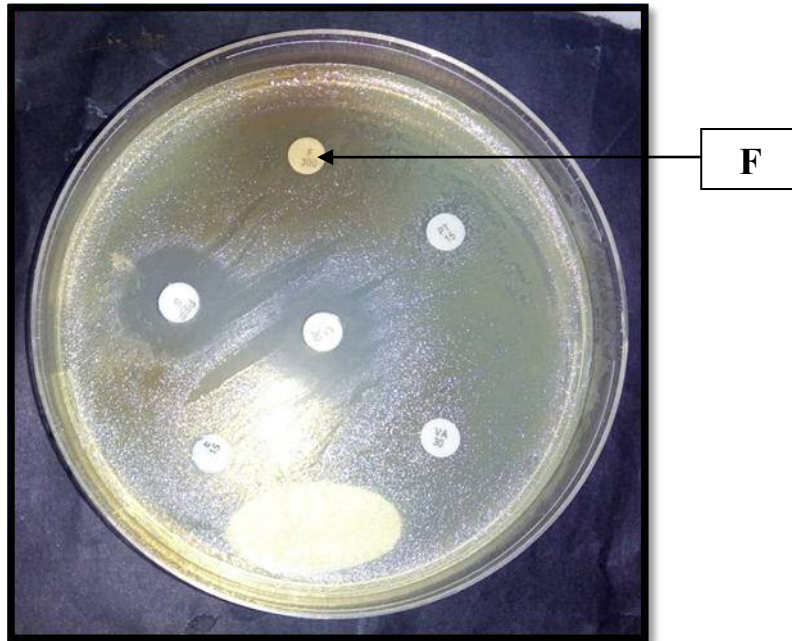
**Photographie 14 :** Effet de Vancomycine sur les Staphylocoques isolés à partir des dispositifs médicaux.



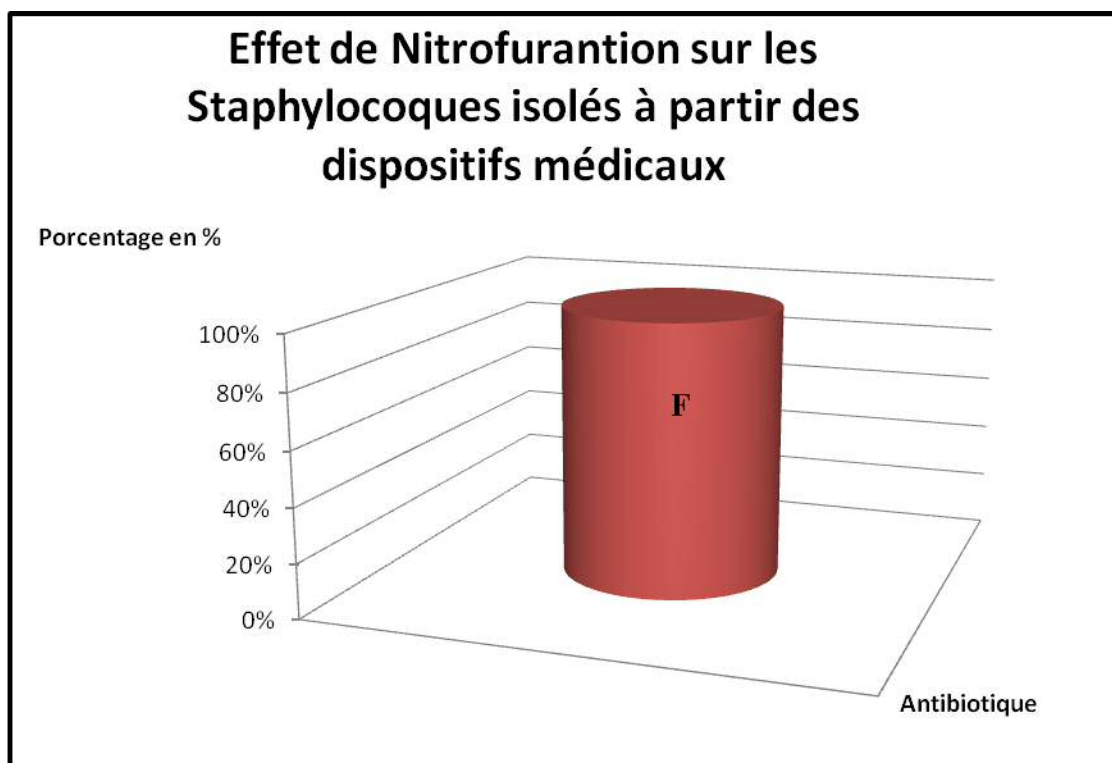
**Figure 13:** Pourcentage de résistance de Staphylocoques vis-à-vis de la Vancomycine.

- Pour les nitrofuranes

Les Staphylocoques isolés des (*S. aureus* et SCN) présentent une résistance totale vis-à-vis Nitrofurantion.



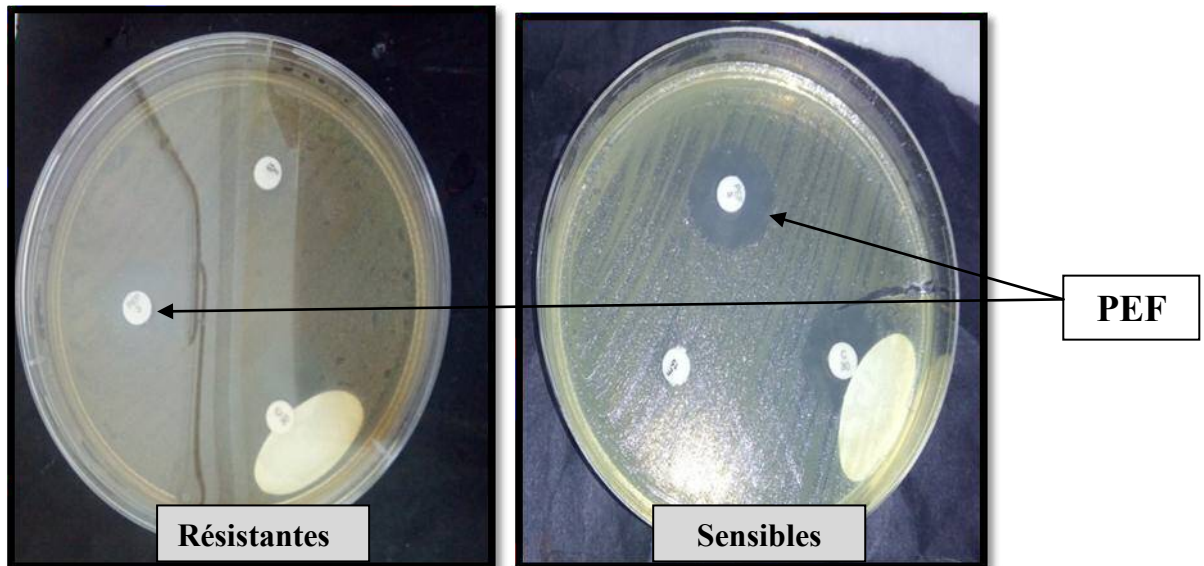
**Photographie 15:** Effet de disque d'antibiotique de Nitrofurantion sur les Staphylocoques isolés à partir des dispositifs médicaux.



**Figure 14 :** Pourcentage de résistance de Staphylocoques vis -à vit les Nitrofurantion.

- Pour les quinolones

La plus part des Staphylocoques isolés à partir des dispositifs médicaux ont une sensibilité important à Péfloxacine (PEF) à pourcentage de 56%. Et une moindre part des notre isolats sont résistantes au même antibiotique avec un pourcentage de (44%).



Photographie 16: Effet de Péfloxacine sur les Staphylocoques isolés à partir des dispositifs médicaux.

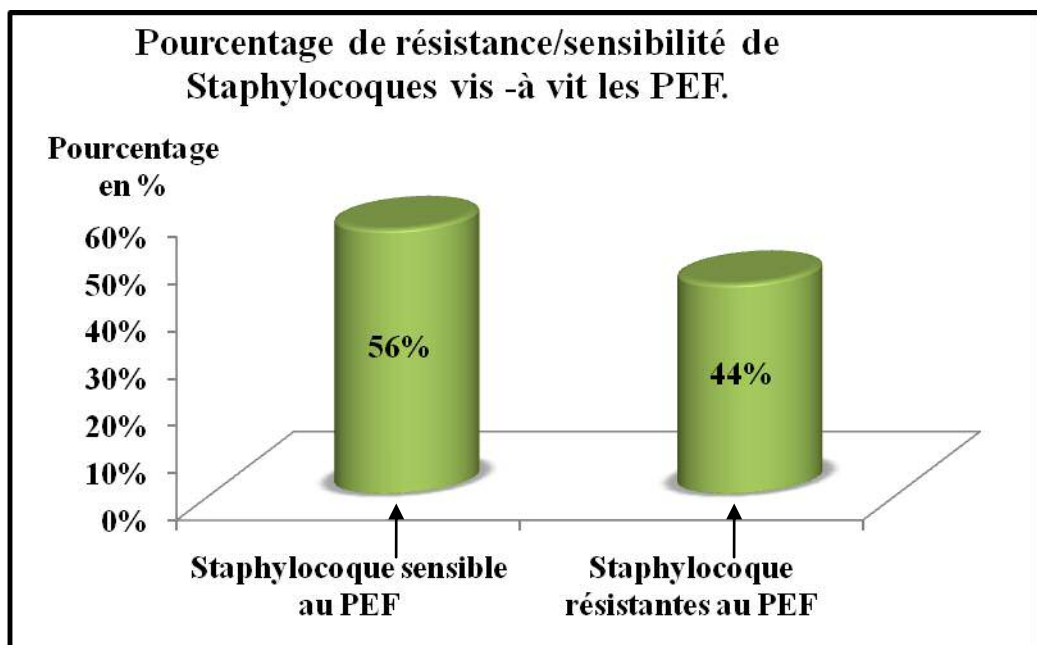
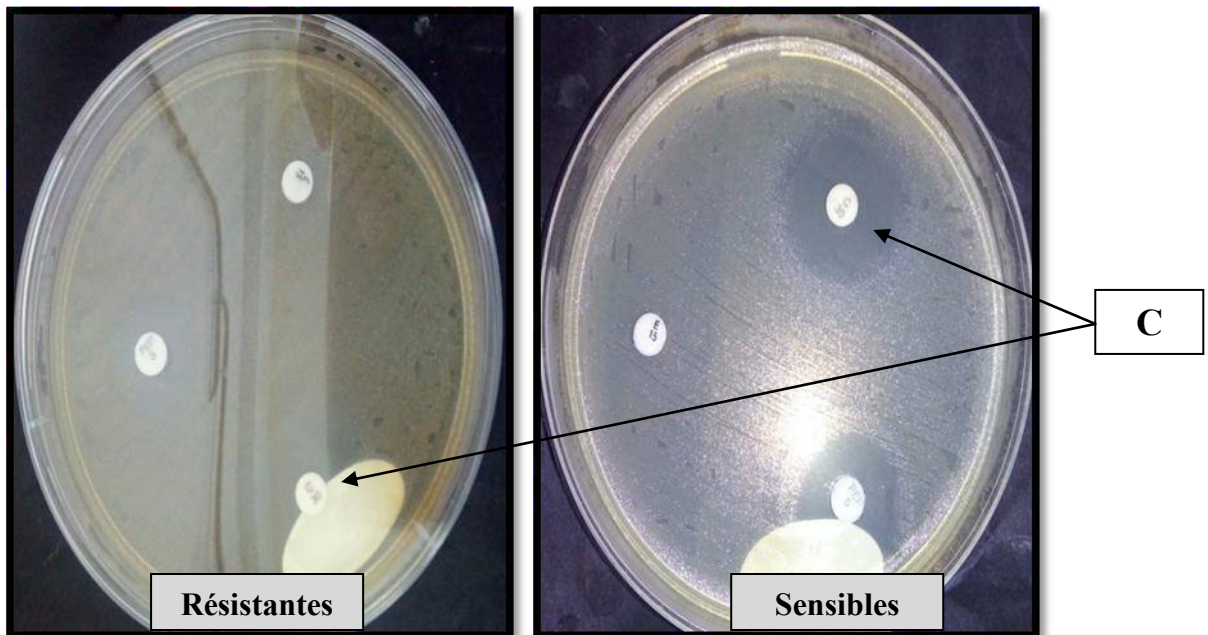


Figure 15 : Pourcentage de résistance/sensibilité de Staphylocoques vis -à vit les PEF.

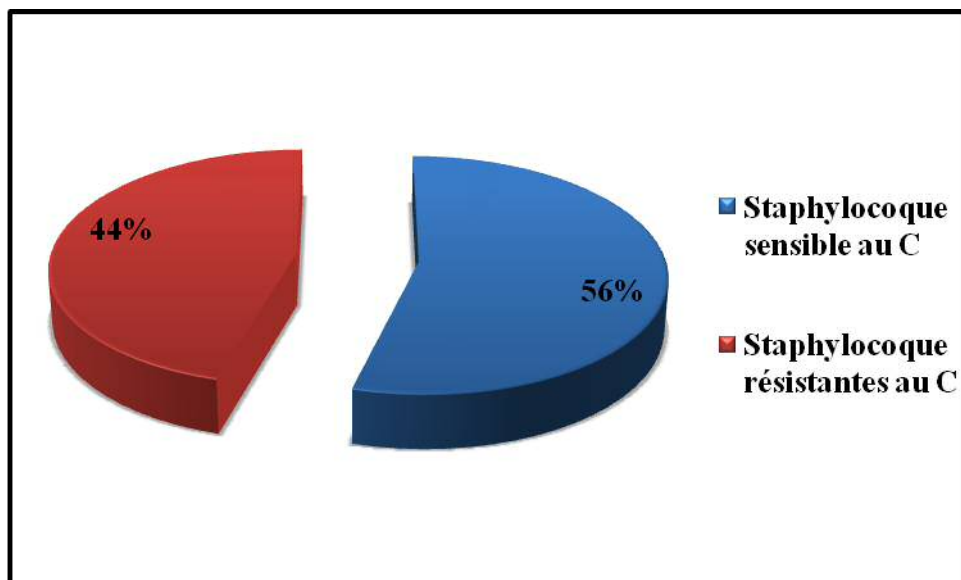
Les quinolones inhibent la synthèse de l'acide désoxyribonucléique par blocage d'une enzyme essentielle : l'ADN-gyrase (Soussy, 1985).

- **Pour les autres antibiotiques**

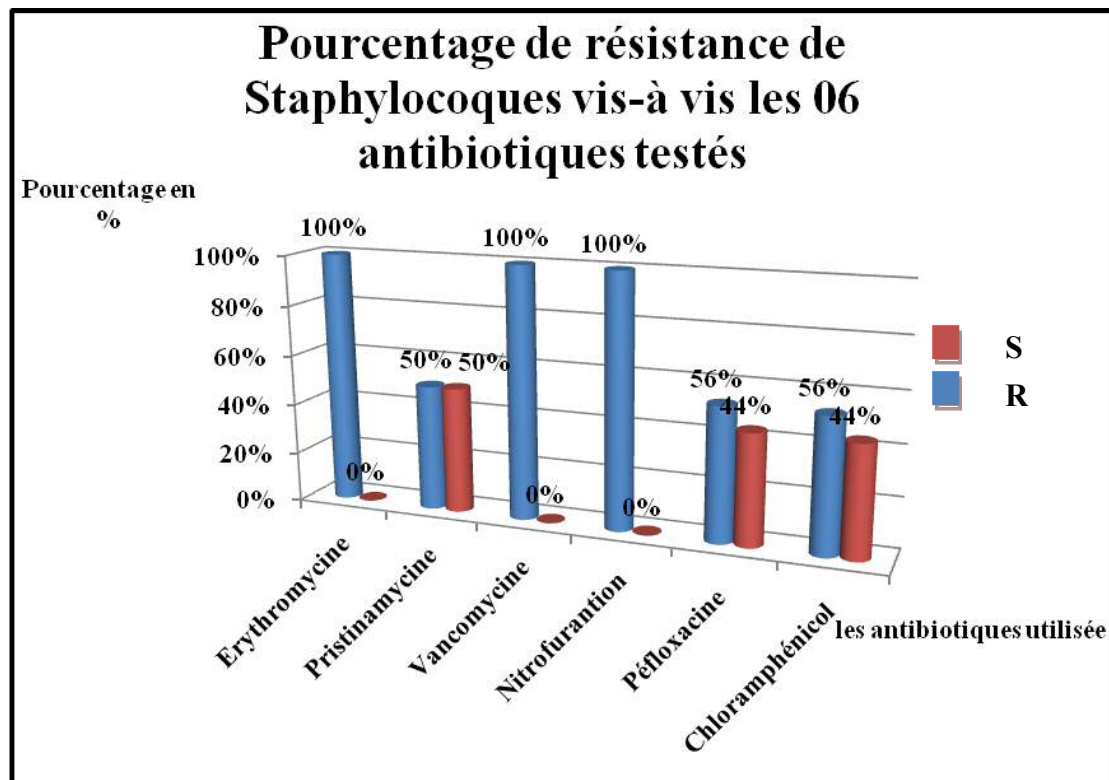
Les Staphylocoques ont une sensibilité importante de 56% et une résistance à pourcentage de 44% vis-à-vis la Chloramphénicol.



**Photographie 17:** Effet de Chloramphénicol sur les Staphylocoques isolés à partir des dispositifs médicaux.



**Figure 16:** Pourcentage de résistance/sensibilité de Staphylocoques vis-à-vis les Chloramphénicol.



**Figure 17 :** Pourcentage de résistance de Staphylocoques vis-à-vis les 06 antibiotiques testés.

La fréquence élevée de résistance aux antibiotiques parmi les isolats responsables d'infections liées aux cathéters est associée à une forte pression de sélection antibiotique.

L'organisation multicellulaire des bactéries en biofilm leur confère l'avantage d'acquérir de nouveaux gènes. Le biofilm constitue un milieu parfait pour l'échange de plasmide de résistance (Watnick et Kalter, 2000).

# **Conclusion et perspectives**

## Conclusion

Vivant entre le commensalisme et la pathogénicité, les staphylocoques ont développé des stratégies intéressantes pour faire subie à l'environnement hospitalier comme une niche écologique. Différents facteurs externes associés favorisant ce développement principalement le recours aux procédures invasives l'implantation d'un dispositif médicaux et l'utilisation abusive des antibiotiques et la formation de biofilm facteur de pathogénicité, important pour que ces bactéries s'installent comme des pathogènes nosocomiaux.

Notre étude effectuée sur une collection de 36 isolats de Staphylocoques parmi 51 prélèvements : 19 SCN et 17 *S. aureus* isolés à partir des dispositifs médicaux au niveau de l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de khenchela entre Avril et Mai 2018 a révélé les principaux points suivants :

- ✓ Une diversité des isolats de *Staphylococcus* isolés à partir des dispositifs médicaux avec une fréquence d'isolement des SCN 53% contre *S. aureus* 47%.
- ✓ La distribution des SCN et *S.aureus* est influencée par la nature du biomatériau qu'elles occupent.
- ✓ Les SCN sont plus aptes à adhérer à la surface des dispositifs médicaux leurs confèrent un caractère virulent donc ce groupe doit tenir plus d'attention et suivre les mêmes mesures d'hygiènes établies pour *S. aureus*.
- ✓ La gravité des infections associées aux dispositifs médicaux est liée au développement de la résistance bactérienne à de nombreux antibiotiques.
- ✓ Les isolats de *Staphylococcus* étudiés ont présentés des taux élevés de résistance aux antibiotiques en plus d'une multirésistance inquiétante.

Tous les *S.aureus* isolés étaient des SARM c'est-à-dire 100% résistant aux Nitrofrane, Glycopeptide en plus d'une résistance inquiétante aux MLS.

Le Cloramphénécrole et péfloxacine ont montré des activités sur la totalité des espèces étudiées, ces antibiotiques demeurent la molécule de choix contre les infections à *Staphylococcus*.

La gravité des infections associées aux dispositifs médicaux est liée au développement de la résistance bactérienne à de nombreux antibiotiques. 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. Dans ce domaine, plus pratiquement, la coopération permanente entre clinicien et microbiologiste est nécessaire pour un double objectif: thérapeutique et prophylactique.

Nous ne terminerons pas cette étude sans mentionner les problèmes d'hygiène qui restent la première source de contamination dans nos hôpitaux. L'infection nosocomiale chez le patient dans les différents services est le reflet d'une politique générale d'hygiène, allant des soins à partir de l'entrée de patient jusqu'à sa sortie.

Enfin nous souhaitons que l'étude sur les infections sur implants soit plus étendue et qu'elle s'intéresse aux biofilms dont le rôle exact dans la pathogénie de l'infection sur les dispositifs médicaux est parfaitement établi.

# Liste des références

**A**

1. **Arias, C .A. et Murray, B.E. (2009).** Antibiotic-resistant bugs in the 21st century A clinical super-challenge. *N Engl J Med*, **360**, p43-439.
2. **Avril, J.L., Dabarent, H., Denis, F., Montiel, H. (1992).** Bacteriologie clinique. 2<sup>ème</sup> édition, Ellipses, Paris. p149-151, p9-31. In **Chaalal Wafaa**, Mémoire de Magister en Microbiologie Fondamentale et Appliquée, Université d'Es-Senia d'Oran, Algerie, p3-5.

**B**

1. **Baggett, H.C., Hennessy, T.W., Rudolph, K. (2004).** Community-onset methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with antibiotic use and the cytotoxin Panton- Valentine leukocidin during a furunculosis outbreak in rural Alaska. *J Infect Dis*, **189**, p1565-1573.
2. **Bakini B. et Nigri M. (2013/2014).** Les infections des dispositifs médicaux en milieu hospitalier. mémoire de licence, Spécialité: Microbiologie fondamentale et appliquée universite, Kasdi Merbah – OUARGLA, p16
3. **Banacorsi, S. (2007).** Bactériologie médicale, 2<sup>ème</sup> édition, Paris. 1-135
4. **Bes, M., Brun, Y. (2002).** *Staphylococcus*: actualités taxonomiques et identification. *Rev Francoph Lab*, **343**, p 23–30.
5. **Blaiotti, G., Pennacchia, C., Villari, F., Ricciardi, A., Tofalo, R. et Parente, E. (2004).** Diversity and dynamic of communities of coagulase-negatif staphylococci in traditional fermented sausage. *J. of applied Microbiology*, **97**, p271-284. In **Chaalal Wafaa**, Mémoire de Magister en Microbiologie Fondamentale et Appliquée, Université d'Es-Senia d'Oran, Algerie, p 5.
6. **Bokarewa, M. and Tarkowski, A. (2004).** Human alpha -defensins neutralize fibrinolytic activity exerted by staphylokinase. *Thromb. Haemost*, **91**, p 991-999.
7. **Bokarewa, M. I., Jin, T and Tarkowski, A. (2006).** *Staphylococcus aureus*: Staphylokinase. *Int. J. Biochem. Cell Biol*, **38**, p 504-509.
8. **Botterel, F., Faibis, F., Chevalier, C., Deliss, C., Fiacre, A., Dubois, A.** Intérêts et limites de la surveillance des infections nosocomiales à partir du laboratoire de microbiologie : Expérience du CHG de Meaux. *pathol Biol* 2004 ; **52** p 469-473

9. **Bousseboua H. (2002).**Eléments de microbiologie générale. Édition de l'université MENTOURI constantine (Algerie), p269.
10. **Boukhatem M.N, Ferhat M.A, Hadj Mouhamed R. (2015).** Prevalence and antibiotic resistance of Staphylococci isolated from kolea hospital (Algeria), journal of fundamental and applied sciences.7 (2): P 260-270.
11. **.Buu-Hoi A. (1985).** Cocci à Gram positif et macrolides-lincosamidesstreptogramines. In : Courvalin P, Goldstein F, Philppon A et Sirot J, eds. L'antibiogramme. Paris : MPC-Vidéom; 41-8.
  
12. **Braff, M.H., Jones, A.L., Skerrett, S.J. and Rubens, C.E. (2007).** *Staphylococcus aureus* exploits cathelicidin antimicrobial peptides produced during early pneumonia to promote staphylokinase-dependent fibrinolysis. *J. Infect. Dis*, **195**, p1365-1372.
13. **Breche, P., Gaillard, J., Simonet, M. (1988).** Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie Bactéries des infections humaines Flammarion Médecine-Sciences.Paris, p 267-277.
  
14. **Bronner, S., Monteil, H., Prévost G. (2004).** Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *FEMS Microbiol Rev* ,**28**(2), p183-200.
15. **Brun, Y., Bes, M. (1990).** Méthodes diagnostiques des staphylocoques à coagulase négative *Méd. et Mal. Infect.*, hors série Mars, p 16-23.
16. **Bury- Moné, S. (2007).** Les biofilms. Polycopié, Ecole Normale Supérieure de Cachan, p 17.

## C

1. **CA-SFM. (2014).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.
2. **Cattoen, C. (2009).** Epidémiologie des infections a *pseudomonas*. duacai.6-cent recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales BEH.N numéro spécial, juin 1992.
3. **CCLIN-Paris- Nord. (2000).** Hygiène et prise en charge des dispositifs médicaux en consultation d'ophtalmologie, <http://www.ccr.jussieu.fr/cclin>.

4. **Chaala, W. (2013).** Occurrence et profil d'antibioresistance des *Staphylococcus aureus* isolée de produits alimentaires. Université d'Es-senia Oran, Algerie.
5. **Chaib, Y., ELanssar, A., Aouane, M., Hamama, S., Oujar, N., Chakhtour, K.H., Chibani, A., Nehir, M., Soulaymani, A. (2016).**The factors related to the patients hospitalized favoured nosocomial infections. International Journal of Innovation and Applied Studies. ISSN 2028-9324 Vol, **14**, p 472-482.
6. **Chamberlain, N.R. and Brueggemann, S.A. (1997).** Characterisation and expression of fatty acid modifying enzyme produced by *Staphylococcus epidermidis*. *J. Med. Microbiol*, **46**, p693-697.
7. **Chavakis, T et al. (2005).** *Staphylococcus aureus* interactions with the endothelium: the role of bacterial secretable expanded repertoire adhesive molecules' (SERAM) in disturbing host defense systems. *Thromb. Haemost*, **94**, p278–28.
8. **Clarke, S.R., Foster, S.J. (2006).** Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Adv Microb Physiol*, **51**, p187-224.
9. **Clutterbuck, A.L., Woods, E.J., Woods, E.J., Knottenbelt, D.C., Clegg, P.D., Cochrane, C.A., Percival, S.L. (2007).** Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet Microbiol. Mar 31*, **121** (1-2), p1-17.
10. **Colombani, J.C.K. Sirrajeddine et colomb, H. (1993)** Bilan des infections nosocomiales dans un service de long séjour d'un centre hospitalier général. *Med. Mal. Infect* 1993, **23**, p42-43.
11. **Comité technique national des infections nosocomiales. 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales 1999.**
12. **Costerton, J.W., Stewart, P.S., Greenberg, E.P. (1999).** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, **284**, p1318-1322.

**D**

1. **Delarras, C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Paris: Lavoisier.
2. **Denis, S. (2010).** pharmacologie b.p.4<sup>ème</sup> édition, rue France, p289-361.
3. **Donlan, R.M. (2002).** Biofilms: Microbial life on surface. *Emerg. Infect. Dis*, **8** (9), p 881-890.

4. **Drancourt, M., Adekambi, T. (2004).** L'eau en établissement de soins : les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. Commission Européenne; p 4-38.
5. **Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schkeufer, K.H., Stackebrandt, E. (2006).** The Prokaryotes: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria. 3<sup>ème</sup> éd. Springer, New-York, Vol 4.

### F

1. **Fasquelle, R. (1974).** Eléments de bactériologie médicale. 9<sup>ème</sup> édition. Flammarion, Paris, p27-36.
2. **Feney, J., Kloos, W., Hajek, V., Webster, J., Bes, M., Brun, Y et Vemzy Rozand, C. (1999).** Remmended minimal standers for description of new Staphylococcal species. International Journal of Systematic Bacteriology, 49, p489-502. In **Chaalal Wafaa**, Mémoire de Magister en Microbiologie Fondamentale et Appliquée, Universié d'Es-Senia d'Oran, Algerie, p 5.
3. **Flandrois, J.P. (1997).** *Bactériologie médicale*. Presse Universitaire de Lyon.
4. **Fauchere, J.L., Avril, J.L. (2002).** Bactériologie générale et médicale. ellipses, Paris. p213-217.
5. **Flemming, H.C., Neu, T.R., Wozniak, D.J. (2007).** The EPS matrix: the "house of biofilm cells". J Bacteriol, **189** (22), p 45-47.
6. **Fleurette, J. (1982).** Staphylocoques et Microcoques. Dans le Minor L., Veynon M., Bacterio Med. *Flammarion Méd. - Sciences*. 1<sup>er</sup> ed, Paris, p773-792.
7. **Foster, T.J. and Hook, M. (1998).** Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol*, **6**, p484-488.

### J

1. **Jacques, M., Aragon, V., et Tremblay, Y.D.N. (2010).** biofilm formation in bacterial pathogens of veterinary importance animal health research reviews, **11**, p97-121
2. **Jin, T., M. Bokarewa, T., Foster, J., Mitchell, J., Higgins and Tarkowski, A. (2004).** *Staphylococcus aureus* resists human defensins by production of staphylokinase, a novel bacterial evasion mechanism. *J. Immunol*, **172**, p1169-1176.
3. **Joffin, J.N., Leyral, G. (2001).** Microbiologie technique : 1 'Dictionnaire des techniques'. 3<sup>ème</sup> Edition, Bordeaux : CRDP d'Aquitaine, p 320.

### H

1. **Hall-Stoodley, L., Stoodley, P. (2009).** Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol*, **11**(7), p1034-1043.
2. **Hamza, R. (2010).** Epidémiologie des infections associées aux soins. *Revue tunisienne d'infectiologie*, Vol, **4** , p1-4.
3. **Hibbing, M.E., Fuqua, C., Parsek, M.R. (2010).** Peterson SB. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nat Rev Microbiol*, **8**(1), 15-25.
4. **Hirsh, D.C., Nigel, J.M., Richard, L., Walker. (2004).** *Veterinary microbiology*. 2<sup>ème</sup> édition. Blackwall-science, california, P 536.
5. **Horan, T.C., Andrus, M., dudeck, M.A. (2008).** CDC/NHSN surveillance definition of health care associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am. J. Infect. Control*, **36**, p309-332.
6. <http://www.futura-sciences.com/fr/news/t/medecine/>

## G

1. **Gallaher, T.K., Webster, P. et Aguilera. (2006).** Identification of biofilm proteins in nontypeable *Haemophilus influenza* *BMC Microbiology*, **6** (65), p1-9.
2. **Garrity, G.M., Johnson, K.L., Bell, J. and Searles, D.B. (2002).** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, second éd. Springer-verlag, New York, p60.
3. **Gayvallet-Montredon, N., Sauvestre, C., Bergeret, M., Gendrel, D., Raymond, J. (2002).** Bactériémies nosocomiales en pédiatrie. *Arch pédiatr*, **7**, p 679-84.
4. **Golovlev, E.L. (2002).** The mechanism of formation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm, a type of structured population. *Mikrobiologija* , **71**, p 293-300.
5. **Gordon, R.J. et Lowy, F.D. (2008).** Pathogenesis of Meticillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Infection. Clinical Infectious Diseases* , **46**, p9-350.
6. **Gravet, A., Couppié, P., Meunier, O., Clyti, E., Moreau, B., Pradinaud, R., Monteil, H., Prévost, G. (2001).** *Staphylococcus aureus* isolated from impetigo produces both epidermolysins A or B and LukE+LukD in 78% of 131 retrospective and prospective cases. *J Clin Microbiol*, **39**,43 49-56.

## K

1. **Kalilou, Coulbaly. (2009).** Cathétérisme veineux central et infections nosocomiales en Hémodialyse dans le service de Néphrologie et d'Hémodialyse du CHU du Point G. MALI.

2. **Karthik, S. (2007).** Role of MSA in the regulation of virulence and biofilm formation. The University of Southern Mississippi. Edition UMI Microform USA, p20-24.
3. **Katherine, O., Jean, C. (2004).** Clinical Microbiology Reviews Vol. 17, **01**, p 218–234.
4. **Kloos, W.E., Bannerman, T.L. (1999).** Staphylococcus and Micrococcus, p 264-282.
5. **Konate, B. (2001).** Microméthodes d'identification et d'étude de la sensibilité des staphylocoques, entérocoques et streptocoques. Intérêt et application dans le diagnostic rapide des infections microbiennes. *Thèse Pharm.*, Dakar, n° 100.

### L

1. **Langlet, S., Quentin, G., Contant, G., Ghnassia, C.J. (1999).** Method chromogénique d'identification rapide de *Staphylococcus aureus*. *Annales de Biologie clinique*, **57**(2), p 6-191
2. **Lasheras, A., Monnin, D. (2008).** Micro-organismes et voies de transmission.
3. **Lesieur, C., Vecsey-Semjen, B., Abrami, L., Fivaz, M., van der Goot, F.G. (1997).** Membrane insertion: the strategies of toxins. *Mol Membr Biol*, **14**, p45-64.
4. **Leyral et Vierling (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires, p 287.
5. **Lewis, K. (2007)** persister cells, dormancy and infectious disease. *Nature Reviews Microbiology*
6. **Lowy, F.D. (1998).** *Staphylococcus aureus* infections. *N Engl J Med*, **339**, p520–532.
7. **Lu, T., Park, J.Y., Parnell, K., Fox, L.K. and McGuire, M.A. (2012).** Characterization of fatty acid modifying enzyme activity in staphylococcal mastitis isolates and other bacteria. *BMC Res. Notes* **5**, p323.

### M

1. **Mah, T.F., Pellock, B., Walker, G.C. (2003).** A genetic basis for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm antibiotic resistance. *Nature*, **426**, p306- 310.
2. **Makris, G., Wright, D.J., Ingham, E., et Holland, T.K. (2005).** The hyaluronate lyase of *Staphylococcus aureus*- a virulence factor? *Microbiology* 2013, p 150.
3. **Margot, P., Chantal, G. (2009).** Les infections nosocomiales - Agir ensemble pour des milieux cliniques sains et sécuritaires, La gestion des risques 1<sup>re</sup> partie, p 1-19.
4. **Marie-josé, M., Marie, F. (2008).** Le manuel pophyre de préparateur en pharmacie p99-1409.

5. **Menzinger, S., Schneider, A., Tschopp, C. (2008).** Immersion en communauté Infections nosocomiales.
6. **Merlet, A. (2010).** Implication de la leucocidine de Panton et Valentine dans les infections sévères à *Staphylococcus aureus* en Nouvelle-Calédonie thèse de doctorat : Université Bordeaux 2 des sciences médicales, p117.
7. **Meunier, O., Hernandez, C., Piroird, M., Heilig, R., Steinbach, D., Freyd, A. (2005).** Prélèvements bactériologiques des surfaces : importance de l'étape d'enrichissement et du choix des milieux de culture, **63** (5), p482.
8. **Morea, M., Baruzzi, F et Cocconcelli P-S. (1999).** Molecular and physiological characterization of dominant bacterial population in traditional mazzarella cheese processing. J. of applied Microbiology, P87, 574-582. In **Chaalal Wafaa**, Mémoire de Magister en Microbiologie Fondamentale et Appliquée, Université d'Es-Senia d'Oran, Algérie, p 5.
9. **Motaouakkil, S., Aalloula, O. (2011).** Infections nosocomiales: L'affaire de tous, 2<sup>ème</sup> éd. Praticien 1989, **39** (1 b). P 1403-8.

## N

1. **Novick r, P. (1990).** Staphylococci. In: *Microbiology*, 4 th éd, NY, p539-560.

## O

1. **O'Toole, G.A., Kolter, R. (1998).** Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol Microbiol*, **30**, p 295-304.

## P

1. **Parker, M.W., Feil, S.C. (2005).** Pore-forming protein toxins: from structure to function. *Prog Biophys Mol Biol*, **88**, p91-142.
2. **Parsek, M.R., Fuqua, C. (2004).** Biofilms 2003: emerging themes and challenges in studies of surface- associated microbial life. *J. Bacteriol*, **186**, p 4427-4440
3. **Patti, J.M., Allen, B.L., McGavin, M.J. and Hook, M. (1994).** MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu. Rev. Microbiol*, **48**, p585-617.

4. **Patti, J.M. and M. Hook. (1994).** Microbial adhesins recognizing extracellular matrix macromolecules. *Curr. Opin. Cell Biol*, **6**, p752-758.
5. **Peacock, S. J. (2006).** *Staphylococcus aureus* in: Principales and practice of clinical bactériology. 2<sup>nd</sup> edition, England: John Wiley et Sons Ltd, p 76.
6. **Phillips, P.L., Wolcott, R.D., Fletcher, J., Schultz, G.S. (2010).** Biofilms Made Easy. *Wounds International*.
7. **Pitout, J.D., Laupland, K.B. (2008).** Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: An emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*, **8**, p 159-66.
8. **Poncholi, V. (2002).** Staphylococcal extracellular surface enzymatic activity. In: *Staphylococcus aureus* infection and Disease. USA: Kluwer Academic Publishers, p 145.
9. **Prescott, L. M. (2009).** *MICROBIOLOGIE .2eme éd*, FRANCE: De Boeck.
10. **Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D. (2007).** Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université, p 35, p700-922.
11. **Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D. (2010).** Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université.

## Q

1. **Quinn, P-J., Markey, B-K., Leonard, F-C., Hartigan, P., Fanning, S. et Fitz Patrick, E-S. (2011).** Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Edition Blackwall-science, USA. p 893. In **Chaalal Wafaa**, Mémoire de Magister en Microbiologie Fondamentale et Appliquée, Université d'Es-Senia d'Oran, Algerie, p 5.

## R

1. **Ramiro, P. (2006).** Dispositifs Médicaux Concepts et réalités de terrain, guide juridique et pratique. [walraeve-bresson@sante.gouv](mailto:walraeve-bresson@sante.gouv)
2. **Rice, K.C., Mann, E.E., Endres, J.L. (2007).** The cidA murein hydrolase regulator contributes to DNA release and biofilm development in *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci USA*, **104**(19), 18-8113.

3. **Rossello, J., Amazian, K., Castella, A. et al. (2010).** Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne, Eastern Mediterranean Health Journal. Rev de Santé de la Méditerranée orientale, EMHJ Vol 16, **10**, p 1074.
4. **Rooijackers, S.H., van Wamel, W.J., Ruyken, M., van Kessel, K.P. and van Strijp, J.A. (2005).** Anti-opsonic properties of staphylokinase. *Microbes Infect*, 7, p 476-484.

### S

1. **Sako, T. and N. Tsuchida. (1983).** Nucleotide sequence of the staphylokinase gene from *Staphylococcus aureus*. *Nucleic Acids Res*, **11**, p7679-7693.
2. **Schaechter, M., Medoff, G., Eisenstein Barry, I. (1999).** Microbiologie et pathologie infectieuse. De Boeck Université, Paris Bruxelles, p188-189.
3. **Sedgely, C.M., lee, E.H., Martin, M.J.et Flannagan, S.E. (2008)** Antibiotic resistance gene Transfer between *Streptococcus gordonii* and *Enterococcus faecalis* in root canals of teeth ex vivo *Journal of Endodontics*, **34** (5), p570-574.
4. **Simon, F., Kraemer, P., Delina, J.J., Demortière, E., Rapp, C. (2007).** Le risque nosocomiale en Afrique intertropicale partie 2: Les infections des patients. *Médecine tropicale*, 67, p 197-203.
5. **Soussy CJ. (1985).** Quinolones. In : Courvalin P, Goldstein F, Philippon A et Sirot J, eds. L'antibiogramme. Paris : MPC-Vidéom; 57-63.
6. **Spicer, W.J. (2003).** Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, p 28-29.
7. **Stephen, H.G., Hawkey, M.P.(2006).** Principles and practice of clinical bacteriology 2<sup>ème</sup> édition. Birmingham, John Wiley and Sons, p 73-86.
8. **Stewart, P. S. (2003).** Diffusion in biofilms. *J. Bacteriol*, **185**, p 1485-1491.
9. **Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D.G., Costerton, J.W. (2002).** Biofilms as complex
10. Surveillance des infections nosocomiales à partir du laboratoire de microbiologie : Expérience du CHG de Meaux. *Pathol Biol* 2004, **52**, p 469-473.
11. **Sutherland, I. (2001).** Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*, **147**(Pt 1), p 3-9.

### T

1. **Tally, P.F. (1999).** Les staphylocoques, abcès et autres maladies. In : Microbiologie et pathologie infectieuse, 2<sup>ème</sup> édition. De Boeck, p 192-193.

### V

1. **Van Houdt, R., Michiels, C. (2005).** Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Res. Microbiol*, **156**, p 626-633
2. **Van Wamel, W.J., Rooijackers, S.H., Ruyken, M., van Kessel, K.P. and van Strijp, J.A. (2006).** The innate immune modulators staphylococcal complement inhibitor and chemotaxis inhibitory protein of *Staphylococcus aureus* are located on beta-hemolysin-converting bacteriophages. *J. Bacteriol*, **188**, p1310-1315.
3. **Velasco, D., del Mar Tomas, M., Cartelle, M., Beceiro, A., Perez, A., Molina, F., Moure, R., Villanueva, R., Bou, G. (2005).** Evaluation of different methods for detecting methicillin (oxacillin) resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother*, **55**(3), p 379-382
4. **Vincenot, F., Saleh, M., Prévost, G. (2008).** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires*, **407**, p 61-69.

W

1. **Wanner, O., Bauchrowitz, M. (2006).** Les biofilms sont omniprésents. *EAWAG News*, **60**, p4 -7.
2. **Watnick P, Kolter R. (2000).** Biofilm: city of microbes. *J Bacteriol*. **182 (10)** : 2675-9.
3. **Wertheim, H.F.L., Melles, D.C., Vos, M.C., van Leeuwen, W., van Belkum, A., Verbrugh, H.A., et al (2005).** The role of nasal carriage in *Staphylococcus aureus* infections. *Lancet InfectDis*, **5**(12), p751–62.
4. **Wylie, J-L., Deborah, I ET Nowicki, L. (2005).** Molecular epidemiology of community and health care-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* un Manitoba, Canada. *J .Clin Microbial*, **43**, p2830-2836.

X

1. **Xavier, J.B., Foster, K.R. (2007).** Cooperation and conflict in microbial biofilms. *Proc Natl Acad Sci USA*, **104**(3), p876-81.
2. **Xia, G., Kohler, T., Peschel, A. (2010).** The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*, **300**, p148–154.

Z

1. **Zahlane, Haouach,et Zouhdi, (2007).** Staphylocoque: état actuel de l'épidémiologie et de l'antibiorésistance au CHU de Rabat. *Maroc Médical, tome 29 n°4*, p279-285.

# **Annexes**

## Annexe 01 : Composition des milieux de culture

### • Gélose Milieu de Chapman

La gélose Chapman est un milieu sélectif pour les staphylocoques, sa teneur élevée en chlorure de sodium limite le développement de certains germes autres que *Staphylococcus*.

Les Microorganismes fermentant le mannitol donnent des colonies jaunes. Ce caractère est un critère d'orientation pour l'identification de *Staphylococcus aureus*. Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée :

Extrait de viande (bovin ou porcin).....	01g	pH=7,6
Peptone de caséine et de viande (bovine et porcine).....	10g	Stérilisation à
Chlorure de sodium.....	75g	l'autoclave : 30 minutes
Mannitol.....	10g	à 120°C
Agar.....	15g	
Rouge de phénol.....	0,025g	

### • Gélose au Sang

C'est une gélose rouge vif contenant des globules rouges (souvent du sang de mouton). Peu sélective. Les bactéries capables de détruire complètement les globules rouges (ce qu'on appelle une hémolyse bêta) formeront des colonies entourées d'une zone claire facilement visible sur la gélose rouge; si l'hémolyse est incomplète (hémolyse alpha), la zone d'hémolyse sera moins claire et verdâtre. Une hémolyse complète est visible.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée

Mélange spéciale de peptones.....	23 ,0g	pH=7.3
Amidon.....	1,0g	Stérilisation à l'autoclave à
Chlorure de sodium.....	5,0g	120°C30 min
Agar.....	0 ,7g	

Le sang est ajouté stérilement dans le milieu stérile en surfusion.

### • Gélose Mueller Hinton

La gélose Mueller-Hinton est le milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques. Sa formulation est conforme aux recommandations du de l'O.M.S. Elle peut également être additionnée de sang pour réaliser l'antibiogramme des germes fragiles, tels que *Haemophilus influenzae*, *Neisseria*, *Enterococcus sp* et *Streptococcus Pneumoniae*.

Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Infusion de bœuf.....	30,00g
Peptone de caséine.....	17,50g
Amidon.....	1,50g
Agar.....	17,00g

Le milieu en flacons ou boîtes se conserve entre 2 et 8°C.

- **Gélose nutritive**

La Gélose Nutritive est un milieu largement utilisé pour la culture des microorganismes peu exigeants. Elle est recommandée dans de nombreuses méthodes standardisées d'analyses des aliments, des laitages, de l'eau et d'autres produits.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée.

Peptone.....	5,00g	
Extrait de viande de bœuf.....	3,00g	Ph final à 25°C : 6,8 +/-0,2
Agar.....	15,00g	

- **Bouillon nutritif**

Peptone.....	10 g	pH =7,2 à 37°C
Sulfate de manganèse.....	0,04 g	Autoclavage : 121°C
Extrait de viande.....	5 g	pendant 15min.
Eau distillée.....	1000 ml	

- **Bouillon cœur-cerveille (BHIB)**

Composition :

Infusion de cervelle de veau.....	12,5g
Infusion de cœur de bœuf.....	5,0g
Peptone.....	10,0g
Glucose.....	2,0g
Chlorure de sodium.....	2,0g
Phosphatase di sodique.....	5g

pH= 7.4

Préparation : 37g par litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120°C, 20min.

## Annexe 02 : Solution et réactifs utilisés

- **Eau physiologique**

Chlorure de sodium (Na cl).....	9 g
Eau distillée.....	1000 ml

- **Mc Ferland**

Déshydrate de chlorure de baryum (BaCL <sub>2</sub> 2H <sub>2</sub> O).....	0,5 ml
Acide sulfurique.....	99,5 ml

Température de conservation est de : 20° à 25°.

Durée de conservation est : 6 mois.

- **Réactifs de la coloration de Gram**

- **Violet de Gentiane**

Phénol.....	2,0 g
Violet de gentiane.....	1,0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

- **Lugol**

Iodure de potassium .....	2,0 g
Iode métalloïde.....	1,0 g
Eau distillée.....	300 ml

- **Fuchsine de Ziehl**

Fuchsine basique.....	1.0g
Phénol.....	5.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

**Annexe 03 : Les tableaux**

Tableau valeurs limites des diamètres des zones d'inhibition pour les souches de référence utilisées pour le contrôle de qualité.

<b>Antibiotiques testés</b>	<b>Charge des disques</b>	<b><i>S. aureus</i> ATCC25923</b>
<b>Amikacine</b>	30 µg	20-26
<b>Céfoxitine</b>	30 µg	23-29
<b>Chloramphénicol</b>	30 µg	19-26
<b>Clindamycine</b>	2 µg	24-30
<b>Erythromycine</b>	15 µg	22-30
<b>Fosfomycine</b>	200 µg	25-33
<b>Gentamicine</b>	10 µg	19-27
<b>Kanamycine</b>	30 µg	19-26
<b>Levofloxacin</b>	5 µg	25-30
<b>Ofloxacin</b>	5 µg	24-28
<b>Oxacilline</b>	1 µg	18-24
<b>Pénicilline</b>	10 UL	26-37
<b>Rifampicine</b>	5 µg	26-34
<b>Tétracycline</b>	30 µg	24-30
<b>Teicoplanine</b>	30 µg	15-21
<b>Vancomycine</b>	30 µg	17-21

Tableau des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylocoque spp.*

Antibiotique	Diamètre d'inhibition	Valeurs critiques (mm)			Interprétation
		≤	-	≥	
Pénicilline (10UI) P	-	≤28	-	≥29	-
Oxacilline (1µg) OX	-	≤10	11-12	≥13	-
Céfoxitine (30µg) Fox	-	≤21 <i>S.aureus</i>	-	≥22	-
Céfoxitine (30µg) Fox	-	≤24 SCN	-	≥25	-
Amikacine (30µg) AK	-	≤14	15-16	≥17	-
Gentamicine (10µg) GN	-	≤12	13-14	≥15	-
Kanamycine (30µg) K	-	≤13	14-17	≥18	-
Erythromycine (15µg) E	-	≤13	14-22	≥23	-
Clindamycine (2µg) CD	-	≤14	15-20	≥21	-
Pristinamycine (15µg) PT	-	≤15	16-18	≥19	-
Ofloxacine (5µg) OFX	-	≤14	15-17	≥18	-
Ciprofloxacine (5µg) CIP	-	≤15	16-20	≥21	-
Levofloxacine (5µg) LVX	-	≤15	16-20	≥21	-
Chloramphénicol (30µg) C	-	≤12	13-17	≥18	-
Vancomycine(CMI) VA <i>S.aureus</i>	-	≥16	4-8	≤2	-
Vancomycine(CMI) VA SCN	-	≥32	8-16	≤4	-
Teicoplanine (30µg) TEC	-	≤10	11-13	≥14	-
Rifampicine (5µg) RA	-	≤16	17-19	≥20	-
Cotrimoxazole (1.25/23.75µg) SXT	-	≤10	11-15	≥16	-
Tétracycline (30µg) TE	-	≤14	15-18	≥19	-
Acide fusidique (10µg) FA	-	≤24	-	≥24	-

Tableau des les résultats et les valeurs des zones d'inhibition des ATB sur chaque boîte.

Boîte \ ATB	C	PT	F	PEF	VA	E
01	1.8 cm	X	X	2cm	X	Résistance
02	X	1 cm	Résistance		Résistance	X
03	2.3 cm	X	X	2.1 cm	X	Résistance
04	1.7 cm	X	X	1.9 cm	X	Résistance
05	X	1.8 cm	Résistance		Résistance	X
06	2.2 cm	X	X	1.9 cm	X	Résistance
07	1.8 cm	X	X	1.9 cm	X	Résistance
08	Résistance	X	X	Résistance	X	Résistance
09	X	Résistance	Résistance	X	Résistance	X
10	Résistance	X	X	Résistance	X	Résistance
11	1.8 cm	0.8 cm	Résistance	1.9 cm	Résistance	Résistance

#### Annexe 04: Matériel et réactifs utilisés

- **Matériel et appareillages**

- Bec bunsen.
- L'eau de javel.
- les écouvillons.
- Portoir pour les tubes à essai.
- Pipettes pasteur stériles.
- Bain marie.
- Boîtes de pétri.
- Marqueur.
- Des lames.
- Anse de platine.
- Pipette graduée.
- Micro pipette.
- Etuve électrique.
- Microscope optique.
- Pince.
- Bicher

-Papier aluminium.

-Papier transparent.

- **Milieux de culture et additifs**

- Eau physiologique stérile.

- Bouillon de cœur cerveau.

- Bouillon nutritif.

- Gélose au sang.

- Gélose de Chapman.

- Gélose nutritif.

- Gélose Mueller Hinton.

-Solution de Mc Ferland.

- Disques d'antibiotiques.

- L'eau oxygénée.

- Plasma humain.

- **Colorants de Gram**

- L'huile de cèdre.

- L'eau distillée.

- Violet de gentiane

- Lugol.

- Alcool.

- Fuchsine.

# Résumés

---

---

## Identification et caractérisation des *Staphylococcus* dans les milieux hospitaliers « khenchela ».

### Résumé

Dans le milieu hospitalier, l'utilisation des dispositifs médicaux a connue un essor important. Pour diverses raisons, ces dispositifs sont pendant des durées variables laissés en place, ce qui peut servir de support pour l'adhérence des micro-organismes.

Les infections bactériennes sont la cause majeure de la morbidité et de la mortalité en milieu hospitalier dont la majorité peut être due aux staphylocoques. Les Staphylocoques sont les bactéries les plus fréquemment isolées des infections nosocomiales liées aux dispositifs médicaux, en raison de leur capacité d'adhérer à la surface des biomatériaux.

L'étude a été réalisée sur 36 isolats de Staphylocoques isolés des dispositifs médicaux dans 05 services de l'hôpital Ahmed ben Bella de khenchela. Un total de 36 isolats appartenant au genre *Staphylococcus* ont été isolés, identifiés, testés à 06 antibiotiques. Les isolats étudiés ont présenté des pourcentages élevés de résistance à 50 à 100% au MLS, Nitrofirane et Glycopeptide et une sensibilité variable pour les antibiotiques testés.

La lutte contre les infections sur les dispositifs médicaux passe obligatoirement par le respect des conditions et les règles strictes d'hygiène. La maîtrise des techniques de soin est la seule garante de la qualité de sécurité des soins prodigués et l'accessibilité pour le confort, Des patients.

**Mots clés:** antibiotiques, dispositifs médicaux, infections nosocomiales, milieu hospitalier, Staphylocoques.

**Identification and characterization of *Staphylococcus* in hospitalizes of  
«khenchela».**

**Abstract**

In the hospital environment, the use of medical devices has experienced a surge. For various reasons, these devices are for varying periods of time left in place, which can serve as a support for the adhesion of microorganisms. Bacterial infections are the major cause of hospital morbidity and mortality, the majority of which may be due to staphylococci. Staphylococci are the most commonly isolated bacteria from nosocomial infections related to medical devices, due to their ability to adhere to the surface of biomaterials.

The study was performed on 36 isolates of Staphylococci isolated from medical devices in 05 departments of Ahmed ben Bella hospital in Khenchela. A total of 36 isolates belonging to the genus Staphylococcus were isolated, identified, tested with 06 antibiotics. The isolates studied showed high percentages of 50-100% resistance to MLS, Nitrofiran and Glycopeptide and variable sensitivity for the antibiotics tested.

The fight against infections on medical devices passes necessarily by the respect of the conditions and the strict rules of hygiene. The mastery of the techniques of care is the only guarantor of the quality of safety of the care lavished and the accessibility for the comfort, of the patients.

**Key words:** antibiotics, hospital environment, medical devices, nosocomial infections, *Staphylococci*.

## تحديد و توصيف المكورات العنقودية في الأوساط الاستشفائية بمستشفى خنشلة.

### ملخص

في بيئة المستشفى، كثر استخدام الأجهزة الطبية بشكل كبير. لأسباب مختلفة، هذه الأجهزة تترك لفترات متفاوتة من الوقت، والتي يمكن أن تكون بمثابة دعم لالتصاق الكائنات الحية الدقيقة.

الالتهابات البكتيرية هي السبب الرئيسي للمرض والوفيات في المستشفيات، وقد يرجع السبب في معظمها إلى المكورات العنقودية. المكورات العنقودية هي أكثر البكتيريا المعزولة شيوعاً للعدوى في المستشفيات المتعلقة بالأجهزة الطبية، نظراً لقدرتها على التمسك بسطح المواد الحيوية.

أجريت الدراسة على 36 عزلة من المكورات العنقودية المعزولة من الأجهزة الطبية في 05 أقسام من مستشفى أحمد بن بلة في خنشلة. تم عزل مجموعه 36 عزلة تنتمي إلى جنس *Staphylococcus* وتم التعرف عليها واختبارها باستخدام 6 مضادات حيوية. أظهرت العزلات التي تمت دراستها نسبة عالية من المقاومة بين 50-100% لكل من MLS و Nitrofiran و Glycopeptide والحساسية المتغيرة للمضادات الحيوية التي تم اختبارها.

مكافحة الالتهابات على الأسطح الطبية تمر بالضرورة من خلال احترام الشروط والقواعد الصارمة للنظافة. إن إتقان تقنيات الرعاية هو الضامن الوحيد لنوعية السلامة والرعاية المذهلة وإمكانية الوصول إلى الراحة للمرضى.

**الكلمات المفتاحية:** الأجهزة الطبية، المضادات الحيوية بيئة المستشفيات، المكورات العنقودية، عدوى المستشفيات،

سُبْحَانَكَ

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِكَ مَا عَلَّمْتَنَا

إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

(البقرة: من الآية 32)

(البقرة: من الآية 33)

لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا بِكَ مَا عَلَّمْتَنَا

مملو في الآيات

Présenté par : *Arab Souad*  
*Balouli Sara*

Date de soutenance: 14 / 06 / 2018

Mémoire présenté pour l'obtention de diplôme de master académique en microbiologie

*Identification et caractérisation des Staphylococcus dans les milieux hospitaliers*  
*« khenchela ».*

**Résumé**

Dans le milieu hospitalier, l'utilisation des dispositifs médicaux a connue un essor important. Pour diverses raisons, ces dispositifs sont pendant des durées variables laissés en place, ce qui peut servir de support pour l'adhérence des micro-organismes.

Les infections bactériennes sont la cause majeure de la morbidité et de la mortalité en milieu hospitalier dont la majorité peut être due aux staphylocoques. Les Staphylocoques sont les bactéries les plus fréquemment isolées des infections nosocomiales liées aux dispositifs médicaux, en raison de leur capacité d'adhérer à la surface des biomatériaux.

L'étude a été réalisée sur 36 isolats de Staphylocoques isolés des dispositifs médicaux dans 05 services de l'hôpital Ahmed ben Bella de khenchela. Un total de 36 isolats appartenant au genre *Staphylococcus* ont été isolés, identifiés, testés à 06 antibiotiques. Les isolats étudiés ont présenté des pourcentages élevés de résistance à 50 à 100% au MLS, Nitrofirane et Glycopeptide et une sensibilité variable pour les antibiotiques testés.

La lutte contre les infections sur les dispositifs médicaux passe obligatoirement par le respect des conditions et les règles stricte d'hygiène. La maîtrise des techniques de soin est la seule garante de la qualité de sécurité des soins prodigués et l'accessibilité pour le confort, Des patients.

**Mots clés:** antibiotiques, dispositifs médicaux, infections nosocomiales, milieu hospitalier, Staphylocoques.

**Devant le jury :**

<b>Président :</b>	<b>ABAIDIA A. G.</b>	<b>(MAA)</b>	Univ. Abbès Laghrour - Khenchela
<b>Examinatrice :</b>	<b>MESSAI A.</b>	<b>(MAA)</b>	Univ. Abbès Laghrour – Khenchela
<b>Encadreur :</b>	<b>BOUTARFA S.</b>	<b>(MAA)</b>	Univ. Abbès Laghrour - Khenchela