



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 SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : BIOLOGIE

OPTION : MICROBIOLOGIE

Thème

**Etude de l'antibiorésistance des isolats des Staphylocoques
isolés des dispositifs médicaux de l'hôpital Ahmed Ben Bella
de la wilaya de Khenchela**

Présenté par :

Hamzaoui Oumaima

Hassad Imen

Encadré par :

Boutarfa Soumia

Soutenu le : 05/06/2016

Jury de soutenance

Président : Merabti R. M C B Université Abbès Laghrouur
- Khenchela

Encadreur : Boutarfa S. M A A Université Abbès Laghrouur
- Khenchela

Examineur : Chorfi K. M A B Université Abbès Laghrouur
- Khenchela

Promotion : Mai 2016

Remerciement

Nous tentons tout d'abord à remercier le Bon Dieu tout puissant de nous avoir aidées à réaliser ce modeste travail.

Au terme de ce travail, il nous est agréable d'exprimer nous remerciment à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire.

Nos vifs remerciements vont à Melle Merabti R. Maître de conférence à la faculté de science de la nature et de la vie, Université Abbés Laghrour Khenchela, pour avoir accepté de présider ce jury de mémoire.

A notre maître Melle Chorfi K. Maître assistante à la faculté de science de la nature et de la vie, Université Abbés Laghrour Khenchela permettez-nous de vous exprimer nos sincères remerciements. C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner ce travail,

Nous remercions Melle Boutarfa S. Maître assistante à la faculté de science de la nature et de la vie, Université Abbés Laghrour Khenchela, pour son encadrement, ses précieux conseils, et les encouragements qui nous ont permis de réaliser ce travail.

Nos remerciements s'adressent également au médecin Toufik Benbouhía Pour son aide précieuse durant notre période de stage.

Ce travail de thèse a été aussi réalisé au laboratoire central de l'hôpital Ahmed ben belle de Khenchela, merci aux employés du laboratoire central pour leur aide et surtout pour leur gentillesse.

Oumaïma et Imen



Dédicace

Louange et Gloire à DIEU le Tout Puissant qui m'a permis de mener à bien ce travail.

*A mon père **Mohamed**:*

Vous m'avez l'éducation et enseigné le sens de l'honneur, de la dignité, de la probité morale et le respect de soi. Votre affection, votre soutien moral et matériel ne m'ont jamais fait défaut. Vos conseils m'ont beaucoup aidé et je crois avoir atteint en partie vos objectifs.

Merci infiniment pour tout ce que vous avez fait pour moi jusqu'à cet instant.

Qu'Allah puisse vous accorder encore santé, bonheur, et longévité.

*A ma mère **Fatíha** : Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi ; je te dois ma réussite, mon éducation, ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale.*

*A mes frères et sœurs : **Chouki, Djamel, Badis, Oussama, Sawsan et Kaouthar.***

Merci pour tous les efforts auxquels vous avez toujours consentis pour me voir réussir. Merci pour vos encouragements et vos conseils.

Je ne saurais exprimer tout l'amour que j'éprouve pour vous, Je suis fière de faire partie d'une famille aussi unie et solidaire.

*Je remercie particulièrement mes amis : **Imen, Amira, Asma, Khawla, Amína** et pour son humour et sa vivacité d'esprit, et pour encouragé mes pour terminée mon étude universitaire.*

Oumaíma

Dédicaces

Louange et Gloire à Dieu le Tout Puissant qui m'a permis de mener à bien ce travail.

A mon père Laid:

Vous m'avez l'éducation et enseigné le sens de l'honneur, de la dignité, de la probité morale et le respect de soi.

Votre affection, votre soutien moral et matériel ne m'ont jamais fait défaut. Vos conseils m'ont beaucoup aidé et je crois avoir atteint en partie vos objectifs. Merci infiniment pour tout ce que vous avez fait pour moi jusqu'à cet instant.

Qu'Allah puisse vous accorder encore santé, bonheur, et longévité.

A ma mère Rafika : Les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi ; je te dois ma réussite, mon éducation, ma fierté. Tu m'as aimé très profondément et tu as été toujours une mère idéale.

A mes frères : Aymen et Khalil

A mes sœurs : Seloua, Karima et Aya

Je remercie particulièrement mes amis : Oumaima, Samiha, Amira, pour son humour et sa vivacité d'esprit, et pour encouragé mes pour terminée mon étude universitaire.

Amen

Table des matières

| | |
|-------------------------------|-----|
| Liste des figures | I |
| Liste des photographies | II |
| Liste des tableaux | III |
| Liste des abréviations | IV |
| Liste des annexes | VI |

Etude Bibliographique

| | |
|--------------------|----|
| Introduction | 01 |
|--------------------|----|

Chapitre I : Généralités sur le genre *Staphylococcus*

| | |
|---|----|
| I. Généralités sur le genre <i>Staphylococcus</i> | 03 |
| I.1. Historique et nomenclature | 04 |
| I.2. Taxonomie et classification | 04 |
| I.3. Caractères bactériologiques | 06 |
| I.3.1. Caractères phénotypiques | 06 |
| I.3.2. Caractères culturels | 06 |
| I.4. Habitat | 06 |
| I.5. Les maladies causées par les Staphylocoques | 07 |
| II. Facteurs de virulence | 10 |
| II.1. Les toxines formant des pores | 10 |
| II.2. Les toxines à activité protéolytique | 11 |
| II.3. Les superantigènes | 11 |
| II.4. Facteurs Structuraux | 11 |
| II.4.1. Le peptidoglycane | 11 |
| II.4.2. L'acide téichoïque | 11 |
| II.4.3. La capsule | 12 |
| II.5. Les adhésines | 12 |
| II.6. Exoprotéines enzymatiques et toxiques | 12 |
| II.6.1. Coagulase libre | 13 |
| II.6.2. Lipases | 13 |
| II.6.3. Hyaluronidase | 13 |
| II.6.4. Staphylokinase | 13 |

Chapitre II : Les infections nosocomiales à Staphylocoques

| | |
|--------------------------------------|----|
| I. Les infections nosocomiales | 15 |
| I.1. Définition | 15 |
| I.2. Origine de l'infection | 15 |

| | |
|---|-----------|
| I.3. Fréquence et incidence | 15 |
| I.4. Les différents types d'infections nosocomiales | 15 |
| I.4.1. Infections urinaires | 16 |
| I.4.2. Infections respiratoires | 16 |
| I.4.3. Infections du site opératoire | 16 |
| I.4.4. Bactériémies nosocomiales primaire et secondaire | 16 |
| I.4.5. Les autres localisations infectieuses | 17 |
| I.5. Les services à risques | 17 |
| II. Staphylocoques et risque infectieux sur les dispositifs médicaux | 18 |
| II.1. Définition d'un dispositif médical | 19 |
| II.2. Risque infectieux | 19 |
| II.3. Types de dispositifs médicaux | 19 |
| II.4. Physiopathologie | 20 |
| II.5. Résistance des biofilms aux antibiotiques | 22 |
| II.6. Biofilm et système immunitaire | 24 |
| Matériel et méthodes | |
| I. Lieu et cadre d'étude | 26 |
| II. Matériels | 26 |
| II.2. Milieux de culture solides | 26 |
| II.3. Milieux de culture liquides | 26 |
| II.4. Test biochimique | 26 |
| II.5. Antibiotiques en disques | 27 |
| III. Méthode | 28 |
| III.1. Origine de prélèvement | 28 |
| III.2. Critères d'inclusion | 28 |
| III.3. Prélèvement distal protégé | 28 |
| III.4. Isolement et purification | 30 |
| III.5. Identification | 30 |
| III.5.1. Examens macroscopiques | 30 |
| III.5.2. Examens microscopiques | 31 |
| III.6. Identification biochimique | 32 |
| III.6.1. Catalase | 32 |
| III.6.2. Recherche de Staphylocoagulase | 33 |
| III.6.3. Conservation des souches | 33 |

| | |
|--|----|
| III.6.4. Antibiogramme des souches isolées | 33 |
| III.6.4.1. Le contrôle de qualité | 33 |
| III.6.4.2. Technique de l'antibiogramme | 34 |
| Résultats et discussions | |
| I. Résultats descriptifs des dispositifs médicaux | 36 |
| I.1. Prélèvement..... | 36 |
| I.2. Classification selon la nature des biomatériaux | 37 |
| I.3. Classification des dispositifs médicaux selon le niveau de risque et leur fonction | 38 |
| I.4. Les facteurs de risques liés aux dispositifs médicaux utilisés | 38 |
| I.4.1. L'âge des patients | 39 |
| I.4.2. La durée de l'implantation des dispositifs médicaux | 40 |
| I.5. Sexe des patients | 40 |
| II. Résultats bactériologiques | 41 |
| II.1. Isolement et identification des <i>Staphylococcus spp</i> | 41 |
| II.1.1. Aspect des colonies | 42 |
| II.1.2. Coloration de Gram | 42 |
| II.1.3. Test catalase | 43 |
| II.1.4. Test de coagulase | 44 |
| II.1.4.1. Test de coagulase libre | 44 |
| II.1.4.2. Test de coagulase liée | 44 |
| II.2. Répartition des isolats de <i>Staphylococcus</i> | 44 |
| II.2.1. Répartition des isolats selon leur classification | 44 |
| II.2.2. Répartition des isolats de <i>Staphylococcus</i> selon la nature du dispositif médical étudié | 45 |
| II.2.2.1. Répartition des isolats de <i>Staphylococcus</i> sur les sondes vésicales | 45 |
| II.2.2.2. Répartition des isolats de <i>Staphylococcus</i> sur les cathéters veineux | 46 |
| II.2.2.3. Répartition des isolats de <i>Staphylococcus</i> sur les sondes naso-gastriques | 46 |
| III. Effet des disques d'antibiotique sur les Staphylocoques | 47 |
| Conclusion | 57 |
| Références bibliographiques | 59 |
| Annexe | |
| Résumé | |
| Abstract | |
| ملخص | |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 01: Image de <i>Staphylococcus aureus</i> à la microscopie électronique à balayage | 03 |
| Figure 02: Cellules de <i>S.aureus</i> dont l'une produit une couche visqueuse | 04 |
| Figure 03: la microflore normale d'un être humain | 07 |
| Figure 04: les sites majeurs des infections staphylococciques humaines sont indiqués par les numéros ci- dessus | 09 |
| Figure 05: Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i> | 10 |
| Figure 06: Facteurs de virulence de <i>S. aureus</i> | 12 |
| Figure 07: des infections nosocomiales validées en fonction du site | 17 |
| Figure 08: Principales infections associées aux biofilms | 18 |
| Figure 09:1. Biofilm produit par une souche de <i>S.epidermidis</i> dans un système en microplaque | 22 |
| 2. Biofilm produit par une souche de <i>Staphylococcus epidermidis</i> sur un cathéter veineux.. | 22 |
| Figure10: Phases de développement de biofilm à staphylocoques | 23 |
| Figure 11: Présentation schématique de la réponse immunitaire lors d'une infection liée au biofilm | 25 |
| Figure 12 : Répartition des prélèvements selon leur origine | 37 |
| Figure 13 : Répartition des prélèvements des médicaux en fonction de l'âge des patients.... | 39 |
| Figure 14: Nombre de patients hospitalisés par les Staphylocoques selon le sexe | 40 |
| Figure 15: La répartition des cultures positives et négatives | 40 |
| Figure 16: Répartition des isolats de <i>Staphylococcus</i> selon leur classification | 45 |
| Figure 17: Répartition des isolats de <i>Staphylococcus</i> isolés à partir des sondes vésicale... | 45 |
| Figure 18: Répartition des isolats de <i>Staphylococcus</i> isolés à partir des CV | 46 |
| Figure 19: Répartition des isolats de <i>Staphylococcus</i> isolés à partir des SN | 46 |
| Figure 20: Pourcentage de résistance de <i>S, aureus</i> et SCN vis-à vis les β -lactamines | 48 |
| Figure 21: Pourcentage de résistance de <i>S.aureus</i> et SCN vis-à vis les Aminosides | 49 |
| Figure 22: Pourcentage de résistance de <i>S, aureus</i> et SCN les MLS..... | 50 |
| Figure 23: Pourcentage de résistance de <i>S, aureus</i> et SCN vis-à vis les Glycopeptides | 52 |
| Figure 24: Pourcentage de résistance de <i>S, aureus</i> et SCN vis-à vis la Tétracycline..... | 53 |
| Figure 25: Pourcentage de résistance de <i>S. aureus</i> et SCN vis-à vis l'Ofloxacin | 54 |
| Figure 26: Pourcentage de résistance de <i>S, aureus</i> et SCN vis-à vis des antibiotiques testés..... | 55 |
| Figure 27: Pourcentage de résistance de <i>S, aureus</i> et SCN vis-à vis les 19 ABT testés..... | 56 |



Liste des tableaux

| | |
|---|-----------|
| Tableau I : Les espèces constituant le genre <i>Staphylococcus</i> | 05 |
| Tableau II : Différents caractères bactériologiques de <i>Staphylococcus</i> | 06 |
| Tableau III: Les maladies causées par les Staphylocoques | 08 |
| Tableau IV: Facteurs de virulence de <i>Staphylococcus aureus</i> | 14 |
| Tableau V : Classe des dispositifs | 21 |
| Tableau VI : L'antibiogramme pour <i>Staphylococcus sp</i> | 28 |
| Tableau VII : Répartition des prélèvements selon leur nature | 36 |
| Tableau VIII : Répartition des prélèvements par services | 36 |
| Tableau IX : Nature des matériaux qui constituent les dispositifs médicaux implantables.. | 37 |
| Tableau X : le niveau de risque et la fonction des dispositifs médicaux utilisés..... | 38 |
| Tableau XI : La durée d'implantation des dispositifs médicaux..... | 39 |
| Tableau XII : Résultats de l'identification par les techniques microbiologiques standards. | 44 |



Liste des abréviations

% : Pourcentage
µl : Microlitre
µm : Micromètre
ADN : acide désoxyribonucleique
AK: Amikacine
ATB : Antibiotique
BCC : Bouillon cœur cerveau
BHIB : Brain heart broth
BMR : bactéries multirésistantes aux antibiotiques
BN : Bouillon nutritif
C : Chloramphénicol
CD : Clindamycine
CIP : Ciprofloxacine
cm : Centimètre
CMH : complexe majeur d'histocompatibilité
CMI : Concentration minimale inhibitrice.
CRF : Coagulase Reacting Factor
CV : cathéters veineux
DM : dispositif médical
DMx : dispositifs médicaux
DO : densité optique
E : Erythromycine
Eap : protéine d'adhérence Extracellulaire
ECM : Composants de Matrice Extracellulaire
FA: Acide Fusidique
Fox : Céfoxitine
GN : Gentamicine
GSC : gélose au sang cuit
H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène
IN : infection nosocomiale
ISO : infection du site opératoire
K : Kanamycine
LVX : Lévofloxacine

McF: Mac Farland
MLS : Macrolides -Lincosamides- Streptogamines
MSCRAMMs : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules
NCCLS : National Committee for Clinical Laboratory Standard
OFX : Ofloxacin
OMS : Organisation mondiale de santé
OX : Oxacilline
P : Pénicilline
PFTs : pore-forming toxins
PLP : protéines liant les pénicillines
PT : Pristinamycine
QCI : contrôle de qualité interne
RA : Rifampicine
S : Staphylocoque
SAK : Staphylokinase
SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline
SCN : *Staphylococcus* Coagulase Négative
SCP : *Staphylococcus* Coagulase Positive
SERAMs : Secretable Expanded Repertoire Adhesive molecules
SERAMs : Secretable Expanded Repertoire Adhesive molecules
SXT : Cotrimoxazole
TCR: T cell receptor
TE : Tétracycline
TEC : Teicoplanine
VA : Vancomycine
VHB : virus de l'hépatite B
VHC: virus de l'hépatite C
VIH : virus de l'immunodéficience humaine



Liste des annexes

Annexe 01 : Composition des milieux de culture

Annexe 02 : Réactifs et solutions

Annexe 03 : Les tableaux

Annexe 04 : Matériels et réactifs utilisés



Introduction

Introduction

L'hôpital qui est normalement considéré comme un lieu de savoir, d'enseignement médical et d'hygiène, peut devenir dans certaines circonstances, une source d'infection, ceci soit par l'utilisation de méthodes invasives, soit dans le cas de plusieurs hôpitaux, par défaut d'hygiène, d'organisation, de conscience professionnelle ou par manque de moyens.

Une infection est dite nosocomiale si elle apparaît au cours ou à la suite d'une hospitalisation dans un délai d'au moins 48 heures et si elle était absente à l'admission à l'hôpital (**Comité technique des infections nosocomiales, 1999**).

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**). Parmi les souches bactériennes circulant en milieu hospitalier, les staphylocoques constituent les agents majeurs des infections nosocomiales et communautaires (**Karou et al., 2010**). Les staphylocoques sont reconnus comme les causes les plus fréquentes d'infections associées à un biofilm. Cet état d'exception parmi les agents pathogènes de biofilm associée est due au fait que les staphylocoques sont fréquents, les bactéries commensales de la peau humaine et les surfaces muqueuses (et de beaucoup d'autres mammifères). Ainsi, les staphylocoques sont parmi les germes les plus susceptibles d'infecter un appareil médical qui pénètre dans ces surfaces, telles que lors de l'insertion lors de la chirurgie. (**Tortora et al., 2003**).

Le système de surveillance des infections nosocomiales reconnaît *S. aureus* et CoNS (staphylocoques à coagulase négative, à savoir *S. epidermidis* et la plupart des autres staphylocoques que *S. aureus*) que les agents pathogènes les plus fréquemment isolés nosocomiaux de patients en unité de soins intensifs (**Tortora et al., 2003**).

De nos jours, l'émergence et la dissémination de la résistance bactérienne à l'antibiothérapie posent un énorme problème de santé publique. La conséquence directe de ce phénomène est l'augmentation de la morbidité et de la mortalité (**Karou et al., 2010**).

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

Une étude qualitative et quantitative des souches staphylocoques isolée des différents dispositifs après ablation a été réalisée à partir de différents services au niveau de l'hôpital Ahmed ben Bella de kenchela dans une période allant de 21 mars au 4 mai 2016.

Les objectifs spécifiques de ce travail 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 dispositifs médicaux.
- 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.

Etude
bibliographique

Chapitre 01

Généralités sur le
genre Staphylococcus

I. Généralités sur le genre *Staphylococcus*

Les staphylocoques sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal. L'homme est le principal réservoir naturel de *Staphylococcus*, il présente un portage sain, principalement au niveau des cavités nasales mais aussi de la peau, de la gorge et de l'intestin (**Ferron, 1988**). Ce sont en effet des bactéries qui peuvent être aussi provoqué des infections d'une extrême gravité (**Fleurette, 1989**). 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. Les souches coagulase positive identifiées comme *Staphylococcus aureus* produisent souvent un pigment caroténoïde jaune, ce qui leur a valu l'appellation commune de staphylocoques dorés, les souches non productrices de coagulase, telles que *Staphylococcus epidermidis*, 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 (**Prescott et al., 2007**).

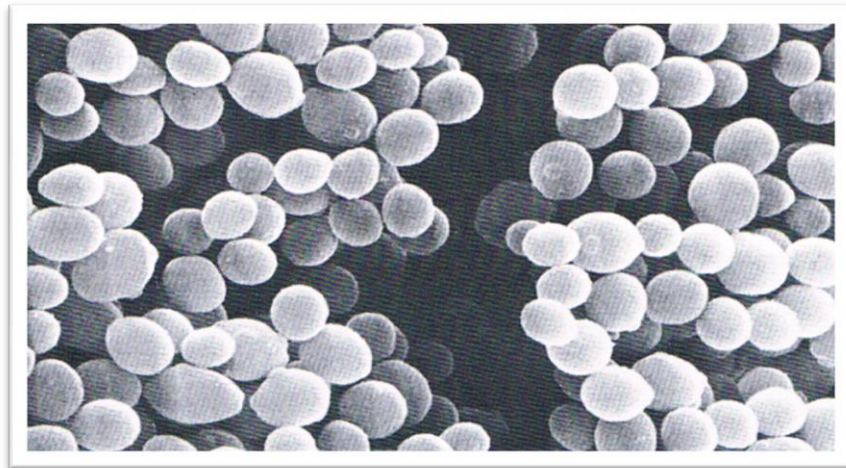


Figure 01 : Image de *Staphylococcus aureus* au microscopie électronique à balayage (x 32.000) (**Prescott et al., 2007**).

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**).

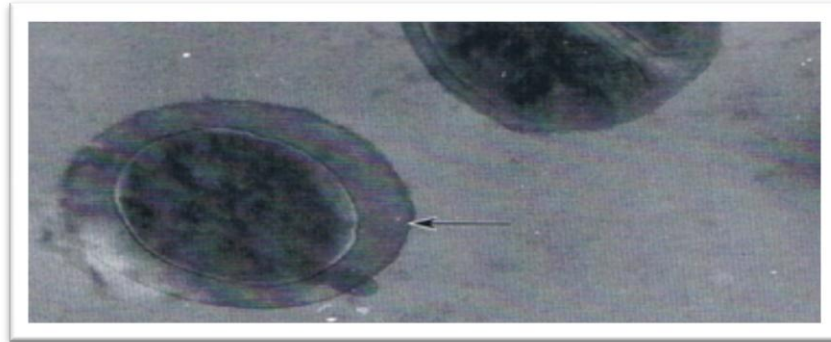


Figure 02 : Cellules de *S.aureus* dont l'une produit une couche visqueuse (flèche, microscopie électronique à balayage, x 10.000) (Prescott *et al.*, 2007).

I.1. Historique et nomenclature

Connus depuis l'aube de la bactériologie, les staphylocoques avaient fait l'objet des deux premières communications par Pasteur à l'académie des sciences en 1876 et 1880, où il révéla l'existence de « Vibriion phylogénique » qu'il avait isolé à la fois dans le pus de l'anthrax et l'ostéomyélite (Dupont, 2000). Les staphylocoques ont été mis en évidence pour la première fois en 1878 dans le pus d'abcès par Koch en Allemagne. La dénomination de *Staphylococcus* a été introduite en 1883 par le chirurgien anglais Ogston et provient de l'association des termes grecs *staphylê*, grappe de raisin et *kokkos*, grain (Baird-Parker, 1971 ; Pulverer *et al.*, 1987), en 1884 Rosenbach était capable d'isoler ces bactéries et de produire une culture pure (Dupont, 2000). En 1885, Zopf a placé les staphylocoques et les microcoques dans le genre *Micrococcus*, puis, en 1886, le genre *staphylococcus* a été séparé du genre *Micrococcus* par Flugge. Celui-ci différencie les deux genres principalement sur la base de leur action sur la gélatine et la relation à leurs hôtes. Les staphylocoques liquéfiaient la gélatine et étaient pathogènes, tandis que les microcoques étaient variables dans leur action sur la gélatine et étaient saprophytes (Gôtz *et al.*, 2006).

I.2. Taxonomie et classification (Delarras, 2007)

- **Classification de Bergey (1994)**

Selon la deuxième édition de Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology, la classification phylogénétique du genre *Staphylococcus* est :

- Phylum XIII: *Firmicutes*
- Domaine : *Bacteria*
- Classe: *Bacilli*
- Ordre: *Bacillales*
- Famille: *Staphylococcaceae*
- Genre: *Staphylococcus* avec 38 espèces et des sous-espèces

Dix sept de ces espèces sont retrouvées chez l'Homme (Tableau 1). D'autres sont présentes chez les animaux ou dans les aliments (Aouati, 2009). Parmi celles retrouvées chez l'Homme, trois espèces occupent une place privilégiée essentiellement dans la pathologie humaine: *S. aureus*, *S.epidermidis* et *S. saprophyticus*. Les autres sont rarement impliquées (Nauciel, 2000). *S.epidermidis*, que l'on retrouve sur la peau de nombreuses personnes et qui provoque rarement des maladies. *S. aureus* est moins fréquemment retrouvé mais il est généralement pathogène. Une troisième espèce, *S. saprophyticus*, est unique en ce sens qu'elle n'est responsable que d'infections urinaires (Figarella, 2004).

Tableau I : Les espèces constituant le genre *Staphylococcus* (Garrity et al., 2002).

| Le genre | Espèces retrouvées chez l'homme |
|-----------------------|---------------------------------|
| <i>Staphylococcus</i> | <i>S. aureus</i> |
| | <i>S. auricularis</i> |
| | <i>S. capitis</i> |
| | <i>S. caprae</i> |
| | <i>S. cohnii</i> |
| | <i>S. epidermidis</i> |
| | <i>S. haemolyticus</i> |
| | <i>S. hominis</i> |
| | <i>S. intermedius</i> |
| | <i>S. lugdunensis</i> |
| | <i>S. pasteurii</i> |
| | <i>S. saccharolyticus</i> |
| | <i>S. saprophyticus</i> |
| | <i>S. schleiferi</i> |
| | <i>S. simulans</i> |
| | <i>S. xylosus</i> |
| <i>S. warneri</i> | |

I.3. Caractères bactériologiques

I.3.1. Caractères phénotypiques

Les membres du genre de *staphylococcus* sont des coques à Gram positif de 0.5 à 1.5 μm de diamètre, catalase positive, oxydase négative, non mobiles, asporulés, habituellement non capsulés et halo-tolérants qui se retrouvent en amas sous la forme de grappes de raisins et dans de plus rares cas isolé en paires (diplocoques), en tétrades ou en chainettes (3 à 4 cellules), qui sont des bactéries anaérobies facultatives, à l'exception de *S.saccharolyticus* et *S.aureus subsp.anaerobius*, qui poussent initialement sous anaérobiose mais peuvent devenir aérotolestants en sous-culture (Götz, 2006).

I.3.2. Caractères cultureux

Les staphylocoques poussent aisément sur les milieux de cultures usuels, donnant un trouble uniforme en milieux liquides et, sur gélose, des colonies rondes, blanches ou dorées, lisses et opaques, atteignant 1 à 3 mm de diamètre (Bannerman et Peacock, 2007).

Ils se classent en fonction de leur production ou de leur absence de production de la coagulase (Bascomb et Manafi, 1998).

Tableau II : Différents caractères bactériologiques de *Staphylococcus* (Prescott *et al.*, 2007).

| | |
|---|---|
| Morphologie | Regroupé en paire, tétrade ou amas réguliers, immobile, non sporulé |
| Dimension (μm) | 0.5 – 1.5 |
| Type respiratoire | Aéro anaérobie facultatif |
| Type trophique | chimioorganotrophe |
| Métabolisme | Fermentaire et /ou respiratoire |
| Autres caractères | Catalase positive – oxydase négative Halophile – mésophile (37°C) psychrophile (6-12°C) Neutrophile $\text{pH}_{\text{opt}} = 07$ |

I.4. Habitat

Les staphylocoques sont très répandus dans la nature et occupent une variété de niches écologiques. Parmi les membres du genre *Staphylococcus*, certaines espèces démontrent des préférences d'habitat et de niches chez leurs hôtes particuliers. Les staphylocoques sont également isolés à partir d'un large éventail de produits alimentaires comme la viande, le

fromage et le lait, et à partir de sources environnementales telles que le sol, le sable, l'air et l'eau. L'habitat principal des staphylocoques est la peau et les muqueuses de l'homme et des animaux à sang chaud (**Bannerman et Peacock, 2007**).

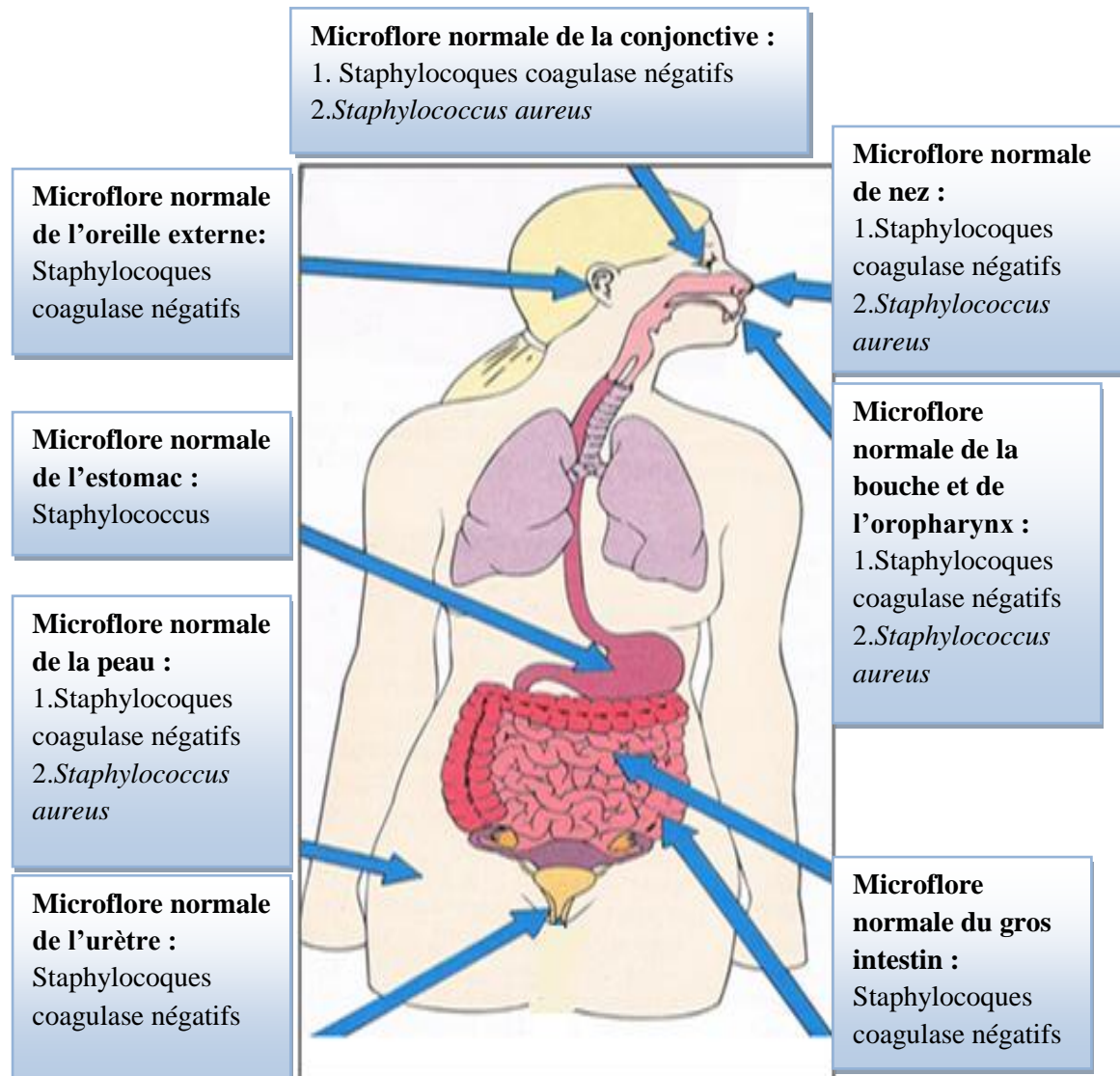


Figure 03 : la microflore normale d'un être humain (**Prescott et al., 2007**).

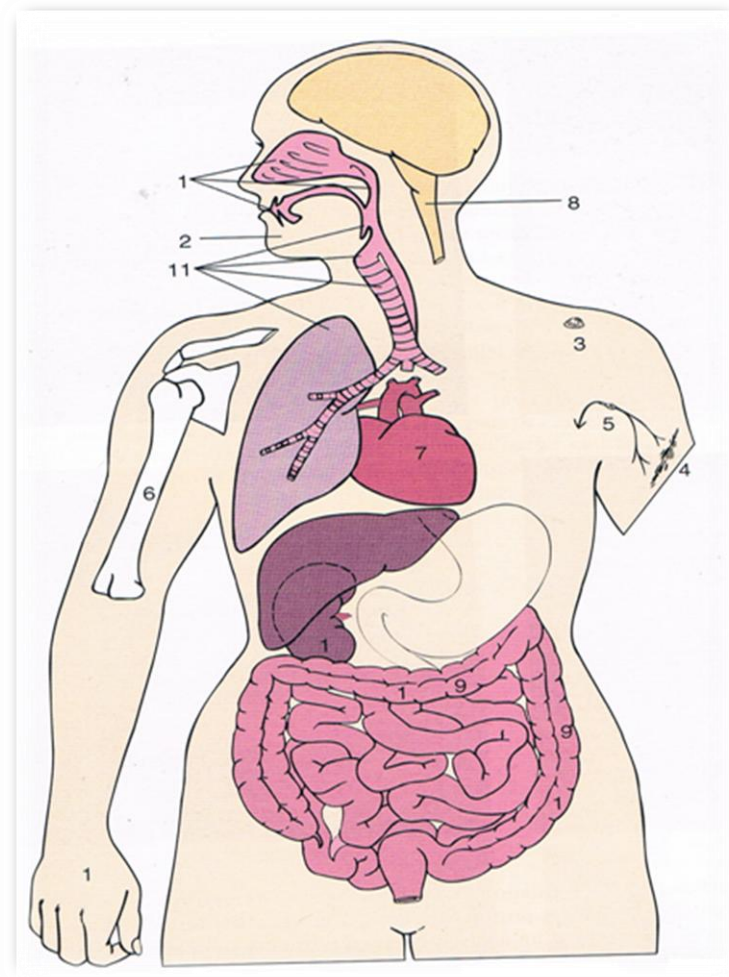
I.5. Les maladies causées par les Staphylocoques:

Les staphylocoques peuvent produire une maladie dans presque tous les organes ou tissus du corps. Cependant, il faut souligner que les maladies staphylococciques, dans la plupart des cas, s'observent chez des individus dont les mécanismes de défense sont diminués comme les personnes hospitalisées. (**Prescott et al., 2007**).

Les staphylocoques entraînent une maladie par leur capacité de se multiplier et de se répandre largement dans les tissus ainsi que par leur production de nombreuses substances extracellulaires. (**Prescott et al., 2007**).

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

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



- | | |
|---|--|
| <p>1. Tissu ou <i>S.aureus</i> est souvent présent mais ne cause normalement pas de maladie</p> <p>2. Boutons et impétigo</p> <p>3. Furoncles et anthrax à différents endroits de la peau</p> <p>4. Infection de plaies et abcès</p> <p>5. Migration vers les ganglions lymphatiques et le sang (septicémie) résultant en une infection généralisée</p> | <p>6. Ostéomyélite</p> <p>7. Endocardite</p> <p>8. Méningite</p> <p>9. Entérite et empoisonnement par entérotoxines</p> <p>10. Néphrite</p> <p>11. Infections respiratoires</p> <p style="padding-left: 20px;">Pharyngite</p> <p style="padding-left: 20px;">Laryngite</p> <p style="padding-left: 20px;">Bronchite</p> <p style="padding-left: 20px;">Pneumonie</p> |
|---|--|

Figure 04 : les sites majeurs des infections staphylococciques humaines sont indiqués par les numéros ci-dessus (Prescott *et al.*, 2007).

II. Facteurs de virulence

Staphylococcus aureus, parmi les autres pathogènes de l'homme, 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 (Gordon et Lowy, 2008).

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 (ou pore-forming toxins PFTs) :

Ces toxines cytolytiques 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 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).

Deux grands groupes de PFTs se sont distingués en fonction de leur structure tridimensionnelle :

- Les alpha-PFTs : dont la structure secondaire est formée d'une simple hélice alpha hydrophobe (Vincenot *et al.*, 2008).
- Les bêta-PFTs ou leucotoxines : où le pore est constitué majoritairement de brins bêta s'assemblant en tonneaux bêta, Les leucocidines par opposition aux hémolysines ont pour cible les polynucléaires, les monocytes et les macrophages (Vincenot *et al.*, 2008).

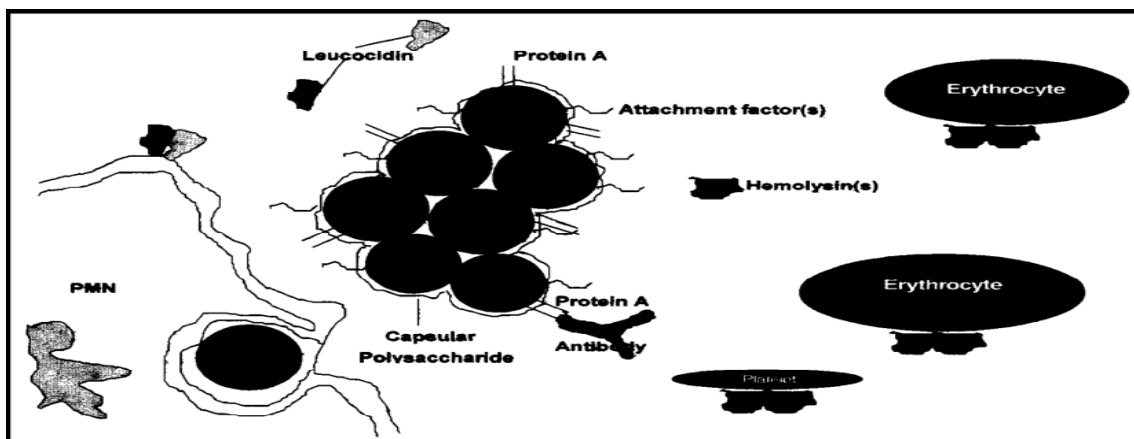


Figure 05 : Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (Dunman et Projan, 2001).

II.2. Les toxines à activité protéolytique :

Les épidermolysines : Elles font parties des protéases à sérine active, Ces protéases à sérine hydrolysent les protéines dont la cible majeure est la desmogléine-1, une protéine desmosomale du stratum granulosum de l'épiderme (**Vincenot et al., 2008**).

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 (**Vincenot et al., 2008**).

Autres protéases :

- les Staphopaïnes A et B, sont des protéases à cystéines,
- Les métalloprotéases comme l'auréolysine qui pourrait avoir plusieurs rôles en complément de la coagulase, elle détruit les inhibiteurs de protéases participant ainsi à la formation de thrombus (**Vincenot et al., 2008**).

II.3. Les superantigènes :

En situation normale les lymphocytes T4 (LT4) reconnaissent les antigènes présentés à la surface d'une membrane cellulaire présentatrice d'antigène via le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe II, puis forment un complexe tri-moléculaire activant la cascade des LT4 (complexe TCR des LT4+antigène+CMH II). Un super antigène est une protéine bactérienne capable d'activer le CMH du macrophage et la chaîne V-béta du récepteur des LT4 (TCR) (**Schlievert et Case, 2007**).

Le *S. aureus* est capable de produire plus d'une trentaine de superantigènes, comprenant entre autres des entérotoxines. Cette interaction entre le super antigène et le domaine V-béta du LT4 ne permet plus une réponse spécifique, et est à l'origine de l'expansion de mille fois plus de LT4, responsable de la stimulation massive et indistincte du système immunitaire. Des cytokines (TNF α , IL-1) sont ainsi produites en trop grande quantité, induisant une réponse inflammatoire incontrôlée pouvant aboutir à un état de choc vasoplégique (**Schlievert et Case, 2007**).

II.4. Facteurs Structuraux

II.4.1. Le peptidoglycane : joue un rôle dans l'activation du complément, stimule la sécrétion des cytokines par les macrophages ainsi que l'agrégation des plaquettes (**Lowy, 1998**).

II.4.2. L'acide téichoïque : il est lié au peptidoglycane ou bien à la membrane cytoplasmique il assure trois rôle 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 : les polysaccharides capsulaires de *S. aureus* ont permis sa classification en 11 sérotypes. Les sérotypes 5 et 8 sont les principaux rencontrés en pathologie humaine (**Lowy, 1998 ; Durand *et al.*, 2006**). Ils inhibent la phagocytose (**Gordon et Lowy, 2008a**). Et peuvent induire la formation d'abcès (**O'Riordan C, Lee, 2004**).



Figure 06 : Facteurs de virulence de *S. aureus* (**Gordon *et al.*, 2008b**).

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**).

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, 2008a**).

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

II.6.1. Coagulase libre

La Staphylocoagulase, ou coagulase libre, c'est une protéine extracellulaire thermostable caractéristique de *S. aureus*, à l'exception de certaines souches staphylococciques d'origine animale telles que *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, et *Staphylococcus delphini* qui possèdent également la coagulase (**Langlet, 1999**).

En l'absence de Ca²⁺, elle provoque la coagulation du plasma humain ou du lapin (prélevé sur citrate, oxalate, héparine) (**Avril et al., 1992**).

La coagulase forme avec la prothrombine (coagulase-reacting factor : CRF) du plasma, un complexe appelé *Staphylothrombine* qui converti le fibrinogène en fibrine (**Peacock, 2006**).

C'est un facteur primordial dans le pouvoir pathogène en coagulant le plasma autour des coques et les protégeant de la phagocytose (les leucocytes ayant une mauvaise pénétration à l'intérieur des caillots de fibrine) (**Tally, 1999**). Elle est à l'origine des thrombophlébites suppurées (**Avril et al., 1992**).

II.6.2. Lipases

Une des façons dans laquelle les cellules hôtes répondent à une infection est la production 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**).

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 glycoprotéine de 136 acides aminés sécrétée par certaines souches de *S. aureus* (**Alessi, 2000**).

La SAK facilite l'activation des plasminogène, les précurseurs de la protéase fibrinolytique plasmine (**Jin et al., 2004**).

Elle forme un complexe avec le plasminogène, qui converti ainsi en plasmine active, d'autres molécules de plasminogène ; dans le plasma, cette enzyme peut dissoudre des amas de fibrine sans pour autant y associer une dégradation du fibrinogène (**Deverrière, 2007**).

Cette substance thermolabile est antigénique et joue un rôle dans la formation d'embolies septiques (**Avril et al., 1992**).

Tableau IV: Facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus* (Cheung, 2001).

| Facteurs | Gènes | Fonctions |
|--|----------------------------|--|
| Clumping factor A | <i>clfA</i> | Adhésion au fibrinogène |
| Clumping factor B | <i>clfB</i> | Adhésion au fibrinogène |
| Coagulase | <i>coa</i> | Liaison au fibrinogène |
| Protéine Fib A | <i>fibA</i> | Liaison au fibrinogène |
| Fibronéctine liée à la protéine A | <i>fnbA</i> | Attachement à la fibronéctine |
| Fibronéctine liée à la protéine B | <i>fnbB</i> | Attachement à la fibronéctine |
| Collagène lié à la protéine | <i>cna</i> | Adhésion au collagène |
| Elastine liée à la protéine | <i>ebps</i> | Liaison à l'élastine |
| Protéine analogue MHC | <i>map</i> ou <i>eap</i> | Liaison à la protéine de la extracellulaire |
| Andésine intracellulaire polysaccharidique | <i>pia</i> | Adhésion intracellulaire et formation de biofilm |
| Protéine A | <i>psa</i> | Invasion possible de défenses l'hôte |
| Polysaccharides capsulaires (type 1, 5 et 8) | <i>cap</i> | Molécule anti phagocytose |
| Entérotoxines A-E, H | <i>Sea-e, h</i> | Invasion des défenses de l'hôte avec des superantigènes, responsables des diarrhées associés à la nourriture |
| Syndrome du choc toxique toxine-1 | <i>tst</i> | Invasion des défenses de l'hôte avec des superantigènes, responsables de TSS |
| Toxine exfoliative A, B | <i>eta, etb</i> | Invasion des défenses de l'hôte, agents responsables du syndrome de la peau ébouillantée |
| Lipase | <i>geh</i> | Invasion des défenses de l'hôte |
| Protease V8 | <i>sas P</i> ou <i>ssp</i> | Invasion des tissus et modification des protéines de surface |
| Leucocidine de Panton valontine | <i>lukF, lukS</i> | Invasion des défenses de l'hôte, lyse de phagocyte de l'hôte |
| Staphylokinase | <i>sak</i> | Invasion des défenses de l'hôte |
| Hemolysine-a | <i>hla</i> | Invasion des tissus, à partir des pores dans les membranes des cellules de l'hôte |
| β -hemolysine | <i>hlb</i> | Tissue invasion, sphingomyelinase |
| δ -hemolysine | <i>hld</i> | Potentialisation de la β -hemolysine |
| γ -hemolysine | <i>Hla A, B, C</i> | Potentialisation de la lyse des cellules de l'hôte |
| Phospholipase C | <i>plc</i> | Lyse cellulaire |
| Elastase | <i>sepA</i> | Invasion des tissus |
| Hyaluronidase | <i>hysA</i> | Invasion des tissus |

Chapitre 02

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**).

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 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

L'infection peut être d'origine exogène (c'est à- dire l'agent pathogène est un agent saprophyte absent du micro biote humain) ou plus fréquemment d'origine endogène (c'est-à-dire l'agent pathogène est commensal). Sa genèse dépend de plusieurs facteurs comme la nécessité d'une colonisation préalable (quand l'infection est d'origine exogène), la présence de facteurs liés à l'agent pathogène (c'est-à-dire présence de facteurs de virulence ou d'adhérence) et des circonstances liées à l'hôte lui-même telles qu'une immunodépression transitoire ou constitutionnelle (**Legeay et al., 2014**).

I.3. 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**).

I.4. 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 07 (**Hamza et al., 2010**).

I.4.1. Infections urinaires

Les IN urinaires sont prédominantes, cela s'explique par l'utilisation courante des bandelettes urinaires (une sonde à demeure 63.2 % et les IN urinaires 30% à 40% des infections) (**Dia et al., 2008**). 80% de ces infections sont associées à la mise en place d'une sonde vésicale, Comme environ 15% des patients hospitalisés seront sondés au cours de leur hospitalisation, 1 à 4,5 % des IN urinaires vont se compliquer d'une bactériémie dite secondaire (**Butrau-Lemaire et Botto, 1997**).

I.4.2. Infections respiratoires

Sont à la première place des infections dans les unités de réanimation et de soins intensifs. (**Drancourt et Adekambi, 2004**). Aux premier places des facteurs de risque on cite les dispositifs invasifs : ventilation mécanique, intubation trachéale ainsi les sondes naso-gastrique (42.1%) qui peuvent causer (29%) des IN pulmonaires (**Dia et al., 2008**).

I.4.3. Infections du site opératoire

Toute intervention chirurgicale peut se compliquer d'une infection du site opératoire (ISO), qui résulte de la multiplication d'un agent infectieux. L'ISO peut se manifester après un délai variable suivant la contamination qui peut elle-même se produire avant, pendant ou après l'intervention. Même dans des conditions idéales, des séries contemporaines associant l'antibioprophylaxie et un flux laminaire font état d'un taux d'infections après arthroplastie totale de hanche qui varie de 0,1 à 1 %. La mise en place d'un corps étranger (prothèses cardiaques, vasculaires, orthopédiques, drains) est un facteur important d'infections postopératoires (**Drancourt 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 et al., 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.4.4. Bactériémies nosocomiales primaire et secondaire

Une bactériémie est considérée comme primitive lorsqu' aucun foyer n'est retrouvé. Cette définition inclut les infections secondaires dont le point d'appel est un cathéter (Gayvallet *et al.*, 2002).

Pour les infections sur cathéter, un délai de 24 heures suffit (Hamza *et al.*, 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) (Drancourt et Adekambi, 2004). La fréquence des bactériémies nosocomiales est la plus élevée en unité néonatale de soins intensifs (44.8%) et en réanimation pédiatrique (35.9%) (Gayvallet *et al.*, 2002).

I.4.5. Les autres localisations infectieuses (représentent environ 13% des IN)

De très nombreuses autres localisations sont possibles, on peut citer des infections du système nerveux central, de la peau, du tube digestif (Drancourt et Adekambi, 2004), des voies génitales après instrumentations ou interruption de grossesse, des régions buccale et périnéale. Toutes ces localisations peuvent être à l'origine de bactériémies avec une fréquence variable selon le degré de l'immunosuppression et la nature des germes en cause (Drancourt et Adekambi, 2004).

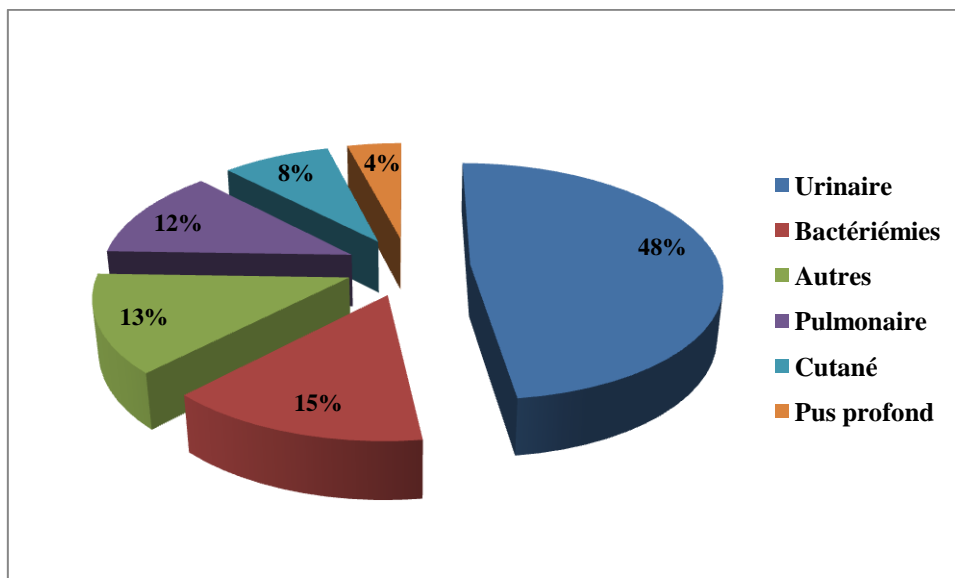


Figure 07 : Répartition des infections nosocomiales validées en fonction du site (Botterel *et al.*, 2004).

I.5. Les services à risques

Les taux d'IN sont variables selon le recrutement des services et, pour un hôpital donné, du niveau technique de ses activités. C'est ainsi que l'on constate une plus importante proportion d'IN dans les centres hospitaliers universitaires que dans les centres hospitalier généraux, en raison de leur activité médico-chirurgicale spécifique, notamment en termes de greffes, de chimiothérapies lourdes ou de traitements de grands brûlés (**Hamza et al., 2010**).

Toutes structures confondues, les services à risques, sont, par ordre décroissant, ceux de réanimation (taux d' IN en moyenne de 28,1 %), puis de chirurgie (7,4 %), de médecine (7,2 %), de gynécologie-obstétrique (2,7 %) et de pédiatrie (1,4 %) (**Hamza et al., 2010**).

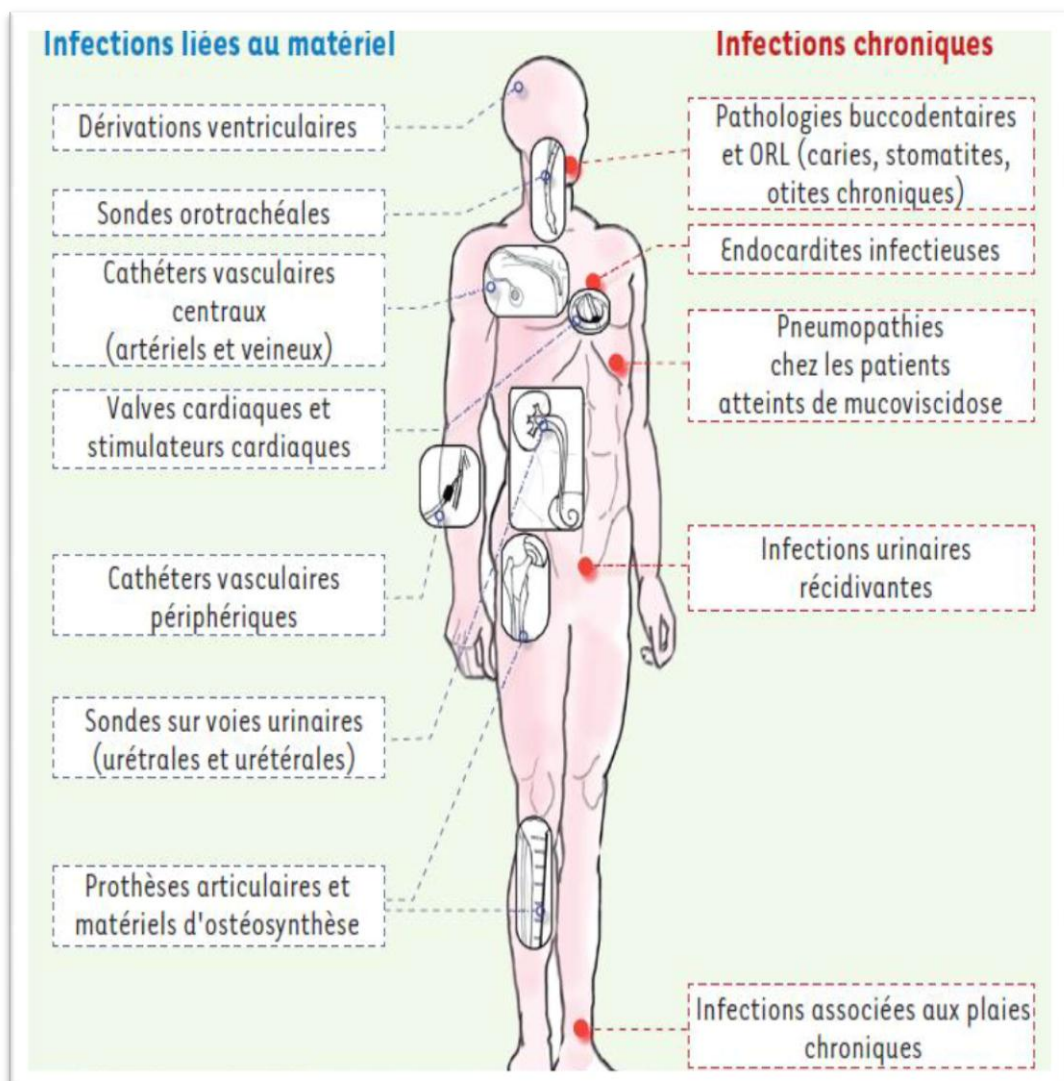


Figure 08 : Principales infections associées aux biofilms (**Lebeaux et al., 2016**).

II. Staphylocoques et risque infectieux sur les dispositifs médicaux

II.1. Définition d'un dispositif médical

Le dispositif médical (DM) est défini dans le code de la Santé publique de la manière suivante : « On entend par dispositif médical tout instrument, appareil, équipement, matière produit, à l'exception des produits d'origine humaine, ou autre article utilisé seul ou en association, y compris les accessoires et logiciels nécessaires au bon fonctionnement de celui-ci, destiné par le fabricant à être utilisé chez l'homme à des fins médicales et dont l'action principale voulue n'est pas obtenue par des moyens pharmacologiques ou immunologiques ni par métabolisme mais dont la fonction peut être assistée par de tels moyens. Constitue également un dispositif médical le logiciel destiné par le fabricant à être utilisé spécifiquement à des fins diagnostiques ou thérapeutiques » (Dervaux *et al.*, 2015).

II.2. Risque infectieux

Tous les dispositifs médicaux (DMx) utilisés chez un patient peuvent être des vecteurs à l'origine de la transmission de micro-organismes pathogènes s'ils ne sont pas correctement nettoyés et désinfectés selon des règles à respecter scrupuleusement. Ces règles simples sont dictées par l'évaluation du risque infectieux lié à l'usage du dispositif médicale réutilisable (Meunier, 2006).

Une évaluation du risque infectieux et du niveau de traitement requis est proposée : trois niveaux de risques infectieux sont décrits selon des auteurs anglo-saxons (Meunier, 2006).

- **Haut risque** : correspond à l'utilisation de DMx dits critique comme les dispositifs médicaux invasifs de type chirurgicale (Meunier, 2006).

- **Risque médian** : correspond à l'utilisation de DMx semi-critiques, c'est-à-dire qui sont en contact avec des muqueuses ou une lésée superficiellement (Missika et Drouhet, 2001). Ils pourraient alors être les vecteurs de bactéries et levures provenant de ces tissus mais surtout transmettre les virus véhiculés par le sang et les liquides biologiques comme le VIH, le VHB et le VHC (Meunier, 2006).

- **Risque bas** : correspond à l'utilisation de DMx dits non critiques, qui ne sont pas en contact direct avec le patient ou qui sont en contact avec une peau saine (Missika et Drouhet, 2001). Leur utilisation sans précaution pourrait néanmoins transmettre les micro-organismes hébergés par la peau du patient vers l'utilisateur suivant. Ces micro-organismes sont ceux qui nécessitent les précautions de type «contact» dont les bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR)

ainsi que les bactéries et levures de la flore cutanée, mais aussi les virus responsables des gastro-entérites épidémiques (**Meunier, 2006**).

II.3. Types de dispositifs médicaux

Les DMx sont divisés en quatre classes en fonction du danger potentiel lié à leur emploi :

- Classe I : faible degré de risque ;
- Classe IIa : degré moyen de risque ;
- Classe IIb : potentiel élevé de risque ;
- Classe III : potentiel très sérieux de risque (classe réservée aux DM implantable actifs)

Cette classification prend en compte plusieurs paramètres tels que la durée d'utilisation, le caractère invasif, les possibilités de réutilisation, la visée thérapeutique ou diagnostique et la partie du corps en contact avec le dispositif (**Balagny et Coriat, 2014**).

Tableau V : Classe des dispositifs (Balagny et Coriat, 2014).

| Casse de dispositif | Exemple de dispositifs concernés |
|---------------------------------------|---|
| Classe 1 risque potentiel faible | Instruments chirurgicaux réutilisables, dispositifs médicaux non invasifs, certains dispositifs médicaux invasifs à usage temporaire (scalpels) Exemples : stéthoscope, compresses |
| Classe 2 risques potentiels modérés | DM invasifs à cours terme, DM invasifs de type chirurgical à usage unique ou DM raccordé à un DM de classe 1 ou supérieure (comme le circuit de la ventilation) Exemples : seringues, aiguilles, lignes de perfusion, filtres antibactériens, fibroscope, sondes d'intubation, sec d'anesthésie locorégionale, collecteur à urine. |
| Classe 3 risques potentiels élevés | dispositifs médicaux implantables à long terme destinés à permettre un diagnostic ou un contrôle direct des processus physiologiques vitaux dans les variations de paramètre peuvent présenter un danger immédiat pour la vie de patient. Exemples : moniteur multiparamétrique, saturation pulsée en oxygène, moniteur de la ventilation, moniteur de débit cardiaque, respirateur, évaporateur, couverture de réchauffement par air pulsé. |
| Classe 4 risques potentiels critiques | dispositifs médicaux implantables à long terme en contact avec le cœur, le système circulatoire central, dispositifs implantables résorbables. Exemples : implants mammaires, implant articulaires de hanche, de genou et d'épaules, la valve, stents, stimulateurs cardiaque, (dispositifs médicaux implantables actifs) Swan gans |

L'usage des DMx est important dans le traitement des maladies chroniques. L'implantation temporaire d'un cathéter vasculaire, d'une sonde vésicale ou d'une sonde endotrachéale est associée à des infections, dû à la multiplication bactérienne sur ces dispositifs implantables, parmi les infections les plus courantes dans le milieu hospitalier, les bactériémies associées aux cathéters vasculaires, les infections urinaires associées au sondage vésical et les

pneumopathies acquises sous ventilation mécanique sont les plus fréquentes et sont considérées comme en partie évitables (**Espinasse et al., 2010**).

La physiopathologie de ces infections est étroitement liée à la constitution d'un biofilm sur ces corps étrangers (**Espinasse et al., 2010**).

Les staphylocoques sont reconnus comme les espèces les plus communes de bactéries qui sont responsables de causer des infections de biofilm associé. Ces bactéries sont généralement associées à des infections chroniques liées aux cathéters et autres DMx à demeure (**Oufrid et al., 2014**). La présence de films protéiques sur des implants médicaux en contact direct avec un fluide favorisent la formation de biofilms. (**Pourreau, 2008; Daniel, 2004; Goller et Romeo, 2008; Guidet, 1994**).

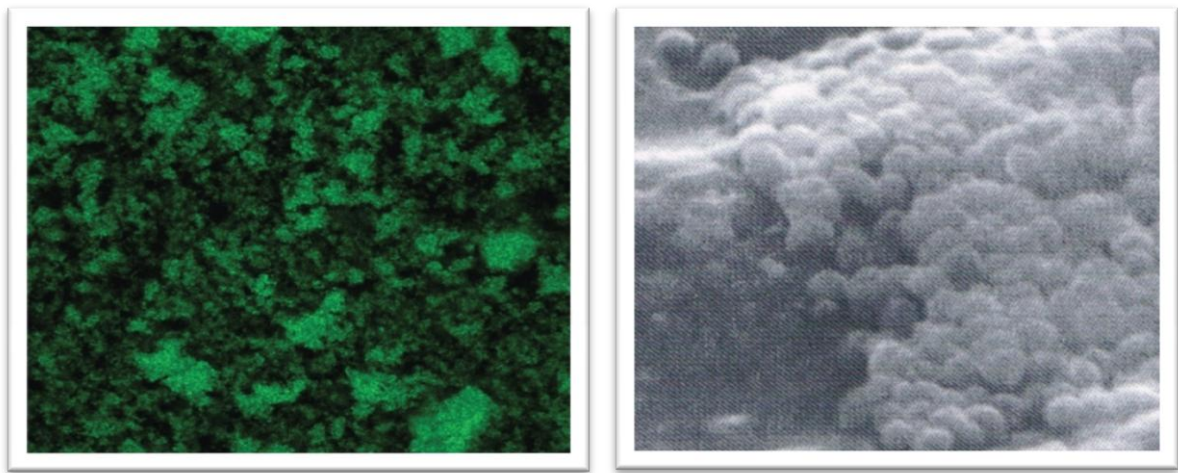


Figure 09: 1. Biofilm produit par une souche de *Staphylococcus epidermidis* dans un système en microplaque. Image obtenue en microscopie confocale suite à une coloration du biofilm à l'aide de FilmTracer™ FM® 1-43 (**Tremblay et al., 2014**). **2.** sur un cathéter veineux, un biofilm fait de *S.epidermidis* ;celui-ci enchasse les colonies bactériennes et les fait adhérer au cathéter (microscopie électronique à balayage,6.000) (**Prescott et al., 2007**).

II.4. Physiopathologie

Dans le corps humain, la fixation à des protéines de matrice humaines représente la première étape de la formation de biofilm. *S. epidermidis* et *S. aureus* expriment des dizaines de soi-disant MSCRAMMs (composants de surface microbienne qui reconnaissent des molécules de la matrice adhésive) qui ont la capacité de se lier à des protéines de matrice humaines telles que le fibrinogène ou la fibronectine, Et combinent souvent une capacité de liaison pour plusieurs protéines de matrice différente (**Patti et al., 1994**).

L'adhésion initiale, réversible au départ, puis progressivement irréversible, est régie par l'équilibre entre trois forces physico-chimiques fondamentales non spécifiques (van der Waals ou hydrophobes, électrostatiques, et interactions acide/base). Cette étape de colonisation implique une relation complexe entre le biomatériau, les protéines de l'hôte tapissant le biomatériau et les adhésines bactériennes responsables de la liaison des microorganismes au biomatériau (Vafidis *et al.*, 1984; Characklis et Marshall, 1990; Mack, 1999).

Une fois les premières bactéries fixées sur la surface, l'étape suivante est une phase de maturation. Cette de la formation de biofilms est caractérisée par :

- a) l'agrégation intercellulaire qui peut être accompli par une variété de molécules telles que des protéines adhésives ou à base de polysaccharides généralement exopolymères,
- b) Les forces biofilm structurants qui conduisent à l'apparition en 3 dimensions typique de biofilms matures avec ses tours de cellules de champignons comme autour de canaux remplis de fluide (Otto, 2009).

Le détachement des bactéries est la dernière étape de développement du biofilm. Cette phase est essentielle car elle permet aux bactéries de disséminer dans l'organisme et de coloniser d'autres sites infectieux. Plusieurs facteurs peuvent contribuer au détachement:

- a) Les forces mécaniques, telles que l'écoulement dans un vaisseau sanguin,
- b) la cessation de la production de matériaux de construction de biofilm, tels que des exopolysaccharides,
- c) les facteurs de détachement stricto sensu, tels que des enzymes qui détruisent la matrice, ou des agents tensio-actifs (Otto, 2009).

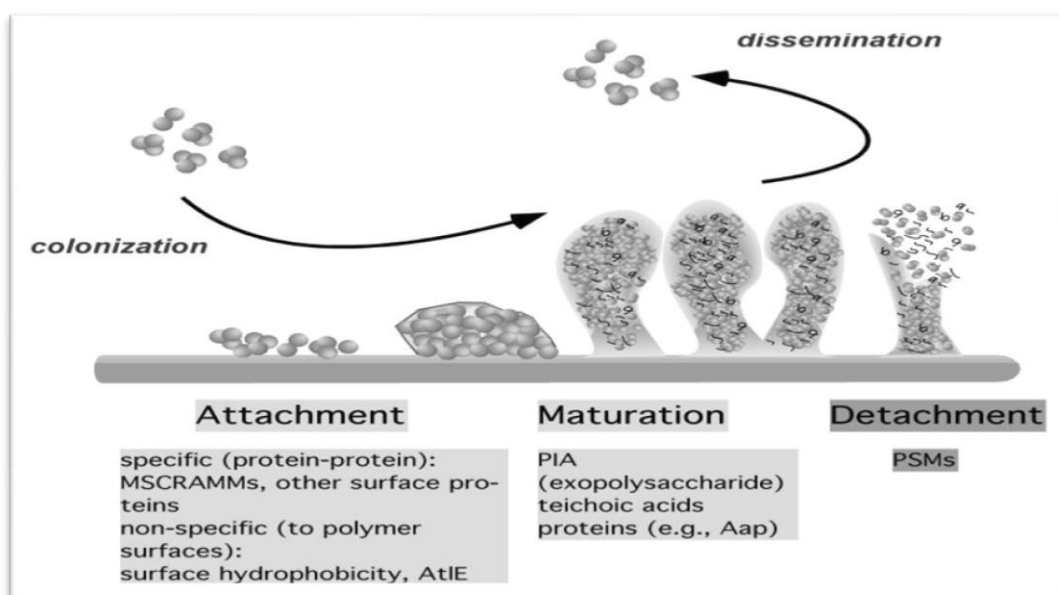


Figure 10 : Phases de développement de biofilm à staphylocoques (Otto, 2009).

II.5. Résistance des biofilms aux antibiotiques

L'antibiorésistance développée par les biofilms bactériens pose de sérieux problèmes en matière de santé publique, puisqu'elle rend difficile le traitement des infections due à des biofilms. , les bactéries d'un biofilm sont généralement moins sensibles aux antibiotiques et aux désinfectants que ces mêmes bactéries sous forme planctonique. (**Tremblay *et al.*, 2014**). Des transferts de caractères de résistance de cellule à cellule permettent d'expliquer l'apparition d'antibiorésistance au sein de biofilms (**Andrel *et al.*, 2000**). En fait, les bactéries d'un biofilm peuvent être de 10 à 1000 fois plus résistantes aux agents antimicrobiens (**Tremblay *et al.*, 2014**).

Cependant, la base moléculaire de ce phénomène n'a été que récemment encore étudiée. Deux mécanismes principaux contribuent à la résistance biofilm:

a) la prévention de la substance antibactérienne d'atteindre sa cible, par exemple par diffusion limitée ou de répulsion,

b) la physiologie spécifique d'un biofilm, ce qui limite l'efficacité des antibiotiques, notamment de celles qui ciblent les processus cellulaires actifs et qui peuvent également inclure spécifique sous-populations de cellules résistantes (persisters) (**Otto *et al.*, 2009**).

La diffusion limitée des antibiotiques à travers la matrice du biofilm extracellulaire peut être le mécanisme de résistance à certains antibiotiques, tels que la ciprofloxacine chez *P. aeruginosa* (**Walters *et al.*, 2003**), alors que plusieurs autres (par exemple rifampicine et vancomycine) ont été montrés pour briser le couche exopolysaccharide de *S. epidermidis*. (**Otto *et al.*, 2009**)

II.6. 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 (**Percival, 2004 a ; Percival, 2004 b**).

La capacité des bactéries sessiles à résister à la réponse immunitaire de l'hôte favorise le développement d'infections persistantes (Hall-Stoodley *et al.*, 2009). Même chez les individus immunocompétents, les infections liées au biofilm sont rarement résolues par les mécanismes de défense de l'hôte (Costerton *et al.*, 1999).

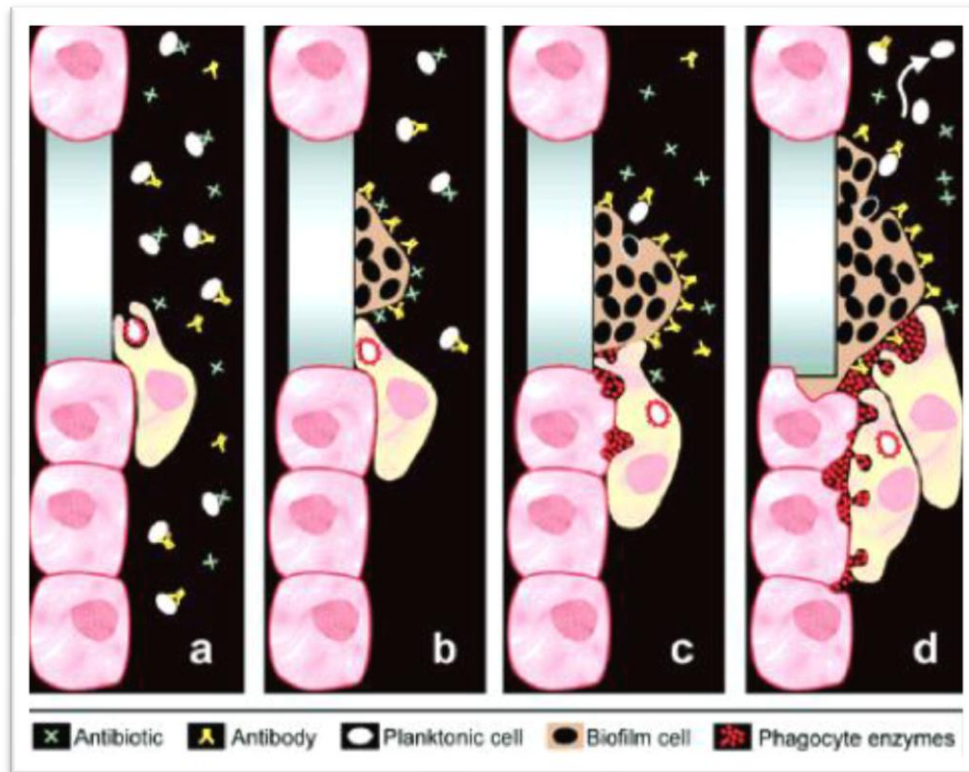


Figure 11 : Présentation schématique de la réponse immunitaire lors d'une infection liée au biofilm (a) les bactéries planctoniques peuvent être détruites par les anticorps, les phagocytes et sont sensibles aux antibiotiques, (b) les bactéries regroupées en communauté sessile sont résistantes à l'action des anticorps, des phagocytes et des antibiotiques, (c) les phagocytes sont attirés par le biofilm ; la phagocytose est inefficace (« frustrated phagocytosis ») mais des enzymes sont libérées par les phagocytes et (d) les enzymes phagocytaires altèrent le tissu autour du biofilm et libèrent des bactéries planctoniques ; cette libération entraîne la dissémination de l'infection vers les tissus voisins (Costerton *et al.*, 1999).

Partie
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 khenchela entre Mars et Mai 2016.



Photographie 01 : Vue générale de l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de khenchela.

II. Matériel

II.2. Milieux de culture solides

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

II.3. Milieux de culture liquides

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

II.4. Test biochimique

- Eau oxygénée à 10 volumes.

II.5. Antibiotiques en disques

Tableau VI : L'antibiogramme pour *Staphylococcus sp* (AARN/SANTE).

| Les Antibiotiques | Abréviations | Charge des disques (µg) |
|-------------------------|--------------|-------------------------|
| β LACTAMINES | | |
| Pénicilline | P | 10UI |
| Oxacilline | OX | 30 |
| Céfoxitine | FOX | 30 |
| M. L. S | | |
| Erytromycine | E | 15 |
| Lincomycine | L | 30 |
| Clindamycine | DA | 02 |
| Pristinamycine | PT | 15 |
| GLYCOPEPTIDES | | |
| Vancomycine | VA | 30 |
| Teicoplanine | TEC | 30 |
| CYCLINES | | |
| Tétracycline | TE | 30 |
| AMINOSIDES | | |
| Kanamycine | K | 30 |
| Amikacine | AK | 30 |
| Gentamycine | CN | 10 |
| FLUOROQUINOLONES | | |
| Ofloxacin | OFX | 05 |
| DIVERS | | |
| Acide Fusidique | FA | 10 |
| Chloramphénicol | C | 30 |
| Rifampicine | RA | 05 |
| Cotrimoxazole | SXT | 1.25/23.75 |
| Ciprofloxacine | CIP | 05 |

III. Méthode

III.1. Origine de prélèvement

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

- Service de médecine interne (femme, homme)
- Service de réanimation
- Service de chirurgie général d'urologie (femme, homme)
- Services de chirurgie traumatologie (femme, homme)

Les malades inclus dans cette étude, présentent une pathologie lourde nécessitant la pose de cathéter veineux, indispensable pour l'administration de l'antibiothérapie, des produits sanguins et de l'alimentation parentérale. Les extrémités de cathéter ont été prélevées aseptiquement. Les raisons de l'enlèvement du cathéter sont les suivantes : mauvais fonctionnement, des signes d'infection au niveau du site d'insertion (rougeur au niveau du point d'injection, douleur, induration, hématome), ou à cause d'une suppression accidentelle.

III.2. Critères d'inclusion

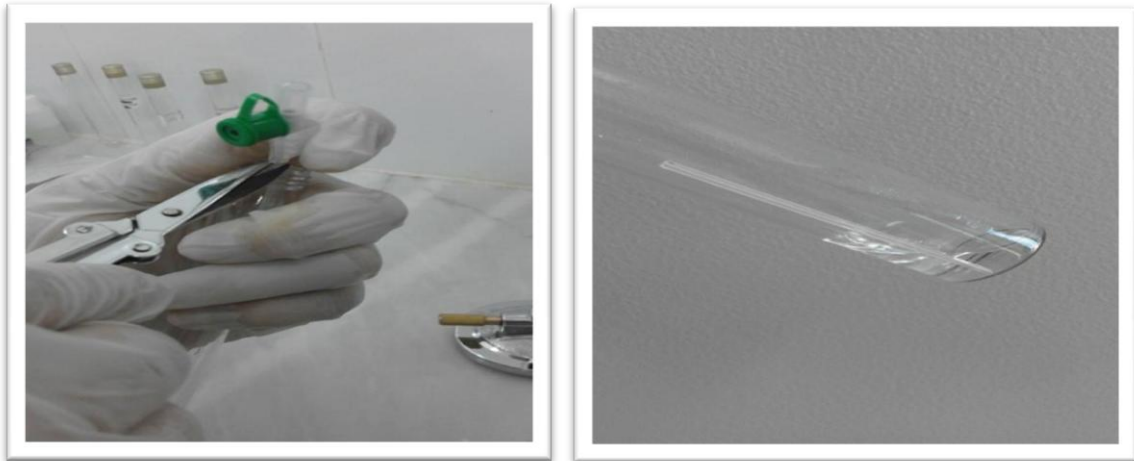
- Tout nouveau cathéter veineux maintenu plus de 48h.
- Posé dans des conditions d'asepsie chirurgicale.
- Toute nouvelle sonde vésicale maintenue plus de 48h, et posée dans des conditions d'asepsie de soin.
- Toute nouvelle sonde naso-gastrique maintenue plus de 48h, et posée dans des conditions d'asepsie de soin.

III.3. Prélèvement distal protégé

- **Prélèvement des cathéters vineux**

Pour le diagnostic des infections du cathéter nous avons utilisé dans cette étude une méthode qui nécessite l'ablation du cathéter par la culture quantitative de Brun Buisson (1987).

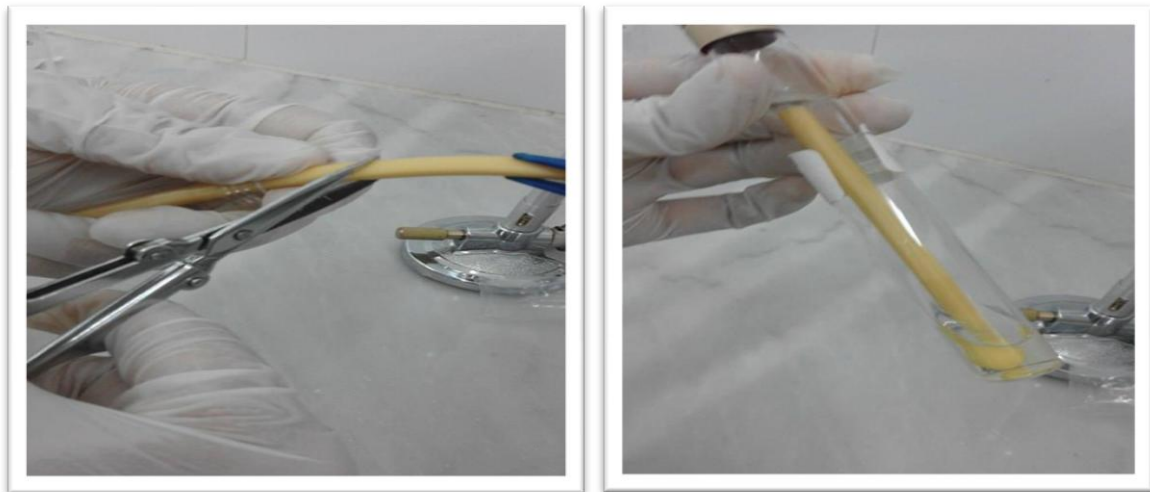
L'ablation du cathéter doit se faire stérilement, et son extrémité distale (la totalité de la partie insérée pour les cathéters courts, 5cm pour les cathéters longs) (Timsit, 2003 ; SFM, 2007), coupée et immergé dans 1ml de solution saline, et adressée au laboratoire. Où il est agité pendant 1mn sur vortex pour détacher du cathéter le produit pathogène (Benbella, 2013). Puisensemencée 10µl sur le milieu de culture.



Photographie 02 : Méthodes de prélèvement de cathéter vinaireux.

- **Prélèvement des sondes vésicales**

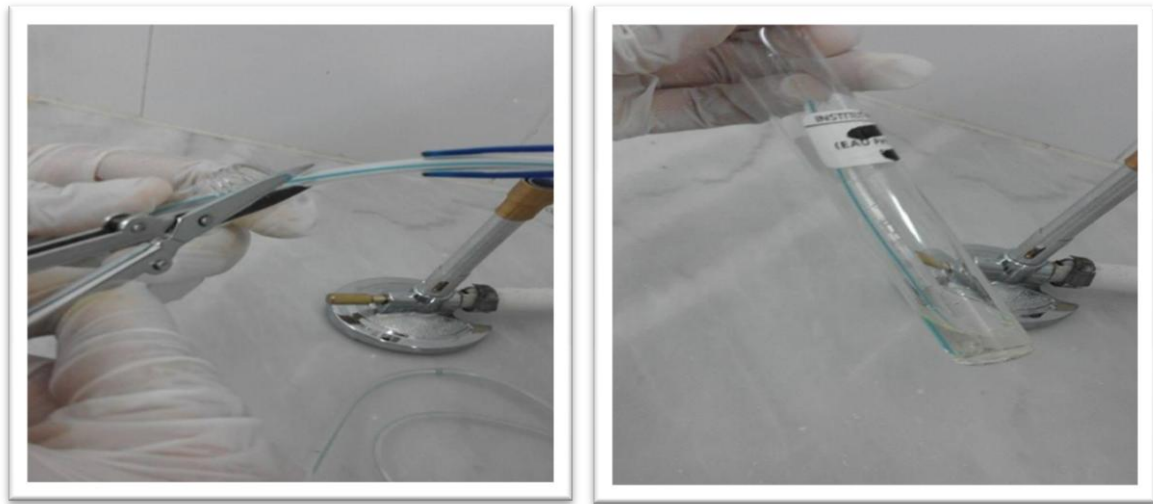
Pour l'analyse microbiologique des sondes urinaires nous nous sommes référées à la technique de « **Brun-Buisson** » utilisée pour les cathéters qu'on a adaptée et appliquée aux sondes urinaires. A cet effet, les 10 cm de l'extrémité terminale de la sonde urinaire sont mises dans 2 ml d'eau physiologique stérile qu'on a agitée au vortex pendant 1 minute. Puis ensemencer 10 μ l sur les milieux de culture.



Photographie 03: Méthode de prélèvement des sondes vésicale.

- **Prélèvement des sondes naso-gastriques**

Pour l'analyse microbiologique des sondes naso-gastriques nous nous sommes référées à la technique de « **Brun-Buisson** » utilisée pour les cathéters qu'on a adaptée et appliquée aux sondes naso-gastriques.



Photographie 4: Méthode de prélèvement des sondes naso-gastriques.

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 10 μ l de liquide et mettre sur le milieu, puis par l'anse de platine ou d'une pipette Pasteur on ensemence sur gélose en boîte de Pétri, de façon à obtenir des colonies bien isolées après une incubation à 37°C pendant 24 heures. Afin de confirmer la pureté des souches, nous avons effectué des repiquages successifs en alternant milieu liquide (bouillon BHIB) et milieu gélosé sélectif Chapman.

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. 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).

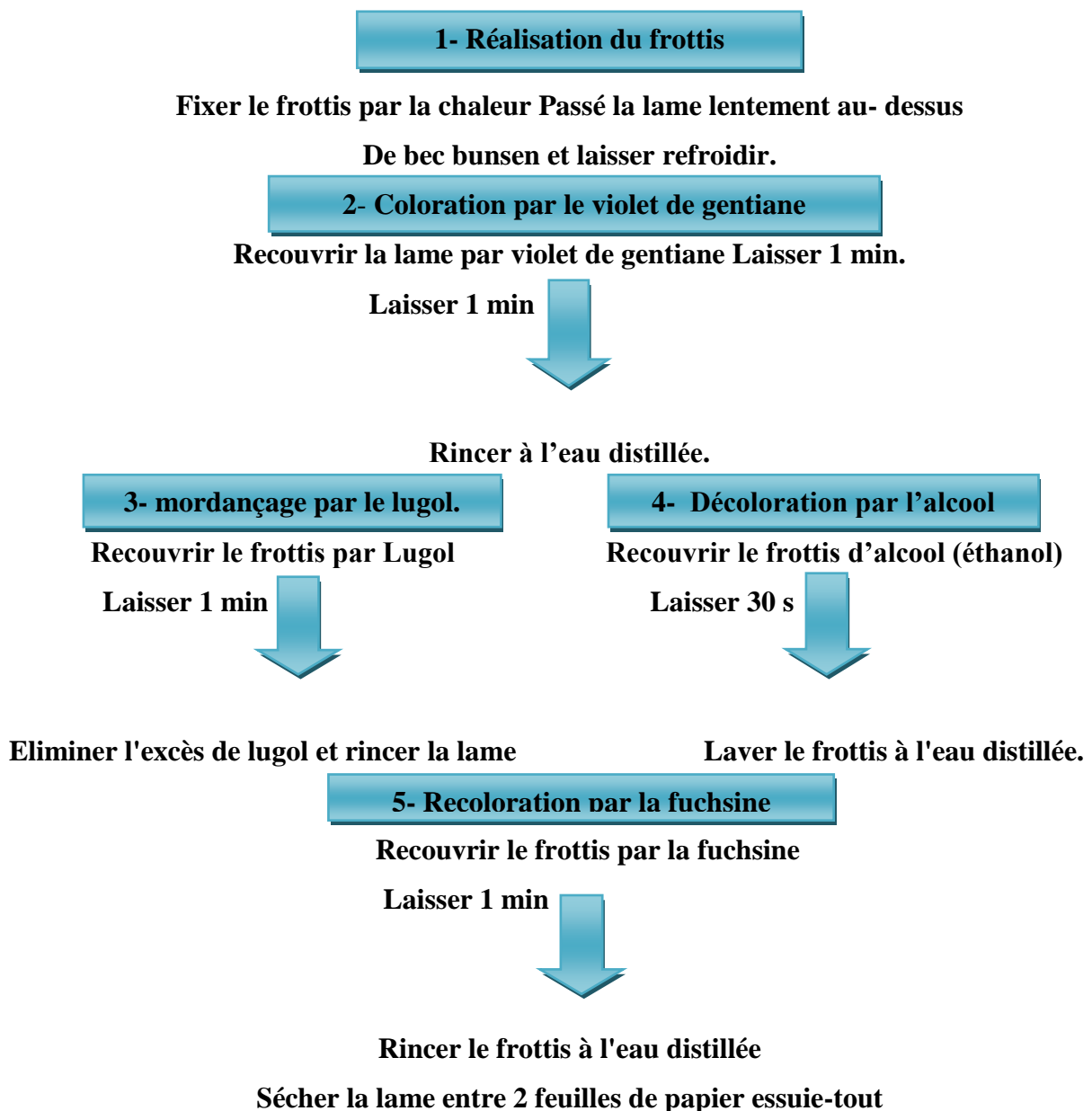
- **Gélose au Sang Cuit**

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.5.2. 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.*, 2003).



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).



Photographie 5 : Un microscope équipé d'un appareil photographique numérique.

III.6. Identification biochimique

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

III.6.1. Catalase

La catalase est une enzyme possédant, comme les cytochromes, une coenzyme formé d'un hème incluant un atome de fer III. Elle joue un rôle majeur dans l'élimination du peroxyde d'hydrogène (Joffin et Leyral, 2006), Ce test permet de différencier les staphylocoques des streptocoques. A partir d'un isolement, une petite quantité de culture bactérienne est prélevée; puis placée sur une lame, on fait réagir la colonie dans 1 goutte de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Une réaction positive se traduit par le dégagement de bulles de gaz (oxygène), la réaction se fait selon l'équation :



Ce test, peut être réalisé en tube contenant 0.5 ml de H₂O₂. On prélève des colonies et on les introduit dans le tube. Le résultat est identique à celui obtenu lors du test sur lame (**Aouati, 2009 ; Chaala, 2013**).

III .6.2. Recherche de Staphylocoagulase

- **Coagulase libre**

La propriété de *Staphylococcus aureus* de provoquer la coagulase d'un plasma recueilli sur anticoagulant est un critère important de son identification. Elle est due à la sécrétion d'une enzyme : la staphylocoagulase ou coagulase (**Joffin et Leyral, 2006**).

Parmi les *Staphylococcus*, pratiquement seul *Staphylococcus aureus* la possède. Certaines souches de *Staphylococcus aureus* peuvent en être dépourvues (10 à 15% en milieu hospitalier). La perte de la coagulase étant souvent reliée à un traitement antibiotique. L'observation du caractère coagulase négative doit donc être confirmée par la mise en œuvre d'autres tests (protéineA, récepteur au fibrinogène, thermonucléase...) (**Joffin et Leyral, 2006**).

La détection de cette coagulase s'effectue en ajoutant dans un tube à hémolyse 0.5 ml de plasma humain et 0.5 ml d'une culture de staphylocoques de 24 h en bouillon. Le mélange est placé à l'étuve à 37°C et est incubé pendant 24 heures. Les souches de *S. aureus* provoquant la coagulation du plasma le plus souvent les trois premières heures, Un test positif se traduit par la formation d'un coagulum (**Karam, 2004**).

- **Coagulase liée**

La recherche de la coagulase des *staphylococcus* est compliquée par la présence d'un récepteur au fibrinogène provoquant l'agglutination de la souche placée dans un plasma oxalaté (ou parle coagulase lié). Ce phénomène ne se produit pas à partir d'une culture en bouillon (**Joffin et Leyral, 2006**). Un résultat positif se manifeste par l'apparition d'une agglutination 5 à 20 secondes plus tard (**Karam, 2004**).

III.6.3. Conservation des souches

Les souches sont conservées dans des tubes de gélose nutritive inclinés 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).

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 isolé et identifié 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 18 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 Farland ou à une DO de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm ;
- 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 trop fort ;
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation 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.

- **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 Mars au Mai 2016, 62 prélèvements à partir des dispositifs médicaux ont été collectés aseptiquement à l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de kenchela, dont 15 sondes vésicales, 35 cathéters veineux et 12 sondes naso-gastriques. Les services concernés sont : le service de chirurgie général d'urologie, le service de médecine interne, service de chirurgie traumatologie et réanimation.

Tableau VII : Répartition des prélèvements selon leur nature

| Type de prélèvements | Nombre des prélèvements | Pourcentage |
|-----------------------------|--------------------------------|--------------------|
| Cathéters veineux | 35 | 56% |
| Sondes vésicales | 15 | 24% |
| Sondes naso-gastriques | 12 | 20% |
| Total | 62 | 100 % |

Tableau VIII : Répartition des prélèvements par services.

| Les Services | Nombre des prélèvements | Pourcentage |
|------------------------------|--------------------------------|--------------------|
| Réanimation | 11 | 18% |
| Chirurgie général d'urologie | 23 | 37% |
| Médecine interne | 18 | 29% |
| Chirurgie traumatologie | 10 | 16% |
| Total | 62 | 100% |

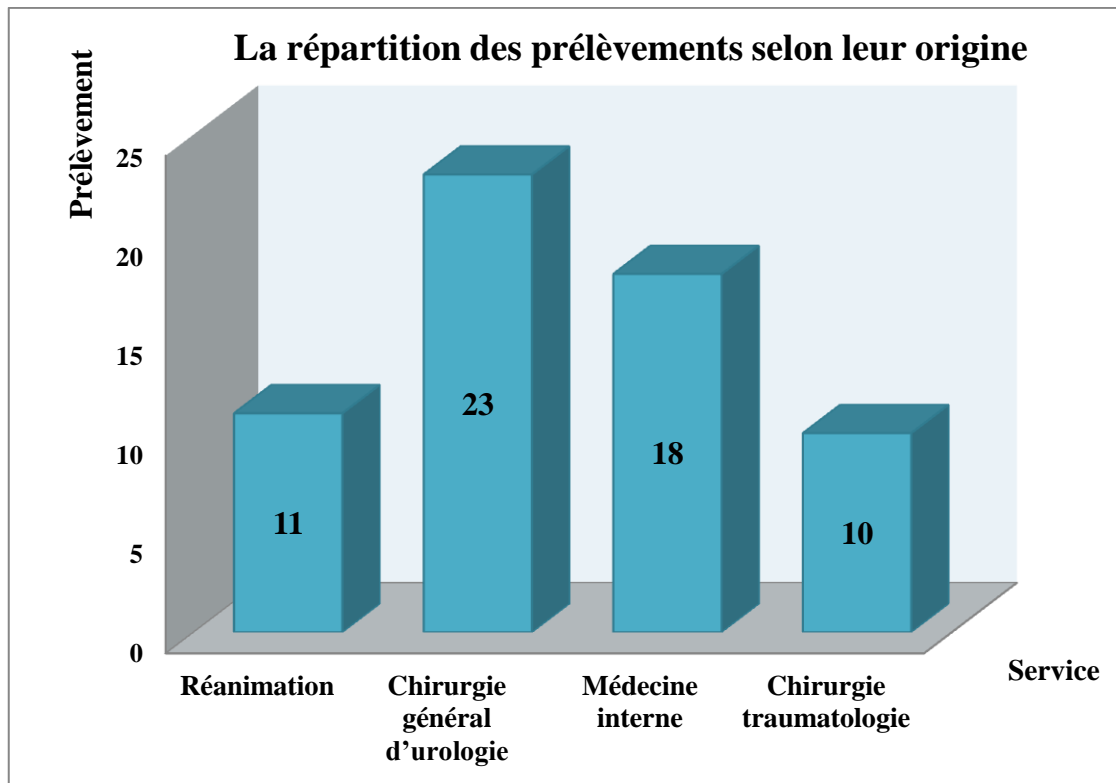


Figure 12: Répartition des prélèvements selon leur origine

I.2. Classification selon la nature des biomatériaux

Le tableau illustre la nature des biomatériaux avec lesquels sont fabriqués nos instruments d'étude.

Tableau IX : Nature des matériaux qui constituent les dispositifs médicaux implantables

| Dispositifs médicaux | Nature des biomatériaux | Fabricant |
|------------------------|-------------------------|-----------|
| Cathéters vinueux | Silicone | Algérie |
| Sondes vésicales | Silicone | Italie |
| Sondes naso-gastriques | Silicone | Inde |

Selon le Comité Technique National des Infections Nosocomiales (1999) les biomatériaux les moins impliqués dans le risque infectieux sur cathéter sont ceux qui sont les moins thrombogènes, les moins hydrophobes et ceux qui favorisent le moins d'adhérence microbienne. La nature des matériaux qui constituent les instruments utilisés au niveau des quatre services sont la silicone, n'ont pas limité la survenue d'une infection liée aux ces instruments malgré leur caractère moins thrombogènes et moins hydrophobes ce qui suggère l'implication d'autres facteurs qui favorisent l'infection de ces dispositifs implantables.

Des examens en microscopie électronique ont en effet montré une adhésivité préférentielle des bactéries au niveau des irrégularités de surface des cathéters que celle-ci soit soient d'origine (matériaux de mauvaise qualité) ou qu'elle soit provoquée par l'effet corrosif de certaines chimiothérapies (Vaudaux *et al.*, 1989).

I.3. Classification des dispositifs médicaux utilisés selon le niveau de risque et leur fonction

Il existe différents types de dispositifs médicaux classés soit en fonction de leur rôle ou en fonction du risque qu'ils représentent (Leslie, 2013). Le tableau illustre le niveau de risque et la fonction des instruments utilisés

Tableau X: le niveau de risque et la fonction des dispositifs médicaux utilisés

| dispositif médical | Le niveau de risque | La fonction |
|---------------------------|----------------------------|--------------------|
| Cathéters vinueux | Haut risque | Implantable |
| Sondes vésicales | Haut risque | Implantable |
| Sondes naso-gastriques | Haut risque | Implantable |

I.4. Les facteurs de risques liés aux dispositifs médicaux utilisés

Plusieurs facteurs peuvent être responsables des contaminations sur les instruments ce sont principalement l'âge et la durée d'implantation.

I.4.1. L'âge des patients

Les résultats de notre étude montrent que la tranche d'âge de 41 à 60 était la plus concernée par l'utilisation des dispositifs médicaux. Cela peut être expliqué par le fait que le nombre des patients hospitalisés de cette tranche durant cette période est plus important.

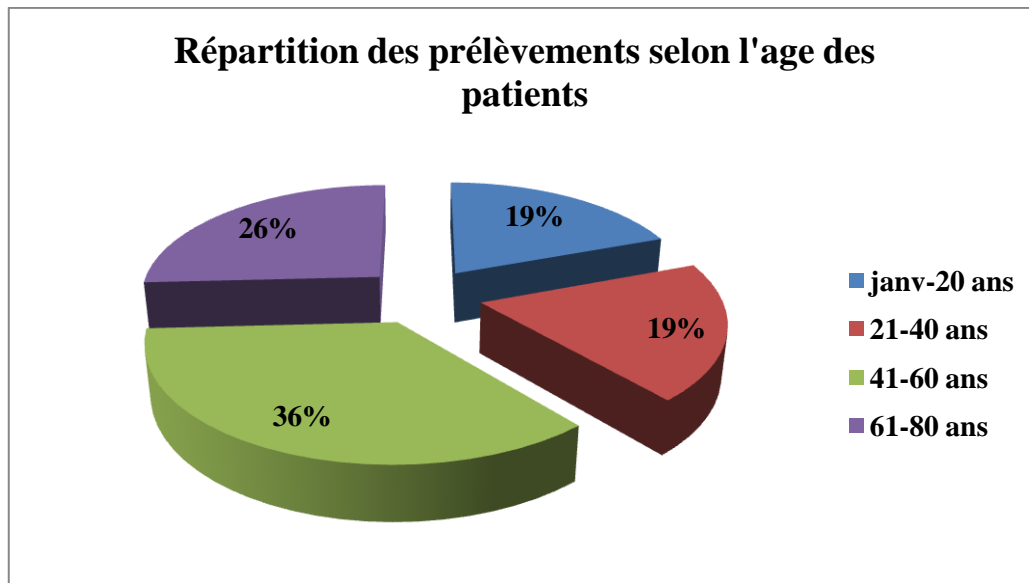


Figure 13 : Répartition des prélèvements selon l'âge des patients.

L'un des facteurs de risque liés aux patients est l'âge. Nos résultats montrent que la majorité des patients ayant une infection nosocomiale (36%) ont une tranche d'âge entre 41 et 60 ans, et qu'une proportion non négligeable (26%) a un âge supérieur à 61 ans. Ce résultat ne concorde pas avec la littérature qui souligne que l'âge est un facteur de risque infectieux aux deux extrémités de la vie, avant 1 an et après 75 ans ou ceci peut aisément s'expliquer par l'importance de la morbidité chez le sujet âgé (Cruse et Foord, 1980).

I.4.2. La durée de l'implantation des dispositifs médicaux

La relation de la présence et la croissance des staphylocoques avec la durée d'implantation des dispositifs médicaux est une relation proportionnelle.

Tableau XI : La durée d'implantation des dispositifs médicaux

| Dispositif médical | La durée d'implantation |
|------------------------|-------------------------|
| Cathéters veineux | 4 à 7 jours |
| Sondes vésicales | 5 à 15 jours |
| Sondes naso-gastriques | 4 jours à 1 mois |

Le facteur principal de risque est la durée de cathétérisation (Burin des rosiers, 2002) lorsque la durée augmente le nombre et la colonisation des microorganismes qui forment des biofilms augmente aussi.

I.5. Sexe des patients

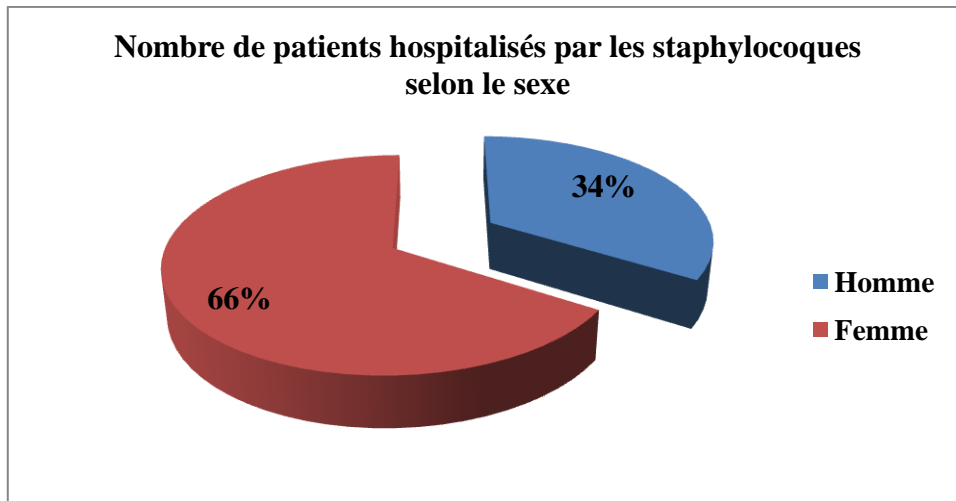


Figure 14 : Nombre de patients hospitalisés par les Staphylocoques selon le sexe

Dans cette étude, l'infection sur cathéter et sonde est significativement plus fréquente chez les femmes dans les services concernés par notre étude, cela peut être expliqué par le fait que le nombre des femmes durant cette période est plus important. Il n'existe aucune publication à ce sujet signalant l'implication du sexe dans la survenue de l'infection sur implant médical.

II. Résultats bactériologiques

Au cours de la période d'étude, 62 prélèvements à partir des dispositifs médicaux ont été collectés aseptiquement à l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de kenchela.

Après l'incubation des milieux de cultures utilisés on a obtenu 30 cultures positives et 32 cultures négatives.

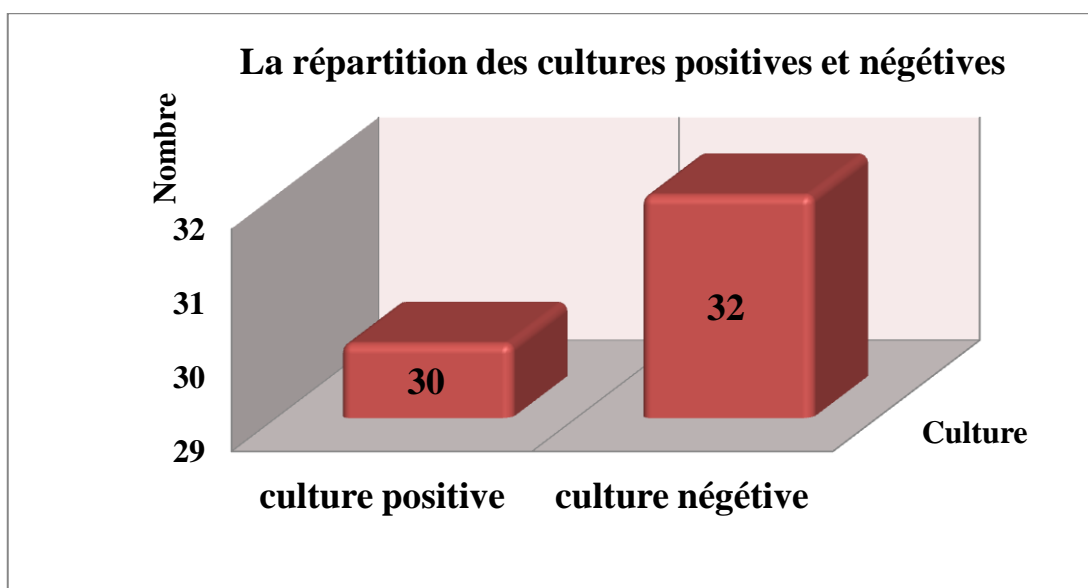


Figure 15 : La répartition des cultures positives et négatives.

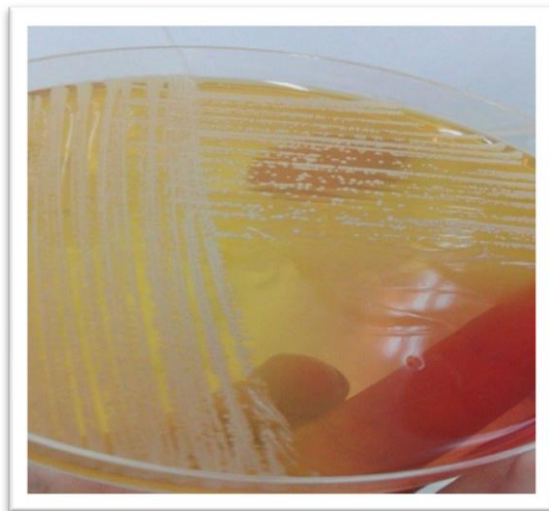
II.1. Isolement et identification des *Staphylococcus spp*

Un total de 30 isolats positifs de *Staphylococcus* a été isolé à partir des dispositifs médicaux chez des patients hospitalisés. 07 isolats ont été isolés a partir des sondes vésicales, 9 isolats ont été isolés à partir sondes naso-gastriques, et 14 isolats ont été isolés à partir des cathéters vigneux.

II.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 6.1), sinon les colonies sont de couleur blanche (Photographie 6.2). Ces colonies sont arrondies à bords réguliers de 1 mm de diamètre après 24 heures d'incubation à 37°C.



Photographie 6.1: Colonie de *Staphylococcus* mannitol +



Photographie 6.2: Colonie de *Staphylococcus* mannitol -

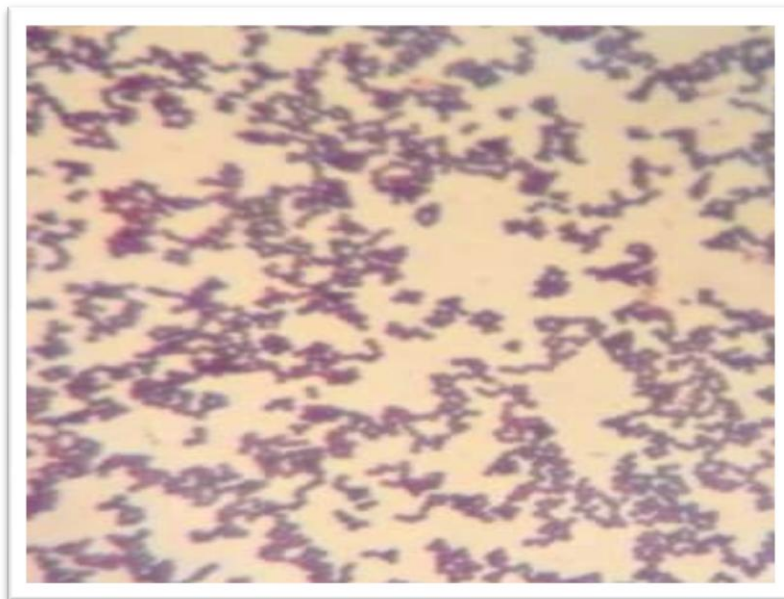
Sur gélose au sang cuit, les colonies ont une couleur blanche ou jaune pigmentée, d'un diamètre variant entre 1 à 3 mm de diamètre, après 24 heures d'incubation à 37°C.



Photographie 07 : Aspect des colonies de *Staphylococcus* isolées sur milieu gélose au sang

II.1.2. Coloration de Gram

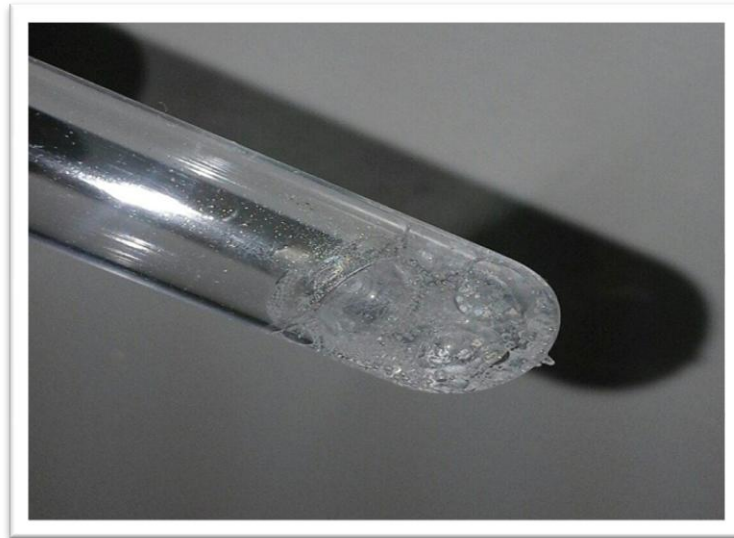
La coloration différentielle pour les 30 isolats isolés met en évidence des cocci sphériques, en grappe de raisin, en paires, colorés en violet.



Photographie 08 : Résultats de la coloration de Gram.

II.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 09 : Production de catalase par les cocci à Gram positif isolés

II.1.4. Test de coagulase

II.1.4.1. Test de coagulase libre

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

- 08 isolats à coagulase positive : *Staphylococcus aureus*;
- 22 isolats à coagulase négative : Autres espèces de staphylocoques.



Photographie 10 : Résultat du test de coagulase libre.

La coagulase transforme le fibrinogène en fibrine, ce qui conduit à la coagulation du plasma (Zinzendorf *et al.*, 2008).

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 positive.

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 négative.

II.1.4.2. Test de coagulase liée

Les staphylocoques qui possèdent le récepteur au fibrinogène et/ou la protéine A sont capables d'agglutiner des particules de latex ou des hématies recouvertes de fibrinogène et d'immunoglobulines humaines.

Si l'agglutination est positive, présence du récepteur au fibrinogène et/ou de la protéine A conclure à l'espèce *Staphylococcus aureus*.

Les résultats de l'identification sont illustrés dans le tableau.

Tableau XII : Résultats de l'identification par les techniques microbiologiques standards

| Caractères principaux | Coloration de Gram | Test catalase | Test coagulase |
|------------------------------|--|----------------------|---|
| 30 isolats sont : | Cocci à Gram positif, colorés en violet, regroupés en grappes de raisin ou en paires | Catalase positive | -08 isolats : coagulase positive -22 isolats: coagulase négative |

II.2. Répartition des isolats de *Staphylococcus* isolés à partir des dispositifs médicaux

II.2.1. Répartition des isolats selon leur classification

L'identification des 30 isolats de Staphylocoques à donné :

- **08** Staphylocoques à coagulase positive (SCP) : *Staphylococcus aureus*;
- **22** Staphylocoques à coagulase négative (SCN).

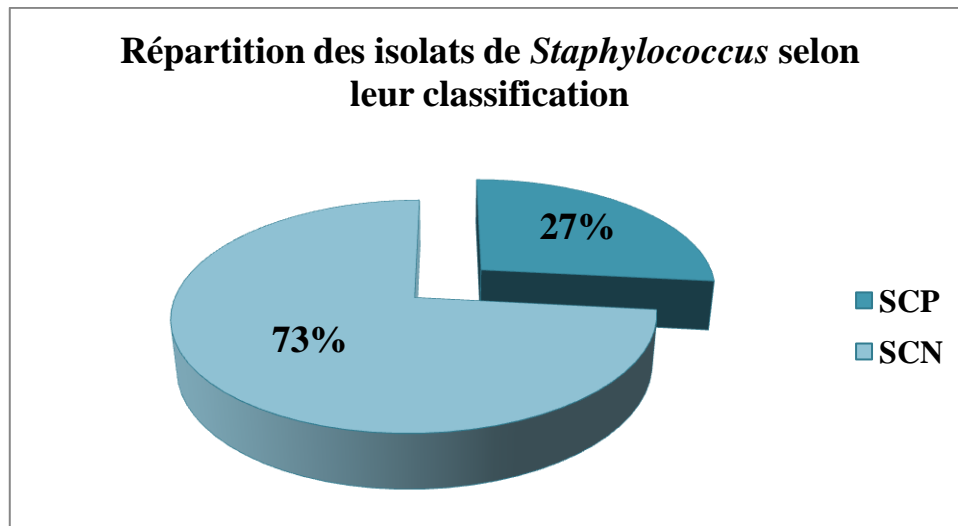


Figure 16 : Répartition des isolats de *Staphylococcus* selon leur classification.

La figure illustre une dominance primordiale des staphylocoques à coagulase négative (SCN), ce qui pourrait s'expliquer par leur prédominance dans la flore commensale cutanée et leur capacité d'adhérer à la surface des dispositifs médicaux.

II.2.2. Répartition des isolats de *Staphylococcus* selon la nature du dispositif médical étudié

II.2.2.1. Répartition des isolats de *Staphylococcus* sur les sondes vésicales

Parmi les isolats qui sont isolés à partir des sondes vésicales, on trouve que les SCN sont le plus isolées à 58%, que les *S.aureus* à 42%.

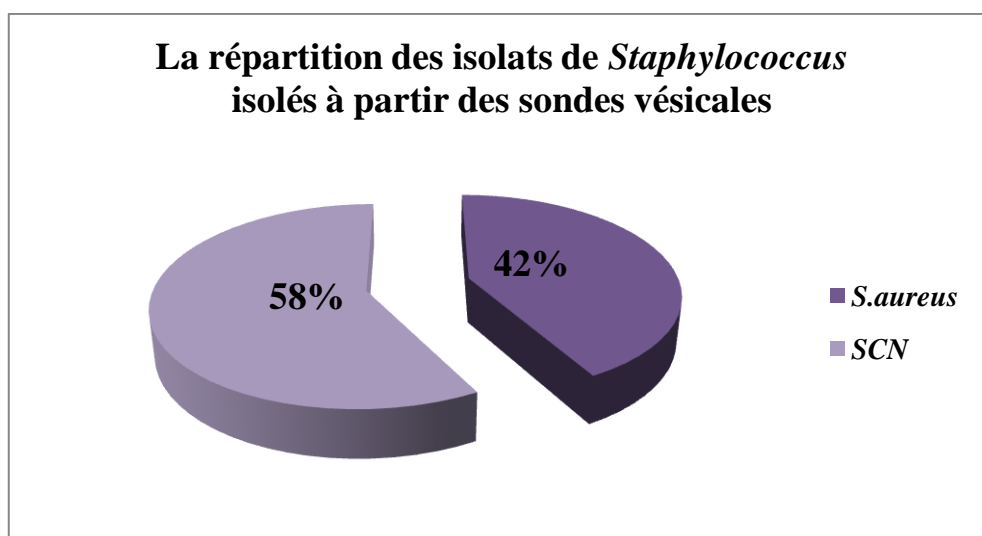


Figure 17 : Répartition des isolats de *Staphylococcus* isolés à partir des sondes vésicales

II.2.2.2. Répartition des isolats de *Staphylococcus* sur les cathéters veineux périphérique

Sur les cathéters veineux périphériques on trouve les deux isolats suivants avec une proportion sur 30% pour les *S. aureus* et 70% pour les SCN.

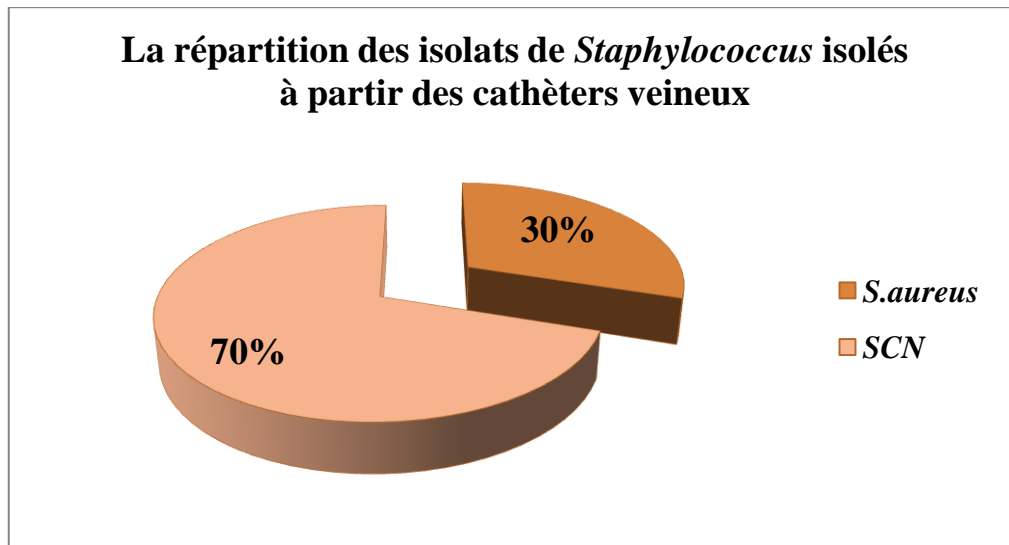


Figure 18 : Répartition des isolats de *Staphylococcus* isolés à partir des cathéters veineux

II.2.2.3. Répartition des isolats de *Staphylococcus* sur les sondes naso-gastriques

Sur les sondes naso-gastriques les *S. aureus* sont plus isolées à 88% que les SCN à 12%.

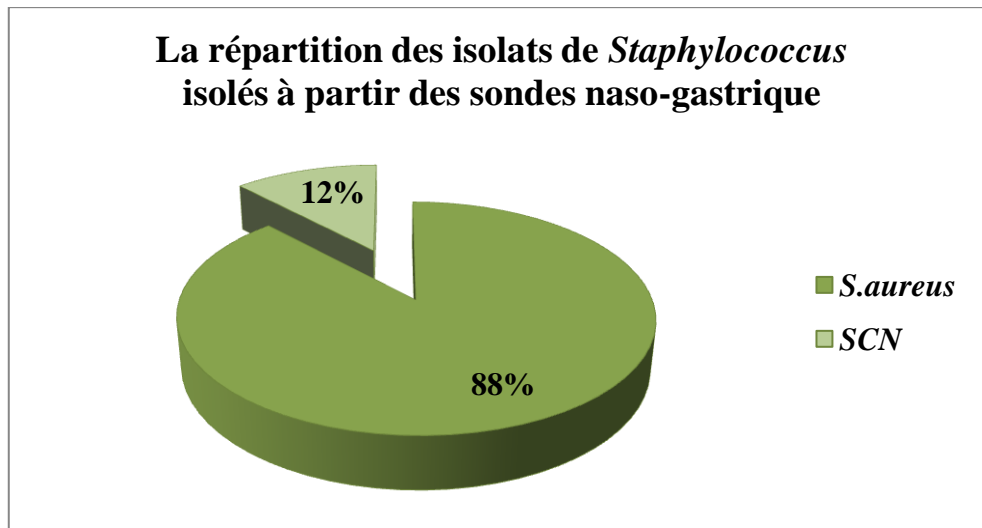


Figure 19 : Répartition des isolats de *Staphylococcus* isolés à partir des sondes naso-gastrique

Les staphylocoques sont responsables de la grande majorité des infections causées par des biofilms (Otto, 2008). La présence de films protéiques sur des dispositifs médicaux en contact direct avec un fluide favorisent la formation de biofilms, Essentiellement les

Staphylococcus à coagulase négative puis les *Staphylococcus aureus* (Mermel et al., 2009).

III. 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 khenchela, 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.

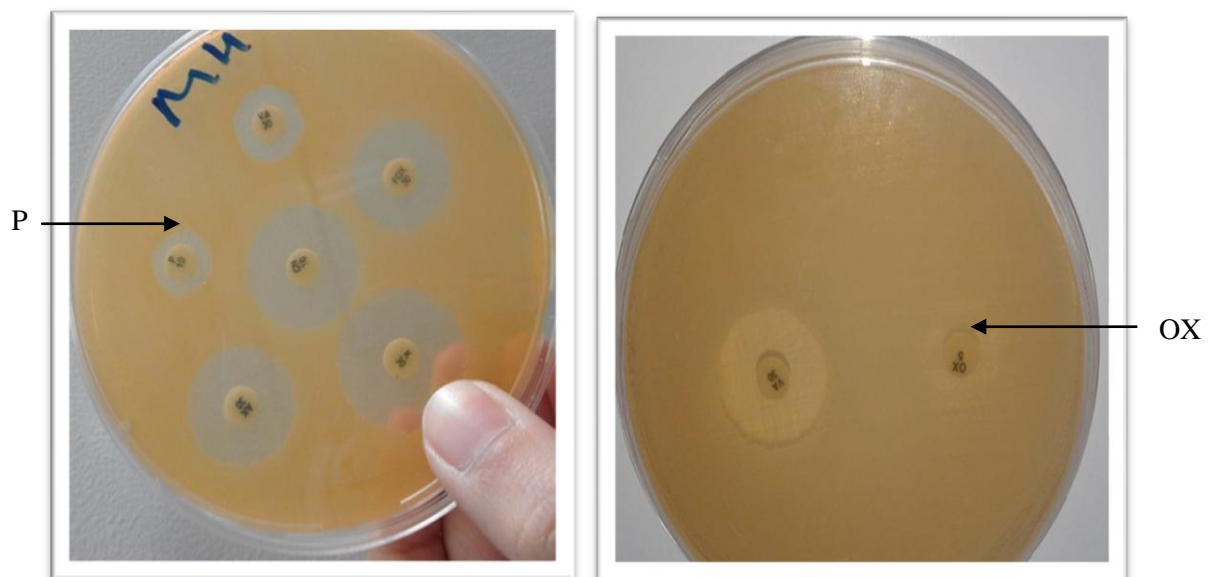
Les *Staphylococcus* isolés ont été testés vis-à-vis de 19 antibiotiques couramment utilisés en thérapeutique clinique.

Sur 30 isolats identifiés, nous avons effectué des antibiogrammes, et les résultats obtenus sont les suivants :

Les SCN ont été comparées avec *S. aureus* pour leur taux de résistance vis-à-vis les 19 antibiotiques utilisés.

- **Pour les β -lactamines**

Les isolats étudiées de *S. aureus* ont présentés un taux élevé de résistance de l'oxacilline (OX), Céfoxitine (Fox) et pénicilline (P) à 100% par rapport à SCN, ce qui traduit l'échappement de *S.aureus* à l'action de β lactamine.



Photographie 11: Effet de β -lactamines sur les isolats de *S.aureus* isolés à partir des dispositifs médicaux

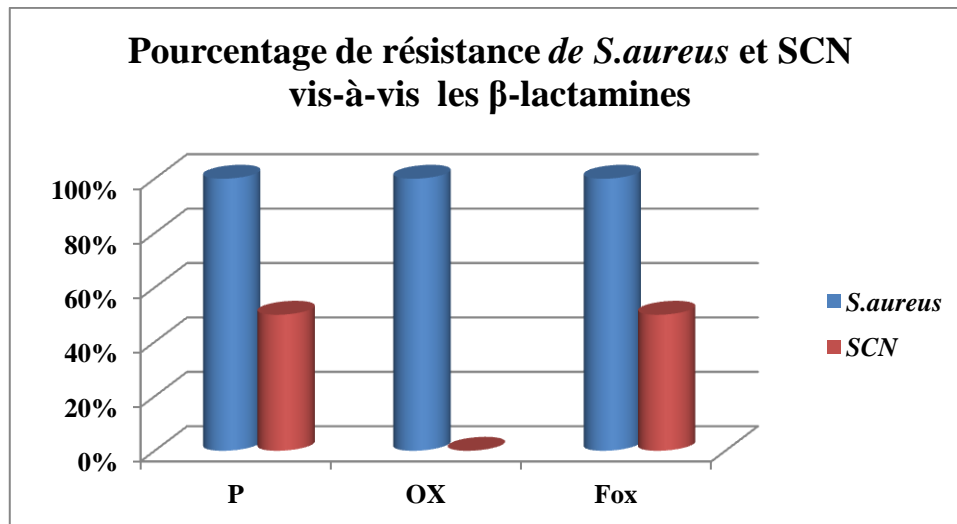


Figure 20: Pourcentage de résistance de *S. aureus* et SCN vis-à-vis les β -lactamines

Les β -lactamines ont pour cibles différentes enzymes (« protéines liant les pénicillines » ou PLP) impliquées dans la formation du peptidoglycane. La fixation des β -lactamines à ces cibles entraîne l'absence de polymérisation du peptidoglycane et secondairement la synthèse par la bactérie d'autolysines conduisant à sa mort. Les β -lactamines sont donc bactéricides (**Daurel et Leclercq, 2008**).

- **La résistance à la méticilline**

Une souche est dite « résistante à la méticilline » lorsqu'elle présente une résistance aux pénicillines du groupe M, et par extension à toutes les β -lactamines (**CASFM, 2010**).

L'oxacilline fait partie des pénicillines M qui sont anti-staphylococciques et résistantes à la pénicillinase du staphylocoque (**Gutmann et Goldstein, 1985**).

La résistance à la méticilline a été testée selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie en utilisant un disque d'oxacilline.

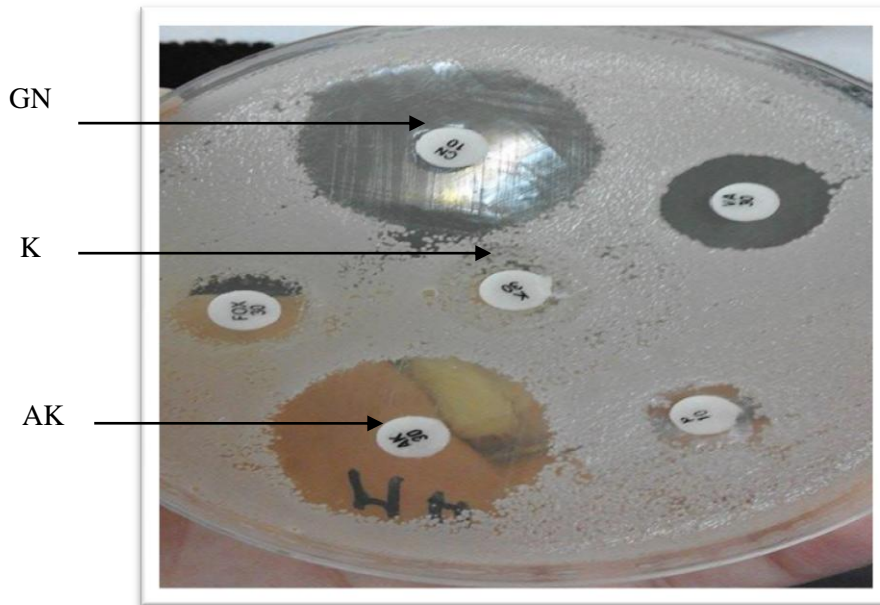
La résistance à la méticilline chez *S. aureus* est due à l'expression d'une protéine liant la pénicilline de faible affinité pour les β -lactamines, la PLP (**Dunman et Projan, 2001**).

Les souches SARM sont le plus souvent résistantes à d'autres classes d'antibiotiques (**Speller et al., 1989**), elles sont considérées comme des bactéries multirésistantes, et la résistance à la méticilline est depuis lors utilisée, comme marqueur de multirésistance (**Grohs, 2009**).

Bien qu'il n'existe pas de définitions de la multirésistance universellement acceptée, certains auteurs qualifient les microorganismes multirésistants par leur aptitude à résister à une ou plusieurs classes d'antibiotiques (**Siegel et al., 2007**), d'autres requièrent pour cette multirésistance au moins trois molécules d'antibiotiques (**Kesah et al., 2003**).

- Pour les Aminosides

Les SCN et *S.aureus* présentent un taux élevé de sensibilité aux l'Amikacine et Gentamicine, et une résistance observée à 75% pour les *S.aureus* et sur 50% pour les SCN vis-à-vis la Kanamycine.



Photographie 12 : Effet des aminosides sur les isolats de SCN

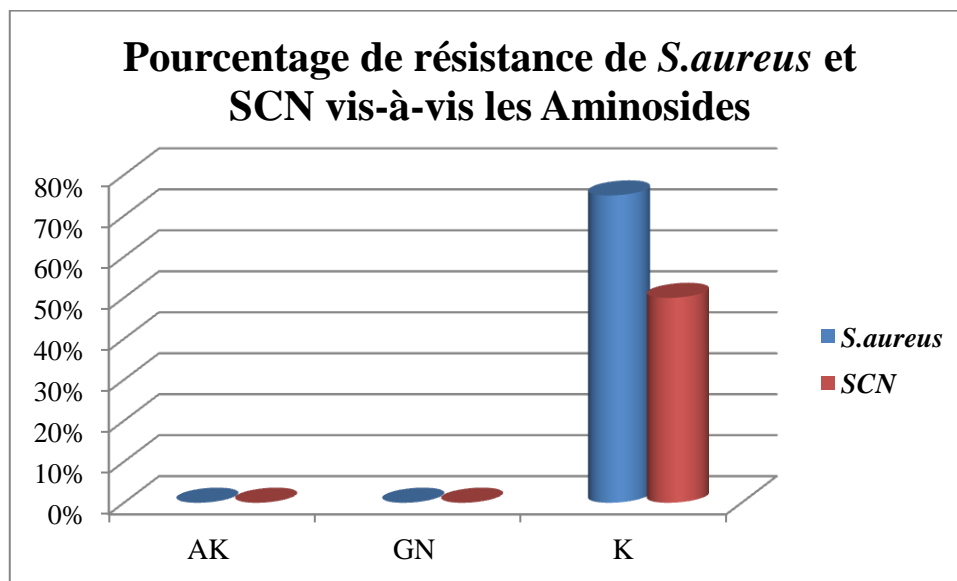
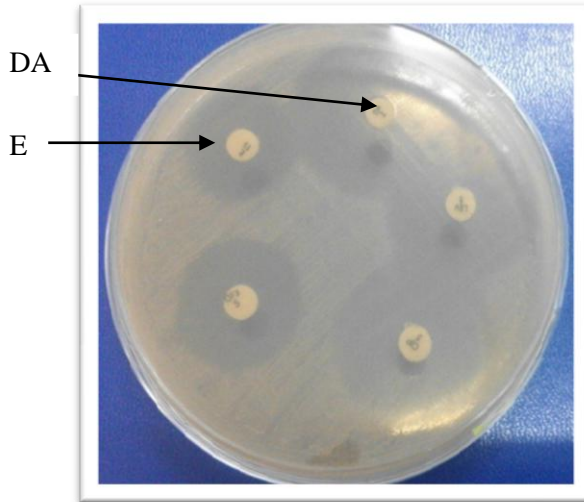


Figure 21: Pourcentage de résistance de *S.aureus* et SCN vis-à vis les Aminosides

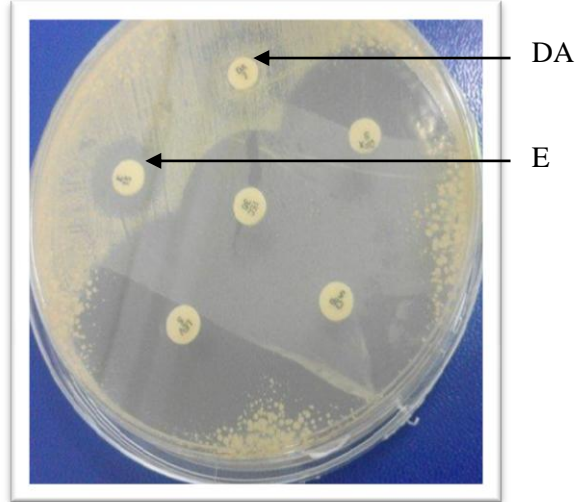
Les aminosides sont des antibiotiques bactéricides à large spectre : actifs sur les staphylocoques, perturbent la synthèse des protéines au niveau du ribosome. Ils doivent donc pénétrer à l'intérieur de la cellule bactérienne (Simonet, 1989).

- **Pour les MLS**

Les Staphylocoques a coagulase négative présentent une résistance importante vis-à-vis l'Erythromycine et Clindamycine à l'exception faite pour la Pristinamycine qui s'est révélée active sur les SCN isolées, Contrairement aux *S. aureus* qui se sont sensibles à ces ABT.



Photographie 13.1: Effet des MLS sur les isolats de *S.aureus*



Photographie 13.2 : Effet des MLS sur les isolats de SCN

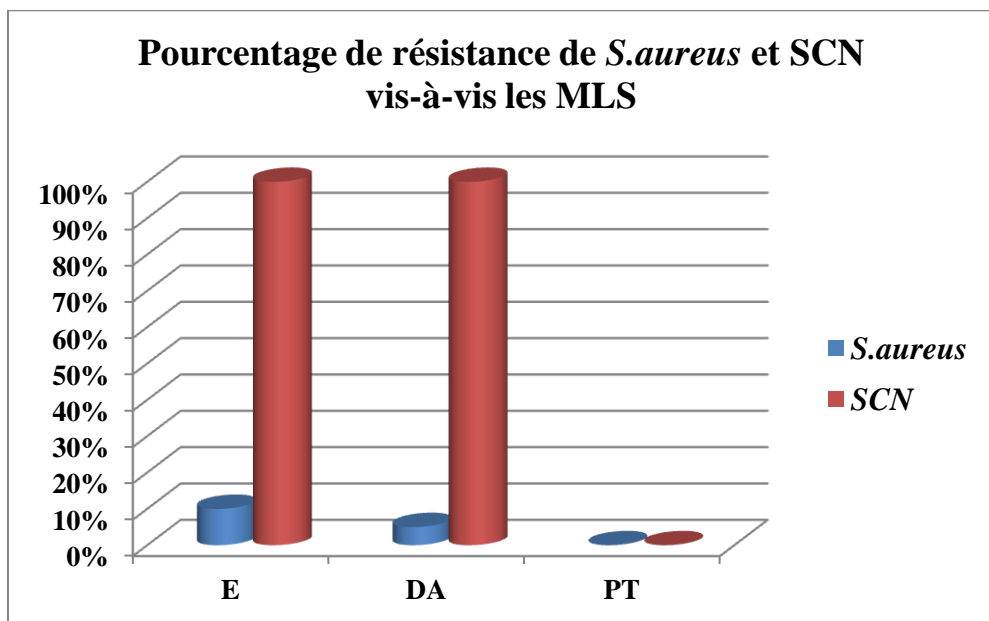


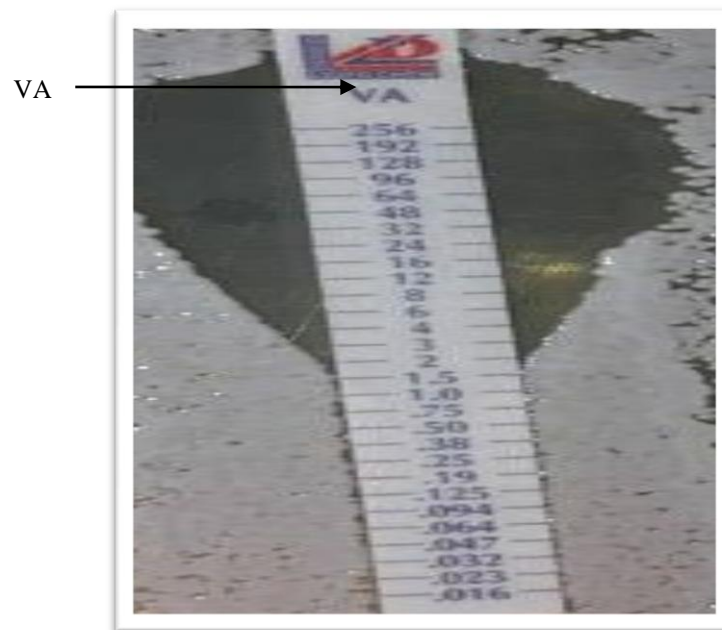
Figure 22 : Pourcentage de résistance de *S. aureus* et SCN vis-à-vis les MLS

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.

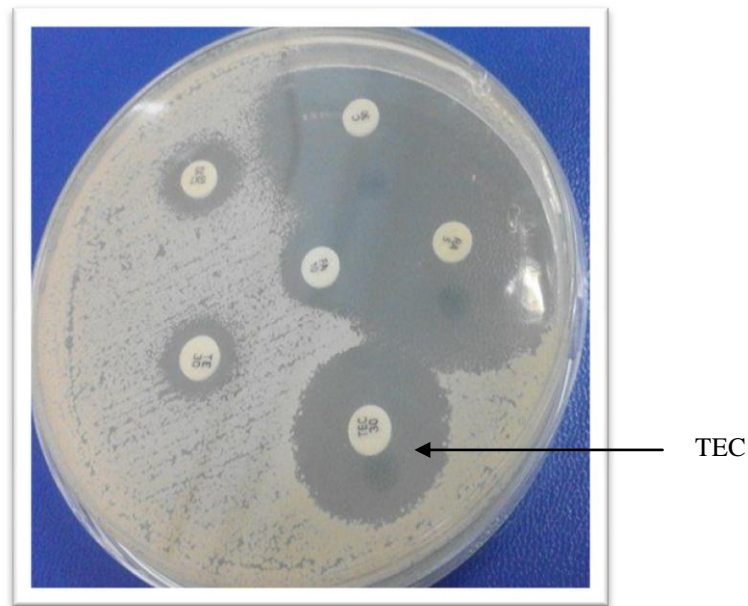
Après La détermination de la CMI on trouve que la Vancomycine est active sur 100% des isolats de *S.aureus* et 50% pour les isolats de SCN



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

La Vancomycine inhibe la transglycosylation en se liant aux substrats de la transglycosylase, c'est à dire le peptidoglycane naissant et la chaîne lipidique monomère précurseur située sur la muréine dans la surface extérieure de la membrane cytoplasmique. Elle se lie à ces cibles vitales en reconnaissant les extrémités de D-alanyl-D-alanine dipeptidiques des muropeptides (**Reynolds, 1989**).

Une sensibilité de 100 % pour les deux isolats *S.aureus* et SCN vis-à-vis la Teicoplanine.



Photographie 15 : Effet de la Teicoplanine sur les SCN isolés à partir des dispositifs médicaux

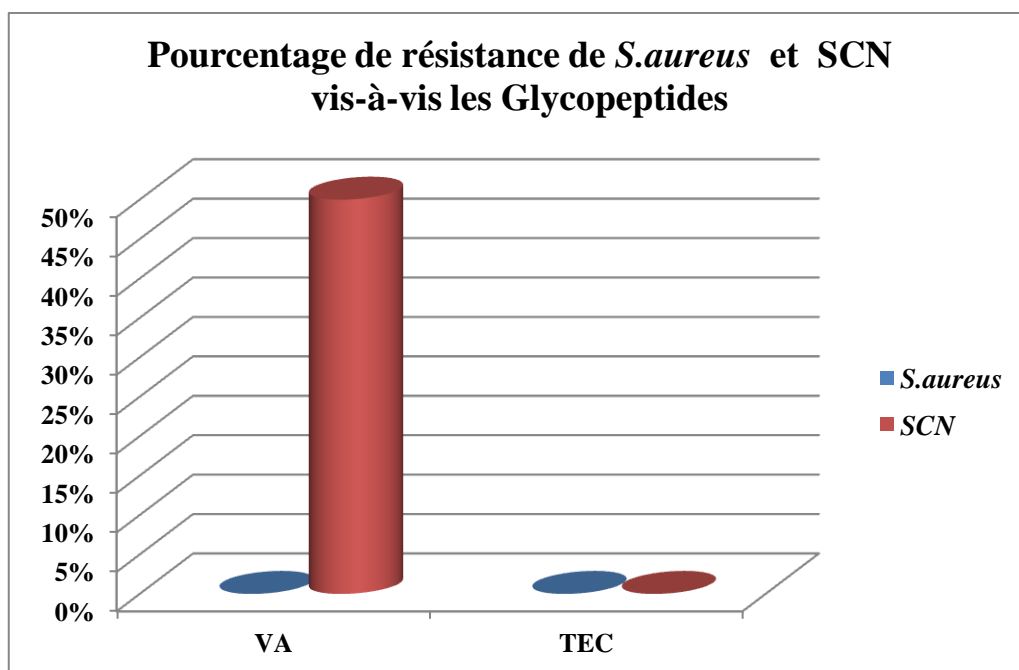
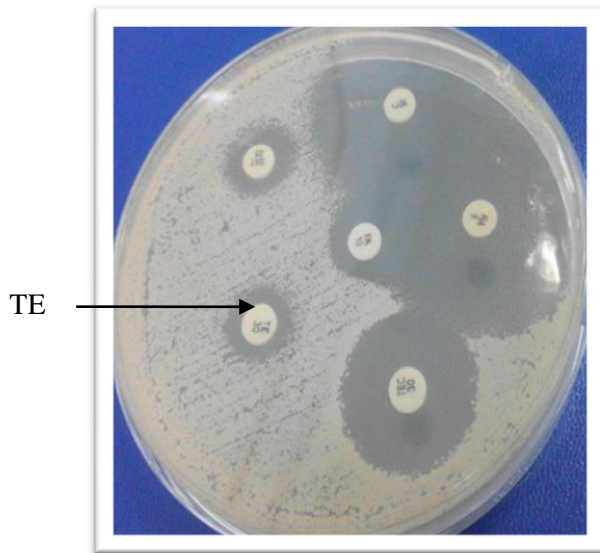


Figure 23 : Pourcentage de résistance de *S. aureus* et SCN vis-à-vis les Glycopeptides

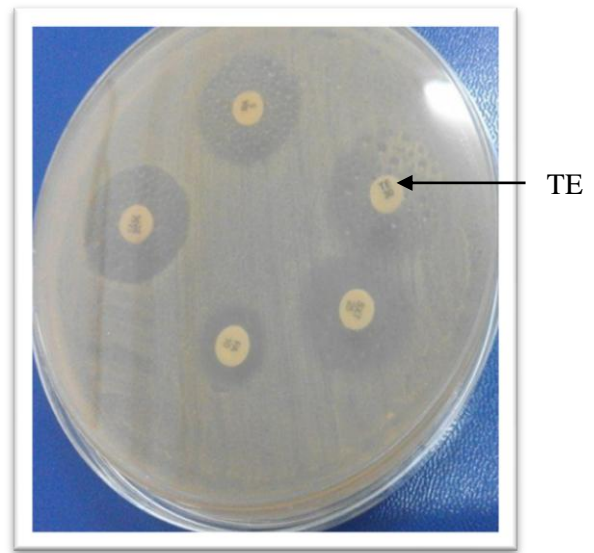
Les glycopeptides ce sont la vancomycine et teicoplanine. Elles sont actives sur les bactéries à Gram positif. Elles sont utilisées essentiellement dans les infections dues aux staphylocoques méticillinorésistants (**Rabaud et May, 2000**).

- **Pour les Cyclines**

Les isolats de *SCN* présentes une résistance importante à 100% pour la tétracycline par contre les *S.aureus* sont sensibles à 100%.



Photographie 16.1: Effet de la Tétracycline sur les SCN



Photographie 16.2 : Effet de la Tétracycline sur les *S.aureus*

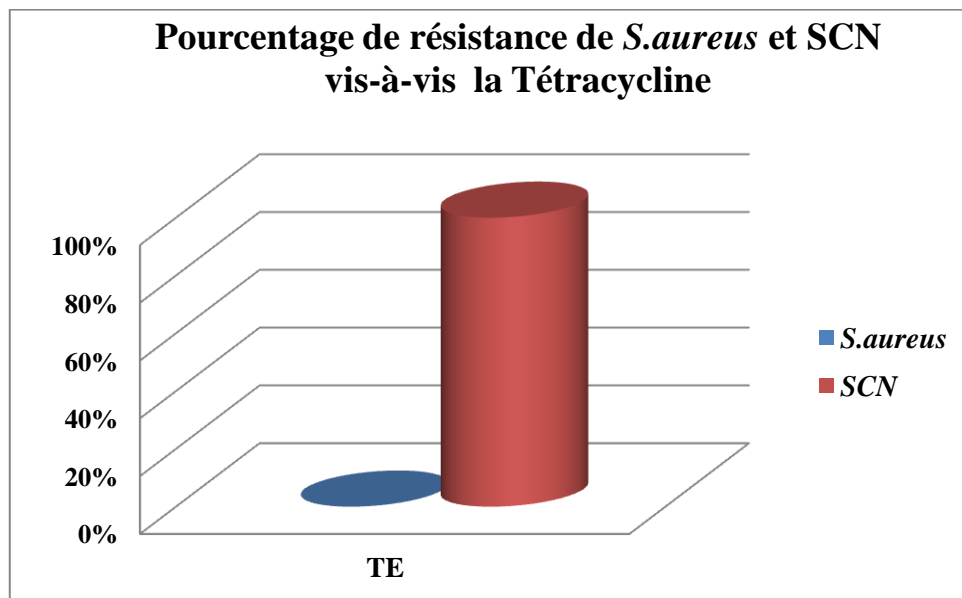


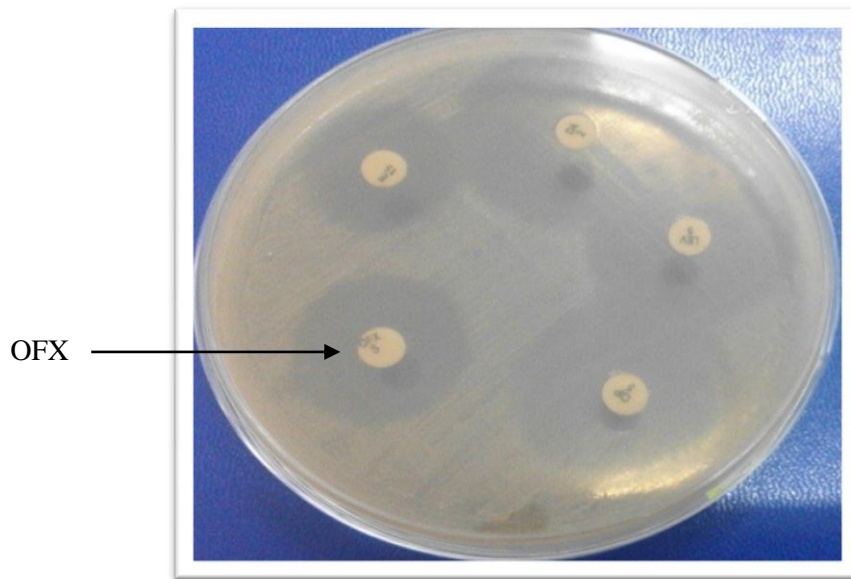
Figure 24 : Pourcentage de résistance de *S. aureus* et SCN vis-à vis la Tétracycline

Les tétracyclines inhibent la synthèse protéique bactérienne. Leur site précis de fixation au ribosome bactérien est encore discuté. Ce serait le site A du ribosome où elles contracteraient des liaisons avec des protéines de la sous-unité 30 S, mais peut être aussi la sous-unité 50 S en moindre proportion. La flexibilité du ribosome est ainsi très diminuée, ce qui empêche la fixation de l'aminocyl-t-ARN et entraîne un blocage de la phase d'élongation de la synthèse protéique (Duval, 1989).

Les tétracyclines sont des antibiotiques à large spectre seulement bactériostatiques (Duval, 1989).

- Pour les Quinolones

Les SCN et *S.aureus* ont une sensibilité totale à l'Ofloxacine.



Photographie 17 : Effet de l'Ofloxacine sur les SCN isolées à partir des dispositifs médicaux

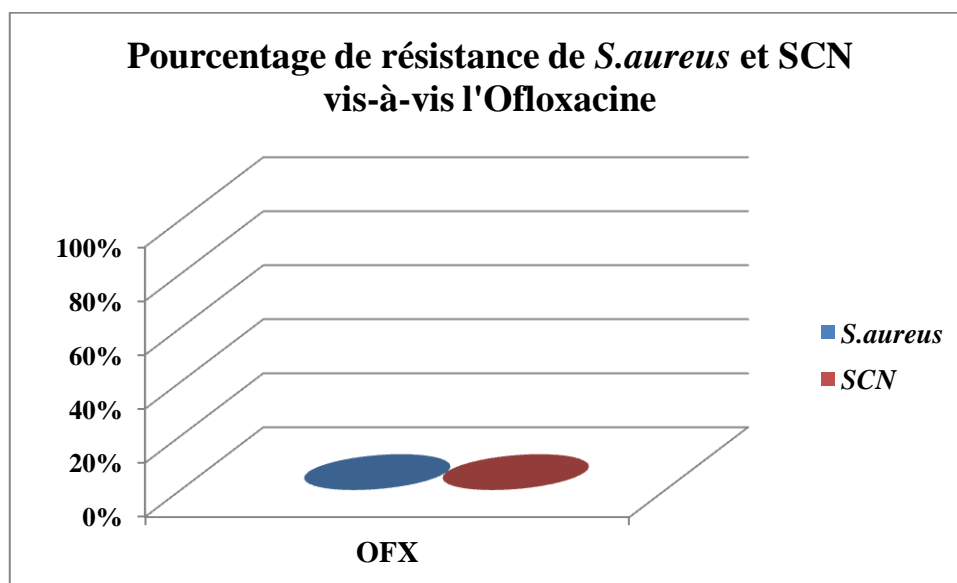


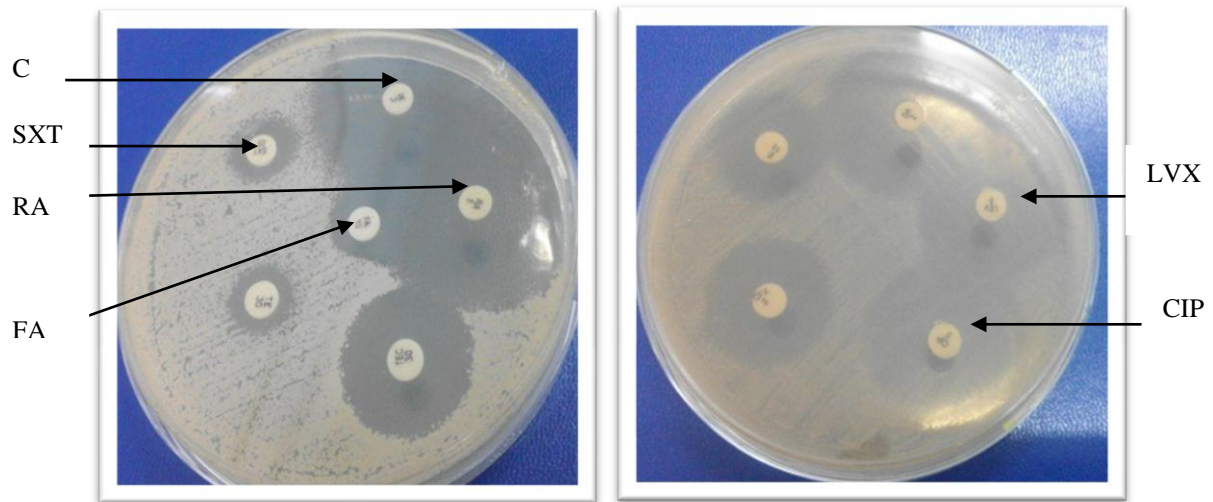
Figure 25 : Pourcentage de résistance de *S. aureus* et SCN vis-à vis la l'Ofloxacine

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 SCN ont une sensibilité importante vis-à-vis la Ciprofloxacine, Rifampicine, Chloramphénicol, Lévofloxacine et une résistance de 100% pour l'acide fusidique et de 80% pour Cotrimoxasole.

Concernant les *S.aureus* ont une résistance aux l'acide fusidique, Cotrimoxazole Ciprofloxacine, Chloramphénicol, Lévofloxacine, et sensibles aux Rifampicine, Lévofloxacine.



Photographie 18: Effet des disques d'antibiotiques sur les SCN isolées à partir des dispositifs médicaux

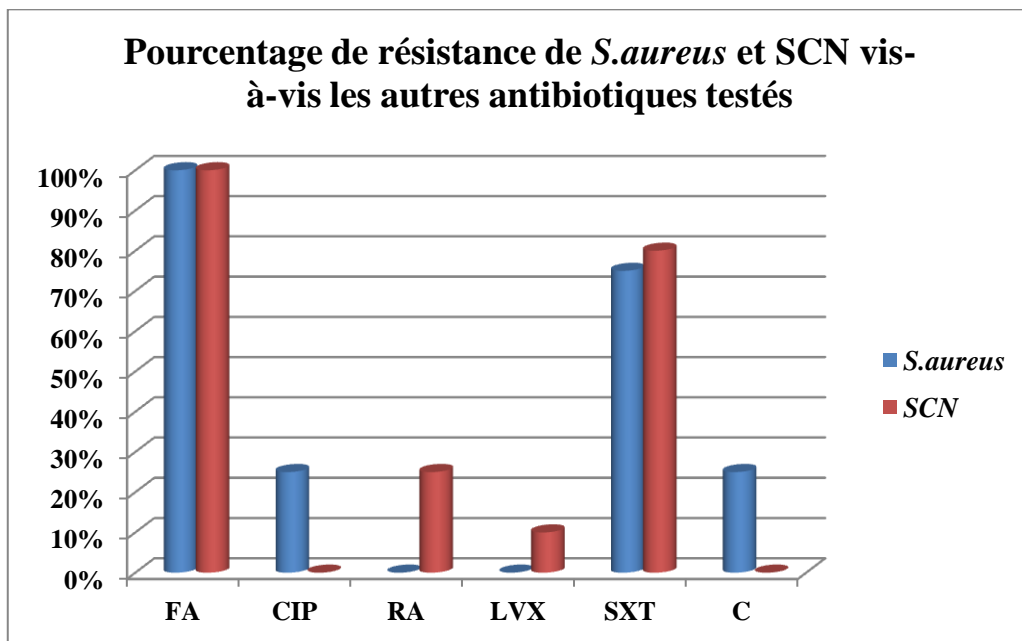


Figure 26 : Pourcentage de résistance de *S, aureus* et SCN vis-à vis les autres antibiotiques testés.

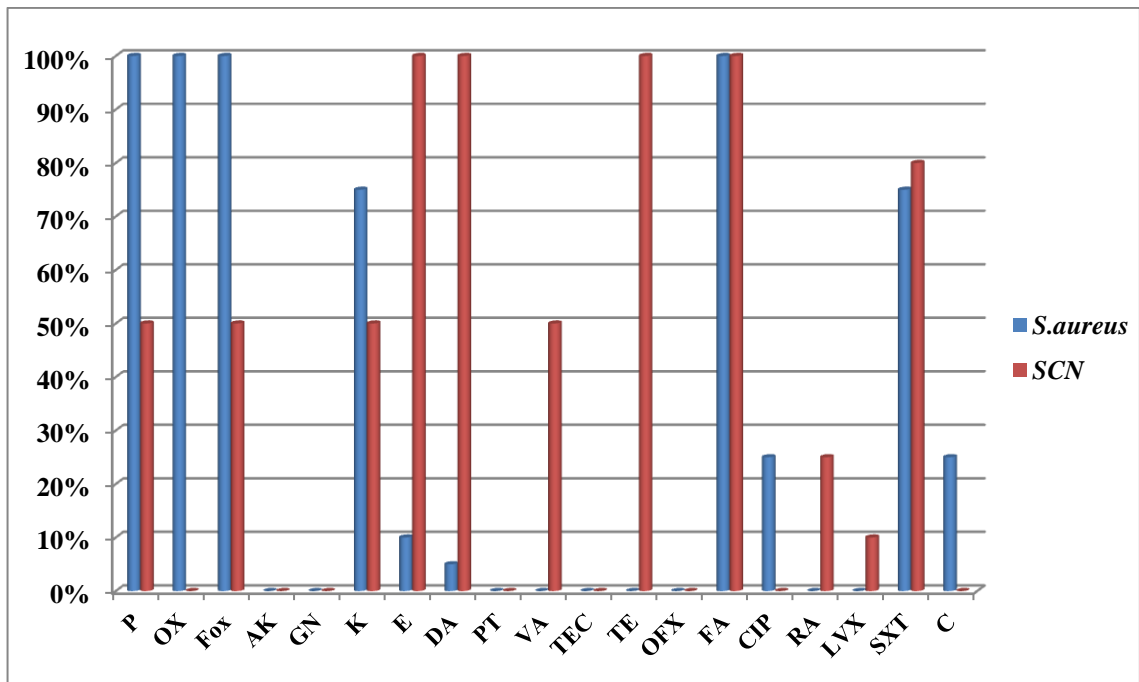


Figure 27 : Pourcentage de résistance de *S. aureus* et SCN vis-à-vis les 19 antibiotiques testés.

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 et perspectives

Les infections acquises à l'hôpital sont une réalité préoccupante surtout dans des services à haut risque tels que le service de chirurgie, qui recrute des patients extrêmement vulnérables à la colonisation et par conséquent à l'infection. Ces infections sont souvent la résultante d'un certain nombre de facteurs tels que les pratiques de soins, l'implantation des dispositifs médicaux comme les cathéters ou les sondes urinaires, la flore liée au patient ou encore l'environnement. Parmi les micro-organismes les plus incriminés dans ces infections, *Staphylococcus* occupe une place privilégiée. Son pouvoir pathogène, son caractère ubiquiste et l'absence d'exigences nutritionnelles font de cette bactérie un exemple d'adaptation et de dissémination surtout lors des ruptures de la barrière cutanée, ou l'immaturation du système immunitaire.

Notre étude effectuée sur une collection de 30 isolats de Staphylocoques parmi 62 prélèvements : 22 SCN et 8 *S. aureus* isolés à partir des dispositifs médicaux au niveau de l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de kenchela entre Mars et Mai 2016 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 73% contre *S. aureus* 27%.
- 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*.
- L'infection sur cathéter, sonde urinaire ou naso-gastrique est liée à la durée de présence de cet implant dans l'organisme, plus l'implant est là depuis longtemps, et plus il y a un risque d'infections. La pose de l'implant doit se faire dans des conditions d'hygiène strictes, afin d'éviter au maximum toute contamination bactérienne.
- 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 β -lactamines en plus d'une résistance inquiétante aux MLS et aux aminosides.
- La Vancomycine a montrée des activités sur la totalité des isolats étudiés, cet antibiotique demeure la molécule de choix contre les infections à staphylocoques.

- La surveillance de la résistance des isolats 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 et qui reste la première source de contamination dans nos hôpitaux. L'infection nosocomiale chez le patient ayant une sonde ou un cathéter veineux est le reflet d'une politique générale d'hygiène, allant des soins infirmiers lors de la pose du cathéter jusqu'à la gestion rigoureuse de l'écologie du service.

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.

*Références
bibliographiques*

Références bibliographiques

A

1. **Alessi M.C. (2000).** Quels nouveaux fibrinolytiques ? Sang, thrombose, vaisseaux. 12(6): 371-8.
2. **Andriole V.T. (2000).** The Quinolones, Elsevier Science 517 pages.
3. **Aouati H. (2009).** Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicillines: étude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Département De Biochimie et De Microbiologie, algérie: thèse N° : 006 / SN / 2009.
4. **Avril J.L, Dabernat H, Denis F et Monteil H. (1992).** Bactériologie clinique 2ème édition. Paris : Ellipses Marketing; p14-16-17.

B

1. **Baird-Parker A.C. (1971).** The grouping of staphylococci and micrococci. *J Clin Pathol.* 24, pp. 769-770.
2. **Balagny E, Coriat P. (2014).** L'anesthésie du patient ambulatoire, La sécurité en anesthésie, La gestion des risques .Edition Arnette. Paris. P : 137.
3. **Bannerman T.L et Peacock S.J. (2007).** Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase positive cocci. In Manual of clinical microbiology 9th edition (Murray, P. R., Baron, E. J., Jorgensen, J. H, Landry, M. L., & Tenover, M. A., Eds): 1 pp 390-411. ASM Press, Washington, DC, USA.
4. **Bascomb S, Manafi M. (1998).** Use of enzyme tests in characterization and identification of aerobic and facultative anaerobic Gram-positive cocci. *Clin. Microbiol. Rev.* 11, 318-340.
5. **Botterel F, Faibis F, Chevalier C, Deliss C, Fiacre A, Dubois A. (2004).** Intérêts et limites de la surveillance des infections nosocomiales à partir du laboratoire de microbiologie : Expérience du CHG de Meaux. *Pathol Biol* ; 52 : 469-473.
6. **Boukhatem M.N, Ferhat M.A, Hadj Mouhamed R. (2015).** Prevalence and antibiotic resistance of Staphylococci isolated from kolia hospital (Algeria), journal of fundamental and Applied sciences.7(2): 260-270.
7. **Bousseboua H. (2002).**Eléments de microbiologie générale. édition de l'université MENTOURI constantine (Algerie), p269.
8. **Butrau-Lemaire M, Botto H. (2008).** Nosocomial urinary infections. *Prog Urol*; 7(4): 674-82.

9. **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.

C

1. **CASFM. (2010).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.
2. **CA-SFM. (2014).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.
3. **Chaala, W. (2013).** Occurrence et profil d'antibioresistance des *Staphylococcus aureus* isolée de produits alimentaires. université d"Es-senia Oran, Algerie.
4. **Chaib Y, ELanssar A, Aouane M, Hamama S, Oujar N, Chakhtour , KH, 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 No, pp. 472-482.
5. **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; pp. 94 :278–285.
6. **Cheung A.L. (2001).** *Staphylococcus aureus* Infection and Disease. Ed Allen L. Honeyman et al. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York.
7. **Costerton J.W, Stewart P.S, Greenberg E.P. (1999).** Bacterial bio-films: a common cause of persistent infections. Science, 284, 1318-1322.
8. **Costerton J.W. (1999).** Introduction to biofilm. International Journal of Antimicrobial Agents. 11:217-721.
9. **Cruse P.J.E, Foord R. (1980).** The epidemiology of wound infection. A10 year prospective study of 62939 wound .Surg.clin.North Amer; 60:27-40.

D

1. **Daurel C, Leclercq R. (2008).** L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. Revue francophone des laboratoires ; N°407 : 81-90.
2. **Delarras C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de controle sanitaire. Paris: Lavoisier.
3. **Deverrière B.V.M. (2007).** Reproduction expérimentale de mammites à *S. aureus* chez la brebis : Comparaison lignées génétiques divergentes pour les comptages cellulaires. Thèse pour obtenir le grade de docteur vétérinaire. Toulouse : Université Paul Sabatier.

4. **Dia N.M, Ka R, Dieng C, Diagne R, Dia M.L, Fortes L. (2008).**Résultats de l'enquête de prévalence des infections nosocomiales au CHNU de Fann (Dakar, Sénégal). *Med Mal inf* , 38 :270-274.
5. **Drancourt M, Adekambi T. (2004).** L'eau en établissement de soins : les infections nosocomiales d'origine bactérienne et leur prévention. Commission Européenne ; 4-38.
6. **Dunman PM et Projan SJ. (2001) .** *Staphylococcus aureus*, Infection and Disease. Ed Allen L. Honeyman *et al.* Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York. p 4.
7. **Dupont H. (2000).** Infections à Staphylocoques. Editions scientifiques et médicales. Elsevier SAS et SFAR.
8. **Durand, GM. Bes, et al. (2006).** Detection of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones containing the toxic shock syndrome toxin 1 gene responsible for hospital- and community-acquired infections in France. *J Clin Microbiol*; pp. 44(3): 847-53.
9. **Duval J. (1989).** Classification et mécanisme d'action des agents antibactériens. In : LE MINOR L et VERON M, eds. Bactériologie médicale, 2ième édition.
10. **Dervaux B, Szwarcensztein2 K, Josseran3 A. (2015).**Evaluation et impaction clinique des dispositifs médicaux. Sociétés Française de Pharmacologie et de Thérapeutique.

E

1. **Espinasse F, Bernard P, Brigitte C.B. (2010).** Risques infectieux associées aux dispositifs invasifs . *Revue Francophone des laboratoires* – novembre 2010 – N° 426.

F

1. **Ferron A. (1988).** *Staphylococcus*. In : Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. Edition C et R, L Madeleine.118-125.
2. **Figarella J. L. (2004).** Microbiologie générale et appliquée. Paris: DELAGRAVE.
3. **Fleurette J. (1989).** Staphylocoques et Microcoques. In Bactériologie médicale. 2ème édition. Paris : Médecine-Sciences. Flammarion ; p 773.

G

1. **Garrity GM, Johnson KL, Bell J, Searles DB. (2002).** *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, second edn. Springer-verlag, New York.
2. **Gayvallet-Montredon N, Sauvestre C, Bergeret M, Gendrel D, Raymond J.(2002).** Bactériémies nosocomiales en pédiatrie. *Arch pédiatr* ; 7 :679-84.
3. **Gordon L, Cloeckert A, Doublet B, Schwarz S, Bouju-Albert A, Ganiere J. P, et al. (2008).** Complete sequence of the florocarring multiresistance plasmid pAB5S9 from fresh water *Aeromonas bestiarum*. *J. Antimicrob. Chemother* , 62: 65-71.

4. **Gordon RJ et Lowy FD. (2008).** Pathogenesis of Meticillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Infection. Clinical Infectious Diseases ; 46:S350-9.
5. **Götz F, Bannerman T, et Schleider K.H. (2006).** The genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In Prokaryotes 3rd edition (Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E., Eds): 4 pp 4-75. Springer, New York, NY, USA.
6. **Grohs P. (2009).** Évolution de la sensibilité de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques : la méticilline est-elle encore un marqueur de multirésistance ? Pathologie Biologie; 57 : 1–8.
7. **Gutmann L et Goldstein F. (1985).** Staphylocoques et beta-lactamines. In : Courvalin P, Goldstein F, Philippon A et Sirot J, eds. L'antibiogramme. Paris : MPC-Vidéom ; 23-8.

H

1. **Hall-Stoodley L, Stoodley P. Evolving (2009).** Concepts in biofilm infections. Cell Microbiol.; 11:1034–1043.
2. **Hamza R. (2010).** Epidémiologie des infections associées aux soins. Revue tunisienne d'infectiologie ; Vol 4 : 1-4.

I

1. **Jin T, Bokarewa M, Foster T, Mitchell J, Higgins J, Tarkowski A. (2004).** *Staphylococcus aureus* resists human defensins by production of staphylokinase, a novel bacterial evasion mechanism. J Immunol; 72:1169-76.
2. **Joffin J-N , G. Leyral, (2006).** Microbiologie technique, tome 1, dictionnaire des techniques. 4^{ème} édition Scérèn, 368 p.

K

1. **Karam O. (2004).** Sepsis à "staphylocoque epidermidis" chez les grands prématurés :
2. **Karou SD, Nadembega MCW, Zeba B, Ilboudo DP, Ouermi D, Pignatelli S, Pietra V, Gbeassor M, De Souza C, Simpre J. (2010)** Evolution de la résistance de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques au Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou. *Med Trop* 2010 ; **70** : 241-244.
3. **Kesah C, Ben Redjeb S, Odugbemi T.O, Boye C.S.B, Dosso M, Ndinya Achola J. O, et al. (2003).** Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in eight African hospitals and Malta. Clin Microbiol Infect; 9: 153–156.
4. **Kloos WE.; Bannerman TL. (1999).** *Staphylococcus* and *Micrococcus*, p. 264 – 282.

L

1. **Langlet S, Quentin G, Contant G, Ghnassia C.J. (1999).** Method chromogénique d'identification rapide de *Staphylococcus aureus*. Annales de Biologie clinique; pp.57(2) : 191-6.
2. **lebeaux D, lucet J.C, Barbier F.S. (2016).** Nouvelles recommandations pour les infections associées aux biofilm : implication en réanimation.
3. **Legeay C, Bourigault C, Kouatchet A.T, Lepelletier D, Zahar J.R. (2014).** De la colonisation à l'infection par des bactéries multirésistantes aux antibiotiques : identification et maîtrise du risque chez les patients hospitalisés en réanimation. Réanimation, 24:S297-S303.
4. **Lesieur C, Vecsey-Semjen B, Abrami L, Fivaz M, van der Goot F.G. (1997).** Membrane insertion: the strategies of toxins. Mol Membr Biol; pp. 14:45-64.
5. **Leslie P. (2013).** Service de Biostatistique et Information Médicale. Hôpital Saint-Louis, Paris.
6. **Leyral et Vierling (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires, p : 287.
7. **Lowy F.D. (1998).** *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med; pp. 339:520–532.

M

1. **Makris G, Wright D.J, Ingham E, et Holland T.K. (2005).** The hyaluronate lyase of *Staphylococcus aureus*- a virulence factor? Microbiology; pp 150:2013.
2. **Margot P , Chantal G. (2009).** Les infections nosocomiales - Agir ensemble pour des milieux cliniques sains et sécuritaires, La gestion des risques 1re partie; p: 1-19.
3. **Mermel L.A, Allon M, Bouza E, Craven D.E, Flynn P, O'Grady N, Raad I.I, Rijnders B, Sherertz R.J, et Warren D. (2009).** Clinical Practice - Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection: Update by the Infectious Diseases Society of America. Clinical Infectious Diseases, 49:1-45.
4. **Meunier O. (2006).** Mém*Hygiène.Editions Arnette.
5. **Missika P, Drouhet G. (2001).** Hygiene, asepsie, ergonomie ,un défi permanent. Editions Cdp.P.
6. **Motaouakkil S , Aalloula O. (2011).** Infections nosocomiales: L'affaire de tous, 2eme Edit.

N

1. **Nauciel C. (2000).** Bactériologie médicale. Edition Masson- Paris.

Q

1. **O’Riordan C, Lee J.C. (2004).** *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides, *clin Microbiol Rev.* pp. 17(1) : 218-234.Paris : Flammarion; 273-96.
2. **Oufrid S, Ghazlane Z, Jamali L, El Otmani F, Talmi M, Elmdaghri N, Zerouali K, Timinouni M. (2014).** Correlation between staphylococcal biofilm formation *in vitro* and potential for catheter-related infections. Laboratory of Microbiology, Faculty of Medecine and Pharmacy, Hassan II University, Casablanca, Morocco .368-372.
3. **Otto M. (2008).** Staphylococcal Biofilms, *Curr Top Microbiol Immunol*; 322: 207– 228.

P

1. **Parker MW, Feil SC. (2005).** Pore-forming protein toxins: from structure to function. *Prog Biophys Mol Biol*; pp 88:91-142.
2. **Patti JM, Allen BL, McGavin MJ, Hook M.(1994).** MSCRAMM-mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu Rev Microbiol.* 48:585–617.
3. **Peacock S J. (2006).** *Staphylococcus aureus* in: Principales and practice of clinical bactériology. 2nd edition. England: John Wiley et Sons Ltd; p 76.
4. **Percival S.L, Bowler P.G (2004 a).** Biofilms and their potential role in wound healing. *Wounds* 16, 234-240.
5. **Percival S.L, Bowler P.G. (2004 b).** Understanding the effects of bacterial communities and biofilms on wound healing. *World Wide Wounds.*
6. **Poncholi V. (2002).** Staphylococcal extracellular surface enzymatic activity.In: *Staphylococcus aureus* infection and Disease. USA : Kluwer Academic Publishers; p 145.
7. **Pourreau, A. (2008).** Analyse systémique des risques liés aux cathéters veineux centraux en service de réanimation. Ecole Nationale Supérieure des Mines, Saint-Etienne.
8. **Prescott L.M, Harley J.P, Klein D. (2007).** Microbiologie. 2ème Edition Française. De Boeck Université ; p 35 :700-922.
9. **Prescott, L. M. (2009).** MICROBIOLOGIE (2eme éd). FRANCE: De Boeck.
10. **Pulverer G, Peters G, Schumacher-Perdreau F. (1987).** Coagulase-negative staphylococci. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg [A]*. 264, pp. 1-28.

R

1. **Rabaud C et May T. (2000).** Glycopeptides. *Encycl Méd Chir, Maladies Infectieuses.*
2. **Reynolds PE. (1989).** Structure, biochemistry and mechanism of action of glycopeptides antibiotics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*; 8:943-950.

S

1. **Schaechter M, Medoff G, Eisenstein Barry I. (1999).** Microbiologie et pathologie infectieuse. De Boeck Université, Paris Bruxelles ; p.188-189.
2. **Schlievert PM, Case LC. (2007).** Molecular analysis of staphylococcal superantigens. *Methods Mol Biol*; pp. 391:113-26.
3. **Siegel J, Rhinehart E, Jackson M, Chiarello L. (2006).** Management of multidrug-resistant organisms in health care settings. *Am J Infect Control* 425 2007; 35:S165–93.
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 : 197-203.
5. **Simonet M. (1989).** Structure, mode d'action des antibiotiques et mécanismes de la résistance bactérienne. In : Berche P, Gaillard JL et Simonet M, eds. *Bactériologie : les bactéries des infections humaines*. Paris : Flammarion; 575-92. Situation à Genève, entre 1995 et 2002. Thèse de doctorat: Université de Genève. 41P.
6. **Soussy CJ. (1985).** Quinolones. In : Courvalin P, Goldstein F, Philippon A et Sirot J, eds. *L'antibiogramme*. Paris : MPC-Vidéom; 57-63.
7. **Speller DC, Johnson AP, James D, Marples RR, Charlett A, George RC. (1989).** Resistance to methicillin and other antibiotics in isolates of *Staphylococcus aureus* from blood and cerebrospinal fluid. England and Wales. *Lancet*; 350:323-5.

T

1. **Tally P.F. (1999).** Les staphylocoques, abcès et autres maladies. In : *Microbiologie et pathologie infectieuse*, 2ème édition. De Boeck; pp 192-193.
2. **Tremblay Y.D.N, Hathroubi S, Jacques, M. (2014).** Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *Canadian Veterinary Medical Association* 78(2): 110–116.
3. **Tortora G.J, Funk B.R? Case C.L. (2003).** Introduction à la microbiologie. Ed: Renouveau pédagogique.

V

1. **Vaudaux P, Pittet D, Haerberli A, Huggler E, Nydegger U. E, Lew D. P, Waldvogel F. A. (1989).** Host factors selectively increase staphylococcal adherence on inserted catheters: a role for fibronectin and fibrinogen or fibrin. *J Infect Dis* 160, 865-875.
2. **Vincenot F, Saleh M, Prévost G. (2008).** Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. *Revue francophone des laboratoires*; pp. 407:61-69.

3. Vincent, J. L.-C. (1995). The prevalence of nosocomial infection in intensive care.

W

1. Watnick P, Kolter R. (2000). Biofilm: city of microbes. *J Bacteriol.* 182 (10): 2675-9.

X

2. Xia G, Kohler T, Peschel A. (2010). The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Medical Microbiology*; pp.300:148–154.

Z

1. Zerouali K, Timinouni M. (2014). Correlation between staphylococcal biofilm formation *in vitro* and potential for catheter-related infections. Laboratory of Microbiology, Faculty of Medicine and Pharmacy, Hassan II University, Casablanca, Morocco .368-372.

2. Zinzendorf N.Y, Baba-Moussa L, Edoh V, Sanni A, Loukou Y.G. (2008). Délai de production de la coagulase chez 180 souches de staphylococcus aureus isolées à Abidjan. Laboratoire de Bactériologie et de virologie, UFR de Pharmacie, Université d'Abidjan-Cocody ; 53(3).

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 (bovin et porcin)..... | 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 |
| Chlorure de sodium..... | 5.0g | l'autoclave à 120°C |
| Agar..... | 0.7g | 30 min |

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

Bouillon cœur-cervelle (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 : Réactifs et solution**Sérum physiologique :**

| | |
|-------------------------|---------|
| Chlorure de Sodium..... | 9g |
| Eau distillée | 1000 ml |

Plasma de lapin**Composition :**

| | |
|----------------------------------|------------------|
| Plasma de lapin lyophilisé..... | 1 flacon: 10 ml |
| Diluant (oxalate de sodium)..... | 1 ampoule: 10 ml |

Préparation :

10 ml de solvant additionné stérilement dans le flacon de plasma de lapin lyophilisé.
Agiter pour favoriser la dissolution en évitant la formation de mousse.

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 |

Fuschine de ziehl:

| | |
|----------------------|--------|
| Fuchine 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.

| Antibiotiques testés | Charge des disques | S, aurues ATCC25923 |
|------------------------|--------------------|---------------------|
| Amikacine | 30 µg | 20-26 |
| Céfoxitine | 30 µg | 23-29 |
| Chloramphénicol | 30 µg | 19-26 |
| Clindamycine | 2 µg | 24-30 |
| Erythromycine | 15 µg | 22-30 |
| Fosfomycine | 200 µg | 25-33 |
| Gentamicine | 10 µg | 19-27 |
| kanamycine | 30 µg | 19-26 |
| Levofloxacin | 5 µg | 25-30 |
| Ofloxacin | 5 µg | 24-28 |
| Oxacilline | 1 µg | 18-24 |
| Pénicilline | 10 UL | 26-37 |
| Rifampicine | 5 µg | 26-34 |
| Tétracycline | 30 µg | 24-30 |
| Teicoplanine | 30 µg | 15-21 |
| Vancomycine | 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 | --- | ≥22 | - |
| Céfoxitine (30µg) Fox | - | ≤24 | --- | ≥25 | - |
| | | <i>S.aureus</i> | | | |
| | | SCN | | | |
| 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 | - |
| Oflaxacine (5µg) OFX | - | ≤14 | 15-17 | ≥18 | - |
| Ciprofloxacine (5µg) CIP | - | ≤15 | 16-20 | ≥21 | - |
| Lévofloxacine (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 | - |

Annexes 04 : Matériel et réactifs utilisés

Matériel et appareillages

- Bec bunsen
- Pipettes graduées stériles
- Portoir pour tubes à essai
- Tubes sec
- Pipettes Pasteur stériles
- Bain marie
- Boîtes de pétri
- Étiquètes
- Marqueur
- Écouvillons
- Des lames
- Etuve électrique
- Microscope optique
- Pince
- Once de platine

Milieux de culture et additifs

- Gélose Mueller Hinton
- Le sang
- Disques d'antibiotiques

Colorants de Gram

- L'huile de cèdre
- Violet de Gentiane
- Lugol
- Alcool
- Fuchsine

Résumé

Etude de l'antibiorésistance des isolats des Staphylocoques isolés des dispositifs médicaux de l'hôpital Ahmed Ben Bella de la wilaya de Khenchela

Résumé

Dans le milieu hospitalier, l'utilisation des implants médicaux a connue un essor important. Pour diverses raisons, ces implants sont pendant des durées variables laissés en place, ce qui peut servir de support pour l'adhérence des micro-organismes. 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 30 isolats de Staphylocoques isolés des dispositifs médicaux dans 04 services de l'hôpital Ahmed ben Bella de khenchela. Un total de 30 isolats appartenant au genre *Staphylococcus* ont été isolés, identifiés, testés à 19 antibiotiques. Les isolats étudiés ont présenté des pourcentages élevés de résistance à 80 à 100% au β -lactamine, les Aminosides et une sensibilité variable pour les autres antibiotiques testés. La Vancomycine demeure la molécule de choix contre les infections à Staphylocoques.

La lutte contre les infections sur les dispositifs médicaux passe obligatoirement par le respect des règles d'hygiène et d'asepsie. La maîtrise des techniques de soin est la seule garante de la qualité de sécurité des soins prodigués aux patients.

Mots clés: Adhésion bactérienne, dispositifs médicaux, antibiorésistance, infection nosocomiale Staphylocoques.