



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**

**Identification et antibiorésistance de la flore bactérienne  
d'un biofilm, à partir d'un instrument médical**

**Présenté par :**

*Kadri loubna*

*Merabet Ibtissam*

**Encadré par :**

*Boutarfa Soumia*

**Soutenu le : 15/06/2015**

### **Jury de soutenance**

Président	: Yakhlef W.	Maitre assistante	Université Abbès Laghrou - Khenchela
Encadreur	: Boutarfa S.	Maitre assistante	Université Abbès Laghrou - Khenchela
Examineur	: Chorfi K.	Maitre assistante	Université Abbès Laghrou - Khenchela
Invité	: Ramdani H.	Capitane	Médecin de l'hôpital militaire de Constantine

**Promotion : Juin 2015**

---

Ce travail est réalisé au : laboratoire de l'hôpital militaire Ali mendjli de Constantine et au laboratoire de l'établissement publique hospitalier Ahmed Ben Bella de khenchela.

# Remerciements

*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 M<sup>elle</sup> Yakhlef W. Maitre assistante 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 maitre M<sup>elle</sup> Chorfi K. Maitre 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 vous remercions aussi pour votre gentillesse et votre spontanéité. Vos qualités humaines et professionnelles seront pour nous un exemple à suivre dans l'exercice de notre métier*

*Nous remercions M<sup>elle</sup> Boutarfa S. Maitre 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 Capitaine Ramdani H. Pour son soutien et son aide précieuse durant notre période de stage.*

*Ce travail de thèse a été réalisé à laboratoire centrale de l'hôpital Militaire Ali Mendjli de Constantine, merci pour l'équipe de microbiologie dirigée par madam Ouchnene pour son accueil.*

*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.*

*Nous remercions Mr Mourad (chef de service de bloc opératoire), et tout le personnel pour nous avoir accueillis au sein de leur service.*

*Merci à tous pour votre soutien et votre bonne humeur au quotidien.*

*Et surtout remercier monsieur Adel et Merabet Moussa.*

*Ibtissam et Loubna*

# Dédicaces



*Toutes les lettres ne seraient trouver les mots qu'il faut...*

*Tous les mots ne seraient exprimer la gratitude, L'amour, le respect, la reconnaissance ..., c'est tout simplement que Je dédie cette thèse*

*A mes adorables parents qui étaient toujours présents avec leur soutien moral et matériel, derrière toutes mes réussites depuis l'école primaire Jusqu'à ce jour;*

*A mes chers parents*

*Je ne peux passer sous silence la patience dont a dû faire preuve, ma chère famille, notamment mon adorable père, pour avoir toujours été là quand j'en avais besoin, merci pour tes concessions et tes sacrifices. La personne la plus chère à mon cœur: Maman qui m'a supportée vaillamment pas à pas tout au long de ma vie..., qui a toujours été convaincue que j'y arriverai m'a soutenu même quand le moral était bas. Mama, tu es la seule qui me comprenne : Je te demande pardon et encore une fois Merci.*

*A mes frères: YOUNESS, ISHAK, OKBA et ARAFET*

*A mes soeurs: HADJIRA, SELMA et MARWA pour leurs encouragements et leur compréhension.*

*A mes chères enseignantes : CHORFI K., BOUTARFA S., LEULMI N.*

*Spéciale dédicace à mon amie et binôme IBTISSEM*

*A tous mes camarades de promotion de Microbiologie et surtout Ahlam, Noura, et Nawal.*

*Loubna*

# *Dédicace*

*Je dédie cet humble travail*

*A ALLAH le tout puissant à qui je dois tout.*

*A mon cher père laid*

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

*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 chère mère massaouda*

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

*Qu'Allah puisse t'accorder encore santé, bonheur, et longévité*

*A mes frères et mes sœurs :*

*Djamel, djoud, wafia (Wafa), mimi (Malika)*

*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.*

*A toute ma grande famille*

*Merci pour vos conseils et vos encouragements.*

*Je remercie particulièrement mes amies :*

*Noura, Ahlem, Ismahene, Widad, Fatima et Amel*

*Pour l'humour et la vivacité d'esprit, et pour m'avoir encouragé pour terminer mon parcours universitaire.*

*Ibtissam*

## 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 : les biofilms

I.1. Historique	05
I.2. Définition	05
I.3. Caractéristique de biofilms	06
I.4. Le cycle de formation d'un biofilm	07
I.5. Les facteurs favorisant la formation d'un biofilm	08
I.5.1. Propriétés des cellules bactériennes	09
I.5.2. Caractéristiques du milieu	09
I.5.3. Caractéristiques de la surface	09
I.5.3.1. Rugosité de la surface	09
I.5.3.2. Propriétés physico-chimiques de la surface	10
I.5.3.3. Présence de polymères sur la surface	10
I.6. Régulation de la formation des biofilms	10
I.6.1. Le quorum sensing	10
I.6.1.1. Définition et mécanismes	10
I.6.1.2. Les molécules du quorum sensing	11
I.6.1.3. Rôles du quorum sensing	11
I.6.1.4. Altération du quorum sensing et Conséquences	11
I.6.2. Régulation génétique par les cellules fixées	12
I.7. Résistance des biofilms à divers agents antimicrobiens	12
I.7.1. Résistance des biofilms aux antibiotiques	13
II. Les biofilms et le monde médical	13

### Chapitre II : le monde médical

I.1. Définition d'un dispositif médical	15
I.2. La classification des DM	15
I.2.1. Classification des DM en fonction de leur rôle	15
I.2.1.1. Les dispositifs médicaux actifs (DMA)	15
I.2.1.2. Les dispositifs médicaux implantables (DMI)	16

I.2.1.3. Les dispositifs médicaux invasifs	16
I.2.2. Classification des DM selon leur niveau de risque	16
I.3. La flore microbienne et colonisation du dispositif médical	17
II. Les biofilms et l'homme	17
II.1. Les infections dues aux biofilms	17
II.1.1. Les infections nosocomiales	17
II.1.1.1. Définition	17
II.1.2. Fréquence et incidence des infections nosocomiales	18
II.1.3. L'origine d'infection nosocomiale	19
II.1.3.1. Origine endogène	19
II.1.3.2. Origine exogène	19
II.1.4. Les principaux germes responsables d'infections nosocomiales	20
II.1.5. Epidémiologie des infections nosocomiales	21
II.1.6. Prévention des infections nosocomiales	22
II. 2. Moyens de lutte contre les biofilms	22
II.2.1. Combattre la formation de biofilms	23
II.2.1.1. Techniques couramment utilisées	23
II.2.1.2. Les nouvelles technologies au service de la lutte contre les biofilms	23
II.2.2. Suppression des biofilms déjà formés	24
II.2.2.1. Techniques d'élimination des biofilms couramment utilisées	25
II.2.2.1.1. Elimination mécanique du biofilm	25
II.2.2.1.2. Antibiothérapie	25
II.2.2.2. Recherche de nouvelles thérapies antimicrobiennes	25
III. Biofilms et antibiorésistance	25
III.1. Facteurs de résistance innés	26
III.1.1. Rôle de la matrice	26
III.1.2. Insuffisance des conditions nutritives. Entrée en métabolisme ralenti	26
III.1.3. Présence de variant phénotypiques	27
III.1.4. Synthèse de molécules spécifiques	28
III.2. Facteurs de résistance induits	29

## Matériels et méthodes

I. Lieu et cadre d'étude	32
II. Prélèvement des dispositifs médicaux	32
II.1. Origine et types de prélèvement	32
II.1.1. Prélèvement des sondes urinaires	32
II.2.2. Prélèvement distal protégé (PDP)	33
II.2.3. Prélèvement des endoscopes	33
II.3. Isolement et purification	34

II.4. Identification	34
II.4.1. Identification des staphylocoques	34
II.4.1.1 Examens macroscopiques	34
II.4.1.2. Examens microscopiques	34
II.4.1.3. Identification biochimique	36
II.4.1.3.1. Catalase	36
II.4.1.3.2. Recherche de Staphylocoagulase	36
II.4.2. Identification des <i>Entérobactéries et des Pseudomonas</i>	37
II.4.2.1. Examen microscopique	38
II.4.2.2. Identification biochimique	38
II.4.2.2.1. Test d'oxydase	38
II.4.2.2.2. Galeries miniaturisées (système API)	38
II.5. L'étude de l'antibiorésistance	39
II.5.1. L'antibiogramme standard (méthodes des disques)	39

## Résultats et discussions

I. Résultats descriptifs des instruments	45
I.1. Classification selon leur origine et leur nature	45
I.2. Classification selon la nature des biomatériaux	46
I.3. Classification des instruments utilisés selon le niveau de risque et leur fonction	47
I.4. Les facteurs de risques liés aux instruments médicaux utilisés	47
I.4.1. L'âge des patients	47
I.4.2. La durée de l'implantation des instruments	48
II. Résultats bactériologiques	48
II.1. Isolement et identification des <i>Staphylococcus spp</i>	49
II.1.1. Aspect des colonies	49
II.1.2. Coloration de Gram	50
II.1.3. Test catalase	50
II.1.4. Test de coagulase	51
II.1.4.1. Test de coagulase libre	51
II.1.4.2. Test de coagulase liée	51
II.1.5. Répartition des <i>Staphylococcus</i> isolées en fonction des services étudiés	52
II.1.6. La répartition des souches de <i>Staphylococcus</i> selon leur espèce	53
II.2. Identification des bactéries à Gram négatif	54
II.2.1. Identification des bactéries à Gram négatif non fermentaire	54
II.2.1.1. Aspect macroscopique des isolats	54
II.2.1.2. Aspect microscopique des isolats	54
II.2.1.3. Test d'oxydase	55
II.2.1.4. Identification biochimiques sur galerie API 20 E	55

II.2.2. Identification des Entérobactéries.....	56
II.2.2.1. Aspect macroscopique et microscopique des isolatsí í í í í í í .....í ...	56
II.2.2.2. Identification biochimiques sur galerie API 20 Eí í í í í í í í .....í ...	57
II.3. La répartition des bactéries identifiées sur les instruments médicauxí í í .....í	57
II.3.1. La répartition des bactéries identifiées sur les instruments médicaux implantés...	57
II.3.2. Répartition des bactéries identifiées sur les instruments médicaux non implanté..	58
III. Résultats de l'antibiogrammeí í í í í í í í í í í í í í í í í í í .....í	59
III.1. Résultats de l'antibiorésistance des <i>Staphylococcus</i> í í í í í í í í í í í .....í	59
III.1.1. La multirésistance des <i>Staphylococcus</i> í í í í í í í í í í í í í .....í	62
III.2. Résultats de l'antibiorésistance des <i>Pseudomonas aeruginosa</i> í í í í í í í .....í	63
III.2.1. Multirésistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> í í í í í í í í í í í .....í	66
III.3. Résultats de l'antibiorésistance de <i>Escherichia coli</i> í í í í í í í í í í í .....í	67
III.3.1. Multirésistance de <i>Escherichia coli</i> í í í í í í í í í í í í í .....í	70
Conclusion et perspectivesí í í í í í í í í í í í í í í í í í .....í	73
Références bibliographiquesí í í í í í í í í í í í í í í í í í .....í	76

Annexes

Résumé

Abstract



## Liste des photographies

<b>Photographie 1:</b> Vue générale de l'hôpital militaire de Constantine et l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de kenchelaí	31
<b>Photographie 2 :</b> méthode de prélèvement des sondes vésicaleí	31
<b>Photographie 3 :</b> Méthodes de prélèvement de cathéter vinaireí	32
<b>Photographie 4:</b> Méthodes de prélèvement d'endoscopeí	32
<b>Photographie 5 :</b> Un microscope équipé d'un appareil photographique numériqueí	35
<b>Photographie 6 :</b> Réactif de test de coagulase liéeí	36
<b>Photographie 07 :</b> Technique d'ensemencement de la gélose Hektoení	37
<b>Photographie 08:</b> la galerie API 20 des Entérobactériesí	38
<b>Photographie 09:</b> l'application des disques d'antibiotiqueí	39
<b>Photographies 10 :</b> Aspect macroscopique des colonies sur milieu Chapmaní	48
<b>Photographies 11 :</b> Aspect macroscopique des colonies sur milieu gélose au sangí	49
<b>Photographies 12 :</b> Cultures et la coloration de Gram des staphylocoquesí	49
<b>Photographie 13:</b> Production de catalase par les cocci à Gram positif isolésí	49
<b>Photographie 14 :</b> Résultat du test de coagulase libreí	50
<b>Photographie 15 :</b> Résultat du test de coagulase liéeí	51
<b>Photographie 16 :</b> Résultats d'isolement sur gélose Hektoení	53
<b>Photographie 17 :</b> Résultats d'isolement sur gélose nutritiveí	53
<b>Photographie 18:</b> Résultats de la coloration de gramí	54
<b>Photographie 19 :</b> Résultat de test d'oxydaseí	54
<b>Photographie 20 :</b> Résultats de l'identification sur galerie API 20 Eí	54
<b>Photographie 21 :</b> Résultats de l'identification d' <i>E-coli</i> sur galerie API 20 Eí	55
<b>Photographie 22 :</b> Photographies des antibiogrammes des <i>Staphylococcus</i> isolés à partir des dispositifs médicauxí	58
<b>Photographie 23 :</b> Effet des disques d'antibiotique sur une souche de Staphylocoques isolée à partir des dispositifs médicauxí	62
<b>Photographie 24 :</b> Photographies des antibiogrammes d' <i>Escherichia coli</i> í	66

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Classement des dispositifs médicaux et niveau de traitement requis	14
<b>Tableau II</b> : Prévalence des infections nosocomiales par pays	18
<b>Tableau III</b> : les modes de transmission exogènes et leur réservoir	19
<b>Tableau IV</b> : Germes responsables des infections nosocomiales	20
<b>Tableau V</b> : les différentes méthodes de traitement des dispositifs médicaux	21
<b>Tableau VI</b> : L'antibiogramme pour <i>Staphylococcus</i> sp	40
<b>Tableau VII</b> : Antibiogramme pour bacilles à gram négatif non fermentaire	41
<b>Tableau VIII</b> : antibiogramme pour Entérobactéries	42
<b>Tableau IX</b> : Répartition des prélèvements selon les services	44
<b>Tableau X</b> : Répartition des prélèvements selon leur nature	44
<b>Tableau XI</b> : Nature des matériaux qui constituent les dispositifs implantables	45
<b>Le tableau XII</b> : le niveau de risque et la fonction des instruments utilisés	46
<b>Tableau XIII</b> : La durée d'implantation des instruments médicaux	47
<b>Tableau XV</b> : La répartition des bactéries identifiées sur les instruments médicaux implantés..	56
<b>Tableau XVI</b> : Classes de résistance obtenues après lecture de l'antibiogramme des <i>staphylocoques</i>	59
<b>Tableau XVII</b> : Les taux de résistance aux antibiotiques	60
<b>Tableau XVIII</b> : Classes de résistance obtenues après lecture de l'antibiogramme des <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	63
<b>Tableau XIX</b> : Les taux de résistance aux antibiotiques	63
<b>Tableau XX</b> : Classes de résistance après lecture de l'antibiogramme d' <i>Escherichia coli</i>	67
<b>Tableau XXI</b> : Les taux de résistance aux antibiotiques	67

## Liste des abréviations

**%** : pourcentage.

**μM** : micro mètre.

**ADN** : acide désoxyribonucléique

**AHL** : acyl homosérines lactones.

**ALT**: Anti-microbial Lock Technique.

**AM** : aminopéniciline

**AMC** : Amoxicilline +Acide clavulanique.

**ARN**: acide ribonucléiques.

**ATB**: antibiotiques.

**BLSE** : bêtalactamases à spectre étendu.

**BMR** : bactéries multi résistantes.

**CLIN** : Le comité de lutte contre les infections nosocomiales.

**CMI** : La concentration minimale inhibitrice.

**CTCB** : Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique

**CVC**: Cathéters veineux centraux.

**DM** : dispositif médicale.

**DMA** : Les dispositifs médicaux actifs.

**DMI** : les dispositifs médicaux implantables.

**DMIA** : les dispositifs médicaux implantables actifs.

**E.P.H** : Etablissement publique hospitaliers.

**ECDC**: Disease Prevention and Control.

**GLU**: glucose.

**GN** : Gentamicine

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**H<sub>2</sub>S**: Thiosulfate de sodium.

**HPCI** : hygiène prévention et contrôle de l'infection.

**IgA** : antigène A.

**IN** : les infections nosocomiales.

**ISO** : Infection de Site Opératoire.

**IUN:** Infection Urinaire Nosocomiale.

**LB :** Luria Bertani.

**MAX :** maximum.

**MBEC :** minimal biofilm eradication concentration.

**McF:** Mac Farland

**MEB :** microscopie électronique a balayage

**MH:** Mueller Hinton.

**MIN:** minimum.

**MIT:** Massachusetts Institute of Technology.

**M.L.S:** Macrolides, Lincosamines, Synergistines.

**MSS :** Ministère de la santé et des solidarités

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

**OMS :** Organisation mondiale de santé.

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

**PED :** pays en voie de développement.

**PH :** potentiel hydrogène.

**PLP:** protéine liant les pénicillines.

**PlsB :** protéine bactérienne.

**PN:** Pneumonie Nosocomiale.

**RM:** Résistance Multiple.

**SARM :** *S. aureus* résistant à la meticilline.

**SCN :** Staphylocoques à Coagulase Négative

**SCP :** Staphylocoques à Coagulase Positive

**SPE :** substance polymérique extracellulaire.

**SPP :** Sous espèce.

**USA :** Etats Unis d'Amérique.

## Listes des annexes

**Annexe 01** : Composition des colorants de gram

**Annexe 02** : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20E

**Annexe 03** : Composition des milieux de culture

**Annexe 04** : Composition des additifs et solutions

**Annexes 05** : Matériels et réactifs utilisés

**Annexe 06** : Tableau des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour **Entérobactéries**

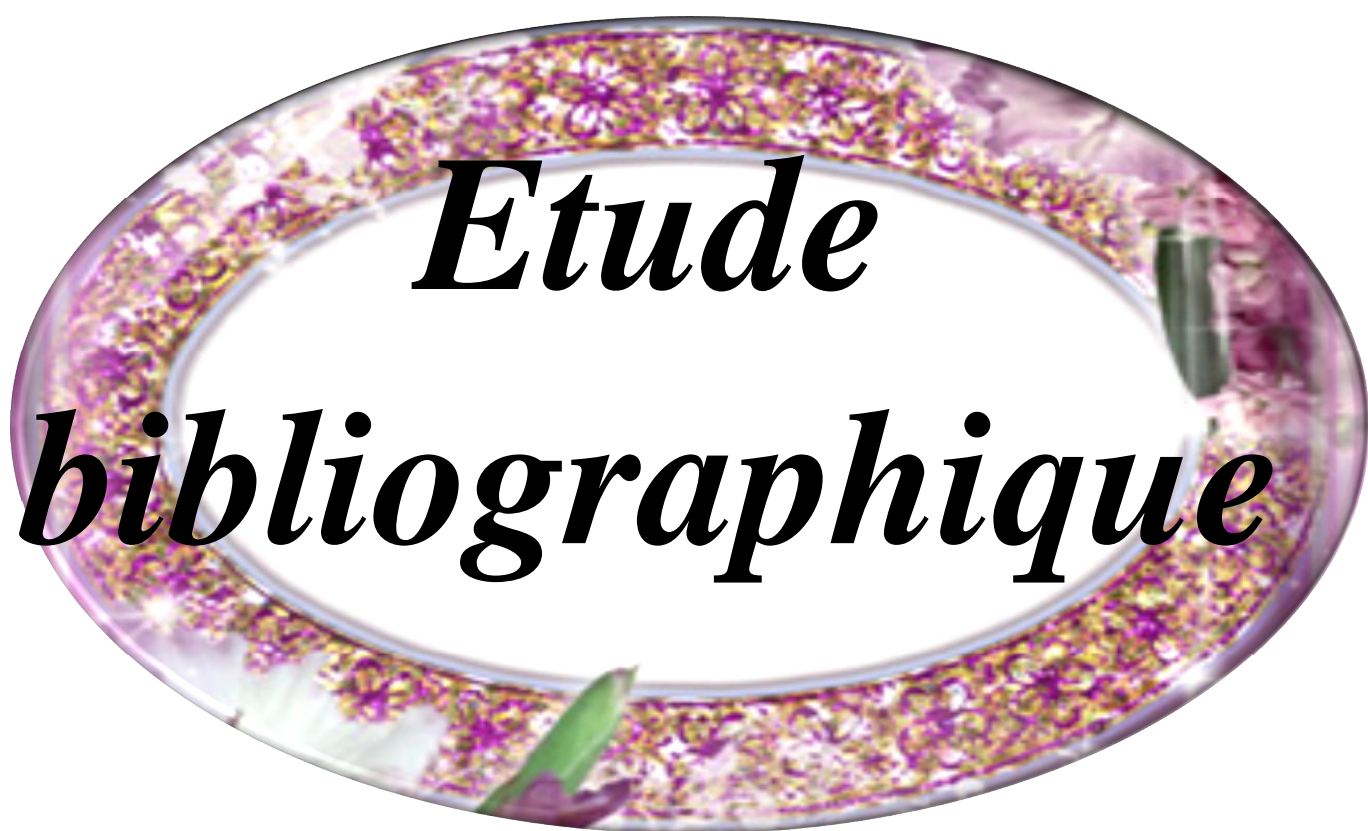
**Annexe 07** : Tableau des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*

**Annexe 08** : Tableau des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylocoque spp*

**Annexe 09**. Résistances naturelles aux lactamines des espèces de bacilles non exigeants

**Annexe 10**: Caractères d'identification biochimique des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires le plus fréquemment rencontrées en clinique humaine

**Annexe 11** : Caractères d'identification des entérobactéries les plus fréquemment rencontrées dans les infections humaines



***Etude***

***bibliographique***



## **Introduction**

L'hôpital est un lieu où l'on traite mais c'est également un lieu où le risque d'infection est très important à cause de la capacité des microorganismes à coloniser les surfaces biotiques et abiotiques. Ce processus conduit à la formation de dépôts plus ou moins structurés, regroupés sous le terme générique de « biofilm ». Ce comportement des bactéries apparaît comme une réponse adaptative à un environnement plus ou moins hostile, ou du moins peu favorable à une croissance sous forme planctonique. Cette « différenciation » bactérienne conduit à des modifications drastiques du comportement cellulaire, avec modification des fonctions métaboliques et de l'expression des facteurs de virulence, ainsi qu'une sensibilité diminuée aux moyens de défense naturels ou non de l'hôte, conférant ainsi aux bactéries de nombreux avantages (**Davey et O'Toole, 2000**) comme la protection vis-à-vis des conditions environnementales grâce à la matrice d'exopolymères qui structure le biofilm, et l'échange de nutriments et de métabolites entre les espèces du biofilm et avec l'extérieur, en plus assurant l'échange de matériel génétique : la proximité des cellules favorise ces échanges, tendant vers une stabilisation de la structure du biofilm.

Par conséquent ces biofilms peuvent provoquer des infections contractées au niveau de l'hôpital qui sont reconnues comme des problèmes majeurs de santé publique de part leur fréquence, leur coût et leur gravité et qui touche aussi bien les patients et leurs entourages que l'ensemble des professionnels de santé. Ces infections dites nosocomiales, sont beaucoup plus liées aux procédures de soins et figurent parmi les principales causes de mortalité et de morbidité chez les patients hospitalisés, d'autant plus qu'au cours de ces dernières années, ces infections se sont considérablement diversifiées et sont devenues plus difficiles à prévenir, à diagnostiquer et à traiter (**Stringre et Verdeil, 2002**).

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

Le problème majeur avec cette forme de vie est qu'elle confère une résistance importante aux antibiotiques. Les bactéries qui ont développé des systèmes de défense contre ces molécules, conduisant ainsi à l'apparition de la résistance à l'antibiotique (**Soussy, 2007**). Ponctuelles au départ, ces résistances sont devenues massives et préoccupantes. Certaines souches sont multi-résistantes et d'autres sont même devenues toto-résistantes, ce qui place les médecins dans une impasse thérapeutique (**Frasca et al., 2008**).

Nous tentons à travers la présente étude de rechercher les principaux germes rencontrés dans un instrument médical, et d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des bactéries impliquées.

Ainsi, cette étude menée au niveau d'Hôpital Militaire Ali Mendjli à Constantine et l'établissement publique hospitalier Ahmed ben Bella kenchela a pour objectifs :

- L'isolement et identification des germes les plus fréquemment rencontrés à partir des instruments médicaux.
- Détermination de la sensibilité et la résistance aux antibiotiques de ces bactéries isolées.

A petri dish containing a biofilm, which is a community of microorganisms that adhere to each other and to surfaces. The biofilm is visible as a thick, multi-layered, and colorful (purple, yellow, and green) mat of cells. The text is centered within the dish.

***Chapitre 1***  
***Les biofilms***

## I. Biofilms

### I.1. Historique

Antonie Van Leeuwenhoek observe la présence de microorganismes issus d'un échantillon de grattage de sa propre surface dentaire. Il peut être considéré comme le découvreur des biofilms en 1683. La perception de l'importance des biofilms microbiens en médecine a été largement encouragée par les observations initiales sur la plaque dentaire et le rôle des communautés microbiennes complexes et organisées dans la carie dentaire.

250 ans plus tard...

Heukalagian et Heller (1940) observent « l'effet de bouteille »: la fourniture d'un substrat solide auquel des microorganismes marins peuvent s'attacher augmente leur croissance et activité métabolique (**Heukelekian *et al.*, 1940**)

Zobell (1943) observe que dans le milieu marin la quantité de bactéries fixée à un substrat est largement supérieure à la quantité de bactéries libres dans la phase liquide (**Zobell, 1943**).

Jones (1969), travaillant sur des filtres de station de traitement des eaux, grâce à l'utilisation de la microscopie électronique à transmission et à balayage, ajoutant le rouge de Ruthénium (marquage des sucres) au tétr oxyde d'Osmium, confirme non seulement les agrégats mono ou polymicrobiens, mais aussi l'existence d'une matrice polyosidique (**Jones *et al.*, 1969**).

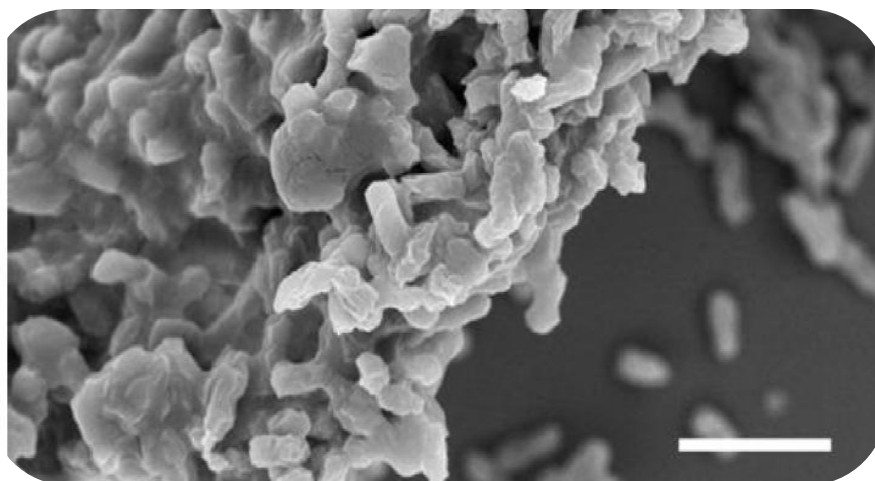
Characklis (1973) démontre que des dépôts microbiens au sein de conduites d'eau de systèmes industriels apparaissent tenaces et résistants aux désinfectants (**Characklis, 1973**).

Costerton (1978), sur la base de l'observation de l'ultra structure de la plaque dentaire et de communautés microbiennes sessiles dans les torrents de montagne, propose la théorie des biofilms (**Costerton *et al.*, 1973**).

### I.2. Définition

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

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



**Figure 01** : image d'un biofilm à *haemophilus influenzae* par microscopie électronique à balayage (MEB). Image obtenue après une croissance de 24 heures en milieu LB sur de verre en condition stérile. Au centre de l'image, les bacilles en agrégat sont bien définis. Au cœur et à la base de monticule, sur la gauche de l'image, les bacilles sont moins visibles car ils sont recouverts d'une matrice exopolymères. Barre d'échelle : 2  $\mu\text{m}$  (Gallaher *et al.*, 2006).

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

Les biofilms ont une architecture complexe et irrégulière, en forme de coraux ou de champignons. Cette architecture n'est pas figée: les micro-organismes bougent à partir du lieu de leurs premières divisions cellulaires : il y a une véritable dynamique interne au sein des biofilms (Clutterbuck, 2007). Les microcolonies de bactéries sont imbriquées au sein d'une matrice d'exopolymères contenant des canaux aqueux et des pores, permettant des échanges d'eau, de nutriments, de déchets, mais aussi d'information et de caractères transmissibles génétiquement (caractères de résistance aux antibiotiques par exemple). L'échange de plasmides au sein des biofilms se fait par des phénomènes de conjugaison. Ainsi, l'organisation en biofilm permet de sélectionner et de répandre des caractères de résistance à des agents anti-microbiens (Donlan, 2002).

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

### I.3. Caractéristique de biofilms

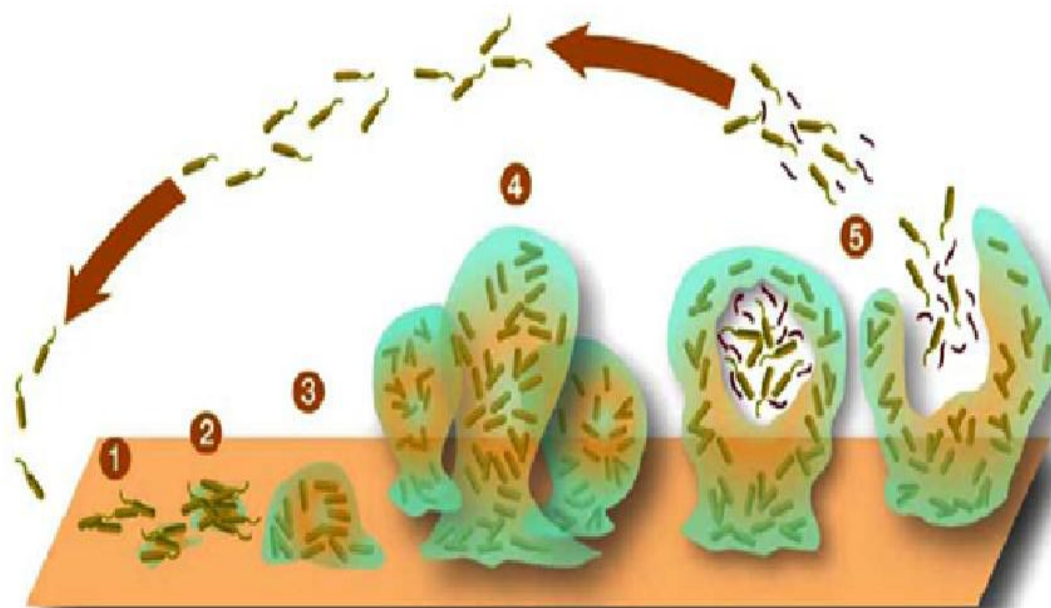
La couche la plus profonde du biofilm est constituée par les cellules qui se sont fixées en premier. Ces cellules sont petites, leur métabolisme est anaérobie et leur croissance est lente. La couche superficielle du biofilm est constituée de grandes cellules en aérobiose et à croissance rapide. Entre ces deux couches de cellules, on trouve des cellules en micro aérobiose.

L'organisation stratifiée des biofilms s'explique par l'existence de gradients de nutriments, d'ions... Les nutriments présents dans le milieu extérieur diffusent en plus grande quantité dans les couches superficielles du biofilm. Plus on avance vers les couches profondes du biofilm, moins la diffusion est efficace et plus les concentrations en éléments nutritifs sont basses. Ces gradients permettent d'expliquer la présence de zones de croissance différentes des micro-organismes (**Bury-Moné, 2007**).

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

#### I.4. Le cycle de formation d'un biofilm

On distingue cinq étapes dans le mécanisme de formation des biofilms (**Figure 02**).



**Figure 02:** Cycle de développement simplifié d'un biofilm. (Montana State University Center for Biofilm Engineering)

##### Étape 1 : Adhésion réversible à la surface

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

Toutefois, dans des conditions naturelles, la plupart des microorganismes ont tendance à adhérer aux surfaces et s'y fixent de façon réversible par des interactions non spécifiques de type liaison hydrogène ou liaison de Van der Waals (**Golovlev, 2002 ; Van Houdt, 2005**) et finalement à former des biofilms (**Stoodley et al., 2002 ; Flemming et al., 2007**) (**Figure 02**). Cette adhésion initiale est réversible. L'étape initiale d'attachement fait intervenir des

appendices générateurs de mouvement qui permettent d'approcher la surface à coloniser (O'Toole et Kolter, 1998).

### Étape 2 : Adhésion permanente à la surface

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

### Étape 3 : Matrice protectrice visqueuse/biofilm

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

La composition exacte de la SPE varie selon les micro-organismes présents mais se compose en général de polysaccharides, protéines, glycolipides et ADN bactérien. (Sutherland, 2001; Flemming *et al.*, 2007; Hall-Stoodley *et al.*, 2009). On pense que l'ADN bactérien libéré par les bactéries vivantes ou mortes fournit un composant structurel important pour la matrice SPE du biofilm. (Rice *et al.*, 2001). Les diverses protéines et enzymes sécrétées aident le biofilm à adhérer plus fortement au lit de la plaie (Flemming *et al.*, 2007).

### Étape 4 et 5 : la maturation et la dispersion de biofilms.

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

### I.5. Les facteurs favorisant la formation d'un biofilm

La formation d'un biofilm est un phénomène complexe, sous l'influence de nombreux facteurs : Propriétés des cellules bactériennes, caractéristiques du milieu et propriétés de la surface des cellules (Donlan, 2002).

### I.5.1. Propriétés des cellules bactériennes

L'hydrophobicité de la surface de la cellule, la présence de fimbriae et de flagelles, et la production d'exopolysaccharides influencent l'attachement des bactéries sur une surface.

L'hydrophobicité d'une surface est importante dans l'adhésion des micro-organismes à cette dernière. Moins les matériaux sont polarisés, plus les liaisons hydrophobes deviennent importantes. La plupart des bactéries sont chargées négativement et présentent à leur surface des zones hydrophobes. Plusieurs éléments structuraux des bactéries interviennent dans leur attachement à une surface : flagelles, fimbriae, polysaccharides...

Il peut y avoir des compétitions ou des coopérations entre cellules lorsque plusieurs espèces de bactéries sont concernées. Les polymères apolaires situés à la surface des cellules comme les fimbriae, certaines protéines, et les acides mycoliques (composants de certaines bactéries Gram positives) semblent s'attacher de façon prédominante à des surfaces hydrophobes. Les exopolysaccharides et les lipopolysaccharides sont plus importants dans les mécanismes d'attachement à des surfaces hydrophiles (**Donlan, 2002**).

### I.5.2. Caractéristiques du milieu

La formation et la dispersion d'un biofilm nécessitent des équipements enzymatiques précis et des entités structurales particulières, dont l'activation dépend de facteurs environnementaux clefs. On peut citer les facteurs suivants (**Fletcher, 1988; O'Toole, 2000 ; Donlan, 2002 ; Martinez, 2007; Goller, 2008 ; Spormann, 2008**) : Température ; pH (neutre), concentration en oxygène ; concentration en fer ; osmolarité (présence d'ions spécifiques) ; sources de carbone disponibles, Concentrations en nutriments : (doit être élevée), Concentrations en certains cations, Saison.

Certaines bactéries peuvent s'adapter à des milieux par des modifications génétiques (**Clutterbuck, 2007**). Des conditions environnementales stressantes (fortes concentrations de sels, de sucres, d'alcools, hautes températures, variations extrêmes du pH) inhibent la biosynthèse du flagelle (**Goller, 2008**).

### I.5.3. Caractéristiques de la surface

N'importe quel matériau en contact avec un fluide contenant des bactéries est un support potentiel pour la formation d'un biofilm. La rugosité, les propriétés chimiques d'une surface et la présence préalable de films protéiques sur une surface jouent une influence sur l'attachement des bactéries à cette surface et à la formation d'un biofilm.

#### I.5.3.1. Rugosité de la surface

Plus une surface est rugueuse, plus la colonisation de cette surface par des microcolonies est importante (**Characklis, 1990 b**). Les surfaces rugueuses sont colonisées de façon préférentielle car les forces répulsives sont moindres et la surface de fixation est augmentée,

grâce à la présence d'aspérités (**Donlan, 2002**). Néanmoins, certaines souches sauvages de bactéries colonisent aussi des surfaces lisses (**Donlan et Costerton, 2002**). Les biofilms auront ainsi tendance à se former au niveau des aspérités des matériaux, formant des recoins propices aux proliférations bactériennes et moins sensibles aux agents désinfectants ou antiseptiques.

### **I.5.3.2. Propriétés physico-chimiques de la surface**

Les propriétés physico-chimiques de la surface peuvent exercer une influence sur le taux d'attachement et sur son ampleur. Les micro-organismes se fixent plus facilement à des surfaces hydrophobes et non polarisées comme le Téflon ou d'autres matières plastiques, que sur des matériaux hydrophiles comme le verre ou les métaux. Les cellules sont capables d'outrepasser les forces répulsives que peuvent exercer sur elles le substrat, via l'action de liaisons hydrophobes (**Bendinger, 1993**).

### **I.5.3.3. Présence de polymères sur la surface**

La présence de polymères sur un matériau modifie les propriétés physico-chimiques de sa surface, et a une influence directe sur l'attachement de bactéries à cette dernière. En effet, la présence préalable sur un biomatériau d'un film protéique comme le sang, les larmes, l'urine, la salive, le liquide interstitiel et les sécrétions respiratoires influence l'attachement de bactéries à sa surface, et favorise la formation de biofilms (**Mittelman, 1996**).

La nature de ces films protéiques est différente selon les milieux. Prenons l'exemple des bactéries formant le biofilm de la plaque dentaire. Elles se fixent sur un film protéique, présent à la surface de l'émail dentaire et composé d'albumine, de lysozymes, de glycoprotéines, de phosphoprotéines et de lipides (**Donlan, 2002**). La présence de films protéiques sur des implants médicaux en contact direct avec un fluide favorisent la formation de biofilms. Par exemple, les cathéters veineux centraux, en contact direct avec le sang, sont recouverts de plaquettes, de plasma et de protéines: albumine, fibrinogène, fibronectine, laminine... (**Goller, 2008**).

## **I.6. Régulation de la formation des biofilms**

### **I.6.1. Le quorum sensing**

#### **I.6.1.1. Définition et mécanismes**

La formation d'un biofilm est contrôlée par des mécanismes de quorum sensing. Il s'agit de mécanismes de contrôle des processus ayant lieu au sein des cellules, matérialisés par des signaux de cellules à cellules, et dépendant de la quantité de cellules présentes : on parle de mécanismes de perception du quota. Ces mécanismes sont basés sur le principe de masse critique (**Costerton, 1999 ; Tomlin, 2005**). Une fois que les signaux atteignent une valeur seuil (valeur critique), des régulateurs transcriptionnels sont activés et exercent un contrôle sur des gènes spécifiques (**Costerton, 1999 ; Clutterbuck, 2007 ; Irie, 2008**). La nature et la fonction des molécules signalant les échanges de cellule-à-cellule changent à partir d'une concentration

donnée des bactéries (**Costerton, 1999**). Des mutations de gènes impliqués dans les mécanismes de quorum sensing entraînent des répercussions sur les stades tardifs de formation des biofilms.

Ces gènes exercent un contrôle sur une grande partie de l'expression du transcriptome et du protéome, avec en particulier un contrôle de l'expression de facteurs de virulence comme les protéases par exemple (**Tomlin, 2005**).

#### **I.6.1.2. Les molécules du quorum sensing**

Les molécules du quorum sensing sont différentes selon les types de bactéries (**Parsek, 2004 ; Irie, 2008**). On trouve des acylhomosérines lactones (AHL) chez la plupart des bactéries Gram-négatives. La majorité des bactéries Gram-positives utilisent des peptides auto-inducteurs, dont la taille est très variable (de 5 à 87 acides aminés). Les molécules du quorum sensing sont dégradées par des enzymes : AHL-lactonases et AHL-acylases. On obtient par conséquent une ségrégation spatiale des molécules du quorum sensing au sein d'un biofilm (**Irie, 2008**).

#### **I.6.1.3. Rôles du quorum sensing**

Le quorum sensing régule la physiologie du biofilm en modulant la taille de la population du biofilm, et en prenant en compte les conditions environnementales. Il initie les phénomènes de dispersion et d'essaimage de bactérie planctoniques à partir du biofilm (**Irie, 2008**). Le quorum sensing aurait aussi un rôle dans la détermination de l'épaisseur du biofilm (**Clutterbuck, 2007**). Il peut réprimer ou stimuler l'expression de certains caractères, comme par exemple la motilité ou certains facteurs de virulence extracellulaires, comme les protéases (**Clutterbuck, 2007; Irie, 2008**). Le quorum sensing jouerait un rôle dans d'antibiorésistance, mais cette hypothèse reste controversée. Les molécules du quorum sensing jouent aussi un rôle dans la lutte contre l'attaque d'autres organismes vivants, comme les protozoaires (exemple de *Serratia marcescens*) (**Queck, 2006**).

Les biofilms composés de plusieurs communautés de bactéries d'espèces différentes ont de fortes concentrations en molécules du quorum sensing, compte-tenu de la densité élevée de cellules présentes (**Bjarnsholt, 2005**).

#### **I.6.1.4. Altération du quorum sensing et Conséquences**

L'altération des mécanismes de quorum sensing peut aboutir à d'importantes modifications phénotypiques des micro-organismes du biofilm, par exemple une sensibilité augmentée à des antibiotiques ou à des antiseptiques, ou encore des anomalies dans le cycle de développement du biofilm, surtout lors des étapes de formation et de dispersion (**Irie, 2008**). Les biofilms mutants pour les molécules du quorum sensing ont une structure tridimensionnelle déficiente. (**Tomlin, 2005**). Par exemple, les biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* mutantes pour les molécules du quorum sensing sont moins résistants à l'action de la tobramycine, du peroxyde d'hydrogène et des macrophages (**Burmolle, 2006**).

### I.6.2. Régulation génétique par les cellules fixées

Après fixation sur un substrat, l'expression d'un certain nombre de gènes est régulée par les cellules fixées. Cette régulation peut être de type inhibiteur ou stimulateur. Elle va entraîner une modification phénotypique des bactéries et avoir pour conséquence la formation d'un biofilm (**Donlan, 2002**). Au cours de la formation d'un biofilm, 22% des gènes sont stimulés et l'expression de 16% des gènes est inhibée (**Prigent-Combaret, 1999**). Lors de la formation de biofilms de *Staphylococcus aureus*, des gènes codant pour des enzymes intervenant dans la fermentation et la glycolyse (phosphoglycérate mutase, triosephosphate isomérase et alcool déshydrogénase) sont stimulés. Ceci peut être relié au fait que la concentration d'oxygène dans le biofilm diminue au fur et à mesure de son développement (**Becker, 2001**).

### I.7. Résistance des biofilms à divers agents antimicrobiens

Les biofilms retrouvés dans des environnements naturels ou industriels sont résistants aux bactériophages, aux amibes ainsi qu'aux biocides utilisés dans les procédés industriels (**Costerton et al., 1999**).

Les bactéries d'un biofilm sont généralement moins sensibles aux antibiotiques et aux désinfectants que ces mêmes bactéries sous forme planctonique. En fait, les bactéries d'un biofilm peuvent être de 10 à 1000 fois plus résistantes aux agents antimicrobiens (**Olson et al., 2002; Ceri et al., 2010**).

Plusieurs facteurs peuvent expliquer la plus grande résistance (certains auteurs préfèrent plutôt parler d'une tolérance) des biofilms aux agents antimicrobiens (**Hall-Stoodley et al., 2009; Anderson et al., 2008; Ceri et al., 2010**).

Un de ces facteurs est la matrice polymérique qui agit comme barrière réduisant ou empêchant la diffusion des agents antimicrobiens. Les charges électrostatiques à la surface de la matrice polymérique peuvent aussi lier certains agents antimicrobiens. Le métabolisme des bactéries d'un biofilm joue également un rôle très important. Étant donné la faible concentration de certains nutriments et le gradient en oxygène, certaines cellules du biofilm seront peu actives métaboliquement et pourront même être sous forme dormante; ces cellules bactériennes dormantes sont d'ailleurs probablement responsables d'une grande partie de la tolérance associée aux biofilms (**Lewis et al., 2008**).

La proximité spatiale des bactéries au sein d'un biofilm mature favorise probablement le transfert horizontal de gènes et l'augmentation de la résistance aux antibiotiques.

La concentration minimale inhibitrice (CMI) demeure la mesure de référence pour déterminer la sensibilité des bactéries planctoniques à divers agents antimicrobiens. Cependant, il faut être conscient qu'il n'existe pas une bonne corrélation entre la CMI de cultures bactériennes planctoniques et la concentration de l'agent antimicrobien requise pour éradiquer un

biofilm (**Olson et al., 2002**). Il est maintenant possible de déterminer la concentration minimale d'un antibiotique pouvant éradiquer un biofilm (ou «minimal biofilm eradication concentration», MBEC). En effet, un groupe de chercheurs de l'University of Calgary a développé une technologie permettant de déterminer la sensibilité de biofilms à divers antibiotiques et désinfectants (**Harrison et al., 2010**).

### **I.7.1. Résistance des biofilms aux antibiotiques**

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

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

## **II. Les biofilms et le monde médical**

Des biofilms peuvent se former à la surface ou à l'intérieur de dispositifs médicaux implantés dans l'organisme : lentilles de contact, cathéter veineux central, sonde endotrachéale, dispositifs intra-utérins, valves cardiaques artificielles, pace-makers, cathéters de dialyse péritonéale, sondes de tympanostomie, sondes urinaires, prothèses vocales...82% des infections nosocomiales sont dues à la présence d'implants médicaux contaminés ; principalement par *Pseudomonas spp.*, des staphylocoques et des entérocoques (**Archibald, 1997**), et des dispositifs médicaux non implantés dans l'organismes : Endoscopies , pinces ,portes des aiguille , aiguilles de virez.

Les biofilms peuvent être composés d'une ou plusieurs espèces de micro-organismes, selon le type de dispositif implanté ou non implantés, et la durée d'implantation dans l'organisme du patient. La formation de biofilms dépend de plusieurs facteurs : nombre de cellules présentes, vitesse du flux du liquide dans lequel se trouve le dispositif, propriétés physico-chimiques de la surface.

Ceci pose un véritable problème de santé publique pour les personnes nécessitant ces implants. (**Donlan, 2001**).



***Chapitre 2***  
***Le monde médical***

## I. Le monde médical

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

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

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

### I.2. La classification des DM

#### I.2.1. Classification des DM en fonction de leur rôle

En se basant sur la fonctionnalité des dispositifs médicaux, on distingue :

##### I.2.1.1. Les dispositifs médicaux actifs (DMA)

Ce sont des dispositifs médicaux, qui fonctionnent à l'aide d'une énergie électrique ou de toute source d'énergie autre que celle produite par le corps humain ou la pesanteur. Il en va notamment des stimulateurs cardiaques. Ils se subdivisent en dispositifs actifs thérapeutiques et en dispositifs actifs destinés au diagnostic. Les fauteuils roulants électriques, par exemple, sont des DMA. (**Santé doctissimo, 2014**).



**Figure 03** : Les dispositifs médicaux actifs.

### I.2.1.2. Les dispositifs médicaux implantables (DMI)

Un dispositif médical implantable est tout matériel destiné à être implanté en totalité ou en partie, grâce à une intervention chirurgicale, dans l'organisme de l'homme ou à remplacer la surface de certains organes (épithélium, l'œil) et qui reste en place après l'intervention. Ils permettent d'assurer le traitement d'une maladie, l'atténuation ou la compensation des blessures ou malformations. Cette catégorie inclut les dispositifs médicaux implantables actifs (DMIA). Il s'agit par exemple des dispositifs d'assistance circulatoire mécanique (DACM) appelé "cœur artificiels", des implants vasculaires, des implants digestifs, des implants articulaires de genou ou des implants articulaires de hanche.

### I.2.1.3. Les dispositifs médicaux invasifs

Il s'agit de tout dispositif, qui pénètre entièrement ou partiellement dans le corps par un orifice naturel ou par la surface du corps.

### I.2.2. Classification des DM selon leur niveau de risque

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

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

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

### I.3. La flore microbienne et colonisation du dispositif médical

La colonisation de dispositifs médicaux par des microorganismes est un événement fréquent, potentiellement à l'origine de la survenue ultérieure de pathologies infectieuses. Ces microorganismes proviennent essentiellement des flores des patients ou de leur environnement, et sont associés dans un certain nombre de cas à des épisodes infectieux. La caractérisation des microorganismes ainsi fixés sous forme de biofilms (**Lewis, 2010**) ce dernier est une communauté plurimicrobienne se fixant à la surface de dispositifs médicaux et maintenue enchâssée sur cette surface par la sécrétion d'une matrice adhésive (**Florence et al., 2010**).

## II. Les biofilms et l'homme

### II.1. Les infections dues aux biofilms

Les biofilms sont responsables d'infections chroniques et posent de nombreux problèmes dans le domaine médical. Les infections liées à des biofilms touchent majoritairement les personnes légèrement ou fortement immunodéprimés et impliquent souvent des bactéries commensales comme *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Costerton et al., 1999**). Caractérisées par des symptômes qui surgissent de façon récurrente, elles contribuent de manière très importante aux infections nosocomiales : En effet, les biofilms ont la capacité de se développer sur divers instruments médicaux : sondes urinaires, cathéters veineux, tubes de ventilation artificielle, prothèses orthopédiques etc. Dans la majorité des cas, la seule solution efficace est le retrait de l'instrument infecté. D'autre part, la contamination des systèmes de climatisation, de ventilation et de distribution d'eau par des biofilms abritant des microorganismes pathogènes, contribue à la propagation des infections en milieux hospitaliers ou non hospitaliers, mais également dans les environnements agroalimentaires où les biofilms sont une source importante de nuisance (**Donlan et Costerton, 2002**).

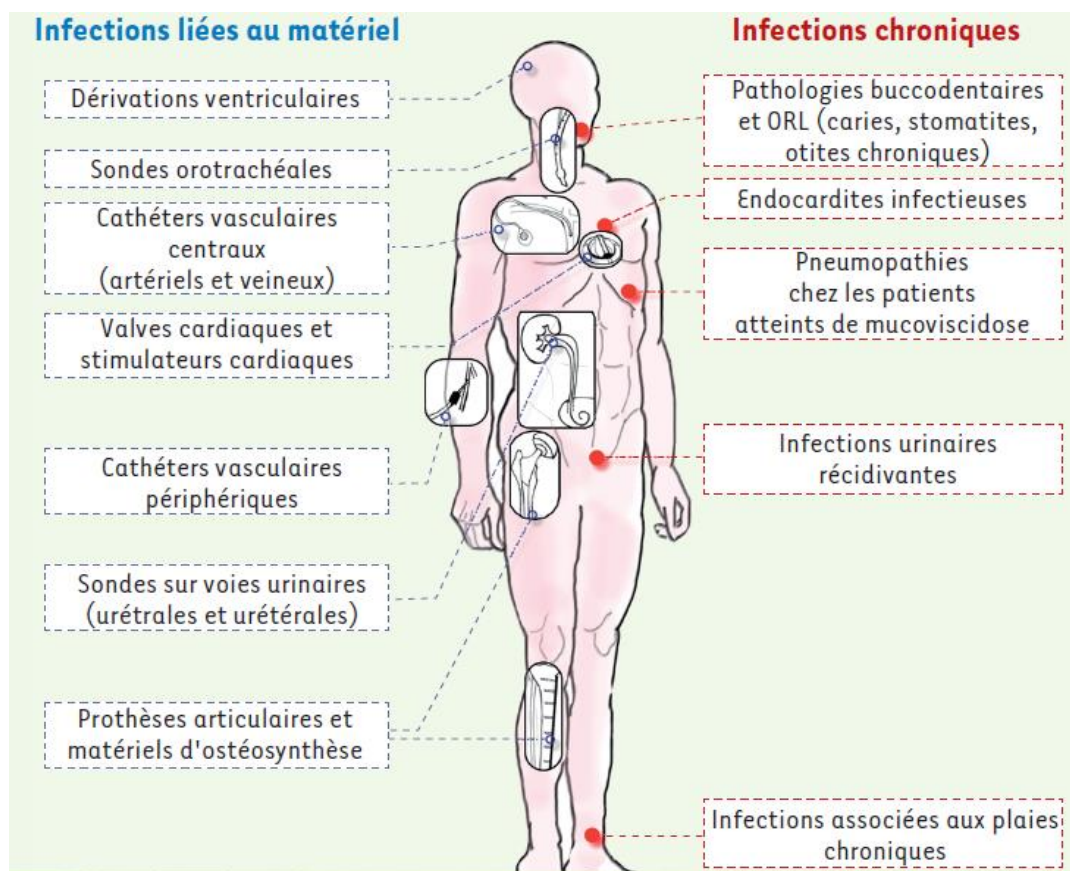
#### II.1.1. Les infections nosocomiales

##### II.1.1.1. Définition

Les infections nosocomiales (IN) ó aussi appelées infections hospitalières vient du grec « nosos » signifiant maladie et secondairement de « nosokomeone » qui signifie hôpital; il qualifie ce qui se rapporte à ce milieu, ce qui se contracte lors d'un séjour hospitalier (**Margot et Chantal, 2009 ; Prescott, 2009**).

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

Les infections liées aux soins sont contractées à l'occasion d'un acte médical. Elles génèrent un coût économique et humain considérable. Les identifier, connaître leur mode de transmission est un préalable indispensable (Jean, 2002).



**Figure 04** : Principales infections associées aux biofilms. (Motaouakkil et Aalloula, 2011).

### II.1.2. Fréquence et incidence des infections nosocomiales

La fréquence globale des infections nosocomiales, mesurées par des études internationales, varie entre 5 et 10% des hospitalisés (Vincent *et al.*, 2008).

Actuellement, l'OMS (organisation mondiale de la santé) estime que plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent d'infections nosocomiales, 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). C'est en tout 7,1% des patients hospitalisés qui souffrent d'au moins une IN, avec une prévalence de 7,6 épisodes infectieux pour 100 patients.

L'European Center for Disease Prévention and Control (ECDC) estime ainsi que 4 131 000 patients en Europe ont développé une IN en 2008, pour un total de 4 544 100 épisodes infectieux (Stockholm: ECDC, 2008). Aux Etats Unis d'Amérique (USA), c'était 1,7 million de patients touchés en 2002 (Klevens *et al.*, 2002). Dans les pays en voie de développement

(PED), la prévalence des IN est plus élevée, puisque cœst **10 à 15%** des patients hospitalisés qui sont concernés.

En Algérie, Les différentes enquêtes réalisées au niveau des structures de santé sur les infections nosocomiales donnent un taux de prévalence national de 12 et 15% [1]

Les infections urinaires étaient les infections les plus fréquentes : elles représentaient 25,9 % de l'ensemble des infections nosocomiales contractées et une prévalence de 2,6 % (**Rossello et al., 2010**).

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

Pays	Patients infectés		Infection		Taux de prévalence <sup>2</sup> par hôpital(%) min ómax
	Nbre	Taux%(IC <sub>95</sub> %)	Nbre	Taux%	
Algérie	103	6,3(5,2-6,7)	127	7,9	2,1-13,0
Egypte	114	9,9(8,3-11,8)	125	10,9	0,0-30,2
Etalie	44	11,9(8,8-15,6)	53	14,3	5,4-15,3
Maroc	18	6,7 (4,0-10,4)	18	6,7	0,0-24,7
Tunisie	134	11,0 (9,3-12,9)	160	13,2	6,4-14,9
Totale	413	8,9 (8,1-9,8)	483	10,7	0,0-30,2

### II.1.3. L'origine d'infection nosocomiale

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

#### II.1.3.1. Origine endogène

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

#### II.1.3.2. Origine exogène

C'est-à-dire que le patient a été en contact avec ces organismes au cours de l'hospitalisation. Ces pathogènes peuvent provenir de la flore transitoire ou résidente du personnel soignant ou de visiteurs, de dispositifs médicaux (DM) et même de l'environnement et des locaux hospitaliers. Ces réservoirs de germes sont représentés par des éléments inanimés

contaminés (objet, air, surface, aliments, etcí ), ou par des êtres humains (le personnel, les visiteurs et les malades eux mêmes) (Uvmaf, 2011).

Il existe quatre modes de transmission exogène

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

Modes de transmission	Réservoirs de germes
<b>Par contact</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Flore cutanée résidente ou transitoire présente sur les mains des soignants colonise ou infecte les patients ou sur la tenue vestimentaire des soignants.</li> <li>✓ La flore de l'environnement :</li> <li>✓ Plaie ouverte en contact avec des surfaces contaminées</li> <li>✓ Flore des autres patients déposée sur des surfaces</li> <li>✓ L'entourage direct du patient peut-être en cause (<b>Lasheras et Monnin, 2008</b>).</li> </ul>
<b>Par gouttelette</b>	Ce sont des sécrétions du rhino-pharynx ou du tractus respiratoire, la source est alors proche du patient.
<b>Par voie aérienne</b>	Il s'agit de microorganismes sur support de poussière ou de cellules squameuses, la source peut être distant du patient.
<b>Par dispositifs médicaux, produits biologiques, aliments</b>	Dans ce cas il n'y a pas nécessité de multiplication des micro-organismes sur le support pour que le risque de transmission existe

#### II.1.4. Les principaux germes responsables d'infections nosocomiales

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

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

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

Tableau IV : Germes responsables des infections nosocomiales.

	Le germe	Site d'infection	L'infection nosocomiale
Les bactéries	<b>Les Staphylocoques (Margot et Chantal, 2009).</b>		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Site chirurgical</li> <li>✓ Nombre considérable de pneumonies</li> <li>✓ Sur cathéter veineux, sonde vasculaire, Prothèses vasculaires</li> </ul>	Bactériémie
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Sur cathéters de dialyse péritonéale</li> <li>✓ Sur prothèses valvulaires cardiaques</li> <li>✓ Les infections urinaires</li> </ul>	Bactériémie  Urinaires
	<b>Les Entérobactéries (Pitout et Laupland, 2008 ; Arias et Murray, 2009)</b>		
	<i>Escherichia coli</i>	✓ Infections urinaires	Les infections nosocomiales urinaires
	<i>Enterobacter sp</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Abcès cérébraux, pneumonie</li> <li>Voies urinaires</li> </ul>	Septicémie
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Pneumonie	Bactériémie
	<b>Les Pseudomonas (Cattoen, 2009).</b>		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Pulmonaires</li> <li>✓ Infections cutanées</li> <li>✓ ORL, digestives, ostéo-articulaires</li> </ul>	Pneumopathies nosocomiales et Septicémies
	<b>Les Clostridium (Margot et Chantal, 2009)</b>		
	<i>Clostridium difficile</i>	Causer des lésions graves	Infections nosocomiales très sévères et épidémiques
	<b>Les entérocoques (Dupont et Plantefève ,2002)</b>		
	<i>Enterococcus faecium</i>	<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Infections urinaires</li> <li>✓ Les bactériémies</li> <li>✓ Les endocardites</li> </ul>	Infections nosocomiales très sévères

### II.1.5. Epidémiologie des infections nosocomiales

Les sites d'infections nosocomiales par ordre de fréquence la plus importante sont : l'appareil urinaire, les voies respiratoires, le site opératoire (intervention chirurgicale) et le

système sanguin. La fréquence n'est pas synonyme de gravité. Ainsi, les infections urinaires sont les plus fréquentes mais ne sont en général pas graves (**santé gouv**).

### II.1.6. Prévention des infections nosocomiales

La prévention des infections nosocomiales est complexe car la plupart d'entre elles relève de l'interaction de plusieurs facteurs. S'il n'est pas possible de maîtriser les facteurs liés à la situation médicale des patients, la qualité des soins et la sécurité de l'environnement hospitalier doivent faire l'objet d'une vigilance renforcée et d'actions de prévention.

La réduction de la part "évitable" des infections nosocomiales est un élément fondamental de la sécurité des soins. Les mesures d'hygiène des soins sont :

- Utilisation des antiseptiques
- Prévention des infections, site par site
- Prévention de la diffusion des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques
- Lavage des mains et tenue vestimentaire

Les mesures concernant les dispositifs médicaux sont :

- Utilisation de l'usage unique
- Pré-désinfection, nettoyage, désinfection ou stérilisation

**Tableau V** : les différentes méthodes de traitement des dispositifs médicaux. (**HPCI - Précautions Standard - dispositifs médicaux et matériel**).

Catégorie de matériel / Risque infectieux	Traitement	Objectif du traitement
<b>Non critique / Risque bas</b>	Nettoyage et Désinfection de bas niveau	Éliminer les souillures et la plupart des bactéries, certains virus, certains champignons à l'exception de <i>Mycobacterium tuberculosis</i> et des spores bactériennes.
<b>Semi-critique / Risque moyen</b>	Nettoyage et Désinfection de niveau intermédiaire	Éliminer les souillures et le <i>Mycobacterium tuberculosis</i> , les bactéries végétatives, la plupart des virus (VIH, virus de l'hépatite B, virus de l'herpès Simplex) et des champignons ( <i>Candida</i> , <i>Aspergillus</i> ), à l'exception des spores bactériennes.
<b>Critique / Risque élevé</b>	Nettoyage et Stérilisation ou désinfection de haut niveau	Éliminer les souillures et détruire tous les micro-organismes y compris les spores.

## II. 2. Moyens de lutte contre les biofilms

Les biofilms posent de graves problèmes en matière de santé publique. Ils sont aussi à l'origine de la dégradation de bâtiments. Par tous ces aspects, la présence des biofilms a un impact économique considérable. Il est absolument nécessaire d'éradiquer les biofilms nuisibles.

La lutte contre les biofilms peut se définir selon deux axes principaux : empêcher la formation de biofilms, et lorsqu'ils sont déjà présents, les détruire.

### II.2.1. Combattre la formation de biofilms

Il existe plusieurs moyens de lutter contre la formation de biofilms indésirables. On prendra l'exemple du milieu hospitalier, dans lequel les biofilms, à l'origine d'infections nosocomiales, posent de sérieux problèmes de santé publique.

#### II.2.1.1. Techniques couramment utilisées

Le meilleur moyen d'empêcher la formation de biofilms sur des implants en milieu hospitalier repose sur le respect de quelques principes fondamentaux. La formation de biofilms sur des implants médicaux est liée à la durée de présence de l'implant dans l'organisme. Plus l'implant est là depuis longtemps, et plus il y a un risque de formation de biofilms. La pose de l'implant doit se faire dans des conditions d'hygiène strictes, afin d'éviter au maximum toute contamination bactérienne. (Maki, 1994)

Compte-tenu de l'importance médicale considérable des biofilms et des problèmes qu'ils posent, de nombreuses pistes de recherche sont consacrées à la lutte contre la formation des biofilms. Ce sont souvent les nouvelles technologies qui sont utilisées.

#### II.2.1.2. Les nouvelles technologies au service de la lutte contre les biofilms

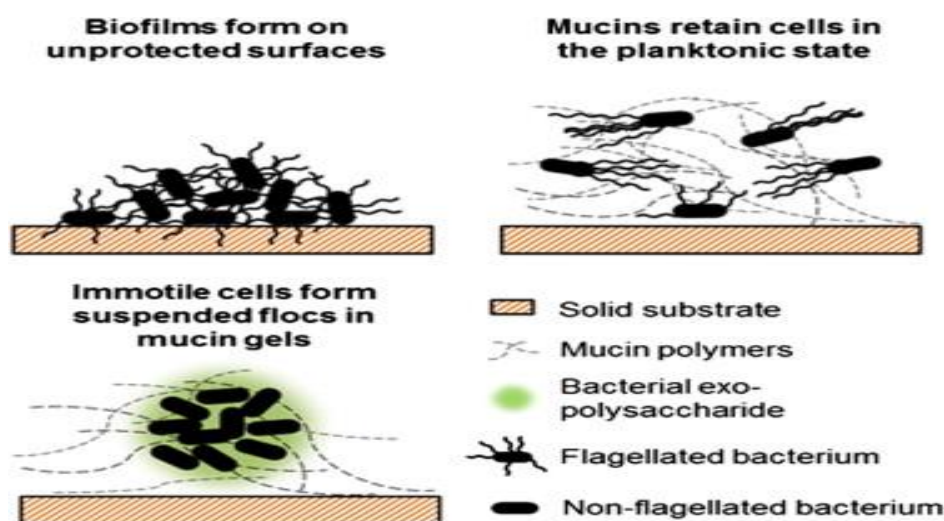
Il existe des revêtements destinés aux biomatériaux implantables, comme les sondes urinaires ou les cathéters veineux centraux, qui empêchent l'adhérence des micro-organismes. Des molécules chargées retardent la fixation de ces derniers par le jeu de forces de répulsion. Les antibiotiques ou le système immunitaire auraient alors le temps d'agir contre les micro-organismes non fixés (Donlan, 2008). Cette technique de lutte contre les biofilms reste néanmoins peu efficace car la matrice extracellulaire qui se forme autour des prothèses peut elle-même être initiatrice de la formation de biofilms (Bury-Moné, 2007).

Pour inhiber l'adhésion des micro-organismes, on peut utiliser la vaccinologie. Comme par exemple les vaccins contre les caries, dirigés contre *Streptococcus mutans* (Bury-Moné, 2007). Le but de la vaccinologie est de former des IgA qui vont inhiber les phénomènes responsables de l'adhésion des micro-organismes (Donlan, 2008).

On peut aussi essayer d'agir au niveau des molécules de signalisation du quorum sensing, afin de perturber l'architecture du biofilm et ses propriétés d'antibiorésistance (Tomlin, 2005 ; Donlan, 2008). Des études sur les mécanismes d'inhibition de la formation de biofilms ont été réalisées sur une algue rouge, *Delisea pulchra*, car elle ne porte aucun biofilm à sa surface. Elle sécrète des furanones, qui sont des homologues des homosérinelactones, substances exerçant un contrôle inhibiteur sur la communication bactérienne (Bury-Moné, 2007).

On peut lutter contre la formation de biofilms en inhibant la synthèse des exopolysaccharides de la matrice. Certaines souches de phages de *Enterobacter agglomerans* produisent une enzyme capable de détruire la matrice extracellulaire puis d'infecter et de lyser les bactéries du biofilm (Bury-Moné, 2007). L'utilisation d'ultrasons combinée à celle des antibiotiques permet d'éliminer des bactéries Gram-négative planctoniques ou sous forme de biofilms (Donlan, 2008)

On empêche l'adhésion des bactéries avec du mucus (**Fighting bacteria with mucus**). Une étude montre que des protéines clés du mucus empêchent l'adhésion des bactéries aux surfaces et cela pourrait aider à prévenir la croissance des biofilms.



**Figure 05** : Les mucus empêchent l'adhésion des bactéries aux surfaces. (Marina Caldara *et al.*, 2012).

Les résultats d'une récente étude du MIT suggère une nouvelle source possible de protection contre la formation de biofilm : des polymères retrouvés dans du mucus. Les ingénieurs du MIT ont constaté que ces polymères, appelés mucines, peuvent piéger les bactéries et les empêcher de s'agglutiner sur une surface, les rendant ainsi inoffensives. (Marina Caldara *et al.*, 2012).

Enfin, les recherches en génie génétique consistent à rechercher des gènes spécifiquement exprimés au sein des biofilms afin de créer de nouvelles cibles (Donlan, 2008).

### II.2.2. Suppression des biofilms déjà formés

Lorsqu'on n'a pas pu agir suffisamment tôt pour empêcher la formation de biofilms, le meilleur moyen de lutter contre ces derniers est de les détruire. De nombreuses techniques se font concurrence. Comme l'antibiothérapie donne peu de résultats satisfaisants. D'où l'intérêt de développer d'autres méthodes de lutte contre les biofilms. On traitera surtout des techniques d'éradication employées dans le milieu hospitalier, compte-tenu des importants problèmes de santé publique liés à la présence de biofilms.

### II.2.2.1. Techniques d'élimination des biofilms couramment utilisées

#### II.2.2.1.1. L'élimination mécanique du biofilm

Le nettoyage mécanique reste l'un des moyens les plus efficaces pour lutter contre les biofilms (**Wanner, 2006**). Il permet de les éliminer en détachant les micro-organismes de support, grâce aux forces de cisaillement importantes créées. Ceci est applicable pour les biofilms présents sur des supports variés : peau, implants médicaux

Le nettoyage précède la désinfection. Le but de cette dernière est de détruire les bactéries du biofilm, qui n'auraient pas été éliminées préalablement par le nettoyage. Comme exemple l'utilisation de triclosan peut se révéler efficace (**Stickler, 2002**). La plupart des antiseptiques et désinfectants ont du mal à pénétrer au sein des biofilms, et les bactéries des biofilms sont résistantes à leur action. Cette méthode se révèle peu efficace.

#### II.2.2.1.2. Antibiothérapie

Une hypothèse étant que l'on n'administre pas les antibiotiques à une dose suffisante pour éliminer le biofilm, certains chercheurs cherchent à déterminer les concentrations d'antibiotiques qu'il faudrait pour éradiquer un biofilm.

La sensibilité aux antibiotiques n'est pas la même pour une bactérie donnée, selon son mode de vie, planctonique ou en biofilm. La sensibilité d'une bactérie à un antibiotique est mesurée selon des techniques standardisées définies par le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).

#### II.2.2.2. Recherche de nouvelles thérapies antimicrobiennes.

Le challenge est de développer de nouveaux moyens lutte contre la tolérance des bactéries aux antibiotiques (**Lewis, 2008**). La thérapie combinée consiste à utiliser différents composés afin de potentialiser leurs effets. Certains composés comme les macrolides peuvent détruire la matrice d'exopolysaccharides du biofilm et favoriser la diffusion d'autres agents antimicrobiens associés au sein du biofilm (**Donlan, 2008**).

Les biofilms de bactéries Gram-positives et Gram-négatives peuvent être éradiqués lorsqu'ils sont exposés pendant une longue durée à de fortes concentrations d'agents anti-microbiens. C'est le principe de la thérapie antimicrobienne de verrouillage. Le principe de la thérapie antimicrobiennes de verrouillage (ALT pour Anti-microbial Lock Technique) est d'instiller in situ le cathéter colonisé par les micro-organismes avec de très fortes doses d'agents antimicrobiens pendant une durée suffisante, afin d'éradiquer le biofilm (**Donlan, 2008**).

### III. Biofilms et antibiorésistance

L'antibiorésistance développée par les biofilms bactériens pose de sérieux problèmes en matière de santé publique, puisqu'elle rend difficile le traitement des infections dues à des

biofilms. L'antibiorésistance d'une bactérie vivant sous forme de biofilm est 10 à 1000 fois plus élevée qu'une bactérie de la même espèce vivant sous forme planctonique (Mah, 2001).

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).

Cependant, tous les biofilms ne manifestent pas une insensibilité aux traitements antibiotiques (Conley, 2003).

Les mécanismes d'antibiorésistance mis en œuvre par les bactéries au sein des biofilms sont nombreux et variés. Anderson et O'Toole font une dichotomie nette entre facteurs de résistance innés et facteurs de résistance induits par le contact avec les antibiotiques (Anderson, 2008).

### III.1. Facteurs de résistance innés

Le passage de la vie planctonique à la vie sous forme de biofilm s'accompagne de l'acquisition d'une résistance des bactéries aux antibiotiques. Les facteurs innés de résistance aux antibiotiques font partie intégrante de la structure du biofilm et de sa physiologie.

#### III.1.1. Rôle de la matrice.

Les antibiotiques doivent traverser une épaisse couche constituée d'exopolysaccharides, d'ADN et de protéines afin de pouvoir atteindre leurs cellules-cibles. Même si la matrice stoppe certaines molécules d'antibiotiques, d'autres molécules vont franchir cette barrière et pénétrer au sein du biofilm. Certaines concentrations faibles en antibiotiques stimulent la production d'exopolysaccharides de la matrice et contribuent à accroître son épaisseur (Donlan, 2002 ; Conley, 2003; Clutterbuck, 2007; Anderson, 2008). L'efficacité du rôle de la matrice dans les mécanismes d'antibiorésistance peut être étudiée en termes de durée du traitement antibiotique.

Ce mécanisme de limitation de la pénétration des agents anti-microbiens au sein d'un biofilm explique les antibiorésistance observées lors d'administration unique d'antibiotiques mais n'est pas valable pour les antibiothérapies de longue durée (Gilbert, 2001).

Néanmoins, la pénétration limitée des antibiotiques au sein des biofilms n'est pas considérée comme le mécanisme d'antibiorésistance le plus important (Anderson, 2008). Il existe des mécanismes de protection active contre les antibiotiques, par opposition à la protection passive qu'offre la matrice d'exopolysaccharides : c'est le cas des biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*, qui expulsent activement des composés anti-microbiens grâce à la présence de pompes d'efflux (Costerton, 1999).

#### III.1.2. Insuffisance des conditions nutritives. Entrée en métabolisme ralenti.

Lorsque les conditions nutritives sont insuffisantes, les bactéries du biofilm entrent dans une phase de croissance ralentie voire en hypobiose (Costerton, 1999). En effet, la privation en oxygène et en nutriments entraîne une forte diminution de l'activité métabolique bactérienne.

Cette diminution de leur activité métabolique rend les bactéries des biofilms, en particulier celles situées dans les couches profondes du biofilm, moins sensibles à l'action des agents antimicrobiens (Costerton, 1999 ; Donlan et Costerton, 2002). Par contre, les cellules superficielles à haut métabolisme et à divisions rapides seront détruites par les antibiotiques qui auront réussi à franchir la matrice.

La baisse de l'oxygénation entraîne non seulement une baisse du métabolisme des cellules du biofilm mais est aussi à l'origine d'autres modifications. La résistance des bactéries des biofilms dans des conditions de basses concentrations en oxygène peut s'expliquer par le fait que certains antibiotiques ne sont pas actifs en absence d'oxygène, comme par exemple la ciprofloxacine (Zabinski, 1995). D'autre part, certains groupes de gènes sont activés par de basses concentrations en oxygène, et sont à l'origine de modifications phénotypiques permettant une résistance accrue aux agents antimicrobiens. Des concentrations réduites en oxygène engendrent des modifications phénotypiques à l'origine d'une diminution de sensibilité aux agents anti-microbiens (Drenkard, 2003).

Ainsi, l'entrée dans un métabolisme ralenti protège les bactéries de l'action des antibiotiques. En diminuant leur croissance et leur métabolisme et en activant des facteurs de réponse aux stress environnementaux (anaérobiose, pauvreté en éléments nutritifs), les bactéries des biofilms augmentent leurs chances de survivre à des traitements antibiotiques.

### III.1.3. Présence de variant phénotypiques.

Un autre mécanisme proposé pour l'explication de l'antibiorésistance au sein des biofilms est la présence de variant phénotypiques dits « persistants », parfois appelés « cellules persistantes » (Drenkard *et al.*, 2002). Les biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* possèdent des variants phénotypiques capables de croître normalement en présence de fortes concentrations en antibiotiques. Une protéine régulatrice détermine quelles cellules seront résistantes au sein du biofilm. Il s'agit d'un mécanisme de contrôle, qui permet à des bactéries de s'adapter à un grand nombre de conditions environnementales. Ces variations phénotypiques sont réversibles et apparaissent de façon très fréquente et aléatoire, conduisant à l'obtention de populations extrêmement hétérogènes d'un point de vue phénotypique (Lewis, 2008). L'hétérogénéité de phénotypes au sein de populations augmente la probabilité de constater une résistance bactérienne lors de changements environnementaux soudains (Drenkard *et al.*, 2002).

La persistance de ces cellules est due à une altération des mécanismes de mort programmée. Selon cette théorie, les agents antimicrobiens tueraient indirectement les bactéries en causant des dommages intracellulaires qui déclencheraient alors les processus de mort programmée. Sur des cellules possédant une altération de leur mécanisme de mort programmée, l'action des antibiotiques n'a aucun effet et ces cellules persistent (Lewis, 2001).

On a aussi pu mettre en évidence l'existence de gènes codant pour des protéines induisant une vie ralentie : inhibition de la traduction et/ou de la réplication du matériel génétique. La PlsB est une protéine bactérienne, dont le gène contient des séquences très conservées, joue aussi un rôle dans la tolérance aux antibiotiques. La persistance des cellules dépend de leur aptitude à conserver l'intégrité de leur membrane, par des mécanismes dépendants de la PlsB dans le cadre de la synthèse de phospholipides (**Lewis, 2008**).

Les caractères de résistance aux antibiotiques sont transmissibles. On dispose de peu de données, mais on peut penser que la tolérance à un antibiotique se transmet génétiquement (**Lewis, 2008**). Soit par mutation chromosomique, soit par acquisition. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente) (**Baudry et Brézellec, 2006**).

Les transferts horizontaux d'information génétique jouent un rôle important dans l'évolution et la diversité génétique des communautés microbiennes. L'un des principaux mécanismes de transfert génétique est celui de la conjugaison qui permet l'échange direct d'ADN par contact physique entre deux cellules via un pilus de conjugaison. Les biofilms, en favorisant le contact des bactéries entre elles, offrent un environnement idéal pour le transfert de gènes par le mécanisme de conjugaison, et de nombreuses études ont montré que la fréquence de transferts génétiques par conjugaison augmentait lorsque les bactéries se développaient sous forme de biofilm (**Roberts et al., 1999 ; Ghigo, 2001**). La mise en évidence de la relation entre conjugaison et capacité à former un biofilm a de profondes conséquences écologiques. Elle suggère en particulier que les plasmides conjuguatifs, en exprimant des fonctions d'adhésion, favorisent l'accès de leurs bactéries hôtes aux biofilms, micro environnements très favorables à la transmission horizontale de matériel génétique, un mécanisme essentiel d'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques (**Ghigo, 2001**).

#### III.1.4. Synthèse de molécules spécifiques

Certains polysaccharides peuvent se lier aux antibiotiques et les empêcher de pénétrer au sein du biofilm. C'est le cas de l'alginate, un exopolysaccharide produit par *Pseudomonas aeruginosa*. Il s'agit d'un polymère anionique : il capte facilement les molécules cationiques, comme par exemple les aminosides, et les inhibe. Les alginates produits par *Pseudomonas aeruginosa* durant les étapes de formation du biofilm réduisent la phagocytose leucocytaire (**Leid et al 2005**).

Il existe d'autres facteurs spécifiques de biofilms intervenant dans la résistance aux antibiotiques, comme par exemple l'enzyme codée par le gène *ndvB* chez *Pseudomonas*

*aeruginosa*. Elle est impliquée dans la synthèse de glycanes cycliques, qui se lient à l'antibiotique (principalement la tobramycine), le séquestrent et empêchent la destruction de la bactérie (Mah, 2003).

### III.2. Facteurs de résistance induits

Les mécanismes à l'origine de l'expression de facteurs de résistance induits sont mal connus car peu d'études ont été menées afin de déterminer et d'identifier les facteurs de résistance induits par les antibiotiques au sein de biofilms. On sait qu'un grand nombre de gènes est impliqué (Lewis, 2008).

L'expression de facteurs induits de résistance à un antibiotique est stimulée par l'exposition d'une population de bactéries à cet antibiotique, qui constitue un stress important pour ces dernières. Au sein d'un biofilm exposé à un antibiotique se crée un gradient d'antibiotique, qui décroît quand on approche des couches profondes du biofilm. Ce gradient entraîne l'expression différentielle de facteurs de résistance induits, selon l'endroit où l'on se trouve dans le biofilm.

Ces facteurs induits viennent compléter l'action des facteurs de résistance innés (Lewis, 2008). Enfin, le quorum sensing jouerait un rôle dans l'établissement d'antibiorésistance au sein de biofilms, mais cette hypothèse reste assez controversée. Les molécules du quorum sensing contrôlent l'expression de facteurs de virulence extracellulaire mais leur rôle dans l'établissement d'une antibiorésistance est mal connu (Clutterbuck *et al.*, 2007).



***Partie  
expérimentale***



***Matériels et  
méthodes***

## 1. Lieu et cadre d'étude

Notre étude a été menée au laboratoire de bactériologie à l'hôpital militaire de Constantine et à la paillasse de bactériologie à l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de kenchela durant le mois d'Avril et de Mai 2015



**Photographie 01** : Vue générale de l'hôpital militaire de Constantine **A** et l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de kenchela **B**.

## II. Prélèvement des dispositifs médicaux

### II.1. Origine et types de prélèvement

Les prélèvements ont été effectués à l'hôpital militaire de Constantine et l'hôpital Ahmed ben bella de kenchela, au niveau des services :

- Service de médecine interne ;
- Le bloc opératoire;
- Service de réanimation ;

#### II.1.1. Prélèvement des sondes urinaires

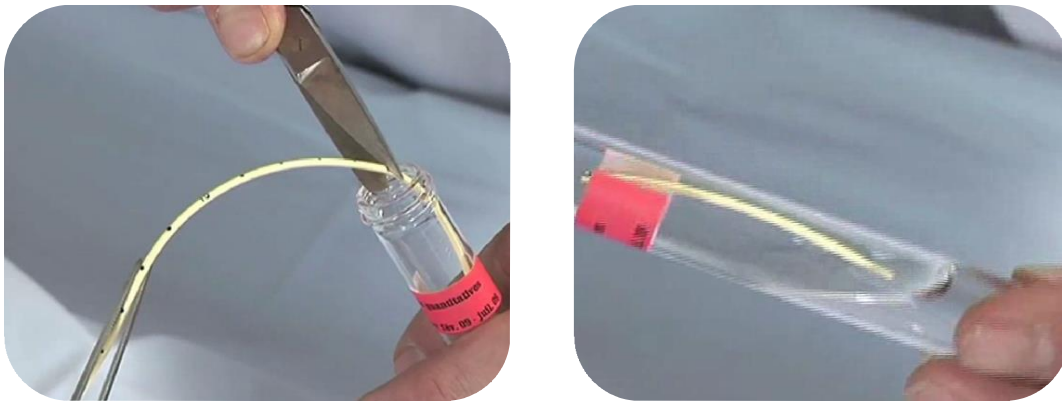
Pour l'analyse microbiologique des sondes urinaires nous nous sommes référées à la technique de « **Brun-Buisson** » utilisée pour les cathéters qu'on a adaptée et appliquée aux sondes urinaires. A cet effet, les 10 cm de l'extrémité terminale de la sonde urinaire sont mises dans 2 ml d'eau physiologique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



**Photographie 2**: Méthode de prélèvement des sondes vésicale.

### **II.2.2. Prélèvement distal protégé (PDP)**

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 immergée 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**). Puis ensemencer 10 l sur les milieux de culture.



**Photographie 03 :** Méthodes de prélèvement de cathéter vinaireux.

### **II.2.3. Prélèvement des endoscopes**

Le prélèvement est effectué au niveau de différents points de l'endoscope par l'injection d'une solution spécifique qui récupérerait les microorganismes présents sur l'endoscope (**MSS, 2007**). Ensuite le liquide est récupéré à l'aide d'un écouvillon, ensuite mis dans un bouillon nutritif et finalement 10 l du liquide est ensemencé sur les milieux de culture par la technique d'épuisement en stries (technique des cadrans).



**Photographie 04:** Méthodes de prélèvement d'endoscope.

### II.3. Isolement et purification

L'isolement direct est pratiqué sur un milieu ordinaire (gélose nutritive) et les milieux sélectifs Chapman, Hektoen et sur le milieu gélosé au sang cuit (GSC). A l'aide d'une micropipette on prélève 10 µl de liquide qu'on dépose sur les milieux de culture, puis avec une pipette Pasteur on ensemence par la technique d'épuisement en stries (technique des cadrans) 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 sur les milieux sélectifs.

### II.4. 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, test de coagulase et le test d'oxydase) et par le système API 20 E (BioMérieux). Les résultats obtenus au cours de chaque étape permettent l'orientation des démarches ultérieures.

#### II.4.1. Identification des staphylocoques

##### II.4.1.1 Examens macroscopiques

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).

Sur gélose au sang cuit, en 24 heures les colonies sont translucides, lisses, bombées, à contour régulier, de consistance crémeuse, de 0,5 à 1mm de diamètre; elles présentent une surface luisante et humide (Kloos, 1999). La gélose au sang utiliser pour la mise en évidence de type d'hémolyse.

##### II.4.1.2. Examens microscopiques

###### Coloration de gram

La coloration de Gram est un procédé qui permet de diviser les bactéries en deux groupes distincts : les bactéries à coloration de Gram positive et les bactéries à coloration de Gram négative. Cette coloration permet en plus de préciser la morphologie et le mode de regroupement des cellules. Les bactéries Gram négatif apparaissent colorées en rose tandis que les bactéries Gram positif sont colorées en violet. (Prescott *et al.*, 2003).

**1- Réalisation du frottis**

**Fixer le frottis par la chaleur**

**Passer la lame lentement au-dessus de bec bunsen et laisser refroidir.**

**2- Coloration par le violet de gentiane**

**Recouvrir la lame par violet de gentiane**

**Laisser 1 min.**

**Rincer à l'eau distillée**

**3- Mordançage par le Lugol**

**Recouvrir le frottis par Lugol**

**Laisser 1 min**

**Éliminer l'excès de lugol et rincer la lame**

**4- Décoloration par l'alcool**

**Recouvrir le frottis d'alcool (éthanol)**

**Laisser 30 s**

**Laver le frottis à l'eau distillée**

**5- Recoloration par la fuchsine**

**Recouvrir le frottis par la fuchsine**

**Laisser 1min.**

**Rincer le frottis à l'eau distillée**

**Sécher la lame entre 2 feuilles de papier essuie-tout**

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 trinoculaire 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)

Les frottis sont observés au microscope optique avec l'objectif à immersion (objectif x100).

Des microphotographies sont réalisées à l'aide d'un microscope trinoculaire doté d'un appareil photographique numérique.



**Photographie 05 :** Un microscope équipé d'un appareil photographique numérique.

#### **II.4.1.3. Identification biochimique**

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

##### **II.4.1.3.1. Catalase**

La catalase est une oxydoréductase intervenant dans le mécanisme de résistance à la bactéricide (Chaala, 2013). 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 ( $H_2O_2$ ).

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  $H_2O_2$ . 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).

##### **II.4.1.3.2. Recherche de Staphylocoagulase**

###### **Coagulase libre**

La coagulase libre est présente chez *S. aureus*, mais aussi peut être produite par *S. intermedius* ou *S. hyicus*. Ce test consiste à mettre en évidence la coagulase libérée dans le milieu extérieur.

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**

C'est une coagulase insoluble appelée clumping factorielle, se lie au fibrinogène, elle est mise en évidence sur lame par contact de la souche avec des hématies de mouton. Un résultat positif se manifeste par l'apparition d'une agglutination 5 à 20 secondes plus tard. (Karam, 2004).



**Photographie 06 :** Réactif de test de coagulase liée.

### **II.4.2. Identification des *Entérobactéries* et des *Pseudomonas***

Le milieu Hektoen est un milieu sélectif pour les bacilles GRAM négatif, la présence des sels biliaires inhibe la présence d'autre germe que les GRAM négatif. 0.1 ml de l'inoculum est déposé à la surface du milieu gélosé Hektoen coulé en boîte de pétri. L'inoculum a été ensemencé sur la gélose par des stries très séries à l'aide d'une pipette pasteur.

Chez les *Pseudomonas* les colonies poussent en 24 heures à 41°C sont plates, à bord irrégulier et prenant un aspect irisé métallique avec le temps. Un pigment vert brillant diffusible caractérise cette espèce : il est dû à la combinaison de pyoverdine (pigment jaune vert fluorescent commun aux espèces du groupe (*P. Fluorescens*) et à la pyocyanine (pigment bleu spécifique de *P. aeruginosa*). Une odeur aromatique de type seringa est souvent présente (CTCB, 2011).

Chez les entérobactéries les colonies apparaissent après 24 heures d'incubation à 37°C sous forme de colonies saumon ou vertes, lisses, bombées, arrondies, à contour régulier et par fois irrégulier, de consistance crémeuse, de 1 à 2mm de diamètre.



**Photographie 07 :** Technique d'ensemencement de la gélose Hektoen.

#### **II.4.2.1. Examen microscopique**

##### **Coloration de gram**

Réalisée selon le même protocole que pour la coloration des Staphylocoques

#### **II.4.2.2. Identification biochimique**

##### **II.4.2.2.1. Test d'oxydase**

C'est un test très important pour l'orientation des bacilles à Gram négatif, les Gram positif ne possédant pas cette enzyme en général (le cytochrome oxydase). Il est basé sur l'étalement d'une quantité de la culture bactérienne à tester sur le disque d'oxydase imprégné du réactif. Un résultat positif est obtenu par la formation d'une tache violette sur le disque (**Joffin et Leyral, 2006**).

##### **II.4.2.2.2. Galeries miniaturisées (système API)**

Les galeries API est une miniaturisation des tests biochimiques classiques destinés à l'identification bactérienne. Le système de base se présente généralement sous la forme d'une plaque rectangulaire de 10 à 32 microtubes en plastique ayant la forme soit d'un simple puit, soit d'un sabot permettant de mélanger une partie anaérobie (tube) et une partie aérobie (cupule). Chaque tube contient, sous forme déshydratée, des substrats et, éventuellement un réactif permettant de révéler l'activité recherchée. Selon les tests, soit on ensemence tout les microtubes (tube et cupule) soit uniquement le tube.

Dans ce dernier cas, la cupule est remplie d'huile de paraffine pour créer l'anaérobiose et empêcher les échanges gazeux pendant l'incubation (**Anonyme, 2006**). Les galeries API qu'on a utilisées sont IAPI 20E pour les entérobactéries.

❖ **Préparation de l'inoculum :** On fait une suspension bactérienne, dans un tube d'eau distillée stérile, d'une capacité légère avec une seule colonie prélevée sur un milieu gélosé.

❖ **Inoculation de la galerie :** Pour les tests CIT, VP et GEL, on remplit tout le microtube (tube et cupule) alors pour le reste, uniquement les tubes. Puis, on ajoute d'huile de paraffine

dans les cupules des tests suivants : ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S et URE pour créer une anaérobiose. On incube par la suite la galerie à 37°C pendant 24 heures.

❖ **Lecture et identification:** Après l'addition des réactifs nécessaires, on se réfère au tableau de lecture (**Annexe 2**). Dans une fiche de résultats, on note les réactions par (+) ou (-) et on identifie l'espèce à l'aide d'un logiciel d'identification (API Excel). (**Anonyme, 2006**).



**Photographie 08:** La galerie API 20 des Entérobactéries.

## **II.5. L'étude de l'antibiorésistance**

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

### **II.5.1. L'antibiogramme standard (méthodes des disques)**

C'est un test de sensibilité aux antibiotiques selon la technique de diffusion en milieu gélosé. Il permet d'une part le choix d'un antibiotique pour traiter une infection bactérienne et d'autre part la surveillance des résistances bactériennes aux antibiotiques. (**Soussy, 2010**).

#### **Mode opératoire (Soussy, 2010).**

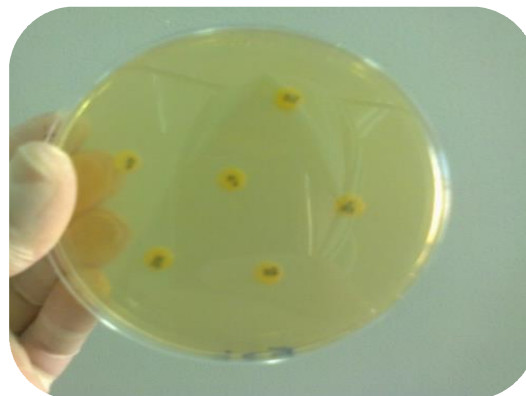
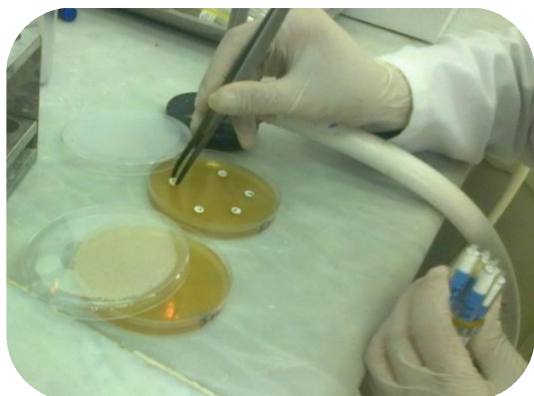
❖ **Milieu :** c'est la gélose Mueller Hinton (MH), coulé en boîte Pétri sur une épaisseur de 4mm. Les géloses sont séchées avant l'emploi.

❖ **Inoculum :** à partir d'une culture pure de 18 heures sur milieu d'isolement, on prépare une suspension bactérienne d'opacité d'environ 0,5 McFarland ( $10^8$  bactéries par ml) en utilisant 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %.

❖ **Ensemencement :** à l'aide d'un écouvillon trempé dans la suspension, on ensemence par stries serrées toute la surface du milieu en 3 reprises en changeant l'angle à chaque fois (60°).

❖ **Application des disques antibiotiques :** on a déposé les disques dans la plupart des cas à l'aide de distributeur automatique ou parfois à la pince bactériologique stérile. Des précautions à respecter lors de l'application, c'est par exemple : presser chaque disque

d'antibiotique à l'aide de la pince pour s'assurer de son application, respecter une distance minimale de 15 mm entre deux disques.



**Photographie 09:** Application des disques d'antibiotique.

Les antibiotiques qu'on a utilisés pour chaque espèce bactérienne identifiée sont résumés dans les tableaux **VI**, **VII**, **VII** :

❖ **Incubation** : les boites sont par la suite incubées à 37°C pendant 24 heures, couvercle en bas.

❖ **Lecture** : on mesure avec précision les diamètres des zones d'inhibitions et on compare les résultats obtenus aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture (Annexe 6, 7,8). On classe la bactérie dans l'une des catégories : sensible (S), intermédiaire (I) et résistante (R).

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

Les Antibiotiques	Abréviations	Charge des disques ( g )
<b>LACTAMINES</b>		
Pénicilline	P	10UI
Oxacilline	OX	30
Céfoxitine	FOX	30
<b>M . L. S</b>		
Erytromycine	E	15
Spiramycine	SPN	100
Lincomycine	L	30
Clindamycine	DA	02
Pristinamycine	PT	15
<b>GLYCOPEPTIDES</b>		
Vancomycine	VA	30
Teicoplanine	TEC	30
<b>CYCLINES</b>		
Tétracycline	TET	30
<b>AMINOSIDES</b>		
Kanamycine	KMN	30
Amikacine	AK	30
Tobramycine	TOB	10
Gentamycine	CN	10
<b>FLUOROQUINOLONES</b>		
Ofloxacine	OFX	
<b>DIVERS</b>		
Acide Fusidique	FA	10
Chloramphénicol	C	30
Rifampicine	RA	30
Fosfomycine	FOS	50

**Tableau VII** : Antibiogramme pour bacilles à gram négatif non fermentaire (AARN/SANTE).

<b>Les Antibiotiques</b>	<b>Abréviations</b>	<b>Charge des disques ( g)</b>
<b>PENICILLINES</b>		
<b>Ticarcilline</b>	<b>TIC</b>	<b>75</b>
<b>Ticarcilline + Acide clavulanique</b>	<b>TCC</b>	<b>75+10</b>
<b>Pipéracilline</b>	<b>PRL</b>	<b>100</b>
<b>Pipéracilline +Acide clavulanique</b>	<b>PRL</b>	<b>100+10</b>
<b>CEPHALOSPORINES</b>		
<b>Ceftazidime</b>	<b>CAZ</b>	<b>30</b>
<b>Céfépime</b>	<b>CFP</b>	<b>30</b>
<b>Céfpirome</b>	<b>CFR</b>	<b>30</b>
<b>MONOBACTAME</b>		
<b>Aztréonam</b>	<b>ATM</b>	<b>30</b>
<b>CARBAPENEMES</b>		
<b>Imipenème</b>	<b>IMP</b>	<b>10</b>
<b>AMINOSIDES</b>		
<b>Amikacine</b>	<b>AK</b>	<b>30</b>
<b>Gentamycine</b>	<b>CN</b>	<b>10</b>
<b>Tobramycine</b>	<b>TOB</b>	<b>10</b>
<b>Nétilmicine</b>	<b>NET</b>	<b>30</b>
<b>QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES</b>		
<b>Ciprofloxacine</b>	<b>CIP</b>	<b>05</b>
<b>Lévofloxacine</b>	<b>LVX</b>	<b>5</b>
<b>DIVERS</b>		
<b>Colistine</b>	<b>CT</b>	<b>10</b>
<b>Rifampicine</b>	<b>RA</b>	<b>30</b>
<b>Chloramphénicol</b>	<b>C</b>	<b>30</b>
<b>Fosfomycine</b>	<b>FOS</b>	<b>50</b>

**Tableau VIII : antibiogramme pour Entérobactéries (AARN/SANTE).**

<b>Antibiotique</b>	<b>Abréviations</b>	<b>Charge des disques ( g)</b>
<b>PENICILLINES</b>		
<b>Ampicilline</b>	<b>AM</b>	<b>30</b>
<b>Amoxicilline</b>	<b>AMX</b>	<b>20</b>
<b>Amoxicilline + Acide clavulanique</b>	<b>AMC</b>	<b>30</b>
<b>Pipéracilline</b>	<b>PRL</b>	<b>100</b>
<b>CEPHALOSPORINES</b>		
<b>Céfotaxime</b>	<b>CTX</b>	<b>30</b>
<b>Céfazoline</b>	<b>KZ</b>	<b>30</b>
<b>Céfépime</b>	<b>CFP</b>	<b>30</b>
<b>Céfalotine / Céfalexine</b>	<b>CF</b>	<b>30</b>
<b>Ceftriaxone</b>	<b>CRO</b>	<b>30</b>
<b>Céfixime</b>	<b>CFM</b>	<b>30</b>
<b>CARBAPENEMES</b>		
<b>Imipenème</b>	<b>IMP</b>	<b>10</b>
<b>AMINOSIDES</b>		
<b>Amikacine</b>	<b>AK</b>	<b>30</b>
<b>Gentamycine</b>	<b>CN</b>	<b>10</b>
<b>Tobramycine</b>	<b>TOB</b>	<b>10</b>
<b>QUINOLONES / FLUOROQUINOLONES</b>		
<b>Ciprofloxacine</b>	<b>CIP</b>	<b>05</b>
<b>Acide nalidixique</b>	<b>NA</b>	<b>30</b>
<b>DIVERS</b>		
<b>Colistine</b>	<b>CT</b>	<b>10</b>
<b>Chloramphénicol</b>	<b>C</b>	<b>30</b>
<b>Fosfomycine</b>	<b>FOS</b>	<b>50</b>



***Résultats et  
discussion***

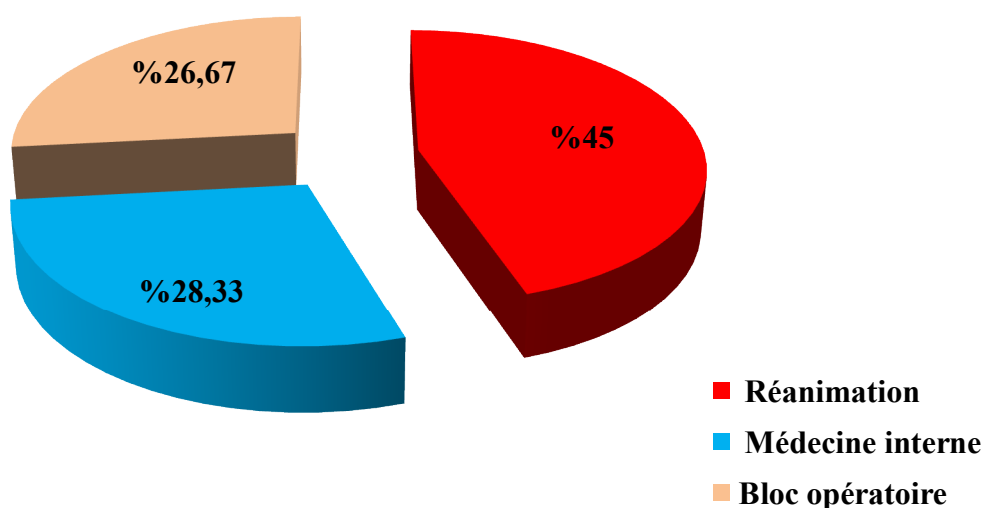
## I. Résultats descriptifs des instruments

### I.1. Classification selon leur origine et leur nature

Au cours de la période d'étude, 60 prélèvements à partir des dispositifs médicaux ont été collectés aseptiquement à l'hôpital militaire Ali Mendjli de Constantine et l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella khenchela, 18 prélèvements sont des sondes vésicales, 26 sont des cathéters veineux et 16 des endoscopes. Les services concernés sont : le bloc opératoire, le service de réanimation et médecine interne.

**Tableau IX:** Répartition des prélèvements par services.

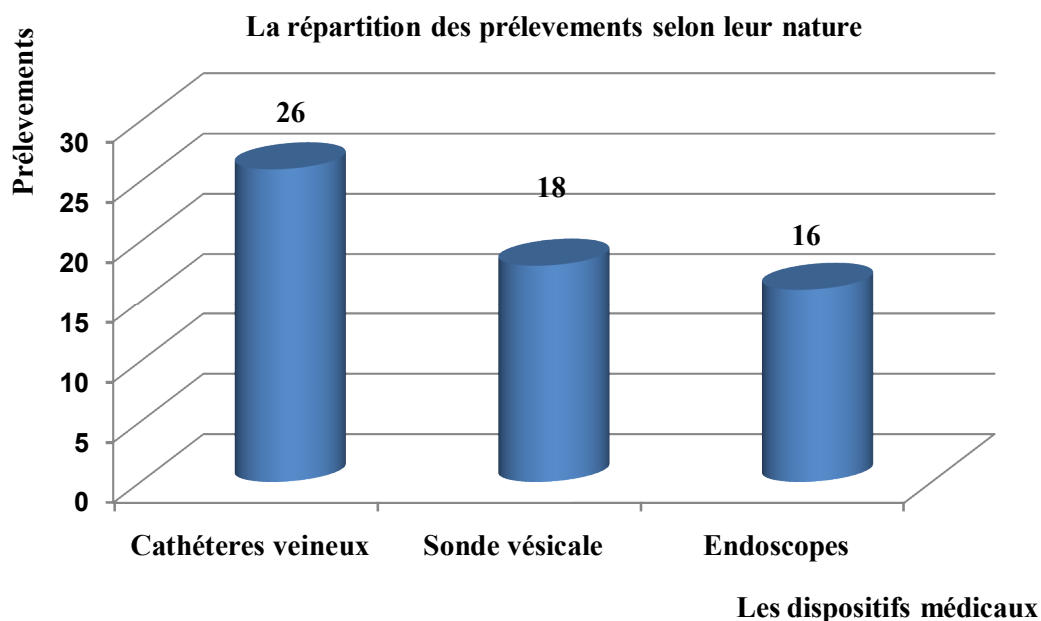
Les Services	Nombre des prélèvements	Pourcentage
<b>Réanimation</b>	<b>27</b>	<b>45%</b>
<b>Médecine interne</b>	<b>17</b>	<b>28.33%</b>
<b>Bloc opératoire</b>	<b>16</b>	<b>26.67%</b>
<b>Total</b>	<b>60</b>	<b>100%</b>



**Figure 06 :** La répartition des prélèvements selon leur origine.

**Tableau X:** Répartition des prélèvements selon leur nature.

Type de prélèvements	Nb prélèvements	Pourcentage
<b>Cathéters veineux</b>	<b>26</b>	<b>44%</b>
<b>Sonde vésicale</b>	<b>18</b>	<b>30%</b>
<b>Endoscopes</b>	<b>16</b>	<b>26%</b>
<b>Total</b>	<b>60</b>	<b>100%</b>



**Figure 07 :** Répartition des prélèvements selon leur nature

### I.2. Classification selon la nature des biomatériaux

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

**Tableau XI :** Nature des matériaux qui constituent les dispositifs implantables.

<b>Instrument</b>	<b>Nature des biomatériaux</b>
<b>Cathéters veineux</b>	<b>Silicone ou Polyuréthane</b>
<b>Sonde vésicale</b>	<b>Silicone</b>
<b>Endoscopes</b>	<b>Acier inoxydable, Polymères....</b>

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. Or la nature des matériaux qui constituent les cathéters utilisés au niveau des deux services (Réanimation, Médecine interne) sont la silicone et le Polyuréthane, n'ont pas limité la survenue d'une infection liée aux cathéters 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).

La même procédure pour les endoscopes lorsque possédant des canaux complexes, constitués par l'assemblage de plusieurs dizaines de pièces en matériaux divers (Acier inoxydable, Polymères....) (MSS, 2007). La complexité de leur structure rend possible une accumulation de souillures organiques (liquides biologiques ou tissus) en certains points, plus ou moins accessibles au nettoyage, à la désinfection et au séchage. Ces souillures peuvent elles-mêmes renfermer des agents infectieux et constituent des points d'ancrage des germes et des substrats favorables à la multiplication de micro-organismes. Une fréquence ou une qualité insuffisante de traitement peut aboutir à la formation d'un biofilm (MSS, 2007).

### **I.2. Classification des instruments 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. (Santé doctissimo, 2014). Le tableau XII illustre le niveau de risque et la fonction des instruments utilisés

**Le tableau XII** : le niveau de risque et la fonction des instruments utilisés

<b>L'instrument</b>	<b>Le niveau de risque</b>	<b>La fonction</b>
<b>Cathéters veineux</b>	<b>Haut risque</b>	<b>Implantable</b>
<b>Sonde vésicale</b>	<b>Haut risque</b>	<b>Implantable</b>
<b>Endoscopes</b>	<b>Risque médian</b>	<b>Invasif</b>

### **I.3. Les facteurs de risques liés aux instruments médicaux utilisés**

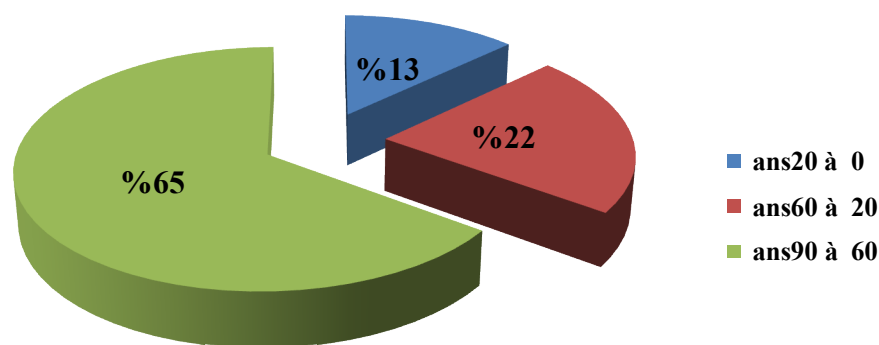
Plusieurs facteurs peuvent être responsables des contaminations sur les instruments ce sont principalement l'âge et la durée d'implantation.

#### **I.3.1. L'âge des patients**

Les résultats de notre étude montrent que la tranche d'âge de 60 à 90 était la plus concernée par l'utilisation des instruments médicaux.

Plusieurs auteurs, signalent que les personnes âgées sont les plus sensibles et les plus vulnérables aux infections. Cette vulnérabilité est multifactorielle (Puissieux *et al.*, 1997).

Effectivement **Jean Christophe Lucet (2000)** a signalé que l'âge avancé agissait en réduisant les défenses de l'hôte et augmentait également la durée des interventions. La durée d'hospitalisation des vieux patients est généralement plus longue que celle des patients plus jeunes (**Gronberg *et al.*, 1988**).



**Figure 08 :** Répartition des prélèvements des instruments médicaux en fonction de l'âge des patients.

### I.3.2. La durée de l'implantation des instruments

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

**Tableau XIII :** La durée d'implantation des instruments médicaux

L'instrument	La durée d'implantation
Cathéters veineux	4 à 9 jours
Sonde vésicale	5 à 15 jours

Les matériaux d'implantation sont de plus en plus utilisés dans nombreux domaines de la médecine moderne, ce sont par exemple les cathéters urinaires, cathéters de dialyse.... Les infections du tractus urinaire à la cathérisation sont les infections les plus fréquentes, le facteur principal de risque est la durée de cathérisation (**Burin des rosiers, 2002**) lorsque la durée augmente le nombre et la colonisation des microorganismes qui forment des biofilms augmente aussi.

## II. Résultats bactériologiques

Au cours de la période d'étude, 60 prélèvements a partir des dispositifs médicaux ont été collectés aseptiquement à l'hôpital militaire Ali Mendjli de Constantine et l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella kenchela.

Après l'incubation des milieux de cultures utilisés on a obtenu 52 cultures positives et 8 cultures négatives.

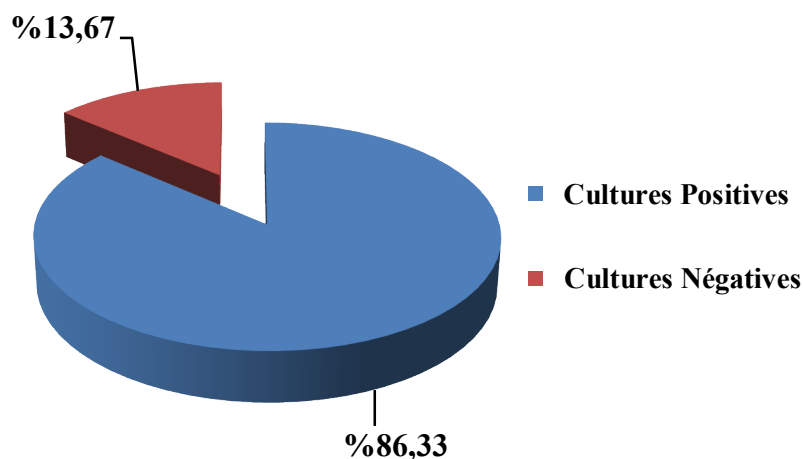


Figure 09 : La répartition des cultures positives et négatives.

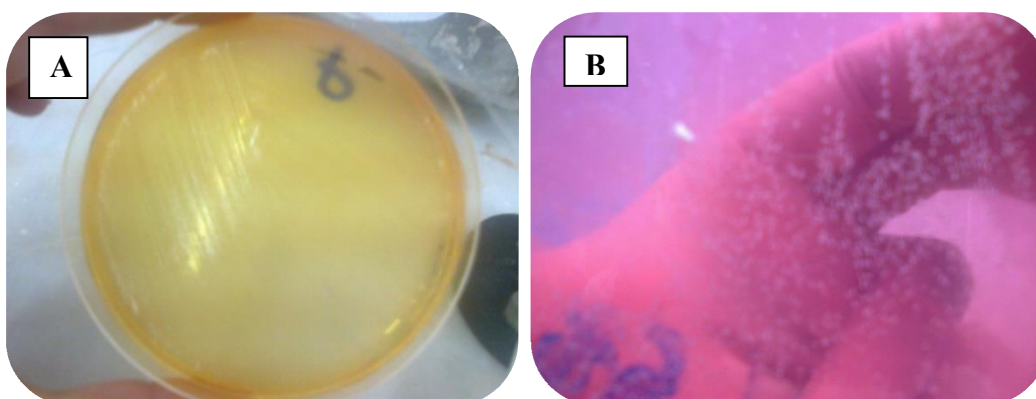
### II.1. Isolement et identification des *Staphylococcus* spp

15 prélèvements ont donné une culture positive sur le milieu Chapman. 03 cultures ont été obtenues à partir des sondes vésicales, 09 à partir des cathéters veineux et 03 cultures à partir des endoscopes. Un total de 15 souches du genre *Staphylococcus* a été isolé à partir des dispositifs médicaux.

#### II.1.1. Aspect des colonies

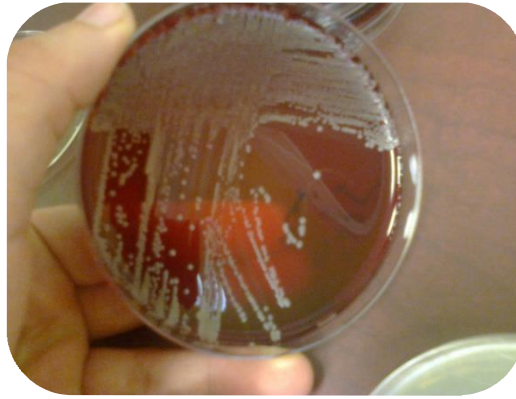
Sur les deux milieux de cultures (Chapman et gélose au sang cuit), les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristique du genre *Staphylococcus* ont été prélevées.

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 10A**), dans le cas contraire, les colonies sont de couleur blanche (**Photographie 10B**). Ces colonies sont arrondies à bords réguliers de 1 mm de diamètre après 24 heures d'incubation à 37°C.



Photographies 10 : Aspect macroscopique des colonies sur milieu Chapman.

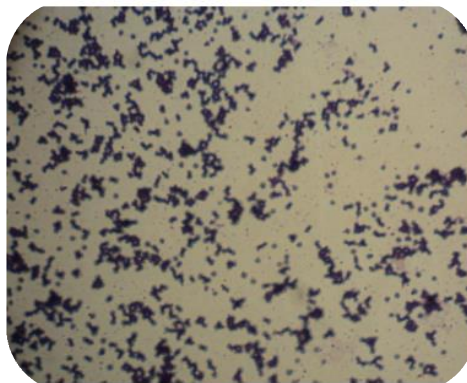
Sur gélose au sang cuit, les colonies ont une couleur blanche, translucides, lisses, bombées, à contour régulier, de consistance crémeuse, de 0,5 à 1mm de diamètre; elles présentent une surface luisante et humide. Après 24 heures d'incubation à 37°C.



**Photographies 11:** Aspect macroscopique des colonies sur milieu gélose au sang.

### **II.1.2. Coloration de Gram**

Une coloration de Gram a été pratiquée sur quelques colonies, l'observation des frottis colorés au microscope optique à l'objectif à l'immersion (G x 100) met en évidence des cocci sphériques, en grappe de raisin, colorés en violet.



**Photographies 12 :** 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 13 :** Résultat du test catalase.

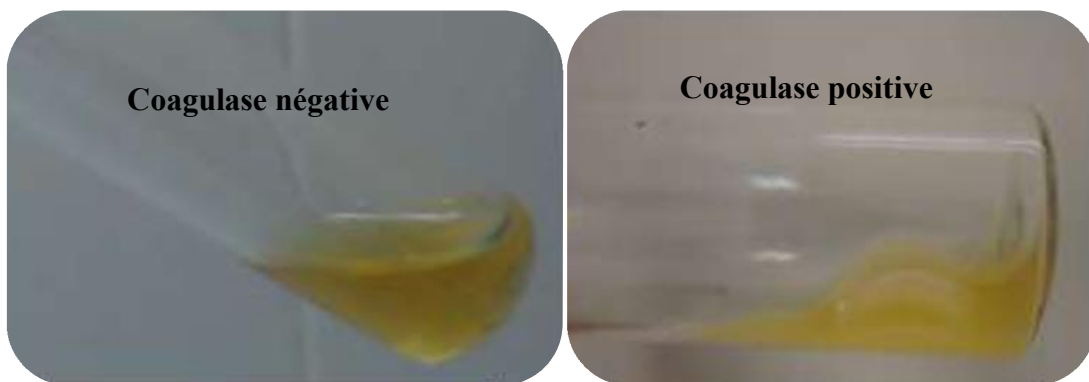
## II.1.4. Test de coagulase

### 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 de lapin. Parmi les Cocci Gram +, catalase +, 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 (**Photographie 14**).

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



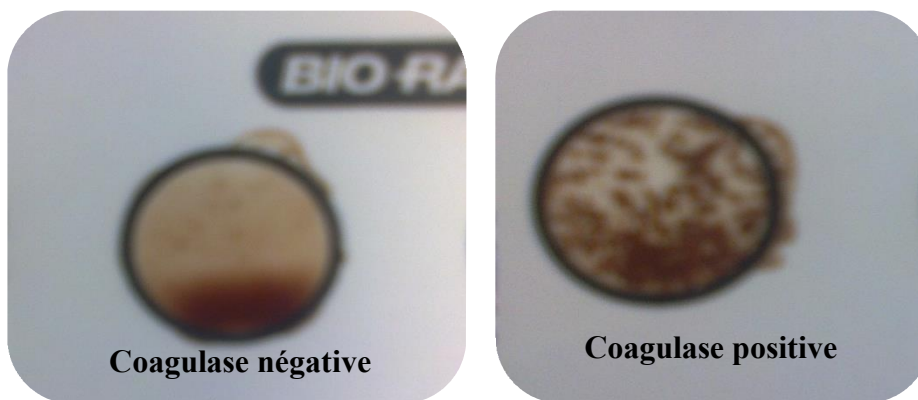
**Photographie 14** : Résultat du test de coagulase libre.

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

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

### 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.



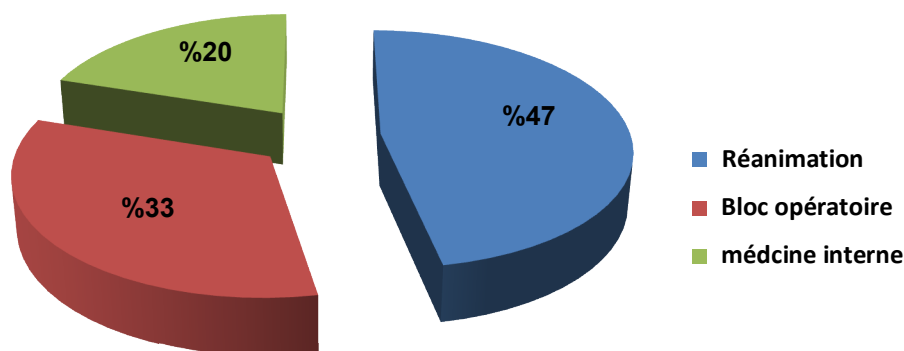
**Photographie 15** : Résultat du test de coagulase liée.

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

Une agglutination négative ou douteuse indique la nécessité de poursuivre l'identification : aucune conclusion ne peut être donnée. 98 % des *Staphylococcus aureus* possèdent le récepteur au fibrinogène. 90 % des *Staphylococcus aureus* possèdent la protéine A.

#### II.1.5. Répartition des *Staphylococcus* isolées en fonction des services étudiés

La répartition des *Staphylococcus* isolées en fonction des services étudiés est illustrée sur la figure 7. Les résultats montrent que les échantillons provenant du service de réanimation sont à 47 % positive pour le genre *Staphylococcus*. A travers la littérature générale, la réanimation est considéré comme un écosystème particulier au sein de l'hôpital, les infections nosocomiales y sont plus fréquentes de façon générale : les taux sont 5 à 10 fois plus élevés que dans les autres services hospitaliers (Butreau-Lemaire et Botto, 1997).



**Figure 10** : La répartition des *Staphylococcus* isolées en fonction des services étudiés.

C'est un lieu d'échange entre les secteurs de soins aigus médico-chirurgicaux, les blocs opératoires et les centres de rééducation. C'est le secteur de l'hôpital où la pression de sélection

antibiotique est la plus forte à cause de l'utilisation d'antibiotiques à très large spectre, le risque de transmission croisée de germes est élevé en raison de la multiplicité des soins. Les patients sont particulièrement exposés aux risques infectieux du fait de la gravité de la pathologie les amenant en réanimation, d'un état d'immunodépression quasi constant et des multiples techniques invasives pratiquées (intubation, ventilation mécanique, cathéters centraux, sondage vésical) (Corne, 2004).

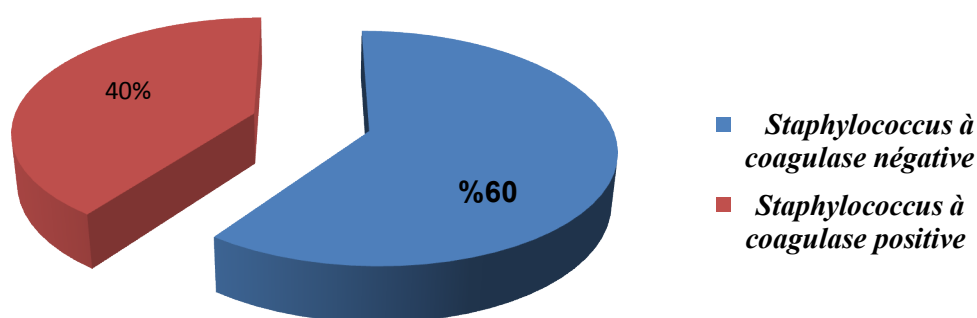
Aussi l'hospitalisation en service de soins intensifs ou de réanimation reste une situation à risque car elle associe la dépendance totale du malade, l'existence d'effractions vésicales pérennisées, le catabolisme important et l'altération des mécanismes de défense immunitaire (Parneix *et al.*, 1995).

De même un service de réanimation a un rôle central dans l'acquisition et la dissémination des bactéries multirésistantes, particulièrement les staphylocoques (Corne, 2004).

#### II.1.6. La répartition des souches de *Staphylococcus* selon leur espèce

Les résultats de l'identification macroscopique et microscopiques des différents isolats de Staphylocoques ainsi que le résultat des tests enzymatiques nous ont permis de classer nos isolats en :

- 06 *Staphylococcus aureus* soit 40 % des isolats
- 09 *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN) soit 60 % des isolats



**Figure 11** : Répartition des espèces de *Staphylococcus* identifiées

La figure 11 illustre une dominance des *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN), qui pourrait s'expliquer par leur prédominance dans la flore commensale cutanée et leur capacité d'adhérer à la surface des dispositifs médicaux (Otto, 2008).

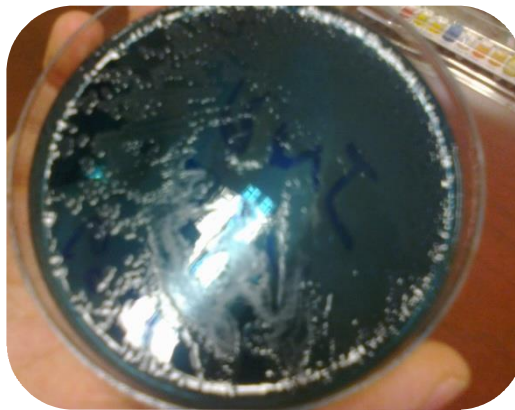
## **II.2. Identification des bactéries à Gram négatif**

### **II.2.1. Identification des bactéries à Gram négatif non fermentaire**

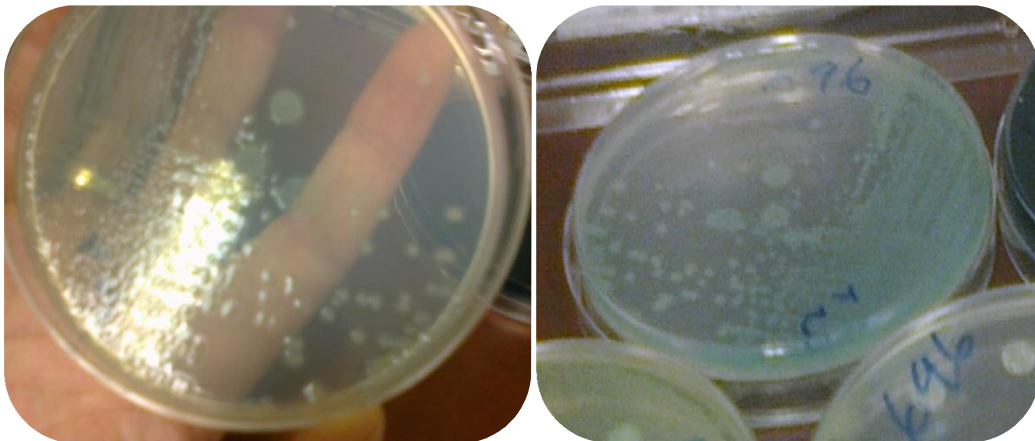
#### **II.2.1.1. Aspect macroscopique des isolats**

Les colonies apparues sur gélose Hektoen en 24 heures d'incubation à 41°C sont plates, à bord irrégulier et prenant un aspect irisé métallique avec le temps. Le résultat obtenu figure sur la photographie 16.

Quelques colonies caractéristiques ont été reprises de manière aléatoire et ont fait l'objet d'un test de confirmation des pigments diffusibles sur gélose nutritive. (**Photographie 17**).



**Photographie 16** : Résultats d'isolement sur gélose Hektoen.



**Photographie 17** : Résultats d'isolement sur gélose nutritive.

#### **II.2.1.2. Aspect microscopique des isolats**

Une coloration de Gram a été pratiquée sur quelques colonies obtenue sur gélose Hektoen, l'observation des frottis colorés au microscope optique à l'objectif à l'immersion (G x 100) ont révélé de petits bâtonnets de coloration rose, ils appartiennent donc à la classe des Gram négatif (Photographie 18).



**Photographie 18:** Résultats de la coloration de gram.

### II.2.1.3. Test d'oxydase

On a étalé une quantité de la culture bactérienne à tester sur le disque d'oxydase imprégné du réactif. Un résultat positif est obtenu par la formation d'une tache violette sur le disque (**photographie 19**).

L'apparition d'une tache violette indique que le PDA a donc été oxydé, donc la bactérie possède l'enzyme respiratoire appelée le cytochrome oxydase. Elle est dite oxydase (+)



**Photographie 19 :** Résultat de test d'oxydase.

### II.2.1.4. Identification biochimiques sur galerie API 20 E

En utilisant le tableau de lecture (Annexe 02) et le tableau d'identification (Annexe 08) des galeries API20E, on a pu identifier **12** espèces bactériennes dont l'aspect figure sur la **photographie 20**



**Photographie 20 :** Résultats de l'identification sur galerie API 20 E.


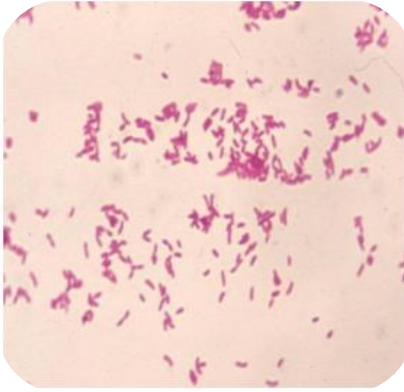
Pour l'identification biochimique de l'espèce *Pseudomonas sp* sur galerie API 20 E, on a noté, qu'elle ne produit pas d'indole et n'utilise pas le lactose comme source de carbone. Elle oxyde le Glucose et le citrate. Les tests d'assimilation montrent qu'elle n'assimile pas l'arabinose, le mannose, le maltose. Une réponse positive est obtenue pour les tests de l'arginine dihydrolase, et l'hydrolyse de la gélatine. Par contre, une réaction négative est obtenue pour le test de l'uréase et la  $\beta$  - galactosidase. Le profil numérique obtenu permet l'identification de la souche comme étant *Pseudomonas aeruginosa*. (**Photographie 20**).

## II.2.2. Identification des Entérobactéries

### II.2.2.1. Aspect macroscopique et microscopique des isolats

Le **tableau XIV** montre le résultat de l'isolement des échantillons prélevés à partir des dispositifs médicaux sur la gélose Hektoen, on remarque après incubation, à 37°C pendant 24 heures l'apparition de colonies. Le principe de lecture sur gélose Hektoen est fondé sur la fermentation éventuelle des 3 glucides présents dans le milieu (lactose, saccharose, salicine). Les microorganismes qui fermentent au moins l'un d'entre eux forment des colonies de couleur "saumon", les autres donnant des colonies vertes. En présence de thiosulfate de sodium, les microorganismes producteurs de sulfure d'hydrogène donnent, avec le citrate ferrique, des colonies à centre noir. (**Delarras, 2007**). Seules les colonies de couleur saumon ont été prises en considération. Une coloration de Gram a été pratiquée sur quelques colonies prises au hasard.

**Tableau XIV** : Observation des caractères cultureux et morphologique de la bactérie isolée

Milieu	Aspect macroscopique	Aspect microscopique
<p style="text-align: center;"><b>Hektoen</b></p>	<div style="text-align: center;">  </div> <p>- Colonies saumon, lisses, bombées, arrondies, à contour régulier et parfois irrégulier, de consistance crémeuse, de 1 à 2mm de diamètre.</p>	<div style="text-align: center;">  </div> <p>- Bacilles isolés colorés en rose, à Gram négatif</p>

### II.2.2.2. Identification biochimiques sur galerie API 20 E

En utilisant le tableau de lecture (Annexe 00) et le tableau d'identification (Annexe 00) des galeries API20 E, on a pu identifier **13 espèces** bactériennes dont l'aspect figure sur la photographie 21.



**Photographie 21** : Résultats de l'identification sur galerie API 20 E

Pour l'identification biochimique de l'espèce bactérienne sur galerie API 20 E, on a noté, qu'elle produit l'indole et utilise le lactose et le glucose comme source de carbone. Elle n'oxyde pas le citrate. Les tests d'assimilation montrent qu'elle n'assimile pas le saccharose, l'amygdaline et l'Inositol. Une réponse positive est obtenue pour le  $\beta$  – galactosidase . Par contre, une réaction négative est obtenue pour le test d'uréase, du tryptophane désaminase et des acides aminés. Le profil numérique obtenu permet l'identification de la souche comme étant *Escherichia coli*.

## II.3. La répartition des bactéries identifiées sur les instruments médicaux

### II.3.1. La répartition des bactéries identifiées sur les instruments médicaux implantés

Les résultats de la répartition de bactéries identifiées sur les instruments médicaux implantés par espèce et par service sont résumés dans le tableau :

**Tableau XV** : La répartition des bactéries identifiées sur les instruments médicaux implantés

Souches Services	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylocoque</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>Réanimation</b>	<b>04</b>	<b>07</b>	<b>08</b>
<b>Médecine interne</b>	<b>09</b>	<b>03</b>	<b>05</b>

Les microorganismes les plus fréquemment impliqués dans les cathéters veineux périphériques sont ceux de la flore cutanée, essentiellement les staphylocoques à coagulase négative et les staphylocoques dorés, suivis par les entérobactéries (**Figure 12**). Dans l'Étude de **Coello**, les staphylocoques sont identifiés dans 71,4 % des bactériémies liées aux cathéters périphériques, dans le programme RAISIN, les staphylocoques sont impliqués dans 70 % des bactériémies nosocomiales liées à un cathéter, central ou périphérique (**SFHH, 2005**).

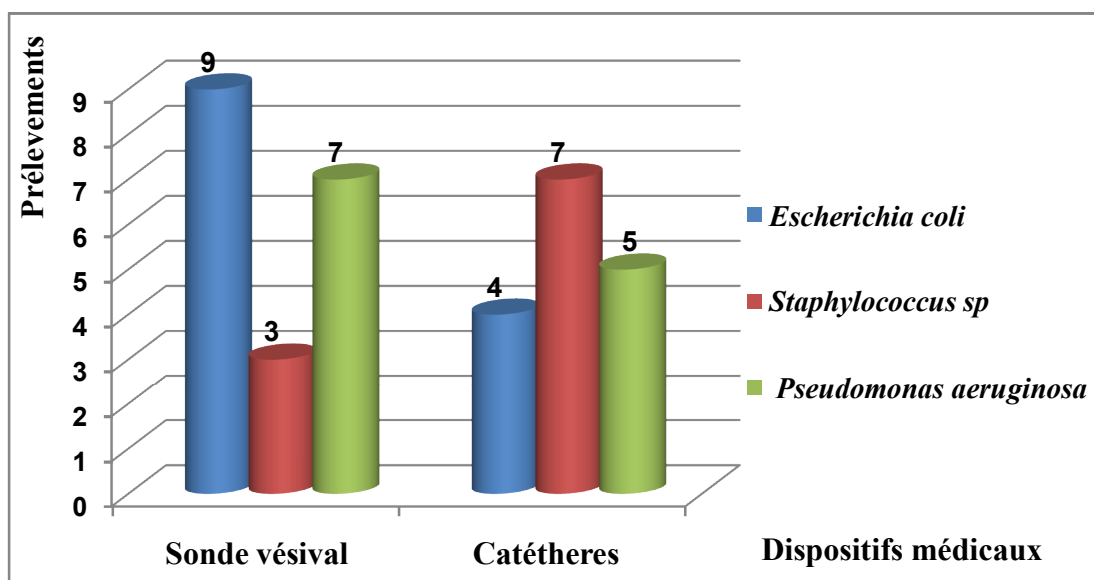


Figure 12 : la répartition des souches isolées sur les instruments implantés.

Les germes impliqués dans les infections dues à la présence d'une sondes urinaires sont dans la majorité des cas des bactéries à Gram négatif à savoir des entérobactéries, avec en tête *Escherichia coli* et *Pseudomonas sp*. On retrouve, parmi les bactéries à Gram positif, les entérocoques et les staphylocoques (Florence *et al.*, 2008). Le cathétérisme de l'appareil urinaire est le facteur le plus commun, qui prédispose l'hôte à ces infections (Mittal *et al.*, 2009). Les microorganismes les plus fréquemment impliqués dans les bactériémies associées sont principalement ceux de la flore cutanée, essentiellement les staphylocoques à coagulase négative (38 %) puis les *Staphylococcus aureus* (27 %), les *Candida sp.* et les entérobactéries (Raisin, 2008); (Mermel *et al.*, 2009).

### II.3.2. La répartition des bactéries identifiées sur les instruments médicaux non implantés

Pour les instruments non implantables, les microorganismes les plus fréquemment impliqués sont principalement ceux de la flore cutanée, essentiellement les *Staphylococcus* à coagulase négative et les *Staphylococcus aureus*. (Figure 13)

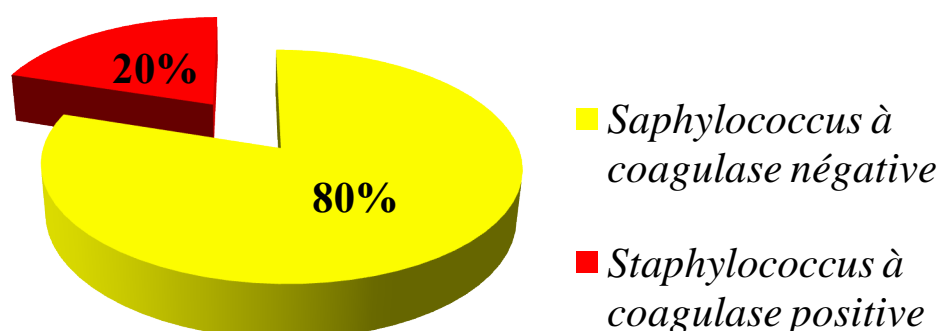


Figure 13 : la répartition des staphylocoques sur les endoscopes.

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. Résultats de l'antibiogramme

L'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques des espèces isolées à partir des dispositifs médicaux 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.

#### III.1. Résultats de l'antibiorésistance des *Staphylococcus*

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 l'AARN. Chaque espèce de *Staphylococcus* a été testée vis-à-vis de 20 antibiotiques couramment utilisés en thérapeutique clinique. Les résultats obtenus figurent sur la Photographie 22.



**Photographie 22 :** Photographies des antibiogrammes des *Staphylococcus* isolés à partir des dispositifs médicaux.

Les valeurs obtenues nous ont permis de classer les bactéries en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à chaque antibiotique (Tableau XVI).

**Tableau XVI** : Classes de résistance obtenues après lecture de l'antibiogramme des *staphylocoques*.

Antibiotiques	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Pénicilline	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Oxacilline	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
Céfoxitine	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
Erytromycine	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	R
Spiramycine	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R
Lincomycine	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S
Clindamycine	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Pristinamycine	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Vancomycine	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Teicoplanine	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Tétracycline	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	S	R	S	S	R
Kanamycine	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Tobramycine	I	I	R	R	R	R	I	I	R	R	R	R	R	R	R
Gentamycine	S	S	R	R	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	S
Ofloxacine	S	I	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
Acide Fusidique	R	S	S	S	I	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R
Chloramphénicol	S	S	S	I	I	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S
Rifampicine	I	S	I	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
Fosfomycine	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

**R** : Résistance

**S** : Sensible

**I** : Intermédiaire

Les taux de résistance pour chaque antibiotique sont calculés, les espèces Intermédiaires étant ensuite incluses dans la catégorie R. les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau XVII.

La **figure 14** représente le pourcentage des souches résistantes (taux de résistance) à chacun des antibiotiques testés.

Tableau XVII : Les taux de résistance aux antibiotiques.

Les antibiotiques	R : Résistance	S : Sensible
Pénicilline	100%	0%
Oxacilline	80%	20%
Céfoxitine	80%	20%
Erytromycine	53%	47%
Spiramycine	33%	67%
Lincomycine	27%	73%
Clindamycine	0%	100%
Pristinamycine	0%	100%
Vancomycine	0%	100%
Teicoplanine	0%	100%
Tétracycline	73%	27%
Kanamycine	100%	0%
Amikacine	100%	0%
Tobramycine	100%	0%
Gentamycine	47%	53%
Ofloxacin	60%	40%
Acide Fusidique	67%	33%
Chloramphénicol	27%	73%
Rifampicine	20%	80%
Fosfomycine	0%	100%

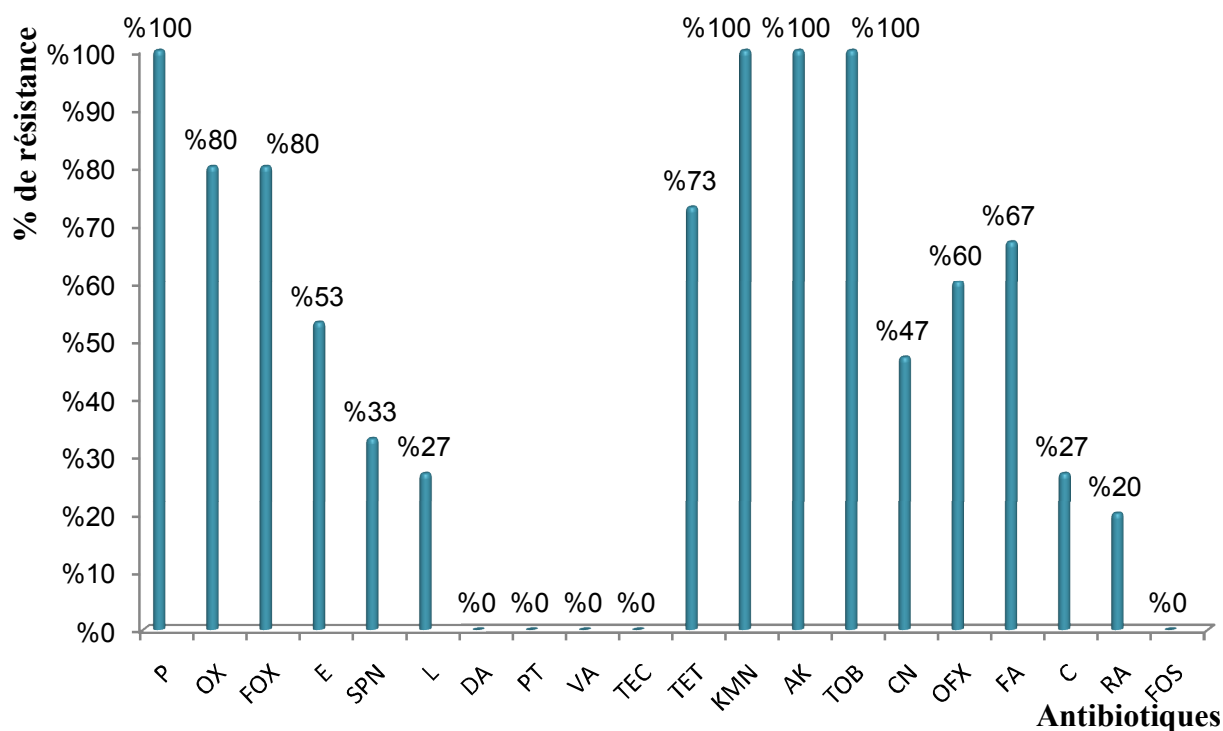


Figure 14 : Pourcentage d'isolats de *Staphylococcus* résistants à divers antibiotiques.

On observe que les taux de résistance varient nettement d'un antibiotique à l'autre. Les espèces étudiées de *Staphylococcus* ont présenté un taux de 100% de résistance à la pénicilline, alors que la résistance à l'oxacilline et à la Céfotaxime présente 80%, un *Staphylococcus* résistant à toutes les  $\beta$ -lactamines doit être considéré comme un SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline). Deux mécanismes expliquent la résistance des staphylocoques aux  $\beta$ -lactamines : la production de  $\beta$ -lactamases et la modification de cible.

Pour les macrolides l'Erythromycine, la Spiramycine et la Lincomycine la résistance des souches varie entre 27% et 53%, par contre on a une sensibilité totale à la Clindamycine, la Pristinamycine et la vancomycine. L'étude de **Sollet *et al.***, effectuée en 2002 trouve que la vancomycine vient en tête des déclarations d'utilisation parmi les antibiotiques au cours des infections à SARM. Aussi pour la Teicoplanine et la Fosfomycine la résistance est nulle.

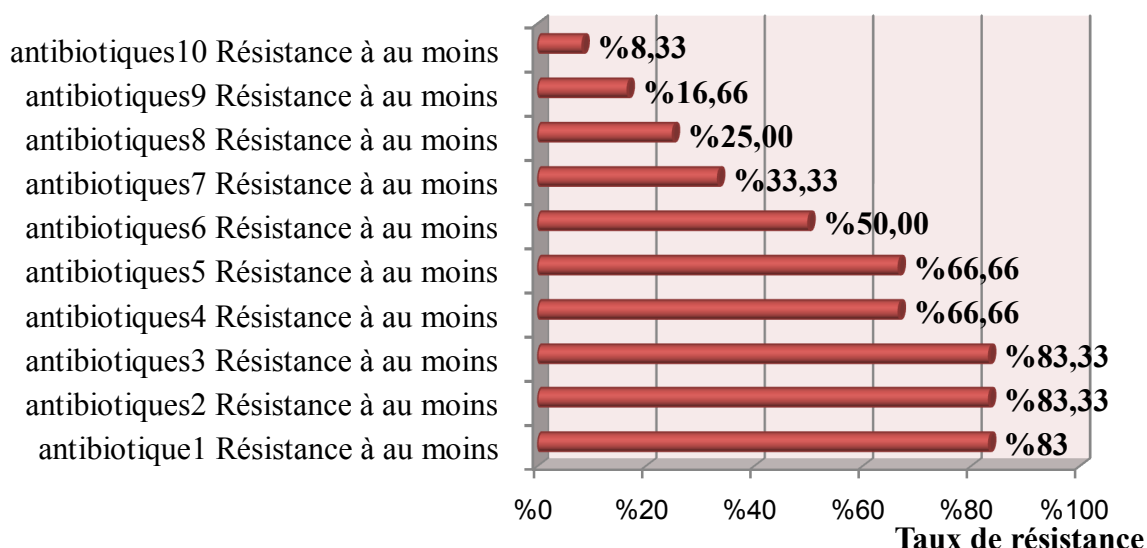
Le taux de résistance obtenu pour les antibiotiques appartenant à la classe des aminosides est variable, 47% de résistance pour la gentamicine, et 100% pour la Kanamycine, l'Amikacine et la tobramycine, L'explication possible de ce taux de résistance est la faible consommation de la gentamicine étant donné l'existence de molécules moins toxiques et plus efficaces.

60 % des *Staphylococcus* isolés résistent à l'Ofloxacin (OFX), 67% pour l'Acide Fusidique, 27% au Chloramphénicol et 20% à la Rifampicine.

### III.1.1. La multirésistance

Notre travail a également permis d'étudier le phénomène de multirésistance. Une souche multirésistante est une souche qui présente une résistance à au moins deux antibiotiques. Les pourcentages de souches résistantes à au moins quatre, à au moins cinq, à au moins six, à au moins sept, à au moins 8, à au moins neuf et à au moins dix antibiotiques ont été calculés et rapportés dans la figure 14

La totalité des souches de *Staphylococcus* identifiées c'est-à-dire **100%** résistent à au moins 4 antibiotique, **93.33%** résistent à au moins 5 antibiotiques, **86%** résistent à au moins 6 à 7 antibiotiques, **60%** résistent à au moins 8 antibiotiques, **26.66%** résistent à au moins 9 antibiotiques et faible pourcentage de **13.33%** résistent à au moins dix antibiotiques, **Chitnis *et al.*, (2004)** avaient également mis en évidence un taux plus important de souches multirésistantes au niveau des instruments médicaux.

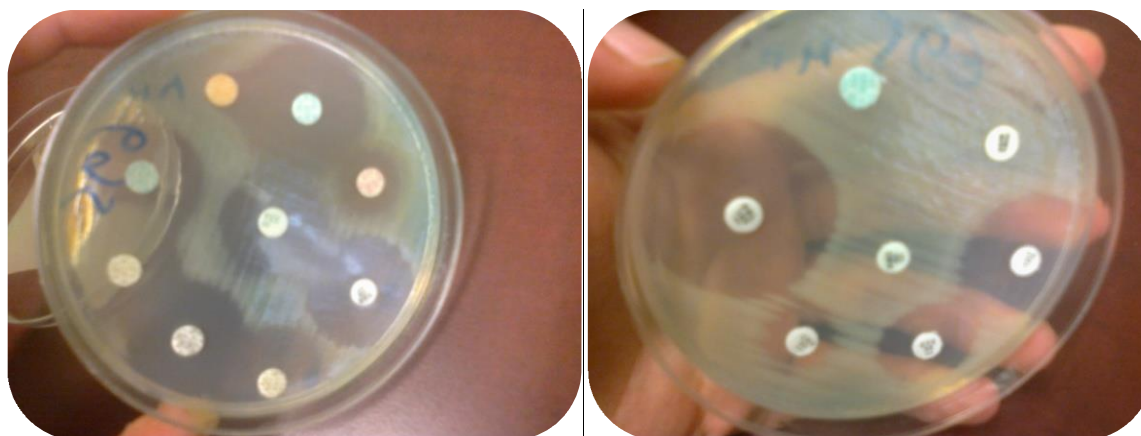


**Figure 15 :** Pourcentage d'isolats de *Staphylococcus* résistants à au moins 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 et 10 antibiotiques.

### III.2. Résultats de l'antibiorésistance des *Pseudomonas aeruginosa*

Le profil de résistance a été déterminé par la méthode de diffusion sur milieu Mueller Hinton. Des antibiotiques communément utilisés en thérapie humaine ont été retenus. La résistance aux antibiotiques a été testée pour les souches bactériennes appartenant à l'espèce *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis de 12 antibiotiques. Les résistances naturelles des souches isolées n'ont pas été prises en considération. (Annexe 09). La photographie 23 montre les antibiogrammes obtenus, les valeurs des diamètres d'inhibitions sont comparées aux valeurs du tableau de lecture (Annexe 07). Les valeurs obtenues nous ont permis de classer les bactéries en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à chaque antibiotique. (Tableau XVIII)

Les taux de résistance pour chaque antibiotique sont calculés, les espèces Intermédiaires étant ensuite incluses dans la catégorie R. les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau XIX



**Photographie 23 :** Photographies des antibiogrammes de *Pseudomonas aeruginosa*

Tableau XVIII : Classes de résistance obtenues après lecture de l'antibiogramme des *Pseudomonas aeruginosa*

Les antibiotiques	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Ticarcilline	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
Ticarcilline + Acide clavulanique	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
Pipéracilline	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
Pipéracilline +Acide clavulanique	R	S	S	S	I	I	R	S	R	S	S	S
Ceftazidime	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S
Aztréonam	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
Imipénème	R	S	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S
Amikacine	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	S
Gentamycine	S	R	S	I	I	S	S	S	R	S	S	S
Tobramycine	S	R	S	R	R	S	S	S	R	S	I	S
Nétilmicine	S	S	S	I	R	S	S	S	S	S	S	S
Ciprofloxacine	S	S	S	I	I	S	S	S	R	S	S	S
Lévofloxacine	S	R	S	S	R	S	S	S	S	R	S	S
Colistine	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
Rifampicine	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	I	S
Fosfomycine	S	S	S	R	I	S	S	S	S	S	S	S

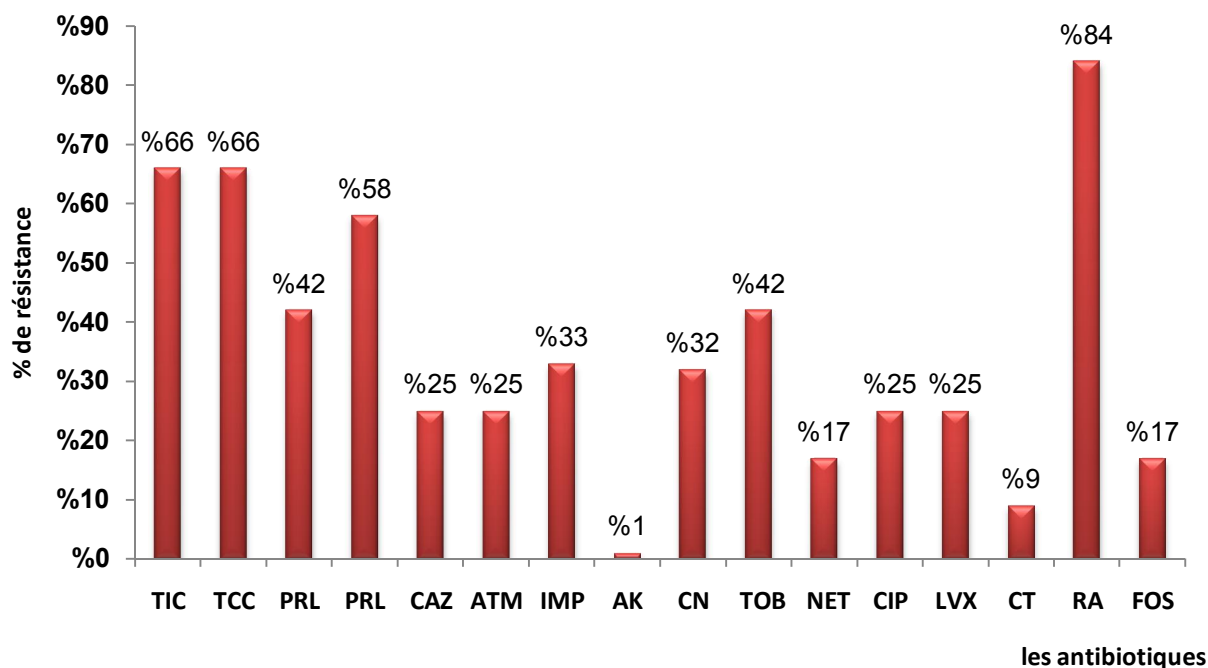
R : Résistance

S : Sensible

I : Intermédiaire

Tableau XIX : Les taux de résistance aux antibiotiques.

Les antibiotiques	R : Résistance	S : Sensible
Ticarcilline	66%	34%
Ticarcilline + Acide clavulanique	66%	34%
Pipéracilline	66%	34%
Pipéracilline +Acide clavulanique	42%	58%
Ceftazidime	58%	42%
Aztréonam	25%	75%
Imipénème	33%	67%
Amikacine	8%	92%
Gentamycine	33%	67%
Tobramycine	42%	58%
Nétilmicine	17%	83%
Ciprofloxacine	25%	75%
Lévofloxacine	25%	75%
Colistine	9%	91%
Rifampicine	84%	16%
Fosfomycine	17%	83%



**Figure 16 :** Pourcentage d'isolats des *Pseudomonas aeruginosa* résistants à divers antibiotiques.

Une résistance acquise a été aussi observée chez les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées (**Figure 16**). Pour la famille des  $\beta$  lactamines, la résistance à la Pipéracilline **66%**, Ticarcilline **66%** et Ticarcilline + Acide clavulanique **66%** est la plus fréquente suivit de celle à Imipénème **33%**. La résistance aux céphalosporines de troisième génération : la Ceftriaxone est de **58%**. En revanche, celle à Aztréonam **25%** est plus faible. La résistance à ces antibiotiques peut être expliquée par la forte consommation de la famille des  $\beta$  lactamines dans l'hôpital, où ces composés sont prescrits pour le traitement des infections à *Pseudomonas aeruginosa*.

Pour la famille des fluoroquinolones **25%** des souches étaient résistantes à la ciprofloxacine et Lévofloxacine. Ce taux de résistance est très élevé à celui observé dans une étude réalisée dans le laboratoire « Antibiotiques, Antifongiques » de l'université Abou Baker Belkaïd à Tlemcen durant la période 2005-2006 qui était **4,7%** (**Drissi et al., 2011**). Comme la consommation des fluoroquinolones a considérablement augmenté ces dernières années, une augmentation de leur taux de résistance est donc à attendre dans les années à venir.

En ce qui concerne les aminosides, on remarque que l'Amikacine et Nétilmicine restent les antibiotiques les plus actifs avec des taux de résistance respectifs de **1%** et de **17%** et pour la gentamicine et la tobramycine le taux de résistance respectifs de **32%** et **42%**. Cette constatation est aussi valable dans l'étude de **Hamza et al.**, qui ont trouvé que la sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* est de **65,6 %** à la gentamicine et **65,6 %** à la tobramycine (**Hamza et al., 2004**). Dans l'étude tricentrique française la sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa* était de **73 %** à la tobramycine (**Vachée et al., 1997**).

**84%** des souches étaient résistantes à la Rifampicine, ce taux de résistance est similaire à celui observé dans une étude réalisée par **Hamza et al., (2001)**.

La colistine et la Fosfomycine s'avère active contre *Pseudomonas aeruginosa* qui présente respectivement **7% et 17%** de résistance contre ces deux.

Les *Pseudomonas aeruginosa* sont des espèces opportunistes naturellement résistantes à plusieurs antibiotiques : pénicillines du groupe A (ampicilline et dérivés), céphalosporines de première et deuxième génération, chloramphénicol et triméthoprime. A cette résistance naturelle s'ajoute une résistance acquise. La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux bêta-lactamines est due à l'existence de métallo-bêta lactamases et de bêta lactamases à spectre étendu, conférant une résistance à la majorité des bêta lactamines avec pour corollaire un échec thérapeutique (**Lombardi et al., 2002**).

Dans notre étude, l'imipénème reste encore actif contre les souches de *Pseudomonas* étudiées. Au contraire, (**Carmeli et al., 1999**) ont étudié le risque d'émergence de la résistance associée à la Pipéracilline, la Ceftazidime, la ciprofloxacine et l'imipénème et ont observé un risque d'émergence de la résistance variable, maximal pour l'imipénème. Les *Pseudomonas* sont donc des bactéries qui cumulent de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques, imposant une analyse régulière de leur activité. Ils sont impliqués dans plusieurs cas d'infections nosocomiales, notamment dans les unités de soins intensifs (**Pellegrino et al., 2002**).

En effet, les *Pseudomonas* possèdent des éléments génétiques susceptibles d'acquérir ou de perdre des gènes de résistance aux antibiotiques, décrits sous le nom d'intégrons (**Giuliani et al., 2005**). Ces intégrons peuvent héberger des cassettes, éléments mobiles formés d'un gène et d'un site spécifique de recombinaison (**Sekiguchi et al., 2005**). Plusieurs classes d'intégrons ont été définies ; trois d'entre elles (classes 1, 2 et 3), bien caractérisées, sont impliquées dans la dissémination de la résistance aux antibiotiques (**Hansson et al., 2002**). Les *Pseudomonas* possèdent des cassettes décrites sur les intégrons de classe 1 (résistance aux  $\beta$ -lactamines, aux aminosides, au chloramphénicol, au triméthoprime et à la rifampicine) et de classe 3 (résistance aux  $\beta$ -lactamines et aux aminosides) (**Ploy et al., 2000**).

### III.2.1. Multirésistance de *Pseudomonas aeruginosa*

Notre travail a également permis d'étudier le phénomène de multirésistance. Les pourcentages de souches résistantes à au moins un antibiotique, à au moins deux antibiotiques, à au moins trois antibiotiques, à au moins quatre antibiotiques et à au moins cinq antibiotiques jusqu'à 10 antibiotiques ont été calculés et rapportés dans la **figure 17**

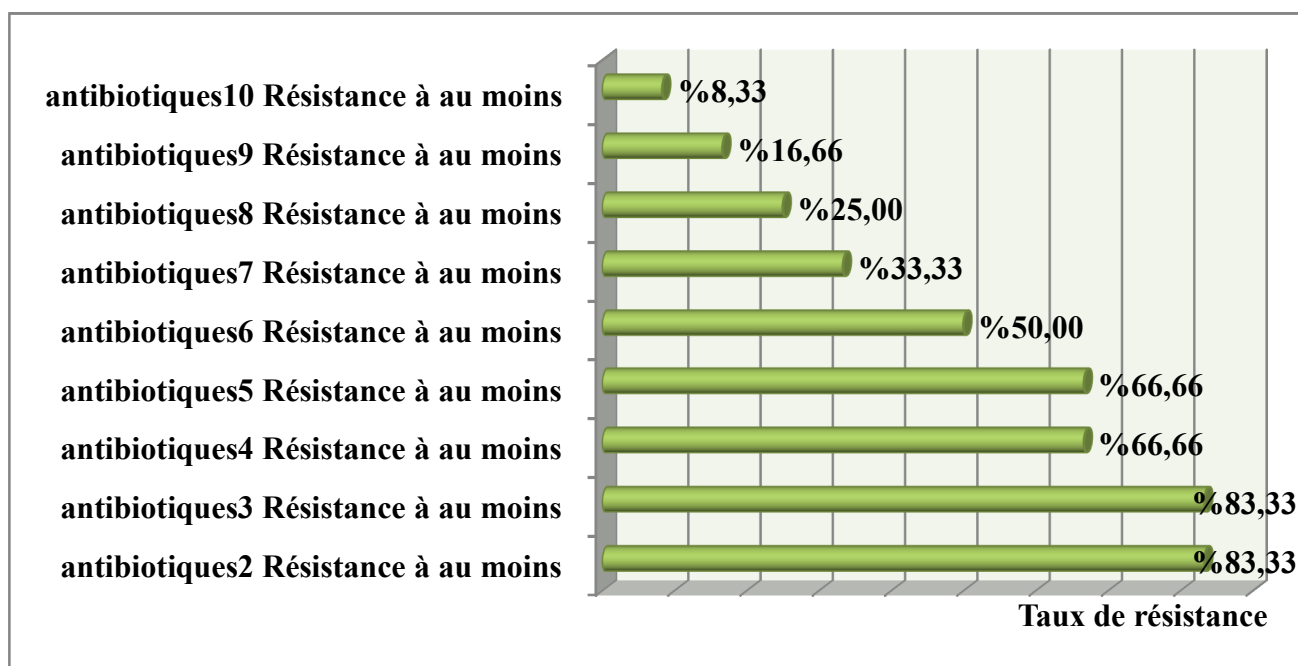
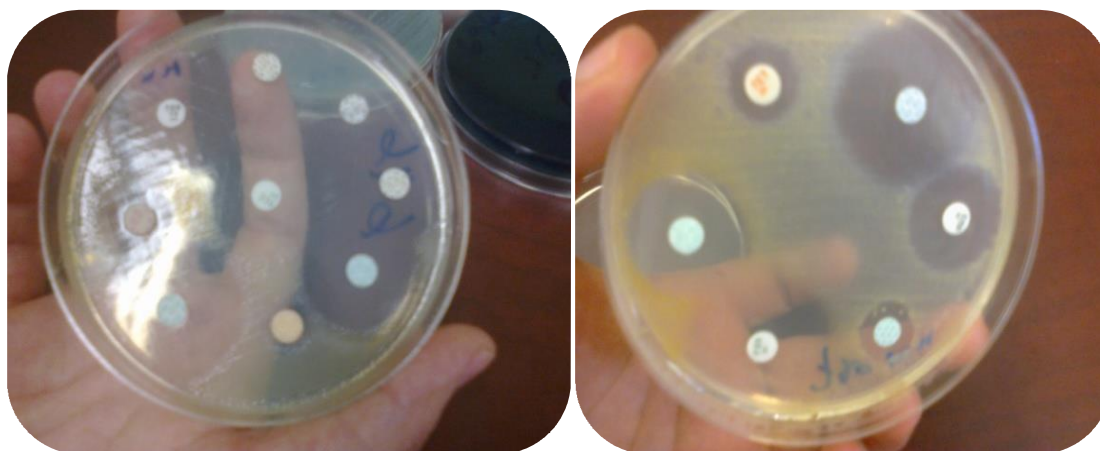


Figure 17: Pourcentage d'isolats de *Pseudomonas aeruginosa* résistants à au moins 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8,9 et 10 antibiotiques.

### III.3. Résultats de l'antibiorésistance d'*Escherichia coli*

Le profil de résistance a été déterminé par la méthode de diffusion sur milieu Mueller Hinton. Des antibiotiques communément utilisés en thérapie humaine ont été retenus. La résistance aux antibiotiques a été testée pour les souches bactériennes appartenant à l'espèce *Escherichia coli* vis-à-vis de 19 antibiotiques. Les résistances naturelles des souches isolées n'ont pas été prises en considération. (Annexe 09). La photographie 24 montre les antibiogrammes obtenus, les valeurs des diamètres d'inhibitions sont comparées aux valeurs du tableau de lecture (Annexe 06).



Photographie 24: Photographies des antibiogrammes d'*Escherichia coli*.

Les valeurs obtenues nous ont permis de classer les bactéries en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) à chaque antibiotique. (Tableau XX).

## *Résultats et discussion*

Les taux de résistance pour chaque antibiotique sont calculés, les espèces Intermédiaires étant ensuite incluses dans la catégorie R. les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau XXI

**Tableau XX:** Classes de résistance après lecture de l'antibiogramme d'*Escherichia coli*

Les antibiotiques	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Ampicilline	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
amoxicilline	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Amoxicilline + acide clavulanique	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ticarcilline	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Pipéracilline	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Céfotaxime	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Céfazoline	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Céfalotine / Céfalexine	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ceftriaxone	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Céfixime	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Imipenème	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Amikacine	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Gentamycine	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S
Tobramycine	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ciprofloxacine	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Acide nalidixique	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Colistine	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Chloramphénicol	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Fosfomycine	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Tableau XXI : Les taux de résistance aux antibiotiques.

Les antibiotiques testés	Résistant	Sensible
Ampicilline	100%	0%
Amoxicilline	100%	0%
Amoxicilline + Acide clavulanique	100%	0%
Ticarcline	100%	0%
Pipéracilline	100%	0%
Céfotaxime	100%	0%
Céfazoline	100%	0%
Céfalotine	100%	0%
Ceftriaxone	100%	0%
Céfixime	100%	0%
Imipenème	0%	100%
Amikacine	0%	100%
Gentamycine	69%	31%
Tobramycine	100%	0%
Ciprofloxacine	0%	100%
Acide nalidixique	0%	100%
Colistine	0%	100%
Chloramphénicol	0%	100%
Fosfomycine	0%	100%

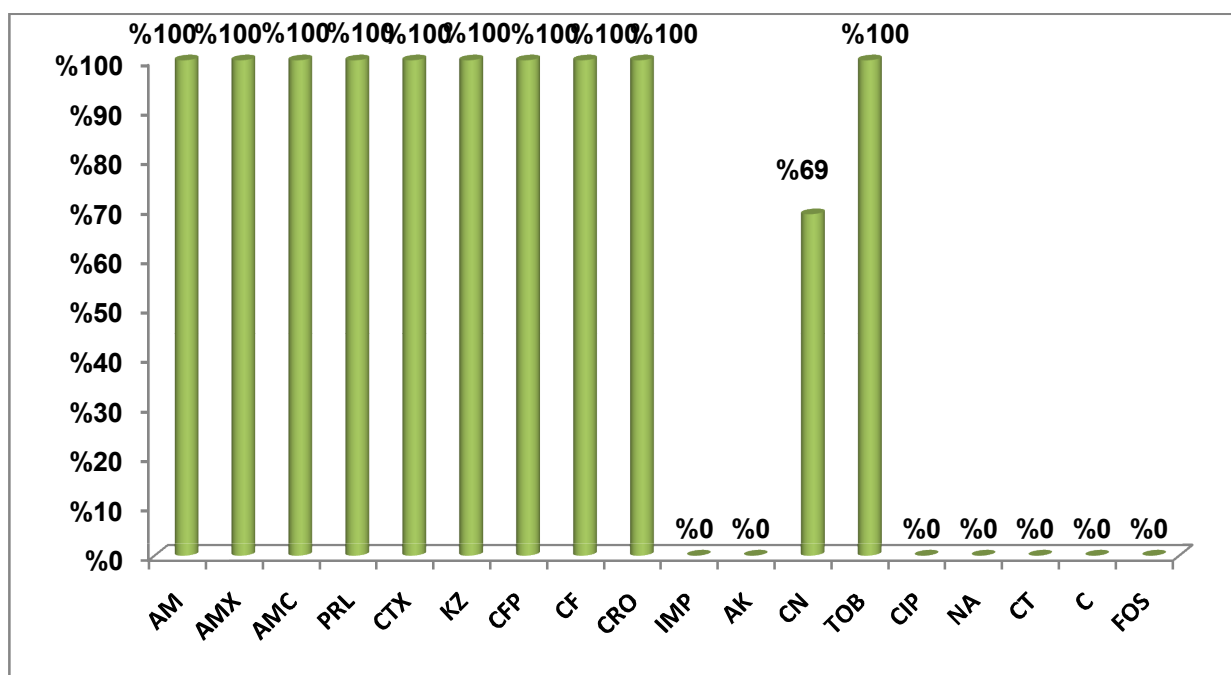


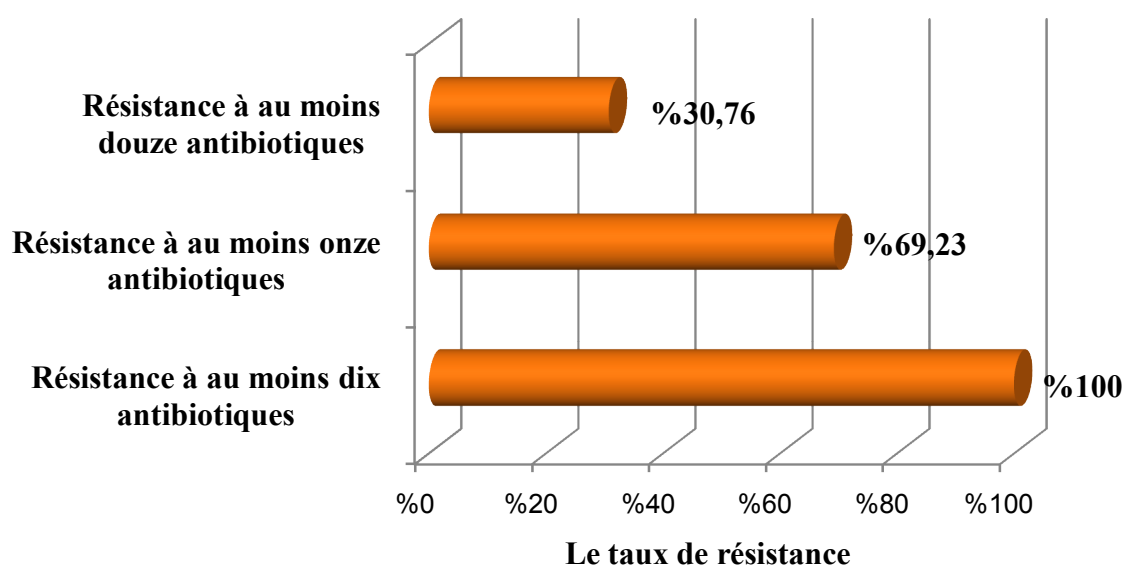
Figure 18 : pourcentage d'isolats d'*Escherichia coli* résistants à divers antibiotiques.

Les espèces d'*Escherichia coli* sont à 100%, résistantes aux  $\beta$ -lactamines et sont donc des souches BLSE. Les bêtalactamases à Spectre Etendue (BLSE) ont été décrites pour la première fois en 1983, en Allemagne. Au début des années 1980, les céphalosporines de troisième génération (C3G) ont été commercialisées, mais à la suite de leur sur utilisation pour le traitement de plusieurs infections, des changements relativement mineurs des séquences des gènes originaux ont entraîné une modification significative de l'affinité des enzymes pour le substrat, et il s'est développé un groupe de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu. Les BLSE sont plasmidiques donc transférables et sont capables de conférer une résistance bactérienne vis à vis des pénicillines, des céphalosporines de première, deuxième et troisième génération ainsi que l'Aztréonam par hydrolyse de ces antibiotiques. (Bush et al., 1995). Suite à l'utilisation récente et restreinte de l'imipénème en milieu hospitalier, le taux de résistance à cet antibiotique est nul.

Les espèces d'*Escherichia coli* sont aussi résistantes aux antibiotiques de la classe des aminosides, 67% pour la Gentamycine (CN), et 100% à la Tobramycine alors qu'il est nul pour l'Amikacine. La présence d'un taux de résistance plus élevé envers la gentamicine et la tobramycine (aminosides naturels) s'explique par le fait que l'Amikacine est une molécule semi-synthétique spécialement conçue pour contrer le phénomène de résistance des bactéries vis-à-vis des aminosides naturels. Le taux de résistance pour les autres antibiotiques est nul.

### III.3.1. Multirésistance

Notre travail a également permis d'étudier le phénomène de multirésistance. Une souche multirésistante est une souche qui présente une résistance à au moins deux antibiotiques. Les pourcentages de souches résistantes à au moins dix antibiotique, à au moins onze antibiotiques, à au moins douze antibiotiques, ont été calculés et rapportés dans la **figure 19**.



**Figure 19** : Pourcentage d'isolats d'*Escherichia coli* résistants à au moins 10, 11,12, antibiotiques.

La totalité des 13 souches *E- coli* identifiées c'est-à-dire **100%** résistent à au moins dix antibiotique, **69.23%** et faible pourcentage de **30. 76%**, résistent à au moins onze antibiotiques, **Chitnis et al., (2004)** avaient également mis en évidence un taux plus important de souches multirésistantes au niveau des instruments médicaux



***Conclusion et  
perspectives***

### Conclusions et perspectives

Vivant entre le commensalisme et la pathogénicité, les staphylocoques, les Entérobactéries et les *Pseudomonas* ont développé des stratégies intéressantes pour faire de l'environnement hospitalier une niche écologique. Différents facteurs externes associés favorisant ce développement principalement le recours aux procédures invasives l'implantation d'un cathéter ou d'une sonde urinaire, la mauvaise hygiène des instruments invasif (endoscope) et l'utilisation abusive des antibiotiques et la formation de biofilm facteur de pathogénicité, important pour que ces bactéries s'installent comme des pathogènes nosocomiaux et provoquent des infections acquises à l'hôpital.

Notre étude effectuée sur une collection de 40 souches isolées à partir de dispositifs médicaux implantables et non implantables a donné comme résultat : 15 souches de *Staphylococcus*, 12 souches de *Pseudomonas aeruginosa* et 13 souches d'*Escherichia coli*.

Ces bactéries ont été isolées au niveau de l'hôpital militaire Ali mendjli de Constantine et l'établissement public hospitalier Ahmed ben Bella de khenchela durant le mois d'Avril et de Mai 2015 et a aussi révélé les principaux points suivants :

➤ Une diversité des espèces isolées à partir des différents instruments (implantables et non implantables).

➤ La distribution des espèces appartenant au genre *Staphylococcus*, *Pseudomonas* et *Escherichia coli* est influencée par la nature du biomatériau qu'elles occupent.

➤ Les staphylocoques sont plus aptes à adhérer à la surface des dispositifs médicaux leurs confèrent un caractère virulent donc ce genre doit tenir plus d'attention et suivre les mêmes mesures d'hygiènes établies pour les autres genres.

➤ L'infection sur cathéter ou sonde urinaire est liée à la durée de présence de cet implant dans l'organisme, plus la durée d'implant est longue, plus il y a un risque d'infections et l'infection des dispositifs invasifs est liée aux mauvaises condition d'hygiène. La pose des instruments médicaux doit se faire dans des conditions d'hygiènes strictes, afin d'éviter au maximum toute contamination bactérienne.

➤ Les espèces étudiées ont présenté des taux élevés de résistance aux antibiotiques en plus d'une multirésistance inquiétante.

Tous les *Staphylococcus* isolés étaient des SARM c'est-à-dire 100% résistant aux Bétalactamines en plus d'une résistance inquiétante aux macrolides et aux aminosides.

La Vancomycine, la Pristinamycine, la Clindamycine, la Teicoplanine et la Fosfomycine ont montré des activités sur la totalité des espèces étudiées, ces antibiotiques demeurent la molécule de choix contre les infections à *Staphylococcus*.

Pour les espèces *Escherichia coli*, le taux de résistance est alarmant, 100% des espèces étaient des EBLSE. En plus d'une résistance prononcée pour les aminosides naturels.

L'imipénème, l'Amikacine, la Ciprofloxacine, l'Acide nalidixique, la Colistine, le Chloramphénicol et la Fosfomycine ont montré des activités sur la totalité des espèces étudiées, ces antibiotiques demeurent la molécule de choix contre les infections à *Escherichia coli*.

La résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux bêtalactamines est due à l'existence de métallo-bêta lactamases et de bêta lactamases à spectre étendu, conférant une résistance à la majorité des bêta lactamines avec pour corollaire un échec thérapeutique.

La gravité des infections associées aux dispositifs médicaux est liée au développement de la résistance bactérienne à de nombreux antibiotiques. La surveillance de la résistance des souches aux antibiotiques doit être continue et systématique, basée sur une politique de prescription des antibiotiques de chaque service, la prévention des infections nosocomiales et Des études épidémiologiques prospectives. Dans ce domaine, plus pratiquement, la coopération permanente entre clinicien et microbiologiste est nécessaire pour un double objectif: thérapeutique et prophylactique.

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

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



***Références  
bibliographiques***

## Références Bibliographiques

### A

1. **Andriole, V. T. (2000)**. The Quinolones, Elsevier Science 517 pages.
2. **Anderson GG. et OøToole GA. (2002)** . Innate and induced resistance mechanisms of bacterial biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol.*; 322:85-105.
3. **Anderson GG. et OøToole GA (2008)** Innate and induced resistance mechanisms of bacterial biofilms. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 322: 85-105
4. **Anonyme, (2006)**. Notice pour API, Ref 20100/20160, 20500. *BioMérieux® SA*.
5. **Aouati H. (2009)**. Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistances à la méthécillines: étude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Département De Biochimie et De Microbiologie, Algérie: thèse N° : 006 / SN / 2009.
6. **Archibald L.K. et Gaynes R.P. (1997)**. Hospital acquired infections in the United States: The importance of inter-hospital comparisons; *Nosocomial Inf.* 11: 245-255.
7. **Arias C.A. et Murray B.E. (2009)**. Antibiotic-resistant bugs in the 21st century ó A clinical super-challenge. *N Engl J Med*; 360:439-43.

### B

1. **Bakini Bochra et Nigri Maroua (2013/2014)** les infections des dispositifs medicaux en milieu hospitalier.memoire de licence, Spécialité: Microbiologie fondamentale et appliquée universite: Kasdi Merbah ó OUARGLA p: 16
2. **Baudry, C. et H. Brézellec (2006)**. Microbiologie, immunologie, Groupe Liaisons p : 126
3. **Becker P.; Hufnagle W.; Peters G. et al. (2001)** Detection of different gene expression in biofilm-forming versus planktonik populations of *Staphylococcus aureus* using micro representational-difference analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 6: 2958-2965
4. **Bendinger B.; Rijnaarts HHM.; Altendorff K et al (1993)** Physicochemical cell surface and adhesive properties of coryneform bacteria related to the presence and chain lenght of mycolic acids. *Appl. Environ. Microbiol.* 59: 3973-3977
5. **Bjarnsholt T.; Kirketerp-Møller K.; Jensen PØ et al. (2008)** why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. *Wound Rep. Reg.* 16 (1): 2- 10
6. **Brady RA.; Leid JG. ; Calhoun JH. et al. (2008)** Osteomyelitis and the role of biofilms in chronic infection. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 52: 13- 22
7. **Burmolle M.; Webb JS et al. (2006)** Enhanced biofilm formation and increased resistance to antimicrobial agents and bacterial invasion are caused by synergistic interactions in multispecies biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 3916-3923
8. **Bury- Moné S. (2007)** Les biofilms. Polycopié. Ecole Normale Supérieure de Cachan. 17p.
9. **Bush K.; Jacoby GA.; Medeiros AA. (1995)**. A functional classification scheme for  $\beta$ -lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemoth*; 39:1211-33.
10. **Butreau-Lemaire M. ; Botto H. (1997)**. Infections Urinaire nosocomiales. *Progrès en Urologie.*7: 674-682.

### C

1. **Cattoen C. (2009)**. Epidemiologie des infections a *pseudomonas*; duacai
2. **Ceri H.; Olson ME.; Turner RJ. (2010)**. Needed new paradigms in antibiotic development. *Expert Opin Pharmacother.*; 11:1233-1237.

3. **CCLIN-Paris- Nord, 2000**, Hygiène et prise en charge des dispositifs médicaux en consultation d'ophtalmologie, <http://www.ccr.jussieu.fr/cclin>.
4. **Chaalal W. (2013)**. Occurrence et profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolée de produits alimentaires. Université d'Es-senia Oran, Algérie
5. **Characklis W. (1973)**. Attached microbial growths-II. Frictional resistance to microbial slimes. *Water Res*; 7:1249-1258
6. **Characklis WG., Marshall KC. (1990 b)** Biofilms, 341-394
7. **Chitnis V.; Chitnis S.; Vaidya K.; Ravikant S.; Patil S.; and Chitnis D.S. (2004)**. Bacterial population changes in hospital effluent treatment plant in central India. *Water Research*. 38: 441-447.
8. **Carmeli Y.; Troillet N.; Eliopoulos G.M.; Samore M.H. (1999)**. Emergence of antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of risks associated with different antipseudomonal agents. - *Antimicrob. Agents Chemother.* 43(6), 1379-1382.
9. **C.J. Soussy (2010)**. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. *Société française de microbiologie*, 49p
10. **Clutterbuck AL, Woods EJ, Woods EJ, Knottenbelt DC, Clegg PD, Cochrane CA, Percival SL. (2007)** Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet Microbiol*. Mar 31; 121 (1-2): 1-17.
11. **Conley J.; Olson ME.; Linda S. Cook; Howard CeriVan Phan, et H. Dele Davies (2003)** Biofilm formation by group A Streptococci: is there a relationship with treatment failure? *J. Clin. Microbiol.* 4043-4048.
12. **Corne P. (2004)**. *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique,
13. Phénotypique et épidémiologique. Thèse de doctorat : Université de Montpellier I U.F.R. de Médecine. 174P.
14. **Costerton JW.; Stewart PS.; , Greenberg EP. (1999)**. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, 284: 1318-1322.
15. **Costerton et al. (1973)**. How bacteria stick. *SCI. Am.*, 238:86-95

## D

1. **Delarras Camille(2007)** .Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire, p : 476.
2. **Danielle clave(2011)**, Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique *Pseudomonas aeruginosa*, pages 1- 4. Davey et O'Toole (2000) *Microbiol. Mol. Biol. Rev vol. 64 no. 4* 847-867
3. **Donlan RM. (2001)** Biofilms and device-associated infections. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 277-281
4. **Donlan RM. (2002)**. Biofilms: Microbial life on surface. *Emerg. Infect. Dis.* 8 (9), 881-890.
5. **Donlan RM.; Costerton JW. (2002)** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.*, 15: 167- 193
6. **Donlan RM. (2008)** Biofilms on central venous catheters: is eradication possible? *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 322: 133-161
7. **Drenkard E.; Ausubel FM (2002)** *Pseudomonas* biofilm formation and antibiotic resistance .are linked to phenotypic variation. *Nature*. 416: 740-743.

8. **Drenkard E. (2003)** Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Microbes Infect.* 5: 1213-1219.

9. **Drissi M. ;Baba Ahmed Z.; Bakour R. (2011).** Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques au niveau du service de neurochirurgie du C.H.U. de Tlemcen Algérie. Phénotypes de résistance aux bêtalactamines. *Médecine du Maghreb. Le kiosque.* 184: 23-27.

### E

1. **European Centre For Disease Prevention and Control: Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe 2008.** Stockholm: ECDC, 2008

### F

2. **Flemming HC.; Neu TR.; Wozniak DJ. (2007).** The EPS matrix: the ðhouse of bioŁlm cellsö. *J Bacteriol;* 189(22): 7945-47.

3. **Fletcher M. (1988)** Attachment of *Pseudomonas fluorescens* to glass and influence of electrolytes on bacterium- substratum separation distance. *J. Bacteriol.,* 170: 2027-2030

4. **Florence E. ; Bernard P. ; Brigitte C .B. (2010).**Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs ; *Revue Francophone des Laboratoires - n°426.*

### G

1. **Gallaher, T.K. ; Webster P. et Aguilera (2006)** Identification of biofilm proteins in non-tyeable *Haemophilus influenza* *BMC Microbiology* 6 (65), 1-9

2. **Garner JS. ; Favero MS.(1985)** . CDC guidelines for handwashing and hospital environmental .control. *Infect control* (1986) :7 :231-5.

3. **Ghigo JM. (2001)** Natural conjugative plasmids induce bacterial bioŁlm development *Nature,* 412, 442-445.

4. **Gilbert P.; McBain AJ. (2001).** Biocide usage in the domestic setting and concern about antibacterial and antibiotic resistance. *J. Infect.* 43: 85-91.

5. **Goller CC.; Romeo T. (2008)** Environmental influences on biofilm development. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 322: 37- 66

6. **Golovlev EL. (2002)** The mechanism of formation of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm, a type of structured population. *Mikrobiologija* 71: 293-300]

7. **Giuliani F.; Docquier J.D. ; Riccio M.L. ;Pagani L.; Rossolini G.M. (2005).** OXA-46, a new class D -lactamase of narrow substrate specificity encoded by a blaVIM1-containing integron from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate. - *Antimicrob. Agents Chemother.* 49(5), 1973-1980.

### H

1. **Hall-Stoodley L.; Stoodley P. (2009).** Evolving concepts in bioŁlm infections. *Cell Microbiol* 2009; 11(7): 1034-1043.

2. **Hamze M. ; Dabboussi F. ; Izard D. (2004).** Sensibilité de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques : étude sur quatre ans (1998ó2001) au nord du Liban. *Médecine et maladies infectieuses.*34 (7) : 321-324.

3. **Hansson K. ; Sundstr m L. ; Pelletier A. ; Roy P.H. (2002).** IntI2 integron integrase in Tn7. - *J. Bacteriol.* 184(6), 1712-1721.

4. **Harrison JJ.;Stremick CA.; Turner RJ.; Allan ND.; Olson ME.;Ceri H. (2010)** Microtiter susceptibility testing of microbes growing on peg lids: A miniaturized biofilm model for high-throughput screening. *Nat Protoc.;* 5:1236ó1254.

5. **Heukelekian H.; Heller A. (1940).** Relation between food concentration and surface for bacterial growth. *J. Bacteriol.,* 40:547-558

6. **Hibbing ME.; Fuqua C.; Parsek MR. (2010)** Peterson SB. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle. *Nat Rev Microbiol*; 8(1): 15-25.

7. **Horan TC.; Andrus M.; dudeck MA. (2008)** .CDC/NHSN surveillance definition of health care associated infection and criteria for specific types of infections in the acute care setting. *Am. J. Infect. Control*, 36 : 309-332. .

8. **HPCI\_W\_FT\_00051 / Précautions Standard - dispositifs médicaux et matériel**

**I**

1. **Irie Y.; Parsek MR (2008)** Quorum sensing and microbial biofilms. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 322: 67- 84

**J**

2. **Jacques M.; Aragon V.; et Tremblay Y.D.N.(2010)** biofilm formation in bacterial pathogens of veterinary importance animal health research reviews (11),97-121

3. **Jean-Christophe Lucet (2000)**. Unité d'hygiène et de lutte contre l'infection nosocomiale.

4. **Julie (2010)**. Hygiène hospitalière et infections nosocomiales.

5. **Jones et al. (1969)** Electron Microscopic Study of a Slime Layer *J.Bacteriol.* 99:316-325)

6. **Jean C. (2002)**. Les infections liées aux soins médicaux; *Ads p n° 38*, p: 23.

7. **J-N. Joffin ; G. Leyral, (2006)**. Microbiologie technique, tome 1, dictionnaire des techniques. *4ème édition Scérèn*, 368 p.

8. **J.-F. Timsit (2003)** . Réactualisation de la douzième conférence de consensus de la Société de réanimation de langue française (SRLF) : infections liées aux cathéters veineux centraux en réanimation P : 2586265

**K**

1. **Karam O. (2004)**. Sepsis à "staphylocoque epidermidis" chez les grands prématurés : situation à Genève, entre 1995 et 2002. Thèse de doctorat: Université de Genève. 41P.

2. **Klevens RM. ; Edwards JR.; Richards CL. Jr, et al.( 2002)** . Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. hospitals, *Public Health Rep.*, 122: 160-166

3. **Kloos WE.; Bannerman TL. (1999)**. Staphylococcus and Micrococcus, p. 264 ó 282. In P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, R.H. Tenover (ed) *Manual of Clinical Microbiology*, 7th ed. American Society of Microbiology, Washington D.C.

4. **Kheira Rahal (2013)** AARN: Algerian Antibiotic Resistance Network.

**L**

1. **Lasheras A.; Monnin D. (2008)**. Micro-organismes et voies de transmission.

2. **Leid JG.; Carey J.; Willson Mark E.; Shirliff Daniel J.; Hassett Matthew R.; Parsek, et AlyssaK ; Jeffers. (2005)** The exopolysaccharide alginate protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria from IFN-gamma- mediated macrophage killing. *Journal.Immunol.* 175: 7512-7518.

3. **Lewis K. (2001)** Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob.Agents Chemother.* 45: 999-1007.

4. **Lewis K. (2007)** persister cells, dormancy and infectious disease . *Nature Reviews Microbiology*

5. **Lewis K. (2008)** Multidrug tolerance of biofilms and persister cells. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 322: 107- 131.

6. **Lewis K. (2010)**. *Ann Rev Microbiol*, 64 :357 .

7. **Leyral et Vierling (2007)**. Microbiologie et toxicologie des aliments : hygiène et sécurité alimentaires, p : 287

8. **Lombardi G.; Luzzaro F.; Docquier J.D.; Riccio M.L.; Perilli M.; Coli A. ; Amicosante G. ; Rossolini G.M. ; Toniolo A. (2002)**. Nosocomial infections caused by multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas putida* producing VIM-1 metallo-β-lactamase. - J. Clin. Microbiol. 40(11), 4051-4055.

### M

1. **Mah TL, O'Toole GA (2001)** Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends Microbiol.* 9: 34- 39.

2. **Mah TF, ;Pellock B.; Walker GC. (2003)** A genetic basis for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm antibiotic resistance. *Nature*, 426: 306- 310.

3. **Maki DG (1994)** Infections caused by intravascular devices used for infusion therapy: pathogenesis, prevention and management. In. Bisno AL, Waldvogel FA, Editors. Infections associated with indwelling medical devices. 2nd ed. Washington: American Society for Microbiology; 155-212

4. **Marc, Patrice, Claude, Marie burin des rosiers. (2002)**. Les biofilms thèse de doctorat de la faculté de médecine à paris : 92 p : 19.

5. **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.

6. **Marina Caldara; Ronn S. Friedlander; Nicole L. ; Kavanaugh; Joanna Aizenberg; Kevin R.; Foster; Katharina Ribbeck.( 2012)** Mucin Biopolymers Prevent Bacterial Aggregation by Retaining Cells in the Free-Swimming State. *Current Biology* ó**Smith E, (2001)**, Com. Pers. À Marignac G 138.

7. **Martinez LR.; Casadevall A. (2007)** Cryptococcus neoformans biofilm formation depends on surface support and carbone source and reduces fungal cells susceptibility to heat, cold and **Menzinger S. ; Schneider A. ; Tschopp C. (2008)**.Immersion en communauté Infections Nosocomiales, UV light. *Appl. Environ. Microbiol.*, 4592- 4601.

8. **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: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 49:1-45.

9. **Michael Otto (2008)**. Staphylococcal Biofilms, *Curr Top Microbiol Immunol*; 322: 207ó 228.

10. **Ministère de la santé et des solidarités. (2006)**. Guide de prévention des infections liées aux soins en chirurgie dentaire et en stomatologie, DGS, France; p: 72.

11. **Ministère de la santé et des solidarités(2007)** Eléments d'assurance qualité en hygiène

12. Relatifs au contrôle microbiologique des endoscopes et À la traçabilité en endoscopie, DGS/DHOS, CTINILS, France; p: 8.

13. **Middleman MW. (1996)** Adhesion to biomaterials. *Bacterial Adhesion: molecular and ecological diversity*, 89- 127

14.**Motaouakkil S.; Aalloula O. (2011)**. Infections nosocomiales: L'affaire de tous, 2<sup>ème</sup> Edit. <http://www.Doctinews.com>

### O

1. **Olson ME.; Ceri H.; Morck DW.; Buret AG.; Read RR. (2002)**. Biofilm bacteria: Formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res.*; 66:86ó92

2. O'Toole GA.; Kolter R. (1998) Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol Microbiol*; 30: 295-304

3. Otto M. (2008) .Staphylococcal biofilms. *Microbiology and immunology*.322: 207-228.

### P

1. Parneix P., Boulard G., Maurette P. (1995). L'infection urinaires au cour du sondage Vésical a demeure : minimiser le risque en optimisant la gestion. *Réanimation Urgence*. 4 (1): 35-39.

2. Parsek MR, Fuqua C (2004) Biofilms 2003: emerging themes and challenges in studies of surface-associated microbial life. *J. Bacteriol.*, 186: 4427-4440

3. Pellegrino F.L., Teixeira L.M., Carvalho M.G., Nouer S.A., De Oliveira M.P., Sampaio J.L., Freitas A.D., Ferreira A.L., Amorim E.L., Riley L.W., Moreira B.M. (2002). Occurrence of a multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clone in different hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. - *J. Clin. Microbiol.* 40(7), 2420-2424.

4. Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J, Schultz GS (2010). Biofilms Made Easy. *Wounds International*

5. Pitout J.D, Laupland K.B. (2008). Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: An emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*, 8:159-66

6. Ploy M.C., Denis F., Lambert T. (2000) Les intégrons : un système original de capture de gènes chez les bactéries. - *Médecine / Sciences*, 16 (2), 255-259. <http://ist.inserm.fr/BASIS/medsci/fqmb/export/DDD/6121.pdf>

7. Prescott LM, Harley D.A, et Klein D.A. (2003), *Microbiologie*, deuxième édition, Paris, 1136p.

8. Prescott, L. M. (2009). *Microbiologie* (2<sup>ème</sup> éd). FRANCE: De Boeck

9. Prigent- Combaret C, Vidal O, Dorel C et al. (1999) Abiotic surface sensing and biofilm-dependent regulation of gene expression in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.*181: 5993-6002

### Q

1. Queck S-Y, Weitere M, Moreno AM et al. (2006) The role of quorum sensing mediated developmental traits in the resistance of *Serratia marcescens* biofilms against protozoan grazing. *Environ. Microbiol.*, 8: 1017- 1025

### R

1. Ramiro Pereira (2005) Direction régionale des affaires sanitaires et sociales de Midi Pyrénées, [www.midi-pyrenees.sante.gouv.fr](http://www.midi-pyrenees.sante.gouv.fr)

2. Ramiro P. (2006). Dispositifs Médicaux Concepts et réalités de terrain, guide juridique et pratique. [walraeve-bresson@sante.gouv](mailto:walraeve-bresson@sante.gouv)

3. Rice KC, Mann EE, Endres JL (2007) et al. The cidA murein hydrolase regulator contributes to DNA release and biofilm development in *Staphylococcus aureus*. *Proc Natl Acad Sci USA*; 104(19): 8113-18.

4. Rossello J, Amzian K, Castella A et al. (2010). Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne, Eastern Mediterranean Health Journal. *Rev de Santé de la Méditerranée orientale, EMHJ* ÉVol. 16 No.10 ; p : 1074.

5. Roberts AP, Pratten J, Wilson M, Mullany P (1999) Transfer of a conjugative transposon, Tn5397 in a model oral biofilm. *FEMS Microbiol. Lett.* 177, 63-66.

6. Rutala WA. (1996). APIC Guideline for selection and use of disinfectants. *Am J Infect control* 24:313-42.

**S**

1. **Sedgely C.M., lee, E.H., Martin, M.J.et Flannagan, S.E. (2008)** Antibiotic resistance gene Transfer between *Streptococcus gordonii* and *Enterococcus faecalis* in root canals of teeth ex vivo *Journal of Endodontics* 34 (5), 570-574
2. **Sekiguchi J.I., Asagi T., Miyoshi-Akiyama T., Fujino T., Kobayashi I., Morita K., Kikuchi Y., Kuratsuji T., Kirikae T. (2005).** Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain that caused an outbreak in a neurosurgery ward and its aac(6 $\phi$ )-iae gene cassette encoding a novel aminoglycoside acetyltransferase. - *Antimicrob. Agents Chemother.* 49(9), 3734-3742.
3. **Spormann AM (2008)** Physiology of microbes in biofilms. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 322: 17- 36
4. **Stewart PS (2003)** Diffusion in biofilms. *J. Bacteriol.*, 185:1485-1491
5. **Stickler DJ (2002)** Susceptibility of antibiotic resistant Gram-negative bacteria to bacteriocides: a perspective from the study of catheter biofilms. *Symp. Ser. Appl. Microbiol.* 31: 163S- 170S
6. **Stoodley P, Sauer K, Davies DG, Costerton JW(2002).** Biofilms as complex differentiated communities. *Annu Rev Microbiol*; 56: 187-209.
7. **Sutherland I. (2001)** Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*; 147(Pt 1): 3-9.

**T**

1. **Tomlin KL, Malott RJ et al. (2005)** Quorum-sensing mutations affect attachment and stability of *Burkholderia cenocepacia* biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 5208- 5218

**U**

1. **Utili R, Durante-Mangoni E, Tripodi M.F. (2007).** Infection of intravascular prostheses: how to treat other than surgery. *Int. J. Antimicrob. Agents* 30 S: S42- S50

**V**

1. **Vachée A ., Scheftel JM ., Husson MO., Izard D., Ross P., Monteil H. (1997).** Tricentric study of the sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* serotyping to beta-lactams and aminoglycosides. *Pathol Biol (Paris)*. 45(5):357-362.
2. **Van Houdt R, Michiels C (2005)** Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Res. Microbiol.*, 156: 626-633
3. **Vaudaux, P., Pittet, D., Haeberli, 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.
4. **Vincent A, Saint G.L, Laprugne G. E. (2008).** Infections associées aux soins, Fiches conseils pour la prévention du risque infectieux ó Infection. CCLIN Sud-est; P: 2.

**W**

1. **Wanner O, Bauchrowitz M (2006)** Les biofilms sont omniprésents. *EAWAG News* 60 f: 4 -7

**X**

1. **Xavier V. (1998).**Désinfection des dispositifs Désinfection des dispositifs médicaux; Cas particulier des endoscopes souples; hôpitaux de Toulouse, p:6.
2. **Xavier JB, Foster KR.( 2007)** Cooperation and conflict in microbial biofilms. *Proc Natl Acad Sci USA*; 104(3): 876-81

**Z**

1. **Zabinski RA ; Karla J. ;Walker; Alison J.; Larsson; Julia A. ;Moody; Glenn W.; Kaatz E. John C. Rotschafer (1995)** Effects of aerobic and anaerobic environments on antistaphylococcal activities of five fluoroquinolones. *Antimicrob. Agents Chemother.* 39: 507-512.

2. **Zobell CE. (1943).** the effect of solid surfaces upon bacterial activity. *J.Bacteriol.* 46:39-56)

[1] <http://www.forcesdz.com> , 2012.



***Annexes***

**Annexe 01. Composition des colorants de gram**

**Cristal violet ou violet de gentiane (pour coloration de Gram)**

➤ **Solution mère A**

Cristal Violet ou Violet de Gentiane..... 25 g  
Ethanol à 96 %..... 250 ml

La solution est vigoureusement agitée à trois reprises dans la même journée. On laisse déposer.  
La Solution est prête à l'emploi dès le lendemain.

**Conservation** : Quelques années en flacon brun Hermétiquement bouché.

➤ **Solution mère B**

Oxalate d'Ammonium (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O.....5 g  
Eau Distillée..... 500 ml

**Conservation** : 2 à 3 mois dans un flacon hermétiquement bouché.

**Fuchsine**

➤ **Fuchsine mère saturée**

Fuchsine Basique..... 25 g  
Ethanol à 96 %..... 250 ml

**Conservation** : Quelques années dans un flacon brun hermétiquement bouché.

➤ **Solution mère aqueuse de Phénol à 5 % (v/v) :**

Phénol Cristallisé fondu .....50 ml  
Eau distillée..... 950 ml

**Conservation** : Quelques mois dans un flacon hermétiquement bouché.

**Fuchsine (solution de travail)**

Solution saturée de Fuchsine Basique, filtrée..... 100 ml  
Solution aqueuse de Phénol à 5 %..... 900 ml

**Conservation** : Au moins 2 ans.

**Fuchsine diluée (pour coloration de Gram)**

Fuchsine Phéniquée ..... 01 ml  
Eau Distillée..... 09 ml

**Conservation** : 1 mois tout au plus, et Faire la dilution avant chaque coloration.

**Lugol faible (pour coloration de Gram)**

Iodure de Potassium (KI)..... 2,34 g  
Iode en Cristaux ou Iode Sublimée..... 1,66 g  
Eau Distillée.....500 ml

**Conservation** : non filtré : 3 mois. Le Lugol doit avoir une coloration brun rouge.

Annexe 02 : Tableau de lecture de la galerie miniaturisée API 20E.

Test	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Négatif	Positif
ONPG	Ortho-nitro-phenyl-galactosidase	B-galactosidase	Incolore	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Rouge/orangé
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Jaune	Orangé
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Jaune	Rouge/orangé
CIT	Citrate de Sodium	Utilisation du citrate	Vert pale/jaune	Bleu-vert/vert
H2S	Thiosulfate de Sodium	Utilisation d'H2S	Incolore/grisâtre	Dépôt noir/fin liseré
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	<b>TDA / Immédiat</b>	
			Jaune	Marron foncé
IND	Tryptophane	Production d'indole	<b>IND / 2 min, max</b>	
			Jaune	Anneau rouge
VP	Pyruvate de Sodium	Production d'acétone	<b>VP 1 + VP 2 / 10 min</b>	
			Incolore	Rose-rouge
GEL	Gélatine de Kohn	gélatinase	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	Glucose	Fermentation/oxydation	Bleu-vert/vert	Jaune
MAN	Mannitol	Fermentation/oxydation	Bleu-vert/vert	Jaune
INO	Inositol	Fermentation/oxydation	Bleu-vert/vert	Jaune
SOR	Sorbitol	Fermentation/oxydation	Bleu-vert/vert	Jaune
RHA	Rhamnose	Fermentation/oxydation	Bleu-vert/vert	Jaune
SAC	Saccharose	Fermentation/oxydation	Bleu-vert/vert	Jaune
MEL	Melibiose	Fermentation/oxydation	Bleu-vert/vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Fermentation/oxydation	Bleu-vert/vert	Jaune
ARA	Arabinose	Fermentation/oxydation	Bleu-vert/vert	Jaune
Ox	Sur papier filtre	Cytochrome-oxydase	<b>Ox / 5-10 min</b>	
			Incolore	Anneau violet

### Annexe 03. Composition des milieux de culture

#### Gélose Hektoen

La gélose Hektoen est un milieu sélectif différentiel des bactéries entéro-pathogènes, Particulièrement de *Salmonella* et de *Shigella*. La composition du milieu permet la différenciation des colonies fermentant rapidement un des 3 sucres (virage du bleu au rouge saumon) et/ou produisant de l'H<sub>2</sub>S (centre noir).

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

Peptone .....	12,00	Chlorure de sodium.....	5,00
Extrait de levure.....	3,00	Thiosulfate de sodium.....	5,00
Sels biliaries N° 3.....	9,00	Citrate ferrique ammoniacal.....	1,50
Lactose.....	12,00	Bleu de bromothymol.....	0,065
Saccharose.....	12,00	Fuchsine acide.....	0,10
Salicine.....	2,00	Agar.....	14,00

Ph final à 25°C : 7,5 ± 0,2

Le milieu en flacons ou boîtes se conserve à l'obscurité entre 2 et 8°C jusqu'à la date d'expiration.

#### 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.....	30,00	Ph final à 25°C : 7,3 ± ± 0,2
Peptone de caséine.....	17,50	Le milieu en flacons ou boîtes se conserve
Amidon.....	1,50	entre 2 et 8°C
Agar.....	17,00	

#### 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).....	1g	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 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.....	5,00	Ph final à 25°C : 6,8 +/-0,2
Extrait de viande de bœuf.....	3,00	
Agar.....	15,00	

.

**Annexe 04. Composition des additifs et solutions****Kovacs**

Le réactif de Kovacs est utilisé pour la mise en évidence de la production d'indole par les micro-organismes possédant une tryptophanase. Le tryptophane, acide aminé notamment présent dans les peptones tryptiques, est dégradé en indole qui réagit avec le P-Diméthylaminobenzaldéhyde du réactif. Une réaction positive, de la présence d'indole, est révélée par la coloration au rouge du réactif de Kovacs.

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

P-Diméthylaminobenzaldéhyde.....	5,00 g	Conserver en flacon
Alcool amylique.....	75,00 ml	ambré entre 2 et
Acide chlorhydrique pur.....	25,00 ml	8°C

**Réactif de Voges - Proskauer 1 et 2**

Solution réactionnelle pour la mise en évidence de la présence d'acétyl-méthyle carbinol (acétoïne dans) le milieu. Ce composé est un produit de dégradation de l'acide pyruvique par les bactéries qui empruntent la voie de fermentation butanediolique caractéristique de certaines Entérobactéries.

**VP1** : Soude caustique (NaOH)

**VP2** : Alpha naphthol

**Réactif TDA**

Solution réactionnelle pour la mise en évidence de la présence, dans le milieu, de l'acide indol-pyruvique formés par les bactéries possédant la tryptophane désaminase.

**Composition** Chlorure de fer.....80 g /l

**Les composants de Solution de prélèvement (prélèvement des endoscopes).**

<b>Constituant</b>	<b>Concentration</b>
<b>Tween 80</b>	<b>0.1%</b>
<b>Phosphate</b>	<b>0.067 M/L</b>
<b>chlorure de sodium</b>	<b>0.43%</b>
<b>peptone</b>	<b>0.1%</b>
<b>Eau distillée</b>	<b>100ml</b>

**Sérum physiologique**

Chlorure de Sodium.....9g  
Eau distillée .....1000 mL

## **Annexes 05. Matériel et réactifs utilisés**

### **Matériel et appareillages**

- Pipettes graduées stériles de 1 ml
- Bec bunsen
- Portoir pour tubes à essai
- Pipettes Pasteur stériles.
- Bain marie
- Boîtes de pétri
- Marqueur
- Des lames
- Etuve électrique
- Microscope optique
- Pince

### **Milieus de culture et additifs**

- Eau distillée stérile en tubes
- Gélose Hektoen
- Gélose Mueller Hinton
- Disques d'antibiotiques
- Additif Kovacs
- Additif TDA
- Réactif de Voges – Proskauer 1 et 2

### **Colorants de Gram**

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

**Annexe 06 :** Tableau des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour **Entérobactéries**

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ampicilline	10µg	≤ 13	14 – 16	≥ 17	≥ 32	16	≤ 8
Amoxicilline +Ac.clavulanique	20/10µg	≤ 13	14 – 17	≥ 18	≥ 32/16	16/8	≤ 8/4
Céfazoline	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 8	4	≤ 2
Céfalotine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Céfoxitine	30µg	≤ 14	15 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23 – 25	≥ 26	≥ 4	2	≤ 1
Céftriaxone	30µg	≤ 19	20 – 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Imipénème / Méropénème	10µg	≤ 19	20 - 22	≥ 23	≥ 4	2	≤ 1
Ertapénème	10µg	≤ 18	19 - 21	≥ 22	≥ 2	1	≤ 0,5
Amikacine	30µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	10µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14 – 18	≥ 19	≥ 32	---	≤ 16
Ciprofloxacine	6µg	≤ 16	16 – 20	≥ 21	≥ 4	2	≤ 1
	6µg	≤ 20	21 – 30	≥ 31	≥ 1	0.12 – 0.6	≤ 0.06
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Colistine	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----
Furanes	300µg	≤ 14	15 – 16	≥ 17	≥ 128	64	≤ 32
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13 – 15	≥ 16	≥ 256	128	≤ 64
Triméthoprim+Sulf améthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥ 16	≥ 4/76	-----	≤ 2/38

Tableau extrait du document M 100 –S23. VOL .33,n° 1 . 2013. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty- third informational supplement

Extrait des recommandations 2013 du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

**Annexe 07** : Tableau des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Ticarilline	75 µg	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128	32 - 64	≤ 16
Ticarilline + ac.clavulanique	75/10	≤ 15	16 - 23	≥ 24	≥ 128/2	32/2- 64/2	≤ 16/2
Pipéracilline	100	≤ 14	15 - 20	≥ 21	≥ 128	32 - 64	≤ 16
Ceftazidime	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18	≥ 32	16	≤ 8
Aztréonam	30 µg	≤ 15	16 - 21	≥ 22	≥ 32	16	≤ 8
Imipénème	10 µg	≤ 15	16 - 18	≥ 19	≥ 8	4	≤ 2
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17	≥ 64	32	≤ 16
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Nétilmicine	30 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 32	16	≤ 8
Tobramycine	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15	≥ 16	8	≤ 4
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16 - 20	≥21	≥4	2	≤ 1
Lévofloxacine	5µg	≤ 13	14 - 16	≥17	≥8	4	≤ 2
Fosfomycine **	50µg + 50µg G6P	< 14	-----	≥ 14	> 32	----	≤ 32
Rifampicine **	30 µg	< 14	14 - 18	≥ 19	> 16	16-8	≤ 4
Colistine	10µg	≤ 10	-----	≥11	≥8	4	≤ 2

Tableau extrait du document M 100 –S23. VOL.33,n° 1 . 2013. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty- third informational supplement  
Extrait des recommandations 2013 du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

**Annexe 08 :** Tableau des Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylocoque spp.*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)		
		R	I	S	R	I	S
Pénicilline	10 UI	≤ 28	---	≥29	≥0,25	----	≤ 0,12
Oxacilline ( <i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i> )	---	---	----	----	≥4	----	≤ 2
Céfoxitine ( <i>S.aureus</i> et <i>S.lugdunensis</i> )	30 µg	≤ 21	---	≥22	≥8	----	≤ 4
Oxacilline (S.C.N. sauf <i>S.lugdunensis</i> )	----	---	---	----	≥0,5	----	≤ 0,25
Céfoxitine (S.C.N.sauf <i>S.lugdunensis</i> )	30 µg	≤ 24	---	≥25	---	----	---
Gentamicine	10 µg	≤ 12	13 – 14	≥ 15	≥ 16	8	≤4
Kanamycine	30 µg	≤ 13	14 – 17	≥18	≥64	32	≤16
Amikacine	30 µg	≤ 14	15 – 16	≥17	≥64	32	≤16
Erythromycine	15 µg	≤ 13	14 – 22	≥23	≥ 8	1-4	≤0.5
Clindamycine	2µg	≤ 14	15 – 20	≥21	≥4	1-2	≤ 0,5
Vancomycine ( <i>S.aureus</i> )	CMI	---	---	----	≥16	4 - 8	≤2
Vancomycine (S.C.N.)	CMI				≥32	8-16	≤4
Teicoplanine	30 µg	≤ 10	11 – 13	≥14	≥32	16	≤8
Ofloxacine	5µg	≤ 14	15 – 17	≥18	≥4	2	≤1
Triméthoprim+ sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11 – 15	≥16	≥ 4/76	----	≤2/38
Rifampicine	5µg	≤ 16	17 – 19	≥20	≥ 4	2	≤1
Tétracycline	30µg	≤ 14	15 – 18	≥19	≥16	8	≤ 4
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13 – 17	≥18	≥32	16	≤ 8
Pristinamycine**	15 µg	< 19	19 – 21	≥ 22	> 2	----	≤ 1
Acide fusidique**	10 µg	< 24	-----	≥ 24	> 1	----	≤ 1
Fosfomycine**	50 µg	< 14	-----	≥ 14	> 32	----	≤ 32

Tableau extrait du document M 100 –S23. VOL .33,n° 1 . 2013. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty- third informational supplement Extrait des recommandations 2013 du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie

**Annexe 09.** Résistances naturelles aux  $\beta$  lactamines des espèces de bacilles non exigeants  
(Cavallo et al., 2004).

Espèces	PEN	OXA	AM	AMC	TIC	TCC	PIP	C1G	FOX	CTT	MA	CXM	CTX	CAZ	IPM
<b>Entérobactéries</b>															
<i>Escherichia coli</i>	R	R													
<i>Proteus mirabilis</i>	R	R													
<i>Shigella</i> spp.	R	R													
<i>Salmonella</i> spp.	R	R													
<i>Klebsiella</i> spp.	R	R	R		R										
<i>Citrobacter koseri</i>	R	R	R		R										
<i>Citrobacter freundii</i>	R	R	R	R				R	R	R					
<i>Enterobacter aerogenes</i>	R	R	R	R				R	R	R					
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R	R	R				R	R	R					
<i>Serratia marcescens</i>	R	R	R	R				R			R	R			
<i>Proteus vulgaris</i>	R	R	R					R				R			
<i>Morganella morganii</i>	R	R	R	R				R				R			
<i>Providencia stuartii</i>	R	R	R	R				R							
<i>Yersinia enterocolitica</i>	R	R	R	R	R			R	R		R	R			
<b>Bacilles à Gram négatif non fermentaires</b>															
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	R	R	R	R				R	R	R	R	R	R		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	R	R	R	R				R	R	R	R	R			
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	R	R	R	R	R		R	R	R	R	R	R	R		R
<i>Burkholderia cepacia</i>	R	R	R	R	R	R		R	R	R	R	R			R
<i>Alcaligenes denitrificans</i>	R	R	R	R				R	R	R	R	R	R		
<i>Flavobacterium</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<b>Meningosepticum</b>															
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	

R : résistance naturelle ; PEN : pénicilline G ; OXA : oxacilline ; AM : aminopénicillines ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; TIC : ticarcilline ; TCC : ticarcilline + acide clavulanique ; PIP : pipéracilline ; C1G : céphalosporines de première génération ; FOX : céfoxitine ; CTT : céfotétan ; MA : céfamandole ; CXM : céfuroxime ; CTX : céfotaxime ; CAZ : ceftazidime ; IPM : imipénème.

**Annexe 10: Caractères d'identification biochimique des espèces de bacilles à Gram négatif non fermentaires le plus fréquemment rencontrées en clinique humaine**

NIT	ESC	ADH	UREE	GEL	CS	CC	H <sub>2</sub> S	IND	MAL	PDA	ONPG	GLU	LAC	XYL	SOR	MAN	Espèces
+	-	+	+	+	[+]	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-	<i>Pseudomonas putida</i>
+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
+	[-]	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	[+]	+	-	-	-	<i>Acinetobacter baumannii</i>
+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	<i>Burkholderia cepacia</i>
-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	<i>Burkholderia pseudomallei</i>
-	-	-	[+]	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<i>Flavobacterium odoratum</i>

+ : Positive ; - : négative ; [+] : Majorité positive ; [-] : Majorité négative

### Annexe 11 : Caractères d'identification des entérobactéries les plus fréquemment rencontrées dans les infections humaines

Caractères négatifs (-) si 0-25 % des souches l'expriment

Caractères variables (d) si 26-70 % des souches l'expriment

IDC	ODC	ADH	URE	VP	GEL	CS	CC	H <sub>2</sub> S	IND	MAL	PDA	βGAL	LAC	GLU	MAN	SAC	SOR	RHA	ADO	DUL	INO	Espèces
-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	d	+	+	-	+	+	-	-	-	<i>C. amalonaticus</i>
-	-	-	-	-	-	d	+	+	-	-	-	+	d	+	+	d	+	+	d	-	-	<i>Citrobacter freundii</i>
-	+	d	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	d	+	+	-	+	+	d	-	-	<i>Citrobacter koseri</i>
+	d	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	d	+	+	d	+	+	-	-	-	<i>Escherichia coli</i>
+	d	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	+	d	+	+	d	+	+	-	-	-	<i>E. coli/A. dispar</i>
+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	<i>Edwardsiella tarda</i>
+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	<i>Enterobacter Aerogenes</i>
-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	<i>Enterobacter cloacae</i>
d	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	d	+	+	+	-	-	-	-	-	<i>Enterobacter gergoviae</i>
+	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	d	-	-	-	<i>Hafnia alvei</i>
+	+	-	+	d	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	nt	+	+	<i>K. ornithinolytica</i>
+	-	-	d	+	-	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	nt	+	+	<i>K. oxytoca</i>
d	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	d	nt	nt	d	d	<i>Klebsiella ozonae</i>
+	-	-	d	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	d	d	nt	+	+	+	<i>K. rhinoscleromatis</i>
-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Morganella morganii</i>
-	d	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	-	-	-	<i>Pantoea agglomerans</i>
-	+	-	+	-	-	d	d	+	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	<i>Proteus mirabilis</i>
-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	<i>Proteus vulgaris</i>
-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	nt	-	-	-	<i>Prov. alcalifaciens</i>
-	-	-	+	-	-	d	d	-	+	-	+	-	-	+	+	d	-	d	+	+	+	<i>Providencia rettgeri</i>
-	-	-	d	-	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	<i>Providencia stuartii</i>
+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-	<i>Salmonella typhi</i>
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	nt	-	-	-	<i>Salmonella paratyphi</i>
+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	d	-	-	<i>Serratia liquefaciens</i>
+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	d	d	-	d	<i>Serratia marcescens</i>
-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	d	-	+	+	-	-	-	-	d	d	<i>Shigella boydii</i>
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	+	-	-	-	-	-	d	-	<i>S. dysenteriae A1</i>
-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	d	-	+	-	-	-	-	-	d	-	<i>S. dysenteriae A2</i>
-	-	-	-	-	-	-	-	-	d	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	d	-	<i>Shigella flexneri</i>
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	<i>Shigella sonnei</i>



***Identification et antibioresistance de la flore bactérienne d'un biofilm, présent sur un instrument médical***

**Résumé**

Dans le milieu hospitalier, l'utilisation des instruments médicaux a connue un essor important. Pour diverses raisons, ces instruments répartis en deux groupes : les instruments implanté et non implanté peuvent servir de support pour l'adhérence des micro-organismes. Les Staphylocoques, les Pseudomonas et les Entérobactéries 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 des dispositifs médicaux dans trois services du l'hôpital militaire Ali mendjli de Constantine et l'établissement publique hospitalier Ahmed ben Bella khenchela. Un total de 40 souches de Staphylocoques, des Pseudomonas et les entérobactéries ont été isolées, identifiées et testées à différents antibiotiques utilisés en thérapie clinique.

Les espèces étudiées ont présenté des pourcentages de résistance inquiétants aux betalactamines, aux aminosides et aux macrolides. D'autres antibiotiques restent actifs sur les bactéries comme la Vancomycine qui 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 conditions et les règles stricte d'hygiène. La maitrise des techniques de soin est la seule garante de la qualité de sécurité des soins prodigués et l'accessibilité pour le confort, Des patients.

**Les mots clés :** Biofilms, dispositifs médicaux, infection nosocomial, antibiorésistance, endoscope, sonde urinaire, cathéter vinaireux.

## **Abstract**

In the hospital, the use of the medical instruments knew an important development. For diverse reasons, these instruments repartee in two groups which are the implanted and not implanted instruments, what can serve as support (medium) for the adhesion of microorganisms. Staphylococci, Pseudomonas and Entérobactéries are bacteria most frequently isolated by the hospital-borne infections bound (connected) to medical devices, because of their capacity to adhere(subscribe) to the surface of biomaterials. The study was realized on 40 origins (stumps) of Staphylococci, Pseudomonas and the isolated entérobactéries of medical devices in three services (departments) of the military Constantine's Ali mendjli hospital and the establishment public hospital worker Ahmed ben Bella kenchela. A total of 40 origins (stumps) Were isolated, identified, tested in 40 antibiotics. The studied sorts (species) presented disturbing percentages of resistance to bêtalactamines and to aminosides but there is of other one antibiotic remains active on bacteria as Vancomycine which remains the molecule of choice against the infections to Staphylococci. The fight (wrestling) against the infections on medical devices crosses (spends) necessarily by the respect for the conditions and the rules (rulers) strict of hygiene. The control (master's degree) of the techniques of care is the only guarantor for the quality of safety (security) of the lavished care and the accessibility for the comfort, the patients.

**Keywords:** Biofilms, medical devices, infection hospital-borne, antibiorésistance, endoscope, urinary probe, vinous catheter.

***Identification and antibioresistance of the bacterial flora of a biomovie, present on a medical instrument***

**Abstract**

In the hospital setting, the use of medical instruments has known significant growth. For various reasons, these instruments divided into two groups: implanted and non-implanted instruments can be used to support the adherence of microorganisms. Staphylococci, Pseudomonas and Enterobacteriaceae were the most frequently isolated bacteria of nosocomial infections related to medical devices, due to their ability to adhere to the surface of biomaterials.

The study was conducted on medical devices in three services of the military hospital mendjli Ali Constantine hospital public institution Ahmed ben Bella kenchela. A total of 40 strains of Staphylococcus, Pseudomonas and Enterobacteriaceae have been isolated, identified and tested at various antibiotics used in clinical therapy. The species studied showed worrying percentages resistance to beta-lactams, aminoglycosides and macrolides. Other antibiotics remain active against bacteria such as vancomycin remains the molecule of choice against Staphylococci infections. The fight against infections on medical devices must go with the conditions and strict rules of hygiene. Mastering care techniques is the only guarantor of the quality of care provided security and accessibility for comfort, Patients.

**Keywords**

Biofilms, medical devices, infection hospital-borne, antibiorésistance, endoscope, urinary probe, vinous catheter.