

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DE
LA TERRE ET DE L'UNIVERS



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au
biomédical et à l'environnement LAMAABE

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par :

Gheroussat Sabah et *Boutchiche Amel*

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie et contrôle de qualité

**Etude de l'adhésion des staphylocoques sur
dispositifs cardiaques implantables**

Soutenu le 13/06/2024 Devant le jury :

Président	RAHMOUN M.	MAB	Université de Tlemcen
Encadrant	MEZIANI Z.	MAB	Université de Tlemcen
Examineur	NAS F.	MAB	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2023-2024

Remerciements

« La recherche est une école où l'on apprend l'importance du dialogue, de la confrontation des idées, du respect d'autrui (...). La démarche scientifique n'est pas seulement porteuse d'espoir pour la compréhension du monde qui nous entoure (...). Elle apporte aussi à ceux qui la pratiquent un enrichissement intellectuel et moral ».

*Avant tout, nous remercions notre créateur « **Allah** » tout puissant qui nous avoir, donné la force, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail et arriver à ce stade scientifique.*

*Et c'est par cette pensée que nous adressons nos remerciements à l'encadreur de ce mémoire Madame **Meziani Zahira**. Par leurs conseils, leurs critiques constrictifs et leurs soutiens moraux et financiers dans nos moments de difficulté.*

*Nous voudrions remercier aussi Madame **Rahmoun Malika**, maitre-assistant B à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Science de la terre et de l'univers de l'université Abou -Bekr-Belkaid de Tlemcen d'avoir accepté de me faire l'honneur de présider ce jury.*

*Nos vifs remerciements vont aussi à Madame **Nas Fatima**, maitre-assistant B à la faculté des sciences de la nature et de la vie, Science de la terre et de l'univers de l'université Abou -Bekr-Belkaid pour avoir contribué par sa participation à l'examination de ce travail.*

Nous ne saurons terminer sans remercier toutes ces personnes qui sont dans l'ombre et dont la contribution à notre travail et non négligeable notamment tout le personnel de laboratoire, de la bibliothèque et de l'administration.

A tous ceux qui ne se verrons pas cité, cette place vous ai réservé.....

Dédicace

Je dédie cette mémoire à...

A ALLAH

En tout premier lieu, je remercie mon Dieu, tout puissant de m'avoir donné la force et le courage pour réaliser ce précieux travail ainsi que les difficultés. Merci mon Dieu pour votre miséricorde. Vous êtes O Rahman, O Rahim.

A L'âme pure de ma mère

Je dédie cet évènement marquant de ma vie à la mémoire de ma mère disparu trop tôt. Je vous demande de prier pour sa miséricorde. Je n'oublierai jamais ma mère car elle était une mère idéale.

A mon très cher papa

Je dédie ce travail aussi à mon père qui m'a entouré d'amour, de prières et qui fait tout pour ma réussite. Que Dieu le garde.

A mes très chères frères et sœurs

Imane, Hadjer, Omar et le petit Iyed

A vous mes frères et sœurs qui m'avez toujours soutenu et encouragé durant ces années. Je vous aime beaucoup et je souhaite que notre fraternité se prolonge à l'éternité.

À mes chères amies

Un dévouement spécial à mes amies **Amina, Djihane et Ouiem** qui participés avec moi et partagé avec nous les meilleurs moments pour accomplir ce travail.

A mes amies **Asmae, Hinde et Wahiba** que Dieu les bénisse et prenne soin d'elles.

A ma binôme **Amel**, je le remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les moments qu'on a passés ensemble.

Je vous dédie ce travail comme preuve de mon amour pour vous. Merci pour tous les moments qu'ils ont passés ensemble, pour la joie et la tristesse dans leur ensemble.

A toute ma famille dans l'association **Chomoue Tlemcen**, il n'y a pas de mot à décrire, mais c'est le refuge.

A toutes mes familles, **GHEROUSSAT** et **BELLAHOUEL**

A tous ceux que j'aime

Pour quelqu'un qui m'a consacré un moment Pour m'aider, me conseiller, m'encourager ou simplement me sourire. Pour tous ceux qui liront ma note un jour. A tous ceux que j'ai oublié de mentionner.

Sabah

Dédicaces

Je dédie cette mémoire à ...

Allah tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail. Qui m'a inspiré, m'a conduit sur la bonne voie. Je te dois ce que je suis devenu. Merci et gratitude pour votre miséricorde et votre gentillesse. Vous êtes O Rahman, O Rahim.

Mes très chers parents pour lesquels le remerciement ne sera jamais suffisant pour récompenser leurs immenses sacrifices, leur soutien et appui inconditionnel durant toutes les périodes de ma vie ... je prie dieu de vous accorder une bonne santé et une longue vie.

Ce travail pour vous, **Père**, est le fruit de vos efforts continus, de vos prières, de votre tendresse et de votre amour. J'espère rester digne de votre appréciation et ne jamais vous décevoir.

A toi, **maman**, source de tendresse, je te dois ma réussite, tout cela grâce à tes prières et ta tendresse. Vous êtes le seul à comprendre ma vie : je vous demande pardon et encore une fois merci.

Mon fiancé et à sa famille, qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études, que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.

A ma binôme Sabah, je le remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les moments qu'on a passée ensemble.

A mes chères amies Yasmina, Sarah, Ghizlene, Vous êtes plus que des amies pour moi, merci pour toutes ces fois où j'ai pu compter sur vous ; pour tous les bons moments qu'on a passés ensemble durant toute ses années d'études. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. Après ma famille, vous êtes les personnes qui comblent mon quotidien et dont j'apprends énormément.

A mes frères, mes sœurs et mes proches

A toutes mes familles, **BOUTCHICHE, SAFSAFI, MOSTEFAI**

Amel

Table de matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	1
Synthèse bibliographique	3
Chapitre 1 : Généralités sur les infections bactériennes liées aux implants médicaux et sur dispositifs cardiaques implantables	3
1. Infections liées aux dispositifs médicaux implantés	3
2. Les dispositifs cardiaques implantables	4
2.1. Les pacemakers.....	4
2.2. Les défibrillateurs automatiques implantables.....	5
2.3. Constitutions et fonctionnement	5
3. Infections liées aux dispositifs cardiaques implantables	5
3.1. Infections strictement localisées au boîtier.....	6
3.2. Les infections sur sondes.....	6
3.3. Endocardites	6
4. Facteurs de risque	6
Chapitre 2 : Adhésion bactérienne, formation de biofilm sur dispositifs cardiaques implantables	8
1. Mécanisme d'adhésion bactérienne sur dispositif cardiaque implantable	9
2. Le biofilm	10
3. Caractéristique des biofilms	11
4. Les principales étapes de la formation du biofilm	12
5. Les facteurs influençant la formation de biofilm	13
5.1. Les caractéristiques de la surface.....	13
5.2. Les caractéristiques du milieu.....	13
5.3. Les caractéristiques des microorganismes	13
6. Résistance des biofilms à divers agents antimicrobiens	14
7. Régulation de la formation des biofilms	14
7.1. Le quorum sensing	14
7.2. Les molécules du QS.....	15
Chapitre 03 : Les staphylocoques	16
1. Définition	16

2.	Taxonomie	16
3.	Caractères bactériologiques	19
3.1.	Caractères morphologiques	19
3.2.	Caractères culturels	19
3.3.	Caractères biochimiques	20
4.	Pouvoir pathogène	21
Matériel et méthodes		22
1.	Lieu d'étude	22
2.	Origine des souches bactériennes	22
3.	Matériel	22
3.1	Les milieux de cultures	23
3.2.	Les produits chimiques	23
4.	L'enrichissement	23
5.	Purification	23
6.	Identification	24
6.1.	Caractère microscopique	24
6.2.	Caractère macroscopique	25
6.3.	Recherche de la catalase	25
6.4.	Test d'oxydase	25
7.	Conservation des souches	25
8.	Détection de la production de biofilm par la méthode de plaque de culture de tissus	25
9.	Adhésion bactérienne sur différents biomatériaux de dispositif cardiaque implantable .	26
9.1.	Préparation des supports	26
9.2.	Adhésion bactérienne sur trois supports (sonde, connective, boîtier)	27
10.	Observation de l'adhésion des staphylocoques par microscope électronique à balayage environnemental	28
Résultats et discussion		28
1.	Evaluation des infections bactériennes sur dispositif cardiaque implantable	28
2.	Fréquences des souches de staphylocoques sur dispositif cardiaque implantable	29
3.	Etude de la formation de biofilm sur dispositif cardiaque implantable	31
4.	Adhésion bactérienne sur dispositif cardiaque implantable	32
Conclusion		35
Références bibliographiques		36
Annexes		
Résumé		

Liste des figures

Figure 1 : Evolution des dispositifs cardiaques implantables.

Figure 2 : Dispositif cardiaque implantable.

Figure 3 : Acquisition par microscopie électronique à balayage du biofilm de *S. aureus* in vitro.

Figure 4 : Adhésion des microorganismes sur une surface abiotique.

Figure 5 : Les différentes étapes de la formation du biofilm.

Figure 6 : Observation de *Staphylococcus aureus* après coloration de Gram.

Figure 7 : Aspect de *Staphylococcus epidermidis* sur gélose chapman.

Figure 8 : Observation microscopique des staphylocoques après une coloration de gram (X 100) .

Figure 9 : La capacité d'adhésion de *Staphylococcus epidermidis* sur boîtier, sonde et connective après 24 h d'incubation.

Figure 10 : Observation au MEBE d'un biofilm de *Staphylococcus epidermidis* sur sonde.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Présentation des espèces du genre *Staphylococcus*.

Tableau 2 : Classification de l'adhésion bactérienne par la méthode TCP.

Tableau 3 : Souches isolées des patients étudiés.

Liste des abréviations

ADH : Arginine dihydrolase

ADN : Acide Désoxyribonucléique

AHL : Acyl-homoserine lactone

AI 2 : Auto-inducteur 2

ARN : Acide Ribonucléique

BHIB : Bouillon cœur-cervelle

BN : Bouillon nutritive

DAI : Défibrillateurs Automatiques Implantés

DCI : Dispositifs Cardiaques Implantables

DLVO : Derjaguin et Landau, Verwey et Overbeek

DMI : Dispositifs Médicaux Implantées

DO : Densité Optique

DPD : Dihydroxy-Pentanedione

EI : Endocardites Infectieuse

ELISA : Enzyme linked immunosorbent assay littéralement

EPS : Exopolysaccharides

IAS : Infection Associée aux Soins

MEBE : Microscopie Electronique à Balayage Environnemental

PBS : Phosphate Buffered Saline

PH: Potentiel Hydrogène

PM: Pacemaker

PVC: Chlorure de Polyvinyl

QS: Quorum Sensing

SAM: S-adenosyl-méthionine

SC: Stimulateurs Cardiaques

SCP: Staphylocoques à Coagulase Positive

SCN : Staphylocoques à Coagulase Négative

S. aureus : *Staphylococcus aureus*

S. epidermidis : *Staphylococcus epidermidis*

INTRODUCTION

Introduction

L'OMS estime qu'entre 5 et 12% des patients hospitalisés dans le monde développent une infection associée aux soins (IAS) dont plus de 60% sont associées à l'implantation d'un dispositif médical ou chirurgical (**Baddour et al., 2010**).

Au cours des 60 dernières années, l'utilisation des technologies de communication sans fil s'est étendue de la recherche biomédicale aux soins de santé cliniques, permettant la surveillance et le contrôle à distance, les dispositifs cardiaques implantables (DCI) ont subi une transformation majeure. Les systèmes de transmission sans fil étant largement introduits dans les applications médicales à l'intérieur et à l'extérieur du corps humain en tant que le pacemaker, le défibrillateur automatique implantable (DAI) et implants cochléaires, neuro-stimulateurs et récemment les antennes miniatures bio-implantables (**Kennouche et Bounoua, 2021**).

Plus de quatre millions de patients à travers le monde sont implantés de divers systèmes de gestion de trouble du rythme (pacemakers, défibrillateurs, holters). Environ 700.000 nouveaux patients sont implantés chaque année d'un dispositif cardiaque implantable (DCI) et plus de 50.000 d'entre eux expérimentent malheureusement des complications (**Scavée, 2015**).

L'utilisation de ces dispositifs est associée à la survenue d'infections ayant comme caractéristiques communes d'être difficiles à traiter et de survenir chez des patients ayant en règle générale des comorbidités (**Lebeaux et al., 2014**). Des nombreuses études cliniques ont tenté de préciser les modalités thérapeutiques optimales (souvent médico-chirurgicales) de ces complications (**Zimmerli et al., 1998**). En parallèle, une approche plus fondamentale a mis en évidence que des communautés microbiennes enrobées par une matrice extracellulaire appelées biofilms étaient trouvées à la surface des dispositifs médicaux implantés, en cas d'infection (**Marrie et al., 1982; Costerton et al., 1999**).

Parmi les agents responsables de ces infections liées aux soins, *Staphylococcus* occupe une place privilégiée, après *Escherichia coli*. Les staphylocoques ont une aptitude à former des biofilms adhérant à des surfaces très diverses, avec une implication directe en pathologie humaine. Actuellement, il est considéré qu'environ 70 % des infections chroniques animale et humaine sont en lien avec la formation de biofilm (**Bergon, 2016**).

Le biofilm bactérien joue également un rôle central au cours des infections sur dispositifs cardiaques implantables. Ces infections dont l'incidence est en hausse compte tenu d'un élargissement des indications chez des patients à risque (âge, immunodépression, autres comorbidités), impliquent *S. aureus* ou un staphylocoque à coagulase négative dans environ deux tiers des cas, et se compliquent d'endocardites valvulaires dans environ un tiers des cas (**Lebeaux et al., 2016**).

La problématique des biofilms chez les bactéries telle que les staphylocoques a été étudiée dans plusieurs publications dans le monde (**Donlan, 2002**), diverses méthodes ont été développées pour la détection et la quantification des biofilms. En Algérie pas d'études sont focalisées sur la recherche des infections associées aux DCI et la formation de biofilm chez les staphylocoques. Dans ce contexte, notre étude vise à :

- Etudier la formation de biofilm par les souches des staphylocoques.
- Evaluer le potentiel d'adhésion sur les trois supports qui composent le DCI.
- Confirmer leur formation de biofilm au Microscope électronique à balayage environnemental.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

Synthèse bibliographique

Chapitre 1 : Généralités sur les infections bactériennes liées aux implants médicaux et sur dispositifs cardiaques implantables

1. Infections liées aux dispositifs médicaux implantés

Les dispositifs médicaux implantés (DMI) comprennent les prothèses, implants orthopédiques, les dispositifs cardiaques implantables ou cathéters, peuvent être insérés en de multiples sites anatomiques, stériles ou non. Ils sont principalement utilisés dans le but thérapeutique, de manière brève ou prolongée, certains patients conserveront leur dispositif médical toute leur vie (**Lebeaux 1 et al., 2014a**).

L'usage de tous les types de dispositifs médicaux implantés est associé à un risque de complication infectieuse. Ce risque est très variable, en fonction du site anatomique où est implanté le dispositif, du terrain du patient, de l'indication et de la durée de l'implantation. Ces infections sont associées à une morbidité et à une mortalité pour le patient, et à une augmentation majeure du coût des soins (**Lebeaux 1 et al., 2014b**).

La contamination peut survenir lors de la pose du matériel, dans les suites immédiates ou plusieurs mois ou années après l'implantation. Le risque zéro n'existe pas dès lors qu'un patient est porteur d'un dispositif médical implanté. La contamination survenant lors de l'insertion du matériel correspond à une infection du site opératoire. Toute contamination ne mène pas forcément à la colonisation du dispositif. En effet, après implantation, une course de vitesse s'engage entre la capacité du micro-organisme à adhérer à la surface du matériel et l'intervention du système immunitaire de l'hôte au site opératoire, puis l'intégration du matériel par les tissus du patient (**Lebeaux 1 et al., 2014c**).

Les micro-organismes associés à ces contaminations précoces proviennent en grande partie de la flore cutanée du patient du fait d'un défaut d'asepsie. Les signes cliniques relatifs à l'infection surviennent dans les jours ou les semaines, voire les mois ou années qui suivent l'intervention, en fonction du micro-organisme responsable (**Lebeaux 1 et al., 2014d**).

2. Les dispositifs cardiaques implantables

Le système de conduction de l'électricité intracardiaque peut être altéré, rarement par un défaut congénital, beaucoup plus fréquemment par un défaut acquis dû au vieillissement, à une cardiomyopathie, à l'hypertension artérielle ou à une maladie coronaire. Les dispositifs cardiaques implantables (DCI) permettent de rétablir une conduction efficace et adaptée (Leroya *et al.*, 2012).

Plus de 4 millions de personnes à travers le monde sont implantées de systèmes de gestion du rythme cardiaque, qui comprennent les pacemakers (PM) et les défibrillateurs automatiques implantés (DAI) (Scavée, 2015).

Les DCI sont passés par plusieurs modifications et évolutions de leurs tailles et leurs fonctionnements qui sont présentés par la **figure 1**.



Figure 1 : Evolution des dispositifs cardiaques implantables (Bars *et al.*, 2014).

2.1. Les pacemakers

La première implantation de pacemaker (PM) par voie épicaudique a été réalisée en 1958 par **Elmqvist et Senning**. Le principe de base est de délivrer une impulsion électrique au niveau du myocarde de façon à entraîner son excitation. Les pacemakers peuvent être mono-chambre (stimulation d'une seule cavité, oreillette droite ou ventricule droit) ou double-chambre (stimulations des deux oreillettes ou des deux ventricules) (Martin, 2018).

2.2. Les défibrillateurs automatiques implantables

Est un petit appareil implanté sous la peau qui détecte les rythmes cardiaques pouvant être nocifs. Lorsqu'il détecte un rythme cardiaque ventriculaire rapide anormal, il envoie une série d'impulsions rapides, appelées impulsions anti-tachycardiques.

De plus, le DAI peut déterminer si le cœur bat trop lentement et lui envoyer un signal électrique pour rétablir un rythme cardiaque normal.

2.3. Constitutions et fonctionnement

Le système de stimulation est composé de 2 parties: un boîtier et des électrodes de stimulation (sonde) (**Figure 2**). Le boîtier est en métal (titane) et comprend une source d'énergie (batterie au Lithium-ion), et de nombreux composants électroniques qui assurent les différentes programmations de l'appareil. Le boîtier est positionné dans le tissu sous-cutané près de la clavicule, et est connecté aux cavités cardiaques au moyen d'une ou plusieurs sondes de stimulation. Les sondes constituent l'âme conductrice du système et sont composées d'un ou plusieurs câbles électriques recouverts d'isolants (**Scavée, 2015**).

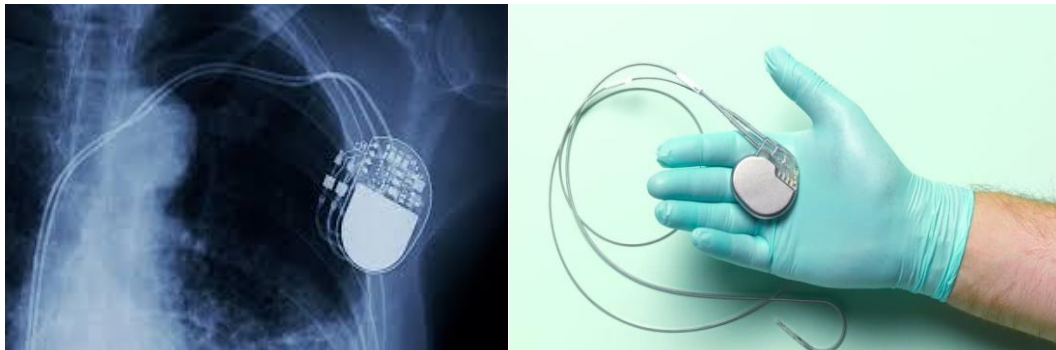


Figure 2 : Dispositif cardiaque implantable (**Badinau et al., 2020 ; Baptiste, 2021**).

3. Infections liées aux dispositifs cardiaques implantables

Selon une estimation, il y a plus de trois millions de patients porteurs de stimulateur cardiaque (pacemaker, PM) dans le monde et 180 000 porteurs de défibrillateurs automatiques implantables (DAI) en fonctionnement. Parmi les complications survenant après implantation de PM/DAI, l'infection est certainement la plus grave (**Camus, 2008**).

3.1. Infections strictement localisées au boîtier

Les critères cliniques utilisés pour définir une infection de DCI sont les suivants: érythème, chaleur, fluctuation, extériorisation du boîtier, érosion ou tuméfaction au niveau de la loge du boîtier. Ces signes cliniques nécessitent une confirmation microbiologique à partir de la culture de prélèvements issus de la poche du boîtier, et du boîtier lui-même, des différents segments des électrodes (sondes) ou des hémocultures (**Camus et al., 2009**).

3.2. Les infections sur sondes

Le segment sous-cutané d'une sonde peut se contaminer à partir d'une infection initialement localisée au boîtier. L'infection consécutive à l'érosion isolée d'un segment sous-cutané de sonde est devenue rare. L'infection sur la partie endovasculaire ou endocardique de la sonde peut être confirmée microbiologiquement par la culture de cette sonde ou par les hémocultures (**Chua et al., 2000**).

3.3. Endocardites

L'Endocardite infectieuse (EI) est une infection qui s'étend aux sondes, aux valves cardiaques ou à la surface endocardique. Le mécanisme principal de l'EI sur sonde est une contamination par la flore bactérienne locale au moment de l'implantation du dispositif. L'antibioprophylaxie lors de l'implantation est protectrice. L'infection peut se propager le long de la sonde à l'endocarde et au bout de la sonde. La conséquence peut être la formation de végétations, que l'on peut trouver partout de la veine sous-clavière à la veine cave supérieure, sur la sonde, sur la valve tricuspide, mais aussi sur l'endocarde mural de l'oreillette droite ou du ventricule droit (**Delahaye et Gevigney, 2019**). Les staphylocoques, notamment les staphylocoques à coagulase négative, selon **Duval et al** en **2004** un pourcentage de 60 à 80 % sont responsables des EI sur DCI.

4. Facteurs de risque

L'identification des facteurs de risque est primordiale afin de mettre en place des mesures préventives ou de proposer des alternatives thérapeutiques aux patients à haut risque infectieux. Ils peuvent être subdivisés en trois groupes :

- **Liés au patient** : Insuffisance rénale terminale (risque multiplié par 9), antécédent d'infection de DCI (risque multiplié par 7), fièvre en péri procédure (risque multiplié

par 4), corticothérapie (risque multiplié par 3), diabète ou bronchopneumopathie chronique (**Polyzos et al., 2015**). Dans la série danoise, le sexe masculin et l'âge jeune étaient associés à un risque infectieux plus important (**Olsen et al., 2019**).

- **Liés à la procédure** : Hématome post opératoire (risque multiplié par plus de 8), réintervention pour un déplacement de sonde (risqué multiplié par 6), inexpérience de l'opérateur, recours à une stimulation temporaire ou une intervention longue.
- **Liés au dispositif** : Présence de sondes épicaudiques (risque multiplié par 8), loge abdominale (risque multiplié par 4) ou système de resynchronisation (**Joy et al., 2017**).

Chapitre 2 : Adhésion bactérienne, formation de biofilm sur dispositifs cardiaques implantables

La première étude réalisée sur l'adhésion des microorganismes aux surfaces fut celle de **Zobell (1943)** dans laquelle il décrit l'adhésion des bactéries marines aux surfaces submergées.

Le phénomène d'adhésion bactérienne a été étudié dans de nombreux domaines où la présence de micro-organismes adhérents à un impact négatif. Ces domaines comprennent la formation de la carie dentaire (**Gibbons et Van Houte, 1980**), la colonisation des implants médicaux (**Dankert et al., 1986**), la formation de biofilm dans les conduites d'eau de boisson (**LeChevallier et al., 1987**) et dans les environnements de traitement des denrées alimentaires (**Holah et al., 1989**).

Plusieurs infections chroniques caractérisées par leur difficulté thérapeutique, l'impossibilité de stériliser certains foyers d'infection et le risque élevé de récurrence sont également considérées comme des infections liées aux biofilms (**Lebeaux et Ghigo, 2012**).

Le biofilm semble faciliter la survie des bactéries pathogènes dans l'environnement et chez leurs hôtes (**Figure 3**). Parce que les bactéries formant des biofilms ont des caractéristiques différentes des bactéries planctoniques, de nouveaux outils et de nouvelles approches pour la prévention, le traitement et le diagnostic de ces bactéries pathogènes sont requis (**Yannick et al., 2014**).

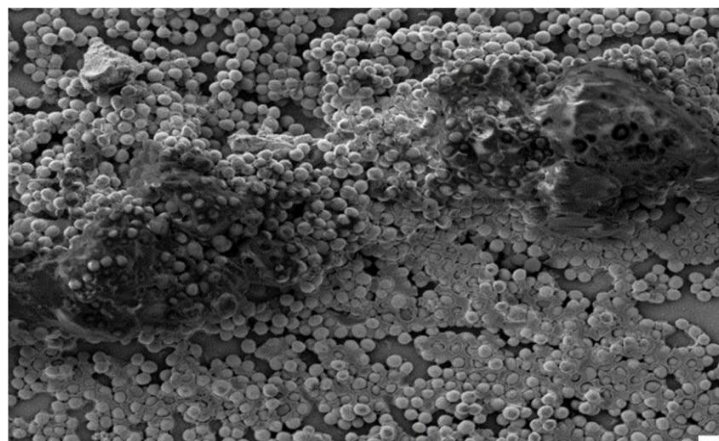


Figure 3: Acquisition par microscopie électronique à balayage du biofilm de *S. aureus* in vitro (**Lamret et al., 2020**).

1. Mécanisme d'adhésion bactérienne sur dispositif cardiaque implantable

Dans le secteur hospitalier, la colonisation des surfaces par les bactéries est un véritable problème de santé publique.

Les bactéries présentes dans notre écosystème sont transportées vers la surface réceptrice sur laquelle elles peuvent adhérer par différents processus de transport (**Katsikogianni et Missirlis, 2004 ; An et Friedman, 1998**):

- La sédimentation due aux forces de gravité.
- Les forces hydrodynamiques du fluide environnant.
- La diffusion aléatoire par mouvements browniens dus à l'agitation thermique.
- Le mouvement propre et autonome des bactéries, qui en sont capables grâce à la présence des flagelles ou des pilis.

L'étape initiale d'adhésion est considérée comme essentielle, faisant appel à une notion de proximité, les microorganismes doivent tout d'abord arriver au voisinage de la surface (quelques dizaines de nanomètres). **Fletcher (1991)** rappelle qu'au sein d'une population bactérienne en suspension, seule une très faible proportion adhère à un support immergé (**Faille et al., 1999**).

Dans la littérature, certains chercheurs ont tenté de décrire le processus d'adhésion de manière rationnelle en utilisant des principes de la physique et de la chimie. Le processus d'adhésion a été décrit principalement via la théorie des systèmes colloïdaux.

Les vraies particules colloïdales se déplacent grâce à l'application de forces externes. Quand une surface est mise en contact direct avec une solution, les molécules et les atomes de cette surface interagissent avec les molécules et les atomes contenus dans la solution et le type des forces, ou d'interactions, dépend de la composition chimique des deux milieux. D'après **Asther et al. (1990)**, l'adhésion des micro-organismes sur des surfaces chimiquement inertes relève de la physico-chimie et peut être prévu par des modèles thermodynamiques.

La première théorie qui a été utilisée pour expliquer l'interaction entre micro-organismes et surface d'adhésion est la théorie **DLVO**, qui doit son nom au quatre scientifiques qui l'ont développée (**Derjaguin et Landau, 1941 ; Verwey et Overbeek, 1948**).

Dans cette approche, l'adhésion microbienne est décrite comme un équilibre entre l'attraction des forces de **Van Der Waals** et la répulsion ou l'attraction des forces électrostatiques. L'introduction de l'interaction électrostatique exige que le potentiel Zêta de la surface interactive soit également mesuré en plus de l'angle de contact.

Selon **Marshall (1992)**, l'adhésion des bactéries se déroule en trois étapes:

- Transport de la bactérie au voisinage de la surface.
- Adhésion réversible : les bactéries peuvent adhérer aux surfaces mais elles peuvent aussi être facilement désorbées du support.
- Adhésion irréversible ou attachement.

Les interactions de **Van Der Waals** dites longues distances vont d'abord intervenir et sont réversibles. Puis, quand la distance est inférieure à 20 nm, les interactions électrostatiques viennent s'ajouter et enfin lorsque la distance est inférieure à 10 nm, interviennent les interactions acido-basiques et les interactions secondaires dites irréversibles. Puis, si la croissance est initiée, il va y avoir colonisation de la surface par formation de micro colonies intégrées dans la matrice d'exopolysaccharides et développement d'un biofilm (**Figure 4**).

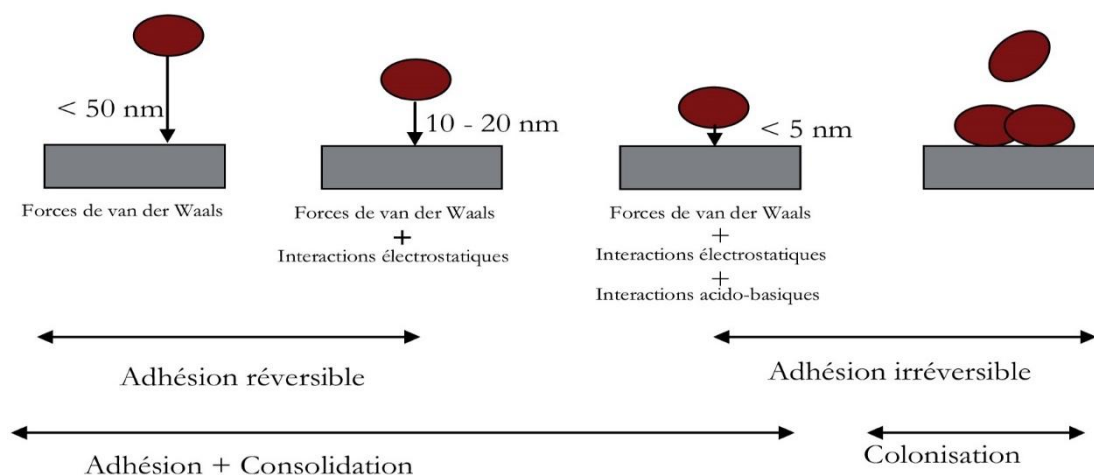


Figure 4 : Adhésion des microorganismes sur une surface abiotique (**Fletcher, 1996**).

2. Le biofilm

Toutes les espèces bactériennes et la plupart des champignons sont capables de former des biofilms. Il est désormais bien documenté que les caractéristiques des micro-organismes au sein du biofilm peuvent influencer l'évolution de l'infection ou expliquer certaines

difficultés thérapeutiques. Par exemple, lorsque les bactéries forment un biofilm, leur capacité à survivre malgré les antibiotiques augmente et une partie d'entre elles peuvent survivre à des concentrations médicamenteuses atteignant 100 ou 1000 fois la concentration minimale inhibitrice (Lewis, 2008). L'autre avantage majeur fourni par ce mode de vie est de permettre d'échapper au système immunitaire (Leid et al., 2002; Jesaitis et al., 2003). Une fois établi, le « biofilm » contribue aux difficultés thérapeutiques rencontrées en cas d'infection liée aux dispositifs médicaux implantés. Les mesures préventives sont donc fondamentales afin de réduire le risque de contamination microbienne et de formation d'un biofilm (Lebeaux et al., 2014).

En 1980, les travaux de **William Costerton** mettent en évidence que l'essentiel de la biomasse microbienne est fixé sur des surfaces et constitue des populations hétérogènes englobées dans une matrice extracellulaire riche en eau, en sucres et en protéines. Présentent dans tous les environnements et associées à des surfaces minérales, végétales (surface des feuilles) ou animales (surfaces des muqueuses, surfaces dentaires... etc), elles sont appelées biofilms (Roux et Ghigo, 2006).

Le biofilm est une communauté plurimicrobienne se fixant à une surface inerte ou vivante et maintenue enchâssée sur cette surface par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice. C'est une structure vivante, dynamique, en perpétuel remaniement qui constitue le mode de vie majoritaire des microorganismes, ainsi sédentarisés par opposition à la phase planctonique. Même si les techniques aseptiques sont scrupuleusement respectées lors de l'implantation du dispositif, le développement du biofilm est rapide et inéluctable sur la plupart des matériaux bien évidemment sur dispositifs médicaux implantés (DMI) (Espinasse et al., 2010).

En 1943, **Claude Zobell** publie l'un des tout premiers modèles de développement d'un biofilm bactérien. Pour cet auteur, les bactéries du biofilm accèderaient plus facilement aux nutriments que les bactéries planctoniques.

3. Caractéristique des biofilms

Les biofilms bactériens isolés de divers environnements partagent des caractéristiques communes (Yannick et al., 2014).

- (i) Les cellules bactériennes sont retenues ensemble par une matrice polymérique composée d'exopolysaccharides, de protéines et d'acides nucléiques.
- (ii) Le développement du biofilm survient en réponse à des signaux extracellulaires, soit présents dans l'environnement ou produits par les cellules bactériennes.
- (iii) Le biofilm protège les bactéries contre le système immunitaire de l'hôte, la dessiccation et les biocides (antibiotiques et désinfectants). Cette dernière caractéristique est particulièrement importante (Costerton *et al.*, 1999 ; Van Houdt et Michiels, 2010).

4. Les principales étapes de la formation du biofilm

Le biofilm peut se former très rapidement, en quelques heures les bactéries doivent dans un premier temps adhérer à une surface biotique ou abiotique. Cette étape requiert généralement la présence de molécules ou de structures particulières à la surface de la bactérie (fimbriae, flagelle). Puis les cellules bactériennes vont s'agglutiner, se multiplier et former des micro colonies. Lors de l'étape de maturation du biofilm, les bactéries synthétisent un exopolysaccharide et d'autres constituants de la matrice polymérique. Le biofilm mature représente une structure complexe et les bactéries de diverses régions du biofilm pourront exprimer des gènes différents. L'étape finale de la formation d'un biofilm est le détachement et la dispersion de cellules bactérienne. Ces cellules ont la capacité d'adhérer à de nouvelles surfaces et de reformer un biofilm (Figure 5) (Yannick *et al.*, 2014).

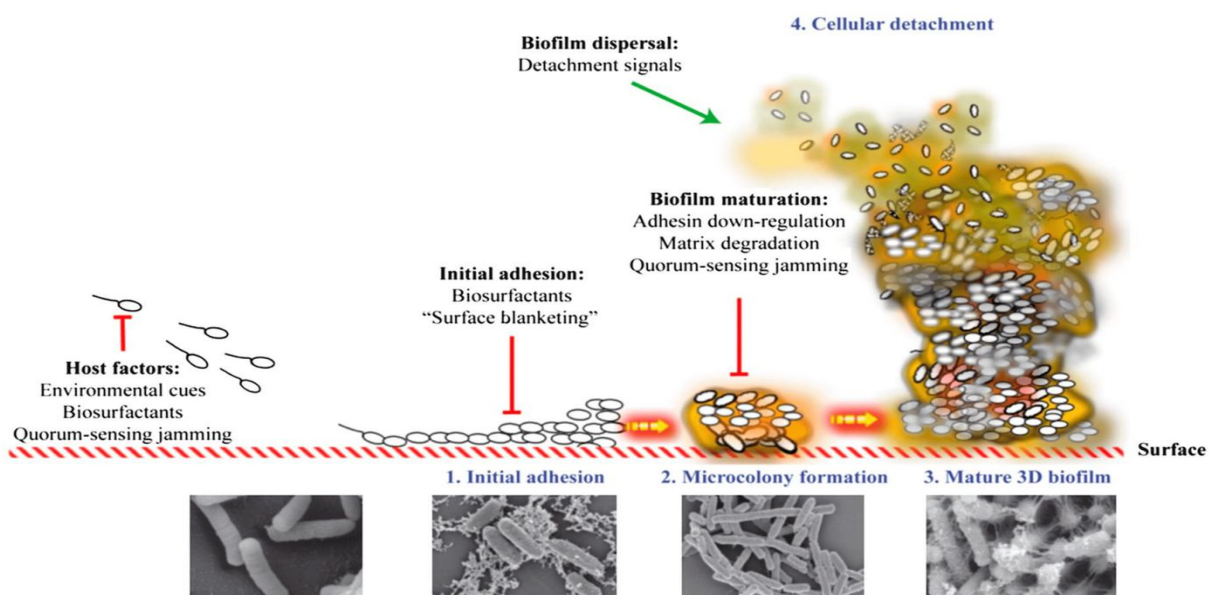


Figure 5: Les différentes étapes de la formation du biofilm (Omar *et al.*, 2017).

5. Les facteurs influençant la formation de biofilm

5.1. Les caractéristiques de la surface

Le contacte d'un matériau avec un fluide contenant des bactéries est un support potentiel pour la formation d'un biofilm:

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

5.1.2. Les propriétés chimiques d'une surface : influence sur le taux d'attachement. Les micro-organismes se fixent plus facilement à des surfaces hydrophobes et non polarisées comme le Téflon et le Plastique.

5.1.3. La présence préalable de films protéiques : le sang, les larmes, l'urine...etc influencent l'attachement de bactéries à cette surface, et favorise la formation de biofilm (Bellifa, 2014).

5.2. Les caractéristiques du milieu

La formation et la dispersion d'un biofilm nécessite des facteurs environnementaux clefs (Donlan, 2001 ; Goller et Romeo, 2008). La température de croissance peut avoir un effet significatif sur la mobilité cellulaire et la production de flagelle, et ainsi sur l'adhésion (Dumas, 2007). L'augmentation du pH urinaire entraîne une augmentation de l'attachement bactérien (Donlan, 2001), la concentration en oxygène, concentration en fer, osmolarité, présence d'ions spécifiques. Les sources de carbone disponibles: Elles ont une influence sur la formation d'un biofilm et sur sa maturation (Martinez et Casadevall, 2007). Les concentrations en nutriments: Dans un milieu statique, la concentration en nutriments doit être élevée pour qu'il puisse y avoir formation d'un biofilm, ce n'est pas le cas pour un milieu hydrodynamique (Spormann, 2008). L'augmentation de la concentration de plusieurs cations (calcium, magnésium) entraîné une augmentation de l'attachement bactérien (Donlan, 2001).

5.3. Les caractéristiques des microorganismes

Les pilis, exprimés par les bactéries sont impliqués dans l'adhésion bactéries-cellules et les EPS synthétisés par les bactéries, facilitent aussi la fixation aux surfaces. L'adhésion est également sous la dépendance de l'état physiologique de la bactérie: le caractère hydrophobe, la charge électrique globale et de l'énergie libre de la surface (Hygis, 2010).

6. Résistance des biofilms à divers agents antimicrobiens

Les bactéries sous forme de biofilms sont 10 à 1000 fois plus résistantes à l'action des agents antimicrobiens que celles sous forme planctonique (en suspension). Plusieurs stratégies ont été adoptées pour prévenir la formation de ces biofilms sur les surfaces abiotiques comme l'utilisation de détergents et de désinfectants couplés à des méthodes physiques. Cependant, des études ont montré que les bactéries exposées à plusieurs reprises à des concentrations sublétales de désinfectants, peuvent acquérir une résistance à ces produits, suite à une ou plusieurs mutations. De plus, les biofilms possèdent la possibilité de détoxification des substances toxiques, par l'action combinée d'enzymes présentes en forte teneur au sein de la matrice exo-polysaccharidique (**Idir, 2014**).

La matrice du biofilm ne peut constituer une barrière physico-chimique étanche aux antibiotiques. Elle peut cependant retarder leur accessibilité aux bactéries, diminuant les doses bactéricides disponibles et laissant le temps aux bactéries d'exprimer leurs mécanismes inductibles de résistance (**Sansonetti, 2018**).

7. Régulation de la formation des biofilms

7.1. Le quorum sensing

La formation de biofilm est régulée par des mécanismes de quorum sensing.

Est un système de communication entre les bactéries leur permettant de coordonner leur comportement vis-à-vis d'un environnement particulier. Ce langage repose sur la diffusion de petites molécules au travers des membranes bactériennes. Elles sont synthétisées de façon constitutives à des taux faibles. Lorsque la population bactérienne augmente la concentration de ces molécules atteint un seuil critique, d'où le terme de quorum permettant l'induction ou la répression de l'expression de nombreux gènes (QS).

Le QS aurait aussi un rôle dans la détermination de l'épaisseur du biofilm. Il peut réprimer ou stimuler l'expression de certains caractères, tels que les facteurs de virulence extracellulaires, comme les protéases (**Terki, 2015 ; Mebarki, 2016**).

7.2. Les molécules du QS

Les molécules du QS sont différentes selon les types de bactéries (**De chalvet de Rochemonteix, 2009 ; Chibi, 2015**).

7.2.1. Acyl-Homosérine Lactones

Les Acyl-Homosérine Lactones ou AHLs sont les auto-inducteurs de type 1. Elles sont composées d'un groupement lactone et d'une chaîne acyle latérale, qui varie selon la longueur et selon la présence ou non d'un groupement substitué (oxo ou hydroxy) sur le carbone en position 3 (**Ayé, 2015 ; Doberva, 2016**). Elles sont synthétisées par des protéines synthases, qui sont des enzymes appartenant à la famille des protéines de type LuxI. Puis, diffuse librement dans et hors de la cellule d'où la réponse au QS est déclenchée par leur fixation dans la cellule à un régulateur de transcription de type LuxR, induit ainsi l'expression des gènes du QS (**Mion et al., 2019 ; Aguanno, 2020**).

7.2.2. L'auto-inducteur 2

L'auto-inducteur de type 2 (AI-2) a été identifié plus récemment, qui permet une communication interspécifique entre les bactéries Gram- et Gram+. Il en existe de nombreux homologues, le 4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione (DPD) une molécule instable, produit dérivé du métabolisme de la S-adénosyl-méthionine (SAM) a été reconnu comme responsable de l'activité AI-2. Il convient de noter que le produit du gène luxS, l'enzyme LuxS est censé avoir un rôle métabolique dans les cellules, en plus d'être responsable pour la biosynthèse de l'AI-2 (**Galloway et al., 2011 ; Doberva, 2016 ; Landman, 2017**).

Chapitre 03 : Les staphylocoques

1. Définition

Les staphylocoques ont été mis en évidence pour la première fois en **1878** dans le pus d'abcès. La dénomination de *Staphylococcus* a été introduite en **1883** et provient de l'association des termes grecs staphylê, grappe de raisin et kokkos, grain. En **1884**, découverte leurs caractères cultureux (**Corbière Morot-Bizot, 2006**).

Le staphylocoque est une bactérie ubiquitaire que l'on retrouve sur la peau et dans les narines des personnes. C'est l'un des principaux agents étiologiques des infections suppuratives superficielles et profondes ainsi que des syndromes liés à l'action des toxines. Le traitement de ces infections est devenu de plus en plus difficile à cause de l'émergence des souches multi-résistantes, ce phénomène a été observé à l'hôpital mais aussi en ville (**Mohamed et al., 2005**).

Ils jouent un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constituent une barrière contre les bactéries de la flore transitaire. Leurs distributions sur la peau n'est pas uniforme. Il existe des niches préférentielles qui témoignent d'une adaptation de certaines espèces aux différentes régions de la peau (**Corbière Morot-Bizot, 2006**).

2. Taxonomie

Il existe **45 espèces commensales** de l'homme et des animaux présentes sur la peau et les muqueuses dont la bactérie la plus dominée dans les pathologies infectieuses est *S. aureus* (staphylocoque doré) (**Tableau 1**).

Le groupe des staphylocoque à coagulase positive (SCP) est constitué de 7 espèces identifiées à *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus delphini*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus lutrae*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus schleiferi*. Celles-ci peuvent être impliquées dans des infections humaines (**Avril et al., 2000**).

Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont divisés en trois groupes suivant leur sensibilité à la novobiocine et à leur activité oxydasique, parmi les SCN on trouve quelques espèces pathogènes opportunistes pour l'homme et les mammifères, telles que *S.*

caprae, *S. epidermidis*, *S. hominis* et *S. saprophyticus*. Depuis la découverte de l'implication de certaines espèces de SCN dans les infections humaines, l'identification des membres de ce groupe des SCN présente un intérêt majeur (**Morot-Bizot, 2006**).

La classification hiérarchique du Phylum XIII (Firmicutes) est basée sur l'analyse phylogénétique de l'ADN/ ARN 16S (**Garrity et al., 2007**).

Domaine: *Bacteria*

Phylum XIII: *Firmicute*

Classe: *Bacilli*

Ordre : *Bacillale*

Famille: *Staphylococcaceae*

Genre : *Staphylococcus*

Tableau 1: Présentation des espèces du genre *Staphylococcus* (Bes et Brun, 2002).

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

3. Caractères bactériologiques

3.1. Caractères morphologiques

A partir des tests biochimiques et la forme des colonies, le genre *Staphylococcus* peuvent être identifiés. Les *Staphylococcus* sont des cocci à Gram positive sphériques de 0,5 à 2,5µm (**Figure 6**) (**Trouillet, 2011**), la catalase positive, oxydase négative, toujours immobiles. Le GC % est de 30 à 39 %. Les *Staphylococcus* sont occasionnellement pathogènes, souvent en amas ou en grappe et peuvent être capsulés (**Joffin, 2006**).

Les staphylocoques sont généralement différenciés en deux groupes sur la base de leurs capacités à produire une coagulase libre, les staphylocoques à coagulase positive (*Staphylococcus aureus*) ont un pouvoir pathogène bien démontré par rapport au groupe des staphylocoques à coagulase négative qui sont considérés comme pas ou peu pathogènes (**Nauciel et Vildé, 2005**).

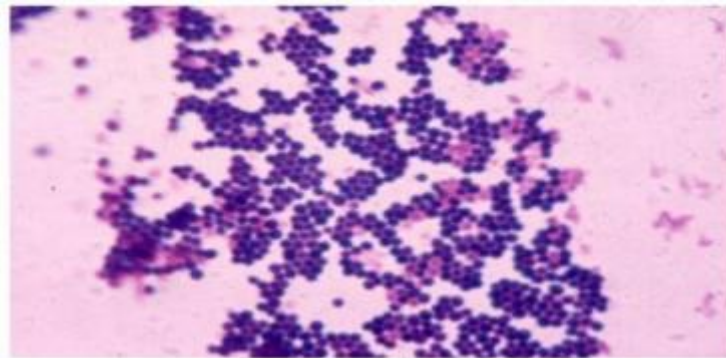


Figure 6 : Observation de *Staphylococcus aureus* après coloration de Gram (**Howden et al., 2010**).

3.2. Caractères cultureux

Les saphylocoques se développent en aérobiose ou en anaérobiose sur la plupart des milieux usuels. Certaines souches nécessitent cependant une forte pression en CO_2 pour une croissance optimale ainsi que la présence d'autres métabolites tels que l'hémine ou la ménadione. La température optimale de croissance est de 30°C à 45°C avec un optimum à 37°C et le pH varie entre 4,8 à 9,4 avec un optimum à 7,5 (**Spicer, 2003**).

Sur gélose nutritive: Les colonies sont arrondies, bombées, luisantes et opaques, à contours nets, pigmentées après 24 à 36 heures pouvant alors présenter une coloration jaune doré parfois jaune citrin par *S.aureus* (par opposition aux autres staphylocoques dits "blancs").

En bouillon nutritif: après 24 heures il donne un trouble uniforme abondant, puis un dépôt d'un voile pelliculaire en surface (**Boukera Abbaci et Daoudi, 2019**).

En milieu de chapman : est un milieu sélectif pour les staphylocoques, il ne laisse croître au bout de 24 à 48 heures que les staphylocoques, germes halophiles qui tolèrent des concentrations élevées de NaCl jusqu'à 7,5% (qui inhibe pour cette raison la plupart des autres germes), ce milieu sélectif rendu différentiel par l'addition de Mannitol à 1% et d'un indicateur d'acidité, le rouge de phénol permet à la fois d'isoler le staphylocoque à partir d'un prélèvement contenant un mélange de germes *S. aureus* ou un *S. epidermidis* (**Kloos et al., 1990**).

3.3. Caractères biochimiques

Les caractères biochimiques des staphylocoques permettent non seulement d'identifier le genre *Staphylococcus*, mais aussi de distinguer un staphylocoque potentiellement pathogène tel: *S. aureus* et d'une souche saprophyte tel: *S. epidermidis* et *S. saprophyticus*.

Caractères utiles pour l'identification du genre *Staphylococcus* sont :

- a- Catalase** toujours positive (+) et l'**Oxydase** négative (-).
- b- Coagulase** positive pour les *S.aureus*, et négative pour les autres.
- c- Arginine-dihydrolase (ADH)** : cette recherche est réalisée en anaérobiose sur bouillon de Moeller+Arginine, donne un résultat positif en moins de 96 heures pour les souches appartenant au genre *Staphylococcus*.
- d- Fermentation de nombreux hydrates de carbone** : le glucose, le saccharose et le glycérol...etc sont fermentés, le xylose n'est jamais fermenté.
- e- Recherche de la staphylocoagulase libre** produite en 24h. Elle est capable in vitro de coaguler le plasma du lapin.
- f- Recherche désoxyribonucléase** : c'est une diastase sécrétée par un certain nombre d'espèces microbiennes (levures, moisissures) et en particulier par les staphylocoques pathogènes (**Weckman et Catlin, 1957; Fusillo et Weiss, 1959**).

g- Recherche d'un phosphatase-acide : la phosphatase acide de *S.aureus* est un critère de pouvoir pathogène discuté, utilisé parfois en bactériologie alimentaire.

h- Fermentation du mannitol : cette fermentation est un test clé pour une orientation vers *S.aureus* (Kridech et Ben Blidia, 2016).

4. Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène se définit comme l'aptitude de ce germe (*Staphylococcus*) à provoquer des troubles dans un organisme, soit par virulence, soit par toxinogénèse, soit l'association de ces deux mécanismes (Grunfeld, 1994).

Les staphylocoques sont responsables d'une pléthore de problèmes médicaux, comprenant les infections cutanées des tissus mous, les infections des sites opératoires, ainsi que les endocardites et les septicémies acquises à l'hôpital. Un nombre croissant d'infections sont liées à l'évolution des pratiques médicales par utilisation des dispositifs médicaux implantés ainsi les immunosuppresseurs (Klein et al., 2007).

En plus des infections aiguës, *S. aureus* peut provoquer des infections chroniques. La plupart d'entre elles sont dues à la capacité de ce pathogène à adhérer sur les implants médicaux temporaires (ex: cathéters) ou permanents (ex: prothèses orthopédiques, valves cardiaques) et à former un biofilm (Bernard, 2006; Harris et Richards, 2006).

**MATERIEL ET
METHODES**

Matériel et méthodes

1. Lieu d'étude

Cette étude a été réalisée au niveau de Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agro-alimentaire, au Biomédical et l'Environnement (LAMAABE) de l'Université Abou-Bekr Bekaid-Tlemcen.

2. Origine des souches bactériennes

Cette étude a porté sur cinq souches médicale isolées des dispositifs cardiaques implantables (DCI) par **Meziani (2022) (Annexe 1)**, chez des patients hospitalisés cliniquement diagnostiqués avec une infection post opératoire, ou une endocardite infectieuse et ayant subi un retrait de leur dispositif cardiaque, Celle-ci était effectuée dans 4 unités de cardiologie de différents hôpitaux de l'ouest algérien.

3. Matériel

- Bec bunsen
- Etuve
- Vortex
- Boites pétri
- Ecouvillons
- Anse de platine
- Pipettes pasteurs
- Micropipette
- Tubes à essais
- Lames
- Embouts
- Eppendorfs
- Pince
- Microplaques
- Microscope optique
- Microscope électronique à balayage environnemental

3.1 Les milieux de cultures

- **Milieux de culture liquide**

Bouillon cœur cervelle (BHIB), dissoudre la poudre déshydratée dans l'eau distillée par la chaleur (37 g dans 1000 mL de l'eau distillée), vider dans des tubes à vis et stériliser à l'autoclave.

- **Milieux de culture solide**

Gélose chapman : est un milieu sélectif pour les bactéries Gram positive surtout permettant la croissance des germes halophiles, la forte concentration en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des bactéries autres que les staphylocoques (BIO-RAD, 2007). (Annexe2).

Gélose nutritive : est un milieu gélosé qui permet la culture de presque la totalité des microorganismes, dans cette étude on l'avons utilisé pour la technique de dénombrement. (Annexe 2).

3.2. Les produits chimiques

- Bleu de méthylène
- Violet de gentiane
- Fuchsine
- Lugol
- Alcool
- Huile à immersion

4. L'enrichissement

L'enrichissement de nos cultures bactérienne a été réalisé en mettant les souches conservées isolées des (DCI) dans des tubes contenant du bouillon (BHIB) à l'aide d'une pipette pasteur stérile et laisser incubé pendant 24- 48 h à 37°C. (Annexe 1).

5. Purification

Après incubation, il a été procédé à la purification des colonies bactériennes par isolement sur milieu de culture chapman plusieurs fois afin d'obtention des souches jeunes et

pures pour entamer l'identification. Les colonies sont repérées selon leurs aspects et leurs morphologies. (**Annexe 1**).

6. Identification

L'identification consiste à mettre en évidence quelques caractères importants, comporte une série d'étapes: morphologie des colonies, coloration de Gram, recherche de l'oxydase et de la catalase. Qui permettront de classer le germe isolé dans une famille, genre et espèce (**Roland, 2006**).

6.1. Caractère microscopique

Consiste à l'étude de la mobilité et la coloration au bleu de méthylène et de Gram

- **Coloration au bleu de méthylène**

C'est une coloration simple et rapide qui permet d'apprécier la morphologie des bactéries.

- **Coloration de Gram**

La coloration de Gram est effectuée à partir de colonies cultivées sur milieu de chapman, dans le but de classer les bactéries selon le type de leur paroi bactérienne et confirmer le mode de regroupement, la forme et la taille des bactéries.

Technique

- Réaliser un frottis sur lame.
- Verser quelques gouttes de violet de gentiane et attendre 1 minute.
- Rincer la lame par l'eau distillée.
- Déposer quelques gouttes de Lugol sur le frottis, laisser agir 1 minute.
- Rincer brièvement à l'eau distillée.
- Décolorer pendant 10 secondes à l'alcool.
- Rincer immédiatement à l'eau distillée.
- Verser la fuchsine sur lame et laisser agir 1 minute.
- Rincer par l'eau distillée.
- Sécher la lame en la tamponnant avec du papier Joseph.

- Observer au microscope à grossissement $\times 100$ avec une goutte d'huile à immersion.

6.2. Caractère macroscopique

Consiste à étudier les caractères visibles à l'œil nu: la couleur, pigmentation, la forme, l'aspect de surface, l'aspect des bords de colonies, la consistance des colonies.

6.3. Recherche de la catalase

La catalase est une enzyme présente dans la plupart des bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatives également les souches de staphylocoques. Elle décompose l'eau oxygénée formée en eau et en oxygène qui se dégage. Sur une lame en verre bien nettoyée, on dépose une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes, puis on émulsionne un peu de la colonie suspecte ou de la culture obtenue sur gélose. Le dégagement d'oxygène se traduit par effervescence qui est un résultat positif visible à l'œil nu, l'absence d'effervescence est un résultat négatif (**Delarras, 2014**).

6.4. Test d'oxydase

Sur des lames contenant des disques d'oxydase imprégnés avec une goutte d'eau distillée, prélever une colonie et déposée sur le disque. L'apparition d'une couleur violette pendant 30 secondes indique que la souche est possède oxydase positive. Les souches montrant une réaction négative ont été sélectionnées.

7. Conservation des souches

Après préculture: Les souches identifiées sont conservées dans des eppendorfs stériles dans un bouillon nutritif à 50% (v/v) glycérol, (mélanger 500 μ L de suspension bactériennes avec 500 μ L de glycérol stérile) à -20°C . (**Annexe 1**). Ce dernier étant recommandé pour une bonne conservation à long terme des souches bactériennes.

8. Détection de la production de biofilm par la méthode de plaque de culture de tissus

La méthode de plaque de culture tissulaire (TCP) décrite par **O'Toole et al. (2000)**, permet une évaluation quantitative de la formation de biofilm (**Bellifa, 2014**).

La capacité de la formation de biofilm est testée par la méthode de cristal violet sur microplaque à 96 puits.

Technique

Les bactéries ont été cultivées en milieu (BHIB) et incubées toute une nuit à 37°C. Chaque culture jeune est ajustée pour l'obtention de 10⁸UFC/mL et diluée au 1/100 ème dans le même milieu (BHIB). Chaque puits de microplaque est rempli avec 150µL de cette dilution. Les microplaques sont recouvertes, scellées stérilement et incubées pendant 24 h à 37°C. Après incubation, les puits des microplaques sont vidés, rincés 3 fois avec 200µL d'eau distillée, séchées en position inversée sur papier et colorées avec 200µL de cristal violet à 0,5% (p : v). Après 30min, l'excès du cristal violet est éliminé par 3 lavages successifs avec l'eau distillée stérile. Le colorant incorporé par les cellules ayant adhéré ou ayant formé un biofilm est solubilisé avec 200µL d'éthanol à 95 % (v/v). La quantité de cristal violet solubilisé est mesurée par la lecture de la DO à 570nm dans un lecteur ELISA AutoReader.

La classification des résultats obtenus présente sur la base du DO témoin des souches sont classées selon **tableau 2** comme suit :

Tableau 2 : Classification de l'adhésion bactérienne par la méthode TCP selon **Mathur et al. (2006)**.

Valeurs DO	Adhérences	Formation de biofilm
<0.120	non adhérente	non formatrice
0.120- 0.240	faiblement adhérente	faiblement formatrice
>0.240	fortement adhérente	fortement formatrice

9. Adhésion bactérienne sur différents biomatériaux de dispositif cardiaque implantable

9.1. Préparation des supports

Les surfaces solides choisies pour cette étude sont: la sonde en silicone, la connectine en silicone et le boîtier en titane. Avant chaque expérience, le substrat est trempé pendant 15 min

dans l'éthanol, rincé six fois avec de l'eau distillée puis stérilisé par autoclavage pendant 15min à 120°C (Hamadi et al., 2009).

9.2. Adhésion bactérienne sur trois supports (sonde, connectine, boîtier)

Des coupes de 1cm² de chaque'un des supports choisis (sonde, connectine) sont introduites dans des tubes contenant 5mL d'une suspension bactérienne ajustée entre 0.08 et 0.1 à une DO_{600nm} d'une part, et d'autre part un carré de 1cm² de surface est dessiné sur le boîtier afin de bien limiter la zone d'adhésion(Annexe 1), puis une goutte de la suspension bactérienne est déposée sur ce dernier, l'ensemble est mis en incubation à 37°C pendant 24h. Les supports sont récupérés, lavés abondamment à l'eau distillée stérile, puis placés dans 5mL de PBS (pH 7,1). La sonication est effectuée 3 fois à l'aide de l'ultrason model Wise Clean WUC-D06H pendant 5min intercalée par un passage de 20 sec au vortex (Meziani, 2022).

Le détachement de biofilm est assuré par un fort écouvillonnage de la surface du boîtier. L'écouvillon est mis tout de suite après dans un tube contenant 10 mL d'eau physiologique stérile puis vortexer pendant 2 minutes afin de libérer au maximum les bactéries attachées à l'écouvillon.

Une série de dilutions au 1/10 jusqu'au 1/100000 est effectuée pour chaque échantillon, puis ensemencée sur gélose nutritive. Le dénombrement des colonies est réalisé après 5 jours d'incubation à 22°C (Morghad, 2022).

Dans le cas général on prend en compte les boites contenant entre 15 et 300 colonies.

Si 1 seule boite est exploitable :

$$C_N(\text{cellules ;suspension}) = \frac{\text{Nombre d'UFC comptées}}{V \text{ d'inoculum déposé}} \times Fd$$

C_N : concentration en nombres des cellules dans la suspension.

V : volume d'inoculum ensemencé sur une boite.

Fd : facteur de dilution.

Si 2 boites sont exploitables :

$$C_N(\text{cellules ;suspension}) = \frac{\text{Somme des UFC comptées sur les 2 boites}}{1,1 \times V \text{ d'inoculum déposé}} \times Fd \text{ (le moins fort)}$$

10.Observation de l'adhésion des staphylocoques par microscope électronique à balayage environnemental

L'adhésion bactérienne sur la sonde, est appréciée sous microscope électronique à balayage environnemental (MEBE). L'échantillon (sonde) est mis en contact avec une suspension bactérienne de 10^8 UFC/mL de *Staphylococcus epidermidis* ajustée à une DO_{600} et incubés à 37 °C pendant 72h, puis observés au microscope électronique à balayage du type Hitachi TM1000.

RESULTATS ET DISCUSSION

Résultats et discussion

1. Evaluation des infections bactériennes sur dispositif cardiaque implantable

Les infections des dispositifs cardiaques implantables (DCI) sont des infections potentiellement mortelles qui surviennent suite à leurs implantations (**Sohail et al., 2007 ; Tarakji et al., 2010**).

Dans les années 1990, le taux global des infections après implantation des DCI retrouvé a énormément varié de 0,13% à 19,9% selon **Kearney (1994)**, et estimé de 0,13% à 20% selon (**Baddour et al., 2010 ; Voigt et al., 2010**).

Selon **Meziani (2022)**, l'incidence était de 5,4% chez les 17 patients infectés, un taux qui semble assez élevé si on le compare à d'autres études telles l'étude de **Klug** et son équipe (**2007**) en France où l'incidence des complications infectieuses était seulement de 0,68%.

Les facteurs prédisposant à l'infection après implantation des DCI étaient le diabète, l'existence d'un cancer, le traitement au long cours par corticostéroïdes ou par anticoagulants, l'existence d'un hématome postopératoire, l'inexpérience de l'opérateur et une réintervention pour un changement de boîtier (**Bluhm, 1985**).

Dans notre étude, nos souches ciblées pour l'étude étaient isolées par **Meziani** en **2020** à partir des patients diabétiques ou l'âge moyen était compris entre 60 et 75 ans, dont la majorité sont des hommes, tous les patients étaient sous antibiothérapie le jour de la suppression de leurs dispositif cardiaque. L'incidence des infections lors d'une primo-implantation est souvent plus élevée que celle d'un changement de boîtier.

Effectivement lors de la primo-implantation, le risque d'infection est généralement supérieur en raison de la durée prolongée de l'intervention chirurgicale et de l'exposition accrue de la plaie aux germes. En comparaison, un simple changement de boîtier est une procédure moins invasive et plus rapide, réduisant ainsi le temps de vulnérabilité aux infections. De plus, l'environnement hospitalier peut abriter des germes pathogènes multirésistants, augmentant le risque d'infections pour de nouvelles implantations. Pour minimiser ces risques, il est essentiel de suivre des protocoles rigoureux de stérilité et de soins postopératoires.

2. Fréquences des souches de staphylocoques sur dispositif cardiaque implantable

Sur le milieu de chapman, les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été prélevées, le développement bactérien sur le même milieu ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries comme les entérocoques peuvent y cultiver. Sur ce milieu, les colonies *Staphylococcus* sont apparues souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, si non les colonies sont de couleur blanche arrondies à bords régulier de 1 à 2 mm de diamètre après 48h d'incubation à 37°C (**Figure 7**).

Nos résultats sont similaires avec ceux obtenus par **Dennist et al. (2011)** qui ont montré que la présence de colonies blanchâtres ou jaunâtres sur le milieu de culture chapman, indique la présence du genre *Staphylococcus*.

En raison de leur caractère halophile, ces germes ont la capacité à se développer dans des milieux sélectifs tels que le milieu chapman contenant une teneur élevée en sels (7,5% de NaCl) (**Morgene, 2018**).

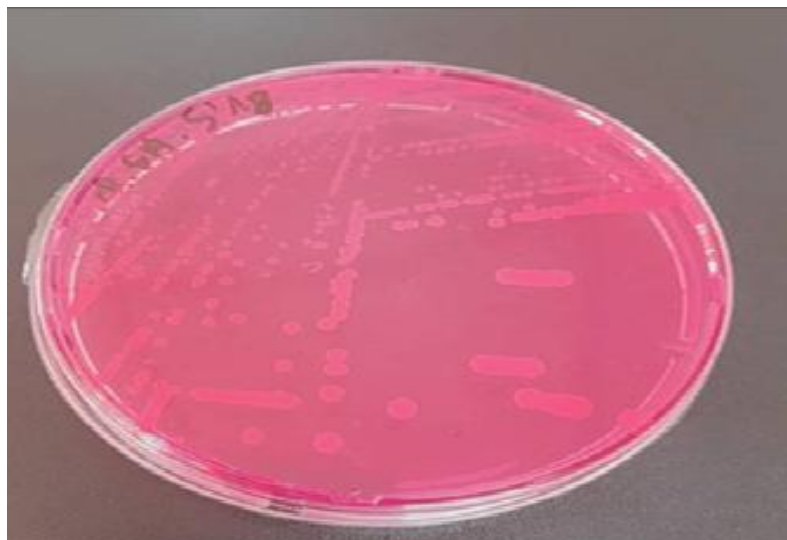


Figure 7: Aspect de *Staphylococcus epidermidis* sur gélose chapman.

Après coloration de Gram, nos bactéries apparaissent sous forme de coques de couleur violette, isolées ou groupées en diplocoques ou en amas ayant un mode de regroupement de grappes de raisin, de 0,5 à 1 micromètre de diamètre (**Figure 8**).

La couleur violette est due à l'épaisseur et à la richesse de la paroi en peptidoglycane, les classant ainsi dans le groupe des bactéries à Gram positive (**Morgene, 2018**).

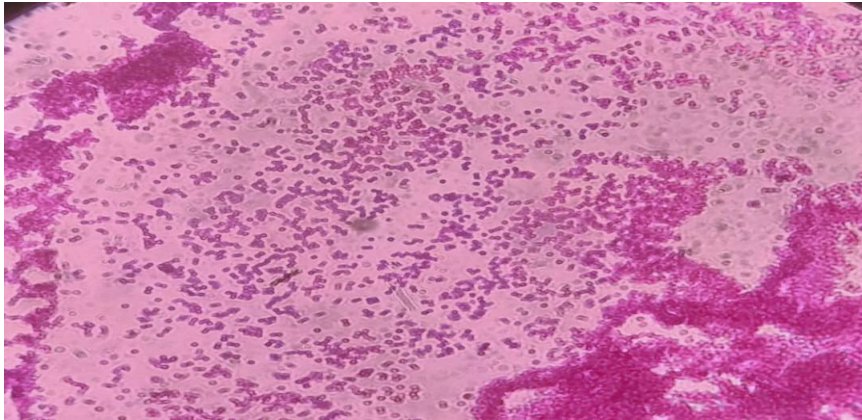


Figure 8 : Observation microscopique des staphylocoques après une coloration de gram

(X 100)

Les staphylocoques sont généralement oxydase négative, ce qui signifie qu'ils ne possèdent pas cette enzyme. Tandis que le mélange eau oxygénée (H_2O_2) suspension bactérienne résulte l'apparition de bulles d'oxygène ce qui traduit la présence d'une catalase positive.

Les résultats obtenus après l'identification ont montré que la majorité des souches sont des *Staphylococcus epidermidis* (**Tableau 3**).

Reffuveille en **2017** avait montré que les infections associées aux biofilms représentent 80% des infections nosocomiales et *S.epidermidis* est l'un des agents pathogènes responsables à ces infections.

Selon **Bluhm (1985)** les infections sur les DCI sont habituellement polymicrobienne, et les *S. epidermidis* était le principal agent, elle constitue une partie significative de la flore bactérienne normale de la peau et des muqueuses humaines. Elle est probablement introduite comme contaminant lors de l'implantation chirurgicale du dispositif (**Otto, 2008**).

Tableau 3 : Souches isolées des patients étudiés

Patient	Les souches	Matériel
P10	P'10 : <i>Staphylococcus hominis</i>	Boitier
	S'10 : <i>Staphylococcus wernerii</i>	Sonde
P11	S'11 : <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sonde
P17	P'17 : <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Boitier
	S'17 : <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Sonde

3. Etude de la formation de biofilm sur dispositif cardiaque implantable

Les résultats obtenus ont permis de mettre en évidence la capacité de toutes les souches isolées à former des biofilms en microplaques à 96 puits après culture en bouillon nutritive (BN). Toutefois, et sur la base des intensités de la coloration au CV, les cinq souches sélectionnées pour l'étude sont faiblement productrices de biofilm quel que soit le support (sonde, boitier) avec des valeurs de DO_{570} entre 0,120 et 0,240 présentant ainsi un facteur de risque non négligeable.

Selon **Meziani (2022)**, les bactéries à Gram positive également les *Staphylococcus* sont moyennement ou non formatrices de biofilm, et cela indépendamment des supports.

La technique TCP est signalée comme la méthode de dépistage la plus sensible, la plus précise et la plus reproductible pour la détermination de la production de biofilm par les isolats cliniques (**Oli et al., 2012**).

Il est reconnu dans la littérature que les protéines de surface des bactéries interviennent dans l'adhésion aux supports solides, notamment les surfaces métalliques. **Pradier et ses collaborateurs, (2015)** ont montré que les bactéries à Gram négative dont la surface est riche en protéines adhèrent le plus à l'acier, mais aussi au verre et au téflon en quantité deux fois plus élevée que les souches à Gram positive.

4. Adhésion bactérienne sur dispositif cardiaque implantable

La formation de biofilm peut être influencée par un facteur important qui est la nature de dispositif lui-même et sa composition chimique.

De plus, une surface irrégulière du dispositif favoriserait l'adhérence des microbes plus qu'une surface lisse.

Dans notre étude nous avons étudié l'adhésion de *Staphylococcus epidermidis* S'18 sur trois supports qui composent le dispositif cardiaque implantable : boîtier (titane), sonde (silicone) et connectine (silicone).

Selon **Bartlet et al. (2018)** les surfaces en titane montrent une certaine capacité à réduire l'adhésion bactérienne, mais il y a peu de recherche sur la façon dont les surfaces super hydrophobes comme le titane ont une incidence sur l'adhérence bactérienne.

Nos résultats montrent une adhésion plus importante sur la sonde (silicone) suivi de près par la connectine de même composition, et du boîtier formé de titane avec une faible adhésion (**Figure 9**).

Meziani (2022) a récemment montré que *S. epidermidis* adhère mieux sur sonde de pacemaker par rapport aux autres constituants du DCI.

En parallèle les résultats réalisés par **Baddour et al. (2010)** montrent que l'adhésion microbienne aux biomatériaux se produit comme suit: Le chlorure de polyvinyle (PVC) favorise plus l'adhérence que le Téflon, polyéthylène plus de polyuréthane, silicone plus de polytétrafluoroéthylène, et le latex plus que le silicone. Certains métaux (par exemple, l'acier inoxydable) favorisent l'adhérence plus que d'autres (par exemple, titane).

La composition chimique de chaque support semblait également jouer un rôle dans la formation du biofilm, avec des différences notables dans la distribution des espèces bactériennes et la quantité de matrice extracellulaire produite.

Selon **Darouiche (2001)** les facteurs liés aux dispositifs médicaux tels que le type de polymère plastique, l'irrégularité de sa surface et de sa forme peut stimuler l'adhérence des bactéries au dispositif.

Afin de confirmer le résultat de l'adhésion de *Staphylococcus epidermidis* sur sonde (silicone) nous avons essayé de former un biofilm de 24h et d'essayer le visualiser par microscopie électronique de type environnemental Hitachi TM1000.

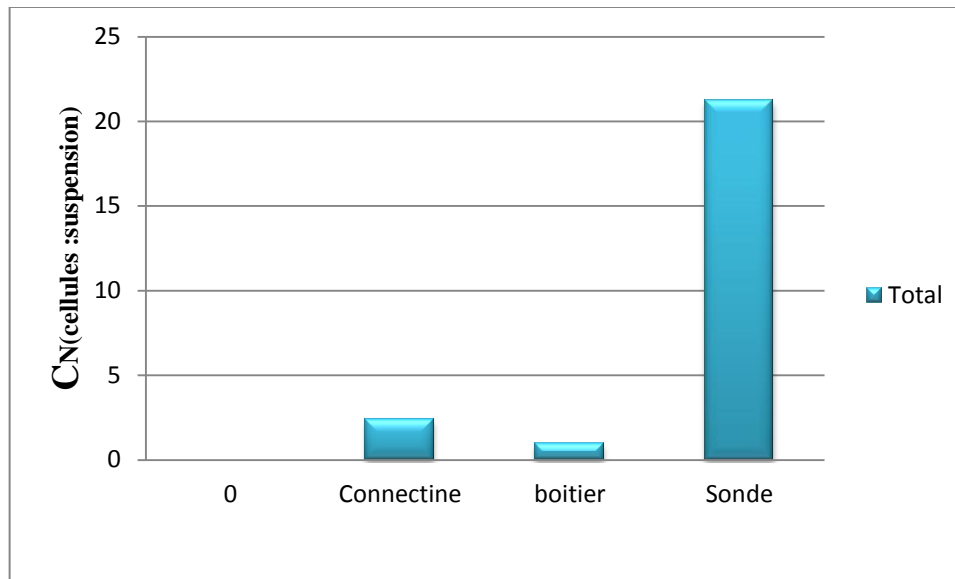


Figure 9 : La capacité d'adhésion de *Staphylococcus epidermidis* sur boitier, sonde et connectine après 24 h d'incubation.

La **Figure 10** est un exemple de photographie obtenue par microscopie électronique qui nous montre la présence du biofilm sur sonde composée de silicone.

Les structures bactériennes sont distinctes et regroupées sous forme de crevasses semblant avoir une accumulation massive d'un biofilm de *S. epidermidis*, ce qui correspond probablement à l'étape d'adhésion irréversible.

Grâce à des images de microscopie électronique à balayage **Marrie et al. (1982)** a révélé que les souches de *Staphylococcus aureus* adhéraient bien sur la sonde de pacemaker.

L'hôte peut contribuer de manière significative à l'adhérence des infections liées aux dispositifs médicaux, en particulier avec les staphylocoques. Plusieurs récepteurs spécifiques sur la surface de la cellule, appelés adhésines, se lient aux molécules hôtes (par exemple, protéine/composants de glycoprotéine dans le plasma ou des plaquettes ou des composants de l'hôte extracellulaire matrice) (**Hall-Stoodley et al., 2004**).

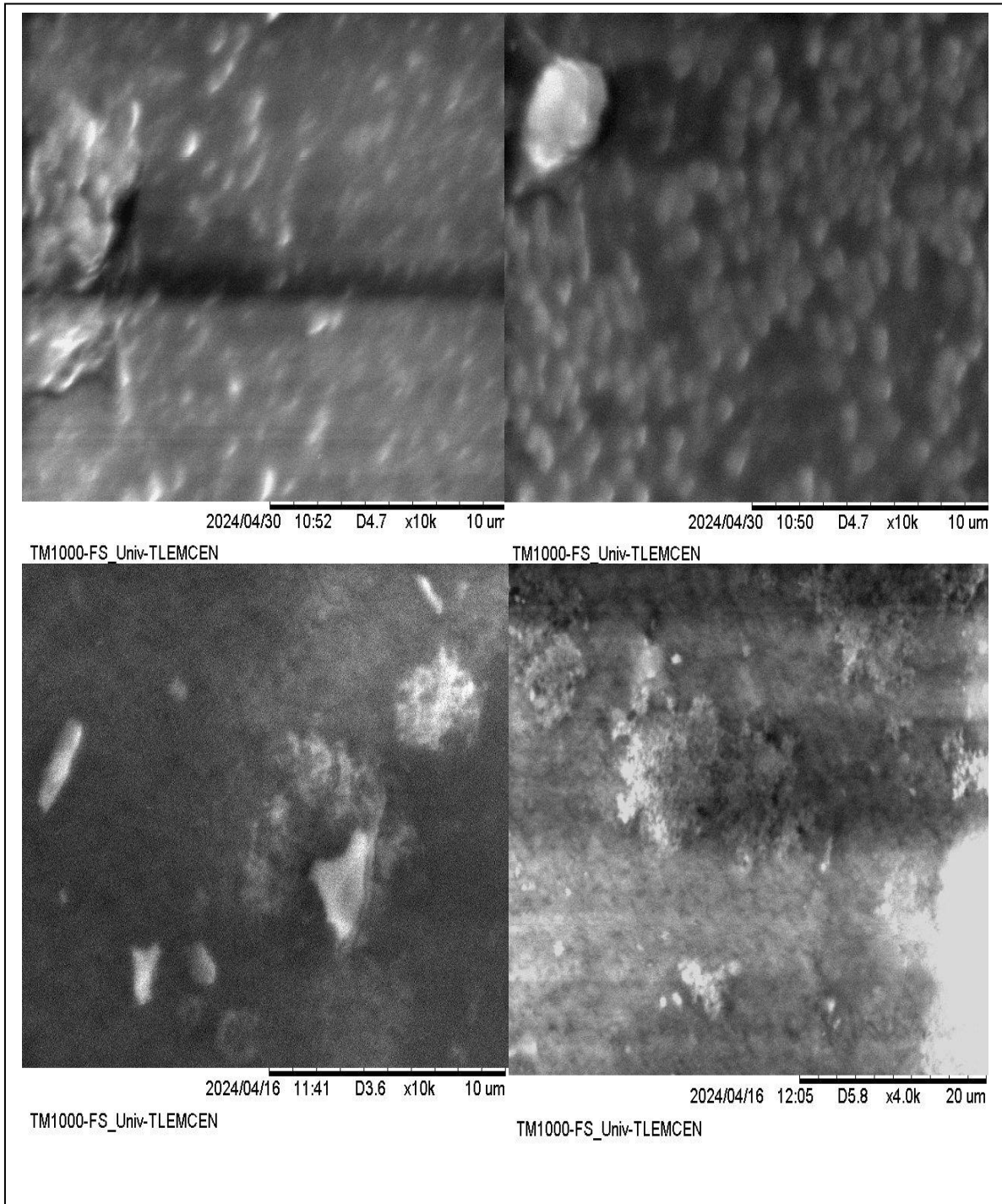


Figure 10 : Observation au MEBE d'un biofilm de *Staphylococcus epidermidis* sur sonde.

CONCLUSION

Conclusion

Les infections bactériennes sur dispositifs cardiaques implantables (DCI) sont la cause majeure de la morbidité et de la mortalité en milieu hospitalier également en cardiologie dont la majorité peut être due aux staphylocoques. L'importance médicale de ces espèces bactériennes est leurs capacités à provoquer de nombreux types d'infections sur ce genre de dispositifs chez l'homme qu'est dues au développement de biofilm, constituent actuellement un vrai problème de santé publique.

Divers facteurs prédisposant à l'infection des DCI sont, l'âge avancé, le diabète, le cancer, l'immunodépression en raison de multiples causes et maladies sous-jacentes, et l'expérience de l'opérateur.

Cette étude vit à d'écrire les preuves scientifiques sur le risque d'infection et de la formation de biofilm associée au DCI des bactéries gram positive isolées à partir des patients cliniquement diagnostiqués avec une infection de leurs DCI, et à déterminer la capacité d'adhésion de la souche: *Staphylococcus epidermidis* sur trois support du DCI.

Le biofilm est en effet un sujet intéressant et important, notamment en ce qui concerne les dispositifs cardiaques implantables, lorsqu'il est présent sur ce genre de dispositifs, et entraîne des infections difficiles à traiter. Les résultats obtenus dans notre étude montrent que les cinq souches isolées sont faiblement productrices des biofilms, indépendamment du support facteur de risque non négligeable.

Les images de microscopie électronique environnemental à balayage (MEBE) confirme une colonisation de la sonde par la souche de *S. epidermidis* .

En perspectives, il serait intéressant de pouvoir approfondir nos recherches sur la formation de biofilm de *S. epidermidis* qui est largement isolées sur les dispositifs cardiaques implantables.

Il est intéressant de respecter strictement les règles d'hygiène des mains, et une application des procédures de désinfection des équipements d'opérations, la prescription réfléchi des antibiotiques et la surveillance continue de la résistance de ces souches afin d'optimiser le traitement, la réduction de la durée d'implantation du dispositif cardiaques et trouver de nouvelles matières des DCI comme l'acier inoxydable pour inhiber l'adhésion de biofilm et réduire le risque d'infection.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHYQUES

Références bibliographiques

A

Aguanno D. (2020). Modulation De la fonction De barriere Intestinale Et des Jonctions Serrees Par les N- Acyl homoserine Lactones Et Molecules. Du Quorum Sensing Bacterien. *Thèse de Doctorat : Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique*. Sorbonne : Sorbonne Université, Ecole doctorale 394, Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique. 181 P.

An Y.H., Friedman R.J. (1998). Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterial surfaces. *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)*. 43: 338-348.

Asther M., Bellon-Fontaine M.N., Capdevila C. et Corrieu G. (1990). A thermodynamic model to predict phanerochaete chrysosporium INA-12 to various solid carriers in relation to lignin peroxydase. *Biotechnol. Bioeng.* 35, 477 – 482.

Avril J.L., Dabernat H., Denis F., Monteil H. (2000). Bactériologie clinique. *Ellipses Edition Marketing*.

Ayé AM. (2015). Mise En Evidence Du Systeme De Communication qourum Sensing Impliquant Les AHLs Chez Des Bactéries Marines Isolées De La Méditerranée. *Thèse de Doctorat : Microbiologie / Biochimie*. Université De Toulon. 245P.

B

Baddour L.M., Epstein A.E., Erickson C.C., Knight B.P., Levison M.E., et al. (2010). Update on cardiovascular implantable electronic device infections and their management: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*.121:458-77.

Badinaud P., Escande W., Lascault G., Piot O., Copie X., Paziaud O. (2020). Comment contrôler un défibrillateur cardiaque en pratique. *Réalités cardiologiques*.

Baptiste C. (2021). Un stimulateur cardiaque : pour qui ? pour quoi ? *Rythmopole*. Paris.

Bars C., Darondel M. J., Sebbah J., Jorrot P. (2014). La stimulation cardiaque – Evolution et perspectives en pratique clinique. *Institut Mutualiste Montsouris*. Paris.

Bartlet K., Movafaghi S., Dasi L.P., Kota A.K., Popat K.C. (2018). Antibacterial activity on superhydrophobic titania nanotube arrays. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 166: 179-186.

Bellifa S. (2014). Evaluation de la formation du biofilm des souches de *klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. *Thèse de doctorat*. Université de Tlemcen. 92 pages.

Bergon L. (2016). *S. capitis, S. capae et S. lugdunensis* : rôle dans les infections ostéo-articulaires et impact du biofilm sur la sensibilité aux antibiotiques. Université Toulous Paul Sabatier.

Bernard L. (2006). Mécanismes physiopathologiques des infections orthopédiques. *Rev Rhumatol*. 73 :327-331.

Bes M., Brun Y. (2002). *Staphylococcus*. Actualités taxonomiques et identification. *Rev Fr Lab*. 23-30.

BIO-RAD. (2007) Chapman - mannitol saït agar. www.afnor-validation.org

Bluhm G.L. (1985). Pacemaker infections. A 2-year follow-up of antibiotic prophylaxis. *Scand. J. Thorac. Cardiovasc. Surg*. 19 231–5.

Boukera Abbaci.Y, Daoudi. N. (2019). Etude du potentiel de formation du biofilm par les Staphylocoques isolés des infections animales et humaines. *Mémoire de fin d'étude deMmaster*. Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana. 1-107.

C

Camus C. (2008). Serious infections related to pacemaker and implantable cardioverter defibrillators. *Réanimation*. 17: 225-232.

Camus C., Donal E., Bodi S., Tattevin P. (2009). Pacemaker and implantable cardioverter defibrillator infections. *Médecine ET maladies infectieuses*. 40: 429–439.

Chibi A. (2015). Evaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* isolées de CHU Tlemcen. *Mémoire de Master : Biologie Moléculaire et Cellulaire*. Université Aboubekr Belkaid Tlemcen. 61 P.

Chua J.D., Wilkoff B.L., Lee I., Juratli N., Longworth D.L., Gordon S.M. (2000). Diagnosis and management of infections involving implantable electrophysiologic cardiac devices. *Ann Intern Med.* 133:604-8.

Corbière Morot-Bizot S. (2006). Les staphylocoques à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons. *Thèse de doctorat* : Université d'Auvergne, école doctorale des sciences de la vie et de la sante.133 P.

Costerton J.W. (1980). Introduction to biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 11:217-721.

Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 284:1318-22.

D

Dankert J., Hogt A.H., Feigen J. (1986). Biomedical polymers: bacterial adhesion, colonization and identification. *Crit. Rev. Biocompat.* 2, 219-301.

Darouiche RO. (2001). Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence. *Clin Infect Dis.* 33:1567–1572.

De Chalvet De Rochemonteix A. (2009). Thèse de Doctorat .Les biofilms et la peau. La faculté de médecine de Créteil.

Delahaye F., Gevigney G.D. (2019). Endocardites infectieuses : formes particulières (coeur droit, prothèse valvulaire, dispositif électronique intracardiaque). *Presse Med.* 48:549-555.

Delarras C, (2014). Pratiques en microbiologie de laboratoire. Lavoisier, France.

Derjaguin B.V., Landau L. (1941). Theory of the stability of strongly charged hydrophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Acta Physicochim URSS.* 14: 633 – 662.

Doberva M. (2016). Le Quorum Sensing Bactérien Dans l'environnement marin : Diversité Moléculaire et génétique des auto-indicteur. *Thèse de Doctorat : Ecologie Microbienne.* Sorbonne : Université Pierre Et Marie Curie, 179P.t Marie Curie. 179P.

Donlan R.M. (2002). Biofilms and device-associated infections. *Emerging infectious diseases.* 7(2):277.

Dumas C. (2007). Catalyse électro microbienne dans les piles à combustible. *Thèse de Doctorat*. Institut National polytechnique de Toulouse. 306 pages.

Duval X., Selton-Suty C., Alla F., Salvador Mazenq M., Bernard Y., Weber M., et al. (2004). Endocarditis in patients with a permanent pacemaker: a 1-year epidemiological survey on infective endocarditis due to valvular or pacemaker infection. *Clin Infect Dis.* 39: 68–74.

E

Elmqvist R., Senning A. (1959). An implantable pacemaker for the heart. in: Smyth Cn, ed. Proceedings of the second international Conference on Medical electronics. Paris, France, June 24-27, London, UK: Cliffe et sons; 1960:253-254.

Espinasse F., Page B., Cottard Boule B. (2010). Risques infectieux associés au dispositifs médicaux invasifs. *Francophore des laboratoires.* 426 :51-63.

F

Faille C., Dennin L., Bellon-Fontaine M.N., Bénézech T. (1999). Cleanability of stainless steel surfaces soiled by *Bacillus thuringiensis* spores under various flow conditions. *Biofouling.* 14 (2), 143-151.

Fany Reffuveille., Josse J., Vallé Q., Mongaret C., Sophie C., Gangloff. (2017). Les biofilms de *Staphylococcus aureus* et leur impact sur le domaine médical, la montée de la virulence et de la résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*, Shymaa Enany et Laura E. Crotty Alexander, IntechOpen, DOI : 10.5772 / 66380. Disponible sur : <https://www.intechopen.com/books/the-rise-of-virulence-and-antibiotic->.

Fletcher M. (1991). The physiological activity of bacteria attached to solid surfaces. *Adv. Microbiol Physiol.* 32: 53 – 85.

Fletcher M. (1996). Bacterial attachment in aquatic environments: a diversity of surfaces and adhesion strategies. In: *Bacterial Adhesion: Molecular and Ecological Diversity*, edited by M. Fletcher (Wiley-Liss, New York). p. 1.

Fusillo M.H., Weiss D.L. (1959). Qualitative estimation of staphylococcal deoxyribonuclease. *Journale Bactériol.* 37: 2- 520.

G

Galloway M., James T., Hodgkinson, et al. (2011). Quorum Sensing in Gram-Negative Bacteria: Small-Molecule Modulation of AHL and AI-2 Quorum Sensing Pathways. *Chemical Reviews*. 111.

Garrity G.M., Lilburn T.G., Cole J.R., Harrison S.H., Euzéby J. and Tindall B.J. (2007). Taxonomic Outline of the Bacteria and Archaea, Release 7.7 March 6,” Part 9- the Bacteria: Phylum” Firmicutes”: Class “Bacilli”: p 77.

Gibbon R.J., Van Houte J. (1980). Bacterial adherence and the formation of dental plaques. *In: Bacterial Adherence (Ed. E. Beachey) Chapman & Hall, New York, pp. 61-104.*

Goller C.C., Romeo T. (2008). Environmental influences on biofilm development. *Current Topics in Microbiology and Immunology*.322:37-66.

Grunfeld J.P. (1994). Dictionnaire de Médecine Flammarion. Médecine-Sciences.

H

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

Hamadi F., Latrache H., Mliji E., Mallouki B., Mabrouki M., Ellouali M. (2009). Adhésion de *staphylococcus aureus* au verre et au téflon Rev. Microbiol. Ind. San et Environn. 3: 1-16.

Harris L.G., Richards R.G. (2006). *Staphylococci* and implants surfaces. *A review Injury. Int. J. Care injured*. 37:3-14.

Holah J.T., Betts R.P., Thorpe R.H. (1989). The use of epifluorescence microscopy to determine surface hygiene. *International Biodeterioration*. 25:147–153.

Howden B.P., Davies J.K., Johnson P.D.R., Stinear T.P., Grayson M.L. (2010). Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin intermediate strains : Resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clinical Microbiology Reviews* ; 23(1) : 99 – 139.

Hygis N. (2010). Hygiène hospitalière.513.

I

Idir F. (2014). Criblage de souches de bactéries lactiques et pathogènes productrices de biofilms sur surfaces en plastique et effets antibactérien et antiadhésif des souches lactiques à l'égard des souches pathogènes. *Thèse Magister*. Université Abderrahmane MIRA de Beja.60 pages.

J

Jesaitis A.J., Franklin M.J., Berglund D., Sasaki M., Lord C.I., et al. (2003). Compromised host defense on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: characterization of neutrophil and biofilm interactions. *Journal Immunol.* 171:4329-39.

J-Noël Joffin. (2006). Systématique microbienne. *Staphylococcus (famille des Staphylococcaceae)* . 1-7.

Joy P.S., Kumar G., Poole J.E., London B., Oshansky B. (2017). Cardiac implantable electronic device infections: Who is at greatest risk? *Hear Rhythm.* 14 (06): 839-45.

K

Katsikogianni M., Missirlis Y.F. (2004). Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-materials interactions. *European Cells and Materials* .8: 37-57.

Kearney R.A., Eisen H.J., Wolf J.E. (1994). Nonvalvular infections of the cardiovascular system. *Ann Intern Med* ;121:219-30.

Kennouche N., Bounoua M. (2021). Etude et Conception des antennes PIFAs bi-bandes pour applications biomédicales. *Mémoire de Master*. Université de Mohamed El-Bachir El-Ibrahimi-Bordj Bou Arreridj. 58pages.

Klein E., Smith D.L., Laxminarayan R. (2007). Hospitalizations and deaths caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, United States, 1999–2005. *Emerging infectious diseases*13, 1840.

Kloos W.E., Veron M. (1990). Bactériologie Médicale «*Staphylococcus* et *Micrococcus*» J.Fleurette 2ème édition. *Flammarion Médecine-Sciences, Paris.* 773-794.

Klug D., Balde M., Pavin D., Hidden-Lucet F., Clementy J., et al. (2007). Risk factors related to infections of implanted pacemakers and cardioverter-defibrillators: results of a large prospective study. *Circulation*.116:1349-55.

Kridech H., Ben blidia A. (2016). Isolement et caractérisation des staphylocoques responsables des infections urinaires. *Mémoire de Master*. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem .1-53.

L

Lamret F., Colin M., Mongaret C., Reffuveille F. (2020). Acquisition par microscopie électronique à balayage de biofilm de *S. aureus* in vitro.

Landman C. (2017). Implications des N-acyl homosérine lactones, molécules du quorum sensing dans les maladies inflammatoires chroniques intestinales. *Microbiologie et Parasitologie* [en ligne]. Paris : Université Pierre et Marie Curie, 137P. Disponible sur : <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01807764>.

Lebeaux D., Ghigo J.M. (2012). Infections associées aux biofilms: quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale. *Med Sci (Paris)*. 28:727-39

Lebeaux D.1., Ghigo J.M., Lorthoalary O. (2014). Les infections aux dispositifs médicaux implantés, l'envers du progrès médical. *La Revue du praticien*. 64(5) ; 617-620.

Lebeaux D., Fernandez-Hidalgo N., Chauhan A., et al. (2014). Management of infections related to totally implantable venous access ports: challenges and perspectives. *Lancet Infect Dis*.14:146-59.

Lebeaux D., Lucet J.C., Barbier F.S. (2016). Nouvelles recommandations pour les infections associées au biofilm: implications en réanimation. *Réanimation médicale polyvalente, France*. 1 :10. DOI 10.1007/s13546-016-1182-7.

Lechevalier M.W., Babcock T.M. Lee R.G. (1987). Examination and characterization of distribution system biofilms. *Appt. Environ. Microbiol*. 53:2714-2724.

Leid J.G., Shirtliff M.E., Costerton J.W., Stoodley P. (2002). Human leukocytes adhere to, penetrate, and respond to *staphylococcus aureus* biofilms. *Infect Immun*. 70:6339-45.

Leroya B., Berrya J., Coursier S., Martelet S., Poulaina C., Bontemps H., Berthonnaud E. (2012). Audits de bon usage : les dispositifs médicaux implantables sont aussi concernés. *Annales Pharmaceutiques Françaises*. 70 : 298-305.

Lewis K. (2008). Multidrug tolerance of biofilm and persister cells. *Curr top Microbial Immunol*. 322:107-84.

M

Marshall K.C. (1992). Biofilms: an overview of bacterial adhesion, activity and control at surfaces, *Am. Soc. Microbiol. News*, 58: 202.

Marrie T.J., Nelligan J., Costerton J.W. (1982). A scanning and transmission electron microscopic study of an infected endocardial pacemaker lead. *Circulation*. 66:1339-41.

Martinez L. R., Casadevall A. (2007). *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on surface support and carbon source and reduces fungal cell susceptibility to heat, cold, and UV light. *Applied and environmental microbiology*. 73 (14):4592-4601.

Martin C. (2018). Société française d'anesthésie et de réanimation. Dispositifs implantables. *Gestion en préopératoire*. 1-11.

Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay D.J., Fatma T., Rattan A. (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of Staphylococci: An evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology* .24 (1):25-9.

Mebarki M. (2016). Traitement de biofilm bactérien par les molécules bioactives. *Mémoire de Master : Microbiologie Appliquée*. Tlemcen : Université de Tlemcen. 44P.

Meziani Z., Hassaine H., Belhachemi F. (2020). Infections of implantable cardiac devices by biofilm forming bacteria in western Algeria hospitals. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*. 21(4):290-303.

Meziani Z. (2022). Evaluation des infections bactériennes sur les dispositifs cardiaques implantables dans les hôpitaux de l'ouest Algérien .*Thèse de doctorat en Microbiologie appliquée et Moléculaire* . . Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen : P 28 .

Mion S., Rémy B., Plener L., et al. (2019). Quorum Sensing Et Quorum Quenching Comment Bloquer La Communication Des Bactéries Pour Inhiber Leur Virulence ? *Article En Médecine/Sciences*, 35, P31-8. <https://doi.org/10.1051/medsci/2018310>.

Mohamed Nour., Mastouri M., Ben M. (2005). Le staphylocoque doré résistant à la méticilline: émergence et bases moléculaires de la résistance Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus* : Emergence and Molecular Basis. *Pathologie Biologie* . 53 : 334-340.

Morgene M.F. (2018). Modélisation in vitro de la colonisation nasale à *staphylococcus aureus*, interactions avec l'infection à rhinovirus. *Thèse pour l'obtention du diplôme de doctorat en biologie moléculaire et cellulaire*. Université de Lyon :204 pages.

Morghad T. (2022). Evaluation de la contamination bactérienne et caractérisation de biofilms mixtes isolés de tubulures d'eau de dialyse CHU – Tlemcen. *Thèse de doctorat en Microbiologie*. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen : P 21,22.

Morot-Bizot S.C. (2006). Les staphylocoques à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons. *Thèse de Doctorat*. Université Blaise Pascal, France.

N

Nauciel C., Vildé, J.L. (2005). Bactériologie médicale. Elsevier Masson.

O

Oli M.W., Otoo H.N., Crowley P.J., Heim K.P., Nascimento M.M., et al. (2012). Functional amyloid formation by *Streptococcus mutans*. *Microbiol.* 158: 2903–2916.

Olsen T., Jorgensen O.D., Nielsen J.C., Thogersen A.M., Philbert B.T., Johansen J.B. (2019). Incidence of device related infection. *Eur Heart J.* 40(23): 1862-9.

Omar A., Wright J., Schultz G., Burrell,R., Nadworny P. (2017). Microbial Biofilms and Chronic Wounds. *Microorganisms* 5 (9). <https://doi.org/10.3390/microorganisms5010009>.

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

Otto M. (2008). Staphylococcal biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol.* 322:207-228.

P

Pradier C.M., Rubio C., Poleunis P., Bertrand P., Marcus P., Compère C. (2015). Surface Characterization of Three Marine Bacterial Strains by Fourier Transform IR, X-ray Photoelectron Spectroscopy, and Time-of-Flight Secondary-Ion Mass Spectrometry, Correlation with Adhesion on Stainless Steel Surfaces. *J Phys Chem B*. 109, 19, 9540–9549.

Polyzos K.A., Konstantelias A.A., Falagas M.E. (2015). Risk factors for cardiac implantable electronic device infection: A systematic review and meta-analysis. *Europace*. 17(05): 767-77.

R

Roland Achille Y.F. (2006). Profil antibiotypique des bactéries responsables d'infection urinaire communautaire. *Thèse de doctorat ES science en pharmacie*, Université de Bamako : p 39, 40 ,42,

Roux A., Ghigo J.M. (2006). Bacterial biofilms. *Communication*. 159(03): 261-268.

S

Sansonetti P. (2018). Infections chroniques et récurrentes. *Imperial collage*. London.

Scavée C. (2015). LE « LEADLESS » Pacemaker ou Pacemaker sans sonde. *Louvain Med*.134 (4): 161-165.

Sohail M.R.1., Uslan D.Z., Khan A.H., Friedman P.A., Hayes D.L., et al. (2007). Risk factor analysis of permanent pacemaker infection. *Clin Infect Dis*. 45:166-73.

Spormann A.M. (2008). Physiology of microbes in biofilms. In *Bacterial Biofilms*. Springer Berlin Heidelberg.17-36.

Spicer W. (2003). Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie Flammarion Médecine-Sciences (Paris).

T

Tarakji K.G., Chan E.J., Cantillon D.J. (2010). Cardiac implantable electronic device infections: Presentation, management, and patient outcomes. *Heart Rythm*. 7:1043–7.

Terki M. (2015). Formation de biofilms et sensibilité de *Candida sp.* Isolées du CHU de Tlemcen à l'amphotéricine B. *Mémoire de Master : Biochimie appliquée.* Université Aboubekr Belkaid Tlemcen. 28 P.

Trouillet S., (2011). Physiopathologie des infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*.

V

Van Houdt R., Michiel C.W. (2010). Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *J Appl Microbiol.* 109:1117-1131.

Verwey E.J.W., Overbeek J.Th.G. (1948). Theory of the stability of lyophobic colloids. *Dover Publications.* ISBN: 0486409295.

Voigt A., Shalaby A., Saba S. (2010). Continued rise in rates of cardiovascular implantable electronic device infections in the United States: temporal trends and causative insights. *Pacing Clin Electrophysiol.* 33: 414–419.

W

Weckman B.G., Catlin B.W. (1957). Deoxyribonuclease activity of micrococci from clinical sources. *Journal of bacteriology.* 73-747.

Y

Yannick Tremblay D.N., Hathroubi S., Jacques M. (2014). Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *The Canadian Journal of Veterinary Research.* 78(2): 110–116 French.

Z

Zimmerli W., Widmer A. F., Blatter M., Frei R., Ochsner P.E. (1998). Role of rifampin for treatment of orthopedic implant related staphylococcal infections: a randomized controlled trial. *Foreign-Body Infection (FBI) Study Group. JAMA.* 279:1537-41.

Zobell C.E. (1943). The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *J. Bactriole.* 46 : 39-56.

Annexes

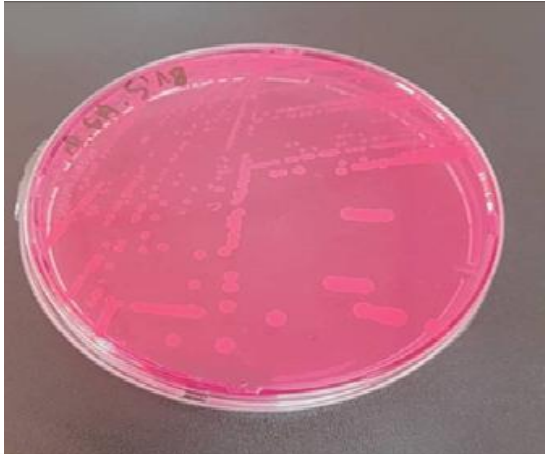
Annexe 1



Figure 1 : Les souches médicales isolés par madame **Meziani**.



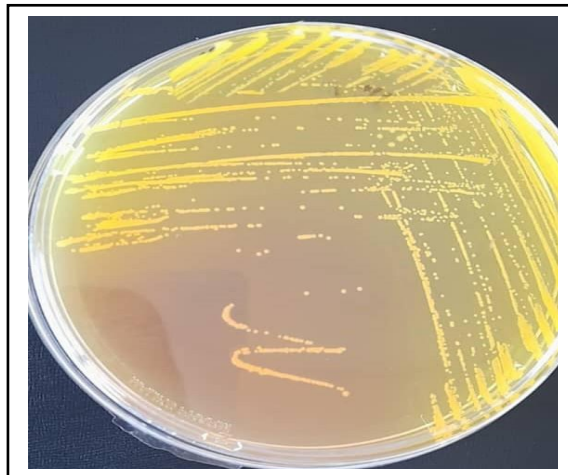
Figure 2 : Enrichissement des souches dans BHIB.



Culture de *Staphylococcus epidermidis*
sur Chapman



Culture de *Staphylococcus weneri* sur
Chapman



Culture de *Staphylococcus hominis* sur
Chapman

Figure 3 : Les cultures des souches sur chapman.



La méthode de détection de biofilm par la technique TCP



Coloration de la plaque TCP par le cristal violet.

Figure 4 : La méthode de la plaque de culture de tissu (TCP).

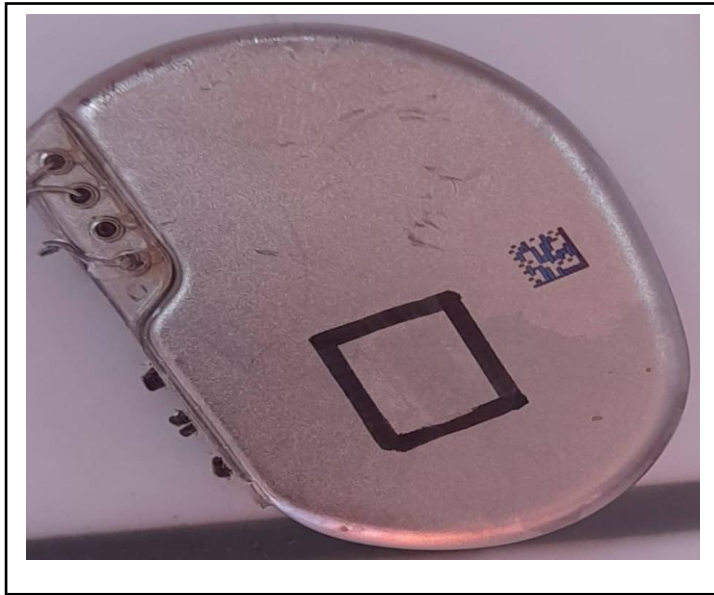


Figure 5 : Préparation du pacemaker pour l'adhésion bactérienne.



Figure 6 : Conservation des souches à long terme dans des eppendorfs

Annexe 2

Composition du milieu de chapman

Extrait de viande (bovin ou porcin).....	1g/l
Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin).....	10g/l
Chlorure de sodium.....	75g/l
Mannitol.....	10g/l
Agar.....	15g/l
Rouge de phénol.....	0,025g/l

PH=7,6

Préparation : 111 g par litre d'eau distillée.

Stérilisation à l'autoclave : 15 minutes à 120°C.

Composition de la gélose nutritive

Peptone.....	10.0g/l
Extrait de viande.....	5g/l
Chlorure de sodium.....	5g/l
Agar.....	10g/l

PH=7.3

Bleu de méthylène

Bleu de méthylène.....	20.0g/l
Phénol.....	20.0g/l
Éthanol à 0.95.....	100 cm^3
Eau distillée.....	1 cm^3

Violet de gentiane

Phénol.....	2.0 g
Violet de gentiane.....	1.0 g
Éthanol à 90°.....	10 ml
Eau distillée.....	100 ml

Lugol

Iodure de potassium.....	2.0 g
Iode métalloïde.....	1.0 g
Eau distillée.....	300 ml

Alcool (éthanol) Fuschine de ziehl

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

Résumé :

L'utilisation des dispositifs cardiaques implantables comporte un risque d'infection, principalement lié à la formation des biofilms à la surface du dispositif. Les infections associées à ces dispositifs peuvent être graves, entraînant parfois des complications potentiellement mortelles telles que l'endocardite. Les staphylocoques sont fréquemment impliqués dans la formation de biofilm sur les DCI. Cinq souches de staphylocoque à coagulase négative sont isolées à partir des dispositifs cardiaques implantables pour tester leur capacité à former un biofilm, et étudier l'influence de la nature du dispositif sur la formation de biofilm. La majorité des souches formatrices de biofilm sont des *Staphylococcus epidermidis*. Les souches semblent mieux adhérentes à la sonde (silicone) qu'au boîtier et connective.

Mots clés : Dispositif cardiaque implantable, Adhésion, Biofilm, *Staphylococcus epidermidis*.

الملخص :

استخدام اجهزة القلب المزروعة ينطوي على خطر الاصابة بالعدوى ، و يرتبط بشكل رئيسي بتكوين الاغشية الحيوية على سطح الجهاز . يمكن ان تكون العدوى المرتبطة بهذه الاجهزة خطيرة ، تؤدي احيانا الى مضاعفات تهدد الحياة مثل التهاب الشغاف . كثيرا ما تشارك المكورات العنقودية في تكوين الاغشية الحيوية على اجهزة القلب المزروعة . تم عزل خمس سلالات من المكورات العنقودية سلبية التآثر من اجهزة القلب المزروعة لاختبار قدرتها على تكوين الغشاء الحيوي ، ودراسة تأثير طبيعة الجهاز على تكوين الغشاء الحيوي . غالبية السلالات المكونة للأغشية الحيوية هي المكورات العنقودية البشرية . يبدو ان السلالات تلتصق بشكل افضل بالمصبار (السيلكون) بشكل افضل من الوصلة و العلية .

الكلمات المفتاحية جهاز القلب القابل للزرع ،التصاق ، الغشاء الحيوي الرقيق ، المكورات العنقودية البشرية.

Abstract:

The use of implantable cardiac devices carries a risk of infection, mainly linked to the formation of biofilms on the surface of the device. Infections associated with these devices can be serious, sometimes leading to life threatening complications such as endocarditis. *Staphylococci* are frequently involved in biofilm formation on implantable cardiac devices. Five strains of coagulase-negative *staphylococcus* are isolated from implantable cardiac devices to test their ability to form a biofilm, and to study the influence of the nature of the device on biofilm formation. The majority of biofilm-forming strains are *Staphylococcus epidermidis*. The strains seem to adhere better to the probe (silicone) than to the connectin and the case.

Keywords: Implantable cardiac device, Adhesion, biofilm, *Staphylococcus epidermidis*.