

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abou Bekr Belkaid- Tlemcen



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
et Science de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie Moléculaire et Cellulaire

Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques : Physico-chimie, Synthèse et Activités Biologique

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Magister

En biologie Moléculaire et Cellulaire

Option : Biochimie appliquée

THEME

DETECTION DE BIOFILM A STAPHYLOCOQUES
SUR CATHETERS VEINEUX

Présenté par :

Melle DJELLOUL DAOUADJI Soumia

Devant le jury :

Mr DRISSI M

Président

Mme BOUCHERIT Z

Examineur

Mr ABDELOUAHID D.E

Examineur

Mme SARI L

Examineur

Mme HASSAINE H

Promoteur

Année Universitaire : 2009-2010

Remerciements

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Mme HASSAINE H, Maitre de Conférence à l'Université Abou Bekr BelKaid de m'avoir accueilli dans le laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agronomie, au Biomédical et à l'Environnement et de m'avoir donné l'opportunité de travailler sur ce sujet, je tiens également à vous remercier pour vos précieux conseils que vous m'avez prodigués tout au long de la rédaction, ont toujours été clairs, me facilitant grandement la tâche et me permettant d'aboutir à la production de ce manuscrit .Soyez assuré de ma sincère estime.

A Mr DRISSI M, Maitre de Conférence à l'Université Abou Bekr BelKaid .Je suis touchée de l'honneur que vous me faites en acceptant de présider ce jury de thèse. Veuillez accepter mes plus vifs remerciements et soyez assuré de tout mon respect et de ma profonde gratitude.

A Mme BOUCHERIT Z, Maitre de Conférence à l'Université Abou Bekr BelKaid .Je suis très sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant de juger ce travail .Soyez assuré de mon plus profond respect.

Je tiens à remercier chaleureusement Mr ABDELOUAHID D.E Maitre de conférence à l'Université Abou Bekr BelKaid pour avoir eu la gentillesse de corriger ce travail et de participer au jury de thèse.

Mes remerciements s'adressent également à Mme SARI L, Maitre de Conférence à l'Université Abou Bekr BelKaid, pour le temps précieux que vous avez accordé à cette étude, je vous remercie d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce travail.

Mes vifs remerciements vont à Mr HARRACHI Directeur du Laboratoire de Microbiologie de Sidi Bel Abbes et les techniciens qui m'ont soutenu malgré leurs occupations, pour leurs précieux conseils et remarques.

Au service de réanimation, je remercie tout particulièrement Mme BADSI, chef de service de réanimation, Mme BAKIR. Soyez assuré, de tout mon respect et de ma profonde gratitude .Je me considère choyée de vous avoir connu.

Enfin ,je ne saurais oublier d'exprimer toute ma sympathie à l'ensemble du personnel de réanimation polyvalente ,néphrologie-hémodialyse et de médecine interne du CHU de Sidi Bel Abbes pour l'aide et l'amitié qu'ils ont témoigné à mon égard.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

Ceux que personne ne peut compenser les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon éducation et mon bien être :

Mes très chers parents,

Ma mère à qui je ne saurais exprimer ma profonde gratitude, à son regard si pétillant et sa complicité si profonde.

A mon père qui n'a jamais cessé de me soutenir matériellement et moralement pour que je puisse avoir une bonne formation et surtout être la meilleure et à qui je voudrais exprimer mes affections et mes gratitudes. Merci à vous deux encore mille fois.

Toute ma famille,

A la mémoire de ma grand mère Saliha, qu'Allah ait son âme.

A ma très chère sœur Souhila ainsi que son époux, qui ont toujours été présents dans les moments les plus difficiles malgré la distance qui nous sépare.

A mes frères Mohamed et Djilali , pour l'amour , l'attention et l'aide qu'ils m'ont apportés

A tata Nawel , Zakia ,Salouh et à mon fiancé, je vous dois affection et tendresse.

Mes chers (es) amis(es),

Touria ,Halima Asma , Zahra, Djezila , Saliha , Hanane , Amel ,Djamila , Mohamed , Tarek et Nourddine.

Je tiens à présenter mes reconnaissances et mes remerciements à :

Mon professeur encadrant

Mes remerciements vont également à toute personne qui de près ou de loin, a participé à ma formation.

Résumé

Les staphylocoques sont responsables de la grande majorité des infections causées par des biofilms. La production de slime, principal facteur de virulence du *Staphylococcus epidermidis* est impliquée dans les infections liées aux cathéters veineux (ILC). Notre étude a comparé 28 souches de *S.epidermidis* responsables d'ILC à partir de 135 prélèvements effectués au niveau des services de : Réanimation polyvalente, néphrologie – hémodialyse et médecine interne du CHU de Sidi Bel Abbes à 28 souches de portage nasal, concernant la détection de biofilm par la méthode de culture de tissu en plaque (TCP) et la méthode en tube (TM).

Une différence significative a été retrouvée entre souches responsables d'ILC et souches de portage en terme de résistance à différentes classes d'antibiotiques, de production de slime par méthode TCP, TM sous des conditions optimisées. Notre étude démontre le rôle de la variabilité phénotypique de la production de biofilm et de la multi résistance aux antibiotiques comme facteur de virulence de *S .epidermidis* responsables d'ILC, leur conférant un avantage sélectif et une grande capacité d'adaptation.

Mots-clés : Adhésion bactérienne, biofilm, Staphylocoques, *Staphylococcus epidermidis*, dispositifs médicaux, cathéters, infection, portage nasal, antibiorésistance.

Abstract

Staphylococci are responsible for the vast majority of infections caused by biofilms. The production of slime, the main virulence factor of *Staphylococcus epidermidis*, is implicated in infections associated with catheters. Our study compared 28 *S. epidermidis* strains from catheter –related infections from 135 samples taken at the level of services: intensive care unit, nephrology - hemodialysis and internal medicine at the University Hospital of Sidi Bel Abbes to 28 strains from nasal carriage concerning the detection of slime by the method of tissue culture plate (TCP) and the tube method (TM).

A significative difference was found between catheter –related infections strains and commensal strains in terms of resistance to different classes of antibiotics, production of slime by TCP method, TM under optimized conditions. Our study demonstrates the role of phenotypic variability of slime production and antibiotic mutiresistance as a virulence factors of *S. epidermidis* associated with catheter –related infections, which confers a selective advantages and a geat capacity for adaptation.

Keywords: Bacterial Adherence, biofilm, Staphylocoques , *Staphylococcus epidermidis*, medical devices ,catheter , infection ,nasal carriage, antimicrobial resistance.

ملخص

إن العنقوديات هي المسؤولة عن الغالبية العظمى من أنواع العدوى الناجمة عن الأغشية الحيوية (بيوفيلم). ويتسبب إنتاج مادة "سليم"، التي تعد بمثابة عامل الفوعة الرئيسي لدى العنقودية البشروية، في حالات العدوى ذات الصلة بعمليات القسطرة. في إطار الدراسة التي قمنا بها، أجرينا مقارنة 28 سلالة من العنقوديات البشروية (ستفيلوكوكس/بيبيرميسيس) المتسببة في حالات العدوى ذات الصلة بعمليات القسطرة، تم أخذها من 135 عينة موزعة على عدد من المصالح الاستشفائية، منها مصلحة الإنعاش (ويشمل ذلك حالات تخص أمراض متعددة) وأمراض الكلى و غسيل الكلى و الطب الباطني في المستشفى الجامعي لمدينة سيدي بلعباس، وقمنا بمقرناتها بـ28 سلالة من أنسجة الأنف بهدف الكشف عن البيوفيلم بطريقة زراعة الأنسجة عبر استخدام اللوحة "تي. سي. بي" وطريقة الأنبوب "تي أم".

لقد تم العثور على تباين كبير بين السلالات المسؤولة عن حالات العدوى ذات الصلة بعمليات القسطرة، وبين سلالات الأنف من حيث مقاومتها لفئات مختلفة من المضادات الحيوية، وإنتاجها لمادة "سليم" بطرقتي "تي سي بي" و"تي أم"، في ظل ظروف مثالية. وقد أثبتت دراستنا الدور الذي يضطلع به عامل التغير الظاهري لإنتاج مادة البيوفيلم ولمقاومة المضادات الحيوية المتعددة باعتبارهما عامل فوعة للعنقودية البشروية المسؤولة عن العدوى ذات الصلة بعمليات القسطرة، مما يضيف عليه ميزة انتقائية وقدرة كبيرة على التكيف.

الكلمات المفتاحية: الالتصاق البكتيري، بيوفيلم، العنقوديات، العنقوديات البشروية (س. ابيبيرميسيس)، أجهزة طبية، القسطرة، عدوى ، أنسجة الأنف ، مقاومة مضادات الميكروبات.

Liste des abréviations

AAP : Accumulation-Associated Protein

Agr :accessory gene regulator

AN : Amikacine

AtIE : autolysine

Bap :Biofilm associated protein

C : Chloramphénicol

ClfA : Clumping factor A

ClfB :, Clumping factor B

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DO : Densité Optique

E : Erythromycine

EPS :extrapolymeric substances

FA : Acide Fusidique

FnbpA,Fnbp B :fibronectin-binding proteins

Fos : Fosfomycine

GN : Gentamicine

ica : IntraCellular Adhesin

ILC : infection liée au cathéter

KTC : cathéter central

KTP : cathéter périphérique

L : Lincomycine

mm : millimètre

MSCRAMM :Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecule

OX : Oxacilline

P : Pénicilline G

PAI : peptide auto-inducteur

PIA : polysaccharide intercellular adhesin

PM : Pristinamycine

S : Streptomycine

SCN : Staphylocoque à coagulase négative

SSP-1, SSP-2 : Staphylococcal surface proteins

TCP : culture de tissu en plaque

TM : méthode en tube

UFC : Unité Formant Colonie

VA : Vancomycine

Liste des figures

Figure 1. Biofilms et infections nosocomiales : pourquoi le traitement médical est souvent inefficace ?.....	11
Figure 2. Les voies de contamination des cathéters veineux	12
Figure 3. Microscopie confocale d'un biofilm formé par <i>Staphylococcus</i> spp à la surface d'un cathéter veineux	13
Figure 4. Les étapes de formation de biofilm chez <i>Staphylococcus epidermidis</i> et les facteurs bactériens impliqués.....	16
Figure 5. Modèle de développement de <i>Staphylococcus epidermidis</i> à la surface d'un cathéter ...	16
Figure 6. Modèle de biosynthèse de PIA	17
Figure 7. Structure chimique du peptide auto-inducteur (AIP)	19
Figure 8. Mécanisme du Quorum sensing chez les bactéries Gram positives	19
Figure 9. Les trois mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques.....	23
Figure 10. Pourcentage de résistance des souches de <i>Staphylococcus epidermidis</i> isolées à partir des infections liées aux cathéters et de portage nasal.....	36
Figure 11. Antibiogramme de souches <i>Staphylococcus epidermidis</i> responsables d'infections liées aux cathéters.....	37
Figure 12. Antibiogramme de souches <i>Staphylococcus epidermidis</i> de portage nasal	38
Figure 13. Dépistge de la production de biofilm par la méthode en tube (TM)	41
Figure14. Dépistage de la production de biofilm par la méthode de tissu en plaque (TCP).....	42

Liste des Tableaux

Tableau 1 .Présentation des espèces qui constituent le genre <i>Staphylococcus</i>	3
Tableau 2 .Principales protéines de surface de <i>S. aureus</i>	5
Tableau 3 . Répartition des prélèvements selon les services.....	32
Tableau4 . Nature des matériaux constituant les cathéters utilisés au CHU de Sidi Bel Abbas.....	32
Tableau 5 . Positivité des prélèvements bactériologiques selon le site d'insertion.....	34
Tableau 6 . Taux de résistance aux antibiotiques des souches de <i>S.epidermidis</i>	35
Tableau 7 . Phénotypes de résistances des 28 souches de <i>S.epidermidis</i> responsables d'ILC	38
Tableau 8 . Phénotypes de résistances des 28 souches de <i>S.epidermidis</i> de portage nasal	38
Tableau 9 . Nombre de souches de <i>Staphylococcus epidermidis</i> responsables d'ILC inhibées par les différentes concentrations de l'oxacilline.....	39
Tableau 10 . Nombre de souches de <i>Staphylococcus epidermidis</i> de portage nasal inhibées par les différentes concentrations de l'oxacilline	39
Tableau 11 . Optimisation de la production de slime par la méthode TCP.	40
Tableau 12 : Fréquence de slime parmi les souches de <i>S. epidermidis</i> par la méthode TM sous des conditions optimisées (BHIB 2% sac , 24 h)	41
Tableau 13 : Fréquence de slime parmi les souches de <i>S. epidermidis</i> par la méthode TCP sous des conditions optimisées (BHI 2% sac, 24 h).....	42
Tableau14 . Dépistage des 56 souches de staphylocoques à coagulas négative isolées pour la détection de la formation de biofilm par les deux méthodes TCP, TM.....	43

SOMMAIRE

Introduction.....	1
Synthèse bibliographique	
1. Généralités	3
2. Biofilm bactérien.....	6
3. Importance des biofilms dans le secteur médical : Le problème d'infection nosocomiale....	9
4. Biofilm et cathéter veineux.....	12
5. Mécanisme de formation de biofilm de Staphylocoques sur cathéter.....	14
6. Gènes contrôlant la formation de biofilm de <i>Staphylococcus aureus</i> et <i>Staphylococcus epidermidis</i>	17
7. Le Quorum Sensing	18
8. Résistance du biofilm aux antibiotiques	21
Matériel et Méthodes	
1. Matériel.....	24
1.1 Souches bactériennes.....	24
1.2 Milieux de culture.....	24
1.3 Tests biochimiques.....	24
1.4 Test de ré-adhésion sur microplaque (TCP) et sur tube (TM).....	24
1.5 Antibiotiques en disque.....	24
2. Méthodes.....	25
2. 1 Origine de prélèvement	25
2.2 Prélèvements.....	26
2.3 Isolement et purification.....	26
2.4 Identification.....	26
2.5 Conservation des souches.....	27
2.6 Antibiogramme des souches isolées.....	28
2.7 Détermination de la CMI.....	29
2.7.1 La technique en milieu solide gélosé.....	29
2.7.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice par technique de dilution en milieu liquide (microplaque).....	30

2.8 Dépistage de production de slime des souches isolées (Caractérisation de la capacité de ré-adhésion).....	30
2.8.1 La méthode de tissu en plaque TCP.....	31
2.8.2 La méthode de tube TM.....	31

Résultats et discussion

1. Résultats	32
1.1 Prélèvements.....	32
1.2 Les cathéters utilisés.....	32
1.3 Isolement et identification	33
1.4 Sensibilité aux antibiotiques.....	34
1.5 Déterminations des concentrations minimales inhibitrices (CMI)	38
1.6 Effet du Saccharose et de la durée d’incubation sur la formation du biofilm.....	40
1.7 Production de biofilm par la méthode de culture en tube TM.....	40
1.8 Production de biofilm par la méthode de tissu en plaque TCP.....	42
1.9 Corrélation entre les deux méthodes	42
2. Discussion.....	44
Conclusion.....	49
Références bibliographiques.....	51
Annexes.....	67

Introduction

Introduction

Les staphylocoques sont souvent associés à des infections dues à la présence d'un matériel étranger. L'usage des dispositifs médicaux est important dans le traitement des maladies chroniques toutefois la multiplication bactérienne sur ces dispositifs implantables peut être à l'origine de nombreuses pathologies nosocomiales notamment lors d'interventions invasives (prothèses, cathéters ...). Les principales espèces responsables de ces infections sont les *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus*, leur principal facteur de virulence est leur capacité à former un biofilm. Le problème majeur avec cette forme de vie est qu'elle confère une résistance importante aux antibiotiques et aux attaques du système immunitaire.

Les cathéters veineux sont de plus en plus utilisés dans les pratiques médicales. Cependant, l'incidence de colonisation sur cathéter (environ 13 %), le taux de bactériémie (environ 3 %) et le taux de septicémie (environ 4,4 %) ne sont pas négligeables (**Bougle, 2003**).

La pathogénèse des infections liées aux cathéters est multifactorielle et l'étape cruciale est dans l'adhérence des staphylocoques sur la surface (**Balaban et al., 2003**). Les microorganismes sur les surfaces des cathéters se trouvent sous deux formes : la forme sessile selon laquelle les organismes sont intégrés dans le biofilm soupçonnés d'être responsable de l'augmentation des résistances aux antibiotiques et la forme flottante planctonique, dans laquelle les organismes se disséminent. Des études impliquant la microscopie électronique à balayage ont montré que presque tous les cathéters vasculaires même ceux qui pour des cultures négatives, sont colonisés par des microorganismes, habituellement intégrés dans le biofilm.

Dans ce travail, nous avons comparé des souches *Staphylococcus epidermidis* issues de portage nasal de patients ne présentant pas d'infections de leurs cathéters et des souches responsables d'infections liées aux cathéters à partir de patients hospitalisés au CHU de Sidi Bel Abbes ; Les études réalisées ont été principalement focalisées sur ces deux groupes étant donné le problème crucial que posent actuellement le biofilm et la résistance aux antibiotiques en milieu hospitalier.

Les objectifs spécifiques de ce travail étaient :

- Détecter les cathéters veineux infectés en utilisant la méthode quantitative décrite par Brun-Buisson (1987) ;
- Isoler et identifier les bactéries à Gram positif responsables d'ILC ;
- Étudier le profil de résistance des staphylocoques isolés ;

- Présenter deux techniques de quantification TCP et TM permettant de mettre en évidence le slime formé par les staphylocoques ;
- Etudier l'un des paramètres influençant la formation de biofilm ;
- Montrer l'influence des types de cathéters utilisés ainsi que la durée de cathétérisme dans la survenue d'une infection liée au cathéter.

Synthèse bibliographique

1. Généralités

Les staphylocoques, étymologiquement coques (cocci) groupés en amas ayant la forme de grappes de raisins, ont été découverts par Pasteur et Koch en 1877-78 à partir du pus de furoncle et d'ostéomyélite (**Pasteur, 1877**). En 1881-82, Ogston faisait la première étude détaillée des staphylocoques et regroupait ces bactéries dans le genre *Staphylococcus* (**Ogston, 1882**). En 1884, Rosenbach était capable d'isoler ces bactéries et de produire une culture pure. Il décrivait *Staphylococcus aureus* à cause de l'apparence jaune-orangée des colonies et montrait que *S. aureus* était responsable de furoncles et d'infections des plaies alors que *S. epidermidis* colonisait la peau (**Rosenbach, 1884**). La même année, Gram mettait au point une méthode de coloration des bactéries à partir du violet de gentiane : les staphylocoques étaient classés parmi les cocci à Gram positif (**Gram, 1884**).

Sur la base d'analyses des séquences des gènes codant pour l'ARN ribosomal (ARNr) 16S, le genre *Staphylococcus* est classé dans la famille des *Staphylococcaceae*. Le genre *Staphylococcus* est proche des genres *Listeria* et *Bacillus* (**Garrity et al., 2002**). Il comprend 45 espèces et sous espèces dont dix sept ont été retrouvées chez l'homme (Tableau 1).

**Tableau 1 .présentation des espèces qui constituent le genre *Staphylococcus*
(Garrity et al., 2002)**

<i>Staphylococcus arlettae</i>	<i>S. intermedius*</i>
<i>S. aureus</i> subspecies <i>aureus*</i>	<i>S. kloosii</i>
<i>S. aureus</i> subspecies <i>anaerobius</i>	<i>S. lentus</i>
<i>S. auricularis*</i>	<i>S. lugdunensis*</i>
<i>S. capitis</i> subspecies <i>capitis*</i>	<i>S. lutrae</i>
<i>S. capitis</i> subspecies <i>urealyticus</i>	<i>S. muscae</i>
<i>S. caprae*</i>	<i>S. pasteurii*</i>
<i>S. carnosus</i> subspecies <i>carnosus</i>	<i>S. piscifermentans</i>
<i>S. carnosus</i> subspecies <i>utilis</i>	<i>S. pulvereri</i>
<i>S. chromogenes</i>	<i>S. saccharolyticus*</i>
<i>S. cohnii</i> subspecies <i>cohnii*</i>	<i>S. saprophyticus</i> subspecies <i>saprophyticus*</i>
<i>S. cohnii</i> subspecies <i>urealyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i> subspecies <i>bovis</i>
<i>S. condimenti</i>	<i>S. schleiferi</i> subspecies <i>schleiferi*</i>
<i>S. delphini</i>	<i>S. schleiferi</i> subspecies <i>coagulans</i>
<i>S. epidermidis*</i>	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>sciuri</i>
<i>S. equorum</i>	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>carnaticus</i>
<i>S. felis</i>	<i>S. sciuri</i> subspecies <i>rodentium</i>
<i>S. fleurettii</i>	<i>S. simulans*</i>
<i>S. gallinarum</i>	<i>S. succinus</i>
<i>S. haemolyticus*</i>	<i>S. vitulinus</i>
<i>S. hominis</i> subspecies <i>hominis*</i>	<i>S. xylosus*</i>
<i>S. hominis</i> subspecies <i>novobiosepticus</i>	<i>S. warneri*</i>
<i>S. hyicus</i> subspecies <i>hyicus</i>	

*espèces retrouvées chez l'homme

La coloration de Gram, la morphologie des colonies sur milieux gélosés et différents tests biochimiques permettent d'identifier le genre *Staphylococcus* et l'espèce *S. aureus*.

Les staphylocoques sont donc des cocci à Gram positif, isolés ou groupés en amas, immobiles, non sporulés, parfois encapsulés, catalase-positives et oxydase-négatives. La production d'une coagulase, d'un pigment caroténoïde jaune doré et la présence d'une protéine A de paroi caractérisent *Staphylococcus aureus*. Les autres espèces sont regroupées sous le terme de staphylocoques à coagulase négative (SCN), dont le représentant principal est *S.epidermidis* (Mee-Marquet et al., 2004).

L'épidémiologie des infections à staphylocoque est surtout connue à l'hôpital. *S. aureus* et les SCN sont la cause respectivement de 15 à 23 % et de 8 à 29 % des bactériémies (Bertrand et al., 2002 ;Mee-Marquet et al., 2004).

La transmission est avant tout directe, à partir d'un sujet colonisé ou d'une lésion staphylococcique ouverte (cutanée ou muqueuse) ; elle est plus rarement indirecte (objets divers, vêtements, literie). Le réservoir des souches est constitué par le portage nasal, cutané et périnéal des malades (Otto, 2004).

Les infections par *S. aureus* sont caractérisées d'une part par le caractère destructif, profond et suppuré de la porte d'entrée ou des foyers métastatiques, la rapide dissémination des métastases septiques et l'existence de signes généraux marqués, et d'autre part la possibilité d'une persistance prolongée plusieurs dizaines d'années (Proctor et al.,1998) .

Les staphylocoques sécrètent une quantité impressionnante de toxines et d'enzymes hydrolysant différents constituants cellulaires .Ces toxines et enzymes extracellulaires contribuent à la pathogénie des staphylocoques (Arvidson ,2000).

S. aureus possède de nombreuses enzymes impliquées dans sa virulence, ayant une activité protéase, hyaluronidase, collagénase, lipase, ou nucléase. Ces exoprotéines sont impliquées dans la destruction des tissus de l'hôte et dans l'extraction de nutriments (Dinges et al., 2000).

Les principales toxines sont les hémolysines, la leucocidine, exfoliatines, et la toxine de choc toxique TSST-1(Arvidson ,2000).

S. aureus possède un grand nombre de protéines de surface qui ont la capacité de se fixer sur les molécules de l'hôte (ou à des surfaces inertes type cathéters) appelées adhésines (Tableau 2). La grande majorité de ces adhésines appartiennent à la famille des MSCRAMM (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecule) (Foster et Hook , 1998).

Parmi les mieux caractérisées on peut citer notamment la protéine de liaison au collagène CNA, les protéines de liaison à la fibronectine FnBPA et FnBPB, les protéines de liaison au fibrinogène (Clumping factor) ClfA et ClfB et la protéine A (ou SpA) qui possède également une activité superantigénique (Clarke et Foster ,2006).

**Tableau 2.Principales protéines de surface de *S. aureus*
(Foster et Mcdevitt, 1994; Foster et Hook, 1998)**

Abbréviation	Nom complet de la protéine	Ligands
FnBP-A	Protéine de liaison à la fibronectine -A	Fibronectine Fibrinogène Elastine
FnBP-B	Protéine de liaison à la fibronectine -B	Fibronectine Elastine
ClfA	Protéine de liaison au fibrinogène -A	Chaîne γ du fibrinogène Fibrine
ClfB	Protéine de liaison au fibrinogène -B	Chaines α et β du fibrinogène Cytokeratine 10 de Type I
Cna	Protéine de liaison au collagène	Collagène
EbpS	Protéine de liaison à l'élastine	Elastine
Spa	Protéine A	Facteur Von Willebrand
Bbp	Protéine de liaison à la sialoprotéine de l'os	Sialoprotéine de l'os
EbhAB	Protéine de liaison à la matrice extracellulaire	Fibronectine

La pathogénie des infections à staphylocoque à coagulase négative, bien qu'encore mal connue, diffère sensiblement de celle des infections à *S.aureus*. Les infections à *S.epidermidis* sont caractérisées par deux éléments : elles sont souvent associées à un corps étranger, et comme pour la plupart des infections à SCN, évoluent sur un mode indolent, subaigu. *S. epidermidis* produit en effet beaucoup moins d'enzymes et de toxines que *S. aureus* (Von Eiff et al.,2002) .

Les capacités d'adhésion des staphylocoques aux cellules humaines, aux matrices extracellulaires et aux corps étrangers sont des facteurs essentiels des processus de colonisation et d'infection, aboutissant à la formation de ces communautés structurées de cellules bactériennes entourées d'une matrice polymérique autoproduite et adhérant à une surface inerte ou vivante, que sont les biofilms (Costerton et al.,1999).

Par la diversité de ses facteurs de virulence, lui permettant entre autres de former des biofilms au contact des corps étrangers et de survivre au sein de cellules eucaryotes, Les *Staphylococcus aureus* et les *Staphylococcus epidermidis* sont les germes les plus fréquemment responsables d'infections à corps étrangers, tels que les cathéters intravasculaires, les valves cardiaques prothétiques et les prothèses ostéo-articulaires (Pittet et Wenzel ,1995 ;Tattevin et al.,1999).

Les infections sur cathéter sont une des premières causes de bactériémies nosocomiales, et sont grevées d'une mortalité non négligeable (**Pittet et Wenzel ,1995**) .De même, *S. aureus* semble devenir, au moins dans certaines parties du monde, la principale cause d'endocardite (**Fowler et al.,2005**).

2. Biofilm bactérien

On attribue la découverte des biofilms à l'inventeur du microscope, Antoni Van Leeuwenhoek (1632-1723), qui observa vers 1683 avec cet appareil des communautés de micro-organismes à la surface des dents (**Donlan, 2002**).

En 1933, lors d'expériences visant à observer la croissance d'algues sur des lames de verre lacées dans un aquarium, Henrici observa, fixées sur ces lames, des communautés bactériennes. Le concept de « biofilm » est né, mais le terme en lui-même n'est pas encore utilisé.

Claude E. Zobell (1904-1989), considéré comme le père de la microbiologie marine, démontra vers 1936 que les surfaces solides sont bénéfiques au développement des bactéries lors de leur conservation dans un milieu nutritif dilué. En 1943, il montra que de très faibles quantités de nutriments organiques s'adsorbent sur le verre et que cette concentration de matière organique favorise la formation de communautés bactériennes fixées sur les surfaces (**Costerton, 2004**).

C'est dans les années 1970, sous l'impulsion de Characklis puis de Costerton, que l'étude des biofilms a pris véritablement son essor. En 1973, Characklis démontre que les matrices d'exopolymères des biofilms confèrent à ces derniers une résistance avérée contre l'action des désinfectants, notamment ceux à base de chlore (**Characklis, 1973**).

Depuis, un nombre croissant d'études ont été consacrées aux biofilms, aussi bien dans les domaines industriel et environnemental que dans le domaine médical. De nombreuses infections surviennent chez les patients hospitalisés utilisant des appareils médicaux, tels que les prothèses ou cathéters, sont liés aux biofilms.

Les SCN et *Staphylococcus aureus* sont les germes les plus responsables de ces infections. En dix ans, le nombre de publications scientifiques annuelles consacrées aux biofilms est passé d'une dizaine (1996) à plus de 1200 (2006) (**Donlan, 2002**).

Un biofilm bactérien est une communauté hétérogène de bactéries agrégées en microcolonies, entourées par une matrice et adhérente à une surface inerte ou biologique (**Drenkard, 2003**). Contrairement aux idées reçues les biofilms sont le mode de vie normal des bactéries (**Klinger et al., 2005**).

Les bactéries contenues dans un biofilm présentent des caractéristiques très différentes de leurs homologues planctoniques (bactéries libres en suspension) parmi lesquelles des modifications structurales (**Flemming, 1990 ; Costerton et al., 1995**), la production d'exopolymères, la mise en place d'un système de communication chimique ("quorum sensing") (**Parsek et Greenberg, 2000**), une augmentation significative de leur résistance aux agents antimicrobiens (désinfectants ou antibiotiques) et aux conditions de stress environnementales (déshydratation, privation nutritionnelle, rayonnements ultraviolets...) (**Frank et Koffi, 1990; Morton et al., 1998 ; Mah et O'Toole, 2001 ; Campanac et al., 2002**).

A l'état naturel les biofilms sont des communautés bactériennes au sein desquelles on peut trouver de nombreuses espèces différentes (**Ghigo, 2001**).

Les staphylocoques ne forment pas de biofilms avec d'autres espèces bactériennes. Il est rare de trouver plus d'une souche bactérienne au sein d'un même biofilm. Ceci pourrait s'expliquer par des mécanismes de quorum sensing spécifiques des staphylocoques qui inhiberaient l'expression des facteurs de virulence d'autres bactéries (**Arciola, 2005**).

Les bactéries elles-mêmes représentent moins d'un tiers de l'ensemble, le reste est une substance visqueuse nommée matrice, sécrétée par les cellules (**Stewart et Costerton, 2001**). Cette matrice détermine la morphologie, la structure, une cohérence physicochimique des agrégats et par conséquent joue un rôle important dans le développement du biofilm et à la maturation (**Flemming et al., 2000**). La matrice du biofilm est largement constituée de :

- Polymères extracellulaires ou EPS ("extrapolymeric substances"), elle renferme en majorité des polysaccharides macromoléculaires et en moindre mesure des protéines, des lipides et acides nucléiques (**Flemming et al., 1999**). Chez les bactéries à Gram positif les EPS sont essentiellement cationiques (**Sutherland, 2001**). *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis* produisent une matrice composée d'un polymère de β -1,6 N-acétylglucosamine (polysaccharide intercellulaire adhésin ou PIA) dont la synthèse est sous le contrôle de l'opéron ica (**Costerton, 2004**) ;
- D'eau dont la teneur est variable selon les matrices (**Branger et al., 2007**). La structure d'un biofilm est très absorbante et poreuse > 95% (**Morvan, 2004**) ;
- De déchets du métabolisme cellulaire, comme des sels d'acides organiques (pyruvate, succinate ...);
- De débris issus des matières en contact avec les surfaces (**Branger et al., 2007**). Les cellules associées au biofilm peuvent produire des enzymes capables de détruire la matrice d'EPS, et de s'en servir comme nutriments en cas de famine (**Sutherland, 2001**).

Un biofilm est un microsome dans lequel les bactéries se multiplient et s'organisent en microcolonies ou cluster ou en unités isolées (**Watnik et kolter, 2000**).

L'organisation d'un réseau de canaux aqueux au sein du biofilm permet l'acheminement de l'oxygène et de nutriments entre les microcolonies et vers les régions les plus enfouies (**O'Toole et al. , 2000 ; Tolker- Nielsen et Molin, 2000 ; O'Toole, 2003**).Les couches les plus profondes proches du support sont beaucoup plus pauvre en oxygène que les couches superficielles (**Stewart et Costerton,2001**).

A l'intérieur d'un même biofilm une cellule peut se comporter différemment d'une cellule voisine génétiquement identique. Cette organisation n'est pas figée, il y a des migrations au sein de la masse et des échanges avec l'extérieur (**Branger et al., 2007**).

Les études menées sur les biofilms ces dernières années ont permis d'établir l'existence de changements radicaux dans l'expression génétique et les phénotypes entre les formes planctoniques et sessiles. Ces changements radicaux permettent d'expliquer l'adaptation des biofilms à des conditions environnementales stressantes et l'acquisition d'avantages évolutifs (**Clutterbuck, 2007 ; Goller et Romeo, 2008**).

Les bactéries des biofilms expriment donc un phénotype différent des bactéries en suspension. Entre 3 et 50% du protéome total est modifié chez les bactéries des biofilms par rapport à celui des cellules planctoniques (**Sauer ,2003 ; Jouenne et al., 2004**).

Par exemple, des études de protéomique ont mis en évidence que plus de 50% du protéome (soit plus de 800 protéines) ont un niveau d'expression différent dans le biofilm mature comparé à l'état planctonique (**Sauer et al., 2002**).

Lors de la formation de biofilms de *Staphylococcus aureus*, des gènes codant pour des enzymes intervenant dans la fermentation et la glycolyse (phosphoglycérate mutase, triosephosphate isomérase et alcool déshydrogénase) sont stimulés. Ceci peut être relié au fait que la concentration d'oxygène dans le biofilm diminue au fur et à mesure de son développement (**Becker et al., 2001**).

Les micro-organismes au sein des biofilms sont plus résistants à la réponse immunitaire de l'hôte et aux agents antibactériens que leurs congénères vivant sous forme planctonique (**Clutterbuck et al., 2007**).

Les propriétés d'adhésion des micro-organismes sont si répandues que toute surface en contact avec un liquide est rapidement colonisée .On comprend donc aisement que les biofilms aient un impact dans de nombreux domaines.

Les problèmes d'hygiène des surfaces prennent un caractère encore plus épineux dans le domaine hospitalier (**PNIR-Biofilm, 2005**). L'éradication des biofilms pose de réels problèmes dans le domaine médical. En effet si les traitements antibiotiques classiques sont efficaces sur les bactéries planctoniques, ils révèlent parfois une efficacité quasiment nulle sur les biofilms (**Silverstein et Donatucci, 2003 ; Kodjikian et al., 2006**).

3. Importance des biofilms dans le secteur médical : Le problème d'infection nosocomiale

Les biofilms sont responsables d'un large éventail d'infections chez l'Homme. Plus de 80% des infections bactériennes chroniques sont associées à la présence de biofilms (**Hall-Stoodley et al., 2004**).

Ces derniers peuvent se former à la surface ou à l'intérieur des dispositifs médicaux implantés dans l'organisme (lentilles de contact, cathéter veineux central, sonde endotrachéale, dispositifs intra-utérins, valves cardiaques artificielles, pacemakers, cathéters de dialyse péritonéale, sondes de tympanostomie, sondes urinaires, prothèses vocales...) ,82% des infections nosocomiales sont dues à la présence d'implants médicaux contaminés (**Archibald et Gaynes, 1997**).

La liste suivante, non exhaustive, regroupe les principales infections liées à la présence de biofilms (**Lewis, 2008**) :

✓ **Infections ou maladies :**

- Caries dentaires,
- Gingivites,
- Péritonite,
- Mucoviscidose,
- Otite moyenne (notamment chez l'enfant),
- Ostéomyélites,
- Prostatites.

✓ **Infections nosocomiales :**

- Sutures,
- Lentilles de contact,
- Port d'un implant médical :
 - Sonde urinaire,
 - Cathéter veineux central,
 - Sonde endotrachéale,
 - Sonde de gastrotomie,
 - Valve cardiaque artificielle,
 - Prothèse orthopédique,
 - Broches (ostéomyélite)

La formation de biofilms dépend de plusieurs facteurs : nombre de cellules présentes, vitesse du flux du liquide dans lequel se trouve le dispositif, propriétés physico-chimiques de la surface (**Donlan, 2001**).

Les cathéters veineux centraux sont les implants médicaux les plus à risque par rapport au développement d'une infection nosocomiale (**Klevins, 2005**). Ceci pose de graves problèmes de santé publique puisque les traitements systémiques de routine des patients atteints d'infections de ce type se révèlent le plus souvent inefficaces, souvent difficiles à traiter du fait de leurs propriétés d'antibiorésistance (Figure 1) (**Donlan, 2008**).

Mécanismes de défense de l'hôte

Agents anti-microbiens

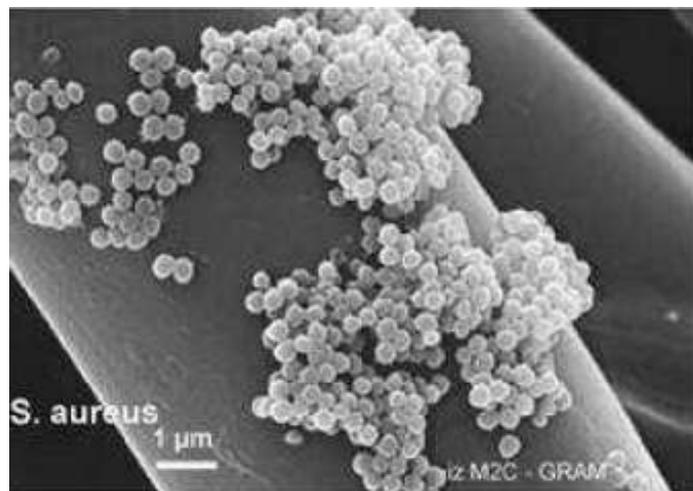
Phagocytose ralentie

Inefficace

Diminution de l'efficacité

Biofilm bactérien formé sur un implant médical

Antibiorésistance 10 à 1000 fois plus élevée pour les bactéries sous forme de biofilms, par rapport à leurs congénères planctoniques



Altération des paramètres pharmaco-dynamiques

Figure 1. Biofilms et infections nosocomiales : pourquoi le traitement médical est souvent inefficace ? (Utili, 2007)

4. Biofilm et cathéter veineux

Le cathétérisme veineux consiste en l'introduction dans le système veineux, par voie transcutanée ou par abord chirurgical, d'un cathéter court ou long, mono ou multilumière(s) (C.CLIN Paris-Nord ,2001).

Les infections associées à l'emploi de cathéter représentent 10-20% de toutes les infections nosocomiales (O'Grady et al., 2002). Parmi ces dernières, les bactériémies sont considérées comme les plus sévères en raison de l'augmentation de la morbidité et de la mortalité qui leur est liée (Raad et al.,2007).

Les micro-organismes colonisent le cathéter par différentes voies (Figure 2) (Raad et al.,2007 ; Eggimann,2007). La contamination extraluminale est la plus fréquente et survient lors de la mise en place du cathéter ou par la colonisation ultérieure du site d'insertion, la contamination endoluminale, qui est secondaire aux manipulations des réseaux et connexions et la voie hématogène est rare. La contamination des perfusions n'est pas exceptionnelle, surtout lors de la préparation de solutions reconstituées à partir de nombreuses ampoules (analgésiques et sédatifs par exemple) (Mauffrey,2003).

Les microorganismes en cause proviennent de la flore cutanée du patient, de la microflore exogène du personnel hospitalier, ou encore d'environnement contaminés (Donlan,2008).

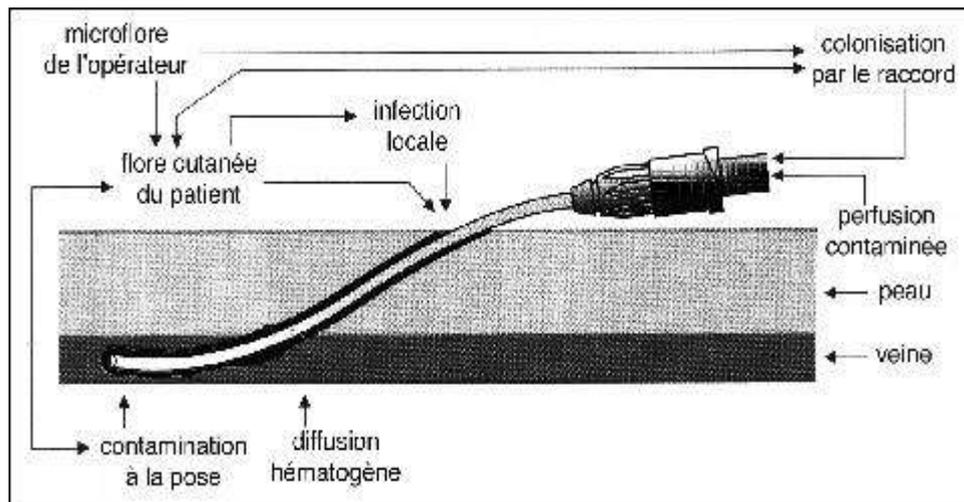


Figure 2. Les voies de contamination des cathéters veineux (Bougle ,2003)

Dans le cas des cathéters , comme en chirurgie orthopédique , ce sont les staphylocoques, bactéries commensales de la peau , qui seront le plus souvent incriminés. De nombreuses souches de staphylocoques possèdent la capacité de produire du biofilm (Figure 3), ce qui leur permet d'adhérer plus facilement à du matériel médical **(Poly, 2007)**.

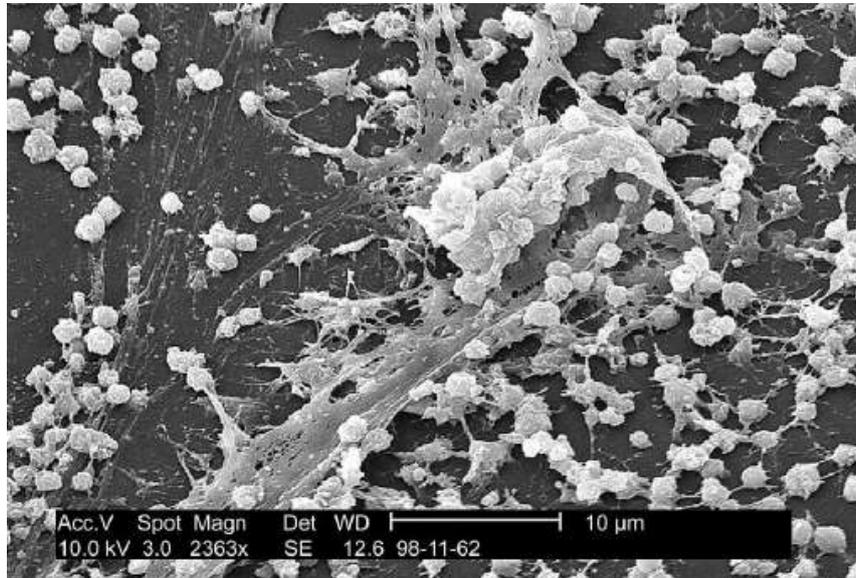


Figure 3. Microscopie confocale d'un biofilm formé par *Staphylococcus spp* à la surface d'un cathéter veineux (Centers for Disease Control and Prevention ,2009)

Les staphylocoques sont responsables de la grande majorité des infections causées par des biofilms **(Otto, 2008)**.

La présence de films protéiques sur des implants médicaux en contact direct avec un fluide favorisent la formation de biofilms. Par exemple, les cathéters veineux centraux, en contact direct avec le sang, sont recouverts de plaquettes, de plasma et de protéines: albumine, fibrinogène, fibronectine, laminine... **(Goller et Romeo ,2008)**.

Staphylococcus aureus et *Staphylococcus epidermidis* expriment à leur surface des molécules, les MSCRAMM, capables de se lier aux molécules adhésives des matrices protéiques .Ces interactions spécifiques entre matrice protéique de l'hôte et MSCRAMM sont très importantes pour l'établissement de la colonisation bactérienne **(Patti et al.,1994)**.

5. Mécanisme de formation de biofilm de staphylocoques sur cathéter

Des études montrent que la zone d'insertion du cathéter représente la porte d'entrée des microorganismes (**Oosterlink et Delers,2007**).

La colonisation bactérienne a lieu dans les 24 heures suivant la pose du cathéter. Au contact du flux sanguin, la surface du cathéter se recouvre d'un film protéique (Plaquette, plasma, fibronectine, laminine, ou fibrine) (Figure 4). La présence de ce dernier va modifier les propriétés physicochimiques de la surface du cathéter et favoriser la formation de biofilm, et ce dès 3 jours après la pose du cathéter (**Donlan,2008**).

La formation des biofilms est un processus en deux étapes qui nécessite l'adhérence des bactéries à une surface, suivie de l'agglomération des cellules bactériennes entre elles, pour aboutir à un biofilm multicouches où les cellules sont engluées dans le « slime » (assimilé au glycocalyx produit par des souches fortement adhérente de staphylocoques) qui progressivement va recouvrir l'ensemble du biomatériau qui sera alors colonisé (**Von Eiff et al.,1999 ;Pinna et al.,2000 ; Kodjikian et al.,2003**).

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

La phase d'attachement de *S. aureus* est principalement médiée par une interaction entre des adhésines staphylococciques et des molécules de l'hôte, éventuellement adsorbées à la surface d'un corps étranger (**Fitzpatrick et al.,2005**).

Outre l'interaction entre l'acide teichoïque et la fibronectine, diverses protéines de surface, dites microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules (MSCRAMM), se lient au fibrinogène, à la fibronectine, au facteur Willebrand et au collagène (respectivement, clumping factor A [ClfA], fibronectin binding protein, protéine A et collagen binding protein).

Chez *S. epidermidis*, autolysine AtlE, Fbe et Embp se lient respectivement à la vitronectine, au fibrinogène, et à la fibronectine (**Von Eiff et al.,2002**).

À la différence de *S. aureus*, *S. epidermidis* peut adhérer à des polymères inertes sans interaction intermédiaire avec des molécules de l'hôte. Ces interactions directes sont en particulier médiées par des protéines de surface (AtlE, SSP-1 et SSP-2) et par le polysaccharide poly-N-acétyl-glucosamine (PNAG, anciennement dénommé PS/A), dont l'homologie avec le polysaccharide intercellular adhesin (PIA) est discutée (Figure 5) (**Maira-Litran et al., 2002**)

La seconde phase du processus d'adhérence de Staphylocoques est plus prolongée et médiée par la production bactérienne d'un glycocalyx polysaccharidique à la surface (**Griffiths et al.,1989 ; Kadry et al.,1999**).

La croissance du biofilm, mieux connue pour *S. epidermidis* que pour *S. aureus*, implique essentiellement une adhésion entre les bactéries et la synthèse de la matrice extracellulaire. L'adhésion intercellulaire est médiée par le PIA (**Von Eiff et al., 2002**).

PIA Est un homopolymère linéaire de 130 résidus β -N- acetylglucosamine composé de deux fractions polysaccharidiques :

Fraction I : supérieure à 80 % contient 15 à 20 % de résidus diacétylés et est donc chargée positivement.

Fraction II : représente 20%, présente la même structure que la fraction I mais contient un plus petit nombre d'ester liant la succinate et est donc anionique (**Gotz, 2002 ; Morales et al., 2004**).

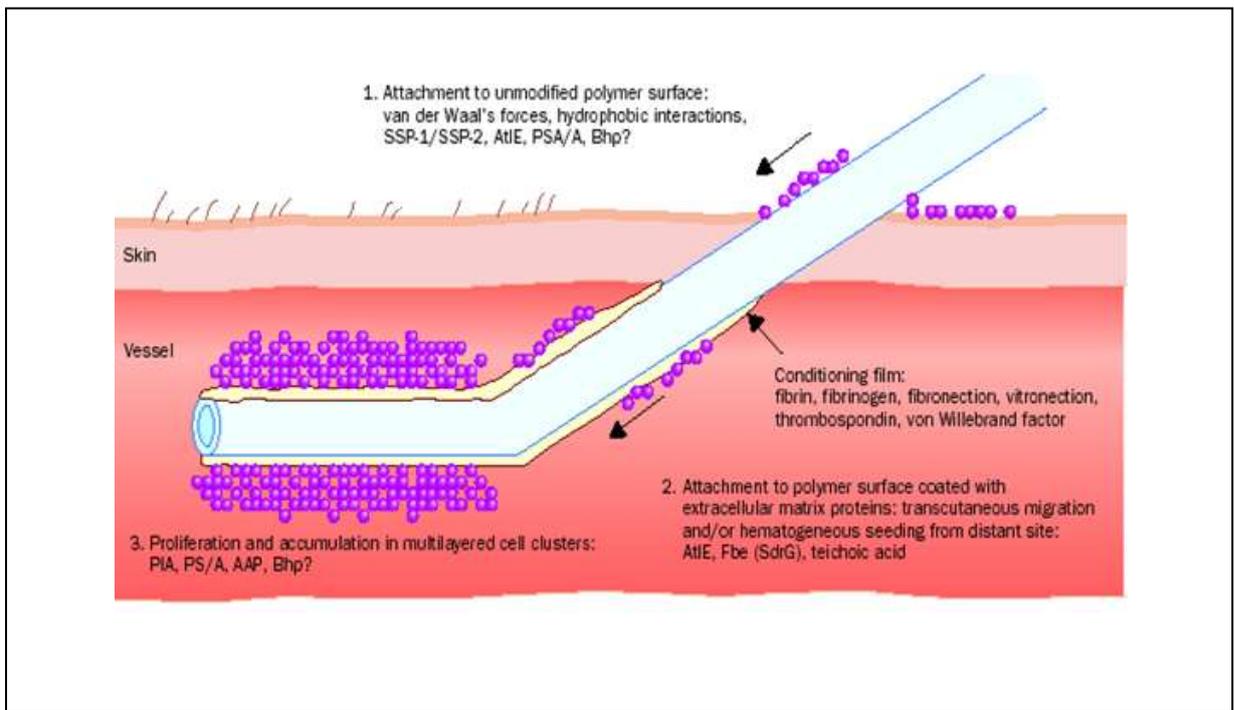


Figure 4. Modèle de développement de *Staphylococcus epidermidis* à la surface d'un cathéter (Van Eiff et al., 2002)

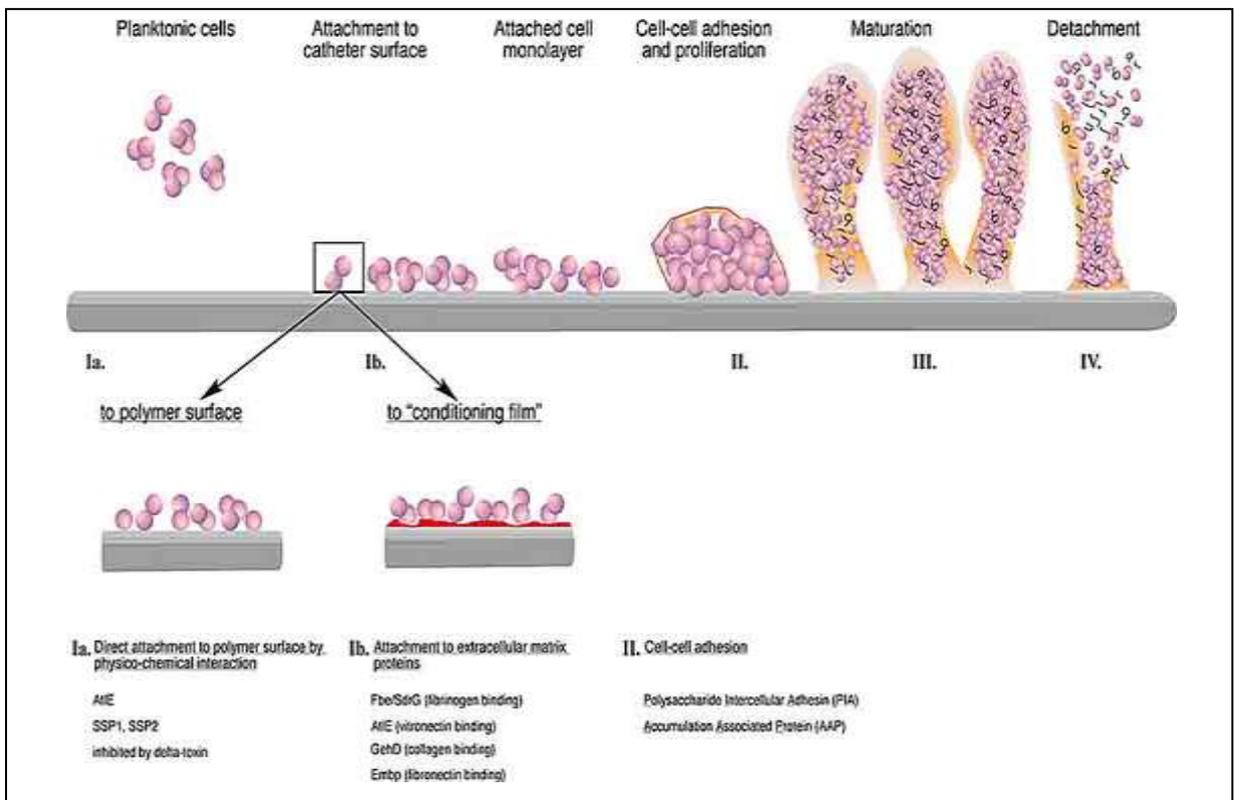


Figure 5. Les étapes de formation de biofilm chez *Staphylococcus epidermidis* et les facteurs bactériens impliqués (Otto, 2004)

Bhp : facteurs présentant une homologie avec *S.aureus*, SSP1/SSP2 : protéine de surface de *Staphylococcus*, AtlE : autolysine, PS/A : adhésine polysaccharidique, Fbe : protéine liant le fibrinogène, SdrG : serine-aspartate répétés contenant la protéine G, PIA : polysaccharide de l'adhésion intercellulaire, AAP : accumulation de protéines associées

6. Gènes contrôlant la formation de biofilm de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*

L'expression de ces deux adhésines (PS/A et PIA) est codée par le locus *ica* (IntraCellular Adhesin) qui contient l'opéron *ica* . Celui-ci est composé du gène *ica* ACDB et du gène *ica* R qui joue un rôle dans la régulation, sûrement en tant que répresseur (Conlon et al., 2002 ; Cafisco et al., 2004 ; Fitzgerald et al., 2004) .

Cet opéron contrôle l'expression de quatre protéines indispensables à la synthèse des adhésines (Gelosia et al., 2001 ; Nilsdotter et al., 2005). Il est très fréquemment isolé du génome de souches multirésistantes de *Staphylococcus epidermidis* à l'origine d'infections liées à la présence d'implants, mais ne se retrouve que rarement dans celui des souches saprophytes de la peau et des muqueuses (Ziebhur et al., 1997).

Le gène *ica* est un meilleur marqueur de la pathogénicité d'une souche que la capacité à se multiplier et à former un biofilm (Galbart et al., 2000).

PIA est formé à partir de l'UDP-N-acétylglucosamine transférase par l'enzyme N-acétylglucosamine , qui est codé par le gène *ica* A. L'expression de *ica* A seul induit seulement une faible activité enzymatique , mais la coexpression de l'*ica* A et *ica* D conduit à une augmentation significative de l'activité de la N-acétyl- transférase qui catalyse la formation d'oligomères avec environ 20 résidus . L'expression du gène *ica* C conduit à la synthèse de plus d'oligomères (130 résidus), *ica* B code pour une protéine jouant un rôle d'une deacetylase impliquée dans la modification et la maturation de PIA(Figure 6) (O'Gara et Humphreys, 2001).

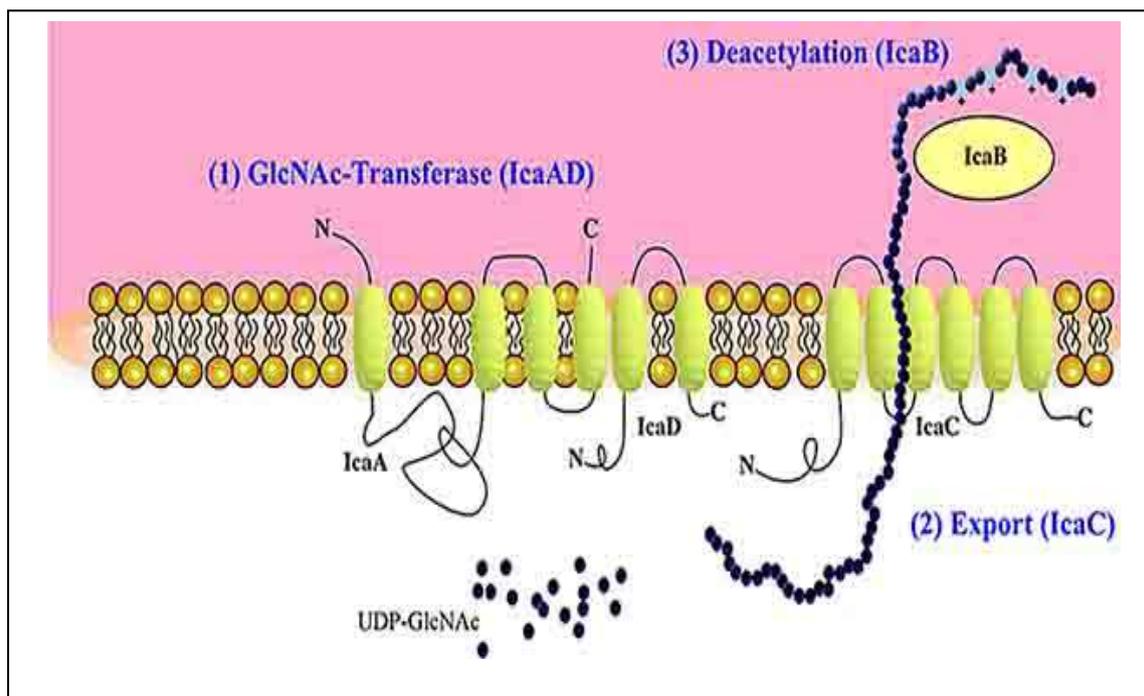


Figure 6. Modèle de biosynthèse du polysaccharide de l'adhésion intercellulaire (PIA) (Otto, 2004).

Au sein d'un biofilm, les micro-organismes communiquent entre eux par des signaux de cellules à cellules. Ces derniers, appelés « quorum sensing », jouent un rôle important dans le développement et la régulation de la formation des biofilms.

7. Le Quorum Sensing

Le quorum sensing est un système de communication, basé sur la synthèse, l'émission et la réception par les cellules de facteurs moléculaires diffusibles « les autoinducteurs » (**Pearson, 1997**).

Suivant la concentration d'auto-inducteur dans le milieu, les bactéries déclenchent des mécanismes synchronisés au sein du biofilm comme l'expression de facteurs de virulence, le développement du biofilm (détachement ou attachement de nouvelles bactéries) (**Tomlin, 2005**).

Ces petites molécules s'accumulent jusqu'à une concentration seuil (quorum) qui une fois atteinte engendre une cascade de signalisations aboutissant à une réponse adaptée et coordonnée de toutes les cellules d'une même espèce (**Bassler, 2002 ; Camara et al.,2002 ; Fuqua et Greenberg,2002 ; Waters et Bassler,2005**).

Chez les bactéries à Gram positif, les auto-inducteurs sont des oligopeptides (**Gray, 1997 ; Keller et Surette,2006 ; Irie et Parsek, 2008**), ces molécules sont très spécifiques et peuvent parfois permettre de distinguer le signal entre deux souches d'une même espèce. Cette forte spécificité a été particulièrement marquée chez *Staphylococcus aureus* dont les souches sont classées en fonction de leur signal oligopeptidique (**Ji et al., 1997 ; Lyon et al.,2002**).

Chez *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et chez d'autres espèces de staphylocoques, l'expression coordonnée des facteurs de virulence, en fonction des signaux extracellulaires, est contrôlée en grande partie par un régulateur global nommé agr (accessory gene regulator) (**Wolz et al.,2000 ; Kong et al., 2006; Novick, 2006; Yarwood, 2006**).

Ce système code un peptide auto-inducteur (AIP) (Figure 7) dont l'accumulation dans l'environnement extracellulaire conduit à l'activation d'un système de transduction du signal à deux composants, AgrC (senseur) et AgrA (régulateur de réponse) (**Dufour et al.,2000**). Chez *S. aureus* l'existence d'une phéromone composée de 7 à 9 acides aminés avec un cycle thiolactone (**Novick, 2003**).

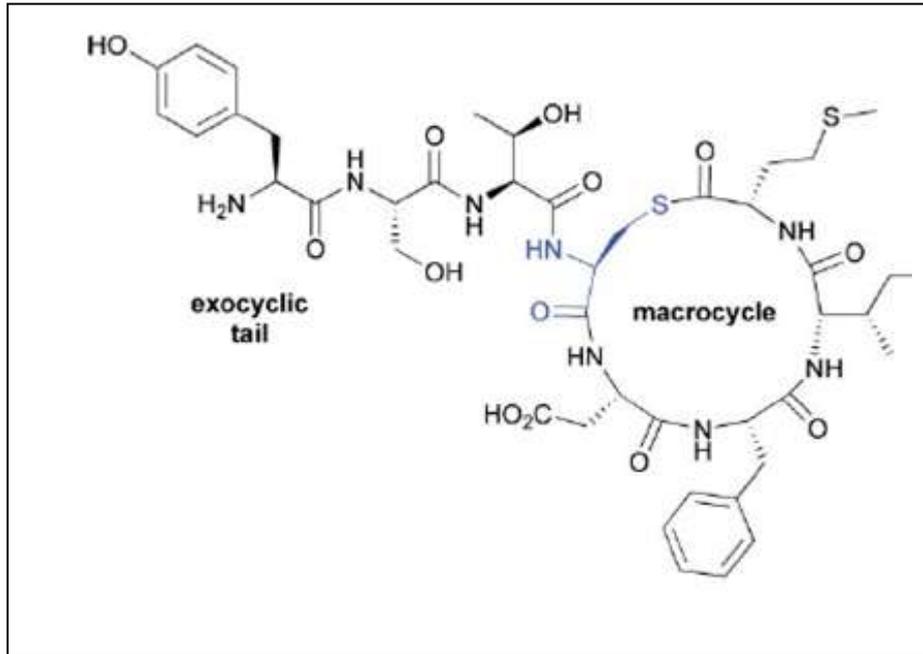


Figure 7. Structure chimique du peptide auto-inducteur (AIP) (Gorsque et Blackwell, 2006)

Le peptide de signalisation AIP est synthétisé sous forme de précurseur puis sécrété. Après maturation il est alors détecté par un récepteur à histidine kinase (HK) qui s'autophosphoryle. Le groupement phosphate est ensuite transmis à un régulateur de réponse (RR) qui va alors moduler la transcription des gènes cibles (Figure 8) (Novick ,2003).

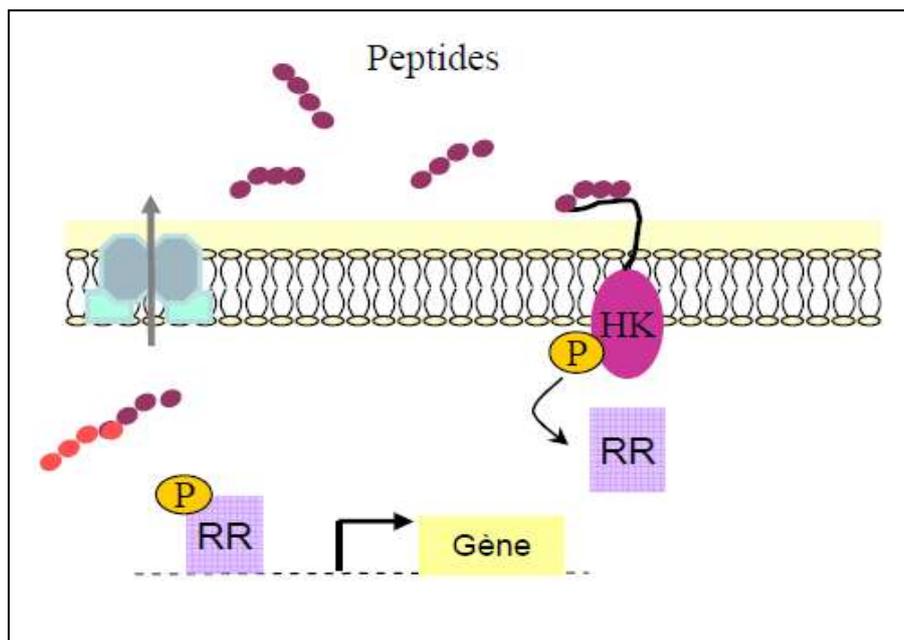


Figure 8. Mécanisme du Quorum sensing chez les bactéries Gram positif (Novick ,2003).

En début de croissance bactérienne le système agr n'est pas activé, permettant la synthèse des facteurs de virulence impliqués dans l'adhérence bactérienne des staphylocoques. Puis le système agr diminue l'expression de ces facteurs et stimule l'expression des facteurs de virulence solubles plus en avant dans la croissance bactérienne (**Wolz et al.,2000**).

Les mutants agr présentent l'avantage de la colonisation des implants et les tissus de l'hôte in vivo (**Vuong et al., 2000 ;Pratten at al.,2001 ; Sakoulas et al., 2002**).

Dans le processus de colonisation, le système agr est actif à bas niveau et les protéines de surface sont exprimées pour permettre la colonisation. Plus la densité cellulaire augmente , plus le système agr supprime l'expression des protéines de surface et augmente la production des exotoxines (**Recsei et al.,1986 ;Novick et Muir,1999 ; Somerville et al.,2002 ; Shompole et al., 2003**).

La communication peut aussi se matérialiser par un échange de matériel génétique entre les bactéries situées sur une même strate dans le biofilm, le phénomène est la conjugaison bactérienne (**Dolan,2002**)

La formation d'un biofilm offre des facteurs favorables aux échanges génétiques entre cellules. les possibilités de transfert génétique (compétence, conjugaison) sont accrue par la proximité des cellules, cet environnement d'échanges de matériel génétique permettant le transfert d'informations est donc propice à l'acquisition de nouveau caractère (**Branger et al. ,2007**).

On a pu montrer que la présence de plasmides et la conjugaison cellulaire induisent le développement de tels rassemblements (**Ghigo, 2001**). Ainsi, l'organisation en biofilm permet de sélectionner et de répandre des caractères de résistance à des agents anti-microbiens (**Donlan, 2002**).

La conjugaison bactérienne est un moteur efficace de la transmission horizontale de gènes. Autant dire qu'elle facilite l'adaptation d'une population entière à s'attaquer à de nouveaux substrats. Les transconjugants expriment des propriétés qui permettent au biofilm de se consolider, en particulier la production de polysaccharides (**Miller et Bassler ,2001**).

L'organisation structurale en biofilm procure aux micro-organismes le constituant une véritable gangue protectrice et les préserve d'un certain nombre de facteurs d'agression comme par exemple la dessiccation ou encore l'action d'agents antibiotiques.

8. Résistance des biofilms aux antibiotiques

L'éradication d'un biofilm bactérien pose de gros problème clinique, car l'antibiothérapie active habituellement sur les bactéries à l'état planctonique se révèle bien souvent moins efficace sur des structures organisées en biofilm (**Broom et al., 2000 ; Stewart et Costerton, 2001**).

Au sein d'un biofilm, les bactéries peuvent être jusqu'à 1000 fois plus résistantes que sous une forme planctonique (**Donlan, 2001**). Certaines concentrations faibles en antibiotiques stimulent la production d'exopolysaccharides de la matrice et contribuent à accroître son épaisseur (**Donlan, 2002 ; Conley et al., 2003 ; Clutterbuck et al., 2007**).

Cerca et al., (2005) ont démontré l'importance de la production de biofilm dans le développement d'infections et de maladies qui confère la résistance à des antibiotiques, par comparaison quantitative de la sensibilité aux antibiotiques de *S. epidermidis* sous la forme sessile et planctonique. Les résultats ont montré que les bactéries productrices de biofilm étaient résistantes aux antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi cellulaire, mais étaient sensibles aux inhibiteurs de la synthèse d'ARN et des protéines, tandis que les cellules planctoniques ont été sensibles pour les deux à la fois.

Alcaraz et al., (2003) ont démontré que la plupart des souches de SCN productrices de slime étaient résistantes à l'oxacilline.

Les mécanismes de résistance habituels, basé sur des modifications enzymatiques, des mutations ou des pompes membranaires d'efflux, ne semblent pas entrer en jeu dans les résistances observées dans les biofilms bactériens (**Math et O'Toole, 2001**).

Les mécanismes conférant cette résistance bactérienne accrue aux antibiotiques sont maintenant mieux connus (**Patel, 2005**). Trois hypothèses principales sont avancées afin d'explicitier les mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques (Figure 9).

La première repose sur une notion de barrière physique qui expliquerait la pénétration lente et incomplète de certains antibiotiques (**Stewart et Costerton, 2001**). Plusieurs causes expliquent cet effet :

-L'encombrement stérique : Ceci est vrai uniquement pour les molécules de grande taille (par exemple les lysozymes et autres peptides antimicrobiens) ; cependant cet effet est faible et n'est pas la raison majeure à la baisse de sensibilité du biofilm ;

-L'effet ionique : Les EPS portent des charges négatives, ces polyanions peuvent piéger les antimicrobiens chargés positivement ; cependant les EPS ne sont pas présent en quantité importante au départ il ya donc d'autre facteurs qui entrent en jeu ;

-La dégradation enzymatique des agents antimicrobiens, par exemple les antibiotiques de la familles des pénicillines pénètrent difficilement dans les biofilms constitués de staphylocoques, car ces bactéries fabriquent une enzyme, nommée bêta-lactamase qui dégrade l'antibiotique plus

rapidement que celui-ci ne diffuse dans le biofilm .l'antibiotique n'atteint jamais les couches les profondes (**Anderson et O'Toole, 2008**).

La seconde hypothèse est liée à l'environnement spécifique du biofilm , dont les zones les plus profondes riches en résidus acides et pauvres en oxygène et en nutriment correspondant à des gradients de taux de croissance et d'activité physiologique , il semble qu'on générale il existe une corrélation entre la diminution de taux de croissance dans les biofilms et l'augmentation de la résistance (**Xu et al, 2000**).

La pénicilline agit ou une bactérie se divise en deux cellules filles lorsque chacune construit une paroi protectrice .Or au cœur d'un biofilm des bactéries sont parfois en dormance : elles sont vivantes mais se ne divisent pas, et par conséquent sont insensibles à la pénicilline (**stewart et Costertan , 2001**)

D'autre part, certains groupes de gènes sont activés par de basses concentrations en oxygène, et sont à l'origine de modifications phénotypiques permettant une résistance accrue aux agents antimicrobiens. Des concentrations réduites en oxygène engendrent des modifications phénotypiques à l'origine d'une diminution de sensibilité aux agents antimicrobiens (**Drenkard, 2003**).

Enfin , la dernière hypothèse s'appuie sur les modifications phénotypiques observées dans certains biofilms et dont les microorganismes constituant pourrait présenter des formes plus résistantes (**Donlan,2008**).

Ces trois hypothèses reposent sur la nature communautaire et multicellulaire du biofilm. la plupart des spectres antibiotiques ont été étudiés sur des formes planctoniques et doivent maintenant être étudiés sur des modèles de biofilms plus complexes, ainsi de nouvelles concentrations minimales d'inhibition ainsi que de nouvelles associations médicamenteuses doivent être envisagées (**Costerton , 2004**).

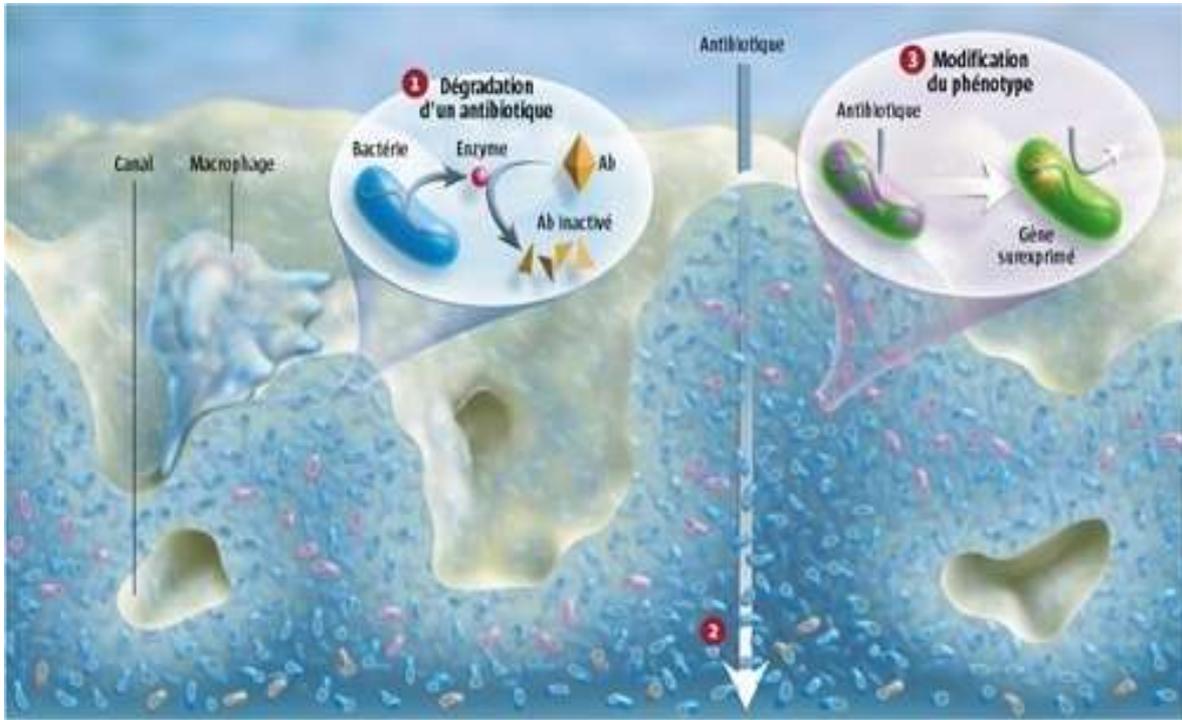


Figure 9. Les trois mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques (Ghigo ,2005)

Par les dommages qu'ils causent dans les milieux médical et industriel, les biofilms ont un impact économique important. Il est nécessaire de développer des moyens de lutte efficaces et pérennes contre la formation de biofilms. De manière croissante ces dix dernières années, les recherches concernant les moyens de lutte contre les biofilms se multiplient.

Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1 Souches bactériennes

La totalité des 58 souches de staphylocoques, objet de notre travail, a été isolée entre Décembre 2008 et Mai 2009 à partir de différents services du CHU de Sidi Bel Abbes.

1.2 Milieux de culture

1.2.1 Milieux de culture liquides

- Bouillon cœur cerveau (BHIB) (Merck)
- Bouillon nutritif (BN) (Fluka)

1.2.2 Milieux de culture solides

- Gélose Chapman (Merck)
- Gélose nutritive (Fluka)
- Mueller Hinton (Fluka)

1.3 Tests biochimiques

- Eau oxygénée à 10 volumes
- Système API Staph (BioMérieux)

1.4 Test de ré-adhésion sur microplaque (TCP) et sur tube (TM)

- Tampon phosphate salin pH 7.2 (Annexe 5)
- Acétate de Sodium (2%)
- Crystal violet (0.1 %)

1.5 Antibiotiques en disque

Pénicilline (P-6µg), Oxacilline (OX-5µg) , Streptomycine (S-10µg), Amikacine (AK-30µg), Tobramycine (Tob-10µg), Gentamicine (GN-15µg), Erythromycine (E-15µg), Lincomycine (L-15µg), Pristinamycine (PM -15µg), Chloramphénicol(C-30µg) , Triméthoprime (CO-5µg), Vancomycine (VA- 30µg), Fosfomycine (FF-50µg) , Acide Fusidique (FA-10µg) .

2. Méthode

2.1 Origine de prélèvement

Les prélèvements ont été effectués à l'hôpital Hassani Abdel Kader de Sidi Bel Abbes, au niveau de trois services :

- Service de médecine interne

- Service de néphrologie-hémodialyse

- Service de réanimation.

Les malades inclus dans cette étude, présentent une pathologie lourde nécessitant la pose de cathéter veineux (central, périphérique), indispensable pour l'administration de l'antibiothérapie, des produits sanguins et de l'alimentation parentérale.

Les extrémités de cathéter ont été prélevées aseptiquement. Les raisons de l'enlèvement du cathéter sont les suivantes : mauvais fonctionnement, des signes d'infection au niveau du site d'insertion (rougeur au niveau du point d'injection, douleur, induration, hématome), ou à cause d'une suppression accidentelle.

Parallèlement une autre série de prélèvements par écouvillonnage nasal a été réalisée à partir de patients ne présentant pas d'infections liées aux cathéters (ILC).

➤ Critères d'inclusion

- Tout nouveau cathéter veineux maintenu plus de 48h ;
- posé dans des conditions d'asepsie chirurgicale ;
- quel que soit le type de cathéter (périphérique, central), à une ou plusieurs lumières et quel que soit le site.

➤ Recueil des données

Un questionnaire a été rempli systématiquement pour :

- Chaque nouveau cathéter veineux posé (fiche cathéter) (Annexe 6).
- Tout nouveau patient (fiche patient) (Annexe 7).

2.2 Prélèvements

➤ Technique de culture du cathéter

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

La XII^e Conférence de consensus en réanimation de 1994 réactualisée en 2003 recommande la culture quantitative pour le diagnostic de colonisation ou d'infection des cathéters veineux centraux et artériels. Cette méthode a une sensibilité de 97.5% et une spécificité de 88.0% (**Timsit ,2003**).

La technique quantitative de Brun Buisson, (1987) consiste à recueillir le segment de cathéter à analyser dans un 1 ml de sérum physiologique sans désobstruction .Après agitation au vortex 0,1 ml de la solution est reprise avec une micropipette puis étalé sur une gélose Chapman; Après incubation à 37 °C pendant 3 jours, le nombre d'unité formant colonies sera déterminé, 1 colonie correspondant à 10²UFC/ml. Seuil d'infection est de 10³ UFC/ml.

➤ Procédure pour le prélèvement nasal

Le prélèvement s'effectue à l'aide d'écouvillon sec, ou humide si narine sèche; on insère l'écouvillon dans la narine antérieure du patient (1-2 cm) afin de recueillir les sécrétions nasales, cela en effectuant 5 rotations complètes de l'écouvillon ; on répète la même procédure dans l'autre narine du patient sans changer d'écouvillon puis on place l'écouvillon dans un étui.

2.3 Isolement et purification

L'isolement est réalisé sur gélose Chapman à 37°C pendant 48 heures .Afin de confirmer la pureté des souches, nous avons effectué des repiquages successifs en alternant milieu liquide (bouillon BHIB) et milieu gélosé sélectif Chapman.

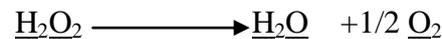
2.4 Identification

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

2.4.1 Recherche de la catalase (Garnier et Denis ,2007)

La catalase (Ferro porphyrine de poids moléculaire élevé) a la propriété de décomposer l'eau oxygénée avec dégagement d'oxygène .C'est l'action directe de l'enzyme qui est mise en évidence dans la masse bactérienne.

On prend une goutte d'eau oxygénée ($\underline{\text{H}_2\text{O}_2}$) à 10 volumes qu'on dépose sur une lame avec une colonie bien distincte de culture jeune de 24 h, le dégagement immédiat de bulles d'oxygène exprime la présence d'une catalase.



2.4.2 Recherche de la coagulase (Garnier et Denis ,2007)

➤ Coagulase libre :

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

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

2.4.3 Identification par le système API Staph (BioMérieux)

La galerie API Staph comporte 20 micro tubes contenant des substrats déshydratés et qui sont inoculés avec une suspension bactérienne qui constitue les tests .Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactif.

La lecture de la galerie est réalisée en se référant au tableau de lecture (Annexe1) et l'identification est obtenue à partir du profil numérique, elle est réalisée à partir de la base de données à l'aide du catalogue analytique (Annexe 2).

2.5 Conservation des souches

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

2.6 Antibiogramme des souches isolées (CASFM ,2008)

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Mueller-Hinton selon les normes et les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de la microbiologie (CASFM).

➤ Inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 H sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une anse de platine quelque colonies bien isolées et parfaitement identiques ;
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9 % ;
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mac Farland ou à une D.O de 0.08 à 0.10 lue à 625 nm ;
- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant , soit de la culture s'il est trop faible , ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est très fort ;
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum.

➤ Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne en tube, afin de le décharger au maximum ;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas en stries serrées ;
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même .Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;
- Application des disques d'antibiotiques ;
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application .Une fois appliquée le disque ne doit pas être déplacé.

➤ Incubation

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

➤ Lecture

- Mesurer avec précision, les diamètres des zones d'inhibition
- Comparer ces résultats aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture (Annexe 3)
- Classer la bactérie dans l'une des catégories : sensible, intermédiaire ou résistantes

2.7 Détermination de la CMI (CASFM ,2008)

L'antibiogramme a été complété par l'étude de la sensibilité des souches de staphylocoques par la méthode de dilution en milieu gélosé et en milieu liquide (microplaque) pour déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI). Les isolats cliniques ont ainsi été testés à une gamme de dilution, allant de 256 µg/ml à 0,25 µg/ml. Les antibiotiques suivants ont été utilisés : l'oxacilline et la vancomycine (étant donné la résistance accrue des staphylocoques vis-à-vis de ces deux antibiotiques).

Afin de pouvoir conclure sur la sensibilité d'une bactérie à un antibiotique donné, il faut déterminer sa CMI vis-à-vis de cette molécule, plusieurs techniques sont à la disposition du laboratoire, on différencie :

- La technique en milieu solide gélosé
- Les techniques en milieu liquide

Dans cette étude, nous avons utilisé les deux techniques afin de s'assurer de la fiabilité de nos résultats

2.7.1 La technique en milieu solide gélosé

➤ Préparation de la gamme d'antibiotique comme décrit (Annexe 4)

- Commencer la distribution d'eau distillée dans chaque tube ;
- A partir de la solution mère, procéder à la distribution de l'antibiotique en changeant de pipette chaque fois que c'est nécessaire ;
- Prendre 2 ml de chaque concentration en tube (2560 µg/ml à 2.5 µg/ml) et la mettre dans les boîtes de pétri correspondantes à la concentration (256 µg/ml à 0.25 µg/ml) ;
- Ajouter 18 ml de Mueller Hinton ramené à 45°C ;
- Homogénéiser par mouvements rotatoires et laisser solidifier ;
- Sécher les boîtes.

➤ Inoculation

Préparer les suspensions des souches à tester, de la même manière que pour l'antibiogramme (0.5 Mac Farland).

➤ Application

Appliquer 2 µl des différentes suspensions sur la gélose à l'aide d'une micropipette

➤ Incubation

18 heures à 24 heures à 37 °C

➤ **Interprétation**

L'absence de colonie visible à l'œil nu aux points d'inoculation traduit la sensibilité de la souche à la dilution considérée, alors que la résistance de la bactérie se traduit par la présence d'une colonie au moins. Les CMI ont pu être calculées à partir des résultats obtenus, et comparées aux valeurs critiques des antibiotiques (Annexe3)

2.7.2 Détermination de la concentration minimale inhibitrice par la technique de dilution en milieu liquide (microplaque)

Des microplaques à fond en U (plaque à microtitration) sont utilisables pour la détermination des CMI. Une plaque à 96 puits permet la détermination des CMI de 08 souches vis-à-vis d'un même type d'antibiotique (dans ce cas l'oxacilline, la vancomycine)

- Dans les cupules des colonnes 1-12 introduire à l'aide d'une pipette automatique à embout stérile 50 µl de bouillon de BHIB ;
- Introduire 50µl de la solution d'antibiotique (oxacilline, vancomycine) à une concentration de 256 µg /ml dans la cupule 1 ; Reporter de cupule en cupule de 1 à 12 .Les concentrations finales ainsi obtenues vont donc de 256 à 0.5 µg/ml ;
- Ajouter 50 µl d'inoculum et incuber 24h à 37°C.

2.8 Dépistage de la production de slime des souches isolées (caractérisation de la capacité de ré-adhésion)

Un certain nombre de tests sont disponibles pour détecter la production de slime par les staphylocoques , méthodes de culture de tissu en plaque (TCP) (standard et modifié) (**Christensen et al.,1985**), méthode de biofilm en tube (TM) (**Christensen et al., 1982**), méthode de rouge Congo agar (ARC) (**Freeman et al .,1989 ; Ludwicka et al.,1985**) .

Les essais de bioluminescence (**Donlan et al .,2001**) et l'examen microscopique par fluorescence (**Zufferey et al. ,1988**) sont souvent soumis à de sévères limitations analytiques et sont incapables de détecter par précision l'adhésion bactérienne .Nous nous proposons dans cette étude, d'effectuer un dépistage de production de slime chez 56 souches de *Staphylocoques epidermidis* isolées (ILC, portage nasal) par les méthodes TCP et TM, ces travaux ont été réalisés au laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agronomie, au Biomédical et à l'Environnement dont le principe repose sur la résistance du biofilm formé par les bactéries aux lavages, seuls les corps bactériens qui résistent sont colorés « Méthode du tout ou rien ».

2.8.1 La méthode de tissu en plaque TCP (Christensen et al.,1985)

Les biofilms mono-espèces ont été développés sur des supports en polystyrènes en utilisant des microplaques à 96 puits. Deux milieux ont été utilisés BHIB et BHIB 2 % saccharose afin de favoriser la croissance en phase biofilm. On dépose 20µl d'une culture de nuit (trois cultures indépendantes pour chaque espèce à l'étude) auparavant diluée 1 dans 100. Des puits non inoculés sont utilisés comme témoin négatif (contrôle de stérilité).

Les microplaques sont par la suite incubées à 37°C pour une période de 24 heures. On retire ensuite très délicatement la phase planctonique, les puits ont été lavés quatre fois avec 20µl de tampon phosphate salin (TPS pH 7.2) afin de se débarrasser des bactéries flottantes « planctonique ». Les biofilms formés par les organismes adhérents (sessile) dans les microplaques ont été fixés avec l'acétate de Sodium (2%), les cellules adhérentes au support de polystyrène dans chacun des puits sont colorées avec du Crystal violet. Les microplaques sont ensuite lavées avec de l'eau distillée stérile et séchées toute la nuit à température ambiante.

Les cellules de staphylocoques adhérentes qui forment des biofilms sur les puits, ont été uniformément colorées par le Crystal violet.

2.8.2 La méthode de tube TM (Christensen, 1982)

Le bouillon cœur cervelle (BHIB 2% saccharose) avec un volume de (10ml) a été inoculé avec une quantité de micro organismes prélevés par anse incubé à 37°C pendant 24 heures. Au lendemain de la culture, les tubes ont été lavés avec du TPS (pH 7, 2) et séchés. La couche de biofilm adhérente dans chaque tube est colorée avec du Crystal violet (0.1 %). Les tubes sont ensuite lavés avec de l'eau distillée stérile et séchés toute la nuit à température ambiante.

La formation de biofilm a été considérée comme positive lorsqu'un film visible borde le mur et le fond du tube, les expériences ont été réalisées en triples.

Résultats et discussion

1. Résultats

1.1 Prélèvements

De Décembre 2008 à Mai 2009, 135 extrémités de cathéters (périphériques et centraux) ont été collectées aseptiquement à l'hôpital Hassani Abdel Kader (Sidi Bel Abbès) (Tableau 3), dont 30 au service de médecine interne, 45 au service de néphrologie-hémodialyse et 60 au service de réanimation.

Tableau 3. Répartition des prélèvements selon les services

Service	Nb de prélèvements	Taux de prélèvements (%)
Médecine interne	30	22,22
Néphrologie-Hémodialyse	45	33,33
Réanimation	60	44,44
Total	135	100

1.2 Les cathéters utilisés

Le tableau 4 illustre la nature des matériaux qui constituent les cathéters utilisés au niveau des trois services (réanimation polyvalentes, néphrologie –hémodialyse et médecine interne), on signale que ces derniers ne sont imprégnés ni de sel d'argent, ni d'antibiotique, ni d'héparine (anticoagulant).

Tableau4. Nature des matériaux constituant les cathéters utilisés au CHU de Sidi Bel Abbès

Voie recommandée	Matériaux	Fabricant
périphérique	Silicone	KDM Allemagne
Jugulaire	Polyuréthane	B/BRAUM U.S.A
Sous Clavière	Polyuréthane	B/BRAUM U.S.A
Fémorale	Polyuréthane	B/BRAUM U.S.A

1.3 Isolement et identification

un total de 58 souches de staphylocoques a été isolé à partir de cathéters chez des patients hospitalisés au C.H.U de Sidi Bel Abbes , a été analysé 30 souches responsables d'infections liées aux cathéters chez 29 patients (un patient a présenté deux épisodes d'infections liées aux cathéters) et 28 souches de portage issues de prélèvements de nez de patients ne présentant pas d'infections liées aux cathéters.

L'identification bactérienne a été réalisée par les méthodes conventionnelles (morphologie des colonies, coloration de Gram, catalase et le test de coagulase) et par le système API Staph (BioMérieux) permettant de mettre en évidence les principaux caractères biochimiques du genre *Staphylococcus*.

60 prélèvements ont été effectués au niveau du service de réanimation polyvalentes 18 patients ont présenté une infection de leur cathéter soit 30%, suivi par le service de néphrologie – hémodialyse avec un taux d'infection de 22,22%, sur les 45 prélèvements 10 cathéters étaient infectés .En médecine interne seuls les cathéters périphériques (KTP) ont été prélevés avec un nombre total de 30 prélèvements, 2 patients ont présenté une infection de leur cathéter périphérique soit 6.66 %.

Un total de 30 souches de staphylocoques a été collecté (Tableau 5), 18 souches provenaient du service de réanimation (16 *Staphylococcus epidermidis* , 2 *Staphylococcus aureus*) , alors que 10 souches de *Staphylococcus epidermidis* ont été isolées a partir des dialysés chroniques ayant bénéficié d'un cathétérisme central au niveau du service de néphrologie – hémodialyse et 2 souches de *Staphylococcus epidermidis* isolées à partir du service de médecine interne .

Le genre *Staphylococcus* avec l'espèce *Staphylococcus epidermidis* sont largement majoritaire avec 28 souches, seulement 2 souches de *Staphylococcus aureus* ont été impliquées dans l'infection sur cathéter isolés des patients au niveau du service de réanimation.

Tableau 5. Positivité des prélèvements bactériologiques selon le site d'insertion.

Service Nombre de prélèvement	Site du cathétérisme				Souches isolées
	Jugulaire	Fémoral	Sous-clavier	périphérique	
Médecine interne (30)				2	2 <i>S.epidermidis</i>
Néphrologie- Hémodialyse (45)	9	1			10 <i>S.epidermidis</i>
Réanimation (60)	8		6	4	16 <i>S.epidermidis</i> 2 <i>S.aureus</i>

1.4 Sensibilité aux antibiotiques

Dans ce travail , nous avons comparé les souches de *S.epidermidis* responsables d'infections liées aux cathéters veineux à des souches de portage nasal afin de rechercher une association entre virulence et production de slime ,de ce fait les deux souches de *S.aureus* isolées à partir du service de réanimation n'ont pu être inclus dans cette étude. Cependant des antibiogrammes et des CMI ont été effectués pour ces deux isolats cliniques.

Les souches responsables d'infections liées aux cathéters ont présenté des taux élevés de résistance à toutes les familles d'antibiotiques sauf aux glycopeptides .La résistance vis –à – vis de la vancomycine (CMI supérieur à 256 µg/ ml) a concerné seulement les deux souches *S.aureus* isolées au service de réanimation polyvalente.

Les souches isolées d'infection liées aux cathéters étaient significativement plus résistantes à la pénicilline, oxacilline, gentamicine, tobramycine, pristnamycine, acide fusidique et à la fofomycine.La sensibilité des 56 souches étudiées vis –à-vis des antibiotiques testés est décrite dans le tableau 6 et la figure 10.

Tableau 6. Taux de résistance aux antibiotiques des souches de *S.epidermidis* isolées

Famille	Antibiotique	Nb de souches et %			
		Souches d'ILC		Souche de colonisation	
		n=28	(%)	n=28	(%)
β Lactamines	Pénicilline G (P)	28	100	19	67,85
	Oxacilline (OX)	27	94,42	18	64,28
Aminosides	Streptomycine (S)	8	28,57	5	17,85
	Amikacine (AN)	4	14,28	4	14,28
	Tobramycine (Tob)	17	60,71	7	25
	Gentamicine (GN)	17	60,71	7	25
Macrolides	Erythromycine (E)	19	67,85	12	42,85
	Lincomycine (L)	11	39,28	13	46,42
	Pristinamycine (PM)	15	53,57	6	21,42
Phénicoles	Chloramphénicol (C)	2	7,14	5	17,85
Sulfamides Associations	Triméthopriime (TMP)	10	35,71	4	14,28
Glycopeptides	Vancomycine (VA)	0	0	0	0
Divers	Fosfomycine (Fos)	15	53,57	2	17,14
	Acide Fusidique (FA)	14	50	5	17,85

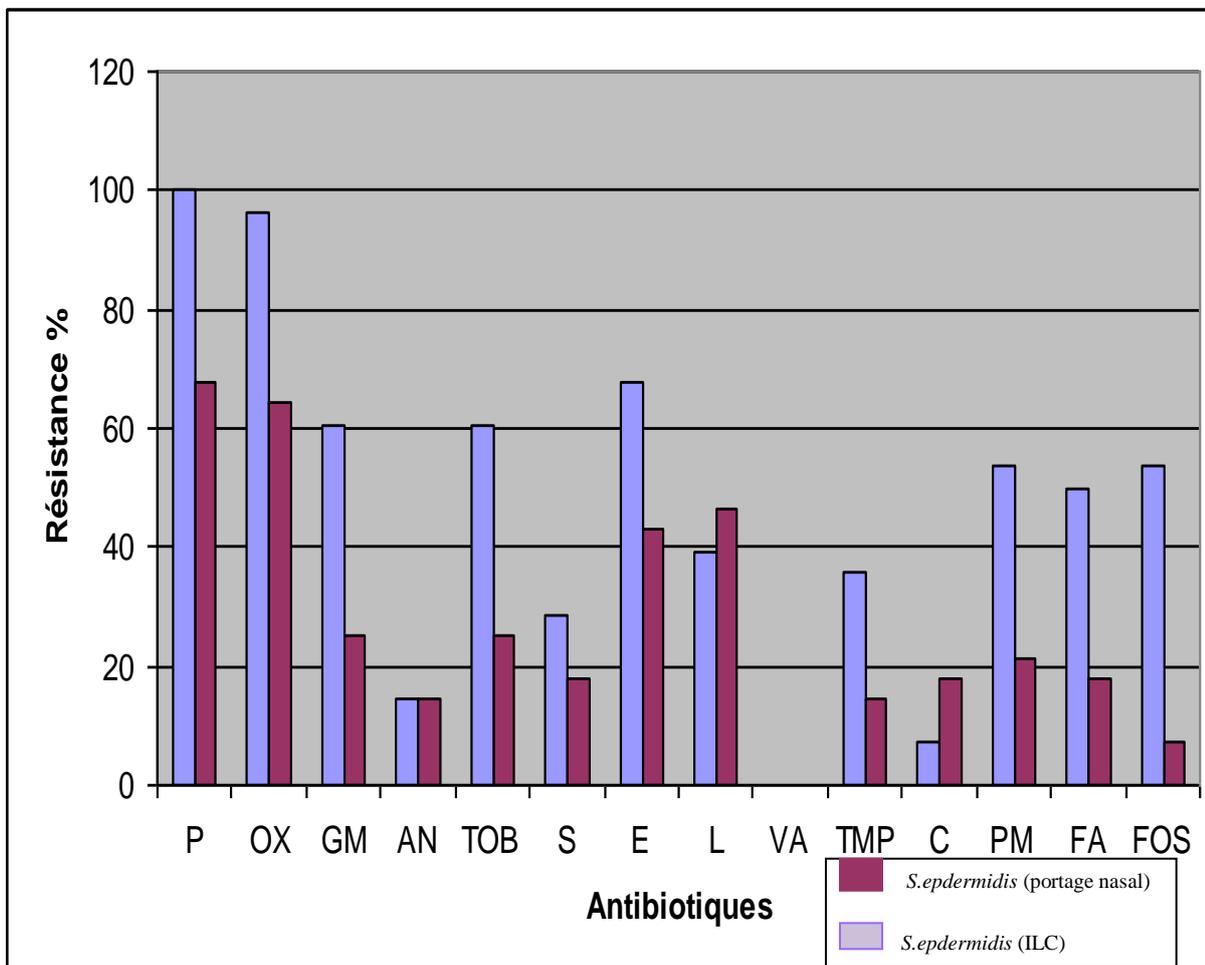


Figure 10. Pourcentage de résistance des souches de *Staphylococcus epidermidis*

Isolées à partir des infections liées aux cathéters et de portage nasal

Les souches de *Staphylococcus epidermidis* isolées à partir des cathéters révèlent une résistance importante à l'égard des β -lactamines. Parmi les souches étudiées la totalité des *Staphylococcus epidermidis* responsables d'ILC étaient résistantes à la pénicilline soit 100% contre une résistance de *Staphylococcus epidermidis* de portage nasal avec un taux de 67.85%, l'oxacilline 94.42% contre 64.28% de portage nasal.

On signale que la résistance des *S.epidermidis* responsables d'ILC ne se limite pas à la famille des β -lactamines, puisque ces isolats cliniques ont montré un taux de résistance assez élevé vis-à-vis de 3 antibiotiques : gentamicine, tobramycine (famille des aminosides) avec un taux de 60,71% et l'érythromycine (famille des macrolides) avec un taux 67.85%.

La résistance vis-à-vis de l'amikacine est la même pour les souches de portage et celles responsables d'ILC. Les glycopeptides restent très actives sur la totalité des souches isolées.

Ces résultats mettent en évidence la grande capacité de résistance des *S.epidermidis* isolés à partir de cathéters par rapport aux souches de portage nasal.

Sur les 28 souches responsables d'ILC, on constate que plus de la moitié des souches de *S.epidermidis* résistent à au moins 7 ATB, 3 souches à 11 ATB .On signale que parmi les souches isolées à partir des cathéters 2 souches sont résistantes à presque tout les ATB (Figure 11).



Figure 11. Antibiogramme de souches *Staphylococcus epidermidis* responsables d'infections liées aux cathéters

Gauche : Résistance de *Staphylococcus epidermidis* (SI16) à 5 ATB

Droite : Résistance de *Staphylococcus epidermidis* (SI11) à 6 ATB

Parmi les souches de portage étudiées, un isolat clinique a présenté le phénotype sauvage et était sensible à l'ensemble des antibiotiques testés, 6 étaient résistantes à un antibiotique, cette résistance isolée concerne la pénicilline G, avec la présence d'une souche de portage résistante à 11 ATB (Figure 12).

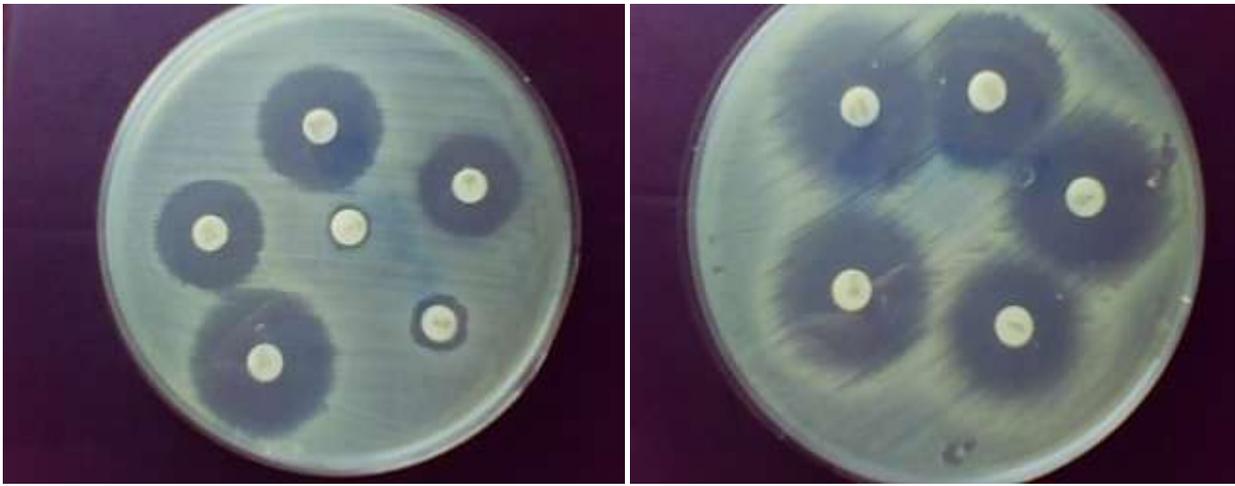


Figure 12. Antibiogramme de souches *Staphylococcus epidermidis* de portage nasal

Gauche : Résistance de *Staphylococcus epidermidis* (PS 16) à 5 ATB

Droite : Souche sauvage de *Staphylococcus epidermidis* (PS 27) sensible à l'ensemble des ATB testés .

Les tableaux 7 et 8 regroupent le nombre de souches de *S.epidermidis* (ILC, portage) résistantes par rapport aux nombre d'ATB testés.

Tableau 7. Phénotypes de résistances des 28 souches de *S.epidermidis* responsables d'ILC

Nb souches	0	0	2	5	3	1	1	4	4	4	2	3	2	0	0
Nb ATB	Sauvage	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

Tableau 8. Phénotypes de résistances des 28 souches de *S.epidermidis* de portage nasal

Nb souches	1	6	8	3	1	2	0	1	2	2	1	1	0	0	0
Nb ATB	Sauvage	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14

1.5 Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) :

La recherche des CMI des souches isolées nous a permis de confirmer la résistance vis-à-vis à l'oxacilline des souches de *S.epidermidis* isolées présentant un diamètre inférieur à 20 mm. Selon Tali, (2007) la CMI à l'oxacilline est une technique de référence obligatoire pour la confirmation des SCN Meti R.

Les tableaux 9 et 10 représentent le nombre de souches de *Staphylococcus epidermidis* responsables d'ILC et ceux du portage nasal inhibées par les différentes concentrations d'oxacilline.

Tableau 9. Nombre de souches de *Staphylococcus epidermidis* responsables d'ILC inhibées par les différentes concentrations de l'oxacilline.

l'oxacilline	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	>256
Nb de souches	0	4	3	3	0	1	1	1	0	1	8	5

Tableau 10. Nombre de souches de *Staphylococcus epidermidis* de portage nasal inhibées par les différentes concentrations de l'oxacilline.

l'oxacilline	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	>256
Nb de souches	0	9	0	1	1	1	1	1	0	0	2	1

Seules les souches, présentant un diamètre d'inhibition ≤ 17 mm pour la vancomycine sur l'antibiogramme, ont fait l'objet d'une CMI par la méthode de dilution sur milieu solide et sur milieu liquide (microplaque) soit 11 sur les 58 souches ; seule l'espèce *S.aureus* (2 souches) a présenté un haut niveau de résistance $> 256\text{mg/L}$ avec une résistance à la totalité des ATB testés, les 8 autres souches de *S.epidermidis* ont une CMI $< 4\text{mg/L}$ ont donc été classées dans la catégorie sensible.

La résistance vis –à – vis à la vancomycine (CMI supérieur à $256 \mu\text{g/ml}$) a concerné seulement les deux souches *S.aureus* isolées à partir de cathéters infectés au service de réanimation polyvalente.

1.6 Effet du Saccharose et de la durée d'incubation sur la formation du biofilm

Le Protocole d'essai TCP décrit par Christensen et al,(1985) est le plus largement utilisé et a été considéré comme la norme d'essai pour la détection de la formation de biofilm, dans notre étude nous avons sélectionné des souches de *S.epidermidis* afin de déterminer leur capacité à former le slime avec la modification de la durée d'incubation qui a été de 24 h, et l'ajout de 2% saccharose dans le milieu de croissance.

Dans la méthode standard TCP, 28 des 56 isolats sont considérés positifs pour leur phénotype de production de biofilm par le milieu de croissance BHIB, avec l'addition 2% de saccharose, le nombre d'isolats formant le biofilm augmente à 35 (Tableau 11).

Tableau 11. Optimisation de la production de slime par la méthode TCP

Formation de biofilm	Nombre d'isolats cliniques	
	Durée d'incubation de 24 heures	
	BHIB	BHIB 2% Saccharose
Souches responsables d'ILC		
Productrice de slime	22	25
Non productrice de slime	6	3
Souche de portage		
Productrice de slime	7	10
Non productrice de slime	21	18

1.7 Production de biofilm par la méthode de culture en tube TM

La recherche de slime a montré que 82.14 % (n=23) des souches responsables d'ILC sous des conditions optimisées ont été productrice de slime contre 39.28 % (n=11) des souches de portage, avaient significativement plus le phénotype négatif que les souches associées aux ILC (respectivement 60.71 % et 25%) (Tableau 12).

Tableau 12: Fréquence de slime parmi les souches de *S. epidermidis* par la méthode TM sous des conditions optimisées (BHIB 2% sac , 24 h)

Méthode TM	Souches Isolées d'IILC	Souches de portage	Total
Souches productrices de slime	23 (82,14%)	11(39,28%)	34
Souches non productrices de slime	7 (25%)	17(60,71%)	24



A C



C B A

Figure 13. Dépistage de la production de biofilm par la méthode en tube (TM) .

A :Elevé, B :Modéré,C :Non producteur de biofilm

1.8 Production de biofilm par la méthode de tissu en plaque TCP

En mode TCP modifié, à partir du nombre total de 56 isolats testés pour la formation de biofilm , un pourcentage élevé de producteur de biofilm était de 89.28% soit 25 pour les souches responsables d'IILC contre 35.71 % soit 10 de portage nasal alors que le taux élevé des souches non productrice de biofilm ont été rapportés pour les souches de portage avec un taux 64.28% contre 10.71%responsables d'IILC .

Tableau 13: Fréquence de slime parmi les souches de *S. epidermidis* par la méthode TCP sous des conditions optimisées (BHIB 2% sac, 24 h)

Méthode TCP	Souches Isolées d'IILC	Souches de portage	Total
Souches productrices de slime	25 (89,28%)	10(35,71%)	35
Souches non productrices de slime	3 (10,71%)	18(64,28%)	21

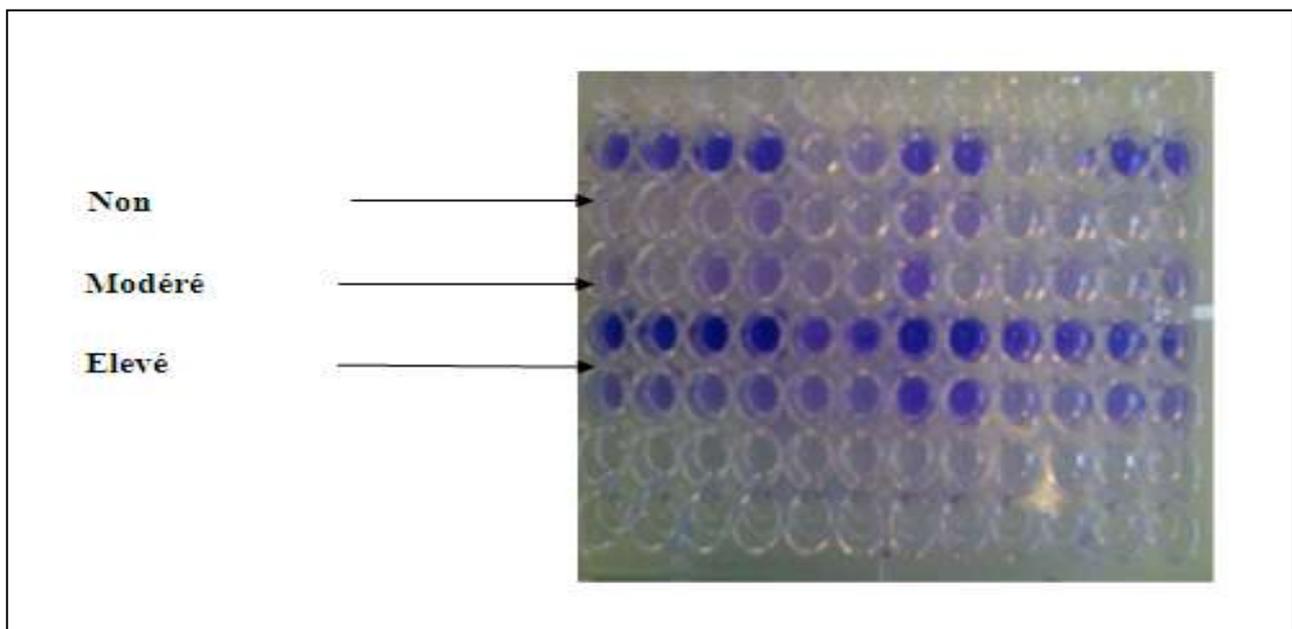


Figure14. Dépistage de la production de biofilm par la méthode de tissu en plaque (TCP) Elevé, modéré et non producteurs de slime sont différenciés par la coloration au cristal violet dans les 96 puits de la plaque

1.9 Corrélation entre les deux méthodes

La méthode TM a montré une bonne corrélation avec la méthode TCP pour une formation élevée de biofilm. Les résultats détaillés pour toutes les souches sont présentés en annexe 9

Tableau14. Dépistage des 56 souches de staphylocoques à coagulas négative isolées pour la détection de la formation de biofilm par les deux méthodes TCP, TM

Nombre d'isolats	Formation de biofilm	Méthode de dépistage	
		TCP	TM
Souches isolées d'ILC = 28	Elevée	10	9
	Modérée	15	12
	Non	3	7
Souches de portage = 28	Elevée	4	3
	Modérée	6	7
	Non	18	17

2. Discussion

De décembre 2008 à mai 2009, 30 infections liées aux cathéters ont été observées à partir de 135 prélèvements effectués aux différents services : Réanimation polyvalente, néphrologie–hémodialyse et médecine interne CHU de Sidi Bel Abbes.

Dans cette étude, l'infection liée au cathéter était significativement plus importante pour les cathéters centraux par rapport aux cathéters périphériques .Conformément à plusieurs auteurs, Le risque d'infection liées aux cathéters veineux périphériques est très inférieur à celui des cathéters centraux (**Timsit ,2003**). Selon Kelvins, (2005) les cathéters veineux centraux sont les implants médicaux les plus à risque par rapport au développement d'une infection nosocomiale .Dans ce même contexte Timsit, (2003) signale que Le risque infectieux est plus important en veine jugulaire.

Il est également démontré que le risque infectieux augmente avec la durée d'implantation du cathéter (**Nitenberg et al.,1996**).En effet la totalité des patients qui ont présenté une infection de leur cathéter au niveau des différents services avaient une durée de cathétérisme dépassant les 48 heures (Annexe 9).

Le site d'insertion du cathéter doit être changé systématiquement toute les 72 à 96 heures (**C.CLIN Paris-Nord, 2001**), cela peut expliquer le taux élevé d'infection observé dans les services concernés par cette étude avec des taux de 30% au niveau du service de réanimation polyvalentes, 22,22% au service de néphrologie –hémodialyse et 6.66 % en médecine interne.

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

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

Les résultats bactériologiques de notre étude placent les SCN avec l'espèce *S.epidermidis* en tête des germes responsables d'ILC (28/30), (2/30) pour *Staphylococcus aureus*. En France, *S.epidermidis* représente 82.5% des staphylocoques à coagulase négatif isolés d'infections liées aux cathéters (**Frebourg et al.,2000**). Aux Etats –Unis, il est la cause de plus 50% des infections liées aux biomatériaux (**Rupp et Archer, 1994**), et de 33.5% de bactériémies associées aux ILC (**Rupp et al.,1999**), et de 25% de celles observées chez les greffés de moelle osseuse (**Donlan et al., 2001**), ces ILC peuvent aboutir jusqu'à 40% d'ablation des cathéters (**Bakker et al., 1998**).

A la différence de *S.aureus*, *S.epidermidis* peut adhérer à des polymères inertes sans interaction intermédiaire avec des molécules de l'hôte (**Maira-Litran et al., 2002**) ce qui peut expliquer la prédominance. Une molécule de polysaccharide capsulaire, appelé polysaccharide adhésine, semble influencer sur l'attachement à la surface nue. Lorsque la surface est recouverte d'une couche de protéines, *S. epidermidis* interagit avec lui grâce à des molécules de surface différentes (**Vuong et al., 2000**). Les principaux mécanismes de virulence de *S.epidermidis* résident dans ses capacités à former des biofilms en présence de corps étrangers et à échapper à la réaction immunitaire (**Mitchell et al., 2004**).

Donlan en 2001 signale que les microorganismes en cause proviennent de la flore cutanée du patient, de la microflore exogène du personnel hospitalier, ou encore d'environnement contaminé. Les micro-organismes atteignent le cathéter par migration à partir de la peau le long de la partie externe du cathéter. La colonisation a lieu dans les 24 heures suivant la pose du cathéter (**Donlan, 2008**).

Les souches de *Staphylocoques epidermidis* isolées d'infections liées aux cathéters ont présenté des taux élevés de résistance à différentes familles d'antibiotiques sauf aux glycopeptides, ils ont été significativement plus résistants à la Pénicilline (100 contre 67.85%), l'oxacilline (94.42 contre 64.28 %), Erythromycine (67.85 contre 42.85 %), Tobramycine (60.71 contre 25 %) que les souches de portage. Au Royaume –Uni, ces souches sont significativement plus résistantes à l'oxacilline (46%) à l'ofloxacine (91%) et à la rifampicine (82%) (**Silva et al.,2002**), alors qu'en Allemagne elles sont plus résistantes à la tobramycine, la gentamycine, le cotrimoxazole, et la ciprofloxacine (**Mulder et Degener, 1998**).

Cerca et al. (2005) ont démontré l'importance de la production de biofilm dans le développement d'infections et de maladies qui confère la résistance à des antibiotiques, par comparaison quantitative de la sensibilité aux antibiotiques de *S. epidermidis* producteurs de biofilm et avec la sensibilité des bactéries *S.epidermidis* planctoniques. Les résultats ont montré que les bactéries

productrices de biofilm étaient résistantes aux antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi cellulaire, mais étaient sensibles aux inhibiteurs de la synthèse d'ARN et de protéines.

Conformément à plusieurs auteurs, les antibiotiques doivent traverser une épaisse couche constituée d'exopolysaccharides, d'ADN et de protéines afin de pouvoir atteindre leur cellules cibles (**Anderson et O'Toole, 2008**), les antibiotiques de la famille des Pénicillines pénètrent difficilement dans les biofilms constitués de staphylocoques, car ces bactéries fabriquent une enzyme, nommée beta-lactamase, qui dégrade l'antibiotique plus rapidement que celui-ci ne diffuse dans le biofilm. L'Antibiotique n'atteint jamais les couches les plus profondes (**Stewart et Costerton, 2001**).

La matrice peut séquestrer des antibiotiques hydrophobes et chargés positivement, comme les aminoglycosides, ce mécanisme de limitation de la pénétration des agents antimicrobiens au sein d'un biofilm explique les antibiorésistances observées lors d'administration unique d'antibiotique mais n'est pas valable pour les antibiothérapies de longue durée (**Gilbert et McBain, 2001**).

La fréquence élevée de résistance aux antibiotiques parmi les souches responsables d'infections liées aux cathéters est associée à une forte pression de sélection antibiotique. L'organisation multicellulaire des bactéries en biofilm leur confère l'avantage d'acquérir de nouveaux gènes. Le biofilm constitue un milieu parfait pour l'échange de plasmide de résistance (**Watnick et Kalter, 2000**). L'importance du transfert horizontal d'éléments génétiques dans cet environnement est liée à la grande probabilité de contact entre les cellules à l'effet négligeable des forces hémodynamique évitant l'interruption de ce contact (**Donlan, 2001**).

Dans le dosage standard de la culture en plaque (TCP), le nombre total d'isolats cliniques (souches de portage, souches isolées d'ILC) testés positifs pour leur phénotype de production de slime par le support BHIB et à une durée d'incubation de 24 h était de 28/56, le nombre d'isolats formants le slime augmente à 35/56 après l'addition de 2% de saccharose dans le milieu de croissance.

Mack et al. (1996) ont observé que la production PIA (polysaccharide intercellulaire adhésin) est stimulée par l'addition de D-glucose, fructose, D-galactose, saccharose, lactose et maltose dans le milieu de croissance.

La production de PIA est améliorée par l'addition de D-glucose in vitro, D-glucosamine, cependant la croissance et par conséquent la formation de PIA est inhibée par l'addition d'une quantité supérieure à 0.1% de ces deux composants (**Cramton et al., 2001**).

Le glucose induit la production de polysaccharides chez *S.epidermidis* impliqué dans l'augmentation du niveau de transcription du locus *ica* et de la synthèse de PIA (Mc kenney et al., 2000).

Dobinsky et al.(2003) confirme que la source de sucre est un précurseur UDP-N-acetyl glucosamine.

Dans une étude comparant trois méthodes de détection des biofilms par méthode TCP, méthode en tube à essai et par le rouge Congo , Knobloch et al., (2002) rapportent une bonne corrélation entre les deux méthodes TCP et TM.

Des résultats similaires ont été rapportés par Mathur et al. (2006) qui ont démontré que le test TCP a été très satisfaisant en termes de détection de phénotype biofilm-positif .L'essai d'adhérence en tube a présenté une forte corrélation avec la méthode TCP, mais les producteurs faibles étaient difficiles à distinguer pour les isolats cliniques qui ne forment pas de biofilm .Les auteurs ont conclu que la méthode TCP est la méthode de sélection la plus sensible et la plus précise montrant une bonne reproductibilité pour la détection de la formation de biofilms chez les staphylocoques.

La production de slime a été significativement plus importante parmi les souches responsables d'infections démontré par les deux méthodes utilisés dans cette étude TCP ,TM respectivement 89,28% , 82.14% par rapport aux souches de portage 35.71 % par méthode TCP et 39.28% par méthode TM (sous des conditions optimisées : milieu de croissance et de durée d'incubation) Cette différence entre les deux populations est aussi retrouvée dans d'autre études : 85 contre 6% (Ziebuhr et al., 1997) ,51.8 contre 27.8 % (Mulder et Degener,1998), 62.9 contre 8,6 % (Galdbart et al., 2000), 48,5 contre 0% (Arciola et al., 2001). La fréquence de production de slime parmi les souches de portage varie dans les études de 0 à 27,8 % (Kozitskaya et al ., 2004).

Cette différence de fréquence est attribuée à la nature de l'échantillonnage de ces souches et au choix des malades, elle est basse lorsque les souches sont isolées chez les volontaires sains et élevée lorsqu'elles proviennent de patients hospitalisés .Dans notre étude, le taux assez élevé 39,28% par méthode TM est observé parmi des souches de malades hospitalisés.

La haute prévalence de la production de slime parmi les souches isolées d'infections liées aux cathéters associée est peut être due à la présence des gènes *ica* au sein de cette population, ce qui suggère le rôle de ce facteur de virulence dans les infections liées aux cathéters .En effet le biofilm est un système de protection de la bactérie vis-à-vis des conditions défavorables de l'environnement. Cette protection concerne aussi bien les défenses immunitaires que le

traitement antimicrobien chimique (antibiotique, antiseptique, désinfectant...) ou physique (UV, pression osmotique...) (**Adam et al., 2002**).

L'aptitude des staphylocoques à coagulase négative à former des biofilms semble jouer un rôle essentiel dans leur virulence. Le polysaccharide intercellular adhesin (PIA) est l'un des polymères le mieux caractérisé des constituants des biofilms, Jabbouri en 2006 a démontré par son étude le lien existant entre trois paramètres : Formation de biofilm, production du PIA et la présence de l'opéron ica ADBC.

Les *Staphylococcus epidermidis* ne portent pas universellement le locus ica, mais les souches associées aux dispositifs médicaux sont plus susceptibles à porter les gènes ica que les souches saprophytes (**Vandecasteele et al., 2003**), ce qui peut expliquer le nombre élevé de producteur de slime de *S.epidermidis* responsables d'ILC par apport aux souches de portage nasal .

Conclusion

Conclusion

Les études sur les biofilms ont montré que *S. epidermidis* est le SCN le plus fréquemment isolé pour sa capacité à produire le slime et est la cause la plus commune des infections nosocomiales chez les patients avec cathéters. Cela pose de graves problèmes de santé publique puisque les traitements systémiques de routine des patients atteints d'infections de ce type se révèlent le plus souvent inefficaces.

Cette étude, effectuée sur une collection de 58 souches de staphylocoques (56 *S. epidermidis*, 2 *S. aureus*) isolées au CHU de Sidi Bel Abbes entre Décembre 2008 et Mai 2009 montre une variabilité phénotypique de production de biofilm et de la multirésistance aux antibiotiques qui ont été significativement associées à la virulence des souches *S. epidermidis* responsables d'ILC leur conférant un avantage sélectif et une grande capacité d'adaptation. Il ressort de notre étude les principaux points suivants :

-La fréquence d'isolement importante de *S. epidermidis* dans les cathéters veineux (prédominance de *S. epidermidis* avec 28 souches par rapport à l'espèce *Staphylococcus aureus* avec 2 souches).

-La production de slime a été significativement plus importante parmi les souches responsables d'infections démontré par les deux méthodes utilisées dans cette étude TCP, TM respectivement 89,28%, 82,14% par rapport aux souches de portage nasal 35,71 % par méthode TCP et 39,28% par méthode TM (sous des conditions optimisées : milieu de croissance et de durée d'incubation).

- La grande capacité de résistance des *S. epidermidis* et de formation de biofilms isolés à partir de cathéters par rapport aux souches de portage nasal. Nous notons que tous les *S. epidermidis* étudiés étaient sensibles à la vancomycine qui demeure le traitement de choix contre les infections à staphylocoques.

Cette étude nous a permis de tester les capacités des cellules de staphylocoques à ré-adhérer pour former de nouveaux biofilms grâce aux tests de ré-adhésion sur microplaques et sur tubes, les résultats obtenus semblent mettre en évidence un phénotype transitoire entre l'état sessile et l'état planctonique. Cette observation doit être prise en compte lors de l'application du traitement sur les biofilms afin d'optimiser les procédures de prévention.

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

Il y a encore un vaste champ de recherche à ce sujet, par exemple ce qui rend *S. epidermidis* un bon colonisateur de la peau et des muqueuses de l'homme, comment l'interaction bactérie hôte peut être expliquée, et comment les microorganismes saprophytes peuvent devenir pathogènes.

En perspective de ce travail, il serait important d'élargir l'effectif de l'échantillon à étudier afin d'avoir une meilleure appréciation épidémiologique de la formation de biofilm par les staphylocoques et d'identifier de façon approfondie aux niveaux biochimiques et génétiques le rôle de marqueur de pathogénicité *ica*, de la variabilité phénotypique de la production de biofilm et de la multirésistance aux antibiotiques comme facteurs de virulence des souches de *S. epidermidis* responsables d'infections liés aux cathéters.

L'avenir appartient sans doute aussi aux avancées de la biologie moléculaire et de la biologie cellulaire. C'est ainsi que des recherches actuelles s'orientent vers le développement de messagers susceptibles de s'opposer à la formation du biofilm bactérien, tels que des anticorps bloquant l'adhésine des staphylocoques qui médie sa fixation à la fibronectine. Enfin, l'analyse structurale de la signalisation inter-bactérienne (quorum-sensing) qui semble nécessaire à la maturation du biofilm donnera peut être de nouveaux moyens dans la lutte antimicrobienne.

Références bibliographiques

1. **Adam B, Baillie G.S, Douglas L.J. (2002).**Mixed species biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus epidermidis*. J Med Microbiol. 51:344–9.
2. **Alcaez L.E, Satorres S.E, Lucero R.M, Centorbi O.N.P. (2003).** Species identification, slime production and oxacillin susceptibility in coagulase-negative staphylococci isolated from nosocomial specimens. Braz. J. Microbiol. 34, 45-51.
3. **Archibald L.K, Gaynes R.P. (1997).** Hospital acquired infections in the United States: The importance of interhospital comparisons. Nosocomial Inf. 11: 245-255.
4. **Arciola C.R, Baldassari L, Montanaro L. (2001).** Presence of icaA and icaD and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter associated infection. J Clin Microbiol .39(6):2151–6.
5. **Arciola C.R, An Y.H, Campoccia D et al. (2005)** .Etiology of implant orthopedic infections: a survey on 1027 clinical isolates. Int. J.Artif. Organs. 28: 1091- 1100.
6. **Arvidson S. (2000).** Extracellular enzymes. Gram-positive pathogens, ed. by Fischetti et al.Chapter 39: 379-385.
7. **Balaban N et al. (2003).** Use of quorum-sensing inhibitor RNAIII-Inhibiting peptide to prevent biofilm formation in vivo by drug resistant *Staphylococcus epidermidis*. Journal of Infectious Disease. 187: 625-630.
8. **Bakker J, Van Overhagen H, Wielenga J.J, de Marie S, Nouwen J, de Ridder M.A, et al. (1998).** Infectious complications of radiologically inserted Hickman catheters in patients with hematologic disorders. Cardiovasc Intervent Radiol . 21:116–21.
9. **Bassler B.L. (2002)** .Small talk. Cell-to-cell communication in bacteria. Cell 109: 421-424.
10. **Becker P, Hufnagle W, Peters G et al. (2001).** Detection of different gene expression inbiofilm-forming versus planktonik populations of *Staphylococcus aureus* using micro representational-difference analysis. Appl.Environ. Microbiol. 6: 2958-2965.
11. **Beloin C, Ghigo J.M. (2005).** Finding gene-expression patterns in bacterial biofilms. Trends Microbiol. 13, 16.

12. **Bertrand X, Lallemand S, Thouverez M, Boisson K, Talon D. (2002)** .Bactériémies liées aux staphylocoques à coagulase négative : incidence, niveau de résistance à la teicoplanine et épidémiologie moléculaire. *Pathol Biol.*50:552-9.
13. **Bougle C. (2003)**.Les cathéters veineux centraux imprégnés de substances anti infectieuses: aspects techniques et étude clinique. *Journal de la pharmacie clinique* .Volume 22, numero 3.159-67.
14. **Branger A,Richer M.M, Roustel S .(2007)**. *Microbiochimie et alimentation ; édition Audenet –Verrier.* 134-135, 142-148.
15. **Brooun, A, Liu S, Lewis K. (2000)**. "A dose-response study of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms." *Antimicrob Agents Chemother* 44(3): 640-6.
16. **Brun –Buisson C, Abaouk F, Legrand P, Huet Y,Larabi S, Rapin M.(1987)**.Diagnostic of central venous catheter-related sepsis.Critical Level of quantitative tip cultures *Archintern Med* May .147(5) :873-7.
17. **Cafiso V, Bertuccio T, Campanile F, Amicosante G, Perilli M, Selan L, Nicoletti G, Stefani S.(2004)**. Presence of the ica operon in clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* and its role in biofilm production. *Clin. Microbiol. Infect.* 10. 1081-8.
18. **Camara M, Williams P, Hardman A. (2002)**. Controlling infection by tuning in and turning down the volume of bacterial small-talk. *Lancet Infect Dis* 2: 667-676.
19. **Campanac C, Pineau L, Payard A, Baziard-Mouysset G, Roques C. (2002)**. Interactions between Biocide Cationic Agents and Bacterial Biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.*46, 1469-1474.
20. **CA-SFM. (2008)**. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr/>.
21. **C.CLIN Paris-Nord. (2001)**.Le cathéter veineux, les recommandations pour l'élaboration de protocoles de soins sur les voies veineuses.

- 22. Cerca N, Martins S, Cerca F, Jefferson K , Pier G.B, Oliveira R, Azeredo J. (2005).**Comparative assessment of antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci in biofilm versus planktonic culture as assessed by bacterial enumeration or rapid XTT colorimetry. *J. Antimicrob. Chemother.* . 56, 331-6.
- 23. Characklis W.G. (1973).** Attached microbial growths-II. Frictional resistance due to microbial slimes. *Water Res.* 7, 1249-1258.
- 24. Characklis W.G, Marshall K.C. (1990).** Biofilms: a basis for an interdisciplinary approach. *Biofilms I.* New York: John Wiley & Sons. P. 3-15.
- 25. Christensen G.D, Simpson W.A, Bisno A.L, Beachey E.H. (1982).**Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun.*37:318-26.
- 26. Christensen G. D, Simpson W.A , Younger J.J, Baddour L.M, Barrett F.F, Melton D.M, Beachey E.H. (1985).** Adherence of coagulase negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J. Clin. Microbiol.* 22:996–1006.
- 27. Clarke S.R, Foster S.J. (2006)** .Surface adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Adv Microb Physiol* 51: 187-224.
- 28. Clutterbuck A.L,Woods E.J, et al. (2007).** Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet Microbiol.* Mar 31. 121 (1-2): 1-17.
- 29. Conley J, Olson M.E et, al. (2003).** Biofilm formation by group A Streptococci: is there a relationship with treatment failure? *J. Clin. Microbiol.* 4043-4048.
- 30. Conlon K.M, Humphreys H, O'Gara J.P.(2002).** icaR encodes a transcriptional repressor involved in environmental regulation of ica operon expression and biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis*. *J. Bacteriol.* 184, 4400-8.
- 31. Costerton J.W, Lewandowski Z, Caldwell D.E, Korber D.R, Lappin-Scott H.M. (1995).** Microbial biofilms. *Annu. Rev. Microbiol.* 49, 711-745.

- 32. Costerton P.S, Stewart E.P, Greenberg E.P. (1999).** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284. 1318-1322.
- 33. Costerton J.W. (2004).** A short history of the development of the biofilm concept. *Methods of studying biofilms*. Ghannoum M & O'Toole G.A Editors. Microbial biofilms, ASM Press, 4-19.
- 34. Cramton S.E, Ulrich M, Gotz F, Doring G. (2001).** Anaerobic conditions induce expression of polysaccharide intercellular adhesion in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Infect. Immun.* 69, 4079-85.
- 35. Dobinsky S, Kiel K, Rohde H, Bartscht K, Knobloch J.M, Horstkotte M.A, et al. (2003).** Glucose-related dissociation between icaADBC transcription and biofilm expression by *Staphylococcus epidermidis*: Evidence for an additional factor required for Polysaccharide Intercellular Adhesin synthesis. *J Bacteriol* :185(9):2879–86.
- 36. Donlan R.M, Murga R, Bell M, Toscano C.M, Carr J.H, Novicki T.J, et al. (2001).** Protocol for detection of biofilms on needleless connectors attached to central venous catheters. *J Clin Microbiol* .39:750–3.
- 37. Donlan R.M. (2001).** Biofilms and device-associated infections. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 277-281.
- 38. Donlan R.M. (2002)** .Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg. Infect. Dis.* 8 (9). 881-890.
- 39. Donlan R.M. (2008).** Biofilms on central venous catheters: is eradication possible? *Curr. Top.Microbiol. Immunol.* 322: 133.
- 40. Drenkard E. (2003).**Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms.*Microbs and infection* 5 : 1213-1219.
- 41. Dufour P, Jarraud S, Bes M, Vandenesch F, Etienne J, Lina G. (2000).**Polymorphisme du système de régulation des exoprotéines chez *Staphylococcus aureus*. *Médecine et maladies infectieuses* N°12.739-744.

- 42. Dufour P, Gillet Y, Bes M, et al. (2002)** .Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. Clin Infect Dis 35. 819-824.
- 43. . Eggimann P. (2007).** Diagnosis of intravascular catheter infection. Curr Opin Infect Dis. 20:353-9.
- 44. Fitzgerald S.F, Fitzpatrick F, Dilane T, Smith E.G, Humphreys H, O'Gara J .P.(2004).** Genomic diversity of *Staphylococcus epidermidis* isolates from the intensive care unit. Clin. Microbiol. Infect. 10, 1081-8.
- 45. Fitzpatrick F, Humphreys H, O'Gara J.P. (2005).** The genetics of staphylococcal biofilm formation—will a greater understanding of pathogenesis lead to better management of device-related infection. Clin Microbiol Infect .11:967-73.
- 46. Flemming H.C. (1990).**Introduction: biofilm as a particular form of microbial life in Biofouling and biocorrosion in industrial water systems. Stuttgart.
- 47. Flemming H.C, Wingender J, Moritz R, Borchard W, Mayer C. (1999).** Physico-chemical properties of biofilms. Short review, Biofilms in the aquatic environment. Edt The Royal Society of Chemistry, pp 1-12.
- 48. Flemming H.C, Wingender J, Mayer C, Korstens V, Borchard W. (2000)** .Cohesiveness in biofilm matrix polymers .In Society for general Microbiology Symposium ; Community Structure and Co-operation in Biofilms .Ed Allison D.G, Gilbert P, Lappin-Scott H.M, Wilson M.vol.59. University Press, Cambridge,UK.pp.87-106.
- 49. Foster T.J, Mcdevitt D. (1994).**Surface-associated proteins of *Staphylococcus aureus*: Their possible roles in virulence.FEMS Microbiol Lett. 118 (3) : 199-205.
- 50. Foster T.J, Hook M. (1998).**Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*.Trends Microbiol. 6 (12) : 484-488.
- 51. Frank J.F, Koffi R.A. (1990).** Surface adherent growth of *Listeria monocytogenes* is associated with increased resistance to surfactant sanitizers and heat. J. Food Protect. 53, 550-554.

- 52. Frebourg N.B, Lefebvre S, Baert S, Lemeland J.F. (2000).** PCR based assay for discrimination between invasive and contaminating staphylococci. *J Clin Microbiol* : 38(2):877–80.
- 53. Freeman D.J, Falkiner F.R, Keane C.T. (1989).** New method for detecting slime production by coagulase negative staphylococci. *J Clin Pathol* .42:872–4.
- 54. Fowler Jr.V.G, Miro J.M, Hoen B, Cabell C.H,Abrutyn E, Rubinstein E.(2005)** *Staphylococcus aureus* endocarditis: a consequence of medical progress. *JAMA*.293:3012-21.
- 55. Fuqua, C, Greenberg E.P. (2002).** Listening in on bacteria: acyl-homoserine lactone signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3: 685-695.
- 56. Galdbart J.O, Allignet J, Tung H.S, Rydèn C, El Solh N. (2000).**Screening for *Staphylococcus epidermidis* markers discriminating between skin florastrains and those responsible for infection of joint protheses. *J Infect Dis* :182:351–5.
- 57. Garnier F, Denis F. (2007).**Bactériologie médical : Techniques usuelles : Cocci à Gram positif. Masson. Chapitre 29 .251, 254.
- 58. Garrity G.M, Johnson K.L, Bell J, Searles D.B. (2002).**Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, second ed. Springer-verlag, New York.
- 59. Gelosia A, Baldassarri L, Deighton M, Van Nguyen T. (2001).** Phenotypic and genotypic markers of *Staphylococcus epidermidis* virulence. *Clin. Microbiol. Infect.* 7, 193-9.
- 60. Ghigo J.M. (2001).** *Nature* 412 :442-445.
- 61. Ghigo J.M. (2005).** Les mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques. *La recherche* N°389.49 .
- 62. Gilbert P, McBain A.J. (2001).** Biocide usage in the domestic setting and concern about antibacterial and antibiotic resistance. *J. Infect.* 43: 85-91.

- 63. Goller C.C, Romeo T. (2008).** Environmental influences on biofilm development. *Curr. Top.Microbiol. Immunol.* 322: 37- 66.
- 64. Gorsque B.C, Blackwell H.E. (2006).**Inteception of quorum sensing in *Staphylococcus aureus* : A new niche for peptidomimetics .The Royal Society of Chemistry.4.1441-1445.
- 65. Gotz F. (2002).***Staphylococcus* and biofilms. *Mol. Microbiol.* 43, 1367-78.
- 66. Gram H. (1884)** .Über die isolirte Färbung der Schizomyceten in Schnitt- und Trockenpräparaten. *Fortschritte der Medizin* 2.
- 67. Gray K.M. (1997).** Intercellular communication and group behavior in bacteria. *Trends Microbiol* 5: 184-188.
- 68. Griffiths P.G, Elliot T.S, McTaggart L. (1989).**Adherence of *Staphylococcus epidermidis* to intraocular lenses. *Br J Ophthalmol.*73:402-6.
- 69. Hall-Stoodley L, Costerton J.W, Stoodley P. (2004).** Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.* 2(2): 95-108.
- 70. Hamilton M. (2003).**The biofilm laboratory :Step-by-step protocols for experimental design,analysis and data interpretation .MSU Center for biofilm Engineering. p30.
- 71. Irie Y, Parsek M.R. (2008).** Quorum sensing and microbial biofilms. *Curr. Top. Microbiol.Immunol.* 322: 67- 84.
- 72. Jabbouri S. (2006).**Evaluation par des études in vitro et in vivo de l'implication des biofilms dans la virulence des Staphylocoques à coagulase négative.Thèse de doctorat Université du Littoral-Cote d'Opale.
- 73. Ji G, Beavis R, Novick R.P. (1997).** Bacterial interference caused by autoinducing peptide variants. *Science* 276: 2027-2030.
- 74. Jouenne T, Vilain S, Cosette P, Junter G.A. (2004).** Proteomics of biofilm bacteria. *Curr.Proteomics* 1, 211-219.

- 75. Kadry A.A, Tawfik A, Abu El-Asrar A.A, Shibl A.M. (1999).**Reduction of mucoid *Staphylococcus epidermidis* adherence to intraocular lenses by selected antimicrobial agents. *Chemotherapy*.45:56-60.
- 76. Keller L, Surette M.G. (2006).** Communication in bacteria: an ecological and evolutionary perspective. *Nat Rev Microbiol* 4: 249-258.
- 77. Klevins R.M, Tokars J.I, Andrus M. (2005).***Nephrol. News Issues* 19: 37- 38, 43
- 78. Klinger C, Filoux A, Lazdunski A.(2005).**Les biofilms forteresses bactériennes .*La recherche* 389 :42-46.
- 79. Knobloch J.K, Horskotte M.A., Rodhe H, Mack D. (2002).**Evaluation of different detection methods of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Med. Microbiol. Immunol.* 191, 101-6.
- 80. Kodjikian L, Burillon C, Roques C, Pellon G, Freney J, Renaud F. (2003).** Bacterial adherence of *Staphylococcus epidermidis* to intraocular lenses: a bioluminescence and scanning electron microscopy study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*.44:4388-94.
- 81. Kodjikian L, Roques C, Pellon G, Renaud F, Hartmann D, Freney J, Burillon C. (2006).** Bacterial adhesion to intraocular lenses and endophthalmitis prevention: review of the literature. *J. Fr. Ophtalmol.* 29, 74-81.
- 82. Kong K.F, Vuong C, Otto M. (2006).** *Staphylococcus* quorum sensing in biofilm formation and infection. *Int. J. Med. Microbiol.* 296, 133–139.
- 83. Kozitskaya S, Cho S.H, Dietrich K, Marre R, Naber K, Ziebuhr W. (2004).** The bacterial insertion sequence IS256 occurs preferentially in nosocomial *Staphylococcus epidermidis* isolates: association with biofilm formation and resistance to aminoglycosides. *Infect Immun* : 72(2):1210–5.
- 84. Lewis K. (2008).** Multidrug tolerance of biofilms and persister cells. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 322: 107- 131.

- 85. Ludwicka A, Switalski L.M, Lundin A, Pulverer G, Wadstrom T. (1985).** Bioluminescent assays for measurement of bacterial attachment to polyethylene. *J Microbiol Methods* .4:169– 77.
- 86. Lyon G.J, Wright J.S, Muir T.W, Novick R.P. (2002) .**Key determinants of receptor activation in the agr autoinducing peptides of *Staphylococcus aureus*. *Biochemistry* 41: 10095-10104.
- 87. Mack D, Fischer W, Korbotsch A, Leopold K, Hartmann R, Egge H, et al. (1996).**The intercellular adhesin involved in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* is a linear β -1,6-linked glucosaminoglycan: Purification and structural analysis. *J Bacteriol* .178(1):175–83.
- 88. Mack D. (1999).**Molecular mechanisms of *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation. *J Hosp Infect.*43:S113-25.
- 89. Mah T.F, O'Toole G.A. (2001).**Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents .*Trends in microbiology* 9 :34-39.
- 90. Maira-Litran T, Kropec A, Abeygunawardana C, Joyce J. (2002).**Immunochemical properties of the staphylococcal poly-N-acetylglucosamine surface polysaccharide. *Infect Immun.* 70:4433-40.
- 91. Mathur T, Singhal S, Khan S, Upadhyay D.J., Fatima T, Rattan A. (2006).** Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian J. Med. Microbiol.* 24, 25-9.
- 92. Mauffrey A.M .S. (2003).**Hygiène en anesthésie .Ed 3. Arnette .Berlin .5-9.
- 93. Mckenney D, Pouliot k, Wang Y, Murthy V ,Ulrich M, Doring G, Lee J.C , Goldman D.A ,Pier G.B.(2000).**Vaccine potentiel of poly 1-6- β -D-N-succinylglucosamine an immunoprTECTIVE surface polysaccharide of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*.*J.Biotechnol.*83.37-44.
- 94. Miller M.B, Bassler B.L. (2001).** Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol* 55: 165-199.

- 95. Ministère de l'Emploi et de la Solidarité, Comité Technique National des Infections Nosocomiales. (1999).** 100 recommandations pour la surveillance et la prévention des infections nosocomiales.
- 96. Mitchell J, Tristan A, Foster T.J. (2004).** Characterization of the fibrinogenbinding surface protein Fbl of *Staphylococcus lugdunensis*. *Microbiology*.150(Pt11):3831-41.
- 97. Morales M, Mendez-Alvarez S, Martin-Lopes J.V, Marrero C, Freytes C. (2004).** Biofilm: the microbial "bunker" for intravascular catheter-related infection. *Support Care Cancer*. 12, 701-7.
- 98. Morton L.H.G, Greenway D.L.A, Gaylarde C.C, Surman S.B. (1998).** Consideration of some implications of the resistance of biofilms to biocides. *Int. Biodet. & Biodeg*. 41, 247-259.
- 99. Morvan A. (2004).** Les biofilm .Rapport final Ecole Nationale Supérieure de chimie de Rennes. p 4,17.
- 100. Mulder J.G, Degener J.E. (1998).** Slime production properties of coagulase negative staphylococci isolated from blood cultures. *Clin Microbiol* .4:689–94.
- 101. Nilsdotter-Austinsson A, Claesson C, Lindgren P.E, Lundqvist-Gustafsson H, Ohman L. (2005).** Adherence of *Staphylococcus epidermidis* to extracellular matrix proteins and effects of fibrinogen-bound bacteria on oxidase activity and apoptosis in neutrophils. *APMIS*.113, 361-73.
- 102. Nitenberg G, Bussy C, Lherm T, Leclercq B. (1996).** Les infections nosocomiales liées aux cathéters veineux centraux : prévention et conduite à tenir en cas de suspicion d'infection. *HygièneS*.13:31-8.
- 103. Novick R.P, Muir T.W. (1999).** Virulence gene regulation by peptides in Staphylococci and other gram –positive bacteria. *Curr. Opin.Microbiol*.2 :40-45.
- 104. Novick R.P. (2003).** Autoinduction and signal transduction in the regulation of staphylococcal virulence. *Mol Microbiol* 48: 1429-1449.

- 105. Novick R.P. (2006).** Staphylococcal pathogenesis and pathogenicity factors: genetics and regulation. In. Fischetti V.A, Novick R.P, Ferretti J.J, Portnoy D.A, Rood J.I. Gram-positive Pathogens, , eds.(Washington, D.C., ASM Press), pp. 496–516.
- 106. O'Gara J.P., Humphreys H. (2001).** *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. J. Med. Microbiol. 50. 582-7.
- 107. O'Grady N.P, Alexander M, Dellinger E.P, et al. (2002).** Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Centers for Disease Control and Prevention. Morb Mortal Wkly Rep .51 (RR-10):1-29.
- 108. Ogston A. (1882).** Micrococcus poisoning. J Anat 17. 24-58.
- 109. Oosterlink E, Delers M. (2007).** Puériculture et pédiatrie. L'enfant à l'hôpital .Lamarre :Ed7. Chapitre 50.p1206-1207.
- 110. O'Toole G, Kaplan H.B, Kolter R. (2000).** Biofilm formation as microbial development. Annu.Rev. Microbiol. 54: 49- 79.
- 111. O'Toole G. A. (2003).** To build a biofilm. J Bacteriol 185(9): 2687-9.
- 112. Otto M. (2004).** Virulence factors of the coagulase –negative . Frontiers in bioscience (9) :841-863.
- 113. Otto M. (2008).** Staphylococcal biofilms. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 322: 207- 228.
- 114. Parsek M.R, Greenberg E.P. (2000).** Acyl-homoserine lactone quorum sensing in gram negative bacteria: a signaling mechanism involved in associations with higher organisms. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97, 8789-8793.
- 115. Pasteur L. (1877).** A propos de deux malades soignés à l'hôpital Saint-Louis pour pustule maligne.
- 116. Patel R. (2005).** Biofilms and antimicrobial resistance. Clin. Orthop. Relat. Res. 41-47.

- 117. Patti J.M, Allen B.L, McGavin M.J et al. (1994).** MSCRAMM- mediated adherence of microorganisms to host tissues. *Annu. Rev. Microbiol.* 48: 585-617.
- 118. Pearson J.P,Pesci E.C, Iglewski B.H.(1997).**Roles of *Pseudomonas aeruginosa* las and rhl quorum sensing systems in control of elastase and rhamnollipid biosynthesis genes .*J.Bacteriol.*179,5756-5767.
- 119. Percival S.L, Kite P. (2007).** Intravascular catheters and biofilm control. *J Vasc Access* .8:69-80.
- 120. Pinna A, Sechi L.A, Zanetti S, Delogu D, Carta F. (2000).** Adherence of ocular isolates of *Staphylococcus epidermidis* to ACRYSOF intraocular lenses. A scanning electron microscopy and molecular biology study. *Ophthalmology.*107:2162-6.
- 121. Pittet D, Wenzel R.P. (1995).** Nosocomial bloodstream infections. Secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. *Arch Intern Med* 155:1177-1184.
- 122. PNIR- Biofilm, (2005).**Biofilm.N° 60 .14-16.
- 123. Poly M.C. (2007).**Bactériologie médicale technique usuelles. Elsevier Masson.p 170-180.
- 124. Pratten J,Foster S.J,Chan P.F,Wilson M,Nair S.P.(2001).***Staphylococcus aureus* accessory regulators : expression within biofilms and effect on adhesion .*Microbes Infect* 3 :633-637 .
- 125. Proctor R.A,Von Eiff C,Vaudaux P.E,Lew D.P, Peters G. (1998).**Staphylococcal small colony variants have novel mechanisms for antibiotic resistance.*Clin Infect Dis.*27(suppl1):S68-S74.
- 126. Jiang Y et al. (2007).**Comparative activities of deptomycin Linezolid , and tigecyclin against catheter –related methicillin –resistant *Staphylococcus* bacteremie isolates embedded in biofilm .*Antimicrob Agents Chemother* . 51 :1656-60.
- 127. Recsei P, Kreiswirth B ,O'Reilly M,Schlievert P, Gruss A ,Novick R.P .(1986).** Regulation of exoprotein gene expression in *Staphylococcus aureus* by agr .*Mol Gen Genet* 202 :53-61.

- 128. Rollet C, Gal L, Guzzo J. (2008).** Caractérisation physiologique et capacité de re-adhesion. 3ème Journées Thématiques Biofilms : Approches Experimentales et Moleculaires - 24, 25 juin – Dourdan.
- 129. Rosenbach F.J. (1884)** .Microorganismen bei den Wund-Infektions-Krankheiten des Menschen, Wiesbaden.
- 130. Rupp M.E, Archer G.L. (1994).** Coagulase-negative staphylococci: pathogens associated with medical progress. Clin Infect Dis :19:231–45.
- 131. Rupp M.E, Ulphani J.S, Fey P.D, Mack D. (1999).** Characterization of *Staphylococcus epidermidis* PIA/Hemagglutination in the pathogenesis of intravascular catheter-associated infection in a rat model. Infect Immun : 67(5):2656–9.
- 132. Sakoulas G, Eliopoulos G.M, Moellering R.C.Jr ,Wennersten C, Venkataraman L, Novick R.P , Gold H.S.(2002).** Accessory gene regulator (agr) locus in geographically diverse *Staphylococcus aureus* isolated with reduced susceptibility to vancomycin .Antimicrob .Agents Chemother .46,1492-1502.
- 133. Sauer K, Camper A.K, Eherlich G.D, Costerton J.W, Davies D.G. (2002).** *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. J. Bacteriol. 184, 1140-1154.
- 134. Sauer K. (2003).** The genomics and proteomics of biofilm formation. Genome Biol. 4, 219.
- 135. Shompole S, Henon K.T, Liou L.E, Dziewanowska K, Bohach G.A, Bayles K.W. (2003).** Biphasic intracellular expression of *Staphylococcus aureus* virulence factors and evidence for Agr-mediated diffusion sensing. Mol. Microbiol. 49, 919.
- 136. Silva (de) G.D.I, Kantzanou M, Justice A, Massey R.C, Wilkinson A.R, Day N.P.J, et al. (2002).** The ica operon and biofilm production in coagulase negative staphylococci associated with carriage and disease in neonatal intensive care unit. J Clin Microbiol 40(2):382–8.

137. **Silverstein A, Donatucci C.F. (2003).** Bacterial biofilms and implantable prosthetic devices. *Int. J. Impot. Res.* 15 Suppl 5, S150-154.
138. **Somerville G.A, Beres S.B, Fitzgerald J.R, DeLeo F.R, Cole R.L, Hoff J.S, Musser J.M. (2002).**In vitro serial passage of *Staphylococcus aureus*: changes in physiology, virulence factor production, and agr nucleotide sequence. *J. Bacteriol.* 184, 1430–1437.
139. **Stewart P.S, Costerton J.W. (2001).** "Antibiotic resistance of bacteria in biofilms." *Lancet* 358 (9276): 135-8.
140. **Sutherland I.W. (2001).** The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends Microbiol.* 9, 222-227.
141. **Tattevin P, Cremieux A.C, Pottier P, Hutten D, Carbon C. (1999).** Prosthetic joint infection: when can prosthesis salvage be considered? *Clin Infect Dis* 29:292-295.
142. **Timsit J.F. (2003).**Cathéters veineux centraux de réanimation . Réactualisation de XIIe Conférence de Consensus de la S.R.L.F –Réanimation .12 :258-256.
143. **Tolker-Nielsen T, Molin S. (2000).** Spatial organization of microbial biofilm communities.*Microb. Ecol.* 40: 75-84.
144. **Tomlin K.L, Malott R.J et al. (2005).** Quorum-sensing mutations affect attachment and stability of *Burkholderia cenocepacia* biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 5208- 5218.
145. **Utili R, Durante-Mangoni E, Tripodi M.F. (2007).** Infection of intravascular prostheses: how to treat other than surgery. *Int. J. Antimicrob. Agents* 30 S: S42- S50.
146. **Vafidis G.C, Marsh R.J, Stacey A.R. (1984).** Bacterial contamination of intraocular lens surgery. *Br J Ophthalmol.*68:520-3.
147. **Vandecasteeles S. J, Peetermans W.E ,Merchx R.R,Riginders B.J.A, Van Eldere J.(2003).**Reability of the ica , aap and atIE genes in the discrimination between invasive , colonizing and contaminant *Staphylococcus epidermidis* isolates in the diagnosis of catheter –related infections.*Clin.Microbiol.Infect.*9 :114 -119.

148. **Van der Mee-Marquet N, Domelier A.S, Girard N, Quentin R. (2004).** Bloodstream Infection Study Group of the Relais d'Hygiene du Centre. Epidemiology and typing of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bloodstream infections. *J Clin Microbiol* .42:5650-7.
149. **Vaudaux P.E, Pittet D, Haerberli A, Huggler E, Nydegger U.E, Lew D.P et al. (1989).** Host factors selectively increase Staphylococcal adherence on increased catheters- a role for fibronectin and fibrinogen or fibrin. *J infect Dis* .146 :479-82.
150. **Von Eiff C, Heilmann C, Peters G. (1999).** New aspects in the molecular basis of polymer-associated infections due to staphylococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.18:843-6.
151. **Von Eiff C, Peters G, Heilmann C. (2002).** Pathogenesis of infections due to coagulase negative staphylococci. *Lancet Infect Dis*.2:677-85.
152. **Vuong C, Saenz H.L, Gotz F, Otto M. (2000).** Impact of the agr quorum sensing system on adherence to polystyrene in *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis* 182 :1688-1693.
153. **Waters C.M, Bassler B.L. (2005).** Quorum sensing: cell-to-cell communication in bacteria. *Annu Rev Cell Dev Biol* 21: 319-346.
154. **Watnick P, Kolter R. (2000).** Biofilm: city of microbes. *J Bacteriol* .182 (10):2675–9.
155. **Wolz C, Oehlmann-Dietze P, Steinhuber A, Chien Y.T, Manna A, Van Wamel W, Cheung A (2000).** Agr –independent regulation of fibronectin –binding protein(s) by the regulatory locus sar in *Staphylococcus aureus*. *Mol. Microbiol*.36 :230-243.
156. **Xu K.D, McFeters G.A, Stewart P.S. (2000).** Biofilm resistance to antimicrobial agents. *Microbiol* . 146,547-549.
157. **Yarwood J.M. (2006).** Quorum-sensing-dependent regulation of staphylococcal virulence and biofilm development. In: *Bacterial Cell-to-Cell Communication: Role in Virulence and Pathogenesis*, D.R.

- 158. Ziebuhr W, Heilmann C, Gotz F, Meyer P, Wilms K, Straube E, et al. (1997).** Detection of the intercellular adhesion gene cluster (ica) and phase variation in *Staphylococcus epidermidis* blood culture strains and mucosal isolates. *Infect Immun.*65:890-6.
- 159. Zufferey J, Rime B, Francioli P, Bille J. (1988).** Simple method for rapid diagnosis of Catheter-associated infection by direct Acridine orange staining of catheter tips. *J Clin Microbiol.*26:175-7.

Annexes

Annexe1. Tableau de lecture de la galerie API Staph

Tests	Composants actifs	QTE (mg/cup)	Réactions /Enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	-
GLU	D-glucose	1,56	Témoin positif (D-GLUcose)	rouge	jaune
FRU	D-fructose	1,4	Acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	Acidification (D-ManiNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	Acidification (D-MALtose)		
LAC	D-lactose	1,4	Acidification (D-LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1,32	Acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	Acidification (D-MANnitol)		
XLT	Xylitol	1,4	Acidification (D-XyLiTol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	Acidification (D-MELibiose)		
NIT	Nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites		
				incolore-rose pale	Rouge
PAL	β -Naphylphosphate	0,0244	Phosphate ALcaline	ZYMA+ZYMB/10min	
				jaune	Violet
VP	Sodium pyruvate	1 ,904	Production d'acetyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	VP1+VP2/10min	
				Incolore-rose pale	Violet rose
RAF	D-raffinose	1,56	Acidification(RAFfinose)	Rouge	Jaune
XYL	D-xylose	1,4	Acidification(XYLoSe)		
SAC	D-saccharose	1,32	Acidification(SACcharose)		
MDG	méthyl- α D- glucopyranoside	1,28	Acidification(Méthyl- α D-Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl- glucosamine	1,28	Acidification(N-acétyl-Glucosamine)		
<u>ADH</u>	L-arginine	1 ,904	Arginine DHydrolase	Jaune	Orange-rouge
<u>URE</u>	urée	0,76	UREase	jaune	Orange-rouge

Annexe2. Tableau d'identification du catalogue analytique API Staph

API STAPH V4.1	0	GLU	FRU	MNE	MAL	LAC	TRE	MAN	XLT	MEL	NIT	PAL	VP	RAF	XYL	SAC	MDG	NAG	ADH	URE	LSTR
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	100	100	95	96	88	91	80	0	0	83	97	78	1	0	97	2	90	80	80	0
<i>Staphylococcus auricularis</i>	0	100	99	36	72	10	90	9	0	0	81	0	1	0	0	40	0	15	90	1	0
<i>Staphylococcus capitis</i>	0	100	99	80	43	22	2	36	0	0	86	23	90	0	0	50	0	1	85	35	0
<i>Staphylococcus capree</i>	0	100	99	70	10	75	74	10	0	0	99	95	99	0	0	0	0	1	99	60	0
<i>Staphylococcus carnosus</i>	0	100	100	99	0	99	99	99	0	0	99	83	83	0	0	0	0	100	100	0	0
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	0	100	100	99	79	100	100	13	0	0	96	96	1	0	1	100	0	31	89	95	0
<i>Staphylococcus cohnii ssp cohnii</i>	0	100	99	86	99	2	97	88	32	0	21	66	94	0	0	2	0	9	2	1	0
<i>Staph. cohnii ssp urealyticum</i>	0	100	100	99	98	98	100	94	64	0	1	94	87	0	0	0	0	98	0	99	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	100	99	70	99	81	2	0	0	1	80	84	68	1	0	97	4	18	73	88	0
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	0	99	75	5	99	80	91	60	0	1	78	3	57	0	0	98	13	83	85	1	0
<i>Staphylococcus hominis</i>	0	98	94	41	97	50	86	28	0	1	82	27	70	1	0	97	4	50	43	84	0
<i>Staphylococcus hyicus</i>	0	100	99	99	0	87	99	0	0	0	90	90	15	0	0	99	2	93	100	68	0
<i>Staphylococcus lentus</i>	0	100	100	100	100	100	100	100	7	99	92	21	57	100	100	100	28	100	0	1	0
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	0	100	89	88	99	66	99	0	0	0	99	16	99	0	0	100	0	90	1	50	0
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0	100	99	2	97	90	99	88	22	0	36	14	79	1	0	96	1	70	30	65	0
<i>Staphylococcus schleiferi</i>	0	100	80	100	0	1	71	0	0	0	99	97	99	0	0	0	0	94	99	0	0
<i>Staphylococcus sciuri</i>	0	99	99	99	99	70	93	98	0	0	83	67	30	0	16	95	7	68	0	0	0
<i>Staphylococcus simulans</i>	0	100	100	57	11	95	92	73	4	0	83	27	38	0	4	97	2	90	97	84	0
<i>Staphylococcus warneri</i>	0	99	99	60	98	19	96	70	0	0	23	16	90	0	0	99	0	6	77	97	0
<i>Staphylococcus xylosus</i>	0	100	100	92	81	85	95	90	30	9	82	75	67	11	82	87	10	80	5	90	0
<i>Kocuria kristinae</i>	0	99	96	99	90	9	84	3	0	0	6	3	93	0	0	90	12	0	0	0	97
<i>Kocuria varians/rosea</i>	0	91	92	8	1	1	8	1	0	0	75	4	8	4	8	4	0	1	1	29	95
<i>Micrococcus spp</i>	0	2	4	0	1	0	1	0	0	0	8	15	1	0	0	1	0	1	11	11	91

Annexe 3. Concentrations et diamètres critiques des antibiotiques utilisés (CASFM ,2008)

Antibiotiques		Symbole du disque	Charge du disque	concentration critique (mg/l)		diamètre critique (mm)	
				S	R	S	R
Beta-lactamines	Pénicilline	P	6µg	≤0.25	> 16	≥29	< 8
	Oxacilline	OX	5 µg	≤2	> 2	≥20	< 20
Aminosides	Streptomycine	S	10 µg	≤8	> 16	≥15	< 13
	Amikacine	AK	30 µg	≤8	> 16	≥17	< 15
	Tobramycine	Tob	10 µg	≤2	> 4	≥18	< 16
	Gentamicine	GN	15 µg	≤2	> 4	≥18	< 16
Macrolides	Erythromycine	E	15 µg	≤1	> 4	≥22	< 17
	Lincomycine	L	15 µg	≤2	> 8	≥21	< 17
Streptogramines	Pristinamycine	PM	15 µg	≤1	> 2	≥22	< 19
Phenicoles	Chloramphénicol	C	30 µg	≤8	> 16	≥23	< 19
Sulfamides Associations	Triméthoprime	CO	5 µg	≤4	> 8	≥16	< 22
Glycopetides	Vancomycine	VA	30 µg	≤4	> 8	≥17	-
Divers	Fosfomycine	FF	50 µg	≤2	> 16	≥22	< 15
	Acide fusidique	FA	10 µg	≤32	>32	≥14	< 14

**Annexe 4. Préparation de la gamme d'antibiotique Oxacilline et la vancomycine
(CA-SFM, 2008)**

Solution mère d'antibiotiques	Solution mère (ml)	Eau distillée (ml)	Concentration en tube (µg/ml)	Concentration en boîte (µg/ml)
5120	2	2	2560	256
5120	1	3	1280	128
5120	0.5	3.5	640	64
5120	0.5	7.5	320	32
320	2	2	160	16
320	1	3	80	8
320	0.5	3.5	40	4
320	0.5	7.5	20	2
20	2	2	10	1
20	1	3	5	0.5
20	0.5	3.5	2.5	0.25

Annexe 5. Composition du tampon phosphate salin (TPS) (Hamilton, 2003)

NaCl	137 mM
KCl	2,7 mM
Na ₂ HPO ₄	10 mM
KH ₂ PO ₄	1,76 mM
Eau distillée	1000 ml
pH	7,4

**1 fiche = 1 patient avec au moins
Un cathéter maintenu plus de 48h**

DONNEES ADMINISTRATIVES ET TERRAIN

Nom (Les 3 premières lettres) |_|_|_|_|
Prénom (Les 3 premières lettres) |_|_|_|_|
Sexe (|1| Masculin - |2| Féminin) |_|
Age
Date d'admission dans le service de |_|_|_| |_|_|_| |_|_|_|_|_| |jj/mm/aaaa

EVOLUTION DANS LE SERVICE

Patient décédé dans le service de réanimation (|1| Oui - |2| Non) |_|
Si oui, date de décès |_|_|_| |_|_|_| |_|_|_|_|_| |jj/mm/aaaa
Date de sortie du service |_|_|_| |_|_|_| |_|_|_|_|_| |jj/mm/aaaa
Date de fin de surveillance |_|_|_| |_|_|_| |_|_|_|_|_| |jj/mm/aaaa
(Si le patient est toujours dans le service en fin de surveillance)

Annexe 8. Résultats des antibiogrames

8 a. Profils d'antibiorésistance obtenus pour les souches *S. epidermidis* de portage nasal

Souche	P	OX	S	AN	Tob	GN	E	L	PM	C	TMP	VA	Fos	FA
SP01	R	R	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S
SP02	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S
SP03	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SP04	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S
SP05	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R
SP06	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R
SP07	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SP08	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SP09	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SP10	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
SP11	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
SP12	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SP13	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SP14	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SP15	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S
SP16	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S
SP17	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	S
SP18	R	R	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S
SP19	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S
SP20	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S
SP21	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SP22	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R
SP23	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
SP24	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S	S	R
SP25	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S
SP26	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SP27	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SP28	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S

8 b.Profils d'antibiorésistance obtenus pour les souches *S.epidermidis* responsables d'ILC

Souche	Service	P	OX	S	AN	Tob	GN	E	L	PM	C	TMP	VA	Fos	FA
SI01	Réanimation	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
SI02	Réanimation	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
SI03	Réanimation	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R
SI04	Réanimation	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
SI05	Réanimation	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
SI06	Réanimation	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S
SI07	Réanimation	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S
SI08	Réanimation	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S
SI09	Réanimation	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R
SI10	Réanimation	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R
SI11	Réanimation	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	R	R
SI12	Réanimation	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S
SI13	Réanimation	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
SI14	Réanimation	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
SI15	Réanimation	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R
SI16	Réanimation	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R
SI17	Néphrologie	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S	R	S	S	S
SI18	Néphrologie	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R
SI19	Néphrologie	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	R	R
SI20	Néphrologie	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	R	R
SI21	Néphrologie	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
SI22	Néphrologie	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
SI23	Néphrologie	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R
SI24	Néphrologie	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
SI25	Néphrologie	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R
SI26	Néphrologie	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
SI27	M interne	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	S
SI28	M interne	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S

**Annexe 9. Dépistage de la production de biofilm pour les souches isolées
par la méthode TCPet TM**

9 a. Détection de biofilm pour les souches de portage nasal

Souche	TCP	TM
SP01	Non	Non
SP02	Modérée	Elevée
SP03	Non	Modérée
SP04	Modérée	Non
SP05	Non	Modérée
SP06	Elevée	Modérée
SP07	Non	Modérée
SP08	Elevée	Non
SP09	Non	Non
SP10	Non	Non
SP11	Non	Non
SP12	Non	Non
SP13	Non	Non
SP14	Non	Non
SP15	Non	Non
SP16	Non	Non
SP17	Non	Modérée
SP18	modérée	Non
SP19	Modérée	Elevée
SP20	Non	Non
SP21	Elevée	Elevée
SP22	Modérée	Modérée
SP23	Non	Elevée
SP24	Non	modérée
SP25	Elevée	Non
SP26	Modérée	Non
SP27	Non	Non
SP28	Non	Non

9 b. Détection de biofilm pour les souches responsables d'ILC par la méthode TCP et TM

Souche	Service	Type de cathéter	Durée de cathéterisme (jours)	TCP	TM
SI01	Réanimation	KTC(jugulaire)	07	Elevée	Elevée
SI02	Réanimation	KTP	04	Modérée	Elevée
SI03	Réanimation	KTC(jugulaire)	09	Modérée	Non
SI04	Réanimation	KTC(s/clavier)	03	Non	Modérée
SI05	Réanimation	KTC(jugulaire)	07	Modérée	Elevée
SI06	Réanimation	KTC(s/clavier)	02	Modérée	Modérée
SI07	Réanimation	KTC(jugulaire)	08	Non	Elevée
SI08	Réanimation	KTC(jugulaire)	15	Modérée	Modérée
SI09	Réanimation	KTC(s/clavier)	02	Modérée	Non
SI10	Réanimation	KTC(jugulaire)	12	Elevée	Elevée
SI11	Réanimation	KTP	03	Modérée	Modérée
SI12	Réanimation	KTC(s/clavier)	03	Modérée	Elevée
SI13	Réanimation	KTP	15	Elevée	Elevée
SI14	Réanimation	KTP	02	Elevée	Non
SI15	Réanimation	KTC(s/clavier)	05	Elevée	Modérée
SI16	Réanimation	KTC(jugulaire)	10	Modérée	Modérée
SI17	Néphrologie	KTC(jugulaire)	06	Modérée	Modérée
SI18	Néphrologie	KTC(jugulaire)	30	Non	Non
SI19	Néphrologie	KTC(femoral)	12	Elevée	Elevée
SI20	Néphrologie	KTC(jugulaire)	30	Modérée	Modérée
SI21	Néphrologie	KTC(jugulaire)	37	Elevée	Non
SI22	Néphrologie	KTC(jugulaire)	35	Modérée	Modérée
SI23	Néphrologie	KTC(jugulaire)	15	Elevée	Elevée
SI24	Néphrologie	KTC(jugulaire)	28	Modérée	Modérée
SI25	Néphrologie	KTC(jugulaire)	10	Elevée	Modérée
SI26	Néphrologie	KTC(jugulaire)	30	Modérée	Non
SI27	M interne	KTP	05	Modérée	Modérée
SI28	M interne	KTP	07	élevée	Non

