

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

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

THESE

Présentée par

Mme KARA TERKI Ibtissem

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat LMD en Biologie cellulaire et biochimie
Option : maîtrise du développement microbien

Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen

Soutenu le .../.../...

Devant le jury

Président	Abdelouahid D.E	Professeur	U. de Tlemcen
Directrice de thèse	Hassaine H.	Professeur	U. de Tlemcen
Examinatrice	Boucherit Otmani Z.	Professeur	U. de Tlemcen
Examineur	Timinouni M	Professeur	Institut Pasteur Maroc
Examinatrice	Bendali F.	Docteur	Univ. De Bejaia
Examineur	Youcefi M.J	Docteur	E.H.U d'Oran

Année Universitaire : 2013-2014

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes parents,

Sans qui je ne serai pas là aujourd'hui. Tout ce que j'ai accompli dans ma vie, c'est grâce à vous, à votre soutien, votre amour et vos sacrifices. Merci infiniment...

A mon époux Sofiane pour sa patience, son soutien permanent et pour n'avoir jamais douté de moi, même dans les moments difficiles mais surtout pour m'avoir supporté ces derniers mois.

A ma petite Neyla, qui illumine mes journées en toutes circonstances.

A ma sœur Nesrine et mon frère Nassim pour leurs disponibilités, leurs soutiens moral, leurs encouragements incessants et pour leurs compréhensions.

A ma belle-famille pour leurs encouragements et leurs compréhensions. Que Noria et Hinda soient particulièrement remerciées.

A mes deux grand- mère qui resteront à tout jamais dans mon cœur

Enfin je désire remercier très sincèrement toute ma famille : oncles, tantes cousines et mes amis pour leurs soutiens sans faille.

Que ce travail soit une part de ma reconnaissance envers vous.

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédicale et à l'environnement (LAMAABE), université ABOU BEKR BELKAID de Tlemcen.

Je remercie le professeur Moussa-Boudjemaa Boumediène directeur du laboratoire LAMAABE et responsable de la formation doctorale « Maitrise du développement microbien » de nous avoir permis de réaliser ce travail au sein du laboratoire.

J'exprime mes profonds remerciements à ma directrice de thèse, Madame le professeur Hassaine Hafida de l'université Abou BekrBelkaid, pour sa grande disponibilité, son écoute et son suivi tout au long de ce travail. Ainsi que pour sa patience et sa compréhension des situations diverses et variées et son encouragement à finir ce travail. Son œil critique m'a été très précieux pour structurer le travail et pour améliorer la qualité des différentes sections. Je désire qu'elle trouve dans ces mots toute ma reconnaissance pour ses précieux conseils.

Un grand merci à Monsieur le professeur Adbelouahid Djamel Eddine de l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen pour avoir accepté de présider le jury de cette thèse.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à Madame le Professeur Bouchrit Otmani Zahia, de l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail en acceptant d'en être l'une des examinatrices.

Je suis très reconnaissante à Monsieur Timinouni Mohammed responsable du laboratoire de Bactériologie Moléculaire de l'Institut Pasteur du Maroc pour l'intérêt porté à ce travail et pour avoir accepté d'en être l'un des rapporteurs de cette thèse ; Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je réserve un merci très précieux à Monsieur le Docteur Youcefi mostefa jamel Maître de conférence A, médecin chef de service d'Urologie EHU Oran, faculté de Médecine Oran, d'avoir accepté de juger ce travail, je suis très honorée qu'il fasse partie de ce jury.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Madame le professeur Bendali Farida de l'Université de Bejaia qui m'a fait l'honneur de participer au jury et d'examiner cette thèse.

Tous mes remerciements vont aussi à l'équipe du laboratoire de Bactériologie Moléculaire de l'Institut Pasteur du Maroc pour leur indispensable collaboration et le temps qu'ils ont consacré à réaliser mes PCR.

Je remercie également le personnel du CHU de Tlemcen pour leurs collaborations.

Enfin je désire remercier très sincèrement toute ma famille, mes amis pour leur soutien sans faille, leurs encouragements et leurs compréhensions.

TABLE DES MATIERES

Introduction.....	1
Partie I. Synthèse bibliographique.....	3
Chapitre I : Sonde urinaire et risques infectieux.....	3
1. Définition des infections urinaires associées aux soins.....	3
2. Définition du sondage urinaire.....	3
3. Physiopathologie des infections associées au sondage urinaire.....	4
4. Mécanismes d'acquisition d'une IUN en présence de sonde.....	5
4.1 Lors de la mise en place de la sonde.....	5
4.2 Par voie endoluminale.....	5
4.3 Par voie extraluminale ou périurétrale.....	5
5. Facteurs de risques d'infections associées aux sondages urinaires.....	6
Chapitre II : Les staphylocoques.....	7
1. Généralités.....	7
2. Caractères phénotypiques et cultureux.....	7
3. Transmission et facteurs de risques.....	8
4. Facteurs de virulence.....	8
4.1 Toxines.....	9
4.1.1 Des toxines à action membranaires ou pore-forming-toxins (PFTs)...	9
4.1.2 Des toxines qui agissent à distance du foyer infectieux.....	10
4.2 Les enzymes.....	10
4.3 Les protéines de surface ou facteurs d'adhérence (MSCRAMM).....	11
5. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques.....	12
Chapitre III : Les Biofilms.....	14
1. Découverte et définition des biofilm à staphylocoques.....	14
2. Architecture et mécanisme de la formation du biofilm à staphylocoques.....	14
2.1 Etapes de formations de biofilm chez les staphylocoques.....	15
2.1.1 Attachement initial.....	16
2.1.2 Accumulation.....	16
2.1.3 Détachement du biofilm.....	19
2.2 La régulation moléculaire en biofilm chez les staphylocoques.....	20

2.2.1	Le système “Accessory Gene Regulator” (AGR).....	20
2.2.2	Le système <i>Sar</i> « Staphylococcal Accessory gene Regulator ».....	21
3.	Résistance des biofilms aux antibiotiques.....	21
3.1	Présentation de la résistance.....	21
3.1	Mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques.....	22
Partie II.	Matériel et Méthodes.....	24
1.	Lieu d’étude.....	24
2.	Prélèvements.....	24
2.1	Prélèvement des urines.....	24
2.2	Prélèvement des sondes urinaires	25
3.	Dénombrement et ensemencement.....	25
3.1	Analyse des urines.....	25
3.2	Analyse des sondes urinaires.....	26
4.	Isolement et identification des souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires.....	26
5.	Purification et conservation des souches isolées	27
6.	Étude de l’antibiorésistance.....	28
7.	Caractérisation du pouvoir Toxinogène des souches staphylococciques.....	28
8.	Détection du biofilm.....	32
8.1	Méthode de Plaque de culture de tissus (TCP).....	32
8.2	Effet du glucose et du saccharose sur la formation de biofilm.....	33
8.3	Méthode du rouge Congo agar (RCA).....	33
8.4	Méthode en tube.....	34
9.	Recherche des gènes <i>ica A /icaD</i> impliqués dans la formation de biofilm.....	34
10.	Etat de résistance aux antibiotiques des souches de staphylocoques sous forme Biofilm.....	35
10.1	Détermination de la Concentration minimale inhibitrice (C.M.I).....	35
10.2	Détermination de la Concentration minimale inhibitrice du biofilm (CMIB)...	36
Partie III.	Résultats et discussion.....	37
1.	Résultats des prélèvements.....	37
1.1	Résultats des analyses urinaires.....	37
1.2	Résultats de l’analyse bactériologique des sondes urinaires.....	43
1.2.1	Caractères phénotypiques des staphylocoques isolés.....	43

1.2.2 Répartition des souches.....	44
2. Niveau de sensibilité des souches de staphylocoques isolées de sondes.....	48
3. Recherche des toxines staphylococciques.....	53
4. Détection et évaluation de la formation du biofilm.....	57
4.1 Résultats de la technique RCA.....	58
4.2 Résultat de la TCP.....	60
4.3 Effet du glucose et du saccharose sur la formation de biofilm par la technique TCP.....	62
4.4 Résultats de la technique TM.....	64
5. Détection des gènes <i>ica A</i> et <i>ica D</i>	66
6. Relation entre la présence des gènes <i>ica A</i> et <i>ica D</i> et la formation de biofilm par les techniques TCP et RCA.....	68
7. Relation entre production de toxines, formation de biofilm et présence des gènes <i>ica A /icaD</i>	72
8. Relation entre la production de biofilm et l'antibiorésistance : détermination de la CMI et CMIB.....	74
Conclusion générale.....	81
Références.....	84
Annexes	

Liste des Tableaux

Tableau 1: Facteurs de risques des infections urinaires associées aux sondages.....	6
Tableau2: Mécanismes de résistance des staphylocoques aux antibiotiques.....	13
Tableau3: Les gènes toxiques recherchés.....	29
Tableau 4: Séquences de certains gènes toxiques recherchés.....	31
Tableau 5: Conditions d'amplification des gènes toxiques.....	32
Tableau 6: Classification de l'adhérence bactérienne par la technique TCP.....	33
Tableau 7: Résultats de l'analyse bactériologique des urines des 250 patients sondés...	37
Tableau 8: Nombre de patients infectés en fonction de la durée de sondage urinaire....	39
Tableau 9: Nombre de patients infectés en fonction de l'âge.....	40
Tableau 10: Caractéristiques générales des patients étudiés.....	42
Tableau11: Les différents biotypes des <i>Staphylocoque Spp</i> isolés de sondes urinaires.	46
Tableau 12: Taux de résistance des staphylocoques isolés de sondes urinaires	51
Tableau 13: Les différents gènes toxiques retrouvés chez les staphylocoques étudiés.	55
Tableau14: Les gènes isolés chez les différents genres de <i>Staphylococcus Spp</i>	56
Tableau 15: Résultats de la formation du biofilm selon les espèces de <i>Staphylococcus spp.</i> , par la technique RCA.....	59
Tableau 16: Résultats de la formation du biofilm selon les espèces de <i>Staphylococcus spp.</i> , par la technique TCP.....	61
Tableau17: Classification du biofilm formé par les souches <i>Staphylococcus., spp</i> isolées de sondes urinaires par la techniques TCP.....	61
Tableau 18: Résultats de la formation du biofilm selon les espèces de <i>Staphylococcus spp.</i> , par la technique TM.....	64
Tableau19: Classification du biofilm formé par les souches de <i>Staphylococcus., spp</i> isolées de sondes urinaires par les techniques TCP et TM.....	65
Tableau20: Répartition des gènes <i>icaA</i> et <i>icaD</i> chez les souches de <i>Staphylococcus Spp</i> étudiées.....	66
Tableau 21: Relation entre la production de biofilm et la présence des gènes <i>ica A</i> et <i>icaD</i>	69
Tableau 22: Relation entre production de toxines et présence des gènes <i>ica A /icaD</i>	73
Tableau 23: Relation entre antibiorésistance et présences des gènes <i>ica A /ica D</i>	76
Tableau 24: Valeurs de la CMI et CMIB des souches de <i>Staphylococcus spp</i> isolées de sondes urinaires.....	78

Liste des Figures

Figure1: Facteurs de virulence chez <i>Staphylococcus aureus</i>	9
Figure2: Organisation structurale des protéines de surfaces de <i>S.aureus</i>	11
Figure3: Visualisation par microscopes confocale de <i>Staphylococcus spp</i> sur un implant médical.....	14
Figure 4: Etapes de formation de biofilm chez les staphylocoques.....	14
Figure5: Structure de l'adhésine polysaccharidique intercellulaire (PIA).....	17
Figure 6 : Synthèse de l'adhésine polysaccharidique PIA.....	19
Figure7 : Les trois mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques.....	23
Figure 8 : Schéma indiquant le site de prélèvement d'urine de la sonde urinaire.....	25
Figure 9 : Nombre des genres bactériens isolés des urines de patients sondés.....	38
Figure 10 : Répartition des infections urinaires en fonction des services.....	41
Figure11 : Photo de <i>Staphylococcus aureus</i> isolé de sondes urinaires.....	43
Figure12 : Distribution des bactéries isolées de sondes urinaires.....	44
Figure 13 : Répartition des espèces de staphylocoques isolées de sondes urinaires.....	46
Figure 14 : Profil de résistances aux antibiotiques des souches de staphylocoques isolées de sondes urinaire au CHU de Tlemcen.....	49
Figure15 : Comparaison des profils de résistances de souches de <i>S.aureus</i> et de staphylocoque à coagulase négatives (SCN) isolées de sondes urinaires	49
Figure 16 : Photos de l'antibiogramme.....	50
Figure 17: Révélation après migration sur gel d'agarose des gènes toxiques amplifiés par PCR multiplex 5 : gènes recherchés, <i>etd</i> , <i>sell</i> et <i>selo</i>	54
Figure 18 : Révélation après migration sur gel d'agarose des gènes toxiques amplifiés par PCR multiplex 1: gènes recherchés, <i>lukM</i> , <i>seh</i> , <i>selm</i> et <i>tst</i>	54
Figure 19 : Production de slime chez les staphylocoques isolés sur milieu rouge congo.....	59
Figure 20 : Formation de biofilm par la technique TCP.....	60
Figure21 : Formation de biofilm par <i>Staphylococcus spp</i> par la technique TCP dans les différents milieux.....	63
Figure 22 : Formation de biofilm par la technique TCP chez les staphylocoques isolés de patients diabétiques au CHU de Tlemcen.....	63
Figure 23 : Résultats de la détection des gènes <i>ica A</i> et <i>icaD</i> par PCR.....	67

Figure 24: Etat de résistance des souches formatrices de biofilm et les non formatrices par la technique TCP.....	75
Figure25: Etat de résistance des souches productrices de slime et les non productrices sur milieu RCA.....	75
Figure 26: Comparaison entre les valeurs de la CMI et CMIB de 44 staphylocoques isolés de sondes urinaires pour 3 antibiotiques. A : Oxacilline, B : Gentamicine et C : Ofloxacine.....	79
Figure 27 : CMI de <i>Staphylococcus spp</i>	80

Liste des abréviations

Agr: Accessory gene regulator

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CMIB : Concentration Minimale Inhibitrice du Biofilm

Ica : Inter Cellular Adhesion

IcaR : Inter Cellular Adhesion Repressor

IN : Infection Nosocomiale

IU : Infection Urinaire

IUN : Infection Urinaire Nosocomiale

IUSV : Infection Urinaire sur Sonde Vésicale

MSCRAMM : Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules

PIA : Polysaccharide Intercellular Adhesin

PLP : Protéine Lien Pénicilline

PCR: Polymerase Chain Reaction

RCA : Méthode du rouge Congo agar

Sar: Staphylococcal accessory regulator

SCN: Staphylocoques a coagulase négative

TM : Méthode en tube

TCP : Méthode de Plaque de culture de tissus

Introduction

L'OMS estime qu'entre 5 et 12 % des patients hospitalisés dans le monde développent une infection nosocomiale associée aux soins (IAS) dont plus de 60 % sont dues à l'implantation d'un dispositif médical ou chirurgicale (**Ebrey et al., 2004**).

Le sondage urinaire est souvent indispensable à la médecine actuelle et durant leurs prise en charge, la plus part des malades hospitalisés sont exposés à cet acte (**Espinasse et al., 2010**).

Cependant, l'implantation temporaire de ce dispositif médical est souvent associé à un risque infectieux non négligeable avec des effets négatifs sur la durée d'hospitalisation, le taux de mortalité et les coûts hospitaliers (**Gad et al., 2009**).

Les microorganismes les plus fréquemment à l'origine des infections urinaires sur sonde restent dans 60 % des cas les entérobactéries de la flore digestive du patient avec prédominance *Escherichia coli* [(**Mimoz, 2001**) ; (**Espinasse et al., 2010**)].

Les infections urinaires à *Escherichia coli* diminuent régulièrement depuis 10 ans. Cette décroissance se fait au profit d'autres germes notamment les micro-organismes à Gram-positifs tel que les staphylocoques (**Nicolas et al., 1997**).

En effet, l'importance des staphylocoques comme uropathogènes est très peu présentée dans la littérature, certains cliniciens les prennent pour des saprophytes et très rarement pour des causes de maladies. Or actuellement ils sont la cause d'infections nosocomiales et de graves inflammations notamment les uro-infections [(**Felmingham et al., 1992**) ; (**Tokunada et al., 1995**) ; (**Aksungur et al., 1998**)].

Les staphylocoques constituant normaux de la microflore cutanée et muqueuse sont fréquemment isolés d'infections urinaires sur sondes. Ces infections contractées à l'hôpital impliquent le plus souvent la formation d'un biofilm résistant aux agents antimicrobiens et aux défenses immunitaires de l'hôte. D'après le RAISIN (Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales en France), 65% des infections bactériennes sont dues à la formation des biofilms qui constituent un véritable problème de santé publique (**Espinasse et al., 2010**).

Dans un souci d'une meilleure connaissance des infections à staphylocoques sur sondes urinaires dans quelques services du CHU Tlemcen, le but de ce travail est de :

- Rechercher et détecter l'infection urinaire nosocomiale sur sonde urinaire
- Identifier et caractériser les différents genres bactériens en cause et plus particulièrement les staphylocoques.

- Connaitre et étudier quelques facteurs de pathogénicité, antibioresistance et gènes toxiques par une analyse génotypique chez les espèces de *Staphylococcus* isolées.
- Evaluer la capacité des souches de *Staphylococcus* isolées à adhérer et à former un biofilm sur sondes urinaires.
- Rechercher les gènes impliqués dans la formation du biofilm chez les espèces de *Staphylococcus* isolées.

Ce manuscrit comporte deux parties :

La première partie est consacrée à une synthèse bibliographique. Le premier chapitre décrit les sondes urinaires et leurs implications dans les infections chroniques nosocomiales. Un second chapitre est consacré aux staphylocoques, leurs différents facteurs de virulence et résistance aux antimicrobiens et le troisième chapitre aux biofilms à staphylocoques, ses différentes étapes de formations et sa résistance aux antibiotiques.

La seconde partie est réservée à la présentation des résultats de nos travaux expérimentaux. Dans un premier temps, on étudie la répartition des staphylocoques isolés de sondes urinaires au CHU de Tlemcen et leurs caractéristiques. Dans une deuxième partie on étudie la résistance aux antibiotiques des staphylocoques sur sondes et leurs productions de toxines. La dernière partie porte sur la formation de biofilms par ces souches et les gènes impliqués.

Chapitre I : Sonde urinaire et risque infectieux

1. Définition des infections urinaires associées aux soins

Les infections urinaires nosocomiales (IUN) représentent 40% et occupent le premier rang de l'ensemble des infections nosocomiales (**Ben Arab et al., 2007**).

L'infection urinaire est définie par une multiplication microbienne au sein des voies urinaires associée à une réaction inflammatoire locale (**Riegel, 2002**), elle résulte d'un déséquilibre entre les défenses naturelles de l'hôte et le pouvoir pathogène des agents infectieux (**Pavese, 2003**).

On estime qu'environ 80 % à 85 % des infections urinaires sont associées à la réalisation d'un acte de soins thérapeutique ou de diagnostique sur la sphère urogénitale. En effet, on considère qu'entre 1 et 5 patients admis lors d'un court séjour seront exposés à un sondage vésical [(**Alfandari, 2003**) ; (**Espinasse et al., 2010**)].

2. Définition du sondage urinaire

Le sondage vésical est défini par l'introduction aseptique d'une sonde stérile dans la vessie par l'urètre (**Zargo-Goni, 2003**).

Le sondage est utilisé pour permettre l'évacuation des urines en cas de rétention chronique, d'incontinence, ou dans un but thérapeutique (**Matillon, 1999**).

Il est admis qu'un sondage évacuateur simple est peu infectant, son risque infectieux a été estimé à 4% environ. En revanche, une sonde laissée chez un patient se colonise de façon systématique en moins de dix jours. En effet, le risque infectieux est évalué de 5 à 10% par jour de sondage. Ce risque est aggravé par la manipulation de la sonde et il est globalement réduit de 20% si le système de sondage est clos (**Lecomte et Lebeau, 1999**).

Le système est dit clos quand la jonction sonde-ligne de drainage n'est jamais déconnectée. Pour réaliser une gestion en système clos, il est nécessaire d'utiliser un sac collecteur d'urine possédant les 3 éléments suivants : une vidange (afin de ne pas changer de poche), une valve anti-reflux (pour éviter les contaminations rétrogrades) et un site ponctionnable (**Parneix et al., 1995**). Le sondage clos semble retarder l'apparition d'une bactériurie mais ne la prévient pas. La bactériurie est inéluctable en présence d'une sonde à demeure (**De Sèze et al., 2002**).

Par contre, le système ouvert est caractérisé par les déconnexions itératives au niveau de la jonction sonde-poche pour changer ou vider la poche de recueil ou pour prélever de l'urine. Dans de telles conditions, 100 % des patients ont une bactériurie dès le 4^{ème} jour du sondage (**Boulard et al., 1992**).

3. Physiopathologie des infections associées au sondage urinaire

La compréhension de la physiopathologie des infections urinaires aide certainement beaucoup à leurs prises en charge pratique, tant préventive que curative (**Caron, 2003**).

Chez l'homme, le tractus urinaire est stérile à l'exception de la partie la plus distale de l'urètre qui constitue un milieu favorable à la croissance bactérienne (**Léone et al., 1999**).

La longueur de l'urètre intervient à l'évidence protégeant l'homme beaucoup mieux que la femme. Si cet obstacle se trouve franchit, les caractéristiques physicochimiques de l'urine normale (osmolarité, pH, teneur en acides organiques) rendent difficile la croissance de la plupart des germes colonisant l'urètre (**Caron, 2003**).

La miction permet d'éliminer presque en totalité les organismes ayant pénétré dans le tractus urinaire et dépose un film d'urine bactéricide sur les parois de la vessie (**Léone et al., 1999**).

Le mucus vésical est bactéricide grâce à une immunité humorale; les protéines de Tamm-Horsfall recouvrent l'épithélium vésical et diminuent l'adhérence bactérienne (**Pavese, 2003**).

Le sondage vésical ou toute autre manœuvre invasive altère ces mécanismes physiologiques de défense et facilite la colonisation microbienne, première étape du développement d'une infection urinaire sur sonde (IUSV).

La sonde urinaire perturbe aussi le cycle du fonctionnement normal de la vessie ; celle-ci se remplit jusqu'à atteindre un volume critique qui déclenche la vidange, l'urètre collabé s'ouvre alors pour permettre le passage de l'urine. A la fin de la miction, la vessie est vidée et le collapsus vésical a en lui-même un effet protecteur contre l'infection. La présence de la sonde perturbe ce cycle normal en le remplaçant par un flux d'urine continu. Ni la vessie ni l'urètre ne peuvent se collaber du fait de la présence du ballonnet de la sonde dans la vessie et de la sonde elle-même dans l'urètre. Celle-ci, par la pression qu'elle exerce sur la paroi urétrale est responsable de troubles de la vascularisation à l'origine de micro-traumatismes muqueux urétraux. Au niveau vésical, le ballonnet génère des petites ulcérations de la muqueuse qui altèrent le film protecteur et sont autant de portes d'entrées pour les germes (**Butreau-Lemaire et Botto, 1997**).

La sonde permet l'adhésion et la remontée des micro-organismes dans la vessie. En présence d'un matériel étranger, l'épithélium vésical 2 à 4 j avant la bactériurie se modifie favorisant l'adhésion des bactéries (**Berthelot et al., 2002**).

Ainsi, l'infection urinaire sur sonde voit coexister deux types de populations bactériennes : d'une part celle développée au sein de l'urine elle-même (développement "planktonic") et

d'autre part celle développée sur la surface de la sonde (développement sur biofilm) (**Butreau-Lemaire et Botto, 1997**).

4. Mécanismes d'acquisition d'une I.U.N en présence de sonde

Trois modes d'acquisition des infections urinaires nosocomiales sur sonde ont été décrits, pouvant s'associer chez un même patient avec deux modes nettement prééminents : la voie endoluminale et la voie extraluminale ou péri-urétrale (**Caron, 2003**).

4.1 Lors de la mise en place de la sonde

Même lorsque les mesures d'asepsie sont strictement respectées, les bactéries colonisant le périnée et l'urètre peuvent être introduites directement dans la vessie lors du sondage entraîné par la surface externe de la sonde. De ce fait, Maki qualifie cette voie « d'extraluminale précoce » (**Caron, 2003**).

4.2 Par voie endoluminale

Se fait par l'ascension de germes à partir du sac de drainage. Jadis dominante avec les « systèmes ouverts » elle est possible si il y a violation du système clos (**Garnier et al., 2005**).

4.3 Par voie extraluminale ou périurétrale

Depuis l'instauration des systèmes clos, cette voie de contamination est largement dominante. Ce mode de contamination implique des bactéries d'origine digestive qui colonisent le méat puis migrent progressivement vers l'urètre et la vessie par capillarité dans le fin film muqueux contigu à la surface externe de la sonde (**Botto, 2003**).

5. Facteurs de risques d'infections associées aux sondages urinaires

Plusieurs études prospectives ont identifiés des facteurs de risques associés à l'IUN (Tableau1). Les deux facteurs ressortant de manière quasi-constante sont la durée de cathétérisme et le sexe féminin. Un facteur est retrouvé par plusieurs études, la présence d'une antibiothérapie systémique pendant la durée du sondage.

Tableau 1: Facteurs de risques des infections urinaires associés au sondage.

Facteurs de risques	Références
durée de Sondage	(Caron, 2003)
Sexe : le risque est deux fois plus élevé chez la femme	(Mchich, 2002)
Age supérieur à 50 ans	(Mchich, 2002)
conditions sous-jacentes (traumatisme de la moelle, vidange vésicale incomplète, sondage vésical itératif, diarrhée nosocomiale chez les patients sondés).	(Samou, 2005)
Le diabète	(Butreau-Lemaire et Botto, 1997)
L'antibiothérapie	(Ben Arabet <i>al.</i>, 2007)
État général du patient	(Lobel, 2003)
L'hospitalisation en unité de soins intensifs (USI)	(Butreau-Lemaire et Botto, 1997)

Chapitre II : Les staphylocoques

1. Généralités

Les premières descriptions des staphylocoques (bactéries en forme de coques) isolés à partir de pus d'abcès datent de 1871 mais ce n'est que quelques années plus tard que ces travaux permettront de proposer un nom à la bactérie rencontrée. Ainsi en 1878, Robert Koch en Allemagne et Louis Pasteur en 1880 en France décrivent des grappes de coques dans du pus d'origine humaine. La même année, en Ecosse, Alexander Ogston propose le nom « *Staphylococcus* » (staphylê : grappe et kokkos : grain) car les bactéries se regroupent en amas irréguliers ressemblant à une grappe de raisin. Enfin, en 1884, en Allemagne, Anton Julius Friedrich Rosenbach donne la première description du genre *Staphylococcus* en cultivant les bactéries sur milieu solide. Il différencie ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments produits par les colonies (**Hennekinne, 2009**). Plus d'un siècle plus tard les staphylocoques restent un dangereux pathogène humain (**Jidar, 2007**).

Les staphylocoques sont des germes ubiquitaires et commensaux (**Davido, 2010**), ils représentent près de 50% des bactéries aérobies isolées sur la tête, les aisselles, les bras, les jambes et dans les narines. Ils jouent un rôle important dans l'équilibre physico-chimique de la peau et constituent une barrière contre les bactéries de la flore transitaire.

Leurs distributions sur la peau n'est pas uniforme. Il existe des niches préférentielles qui témoignent d'une adaptation de certaines espèces aux différentes régions de la peau (**Corbière Morot-Bizot, 2006**).

2. Caractères phénotypiques et culturels

Le genre *Staphylococcus* présente des cellules immobiles sphériques de 0,5 à 2,5 µm de diamètre, isolées par paires ou en amas. Ces coques à Gram positif possèdent des caractéristiques physiologiques communes. Ils sont chimio-organotrophes, aérobies ou anaérobies facultatifs, possèdent une catalase, ils sont immobiles et ne produisent pas de spores, non exigeant et peuvent donc être cultivés sur milieux liquides ou solides riches en NaCl, à des conditions de pH et de température variables (**Trouillet, 2011**).

Sur gélose Columbia additionnée de sang de mouton (5 %) d'acide nalidixique et de colistine (ANC), les colonies sont lisses, brillantes, bombées et rondes (**Tchougoune, 2007**).

Les staphylocoques sont généralement différenciés en deux groupes sur la base de leurs capacités à produire une coagulase libre, les staphylocoques à coagulase positive

(*Staphylococcus aureus*) au pouvoir pathogène bien démontré du groupe des staphylocoques à coagulase négative (SCN) considérés comme pas ou peu pathogènes (**Aouati, 2009**).

3. Transmission et facteurs de risques

Les staphylocoques sont parmi les agents les plus fréquemment isolés d'infections nosocomiales. Le contact direct reste le mode de transmission principal, il est aussi possible par le biais d'objets divers (**Jidar, 2007**).

Les facteurs de risques favorisant le portage et les infections à staphylocoques sont :

- L'immunodépression.
- La présence de dispositifs médicaux tels que les cathéters veineux périphériques et centraux, les sondes urinaires, les valves cardiaques, les prothèses orthoptiques...
- la résistance aux antibiotiques (**Arifur, 2011**).
- le sexe masculin, le diabète, l'alcoolisme, l'insuffisance rénale terminale, la dialyse, certaines dermatoses chroniques (eczéma, psoriasis), l'obésité et les antécédents neurovasculaires (**Merlet, 2010**).

4. Facteurs de virulence

Les facteurs de virulence identifiés sont nombreux chez les staphylocoques. Ils sont codés par des gènes localisés sur le chromosome ou sur les éléments génétiques mobiles (Figure1) (**Fomba, 2006**). Ces facteurs codent pour des protéines de surface ou des exoprotéines et permettent à la bactérie de combattre le système immunitaire, d'adhérer aux cellules, de se disséminer dans le corps mais aussi d'utiliser les nutriments et l'énergie disponible (**Chevalier, 2009**).

Les staphylocoques ont aussi des facultés d'adhésion aux structures inertes (corps étrangers, prothèses) et de production d'un biofilm qui est le principal facteur de virulence de ces bactéries (**Burin Des Rozier, 2002**).

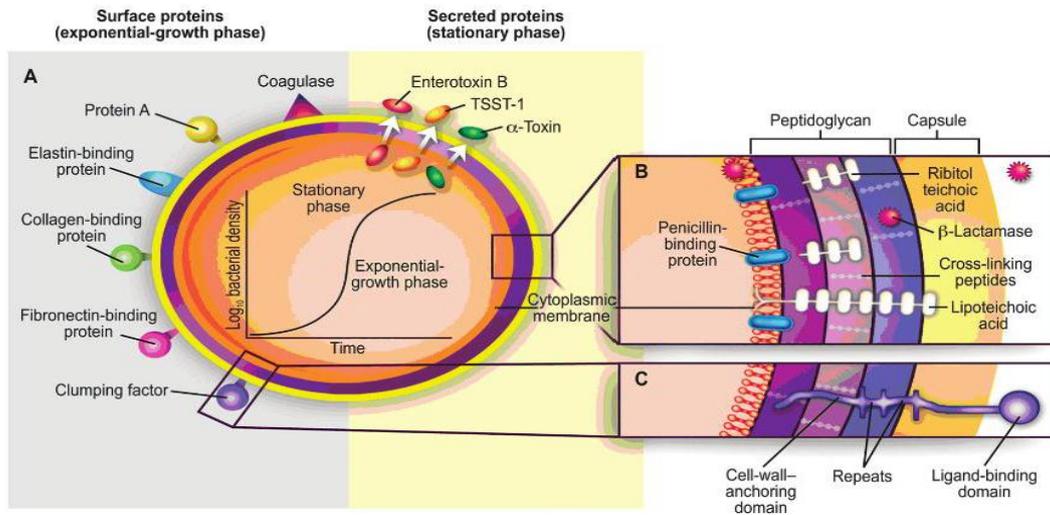


Figure1 : Facteurs de virulence chez *Staphylococcus aureus* (Al alam, 2008).

4.1 Toxines

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 (Bisognano, 2000).

4.1.1 Des toxines à action membranaire ou pore-forming-toxins (PFTs)

Ces toxines sécrétées par la bactérie sous forme de facteurs lipidiques ou protéiques formant des pores au niveau de la membrane cellulaire de l'hôte infesté (Davido, 2010).

- **l'alpha-toxine** qui est un facteur majeur de virulence agit sur les plaquettes et les monocytes en provoquant la libération des cytokines et autres médiateurs de l'inflammation et peut entraîner un choc septique. Elle agit aussi en détruisant les cellules endothéliales ce qui favorise la dissémination des bactéries et les métastases infectieuses à distance (Gras, 2006).
- **la bêta-toxine** est synthétisée chez seulement 18% des souches de *S. aureus* d'origine humaine. On ne connaît pas réellement son rôle dans les pathologies humaines où elle détruit sélectivement les monocytes (Walev et al., 1996).
- **la delta-toxine** elle est enzymatique et agit comme un détergeant sur les membranes biologiques (Aouati, 2009).

- **la leucocidine de Panton et Valentine (PVL)** présente des activités cytotoxiques au niveau des leucocytes en induisant la libération progressive de médiateurs inflammatoires, ce qui conduit à la formation des foyers d'infiltrations et de nécrose tissulaire [(Davido, 2010) ;(Trouillet, 2011)].
- **l'hémolysine gamma** est synthétisée chez 97% des souches de *S. aureus*. Elle est hémolytique et leucotoxique *in vitro* (Merlet, 2010).

4.1.2 Des toxines agissant à distance du foyer infectieux.

- **la toxine du syndrome de choc toxique ou TSST-1** : elle appartient aux exotoxines super antigéniques, elle entraîne un choc toxique staphylococcique (Fomba, 2006)
- **Les entérotoxines**: elles sont au nombre de 18, possèdent les mêmes propriétés super antigénique que la TSST-1 et potentiellement responsable du choc toxique staphylococcique, sept d'entre elles sont responsables de toxi infections alimentaires (Hennekinne, 2009).
- **Les exfoliatines** : sont en nombre de trois A, B et C. Ce sont des toxines épidermolytiques impliqués dans l'épidermolyse bulleuse staphylococcique [(Jidar, 2007) ;(Bailey *et al.*, 1995)].

4.2 Les enzymes

Les staphylocoques produisent de nombreuses enzymes comme des protéases, des lipases, des hyaluronidases qui lysent les tissus et peuvent faciliter l'extension de l'infection aux tissus adjacents.

- **La coagulase** : est une protéine extracellulaire qui se lie à la prothrombine de l'hôte et forme un complexe appelé staphylothrombine. La thrombine activée transforme donc le fibrinogène en fibrine. C'est la base du test de la coagulase en tube. C'est un marqueur classique de l'identification de *S. aureus*. Le *Staphylocoque epidermidis* est dépourvu de cette enzyme, il est ainsi qualifié de staphylocoque coagulase négative (Karam, 2004).
- **La désoxyribonucléase thermostable** est une nucléase ayant des propriétés endo- et exonucléasiques et active sur les ADN et les ARN. Elle est produite par la plupart des souches de *S. aureus* (Rouergue et Tourret, 2003).

4.3 Les protéines de surface ou facteurs d'adhérence (MSCRAMM).

Les protéines de surface jouent un rôle dans la capacité du staphylocoque à coloniser les tissus en se fixant aux cellules et à la matrice extracellulaire. Ces composés de surface servent de récepteurs aux protéines du plasma adsorbées à la surface du matériel médical (cathéters, prothèses...) expliquant ainsi la colonisation par les staphylocoques. La formation de biofilm se produit aussi lors de l'infection de tissus par l'adhésion bactérienne aux molécules de la matrice extracellulaire de l'hôte [(Planchon, 2006) ;(Clement, 2009)].

Ces protéines agissent comme des andésines en fixant le collagène (**Cna**), la fibronectine (**FnBP A et B**), le fibrinogène (**clumping factor A et B**) et l'élastine (**Ebps**). Elles portent de manière plus général le nom de « **Microbial Surface Component Recognizing Adhesive Matrix Molecules** » (MSCRAMM), elles sont solidement ancrées au peptidoglycane (Figure2) (Jidar, 2007).

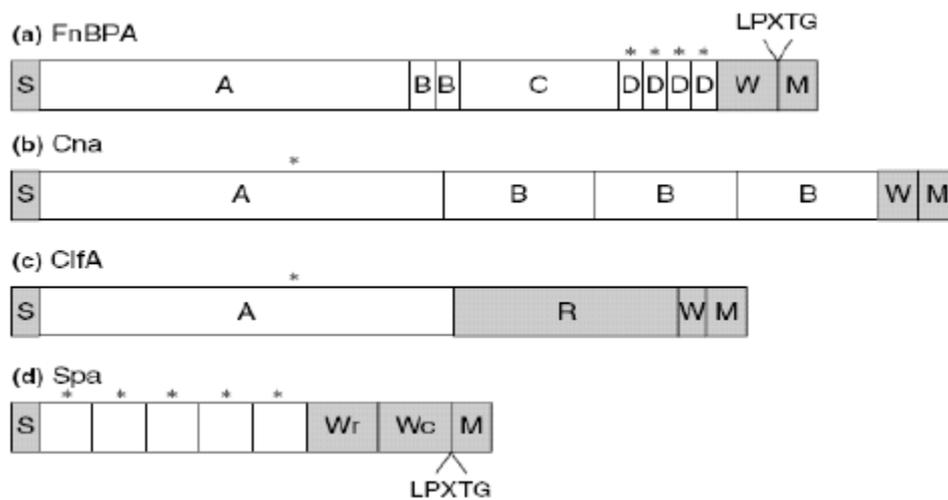


Figure 2 : Organisation structurale des protéines de surfaces de *S.aureus*.

S : séquence signal ; R : répétition du péptide Ser-Asp ; W : région traversant la paroi bactérienne ; M : région d'ancrage à la membrane et contenant des résidus chargés positivement ; A et C : domaines uniques, B et D : domaine répétés, les astérisques indiquent les domaines peptidiques de liaison au récepteur.

- **La protéine A (Spa)**

La protéine A est la protéine de surface bactérienne la mieux caractérisée. Elle est capable de se lier aux immunoglobulines, inhibant l'opsonisation des bactéries par les polynucléaires neutrophiles. Le *Staphylocoque epidermidis* ne contient pas de protéine A (Karam, 2004).

- **La protéine de liaison au collagène (Cna)**

Les protéines du collagène étant des constituants majeurs de la matrice extra-cellulaire, elles représentent un site de choix pour l'ancrage de *S. aureus* aux tissus. L'attachement au collagène est d'ailleurs nécessaire et suffisant pour l'adhérence de *S. aureus* au cartilage *in vitro* (Gras, 2006).

- **Les protéines de liaison à la fibronectine (FnBPA et FnBPB)**

Les récepteurs pour la fibronectine contribuent à l'adhérence de *S. aureus* aux caillots plasmatiques et aux biomatériaux ayant un contact prolongé avec le sang. Ils ont ainsi un rôle important dans l'initialisation des infections sur corps étrangers (Eveillard, 2007).

Il existe deux : les protéines de liaison à la fibronectine A et les protéines de liaison à la fibronectine B (Al alam, 2008).

- **La protéine de liaison au fibrinogène (Clf)**

C'est une protéine de surface qui provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma. Elle constitue un facteur de virulence pour les plaies et les infections sur corps étrangers (Eveillard, 2007).

- **La protéine de liaison à l'élastine (EbpS)**

Contrairement aux autres protéines de surface, EbpS n'est pas ancrée au peptidoglycane. C'est une protéine transmembranaire qui se lie à la région NH₂ terminal libre de l'élastine (Clement, 2009).

5. Résistance des staphylocoques aux antibiotiques

S. aureus a développé des résistances à quasiment tous les antibiotiques mis sur le marché. Les mécanismes impliqués comprennent la synthèse d'enzymes inactivatrices, la modification de la cible des antibiotiques et des systèmes d'efflux qui diminuent la concentration de l'antibiotique dans la bactérie (Tableau2) (Corne, 2004).

La résistance des staphylocoques à coagulase négative est comparable à celle observée chez *Staphylococcus aureus*. Leurs fréquences de résistances peuvent même parfois être plus élevées notamment chez *S.epidermidis* et *S.haemolyticus*, fréquemment responsables d'infections nosocomiales (Jidar, 2007).

Tableau2 : Mécanismes de résistance des staphylocoques aux antibiotiques.

Antibiotiques	Mécanismes de résistance	Références
Les Beta lactamines	une production d'enzymes (pénicillinases) ou par modification de la cible PLP	[(Leclercq,2002) ; (Corne, 2004) ; (Eveillard, 2007)].
Les Glycopeptides	épaississement de la paroi bactérienne qui piège les glycopeptides dans les couches superficielles en les empêchant d'atteindre la membrane cytoplasmique où le peptidoglycane est synthétisé	[(Fauchere et Avril ,2002) ; (Corne, 2004)].
Les Aminosides	production d'enzymes à partir d'un plasmide R. Ces enzymes sont de trois catégories : les phospho transférases, les adényltransférases et les acétyltransférases	(Tchougoune, 2007)
Les Macrolides, Lincomycines, Streptogramines (MLS)	modification de la cible	(Merlet, 2010)
Les Tetracyclines	sécrétion d'une protéine qui empêche la pénétration intrabactérienne de l'antibiotique	(Tchougoune, 2007)
Les Fluoroquinolones	une modification de la cible	(Quincampoix et Mainardi ,2001)

Chapitre III : Les Biofilms

1. Découverte et définition des biofilms à staphylocoque

La découverte du biofilm remonte au début des années 40 depuis les travaux de Henrici et Zobell [(Henrici, 1933) ; (Zobell, 1943)].

Les biofilms sont un ensemble de micro colonies, entourées d'une matrice hautement hydratée, anionique et constituée d'exopolysaccharides (EPS). C'est une structure très organisée avec de nombreuses communications intercellulaires pour assurer un équilibre et un mode de vie coopératif [(Characklis, 1989) ; (Bourion, 1995) ; (Bosgiraud, 2003) ; (Boutaleb, 2007) ; (Salaun, 2009)].

Christensen et ses collaborateurs (1982) ont été les premiers à observer la formation d'un biofilm chez une souche de *S. epidermidis* isolée d'un cathéter. Ils ont noté la formation d'un film gluant, filamenteux sur des tubes de cultures, puis ils ont visualisé cette substance extracellulaire par une coloration au bleu alcian en microscopie électronique à balayage. Ces auteurs ont noté que la plupart des souches avaient une production variable de cette substance qui dépendait du milieu et de la suppléments en glucose. Ils ont suggéré que la formation de biofilm était un facteur critique dans la pathogénèse de *S. epidermidis*. Ces faits ont été confirmés la même année par Peters *et al.* (1982) qui ont montré une corrélation entre la capacité de colonisation du matériel médical par *S. epidermidis* et les infections nosocomiales (Planchon, 2006).

2. Architecture et mécanisme de la formation du biofilm à staphylocoque

Les staphylocoques sont responsables de la grande majorité des infections causées par les biofilms. Ceci est dû au fait que ces germes sont présents en grand nombre dans la flore commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et de l'animal. Les biofilms à *S. aureus* sont à l'origine d'infections chroniques et nosocomiales, le plus souvent en rapport avec l'utilisation des implants médicaux (Figure 3). Ces infections sont plus difficiles à traiter et nécessitent un remplacement plus fréquent des implants médicaux (Liesse Iyamba, 2012).

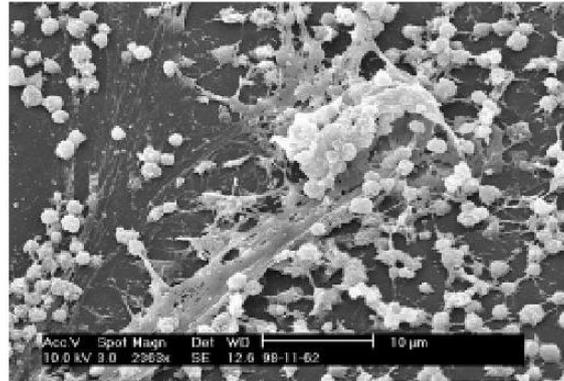


Figure3: Visualisation par microscope confocale de *Staphylococcus spp* sur un implant médical (Liesse Iyamba, 2012).

2.1 Etapes de formation de biofilm chez les staphylocoques

Mack *et al.* (1994) ont proposé un modèle de formation de biofilm en deux phases chez les staphylocoques l'attachement initial et l'accumulation. Ils ont montré que ces deux phases peuvent être génétiquement séparées. Le détachement de cellules du biofilm mature permet la dissémination des bactéries et la colonisation de nouveaux sites d'infection chez l'homme (Figure4) (Otto, 2008).

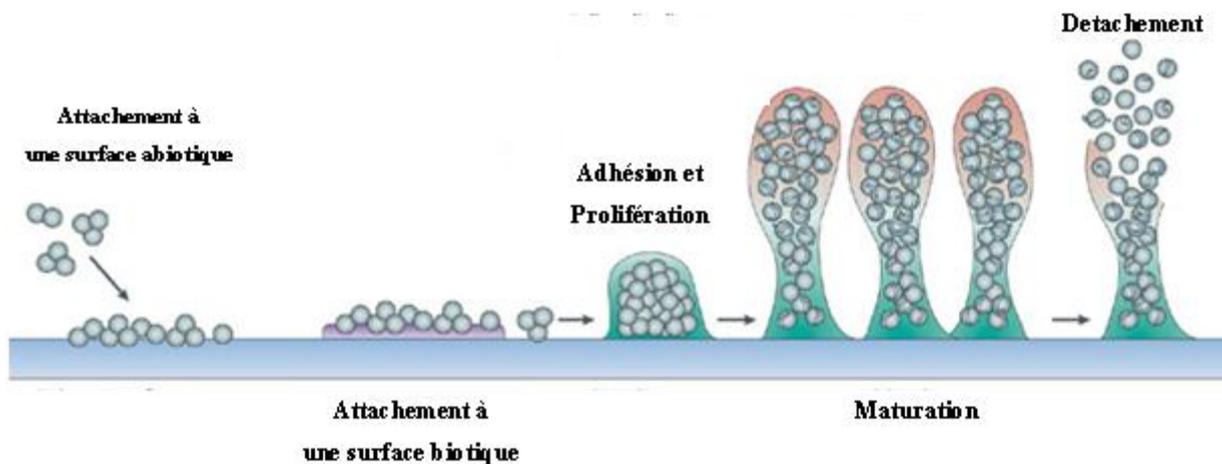


Figure 4: Etapes de formation de biofilm chez les staphylocoques (Otto, 2012).

2.1.1 Attachement initial

2.1.1.1 L'attachement à une surface abiotique

L'adhésion des staphylocoques aux dispositifs médicaux peut survenir au début après l'implantation, ou à des instants ultérieurs, voire plusieurs mois après implantation (**Rohde et al., 2010**). L'adhérence microbienne aux biomatériaux dépend largement des caractéristiques de la surface des cellules bactériennes et de la nature des polymères des matériaux utilisés (**Von Eiff et al., 2002**). L'adhésion initiale nécessite des interactions physico-chimiques non covalentes de type interactions hydrophobes, les forces de Van-Der-Waals et de possible interactions électrostatiques (**Otto, 2004**). Parmi les molécules impliquées dans l'adhésion directe *in vitro* aux surfaces abiotiques on retrouve :

- l'autolisine Atl E (**Planchon, 2006**).
- l'acide téchoïques (**Otto, 2004**).
- Les protéines de surface SSP-1 (280 kDa) et SSP-2 (250 kDa)
- La protéine Biofilm Associated Protein (BAP) contribue à la formation de biofilm de *S. aureus* (**Cucarella et al, 2001**).

2.1.1.2 L'attachement à une surface biotique

L'attachement des staphylocoques à une surface biotique que ça soit aux tissus hôtes (épithélium, peau...), ou à la surface de dispositifs médicaux recouvert des protéines de la matrice extracellulaire se fait par les protéines connues sous le nom de MSCRAMMs (Microbial Surface Components Recognizing Adhesive Matrix Molecules) (**Foster et Höök, 1998**).

2.1.2 Accumulation

Après l'attachement à la surface, les bactéries vont se multiplier et s'accumuler. Cette phase est caractérisée par l'agrégation intercellulaire pouvant s'accomplir par une variété de molécules telles que les protéines d'adhésion ou le plus souvent par les exopolymères polysaccharidiques et par la structuration conduisant à l'obtention d'une communauté mature, multicouche sous forme de champignon et contenant des canaux qui permettent le passage des nutriments pour les bactéries présentes à l'intérieur du biofilm (**Otto, 2008**).

2.1.2.1 Le Polysaccharide intercellulaire adhésine (PIA)

Le PIA est un polysaccharide découvert chez *S. epidermidis* par Mack *et al.* (1992). Il est principalement localisé à la surface de la cellule. Il joue un rôle important dans l'adhésion intercellulaire et de ce fait, a été reconnu comme un facteur crucial dans la colonisation de matériel médical par *S. epidermidis* mais également par *S. aureus* (Planchon, 2006).

Le PIA est constitué de deux fractions polysaccharide I et polysaccharide II (Figure 5) (Mack *et al.*, 1994). La fraction I (80%) est un polymère de N-acétyl-glucosamine dont les unités sont liées entre elles par des ponts glycosidiques β (1-6). C'est une chaîne moyenne de 130 résidus de 2-désoxy-2-amino-D glucopyranosyl. Cette fraction contient 15 à 20% de résidus partiellement déacétylés distribués au hasard le long de la molécule la rendant ainsi positivement chargée (Rohde *et al.*, 2010).

La fraction II (20%) structurellement proche de la fraction I, décrite comme modérément anionique mais ayant une proportion plus faible de résidus D-glucosaminyl non acétylés et contenant des groupes phosphate et succinate. D'après sa composition, le PIA est à la fois positivement et négativement chargé et donc peut être lié via des forces ioniques au peptidoglycane ou aux acides teichoïques (Mack *et al.*, 1996).

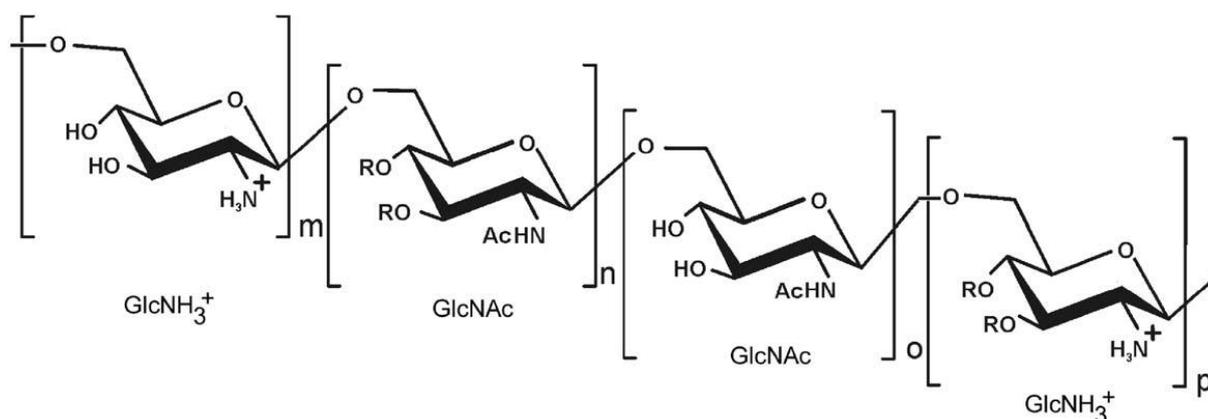


Figure5: Structure de l'adhésine polysaccharidique intercellulaire (PIA)

(Mack *et al.*, 1996).

2.1.2.2 Les bases génétiques de la synthèse du PIA

La synthèse du PIA est codée par le locus *ica* pour « Inter Cellular Adhesion » chez les staphylocoques. L'opéron *ica* comprend le gène régulateur *ica R* en amont et les 4 gènes *icaA*, *icaD*, *icaB* et *icaC* (Figure6) (Vuong *et al.*, 2004).

Les protéines *icaA*, *icaD* et *icaC* sont des protéines de membrane intégrales. La protéine *icaA* contient quatre hélices transmembranaires. Elle possède une activité N acetylglucosaminyl transférase augmentée en présence de la protéine *icaD* qui agirait comme une protéine chaperonne dirigeant le repliement et l'insertion d'*icaA* dans la membrane en outre, elle pourrait agir comme un lien entre l'*icaA* et l'*icaC*. Le polymère produit par l'activité de ces 2 protéines *ica A* et *icaD* est composé de 20 résidus d'UDP-N-acétylglucosamine. La protéine *icaC* permet de former de plus longues chaînes d'oligomères. Elle agit sur la translocation du polysaccharide à travers la membrane cytoplasmique. Les trois gènes *icaA*, *icaC* et *icaD* sont indispensables pour la synthèse du PIA (Mack ,1999).

La protéine *icaB* est exportée et attachée à la surface bactérienne de façon non covalente mais n'est pas sécrétée dans le milieu de culture, elle joue un rôle dans la modification du PIA mature en agissant comme un catalyseur de la réaction de déacétylation (Gotz, 2002).

La déacétylation du polysaccharide conduit à des résidus N-acétylglucosamine positivement chargés et essentielle pour la localisation du PIA à la surface des staphylocoques. La déacétylation du PIA est aussi indispensable à la formation de biofilm sur des surfaces abiotiques, à l'adhésion aux cellules épithéliales, à la virulence dans un modèle animal et également pour échapper au système immunitaire chez *S. epidermidis* [(Vuong *et al.*, 2004) ; (Planchon , 2006)].

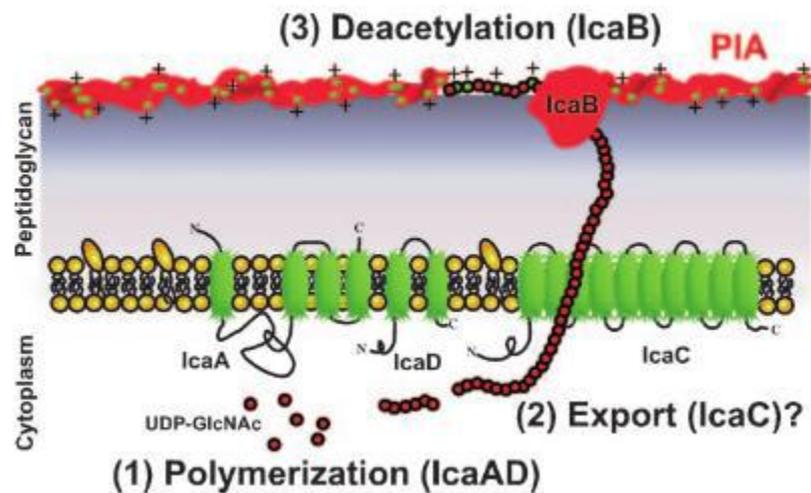


Figure 6 : Synthèse de l'adhésine polysaccharidique PIA (Liesse Iyamba, 2012).

La synthèse de biofilm est un processus variable sur le plan phénotypique et génotypique (facteurs de régulation, variation de phase, réarrangements chromosomiques, mutations...). L'un des mécanismes de variation de phase les plus décrits est l'insertion et l'excision alternative d'une séquence d'insertion IS256 (élément génétique mobile des cocci Gram positif localisé à l'extrémité du transposon Tn4001 porteur de la résistance aux aminoglycosides) inactivant les gènes *ica*. Cette insertion se produit le plus souvent au niveau de *icaC*, rarement *icaA* ou *icaB*. C'est un élément hautement actif, responsable d'une variété d'aberrations génétiques: inactivation réversible, réarrangement d'ADN, délétions chromosomiques affectant l'expression de certains gènes de virulence ou de résistance aux antibiotiques (Touati, 2007).

2.1.3 Détachement du biofilm

La dispersion du biofilm joue un rôle très important dans les infections associées aux biofilms. Le principal mécanisme de détachement du biofilm utilisé par *S. aureus* est la production d'enzymes extracellulaires ou des surfactants qui dégradent et solubilisent les différents composants de la matrice du biofilm. Ainsi, les principaux facteurs de détachement sont les protéases, les DNases et les surfactants PSM (Phenol-soluble modulins). A ceux-ci, il faut ajouter le système de quorum sensing *agr* qui contrôle la production de ces enzymes et des PSM dégradant la matrice du biofilm et certaines conditions environnementales, telles que la carence en glucose dans le milieu de culture (Liesse Iyamba, 2012).

2.2 La régulation moléculaire en biofilm chez les staphylocoques

La différenciation des cellules planctoniques en biofilm et la production d'exopolysaccharides sont dépendantes de l'activation de réseaux régulateurs complexes en réponse aux signaux du quorum-sensing et/ou aux facteurs de stress environnementaux.

Chez les staphylocoques Les systèmes régulateurs sont gouvernés principalement par deux loci : l'opéron « accessory gene regulator » (*agr*) et l'opéron « staphylococcal accessory regulator » (*sar*) (Pratten *et al.*, 2001).

Ces systèmes sont dit « accessoires » car ils ne sont pas essentiels à la croissance mais ils sont activés à certaines phases de la croissance cellulaire ou lors de certaines conditions environnementales. Des régulateurs additionnels permettent aux microorganismes de répondre aux signaux environnementaux, ce sont des systèmes à deux composantes qui sont au nombre de 17 chez *S. aureus* (Toledo-Arana *et al.*, 2005).

2.2.1 Le système “Accessory Gene Regulator” (AGR)

L'opéron *agr* est un régulateur globale exprimé en fin de phase de croissance qui contrôle l'expression de plus de 100 facteurs de virulence. En plus de codé pour un système à deux composants, l'opéron *agr* a la particularité d'exprimer un système de recensement de la population. Les deux systèmes fonctionnent de manière coordonnée et permettent à l'opéron *agr* de sonder à tout moment la densité cellulaire par un mécanisme appelé « quorum sensing » . Ce mécanisme établit une communication entre les cellule et chez les *S. aureus* détermine le passage entre la phase de colonisation et la phase de dissémination (Chevalier , 2009).

Chez *S. aureus* et *S. epidermidis*, dans la phase initiale de la colonisation où la densité cellulaire est faible, le système *agr* est quasi inactif et les protéines de surfaces principalement des adhésines sont exprimées permettant la colonisation.

Quand la densité cellulaire augmente, le système *agr* devient actif et réprime l'expression des protéines de surface. Il active la production des enzymes de dégradation extracellulaire dont certaines sont nécessaires pour l'acquisition nutritionnelle *in vivo*.

Il active aussi la synthèse d'exotoxines permettant aux staphylocoques de s'échapper du site de l'infection et de s'étendre à de nouveaux sites (Planchon, 2006).

Le système *agr* intervient également dans le processus de dispersion des biofilms en activant l'expression de petits peptides tensio-actifs (phenol-soluble modulins ou PSM) responsables de la dislocation du biofilm (DadiOubeka, 2012).

2.2.2 Le système *Sar* « StaphylococcalAccessorygeneRegulator »

Un deuxième système de régulation indépendant du système *agr*, désigné *sar* pour « Staphylococcal Accessory gene Regulator », a été identifié par des expériences de mutagenèse (Cheung *et al.*, 1994). Le système régulateur *sar* comporte au minimum trois promoteurs différents (P1, P2 et P3) conduisant à la synthèse de trois transcrits désignés respectivement *sarA*, *sarB* et *sarC*. Les transcrits *sarA* et *sarB* sont principalement exprimés en phase exponentielle de croissance et le transcrit *sarC* est principalement exprimé en phase post-exponentielle de croissance (Bayer *et al.*, 1996). Les mutants *sar*- présentent un déficit marqué de leur fixation à la fibronectine alors que le système *agr* n'a pas d'influence sur cette dernière (Gras, 2006).

SarA est activée à un stade précoce de la formation des biofilms pour exprimer les gènes codants pour des protéines de surface chez *S. aureus* impliquées dans l'étape d'adhésion cellulaire et d'agrégation intercellulaire. *SarA* contrôle l'expression d'environ 120 gènes, y compris le système *agr*. On notera que des mutations au niveau du régulateur *sarA* réduisent significativement la formation des biofilms de *S. aureus* illustrant le rôle majeur de ce régulateur [(Valle *et al.*, 2003) ; (Beenken *et al.*, 2003)].

3. Résistance des biofilms aux antibiotiques

3.1 Présentation de la résistance

Les bactéries au sein du biofilm résistent à des concentrations en antibiotiques plus élevées que les bactéries planctoniques. Pour Dupont (2000), cette augmentation de résistance peut être d'un facteur 1500. Pour Rediske *et al.*, (1999) il faut multiplier de 50 à 500 fois la dose thérapeutique normale pour éliminer les jeunes biofilm (moins de 24h) et par 5000 cette dose dans le cas des biofilms matures (Burin des rozières, 2002).

La notion de «résistance» des biofilms aux antibiotiques mérite d'être clarifiée. En effet, une souche bactérienne est définie comme étant résistante si sa croissance n'est pas inhibée à une concentration critique (CMI) d'antibiotique généralement observée pour la majorité des souches de l'espèce considérée. Les cellules d'un biofilm sont quant à elles décrites comme résistantes par comparaison avec leurs homologues planctoniques (Daddi Oubeka, 2012).

3.2 Mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques

Trois hypothèses principales sont avancées afin d'expliquer les mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques. La première repose sur une notion de barrière physique qui expliquerait la pénétration lente et incomplète de certains antibiotiques, la seconde hypothèse est liée à l'environnement spécifique du biofilm dont les zones les plus profondes, riches en résidus acides, pauvres en oxygène et en nutriments, pourraient gêner l'action de l'antibiotique et enfin la dernière hypothèse s'appuie sur les modifications phénotypiques observées dans certains biofilms dont les micro-organismes constitutants pourraient présenter des formes plus résistantes (Figure 7) (**Stewart and Costerton 2001**).

Ces trois hypothèses reposent sur la nature communautaire et multi-cellulaire 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 et de nouvelles associations médicamenteuses doivent être envisagées. Les recherches actuelles essaient d'envisager des molécules capables de rompre ou d'empêcher la formation de la matrice polysaccharidique, voire d'agir sur les signaux de différenciation du « quorum sensing » (**Etienne, 2004**).

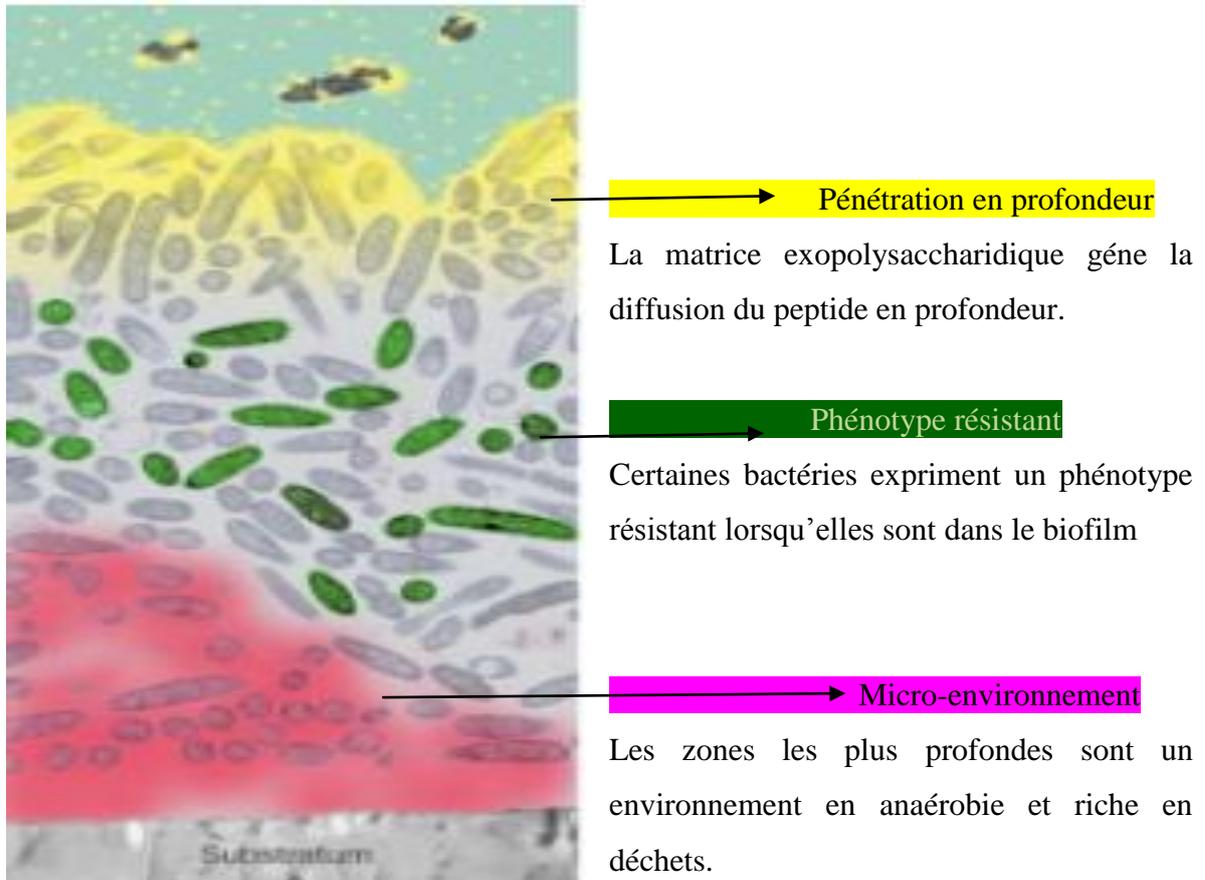


Figure7 : Les trois mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques.
(Stewart, 1996).

Matériel et méthodes

1. Lieu d'étude

Notre étude a été menée au laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de Tlemcen. Les techniques moléculaires ont été réalisées au laboratoire de Bactériologie Moléculaire de l'Institut Pasteur du Maroc.

2. Prélèvements

De Mai 2010 à Novembre 2011, sondes et urines de patients adultes et hospitalisés plus de 48h ont été prélevés dans trois services à risque du Centre Hospitalo Universitaire (CHU) de Tlemcen : service de Réanimation, service d'Urologie, et service de Neurologie.

2.1 Prélèvement des urines

Le prélèvement d'urine est effectué dans de strictes conditions d'asepsie. Après désinfection de la tubulure, le recueil se fait en clampant le tuyau d'excrétion pendant 15 à 20 min, l'urine s'accumule en amont et une ponction de celle-ci est ainsi réalisée (Figure 8).

5 à 10 mL d'urines sont recueillis dans des tubes stériles et sont directement acheminées dans une glacière au laboratoire pour être analysées. La culture débute dans les 2 heures suivant le prélèvement. En aucun cas les urines n'ont été prélevées directement du sac collecteur vu la multiplication microbienne importante.

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignement comportant le sexe, l'âge, nature de la pathologie ayant motivé le sondage, le type de sonde et la durée de sondage.

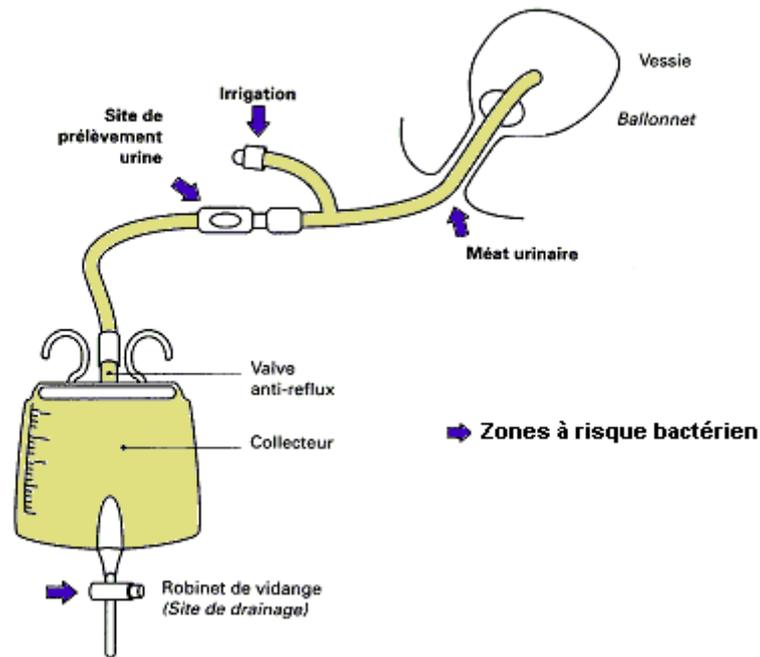


Figure 8 : Schéma indiquant le site de prélèvement d'urine de la sonde urinaire

2.2 Prélèvement des sondes urinaires

Après retrait de la sonde, un segment de 10 cm de son extrémité intra vésical est coupé et de suite mis dans une boîte de pétri stérile et acheminé au laboratoire dans une glacière pour être analyser.

3. Dénombrement et ensemencement

3.1 Analyse des urines

Chaque échantillon urinaire a fait l'objet d'un ECBU (étude cyto bactériologiques des urines) comportant les éléments suivant :

- Un examen direct (macroscopique) : permet d'apprécier l'aspect, la couleur et le pH urinaire.
- Une uroculture avec dénombrement de germe (Bactériurie) , celle-ci est réalisée en déposant simultanément 0,5 mL d'urine qu'on étale en râteau à la surface d'un milieu gélosé non sélectif gélose nutritif (GN) et sur un milieu sélectif de Chapman pour isoler les cocci à Gram positif.

Le dénombrement se fait après incubation des milieux à 37° pendant 24 à 48h.

3.1.1 Critères de définition d'une infection urinaire nosocomiale

Les critères retenus pour définir une infection urinaire nosocomiale sur sonde ont été ceux donnés par le Conseil Supérieur de l'Hygiène Publique de France, à savoir : infection ni présente ni en incubation à l'entrée de l'hôpital, émergence de l'infection plus de 48 h après l'hospitalisation (**Perrin et al., 1998**).

Le diagnostic d'infection urinaire a porté sur la présence d'une uroculture positive $\geq 10^5$ UFC/mL (Unity forming colony) ou d'une uroculture positive $\geq 10^3$ UFC / mL avec leucocyturie $\geq 10^4$ /mL sans qu'il y ait plus de 2 germes différents isolés (**Botto,2002**).

3.1.2 Bandelette urinaire

Dans une étude récente, il a été démontré que la bandelette urinaire n'est pas un test recommandé pour dépister l'infection urinaire nosocomiale en urologie (70% des faux positifs et 21% des faux négatifs) et que l'ECBU reste l'examen de référence (**Masrar et al.,2000**). L'utilisation des bandelettes urinaires de type « Siemens » nous ont aidés à apprécier quelques facteurs tels que la glycémie, la leucocyturie et le pH.

3.2 Analyse des sondes urinaires

Pour l'analyse microbiologique des sondes urinaires nous nous sommes référées à la technique de « Brun-Buisson » utilisée pour les cathéters qu'on a adaptés et appliqués aux sondes urinaires. A cet effet, les 10 cm de l'extrémité de la sonde urinaire sont mises dans 2 mL de sérum physiologique, agités au vortex pendant 1 minute et mises en culture sur un milieu gélosé Chapman, celui-ci permettra la sélection des staphylocoques et sur un milieu Mac Conkey afin d'isoler une flore multi microbienne à Gram négatif.

4. Isolement et identification des souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires

L'identification bactérienne a concerné uniquement le genre *Staphylococcus*

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

- **Coloration de Gram** : La coloration de Gram est effectuée à partir de colonies cultivées sur milieu de Chapman, pour confirmer le mode de regroupement en diplocoques et en grappes de raisin.
- **Production de catalase** : la catalase est une enzyme contenant du Fer, qui catalyse la décomposition de peroxyde d'oxygène (H_2O_2) en H_2O . Ce test permet de différencier les staphylocoques des streptocoques.
- **Test de coagulase** : La production d'une coagulase et d'un pigment jaune caractérisent le *S.aureus*.
- **Le système API 20 STAPH (BioMérieux®)** : Le principe consiste à inoculer dans les microtubes à l'aide d'une pipette pasteur une suspension bactérienne homogène qui reconstitue les milieux déshydratés. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture permettant une identification de l'espèce bactérienne et la détermination du biotype.

5. Purification et conservation des souches isolées

La conservation des souches bactériennes est réalisée sur gélose de conservation (gélose nutritive) et dans du glycérol à $-20^{\circ}C$.

Nous rappelons que seules les souches de staphylocoques ont été retenues tout le long de cette étude.

6. Étude de l'antibiorésistance

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 Microbiologie (CA-SFM, 2012).

L'antibiogramme par diffusion est réalisé avec une suspension contenant 10^8 UFC/mL, les disques d'antibiotiques (Bioanalyse R) suivant ont été testés :

Peniciline(10µg), Oxacilline (5µg), Cefoxitine(30µg), Gentamicine (10µg), Tobramycine(10µg), Amikacine(30µg), Vancomycine (30µg), Rifampime(30µg), Fosfomycine(50µg), Acide Fusidic(10µg), Clindamycine (2µg), Pristinamycine (15µg), Erythromycine (15µg), Ofloxacine(5µg), Tetracycline(30µg), Chloramphenicol(30µg), Triméthoprim /sulfaméthoxazole(25µg).

7. Caractérisation du pouvoir Toxinogène des souches staphylococciques

Cette technique a été réalisée au laboratoire de Bactériologie Moléculaire de l'Institut Pasteur du Maroc.

Dans le but de confirmer la pathogénicité des souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires, les gènes codant pour les toxines présentes chez les staphylocoques et plus particulièrement chez les *S.aureus* ont été recherché.

Bien que sensible et spécifique, la technique de polymérisation en chaîne (PCR) permet la mise en évidence des gènes codants pour les toxines Staphylococciques. Cette dernière nécessite tout d'abord une étape d'extraction d'ADN qui sera suivi d'une caractérisation et quantification des différents types de toxines.

7.1 Extraction d'ADN bactérien

L'extraction de l'ADN bactérien a été effectuée par la technique de choc thermique. A partir d'une culture jeune de 18 à 24 heures à 37°C sur gélose ordinaire, quelques colonies sont mises en suspension dans 500 µL d'eau ultra-pure (eau de biologie moléculaire, dépourvue de DNase et ARNase) et portées à ébullition pendant 10 min puis transférées directement dans la glace (0°C) pendant 5 min. Après une centrifugation de 14500 trs/min pendant 10 min, 300µL du surnageant sont récupérés. L'ADN est conservé à -20 °C.

7.2 Gènes toxiques recherchés

Les gènes toxiques recherchés sont les suivants : Les gènes des entérotoxines staphylococciques (SE) A, B, C, D, H et R (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *seh*, et *selr*), des entérotoxines staphylococciques *like* (SIE) K, L, M, O, P, et Q (*selk*, *sell*, *selm*, *selo*, *selp* et *selq*), de la toxine TSST-1 (*tst*), des toxines inhibitrices de la différenciation des cellules épidermiques (EDIN) A, B et C (*edinA*, *edinB* et *edinC*), des exfoliatines ou épidermolysines A, B et C (*eta*, *atb* et *etd*), des leucotoxines M et de Panton-Valentine (*lukM* et *lukPV*) et de l'hémolysine bêta (*hly*) ont été recherchés par des PCR multiplex.

La détermination du profil des gènes toxiques des souches a été effectuée suite à six réactions de PCR multiplex (Tableau3).

Tableau 3 : Les gènes toxiques recherchés.

gènes	Protocoles	témoin positif
<i>lukM/seh/selm/tst</i>	PCR multiplex N°1	souches de <i>S. aureus</i> du laboratoire de bactériologie de l'IPM : la souche SA61 (<i>slem/tst/lukM</i>), SA26 (<i>seh</i>).
<i>etb/sed/selr/sec/eta</i>	PCR multiplex N°2	souches de <i>S. aureus</i> du laboratoire de bactériologie possédant les gènes <i>etb</i> , <i>sed</i> , <i>selr</i> , <i>sec</i> et le gène <i>eta</i> .
<i>sea/luk-PV/hly/selp</i>	PCR multiplex N°3	souches de <i>S. aureus</i> du laboratoire de bactériologie positives pour les différents gènes.
<i>seb/selq</i>	PCR multiplex N°4	de <i>S. aureus</i> du laboratoire de bactériologie, positives pour chaque gène recherché
<i>etd/sell/selo</i>	PCR multiplex N°5	souches de <i>S. aureus</i> du laboratoire de bactériologie positives pour les gènes recherchés.
<i>edinA/edinB/edinC/selk</i>	PCR multiplex N°6	souches de <i>S. aureus</i> du laboratoire de bactériologie positives pour les différents gènes.

7.3 Mélanges réactionnels pour les différentes PCR multiplex

Le mélange d'amplification est spécifique pour chacune des six PCR multiplex. La concentration des différents constituants était variable d'une PCR à l'autre :

Pour les PCR multiplex N°1, N°5 et N°6, les mélanges réactionnels ont été réalisés dans un volume final de 40 μ L. Mais en concentration finale, les réactifs nécessaires étaient différents:

- 1X du tampon Taq PCR ; 5mM de $MgCl_2$; 0,125mM de dNTP ; 2 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,187 μ M de chaque amorce et 2 μ L d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°1.
- 2X du tampon Taq PCR ; 3,75mM de $MgCl_2$; 0,125mM de dNTP ; 1,5 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,187 μ M de chaque amorce et 2 μ L d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°5.
- 1X du tampon Taq PCR ; 5mM de $MgCl_2$; 0,125mM de dNTP ; 2 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,075 μ M de chaque amorce et 2 μ L d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°6.

Alors que pour les PCR N°2, N°3 et N°4, les mélanges réactionnels ont été réalisés dans un volume final de 50 μ L. Mais en concentration finale, les différents réactifs étaient différents :

- 1X du tampon Taq PCR ; 5mM de $MgCl_2$; 0,125mM de dNTP ; 2 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,15 μ M de chaque amorce et 2 μ L d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°2.
- 2X du tampon Taq PCR ; 4 mM de $MgCl_2$; 0,1mM de dNTP ; 2 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,15 μ M de chaque amorce et 2 μ L d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°3.
- 2X du tampon Taq PCR ; 3mM de $MgCl_2$; 0,1mM de dNTP ; 2 Unités de Taq DNA polymérase (Invitrogen) ; 0,15 μ M de chaque amorce et 2 μ L d'ADN bactérien extrait par choc thermique, pour la PCR multiplex N°4.

7.4 Les amorces utilisées pour les différentes PCR multiplex

différentes amorces ont été utilisées pour la détection des gènes toxiques, tous ont déjà été décrite par Jarraud *et al.*, (2002) et Holtfreter *et al.*, (2007) et utilisées par le centre national de référence (CNR) des staphylocoques de Lyon en France (Tableau 4).

Pour chaque réaction de PCR multiplex, l'ADN des souches de contrôle est inclus comme témoin positif. Pour les témoins négatifs des réactions, l'ADN est remplacé par l'eau de biologie moléculaire (eau ultra pure, dépourvue de DNase et de RNase).

Tableau 4 : Séquences de certains gènes toxiques recherchés.

Gènes	Séquences (5'-3')	Taille des fragments (Pb)
<i>Sea</i>	GAAAAAAGTCTGAATTGCAGGGAACA CAAATAAATCGTAATTAACCGAAGGTTC	560
<i>Seb</i>	ATTCTATTAAGGACACTAAGTTAGGGA ATCCCGTTTCATAAGGCGAGT	404
<i>sec</i>	GTAAAGTTACAGGTGGCAAACTTG CATATCATACCAAAAAGTATTGCCGT	297
<i>sed</i>	GAATTAAGTAGTACCGCGCTAAATAATATG GCTGTATTTTTCTCCGAGAGT	492
<i>seh</i>	CAATCACATCATATGCGAAAGCAG CATCTACCCAAACATTAGCACC	376
<i>sel</i>	GCGATGTAGGTCCAGGAAAC CATATATAGTACGA	234
<i>tst</i>	TTCACTATTTGTAAAAGTGTGACACCCACT TACTAATGAATTTTTTATCGTAAGCCCTT	180
<i>eta</i>	ACTGTAGGAGCTAGTGCATTTGT TGGATACTTTTGTCTATCTTTTTTCATCAAC	190
<i>etb</i>	CAGATAAAGAGCTTTATACACACATTAC AGTGAACCTTATCTTTCTATTGAAAAACACTC	612
<i>hlb</i>	GTGCACTTACTGACAATAGTGC GTTGATGAGTAGCTACCTTCAGT	309
<i>edin</i>	GAAGTATCTAATACTTCTTTAGCAGC TCATTTGACAATTCTACACTTCCAAC	625
<i>lukM</i>	TGGATGTTACCTATGCAACCTAC GTTTCGTTTCCATATAATGAATCACTAC	780
<i>luk-PV</i>	ATCATTAGGTAAAATGTCTGGACATGATCCA GCATCAASTGTATTGGATAGCAAAAAGC	433

7.5 Programme d'amplification des différentes PCR multiplex

Le programme de PCR était le même pour les six PCR multiplex. Les conditions d'amplification sont résumées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Conditions d'amplification des gènes toxiques.

N° PCR multiplex	Nombre de cycle	Température en°C	Durée
PCR MTX1	1	94	5 mn
PCR MTX2	25		
PCR MTX3		94	30 secs
PCR MTX4		55	30 secs
PCR MTX5		72	1 mn
PCR MTX6	1	72	10 mn

Les produits d'amplification ont été séparés par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5% avec du bromure d'éthidium (0,5µg/mL). Le voltage de la migration était de 120V/45min. Les photos des gels ont été prises sous UV par l'appareil « Gel Doc ».

8. Détection du biofilm

8.1 Etude de la formation du biofilm par la méthode *in vitro* de coloration au cristal violet sur microplaques (TCP).

Les microplaques utilisées étaient en polystyrène comportant 96 puits sur lesquelles les bactéries vont adhérer et former un biofilm.

La détermination quantitative de la formation de biofilm dans les microplaques à 96 puits a été réalisée selon les recommandations de Christensen *et al.* (1985) avec une durée d'incubation prolongée à 48h.

Les bactéries ont été cultivées en milieu BHIB et incubées toute une nuit à 37°C. Chaque culture jeune est ajustée pour l'obtention de 10^8 UFC/mL et diluée au 1/100^{ème} dans le même milieu (BHIB). Chaque puits de la plaque est rempli avec 0,2mL de cette dilution. Les microplaques sont recouvertes, scellées stérilement et incubées pendant 48h à 37°C.

Après incubation, les puits des microplaques sont vidés, rincés 3 fois avec de 200µL d'eau distillée, séchés en position inversée et colorés avec 200µL de cristal violet à 0,5% (p: v). Après 30min d'incubation, l'excès du cristal violet est éliminé par 5 lavages successifs avec

300 µL d'eau distillée stérile. Le colorant incorporé par les cellules ayant adhéré ou ayant formé un biofilm est solubilisé avec 200 µL d'éthanol à 95% (v/v). La quantité de cristal violet solubilisé est mesurée par la lecture de la DO à 570nm dans un lecteur ELISA AutoReader.

Nous nous sommes référées à la classification de Mathur *et al.*, (2006) basée sur les valeurs de la DO (Tableau 6).

Tableau 6 : Classification de l'adhérence bactérienne par la technique TCP selon Mathur *et al.*, (2006) .

Valeurs DO	Adhérence	Formation de biofilm
< 0,120	non adhérente	Non formatrice
0,120 – 0,240	faiblement adhérente	Faiblement formatrice
> 0.240	fortement adhérente	Fortement formatrice

8.2 Effet du glucose et du saccharose sur la formation de biofilm par la technique TCP

Suite aux nombreuses études rapportant l'effet de la composition du milieu de croissance sur la production du biofilm, il nous a semblé utile d'étudier la formation de biofilm par la technique TCP décrite précédemment en utilisant le milieu BHIB supplémenté de 2% de saccharose et de 1% de glucose.

8.3 Méthode du rouge Congo agar (RCA)

La caractérisation phénotypique de la production de biofilm par production de slime a été réalisée par culture des isolats staphylococciques sur le milieu RCA. Cette technique proposée par Freeman *et al.*, (1989) requiert l'utilisation d'un milieu solide préparé d'un bouillon cœur de cerveau (BHIB) additionné de 5% de saccharose et de rouge Congo.

Le milieu est composé de BHIB (37 g/L) de saccharose (50 g/L) d'agar agar (10 gr/L) et de rouge congo (0,8 g/L).

Le Rouge Congo a été préparé séparément en solution aqueuse concentrée et autoclavée à 121°C pendant 15 minutes. Cette solution est ajoutée ensuite aux autres constituants du milieu (en surfusion à 55°C).

Le milieu ainsi préparé est ensuite ensemencé avec une anse d'une suspension de la souche bactérienne et incubé à 37° 24h à 48h.

Le colorant rouge Congo interagit directement avec certains polysaccharides bactériens formant un slime et donnant des colonies noires sur milieu CRA contrairement aux colonies non productrices qui restent rouge.

8.4 Méthode en tube

C'est une technique décrite en 1982 par Christensen *et al.*, qui permet une évaluation qualitative de la formation du biofilm.

A partir d'une culture jeune de 24h, une colonie estensemencée dans 10mL de bouillon BHIB supplémenté de 2% de saccharose. Après incubation à 37°C pendant 24h les tubes sont lavés avec du PBS (pH 7,3) puis séchés. Chaque tube est ensuite coloré avec du cristal violet (0,1%) pendant 5 minutes. Une fois le colorant supprimé, les tubes sont lavés avec de l'eau distillée et laissés sécher. La formation du biofilm est considérée positive quand un film visible double la paroi et le fond du tube. La formation d'un anneau à l'interface liquide n'est pas indicative de la formation du biofilm (Mathur *et al.*, 2006).

9. Détection des gènes codant *ica A* /*icaD* impliqués dans la formation de biofilm

Les réactions de PCR ont été effectuées en vue de détecter les gènes *ica A* et *icaD* codant les protéines responsables de la formation de biofilm. Cette technique a été également réalisée au laboratoire de Bactériologie Moléculaire de l'Institut Pasteur du Maroc.

9.1 Extraction de l'ADN bactérien

L'extraction de l'ADN bactérien est faite par la technique de choc thermique cité précédemment : Après une nuit d'incubation sur milieu gélose Luria Bertani quelques colonies sont mises en suspension dans 500 µL d'eau ultra-pure (eau de biologie moléculaire, dépourvue de DNase et ARNase) et portées à l'ébullition pendant 10 min puis centrifugé à 15000 trs /min pendant 5 minutes. Une fraction de 2 µL du surnageant a été utilisée comme ADN pour la PCR.

9.2 Amorces utilisées

La détection des gènes *ica A* et *ica D* a été faite par PCR en utilisant les amorces sens et anti-sens. Pour *ica A* l'amorce sens (correspondant aux nucléotides1337-1356) a la séquence suivante : 5'-TCT CTT GCA GGA GCA ATC AA-3'; et l'amorce anti-sens (correspondant aux nucléotides1505–1524) a la séquence suivante : 5'-TCA GGC ACT AAC ATC CAG CA-

3'. Les séquences des amorces pour *ica D* sont : sens (nucléotides 1963–1982), 5'-ATG GTC AAG CCC AGA CAG AG- 3'; et anti-sens (nucléotides 2138–2160), 5'-CGT GTT TTC AAC ATT TAA TGC AA-3'.

9.3 Technique de la PCR

L'amplification par PCR a été effectuée selon les paramètres décrits par Arciola *et al.*, (2005). Chaque réaction de PCR en fonction du gène recherché a été effectuée dans un volume final de 25µL. Chaque mélange réactionnel comprenait 1mM de chaque amorce sens et antisens pour le gène *ica A* et *icaD*. A ces amorces ont été ajoutés 150ng ADN bactérien, 100 mM de chacun des 4 dNTPs de 1U de Taq ADN polymérase et un tampon (10 mM Tris-HCl [pH 9.0], 50 mM KCl 0,1% Triton X-100, et 2,5 mM MgCl₂)

Les séquences ont été amplifiées dans un thermo cycler en utilisant le programme suivant : une dénaturation initiale à 94°C pendant 5 min suivie de 50 cycles de dénaturation (30 sec à 94°C), hybridation (30 sec à 55,5°C), extension (30 sec à 72°C) et une extension finale à 72°C pendant 1 min. Les produits d'amplification ont été séparés et révélés par électrophorèse sur un gel d'agarose (Sigma) à 2 %. Les gels sont ensuite colorés, puis visualisés sous lumière UV, la taille des fragments amplifiés est estimée en comparaison avec un marqueur de 100pb.

10. Etat de résistance aux antibiotiques des souches de staphylocoques sous forme Biofilm

10.1 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (C.M.I)

La CMI est par définition la plus faible concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance bactérienne. Les CMI vis-à-vis de l'oxacilline, gentamicine et ofloxacine chez quelques souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires ont été déterminées.

Dans les cupules des colonnes 1 à 12 de la microplaque à 96 puits, on introduit à l'aide d'une micropipette 50µL de bouillon BHIB, on ajoute ensuite 50µL de la solution d'antibiotique à la concentration de 256µg/mL dans la cupule 1. Reporter de cupule en cupule de 1 à 12 à l'aide d'une micropipette 50µL du mélange ; des dilutions sont ainsi possibles et les concentrations finales obtenues vont être de 128 à 0,0625µg/mL, puis on ajoute 50µL d'inoculum dans toutes les cupules de la microplaque.

Après incubation à 37°C pendant 24h, la lecture de la CMI est fondée sur l'appréciation visuelle du dépôt de culture observé sur le fond de la cupule. Dans des conditions standardisées, elle est exprimée en mg/L ou µg/mL (Archambaud, 2000).

10.2 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice du Biofilm (CMIB)

Après formation d'un biofilm jeune de 48 h par la technique TCP (décrite précédemment), les microplaques de 96 puits sont rincées 3 fois avec du PBS avant l'ajout du BHIB additionné d'antibiotiques à des concentrations allant de 8192 μ g/mL à 0,0625 μ g/mL.

Après 24h à 37°C, les puits de la microplaque sont soigneusement rincés, séchés et colorés avec du cristal violet suivant la technique standard. La DO est mesuré à 590 nm par le lecteur ELISA. Après incubation, la DO du puits témoin sans antibiotiques est comparée à celle des différentes concentrations d'antibiotiques.

L'élimination de la formation du biofilm par les agents antimicrobiens se traduit par une densité optique inférieure à celle de la DO initiale. Par conséquent, la valeur CMIB représente la plus faible dilution à laquelle les bactéries sessiles ne parviennent pas à repousser.

Résultats et discussion

1. Résultats des prélèvements

De Mai 2010 à Novembre 2011, 250 sondes urinaires et 250 échantillons urinaires ont été recueillis chez 250 patients hospitalisés depuis 48h dans trois services à risque, le service de réanimation, d'urologie et de neurologie du CHU de Tlemcen.

1.1 Résultats des analyses urinaires

Parmi les principales caractéristiques biologiques étudiées, la couleur des urines de ces patients sondés variait du jaune pâle, orange, jusqu'au noir avec un aspect généralement trouble.

La moyenne du pH urinaire se situait entre 6 et 7 atteignant chez quelques patients une valeur de 8.

Suite aux bandelettes urinaires réalisées pour tous les patients, la glycosurie était positive chez 8,8 % et une leucocyturie était détectée chez 70% des patients. Un nombre élevé de cristaux était également remarqué chez l'ensemble des patients ce qui est probablement dû à la stase des urines dans la vessie et de la durée de sondage.

Par ailleurs, tous les patients avaient un ECBU positif le jour du prélèvement avec un dénombrement et une bactériurie largement supérieur à 10^5 UFC/mL pouvant atteindre les 10^8 UFC/mL (Tableau 7).

Tableau 7: Résultats de l'analyse bactériologique des urines des 250 patients sondés.

Nombre de patients	Nombre UFC/ml d'urine
29	$= 10^5$
73	$\geq 10^5 - 10^6$
79	$\geq 10^6 - 10^7$
69	$\geq 10^7$

Résultats et discussion

Les 250 ECBU réalisés confirment l'infection urinaire nosocomiale, car non seulement elle n'était pas présente chez les patients à leur admission mais également par la présence de bacilles à Gram négatif (BGN) dans tous les prélèvements urinaires. Les *Staphylocoques spp* était également présent chez 80 % de l'ensemble des patients. Des bactériuries multi microbiennes (plus de deux types) ont été également retrouvées (Figure 9).

Les bacilles à gram négatif notamment les entérobactéries sont les plus fréquemment isolées d'infections urinaires, cela est en rapport avec la physiopathologie de l'IU qui est en générale ascendante mais de plus par l'existence d'une forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive et en particulier *E. coli* (Sekhsokh *et al.*, 2008).

L'étude bactériologique a révélé que les staphylocoques sont fréquemment isolés des urines de patients sondés dans les différents services étudiés.

En effet, ces dernières années plusieurs auteurs ont remarqué une augmentation de la fréquence des uro infection à staphylocoques, ils considèrent que la principale cause est la cathétérisation urétrale, surtout après une thérapie antibactérienne standard. De plus ils rapportent que la transmission de l'infection entre patients est souvent assurée par les mains du personnel lors de la pose de la sonde urinaire (Guirguitzova *et al.*, 2002).

De même, Rakotoarivony *et al.*, (2009) estiment que la grande fréquence et les taux très élevés de staphylocoques dans les urines sont due essentiellement au manque d'hygiène du patient et du personnel lors des soins.

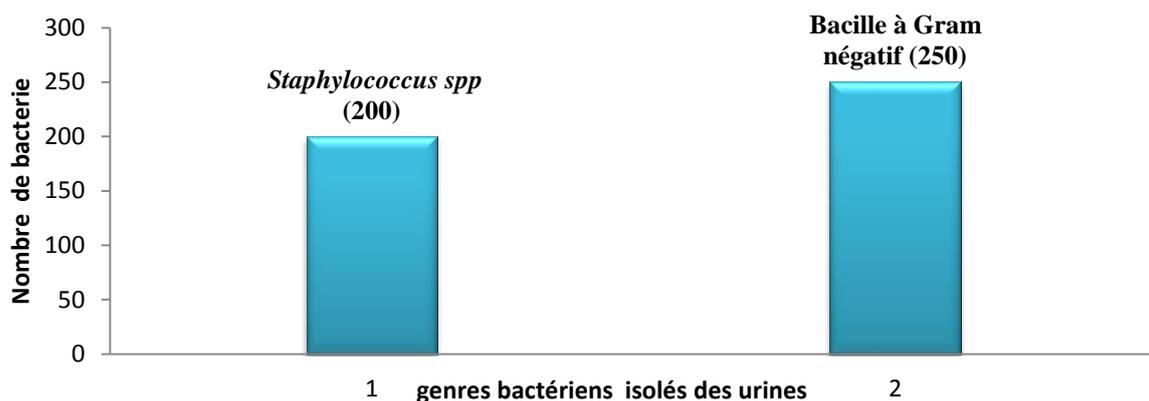


Figure 9 : Nombre des genres bactériens isolés des urines de patients sondés.

L'infection urinaire poly bactérienne chez tous les patients et due certainement à la présence de sondes urinaires de type drainages ouverts.

En effet, ce système de drainage reste un grand pourvoyeur d'infections urinaires nosocomiales [(Boulard *et al.*, 1992); (Parneix *et al.*,1995) ;(Butreau-Lemaire et Botto ,1997) ; (Botto,2002); (Pavese,2003)].

Il est caractérisé par les déconnexions itératives au niveau de la jonction sonde-poche pour changer ou vider la poche de recueil ou pour prélever de l'urine. Selon Boulard *et al.*,(1992) dans de telles conditions, tous les patients ont une bactériurie $\geq 10^5$ UFC/mL dès le 4^{ème} jour du sondage malgré que l'IUN survenant au cours du sondage à demeure est souvent asymptomatique et il n'existe presque jamais de signes locaux.

D'autres facteurs de risques peuvent également être à l'origine de cette contamination à savoir :

La durée de sondage : elle reste le facteur de risque principal. Chaque jour de sondage multiplie le risque de développer une infection urinaire sur sonde. Dans notre étude la durée de sondage moyenne était de 11 jours chez les patients analysés (Tableau 8). Elle était de 4 jours seulement chez 21 malades et malheureusement de 14 jours chez 87 autres malades (Annexe 1).

Tableau 8 : Nombre de patients infectés en fonction de la durée de sondage urinaire

Durée de sondage	Nombre de patients	Pourcentage
<4	21	8%
4-7	63	25%
8-14	79	32%
>14	87	35%

La durée du sondage intervient de façon déterminante dans l'apparition d'une bactériurie De Sèze et ses collaborateurs (2002) rapportent que la probabilité de progression d'une bactériurie jusqu'au taux de 10^5 UFC /mL était de 90 à 100% en 3 j. Cette hypothèse a déjà été confirmé par notre étude de 2011 (Kara terki *et al.*, 2011).

La durée du sondage intervient dans l'apparition d'une bactériurie à deux niveaux, d'une part au niveau de l'urètre d'autre part au niveau de l'urine (Butreau-Lemaire et Botto, 1997).

L'Age : l'âge moyen de nos patients était de 54 ans avec des extrêmes de 15 et 90 ans.

Les patients plus de 60 ans représentaient 36% des sujets analysés et infectés (Tableau 9).

Tableau 9 : Nombre de patients infectés en fonction de l'âge.

Tranche d'âge	Nombres de patients infectés	Pourcentage%
15-30	12	4.8
31-45	66	26.4
46-60	82	32.8
61-75	71	28.4
76-90	19	7.6
Total	250	100%

Effectivement, la fréquence des IUN est en augmentation progressive avec l'âge (**Mchich, 2002**), ces observations seraient certainement liées aux principales affections qui sont les troubles de la motricité vésicale (effet des médicaments, alitement...), la déshydratation, le défaut d'hygiène, la baisse des défenses immunitaires et que souvent ces patients sont porteurs de sonde urétrale (**Gonthier, 2000**).

Le sexe : notre étude confirme une notion classique, les infections urinaires sont plus fréquentes chez les femmes que chez les hommes. Dans notre échantillon, 143 femmes et 107 hommes ont eu une infection urinaire nosocomiale, un taux de 57,2% en faveur des femmes. Mchich en (2002) rapporte que l'urètre féminin est court (3-4 centimètres) et topographiquement proche du vagin et du périnée qui sont régulièrement colonisés par des bactéries d'origine fécale, par opposition, l'urètre masculin est long de 20 centimètres environ et moins exposé aux infections (**Elkharrat et al ., 2007**).

Hospitalisation dans un service de soin intensif : sur les 250 prélèvements effectués (sondes urinaires+ urines) plus de la moitié proviennent du service de réanimation (168 /250) (Figure 10).

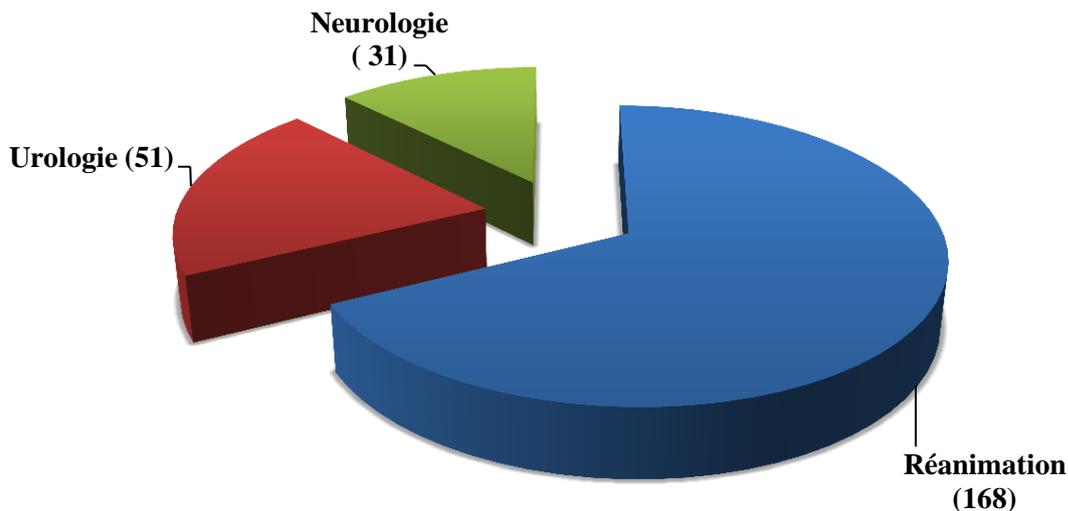


Figure 10 :Répartition des infections urinaires en fonction des services.

Celui-ci est considéré comme un écosystème particulier au sein de l'hôpital, les infections nosocomiales y sont plus fréquentes de façon générale : les taux sont 5 à 10 fois plus élevés que dans les autres services hospitaliers (**Butreau-Lemaire et Botto, 1997**).

C'est un lieu d'échange entre les secteurs de soins aigus médico-chirurgicaux, les blocs opératoires et les centres de rééducation. C'est le secteur de l'hôpital où la pression de sélection antibiotique est la plus forte à cause de l'utilisation d'antibiotiques à très large spectre, le risque de transmission croisée de germes est élevé en raison de la multiplicité des soins. Les patients sont particulièrement exposés aux risques infectieux du fait de la gravité de la pathologie les amenant en réanimation, d'un état d'immunodépression quasi constant et des multiples techniques invasives pratiquées (intubation, ventilation mécanique, cathéters centraux, sondage vésical) (**Corne, 2004**).

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

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

Le diabète : les urines contenant de petites quantités de sucre représentent un excellent milieu de culture pour les bactéries, c'est un des facteurs expliquant les complications infectieuses urinaires chez les diabétiques.

Selon les fiches des patients étudiés et les résultats des bandelettes urinaires, le diabète a été un facteur favorisant chez 8,8% soit 22/250 patients (Tableau 10).

Celui-ci est régulièrement incriminé et pourrait favoriser les infections urinaires par différents mécanismes soit par altération de la vidange vésicale ou par modification de la composition de l'urine permettant une plus grande croissance microbienne (**Butreau-Lemaire et Botto,1997**).

État général du patient : sur les 250 patients étudiés au CHU de Tlemcen 62 présentent des troubles urologiques, 42 sont des immunodéprimés, 31 sont en dénutritions et les autres patients présentent des pathologies toutes aussi lourdes (Tableau10).

En effet, l'état général du patient est en relation directe avec le risque infectieux puisque certains facteurs de risques sont bien connus comme l'état nutritionnel (amaigrissement ou obésité), les patients neutropéniques, immunodéprimés (greffe d'organe), les patients diabétiques et la femme enceinte pour favoriser l'IUN (**Lobel, 2003**).

Tableau 10 : Caractéristiques générales des patients étudiés.

Pathologie	Nombres de patients
Troubles urologique	62
Diabète	22
dénutritions	31
Insuffisance rénale	15
Immunodépression	42
Autres	78

1.2 Résultats de l'analyse bactériologique des sondes urinaires.

En l'espace de 19 mois, sur les 250 sondes urinaires analysées, 600 souches bactériennes étaient identifiées.

Dans tous ces dispositifs, les espèces majoritairement isolées sont *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* avec prédominance d'*Escherichia coli*.

Les staphylocoques Gram+ sont largement présents où 200/250 sondes étaient contaminées par au moins un genre de staphylocoque.

Vu leurs importances et leurs fréquences sur les sondes urinaires, seules les espèces de staphylocoques ont été retenues pour toute la suite de notre étude.

1.2.1 Caractères phénotypiques des staphylocoques isolés

Sur le milieu de Chapman, les colonies présentant l'aspect macroscopique caractéristiques du genre *Staphylococcus* ont été prélevées, le développement bactérien sur le milieu de Chapman ne constitue qu'une indication, d'autres bactéries (enterocoques) peuvent y cultiver. Sur ce milieu, les colonies de *Staphylococcus* apparaissent souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, si non les colonies sont de couleur blanche. Les colonies sont arrondies à bords régulier de 1 à 2 mm de diamètre après 48h d'incubation à 37° (Figure11).



Figure11 : Photo de *Staphylococcus aureus* isolé de sondes urinaires.

La totalité des souches de *Staphylococcus spp* isolées répondent aux caractéristiques macros et microscopique du genre *Staphylococcus*.

Nous notons que sur les 600 souches isolées, 200 appartiennent au genre *Staphylococcus*, soit une fréquence de 30%. Ce taux élevé démontre l'importance de l'infection par ce germe sur ce dispositif.

1.2.2 Répartition des souches

Sur les 200 souches appartenant au genre *Staphylococcus*, 44 (22%) souches pures non redondantes ont été identifiées à l'espèce *S.aureus* par la mise en évidence d'une coagulase libre. Le reste des souches 156(78%) appartient aux espèces à coagulase négative (SCN) (Figure12).

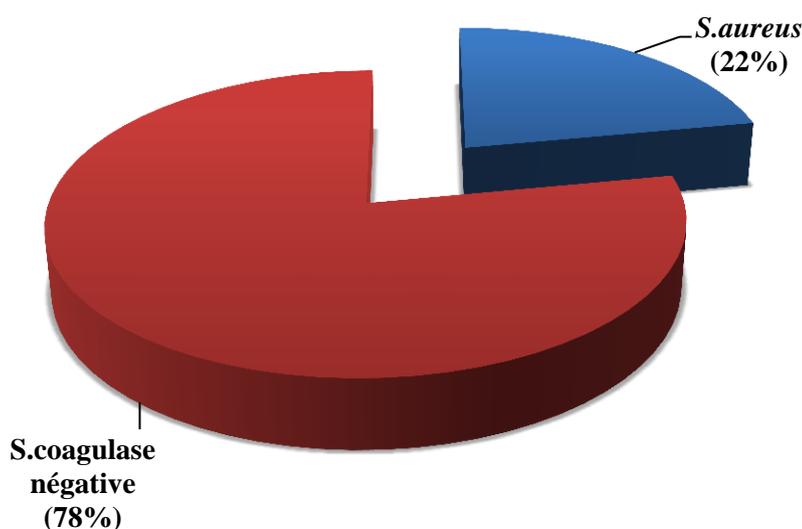


Figure12 : Distribution des bactéries isolées de sondes urinaire.

Considérés depuis des années comme des germes commensaux cutanés, les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont actuellement reconnus comme des agents majeurs d'infections nosocomiales. Des facteurs dus à l'hôte (statut immunitaire) ainsi que la multiplication des portes d'entrée (présence d'un matériel étranger) ont contribué à l'augmentation de ces infections nosocomiales.

L'importance du rôle des SCN en IUN est due à leurs grandes capacités à coloniser les sondes ainsi que l'organisation particulière de ces bactéries en biofilm qui est source

d'infections (**Herad et al., 1998**). Nos résultats sont en accord avec ceux retrouvés en 2009 par *Bose et al.*, qui confirment la dominance des SCN par rapport aux *S.aureus* dans l'infection urinaire .

La répartition en types des staphylocoques est présentée dans la figure 13 et le tableau 11, où on constate que le type le plus fréquemment isolé chez les patients participants à cette étude est le *Staphylococcus epidermidis* 28% avec prédominance du biotype 6606113 devant l'espèce *Staphylococcus aureus* 22% et le biotype 6736153 et en troisième position *Staphylococcus saprophyticus* 20% avec dominance du biotype 6630153.

Ces biotypes dominants ont été également retrouvés dans d'autres travaux au CHU de Tlemcen (**Rébiahi, 2011a**) et (**Khadir, 2013**), cette propagation des biotypes dans les différents services étudiés peut probablement être due, soit au manuportage entre le personnel soignant, par des contaminations entre patients où à l'écologie des services.

La répartition de nos souches va dans le même sens que celle retrouvée en 2002 par Guirguitzova et ses collaborateurs qui montrent que parmi les 266 souches de staphylocoques isolées d'urine, 13,5 % appartiennent au *S. aureus* et 86,5 % sont des staphylocoques à coagulase-négative.

Parmi nos espèces de staphylocoques à coagulase négative les plus retrouvés, l'espèce *Staphylococcus epidermidis* est connue comme agent pathogène opportuniste car il provoque des infections prédominantes chez les individus immunodéprimés.

Selon plusieurs études, *Staphylococcus epidermidis* est l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée des infections nosocomiales et est l'agent causal le plus répandu dans les infections sur dispositifs médicaux implantables. *Staphylococcus epidermidis* constitue une part importante de la flore bactérienne commensale de la peau humaine et des muqueuses, il est probablement facilement introduit en tant que contaminant lors de l'implantation chirurgicale d'un dispositif médical tel que les sondes urinaires [(**Von Eiff et al., 2002**) ; (**Otto, 2012**)].

Les infections de *S. epidermidis* sur dispositifs médicaux sont très souvent caractérisées par la formation de biofilm qui est considéré comme principal facteur de virulence chez cette espèce (**Otto, 2008**).

S. aureus classe en deuxième position dans notre étude, c'est aussi un agent commensal de la peau et des muqueuses de l'homme. Il présente le potentiel de pathogénicité le plus important de toutes les espèces du genre *Staphylococcus*. Ce germe est responsable d'infections aiguës et chroniques dont la plupart sont dues à sa capacité à adhérer à des dispositifs médicaux et à former un biofilm (**LiesseIyamba, 2012**).

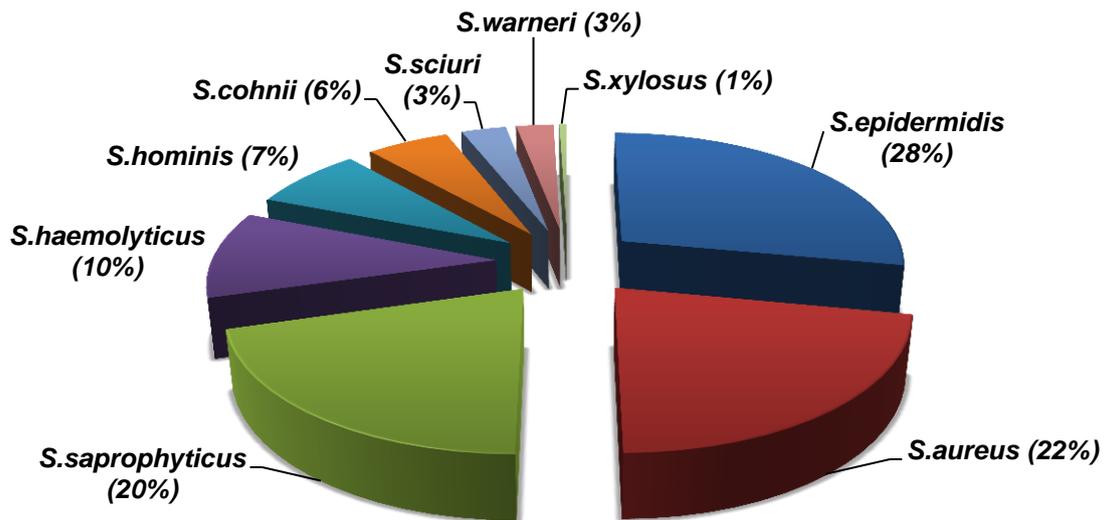


Figure 13 : Répartition des espèces de staphylocoques isolées de sondes urinaires.

Tableau 11 : Les différents biotypes des *Staphylococcus Spp* isolés de sondes urinaires.

Espèce	Nombre de souche	biotype	Nombre de fois isolés
<i>S. epidermidis</i>	56	6606113	21
		6606153	12
		6606013	9
		6616013	6
		6616113	4
		6616053	3
		6616153	1
<i>S. aureus</i>	44	6736153	22
		6736053	11
		6736113	6
		6636153	3
		6636112	1
		6736110	1
<i>S. saprophyticus</i>	41	6630153	29
		6630113	7
		6230153	5
<i>S. haemolyticus</i>	21	6632151	13
		6712010	8
<i>S. warnerie</i>	5	6232123	5
<i>S. hominis</i>	15	6212053	9
		6212153	6
<i>S. cohnii</i>	11	6310100	11
<i>S. sciuri</i>	6	6332410	6
<i>S. xyloso</i>	1	6776613	1

La pathogénicité des infections à *S. aureus* est liée à sa capacité à coloniser les tissus de l'hôte, à proliférer et à contourner le système de défense immunitaire grâce à des facteurs de virulence spécifiques tel que les facteurs d'adhésion, la production d'enzymes et de toxines (**Lowy et al., 1998**).

Quant aux *Staphylococcus saprophyticus*, ils représentent la deuxième cause d'infection urinaire de la femme jeune. Cette espèce est responsable de 42,3% des bactériuries communautaires chez les femmes entre 16 et 25 ans, elle peut être également isolée chez l'homme de plus de 50 ans (**Herard et al., 1998**).

Sur les 41 souches de *S.saprophyticus*, 32 sont isolées chez des patientes sondées et 9 seulement chez des hommes sondés.

D'après Guirguitzova et ses collaborateurs (2002), le réservoir de *S. saprophyticus* n'est pas encore déterminé parce que ce type peut être découvert en petites quantités dans le rectum, l'urètre et le col utérin chez certaines patientes.

Enfin, Six (6) souches de *Staphylococcus sciuri* présentant le même biotype sont isolées de sondes urinaires dans différents services. Celle-ci est principalement une espèce animale, mais peut coloniser les humains. *S. sciuri* a été associée à des infections graves chez l'homme, telles les endocardite, les péritonite, le choc septique, les infections de plaies et même à partir de l'urine (**Stepanovic et al., 2003**).

La première partie de notre travail nous a permis d'évaluer l'incidence des staphylocoques isolés de sondes urinaires dans trois services du CHU de Tlemcen et de confirmer leurs importances dans les infections urinaires nosocomiales sur sondes tout en mettant l'accent sur certains facteurs de risques ayant un impact sur ces infections.

Dans une seconde étape il nous a paru nécessaire d'approfondir nos recherches sur ces germes et d'entamer une mise en évidence de la multirésistance, de la production de toxines ainsi que leurs capacités d'adhésion et de la formation de biofilm sur surface abiotique telle que les sondes urinaires tout en essayant d'explorer un support génétique pouvant être à l'origine de ces deux derniers phénomènes.

2. Niveau de sensibilité des souches des staphylocoques isolées de sondes urinaires.

Pendant les années 1960, il a été constaté que le nombre des isolats de staphylocoques se manifestaient résistants aux semi-synthétiques bêta lactame méticilline, cloxacilline, flucloxacilline et suite à cela ils étaient nommés méticilline résistants staphylocoques (SARM). Les choses sont devenues encore plus compliquées quand de nombreuses études ont prouvé que ces souches sont résistantes à tous les antibiotiques bêta lactame y compris les céphalosporines (**Guirguitzoaet al., 2009**).

L'utilisation extensive et fréquemment abusive des antibiotiques couplée à un déséquilibre dans l'hygiène hospitalière permet à ces infections une évolution fulgurante traduisant ainsi plusieurs épidémies. Ce mal ne semble pas épargner l'Algérie qui enregistre une fréquence grandissante des staphylocoques résistants aux antibiotiques, ce qui engendre un taux de mortalité élevé et un surcoût tout aussi important (**Rebiahi, 2011a**).

Les tests d'évaluation de la résistance de toutes nos souches de staphylocoques aux antibiotiques selon la méthode des disques présentent des résistances associées. Les souches sont majoritairement résistantes à la pénicilline 93%, à l'oxacilline 84% et à la céfoxitine 83,5%, avec une prédominance chez les *Staphylococcus aureus* et de leur résistance à l'oxacilline et la céfoxitine pouvant les caractériser comme des SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline).

68,5% des souches de staphylocoques résistent à la gentamicine et 69% à l'amikacine et tobramycine (famille des aminosides), cette résistance est plus importante chez les souches de *Staphylococcus aureus*.

Pour la famille des macrolides, 71,5% de nos souches sont résistantes à l'érythromycine et 62,5% sont résistantes à l'ofloxacine non seulement pour les *Staphylococcus aureus* mais également pour et les staphylocoques à coagulase négative.

Quant aux autres antibiotiques, les taux sont variables, ils sont de 15% pour la rifampine (RA), 12,5% pour la fosfomycine, 28% pour la triméthoprim / sulfaméthoxazole (SXT).

43% des souches de staphylocoques sont résistantes à l'acide fusidique (FA) et 48% à la tétracycline. Cette résistance concerne notamment les *Staphylococcus aureus* avec des taux de résistance beaucoup plus élevés à ceux retrouvés chez les staphylocoques à coagulase négative avec respectivement 70,5% et 75% contre 35% et 40,5%.

Résultats et discussion

En revanche, les antibiotiques clindamycine (DA), pristinamycine (PT), chloramphenicol (C) sont plus au moins actifs sur l'ensemble des staphylocoques isolés de sondes urinaires avec respectivement 6%, 4% et 6% de souches résistantes (Figures 14, 15, 16 et Tableau12).

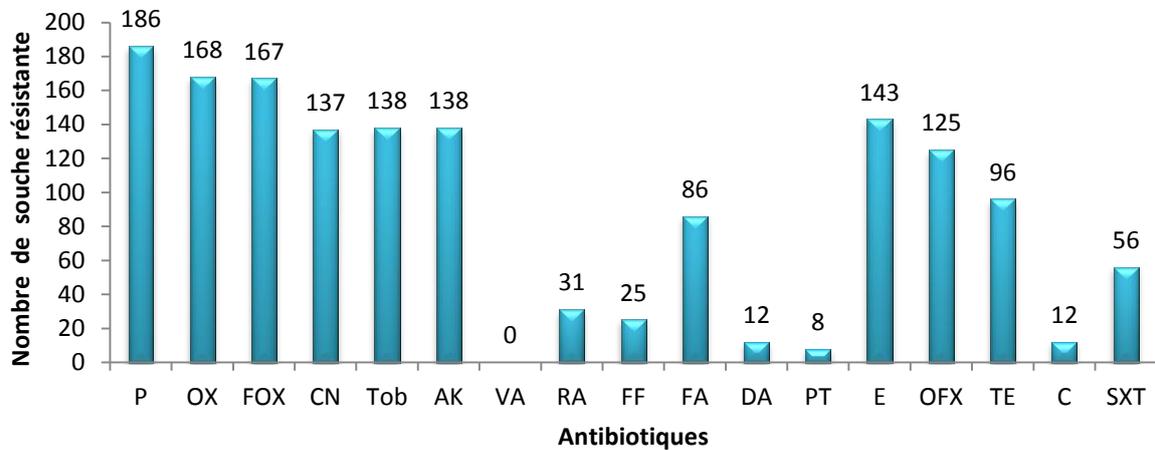


Figure 14 : Profil de résistances aux antibiotiques des souches de staphylocoques isolées de sondes urinaire au CHU de Tlemcen.

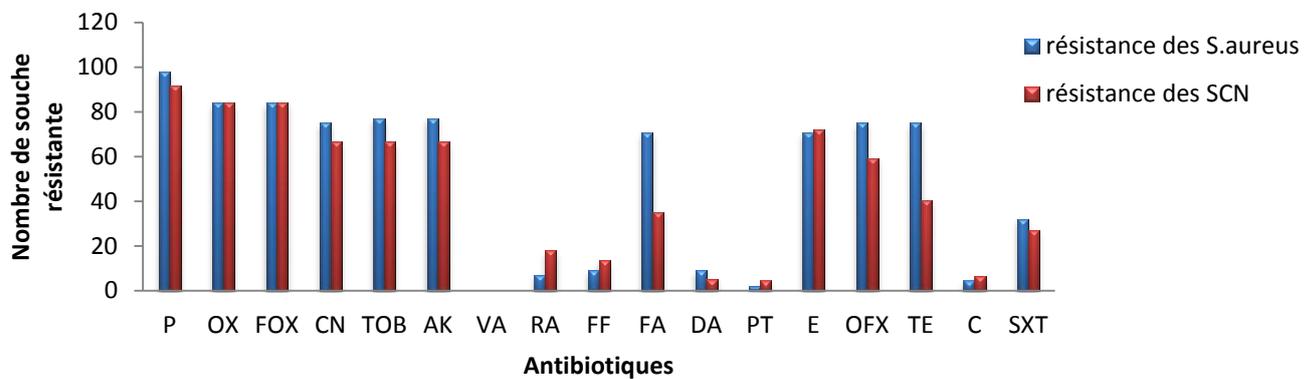
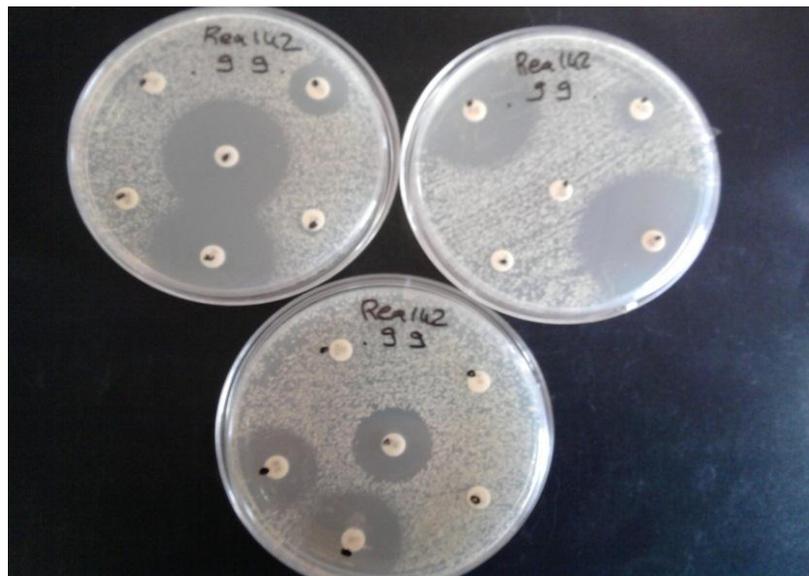


Figure15 : Comparaison des profils de résistances de souches de *S.aureus* et de staphylocoque à coagulase négatives (SCN) isolées de sondes urinaires.



(A)



(B)

Figure 16 : Photos de l'antibiogramme

A : *Staphylococcus epidermidis*, B : *Staphylococcus aureus*.

Tableau 12 : Taux de résistance des staphylocoques isolés de sondes urinaires

Antibiotiques	Nombre de <i>S.aureus</i> résistantes n=44		Nombre de SCN résistantes n=156		Nombre de souches résistantes	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Penicilin(P)	43	98%	143	91.5%	186	93%
Oxacillin (OX)	37	84%	131	84%	168	84%
Cefoxitin(Fox)	37	84%	131	84%	167	83.5%
Gentamicin (CN)	33	75%	104	66.5%	137	68.5%
Tobramycin (Tob)	34	77%	104	66.5%	138	69%
Amikacine (AK)	34	77%	104	66.5%	138	69%
Vancomycine (VA)	0	0%	0	0%	0	0%
Rifampim(RA)	3	7%	28	18%	31	15.5%
Fosfomycin(FF),	4	9%	21	13.5%	25	12.5%
Fusidic Acid(FA)	31	70.5%	55	35%	86	43%
Clindamycin(DA)	4	9%	8	5%	12	6%
Pristinamycin (PT)	1	2%	7	4.5%	8	4%
Erythromycin(E)	31	70.5%	112	72%	143	71.5%
Ofloxacin(OFX)	33	75%	92	59%	125	62.5%
Tetracycline(TE)	33	75%	63	40.5%	96	48%
Chloramphenicol (C)	2	4.5%	10	6.5%	12	6%
Triméthoprime / sulfaméthoxazole (SXT).	14	32%	42	27%	56	28%

La fréquence élevée de la résistance aux antibiotiques des staphylocoques (coagulase- et coagulase+) est inquiétante. Ces résultats sont en accord avec ceux de Touati et ses collaborateurs en 2007 qui ont annoncé que 76,8% des souches de staphylocoques responsables d'infections sur cathéters sont résistantes à l'oxacilline, 46,4% à la gentamicine et 75% à l'ofloxacine.

Cette multi résistance complique la prise en charge thérapeutique des bactériémies responsables d'infections urinaires nosocomiales sur sonde et expliquerait en partie le caractère nosocomial de cette espèce. Cette situation est la conséquence de la pression de sélection due au large usage des antibiotiques. De plus, ces résistances acquises du fait de leur déterminisme plasmidique ont un grand pouvoir de dissémination (**C.A.S.F.M, 2012**).

En effet, les staphylocoques sont des pathogènes commensaux des mammifères, ils sont donc naturellement présents à la surface de la peau. C'est cette propriété qui confère au staphylocoque une exposition aux substances antibiotiques quasi permanente au sein des hôpitaux. Lors d'administration d'antibiotiques à un individu il a été montré qu'une partie est excrétée par la sueur à la surface de la peau, ce qui provoque une exposition des bactéries à de basses concentrations (**Maltezou, 2006**). Les staphylocoques ne sont pas tués par ces concentrations et sont alors amenés à établir des résistances. L'utilisation excessive et inadaptée des antibiotiques est la principale responsable de l'émergence des résistances. De même, au sein des structures hospitalières, la présence d'agents antibactériens est quasi permanente. Les patients qui sont plus ou moins en bonne santé font office de réservoir et le personnel soignant de vecteur. Les bactéries sont alors dans des conditions idéales pour se multiplier et se disséminer. Leur cohabitation permanente avec les antibiotiques leur donne l'opportunité de développer des résistances ou d'acquérir de nouveaux facteurs de résistance auprès d'autres populations bactériennes présentes (**Collomb, 2011**).

Aucune souche résistante à la vancomycine n'a été détectée dans notre étude, ce résultat est comparable à celui obtenu par Abdallah *et al.*, en (2011) qui avait également trouvé que la vancomycine était l'antibiotique le plus efficace sur les staphylocoques uropathogènes.

La vancomycine constitue la molécule de choix dans le traitement des infections graves à staphylocoques, ceci incite à une surveillance continue de la sensibilité de ces bactéries aux glycopeptides puisque l'émergence de souches résistantes à la vancomycine a été déjà décrite au CHU de Tlemcen (**Rebiahi *et al.*, 2011b**).

La surveillance de la résistance des souches aux antibiotiques doit être continue et systématique, basée sur une politique de prescription des antibiotiques de chaque service, la prévention des infections nosocomiales et des études épidémiologiques prospectives.

Dans ce domaine, plus pratiquement, la coopération permanente entre cliniciens et microbiologistes est nécessaire pour un double objectif : thérapeutique et prophylactique (Sekhsokh *et al.*, 2008).

3. Recherche des toxines staphylococciques

Alors que la plus part des staphylocoques sont des commensaux et très fréquents de nôtre flore normale, certains SCN et *S.aureus* sont très souvent rencontrés en pathologie humaine et à l'origine d'une grande diversité d'infection dont l'IU sur sonde. L'expression clinique de ces infections dépend de nombreux facteurs de virulence que ces staphylocoques sont capables de produire.

Les staphylocoques notamment *Staphylococcus aureus* produisent une variété de toxines importantes telles que les hémolysines α , β , δ , et γ , la leucocidine et les toxines formant des pores qui peuvent lyser les membranes cytoplasmiques des cellules immunitaires, favorisent la multiplication et lapropagation du pouvoir pathogène (Mehrotra *et al.*, 2000) .

Compte tenu dunombre de personnes exposées à ces germes, de leurs résistances importante vis-à-vis de différent antibiotiques et de la violence de la symptomatologie associée à la production de toxines, il nous a semblé nécessaire de détecter la présence de certains gènes toxiniques chez les souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires et responsable d'infections urinaires nosocomiales.

L'ADN de 44 souches de *Staphylococcus Spp* toutes espèces confondues choisie en fonction de la dominance de leurs biotypes était analysé par PCR pour la révélation de 22 gènes sélectionnés codant pour les toxines staphylococciques (Figure 17 et 18).

Parmi les 22 gènes toxiniques recherchés, 13 gènes ont été retrouvé (*sed, selo, selk, tst, selq, sea, etd, lukm, selm, seb, edin ABC*) leur répartition en fonction des espèces de staphylocoques est donnée dans les tableaux 13 et 14.

Les souches cliniques degenre *Staphylococcus* isolées de sondes urinaires produisent une variété de toxines extracellulaires qui contribuent à la pathogénèse de ces microorganismes.

Sur les 44 souches testées, 13 sont productrices d'au moins un gène toxinique dont 7 souches de *S.aureus*, 4 *S.saprophyticus*, 1 *S.epidermidis* et 1 *S.hominis*.

Sur les 21 *S.epidermidis*, 1 seule souche résistante à 9 antibiotiques, présente le gène *selo* des entérotoxines staphylococciques like. Les *S.epidermidis* sont des commensaux de la peau et leur pouvoir pathogène et peu démontré.

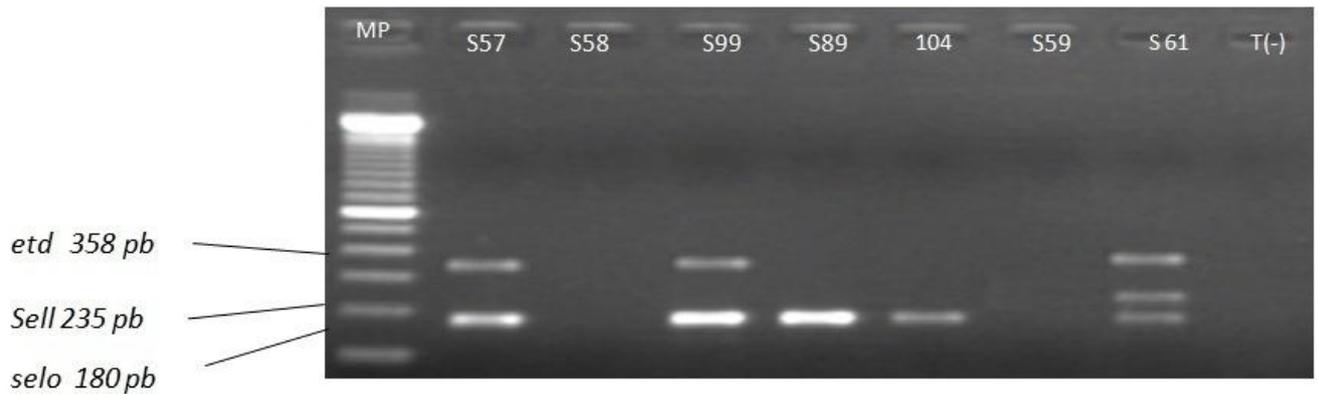


Figure 17: Révélation après migration sur gel d'agarose (1,5%) des gènes toxiques amplifiés par PCR multiplex 5 : gènes recherchés, *etd*, *sell* et *selo*.

MP : Marqueur de poids moléculaire (100 pb DNA ladder, Invitrogen)

S57, S99, S89 et 104 : souches positives pour le gène *selo*

S57et S99 : souches positives pour le gène *etd*

S61 : ADN d'une souche positive pour les gènes *etd*, *sell* et *selo* : contrôle positif

T(-) : contrôle négatif.

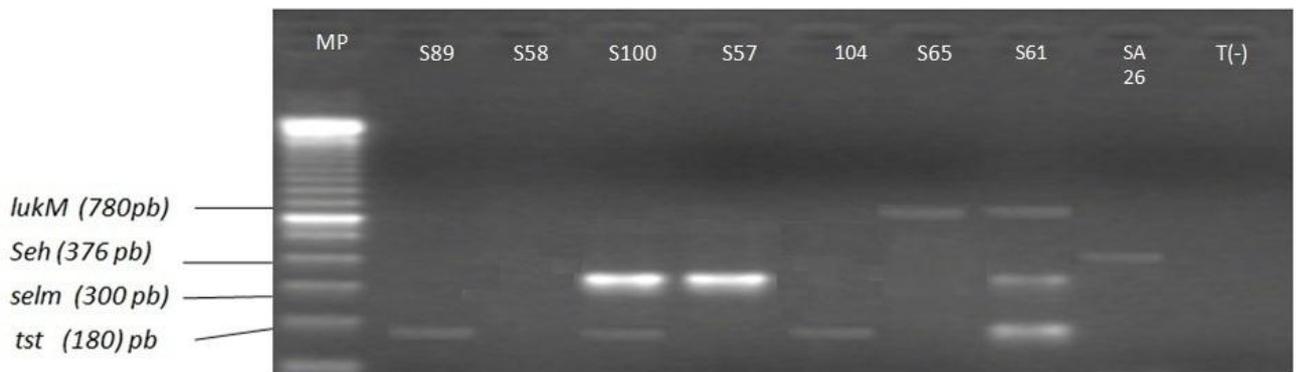


Figure 18 : Révélation après migration sur gel d'agarose (1,5%) des gènes toxiques amplifiés par PCR multiplex 1: gènes recherchés, *lukM*, *seh*, *selm* et *tst*.

MP : Marqueur de poids moléculaire (100 pb DNA ladder, Invitrogen) ;

S65 : souches positives pour le gène *lukM*

S89, S100 et 104 : souches positives pour le gène *tst*

S100 et S57 : souches positives pour le gène *selm*

S61 : ADN d'une souche positive pour les gènes *lukM*, *selm* et *tst* : contrôle positif ;SA26 :

ADN d'une souche positive pour le gène *seh* : contrôle positif ;T(-) : contrôle négatif.

Sur les 11 souches de *Staphylococcus aureus* isolées de sondes urinaires et résistantes à 7 antibiotiques ou plus (à l'exception de deux souches S65, S100), 7 d'entre eux présentent au moins 1 gène toxinique. En effet, *S. aureus* présente le potentiel de pathogénicité le plus important de toutes les espèces du genre *Staphylococcus* (Liesse Iyamba, 2012).

Sur l'ensemble des souches de *S. saprophyticus* isolées des sondes urinaires 1/3 d'entre elle présente au moins un gène toxinique.

Tableau 13 : Les différents gènes toxiques retrouvés chez les *staphylocoques* étudiés.

Toxines	gènes	Nombre de fois retrouvé
entérotoxines staphylococciques (SE)	<i>sea</i>	1
	<i>seb</i>	1
	<i>sec</i>	0
	<i>sed</i>	3
	<i>seh</i>	0
	<i>selr</i>	0
Entérotoxinesstaphylococciqueslike	<i>selk</i>	5
	<i>sell</i>	0
	<i>selm</i>	2
	<i>selp</i>	0
	<i>selq</i>	5
	<i>selo</i>	6
TSST-1	<i>tst</i>	4
toxines inhibitrices de la différenciation des cellules épidermiques (EDIN)	<i>edinA</i>	1
	<i>edinB</i>	1
	<i>edinC</i>	1
exfoliatines ou épidermolysines A, B et C	<i>eta</i>	0
	<i>atb</i>	0
	<i>etd</i>	2
leucotoxines M et de Panton-Valentine	<i>lukM</i>	1
	<i>lukPV</i>	0
l'hémolysine bêta	<i>hly</i>	0
Combinaison	<i>selq/selk</i>	3
	<i>tst/selo</i>	1
	<i>selk/selq/sed</i>	1
	<i>tst/selo/sea/etd/sed</i>	1
	<i>tst/selo/selq</i>	1
	<i>selm/selo/etd/seb/edinABC</i>	1
	<i>tst/selm/selo</i>	1

Tableau 14: Nombre de gènes isolés chez les différents genres de *Staphylococcus Spp.*

Souches	espèces	gènes toxiques	Biotype	Antibiotype
S106	<i>S.saprophyticus</i>		6630153	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, RA, FA, E, OFX, TE, SXT
S107	<i>S.saprophyticus</i>	<i>sed</i>	6630153	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, E, OFX, SXT
S110	<i>S.saprophyticus</i>	<i>selq/selk</i>	6630153	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, RA, FA, E, OFX, TE, SXT
S104	<i>S.saprophyticus</i>	<i>tst/selo</i>	6630153	P,OX,FOX,CN,TOB,AK,,E,OFX,C,SXT
S60	<i>S.saprophyticus</i>	<i>selk</i>	6630153	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, E, OFX, TE, SXT
S84	<i>S.saprophyticus</i>		6630153	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, E, OFX, SXT
S78	<i>S.saprophyticus</i>		6630153	OFX
S86	<i>S.saprophyticus</i>		6630153	P,OX,FOX,CN,TOB,AK,E,OFX,TE,,SXT
S66	<i>S.saprophyticus</i>		6630153	P, OX, FOX, CN, TOB, AKE, OFX, TE,
S52	<i>S.saprophyticus</i>		6630153	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, RA, FA, E, OFX, TE,
S1	<i>S.saprophyticus</i>		6630153	P, OX, FOX, CN, TOB, AK,
S105	<i>S.aureus</i>	<i>selk/selq/sed</i>	6736153	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, FA, E, OFX,
S89	<i>S.aureus</i>	<i>tst/selo/selq</i>	6736153	P, RA.
S62	<i>S.aureus</i>		6736153	P, OX, FOX, FA, OFX, TE,
S80	<i>S.aureus</i>	<i>selk/selq</i>	6736153	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, E, OFX, TE, SXT
S65	<i>S.aureus</i>	<i>lukM</i>	6736153	P
S54	<i>S.aureus</i>		6736153	P, OX, FOX, TOB, AK, E, OFX, TE,
S79	<i>S.aureus</i>		6736153	P,OX,FOX,CN,TOB,AK,FA,,E,OFX,TE,,SXT
S77	<i>S.aureus</i>		6736153	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, E, OFX, TE, SXT
S57	<i>S.aureus</i>	<i>selm/selo/etd/seb/edin ABC</i>	6736153	P, CN, TOB, AK, TE
S100	<i>S.aureus</i>	<i>tst/selm/selo</i>	6736153	P
S83	<i>S.aureus</i>	<i>selk/selq</i>	6736153	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, FA,E, OFX, TE
S108	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P,OX,FOX,CN,TOB,AK,,E,OFX,TE,SXT
S109	<i>S.epidermidis</i>	<i>selo</i>	6606113	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, E, OFX,SXT
S103	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P
S91	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P
S92	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P,OX,FOX,CN,TOB,AK,FF,,E,OFX,TE,
S95	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P,OX,FOX,CN,TOB,AK,,E,OFX,,SXT
S94	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, FOX, CN, TOB, AK,E, OFX, C, SXT
S7	<i>S.epidermidis</i>		6606113	FF, FA, DA,E,
S96	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, FOX, CN, TOB, AK,PT, E, OFX, SXT
S74	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, FOX, CN, TOB, AK,FA,E, OFX
S51	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, FOX, CN, TOB, AK,OFX,
S59	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, TE,
S87	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, FOX, FA,E, TE,
S72	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, FOX, TE
S58	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, FA, DA,E, OFX,
S69	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, E, OFX,
S73	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, E, OFX, TE,
S64	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, E, OFX, TE
S68	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, FOX, CN, TOB, AK, FA, E
S71	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, FA, C
S90	<i>S.epidermidis</i>		6606113	P, OX, CN, TOB, AK, DA, E, TE.
S99	<i>S.hominis</i>	<i>tst/selo/sea/etd/sed</i>	6212053	P,OX,FOX,CN,TOB,AK,

Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par Ando *et al.*, (2004) où ils ont détecté que les staphylocoques isolés d'infections urinaires sur sonde produisaient un ensemble de facteurs de virulence dont les toxines *tst*, *hla*, *hly*, *sea*, *seb*, *sec*.

L'étude de Demir *et al.*, (2011) réalisée à l'hôpital Mustafa Kemal en Turquie montre que 65,8% des staphylocoques isolés de diverses origines possèdent au moins un gène toxinique. Les gènes codants pour les toxines staphylococciques ont des supports génétiques divers dont la caractéristique commune est d'appartenir à un élément génétique mobile. Ils peuvent être portés par des plasmides (*seb*, *sed*, *sej*, *ser*, *ses*, *set*), par des phages (tempéré pour *sea* ou déficient pour *see*) par des îlots génomiques (*seb*, *sec*, *seg*, *seh*, *sei*, *sek*, *sel*, *sem*, *sen*, *seo*, *sep* et *seq*) (Hennekine, 2009).

Ces régions chromosomiques mobiles rendent le génome très dynamique en favorisant les transferts horizontaux entre les différentes souches bactériennes. Ainsi, ces dernières années le séquençage de différents génomes a montré que des souches considérées jusqu'à présent comme peu pathogènes avaient acquis des gènes de virulences par transfert d'îlots de pathogénie. C'est le cas d'une souche de *S.epidermidis* qui avait acquis des gènes de virulences de *S.aureus*, ces régions fournissent un système complémentaire à la conjugaison des plasmides et permettent un échange de gènes spécifiques à la virulence (Chevalier, 2009).

4. Détection et évaluation de la formation du biofilm

Staphylococcus aureus et les staphylocoques à coagulase négative sont les germes les plus fréquemment responsables d'infection sur corps étrangers tel que les cathéters, les valves cardiaques et les sondes urinaires. Leur facteur de virulence majeur est la capacité à produire une matrice extracellulaire et constituer un biofilm ; ce qui rend extrêmement difficile le traitement clinique (Fitzpatrick *et al.*, 2002).

Le mécanisme de formation de biofilm sur une sonde urinaire est simple. Une fois la sonde posée, un film protéique va se déposer à sa surface et favoriser la fixation de micro-organismes et par conséquent entraîner la formation d'un biofilm. Une fois que les bactéries ont colonisé la sonde et l'uro-épithélium, elles s'adaptent au nouvel environnement formé et se procurent des nutriments. La production bactérienne de toxines et d'enzymes dans l'environnement entraîne une dégradation des tissus avoisinants et une libération de nutriments (Jacobsen, 2008).

Ainsi, ce biofilm microbien s'installe en 24 à 72 heures après la pose de la sonde. Si certains staphylocoques dotés d'une uréase (*S.saprophyticus*) sont présents dans le biofilm, elles hydrolysent l'urée en ammoniac libre induisant une augmentation du pH urinaire et la précipitation de minéraux sous forme de cristaux de struvite ou d'hydroxyapatite qui s'incrustent sur la sonde. L'incrustation qui siège autour du ballon et dans la lumière de la sonde entraîne une réduction du canal de drainage et une stagnation des urines, favorisant ainsi la survenue de bactériurie. C'est une particularité du biofilm des sondes vésicales (Tunney,1999).

La détection précoce des biofilm à staphylocoques peut être l'une des étapes essentielles pour la prévention et la gestion des infections urinaires nosocomiales sur sondes (Martín-López *et al.*, 2002).

Compte tenu des durées de sondage très élevées chez la majorité de nos patients (11 jours en moyenne), des infections à staphylocoques multirésistantes et à leurs pouvoirs toxiques, il nous a paru important de connaître si toutes nos souches de staphylocoques étaient capables de former un biofilm pouvant contribuer à l'installation de l'infection sur sonde.

Des méthodes classiques de la détection de la production de biofilms *in vitro* ont été établis, la méthode semi quantitative en tube, la méthode quantitative des microplaques 96 puits et la méthode qualitative du rouge congo.

4.1 Résultats de la technique RCA

La recherche de la production de slime sur milieu rouge Congo a révélé que 111 souches sur 200 isolées de sondes urinaires sont productrices de slime (Figure19), soit 56,8% des souches de *Staphylococcus aureus*, 53,5% des souches de *Staphylococcus epidermidis* et 63.4% des souches de *Staphylococcus saprophyticus* (Tableau 15).

Nos résultats concordent avec ceux retrouvés par Arciola *et al.*,(2001) où la production de slime est beaucoup plus importante chez les *S.aureus*(60,8%) par rapport au SCN(48,5%).

Thomas *et al.*,(1992) trouvent que 11% des souches *Staphylococcus saprophyticus* uropathogènes sont productrices de slime.

De même Chaieb *et al.*,(2005) rapportent que 50% des *Staphylococcus epidermidis* isolés d'une unité de dialyse produisaient un slime bactérien.

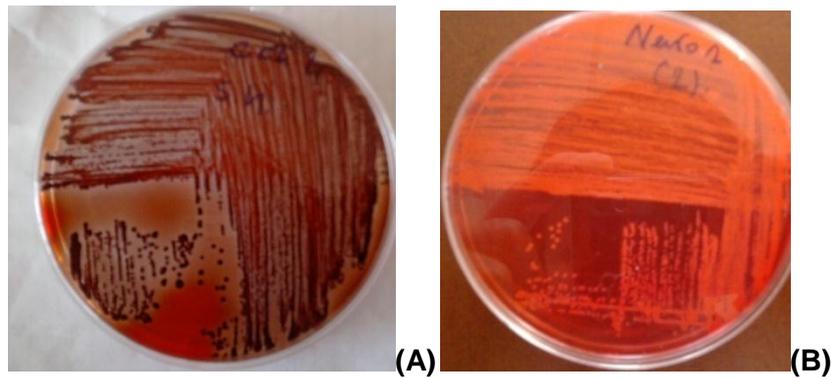


Figure 19 : Production de slime chez les staphylocoques isolés sur milieu rouge congo

A : formatrice de slime, **B** : non formatrice de slime

Tableau 15 : Résultats de la formation du biofilm selon les espèces de *staphylococcus spp.*, par la technique RCA .

Micro organismes	Nombres	Souches formatrices de biofilm par RCA	
		N°	%
<i>S. epidermidis</i>	56	30	53.5%
<i>S. aureus</i>	44	25	56.8%
<i>S. saprophyticus</i>	41	26	63.4%
<i>S. heamolyticus</i>	21	13	62%
<i>S. hominis</i>	15	7	46.5%
<i>S. cohnii</i>	11	5	45.5%
<i>S. sciuri</i>	6	2	33.3%
<i>S. warneri</i>	5	1	20%
<i>S. xylosus</i>	1	1	100%
Total	200	111	55.5%

4.2 Résultat de la TCP

La détermination quantitative de la formation de biofilm chez toutes nos souches a été réalisée par la technique sur microplaques TCP (**Figure20**).

En utilisant le milieu de croissance BHIB non additionné de supplément, seulement 60/200 (30%) des souches sont productrices de biofilm avec un taux de 48% chez les souches de *S.epidermidis* et 40,5% chez *S.aureus* (Tableau16).

Deux souches dont 1 *S.aureus* et 1 *S.saprophyticus* étaient classées comme fortement productrice de biofilm, 58 modérées et 140/200 sont non formatrices de biofilm (Tableau 17).

Les résultats obtenus par la technique TCP sont en accord avec les observations d'autres auteurs qui montrent que peu de souches sont formatrices de biofilms dans un milieu de croissance sans supplément (sucre, antibiotiques ou Nacl) [(Cho *et al.*, 2002); (Johannes *et al.*, 2002) ; (Mathur *et al.*, 2006)] .

Johannes *et al.*,(2002) ont montré dans leurs étude qu'en utilisant un milieu de base, 4 souches seulement des 128 *S.aureus* isolées formaient un biofilm. De même Mathur *et al.*, (2006) dans les mêmes conditions trouvent 7 souches formatrices de biofilm sur un total de 152.

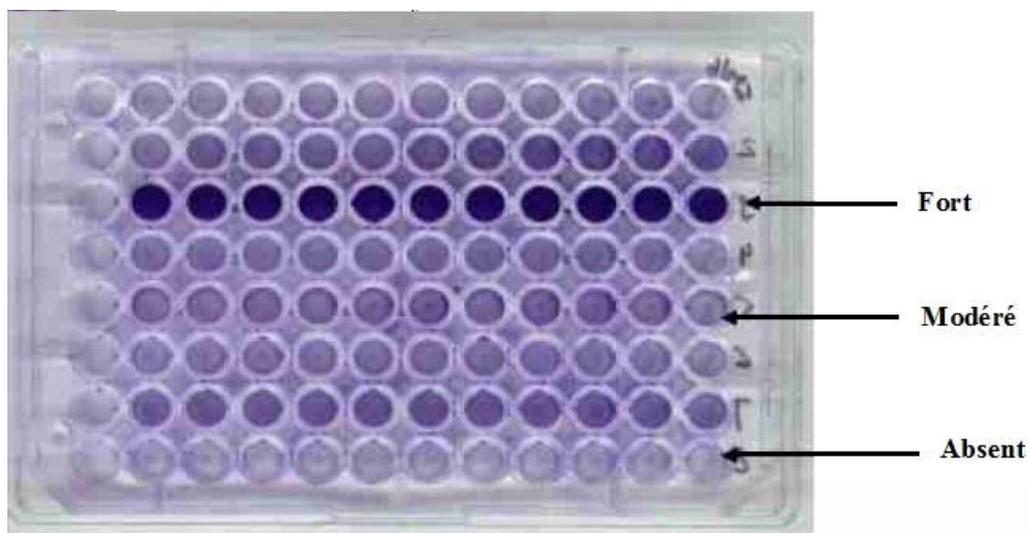


Figure 20 :Formation de biofilm par la technique TCP

Tableau 16 : Résultats de la formation du biofilm selon les espèces de *Staphylococcus spp.*, par la technique TCP.

Micro organismes	Nombres	Souches formatrices de biofilm par TCP		Souches formatrices de biofilm par TCP+sucre	
		N°	%	N°	%
<i>S. epidermidis</i>	56	27	48%	40	71.5%
<i>S. aureus</i>	44	18	40.5%	29	66%
<i>S. saprophyticus</i>	41	10	24.5%	15	36.5%
<i>S. heamolyticus</i>	21	3	7.5%	7	33%
<i>S. hominis</i>	15	1	6.5%	3	20%
<i>S. cohnii</i>	11	1	9%	2	18%
<i>S. sciuri</i>	6	0	0%	1	16%
<i>S. warneri</i>	5	0	0%	2	40%
<i>S. xylosus</i>	1	0	0%	0	0%
Total	200	60	0%	99	49.5%

Tableau17 : Classification du biofilm formé par *Staphylocoques.*, *spp* isolées de sondes urinaires par la techniques TCP

Nombre de souches isolées n=200	Formation de biofilm	TCP		
		BHIB	BHIB _{1%glu}	BHIB _{2%sac}
	Fort	2	18	39
	Modéré	58	81	60
	Absente	140	101	101

4.3 Effet du glucose et du saccharose sur la formation de biofilm par la technique TCP

Pour évaluer l'impact des conditions environnementales sur la formation de biofilm pour les isolats cliniques, nous avons détecté la formation de biofilm en utilisant le milieu de croissance (BHIB) additionné de 1% de glucose ou 2% de saccharose. Il en résulte une augmentation en nombre de souches capables de former un biofilm par la technique TCP avec 49.5% (99 /200) des souches produisant un biofilm en présence d'un de ces suppléments. Ainsi, le taux global de souches formatrices de biofilm a augmenté de 30 % à 49.5% après l'ajout de l'un des sucres (Figure 21). Le saccharose semble stimuler plus la formation du biofilm où 39 sont de bonnes productrices et 60 forment modérément le biofilm. En présence du glucose, seules 18 souches sont fortement productrices de biofilm et 81 sont modérées (Tableau 16).

l'étude de Rasha et ses collaborateurs (2012) ainsi que celle d'Agarwal, et Jain en 2013 ont montré une augmentation significative de la production de biofilm par des isolats cliniques de *Staphylococcus* lorsqu'ils sont exposés à des concentrations de glucose différentes .

Cho *et al.*,(2002) dans leurs étude sur les sondes urinaires montrent que le taux de *S.epidermidis* formatrices de biofilm passait de 27% à 39% après l'ajout d'un stimulateur.

Ces observations suggèrent une forte dépendance entre les conditions de croissance et la formation de biofilm chez les staphylocoques et que l'utilisation de diverses supplémentsations de sucre est essentielle à sa formation (**Mathur *et al* , 2006**).

D'autre part Vuong et Otto., (2002) expliquent que l'addition de grandes quantités de sucre au milieu de croissance des staphylocoques induit un état de stress qui à son tour stimule une fermentation, ce qui augmente la production de PIA et par conséquent la production de biofilm.

Cette hypothèse pourrait expliquer la formation importante de biofilm chez les staphylocoques isolés des sondes urinaires de patients diabétiques (Figure 22).

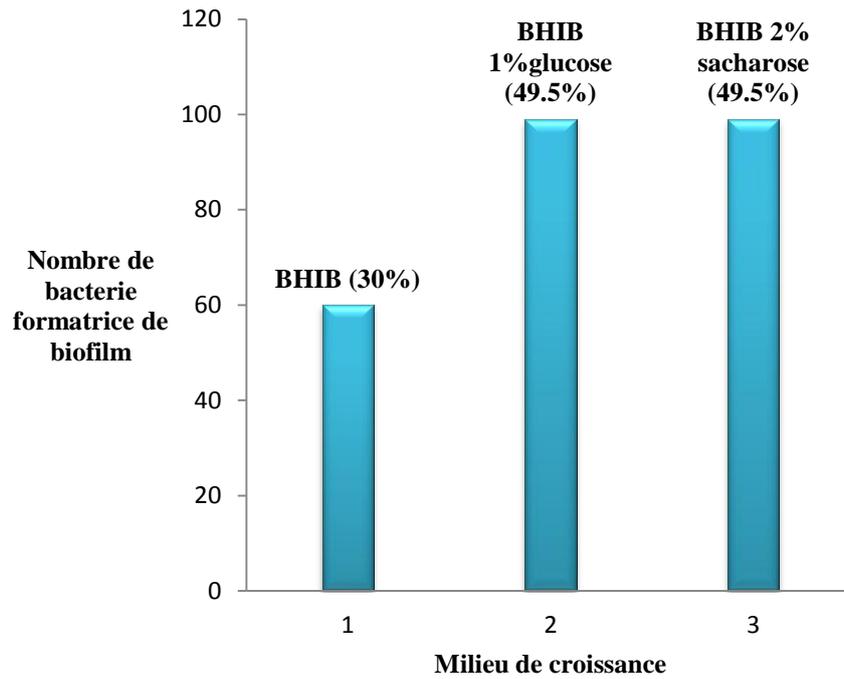


Figure 21 : Formation de biofilm par *Staphylococcus spp* par la technique TCP dans les différents milieux.

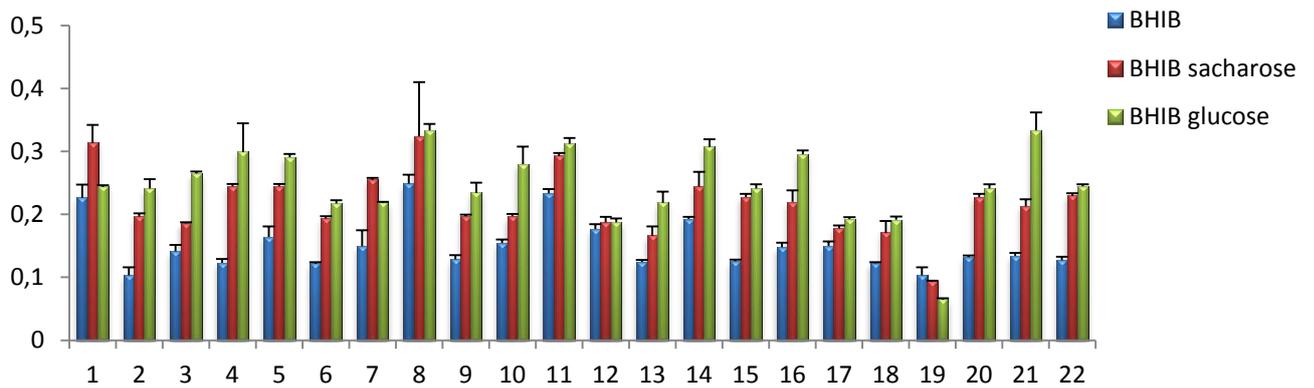


Figure 22 : Formation de biofilm par la technique TCP chez les staphylocoques isolés de patients diabétiques au CHU de Tlemcen.

4.4 Résultats de la technique TM

Les résultats obtenus par la techniques TM (Tableau18) différent de ceux obtenus par la technique TCP. 17/200 souches sont productrices de biofilm par cette technique dont 7 *S.epidermidis*, 5 *S.aureus*, 4 *S.saprophyticis* et 1 *S.haemolyticus*. 2 souches étaient classées comme fortement productrices, 15 souches modérées et 183 non formatrices.

Olivera *et al.*,(2010) ont trouvé dans leurs étude que sur les 100 souches isolées, 82 produisaient un biofilm par la technique TM et que cette dernière était plus sensible et spécifique que la technique TCP.

Tableau 18 : Résultats de la formation du biofilm selon les espèces de *staphylococcus spp.*, par la technique TM.

Micro organismes	Nombres	Souches formatrices de biofilm par TM	
		N°	%
<i>S. epidermidis</i>	56	7	12.5%
<i>S.aureus</i>	44	5	11%
<i>S.saprophyticus</i>	41	4	9.7%
<i>S.heamolyticus</i>	21	1	4.7%
<i>S.hominis</i>	15	0	0
<i>S.cohnii</i>	11	0	0
<i>S.sciuri</i>	6	0	0
<i>S.warneri</i>	5	0	0
<i>S.xylosus</i>	1	0	0
Total	200	17	8.5%

Dans notre étude, la technique en tube présentait une bonne corrélation avec la technique TCP pour les souches fortement productrices de biofilm (Tableau19). Par conséquent, une grande variabilité a été observée quant à la classification en biofilm positif et négatif par la méthode en tube. De même, il était difficile de différencier entre les souches faiblement productrices de biofilm et non productrice. Nous confirmons l'hypothèse déjà formulée par

plusieurs auteurs dont Mathur *et al.*, (2006) que la technique en tube ne peut pas être recommandée en routine.

Tableau19 : Classification du biofilm formé par *Staphylocoques.*, *spp* isolées de sondes urinaires par les techniques TCP et TM.

Nombre de souches isolées n=200	Formation de biofilm	TCP			TM
		BHIB	BHIB _{1%glu}	BHIB _{2%sac}	
	Fort	2	18	39	2
	Modéré	58	81	60	15
	Absente	140	101	101	183

Par conséquent, la technique TCP est la plus largement utilisée et est considérée comme un test standard pour la détection de la formation de biofilm. Cette méthode a été rapportée comme étant la plus sensible, précise et reproductible pour la détermination de la formation de biofilm à staphylocoques. Elle permet une détermination quantitative pour comparer l'adhésion des différentes souches et aussi examiner un grand nombre d'isolats simultanément (**Rasha *et al.*, 2012**).

C'est une technique quantitative pratique et économique pour l'identification des facteurs et des conditions de cultures optimales pour la formation de biofilm. Cependant, elle peut être moins précise pour déterminer la capacité des souches à sécréter le slime bactérien (**Castro Melo *et al.*, 2013**).

Pour cette raison Rasha et ses collaborateurs en 2012 ont proposé la méthode de culture sur RCA comme une alternative à la méthode TCP pour le dépistage de la formation de biofilm par les staphylocoques étant plutôt facile à réaliser, elle prend moins de temps, elle est sensible et spécifique.

5. Détection des gènes *ica A* et *ica D*.

A partir des années 90, de nombreux auteurs ont entrepris l'étude de la composition de la substance extracellulaire des staphylocoques et de justifier sa localisation comme une pseudo-capsule. Cette substance a été diversement nommée et correspondait à l'adhésine intercellulaire polysaccharidique, ou PIA pour « Polysaccharide Intercellular Adhesin » [(Tojoet *al.*, 1988) ; (Muller *et al.*, 1993) ; (McKenneyet *al.*, 1998)].

Décrite la première fois chez *S. epidermidis* par Mack *et al.* (1992) la PIA est principalement localisée à la surface de la cellule [(Heilmann *et al.*, 1996a) ; (Heilmann *et al.*, 1996b)]. Elle est codée par le locus *ica* et joue un rôle important dans l'adhésion intercellulaire et de ce fait a été reconnue comme un facteur crucial dans la colonisation de matériel médical par les staphylocoques [(Mack *et al.*, 1996) ; (Gerkeet *al.*, 1998) ; (Cramtonet *al.*, 1999) ; (Martín-López*etal.*, 2002)].

Les gènes *icaA* et *icaD* ont été recherchés par la technique PCR et appliqués à 44 souches de staphylocoques (Tableau 20, Figure 23).

Les gènes *icaA* et *ica D* ont été détectés ensemble chez 17 d'entre elles (38,5%) soit chez 5 *S.aureus*, 5 *S.saprophyticus*, 6 *S.epidermidis* et 1 *S. hominis*. Deux autres souches de *S.aureus* présentaient seulement le gène *ica D*. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Cafiso *et al.*, (2004) où certains isolats portaient les gènes *ica A* et *icaD* ensemble contrairement à d'autres qui ne portaient que le gène *icaD* seul.

Tableau 20 : Répartition des gènes *icaA* et *icaD* chez les souches de *Staphylocoques Spp* étudiées.

Souches	Nombre	<i>icaA</i>	<i>icaD</i>
<i>S.epidermidis</i>	21	6	6
<i>S.aureus</i>	11	5	7
<i>S.saprophyticus</i>	11	5	5
<i>S.hominis</i>	1	1	1
Total	44	17	19

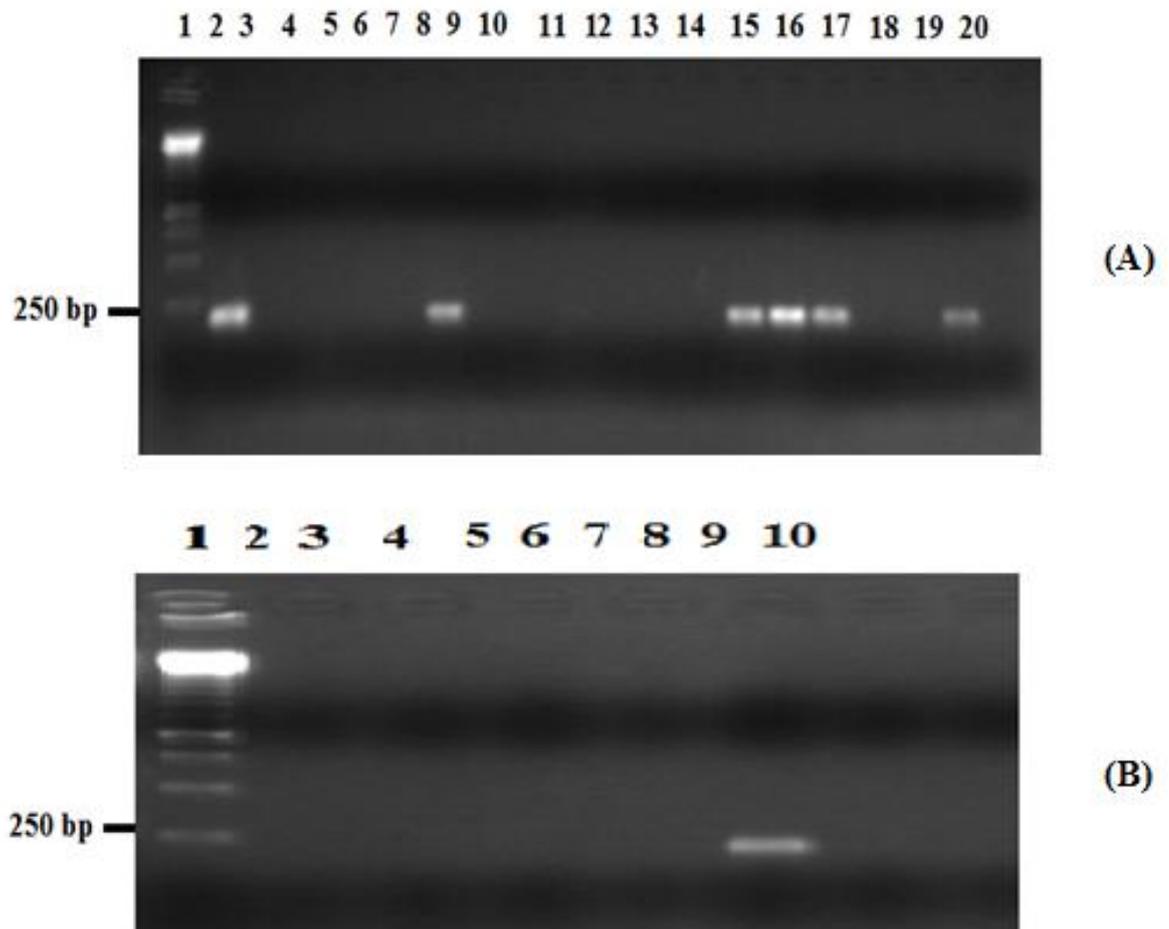


Figure 23 : Résultat de la PCR pour les gènes *ica A* et *icaD*.

A : Puits 1 : marqueur 250 bp, Puits 2 : *icaD* positif, Puits 3 : *icaD* négatif, Puits 4 : S51, Puits 5 : S54, Puits 6 : S59, Puits 7 : S60, Puits 8 : S62, Puits 9 : S64, Puits 10 : S69, Puits 11 : S73, Puits 12 : S77, Puits 13 : S79, Puits 14 : S80, Puits 15 : S84, Puits 16 : S58, Puits 17 : S89, Puits 18 : S91, Puits 19 : S94, Puits 20 : contrôle négatif de la PCR.

B : Puits 1 : marqueur 250 pb, Puits 2 : S96, Puits 3 : S104, Puits 4 : S105, Puits 5 : S106, Puits 6 : S107, Puits 7 : S108, Puits 8 : S109, Puits 9 : S110, Puits 10 : contrôle négatif de la PCR

6. Relation entre la présence des gènes *ica A* et *ica D* et la formation de biofilm par les techniques TCP et RCA

La formation du biofilm implique la production d'un polysaccharide extracellulaire ou PIA responsable de l'établissement du contact interbactérien et de l'accumulation de ces bactéries en couches superposées. La synthèse de ce polysaccharide dépend de l'expression de l'opéron chromosomique *ica* (**Rachid *et al.*, 2000**).

Dans cette partie nous essayons de discuter la relation entre l'expression des gènes *ica A/icaD* la formation de biofilm par TCP et la production de slime bactérien.

Selon le tableau 21 nous constatons que parmi les 17 souches *icaA+* /*icaD+*, 8 souches formaient un biofilm par la technique TCP en utilisant le milieu BHIB. Quand celui-ci est additionné de glucose ou de saccharose le nombre de souches *ica A+/icaD+* formatrice de biofilm augmente de 8 à 15. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Cho *et al.*, en (2002) qui démontre qu'après stimulation par un stress externe ou un antibiotiques il y avait une formation de biofilm pour des isolats cliniques biofilms négatifs et *ica A+/icaD+*.

Tableau 21: Relation entre la production de biofilm et la présence des gènes *ica A* et *icaD*.

Souches	Espèces	Production de slime	Biofilm			Présence de <i>icaA</i> / <i>icaD</i>
			BHIB	BHIB 1%glu	BHIB 2%osac	
S106	<i>S.saprophyticus</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S107	<i>S.saprophyticus</i>	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S110	<i>S.saprophyticus</i>	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S104	<i>S.saprophyticus</i>	+	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S60	<i>S.saprophyticus</i>	+	-	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S84	<i>S.saprophyticus</i>	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S78	<i>S.saprophyticus</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S86	<i>S.saprophyticus</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S66	<i>S.saprophyticus</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S52	<i>S.saprophyticus</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S1	<i>S.saprophyticus</i>	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S105	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> +
S89	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> +
S62	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S80	<i>S.aureus</i>	+	-	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S65	<i>S.aureus</i>	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S54	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S79	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> -/ <i>icaD</i> -
S77	<i>S.aureus</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S57	<i>S.aureus</i>	+	-	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S100	<i>S.aureus</i>	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S83	<i>S.aureus</i>	+	-	-	-	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S108	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S109	<i>S.epidermidis</i>	+	-	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S103	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S91	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S92	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S95	<i>S.epidermidis</i>	+	-	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S94	<i>S.epidermidis</i>	+	-	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S7	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S96	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> -/ <i>icaD</i> -
S74	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S51	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> -/ <i>icaD</i> -
S59	<i>S.epidermidis</i>	+	-	-	-	<i>icaA</i> -/ <i>icaD</i> -
S87	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> -/ <i>icaD</i> -
S72	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S58	<i>S.epidermidis</i>	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S69	<i>S.epidermidis</i>	-	-	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S73	<i>S.epidermidis</i>	+	+	+	+	<i>icaA</i> +/ <i>icaD</i> +
S64	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S68	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> -/ <i>icaD</i> -
S71	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S90	<i>S.epidermidis</i>	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S99	<i>S.hominis</i>	+	-	-	-	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +

Selon nos résultats et ceux trouvés dans la littérature, l'expression de l'opéron *ica* dépend aussi des conditions environnementales telle que la température, l'osmolarité, la présence d'oxygène et la composition du milieu de croissance.

Des concentrations sous-inhibitrices en antibiotiques ainsi que des concentrations importantes en NaCl augmentent la formation de biofilm et induisent l'expression d'*ica* chez les *staphylocoques*. La présence de cations divalents tels que le calcium et le magnésium accroît la production de polysaccharides conduisant à une amplification de la formation de biofilms. Chez les staphylocoques, l'expression des gènes *ica ADBC* peut aussi être influencée par d'autres conditions environnementales telles que l'acide oléique et la limitation en fer [(Mempel *et al.*, 1994) ; (Ziebuhr *et al.*, 1997) ; (Rachid *et al.*, 2000) ; (Cramton *et al.*, 2001) ; (Knobloch *et al.*, 2001) ; (Gotz, 2002) ; (Chaieb *et al.*, 2005)].

Selon les résultats obtenus, deux souches de staphylocoque (S83 et S99) présentent les gènes *icaA* et *icaD* mais ne forment pas de biofilm par la technique TCP, selon plusieurs auteurs ceci pourrait être dû à de nombreuses raisons telles que :

- l'inactivation de l'opéron *ica* par insertion de l'élément IS256 dans le gène *ica* [(Ziebuhr *et al.*, 1999) ; (Touati *et al.*, 2007)].
- l'action du répresseur *icaR* qui est un répresseur de transcription de l'opéron *ica* chez les staphylocoques (Conlon *et al.*, 2002), ou la régulation post-transcriptionnelle (Dobinsky *et al.*, 2003).

Ce variant « biofilm négatif » selon Ziebuhr *et al.*, (1999) est important pour le détachement des cellules bactériennes du biofilm et pour échapper au système immunitaire de l'hôte. Ces variants contribuent ainsi à la survie bactérienne et à la croissance dans des conditions environnementales changeantes.

Parmi les 17 souches *icaA*+/*icaD*+, 15 étaient productrices de slime par la méthode RCA. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Aricola *et al.* (2005) et El-Mahallawy *et al.* (2009) qui ont trouvé une forte corrélation entre la présence des gènes *ica* et la production de slime par la culture sur milieu RCA (P < 0,001) par rapport à la méthode de TCP.

A l'exception de deux souches de staphylocoques à coagulase négative (S104 et S59) qui étaient slime+/- biofilm- et *icaA*-/*icaD*- de tels résultats ont été également constatés dans l'étude de Chokr *et al.*, (2006).

Pour expliquer ces résultats inattendus, des chercheurs ont rapporté la présence des gènes *aap* (protéine associée à l'accumulation) et *bhp* (Bap protéine homologue) codant pour la synthèse de protéines chez les staphylocoques *ica* – et biofilm+. Cependant dans l'étude de Qin *et al.* (2007) ces deux gènes n'ont pas été retrouvés pour deux souches de *S. epidermidis*

biofilm- positif/*ica*-négatif. Ainsi, ces auteurs suggèrent un nouveau mécanisme moléculaire médiateur de la formation de biofilms dans ces deux isolats cliniques. Ainsi ces auteurs supposent que la souche biofilm-positif /*ica*-négatif représente une nouvelle sous-population de souches cliniques émergentes, liées probablement à la sélection par les antibiotiques dans le milieu nosocomiale, surtout que les données épidémiologiques montrent une tendance à l'augmentation des proportions de cette sous population dans les infections à staphylocoques **(Racha et al ., 2012)**.

A travers nos résultats nous constatons que deux souches de *Staphylococcus aureus* (S89 et S105) portent seulement le gène *icaD* ne forment pas de biofilm par la technique TCP et ne produisent pas de slime sur milieu RCA.

Selon les résultats trouvés dans la littérature, ceci peut être expliqué par le fait que la transférase *icaA* nécessite la présence d'*icaD* pour une pleine activité. En effet, la co-expression de *icaA* avec *icaD* augmente l'enzyme responsable de l'activité de la N-acétylglucosaminyl transférase considérablement et par la suite l'expression phénotypique du polysaccharide capsulaire [(Gerke et al., 1998) ; (Chaieb et al., 2005)].

Selon le tableau 17 il apparait que 25 souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires ne présentaient aucun gène. Cucarella et al.,(2001) ,Von Eiff et al.,(2005) et Otto, (2004) estiment que l'absence du locus *ica* chez certaines souches de staphylocoques ne signifie pas qu'elles ne forment pas de biofilms, d'autres facteurs pourraient être responsables de ce mécanisme comme la protéine extracellulaire AAP (**Protéine Associée à l'Accumulation**) et la protéine de surface BAP (**Biofilm Associated Protein**)

7. Relation entre production de toxines, formation de biofilm et présence des gènes *ica A /icaD*

La production des facteurs de virulence tel que les toxines chez les staphylocoques est soigneusement contrôlée en réponse à la densité cellulaire, la disponibilité de l'énergie et des signaux de l'environnement par le système régulateur « gene accessory regulator » qui inclus les systèmes Agr, Sar, Sae et autres. ces systèmes de régulation contrôlent aussi les protéines de surfaces (adhésine) telque les protéines de liaison à la fibronectine (FnBPA et FnBPB), la protéine de liaison au fibrinogène (Clf) et la protéine de liaison à l'élastine (EbpS) qui sont responsable de l'adhérence, la colonisation et la formation de biofilm chez les staphylocoques. Cependant, aucun mécanisme clair mettant en relation la formation de biofilm et la production des facteurs de virulence n'a été élucidé pour les staphylocoques isolés de sondes urinaires (Ando *et al.*,2004).

Dans cette partie nous essayons de voir si il y'a une relation entre la production de biofilm, la présence des gènes *icaA/icaD* et l'expression de certains gènes toxiques chez 44 staphylocoques isolés de sondes urinaires au CHU de Tlemcen.

Selon le tableau 22 sur la totalité des souches portant au moins un gène toxique 12/13 présentent également les gènes codant pour *ica A / ica D* ou seulement l'*icaD*, 11 d'entre elles produisent un slime bactérien et 9 produisent un biofilm par la technique TCP.

Plusieurs études ont montré que la sécrétion de toxines pouvait avoir un rôle dans la formation de biofilm.

Caiazza *et al.*,(2003) ont montré que Hla (toxine a hémolysine) une protéine de 34 k-Da, thermostable, antigénique, induisant la formation d'anticorps neutralisants joue un rôle primaire dans la formation de biofilm. L' α -toxine favoriserait la formation de biofilm en facilitant les interactions bactériennes et par la suite la formation de macro colonies.

Ces même auteurs étaient au départ surpris de trouver que la sécrétion de toxine pouvait avoir un impact dramatique sur la formation de biofilm mais plusieurs études se sont rejoint à eux dont celle de Kachlany *et al.*,(2000) et Vuong *et al.*,(2000) où ils ont montré que les souches portant un gène Hla muté sont capables de coloniser au départ une surface mais ne peuvent s'organiser en microcolonies, ce qui indique un défaut dans l'interaction cellule-à-cellule. Sur ces données les auteurs ont proposé que l'alpha-hémolysine joue un rôle principal dans les interactions cellulaires au cours de la formation de biofilms.

De même Ando *et al.*,(2004) annoncent que la formation de biofilm sur sondes urinaires pouvait être influencé par les toxines Hla et Hlb .

Tableau 22: Relation entre production de toxines et présence des gènes *ica A /icaD*.

Souches	espèces	gènes toxiques	Production de slime	Biofilm				Présence de <i>icaA /icaD</i>
				BHIB	BHIB	1%glu	BHIB 2% _{sac}	
S106	<i>S.saprophyticus</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S107	<i>S.saprophyticus</i>	<i>sed</i>	+	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S110	<i>S.saprophyticus</i>	<i>selq/selk</i>	+	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S104	<i>S.saprophyticus</i>	<i>tst/selo</i>	+	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S60	<i>S.saprophyticus</i>	<i>selk</i>	+	-	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S84	<i>S.saprophyticus</i>		+	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S78	<i>S.saprophyticus</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S86	<i>S.saprophyticus</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S66	<i>S.saprophyticus</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S52	<i>S.saprophyticus</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S1	<i>S.saprophyticus</i>		+	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S105	<i>S.aureus</i>	<i>selk/selq/sed</i>	-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> +
S89	<i>S.aureus</i>	<i>tst/selo/selq</i>	-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> +
S62	<i>S.aureus</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S80	<i>S.aureus</i>	<i>selk/selq</i>	+	-	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S65	<i>S.aureus</i>	<i>lukM</i>	+	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S54	<i>S.aureus</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S79	<i>S.aureus</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S77	<i>S.aureus</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S57	<i>S.aureus</i>	<i>selm/selo/etd/seb/edinABC</i>	+	-	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S100	<i>S.aureus</i>	<i>tst/selm/selo</i>	+	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S83	<i>S.aureus</i>	<i>selk/selq</i>	+	-	-	-	-	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S108	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S109	<i>S.epidermidis</i>	<i>selo</i>	+	-	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S103	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S91	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S92	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S95	<i>S.epidermidis</i>		+	-	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S94	<i>S.epidermidis</i>		+	-	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S7	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S96	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S74	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S51	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S59	<i>S.epidermidis</i>		+	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S87	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S72	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S58	<i>S.epidermidis</i>		+	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S69	<i>S.epidermidis</i>		-	-	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S73	<i>S.epidermidis</i>		+	+	+	+	+	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +
S64	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S68	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S71	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S90	<i>S.epidermidis</i>		-	-	-	-	-	<i>icaA</i> - / <i>icaD</i> -
S99	<i>S.hominis</i>	<i>tst/selo/sea/etd/sed</i>	+	-	-	-	-	<i>icaA</i> + / <i>icaD</i> +

8. Relation entre la production de biofilm et l'antibiorésistance ; détermination de la CMI et CMIB

Le traitement des infections sur dispositifs médicaux devient de plus en plus compliqué du fait du développement de phénomènes de multi-résistances. Par ailleurs, la prise en charge thérapeutique est aussi souvent mal adaptée du fait que les concentrations d'antibiotiques utilisées sont dictées par des mesures réalisées à partir de bactéries planctoniques, alors qu'il est aujourd'hui bien établi que la croissance en biofilm peut induire une adaptation phénotypique des bactéries qui y sont incluses [(Anderl *et al.*, 2000) ; (Walters *et al.*, 2003)].

Les résultats de l'état de résistance des souches planctoniques de *Staphylococcus* montrent qu'il y'a une différence entre celles qui synthétisent un biofilm et qui portent les gènes *icaA/icaD* des souches négatives.

Selon la figure 24 et 25 cette résistance concerne notamment les B-lactamines où plus de la moitié des souches résistantes à la pénicilline, l'oxacilline et la céfoxitine sont formatrices de biofilm par la technique TCP avec des taux avoisinants les 55% contre 43% des souches non formatrices.

Les souches portant des gènes *icaA/icaD* sont également plus résistantes aux antibiotiques que les non portant, toutes sont résistantes à la pénicilline et plus de la moitié à l'oxacilline, céfoxitine, gentamicine, tobramicine et amikacine (Tableau 23).

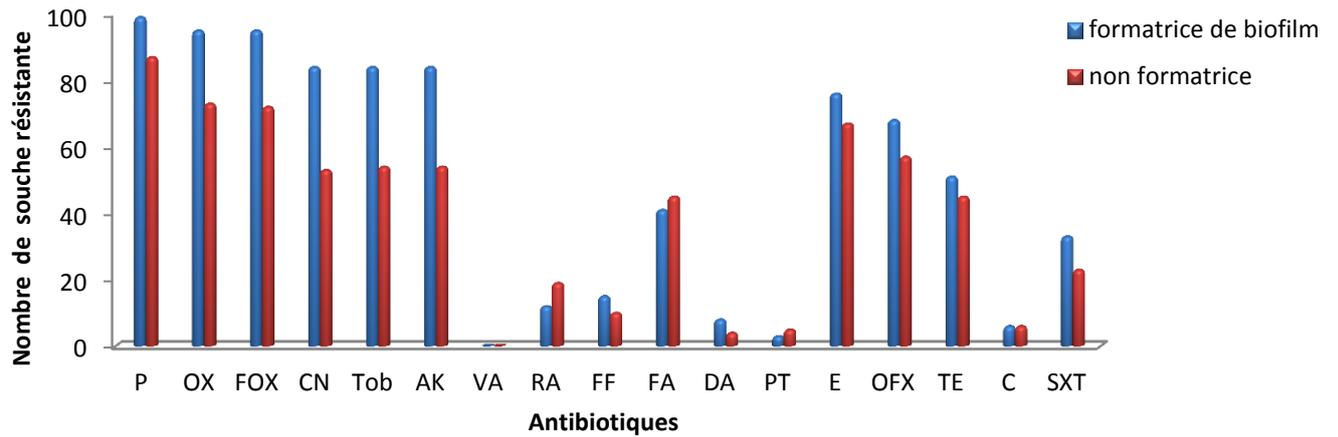


Figure 24 :Etat de résistance des souches formatrices de biofilm et les non formatrices par la technique TCP.

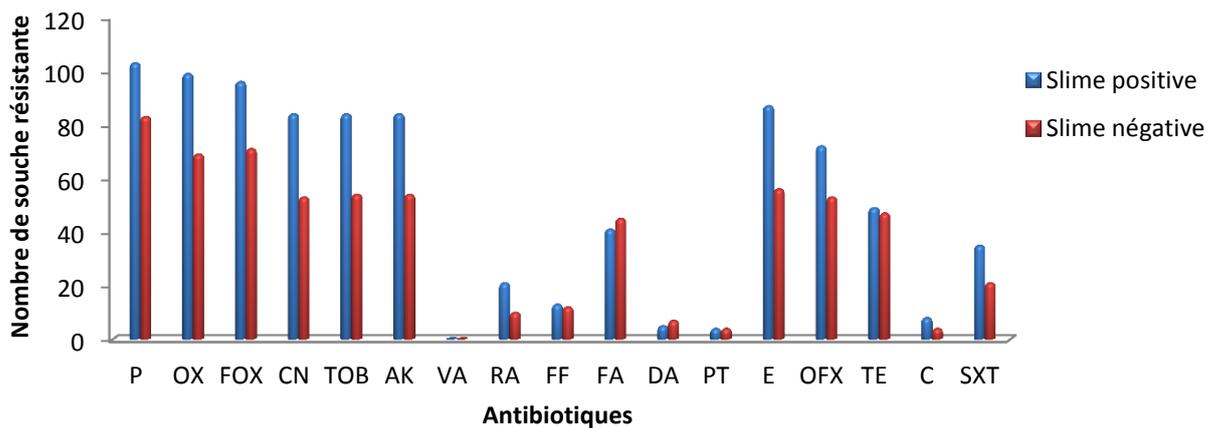


Figure 25 : Etat de résistance des souches productrices de slime et les non productrices sur milieu RCA.

Tableau 23 :Relation entre antibiorésistance et présences des gènes *ica A* /*ica D*.

ATB*	Resistance %	<i>ica A</i> %		<i>ica D</i> %	
		Positive 17	Negative 27	Positive 19	Negative 25
P	98 % (43/44)	100% (17 /17)	96,2% (26 /27)	100% (19 /19)	96% (24 /25)
OX	79% (35/44)	82,3% (14 /17)	77,7% (21 /27)	78,9% (15 /19)	80% (20 /25)
FOX	77% (34/44)	82,3% (14 /17)	74% (20 /27)	78,9% (15 /19)	76% (19 /25)
CN	75% (33/44)	82,3% _(14 /17)	70% _(19 /27)	78,9% (15 /19)	72% (18 /25)
TOB	75% (33/44)	82,3% (14 /17)	70% (19 /27)	78,9% (15 /19)	72% (18 /25)
AK	75% (33/44)	82,3% (14 /17)	70% (19 /27)	78,9% (15 /19)	72% (18 /25)
VA	0% (0/44)	0% (0 /17)	0% (0 /27)	0% (0 /19)	0% (0 /25)
RA	11% (5/44)	5,8% (1 /17)	14,8% (4 /27)	10,5% (2 /19)	12% (3 /25)
FF	7% (3/44)	5,8% (1 /17)	7,4% _(2 /27)	5,26% (1 /19)	8% (2 /25)
F A	36% (16/44)	17,6% _(3 /17)	48,1% (13 /27)	21% (21 /19)	48% (12 /25)
DA	7% (3/44)	5,8% _(1 /17)	7,4% (2 /27)	5,26% (1 /19)	8% _(2 /25)
PT	0% (0/44)	0% (0 /17)	0% (0 /27)	0% (19 /19)	0% (0 /25)
E	73% (32/44)	76,4% (13 /17)	70,3% (19 /27)	73,6% (14 /19)	72% (18 /25)
OFX	73% (32/44)	76,4% (13 /17)	70,3% (19 /27)	73,6% (14 /19)	72% (18 /25)
TE	48% (21/44)	52,9% (8 /17)	48,1% (13 /27)	47,3% (9 /19)	48% (12 /25)
C	7% (3/44)	11,7 % (2 /17)	7,3% _(1 /27)	10,5% (2 /19)	4% (1 /25)
SXT	34% (15/44)	52,9 _(9 /17)	25,9% (7 /27)	52,6% (10/19)	20% (5/25)

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus par Bose *et al.*, en (2009) et Khan *et al.*, (2011) où ils annoncent que les souches formatrices de biofilm sont plus résistantes aux antibiotiques que les non formatrices.

Gilbert *et al.*, (2002) et Seif El-Din *et al.*,(2011) rapportent que les souches productrices de biofilm sont 10 à 1000 fois moins sensibles aux antibiotiques que les souches planctoniques. En effet, le biofilm empêche la pénétration des antibiotiques et les concentrations nécessaires pour éradiquer les bactéries productrices de biofilm sont plus élevées que celles requise pour éliminer les souches qui ne produisent pas de biofilm.

Pour appuyer et confirmer encore cette hypothèse des CMI et CMIB ont été recherché sur 44 souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires vis-à-vis de trois antibiotiques : l'oxacilline, la gentamicine et l'ofloxacine. Les résultats présentés dans le tableau 24 et la Figure 26 montrent que les staphylocoques formant un biofilm sont jusqu'à 32 fois plus résistantes à l'oxacilline et la gentamicine (S109 *S.epidermidis*) et 2 fois plus résistantes à l'ofloxacine (*S.saprophyticus* S110, S104, S52 et *S.aureus* S80) que les staphylocoques sous forme planctoniques (Figure27).

Nos résultats sont en accord à ceux obtenus par Elbanna *et al.*, (2010) où ils trouvent que la CMIB de certaines souches de *Staphylococcus aureus* était 46 fois plus importante que la CMI chez ces mêmes souches.

Les biofilms constituent un réservoir d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques et sont la cause d'infections chroniques [(Khan *et al.*, 2011) ;(Seif El-Din *et al.*, 2011)].

En effet, il est maintenant bien établi que les transferts horizontaux de gènes et en particulier ceux relatifs à la résistance aux antibiotiques se font à une fréquence beaucoup plus importante entre cellules d'un biofilm qu'entre leurs homologues planctoniques, ceci est liée à la grande probabilité de contact entre les cellules et à l'effet négligeable des forces hémodynamiques évitant l'interruption de ce contact (Donlan, 2001).

Outre ces résistances génétiques, la structure et la composition de la matrice d'exopolymères produite par les cellules du biofilm incitent tout naturellement à proposer que cette biomasse pourrait jouer un rôle de barrière à la diffusion et être aussi un facteur responsable de la résistance aux antibiotiques. Les propriétés visco-élastiques de la matrice d'EPS peuvent être un frein à la pénétration des antibiotiques, aussi l'hétérogénéité structurale de la matrice du biofilm (présence d'amas cellulaires denses, présence de canaux aqueux, etc.) peut induire une inhomogénéité de son irrigation par l'antibiotique. Ainsi les cellules sont localement exposées à des concentrations variables d'antibiotiques pouvant être sub-inibitrices (Daddi oubeka, 2012)

Tableau 24 : Valeur de la CMI et CMIB des souches de *Staphylococcus spp* isolés de sondes urinaires

Souches	Espèces	Oxacilline		Gentamicine		Ofloxacine	
		CMI $\mu\text{g/mL}$	CMIB $\mu\text{g/mL}$	CMI $\mu\text{g/mL}$	CMIB $\mu\text{g/mL}$	CMI $\mu\text{g/mL}$	CMIB $\mu\text{g/mL}$
S106	<i>S.saprophyticus</i>	128	1024	64	64	4	4
S107	<i>S.saprophyticus</i>	128	1024	64	1024	4	4
S110	<i>S.saprophyticus</i>	256	1024	64	1024	8	16
S104	<i>S.saprophyticus</i>	256	1024	64	64	2	4
S60	<i>S.saprophyticus</i>	512	2048	128	1024	2	2
S84	<i>S.saprophyticus</i>	1024	2048	128	1024	2	2
S78	<i>S.saprophyticus</i>	64	256	32	32	4	4
S86	<i>S.saprophyticus</i>	512	1024	128	128	8	8
S66	<i>S.saprophyticus</i>	64	256	128	256	8	4
S52	<i>S.saprophyticus</i>	64	256	64	128	2	4
S1	<i>S.saprophyticus</i>	64	256	64	512	0.25	0.25
S105	<i>S.aureus</i>	256	1024	256	256	16	8
S89	<i>S.aureus</i>	0.125	0.5	0.5	1	0.0625	0.25
S62	<i>S.aureus</i>	256	1024	0.5	0.25	16	16
S80	<i>S.aureus</i>	64	128	256	512	4	8
S65	<i>S.aureus</i>	0.125	0.5	256	256	0.125	0.5
S54	<i>S.aureus</i>	64	128	0.5	0.25	4	4
S79	<i>S.aureus</i>	64	128	64	256	8	8
S77	<i>S.aureus</i>	128	1024	64	128	8	2
S57	<i>S.aureus</i>	0.125	0.5	32	64	0.5	0.25
S100	<i>S.aureus</i>	0.25	0.25	0.25	0.5	0.25	0.25
S83	<i>S.aureus</i>	128	1024	128	1024	16	8
S108	<i>S.epidermidis</i>	256	2048	32	32	8	16
S109	<i>S.epidermidis</i>	64	2048	32	1024	8	8
S103	<i>S.epidermidis</i>	0.125	0.25	0.125	0.5	0.25	0.25
S91	<i>S.epidermidis</i>	0.125	0.25	0.5	0.5	0.25	1
S92	<i>S.epidermidis</i>	64	128	64	128	8	2
S95	<i>S.epidermidis</i>	256	1024	64	1024	4	4
S94	<i>S.epidermidis</i>	512	2048	64	1024	4	4
S7	<i>S.epidermidis</i>	0.125	32	0.25	0.5	0.125	0.25
S96	<i>S.epidermidis</i>	32	32	64	64	8	16
S74	<i>S.epidermidis</i>	512	1024	128	1024	4	4
S51	<i>S.epidermidis</i>	64	128	128	128	0.5	0.5
S59	<i>S.epidermidis</i>	0.0625	0.5	0.25	1	0.5	0.5
S87	<i>S.epidermidis</i>	64	128	0.25	0.25	8	16
S72	<i>S.epidermidis</i>	128	1024	0.25	0.25	0.125	0.5
S58	<i>S.epidermidis</i>	64	128	16	64	8	8
S69	<i>S.epidermidis</i>	32	512	256	1024	16	16
S73	<i>S.epidermidis</i>	32	512	128	1024	8	8
S64	<i>S.epidermidis</i>	32	256	32	32	4	2
S68	<i>S.epidermidis</i>	32	256	64	64	2	2
S71	<i>S.epidermidis</i>	0.125	128	0.25	0.25	0.5	0.5
S90	<i>S.epidermidis</i>	256	2048	64	1024	0.05	0.25
S99	<i>S.hominis</i>	512	2048	128	1024	8	8

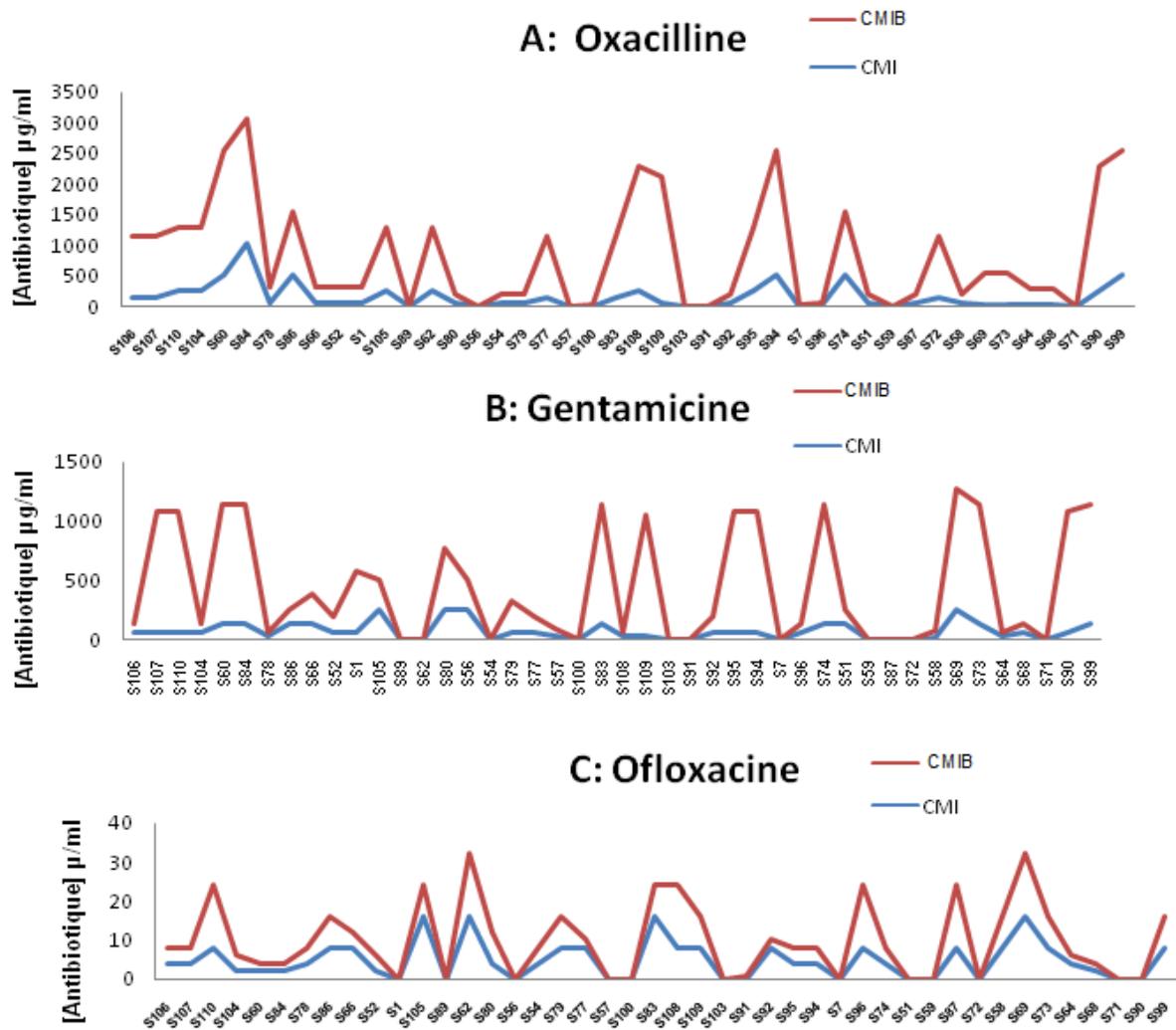


Figure 26: Comparaison entre les valeurs de la CMI et CMIB de 44 staphylocoques isolés de sondes urinaires pour 3 antibiotiques. A : Oxacilline, B : Gentamicine et C : Ofloxacin.

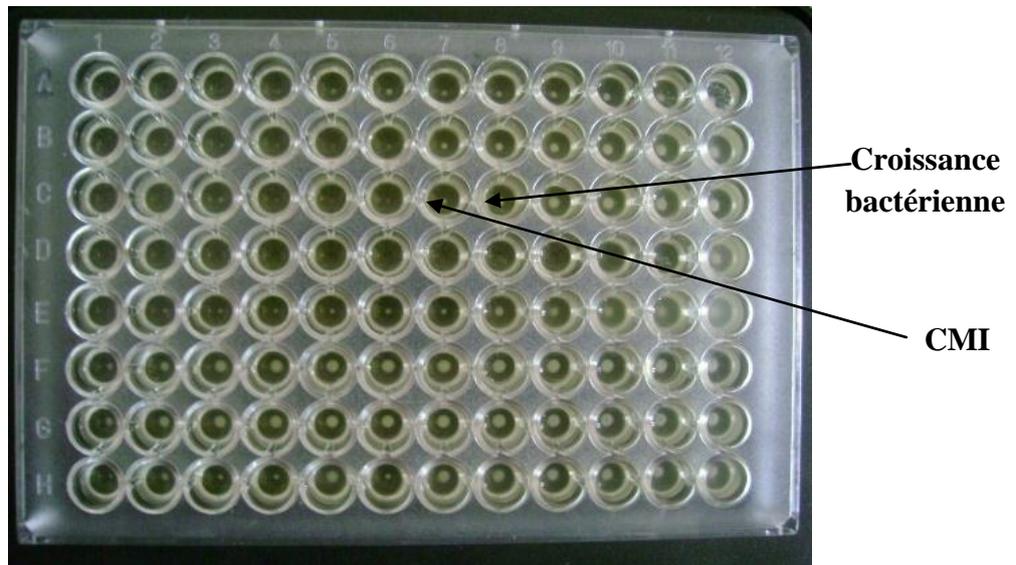


Figure 27 : CMI de *Staphylococcus spp*

Conclusion

Les infections bactériennes sont la cause majeure de la morbidité et de la mortalité en milieu hospitalier dont la majorité peut être due aux staphylocoques. L'importance médicale de ces espèces bactériennes est leurs capacités à provoquer de nombreux types d'infections chez l'homme et à persister à la surface de dispositifs médicaux. Ces infections aggravées, dues au développement de biofilms à staphylocoques constituent actuellement un vrai problème de santé publique.

En effet, la médecine d'aujourd'hui doit faire face à la prise en charge des infections impliquant des biofilms qui se forment aussi bien sur les tissus superficiels ou internes de l'hôte que sur des dispositifs invasifs tel que les sondes urinaires. La présence de biofilms lors d'une infection n'est pas diagnostiquée par les méthodes actuelles d'analyses bactériologiques et de ce fait toutes les infections (circulantes, biofilms) sont traitées de la même manière.

Ainsi, l'objectif de ce travail était de connaître la place des staphylocoques dans les infections sur sondes, d'évaluer leur potentiel de pathogénicité par l'étude de leur profil toxinique et d'antibiorésistance et d'évaluer, quantifier et caractériser leur capacité à former des biofilms par divers techniques.

A la lumière de cette étude, nous pouvons dire que le sondage expose à l'IUN chez tous les patients étudiés. Les ECBU pratiqués ont mis en évidence ces infections, se sont toutes des infections pluri microbiennes à bactéries Gram (-), mais également une grande dominance des staphylocoques Gram(+).

Durant la période d'étude, 600 souches ont pu être isolées d'infections sur 250 sondes étudiées, 1/3 d'entre elles est représenté par des *Staphylococcus spp* dont plus de la moitié provenait de patients hospitalisés au service de réanimation.

Par ordre de fréquence, les Staphylocoques à coagulase négative représentent encore les germes les plus fréquemment isolés dans les colonisations et infections des sondes urinaires suivit des *Staphylococcus aureus* connu pour être les plus pathogènes des staphylocoques.

L'identification des souches des staphylocoques par les méthodes conventionnelles et la mise en évidence de leurs résistances aux antibiotiques ont révélé l'importance de la fréquence des souches multirésistantes à divers antibiotiques spécifiquement aux B- lactamines (pénicilline, oxacilline, céfoxitine), aux aminosides, aux macrolides et tétracycline utilisés en antibiothérapie au CHU Tlemcen.

Les résultats obtenus ont montré que 84% des *S.aureus* sont résistantes à l'oxacilline et céfoxitine ce qui nous laisse penser à des SAMR, à cause du faible pouvoir de la méthode utilisée.

Nous espérons pouvoir dans l'avenir utiliser la technique de la PCR pour la recherche du gène *mecA* pour la résistance à la meticilline et du gène *fem B* qui influence le niveau de résistance à la meticilline.

L'usage des ATB dans les services étudiés exerce une pression de sélection qui induit l'apparition des résistances multiples additionnelles.

De plus, l'étude du potentiel toxinique des souches a mis en évidence la présence de 13 gènes toxiques parmi les 22 recherchés dont les plus répandus étaient ceux des *entérotoxines staphylococcique like* (*selo*, *selk*, *selq*) dont la virulence n'est nullement contestée.

Les études d'adhésion bactérienne et de formation du biofilm ont été réalisées par les méthodes TM, TCP et celle de coloration au rouge congo. Les résultats de nos expériences ont montré que la méthode des microplaques était la plus efficace et la mieux indiquée pour une évaluation quantitative de l'adhésion bactérienne sur une surface

Cette méthode de coloration est basée sur une mesure colorimétrique du cristal Violet incorporé à la fois par les cellules attachées sur des puits et par la matrice organique formant le biofilm. Les résultats de nos travaux ont montré que la technique TCP était de faible sensibilité et nécessite des temps d'incubations plus longs (48h) pour observer une augmentation significative de l'absorbance. Malheureusement, le manque de standardisation de différentes étapes de lavage des puits rend souvent difficile la comparaison des résultats.

Les staphylocoques isolés de sondes urinaires étaient productrices de biofilm avec 49,5 % formatrice par la technique TCP et 55,5 % produisaient un slime par la technique du RCA. Nos résultats corroborent également ceux obtenus par Cho *et al.*, (2002) et Johannes *et al.*, (2000) où la capacité des souches cliniques de staphylocoques à former un biofilm dans un milieu de culture contenant des sucres (glucose ou saccharose) était plus importante.

En vue de confirmer la présence des polysaccharides dans la matrice des biofilms de staphylocoques, deux gènes codant pour l'opéron *ica* ont été recherchés par PCR. Les gènes *ica AD* étaient détectés dans 38,5% des souches dont 27,5% des SCN et 11,5% de *S.aureus*.

Dans notre étude, la présence des gènes *ica*, la variabilité phénotypique de la production de biofilm, la multirésistance et le pouvoir toxinique ont été majoritairement associées à la virulence des souches de staphylocoques responsables d'infections sur sondes.

Tout de même, la présence des gènes *ica AD* ne sont pas toujours associés à la formation de biofilm. D'un autre côté, certaines souches forment un biofilm en absence de *ica AD* d'où l'importance à rechercher de nouveaux mécanismes de régulations génétiques indépendamment du gène *ica* et qui sont impliqués dans la formation du biofilm chez les staphylocoques. En effet, la présence du gène *icaA* et du gène *icaD* ne sont pas toujours corrélés avec la formation d'un biofilm *in vitro*.

Nous concluons pour dire également qu'il est vraiment très difficile et impossible de détruire les staphylocoques sous forme sessile en appliquant des concentrations minimales d'antibiotiques habituelles vus les très grandes variations avec les CMIB retrouvées.

Chez les staphylocoques en particulier, l'augmentation inquiétante au cours des dernières années des résistances aux ATB notamment les SARM et leur implantation sur les dispositifs médicaux sous forme biofilm pourrait conduire à des problèmes thérapeutiques considérables.

Il n'existe pas à ce jour de méthodes phénotypiques simple permettant de prédire la capacité d'une souche à produire un biofilm, il devient donc essentiel d'améliorer nos connaissances afin de trouver de nouveaux moyens de prévenir ou de traiter les infections associées aux biofilms et de de nouveaux matériaux réfractaires à la colonisation par les microorganismes et à la formation de biofilm.

Dans l'attente d'un progrès dans la lutte contre les biofilms, leurs maitrises passe actuellement par la prévention des infections sur sondes urinaires comportent l'application stricte des règles d'asepsie lors du sondage. Un système de drainage stérile et à usage unique, la gestion du sondage en système clos, la remise en question quotidienne de la nécessité de prolonger le sondage à demeure, mais est aussi le fruit d'une politique générale d'hygiène hospitalière (lavage des mains , respect des règles fondamentales de l'hygiène) allant de la maîtrise de l'acte infirmier lors du cathétérisme urinaire jusqu'à la gestion rationnelle de l'antibiothérapie afin d'éviter le développement de bactéries multirésistantes .

En perspectives de ce travail , il serait intéressant de pouvoir approfondir nos recherches sur les biofilms en étudiant d'autres facteurs (NaCl, antibiotiques, antiseptiques...) susceptibles de promouvoir l'adhésion des staphylocoques sur surfaces abiotiques ,d'expliquer la forte adhésion des staphylocoques qui pourrait également être attribuée à la forte hydrophobicité de leurs membrane par la technique de MATS, montrer s' il ya une différence d'adhésion entre les SAMS (*S.aureus* sensible à la méthiciline) et SAMR (*S.aureus* résistant à la méthiciline) et rechercher d'autres supports génétique intervenant dans la formation de biofilm (le gène *Bap* et *AAP*).

Références

- Abdallah N .M. A., Bendary Elsayed S., Mohamed M., Mostafa Y., Metwally El-gohary G.**(2011).Biofilm forming bacteria isolated from urinary tract infection, relation to catheterization and susceptibility to antibiotic.*International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research* .2(10): 172-178.
- Alfandari S.** (2003). Prévention des infections urinaires nosocomiales : effets de l'infection urinaire nosocomiale sur la durée de séjour, le coût et la mortalité. *Médecine et maladies infectieuses* .33 : 247s–254s.
- Agarwal A, Jain A.** (2013). Glucose & sodium chloride induced biofilm production &ica operon in clinical isolates of staphylococci. *Indian Journal of Medical Research*. 138 (2):262-266.
- Aksungur P, Yaman A.** (1998). Resistance in coagulase negative staphylococci isolated in the clinical laboratory of Balcaly hospital. *Annals Medicine and Science*.7:26–30.
- Al alam D.** (2008). Impacte de l'interaction entre les cellules épithéliale bronchique et staphylococcus aureus sur le chimiotactisme des lymphocytes T dans la mucovisidose. Thèse de doctorat. Université de REIMS Champagne Ardenne UFR de Pharmacie.185P.
- Anderl J .N., Franklin M .J., StewartP. S.** (2000). Role of antibiotic penetration limitation in *Klebsiellapneumoniae* biofilm resistance to ampicillin and ciprofloxacin. *Antimicrobial agents and chemotherapy* .44: 1818-1824.
- Ando E., Monden K., Mitsuhata R., Kariyama R., Kumon H .** (2004). biofilm formation among methicilin resistant *staphylococcus aureus* isolates from patients with urinary tract infections. *Acta medica Okayama*. 58(4): 207-214.
- Aouati H.** (2009). Isolement des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline. Etude de leur sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Thèse de magister. Université Mentouri. Constantine Faculté Des Sciences de La Nature et de La Vie Département De Biochimie et De Microbiologie. 94p.
- Archambaud M.** (2000). Méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques. *Brûlure*. 1 : 246-252.
- Aricola C.R., Compaocchia D., Baldassari L., Donati M.E., Gamberini S., Montanaro L.** (2005). Detection of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* from implant infections Comparisons of a PCR method that recognize the presence of *ica* genes with two classic phenotypic methods. *Journal of Biomedical Research*.76 (2): 425-430.

- Arciola C.R., Baldassarri L., Montanaro L.** (2001). Presence of *icaA* and *icaD* genes and slime production in a collection of staphylococcal strains from catheter-associated infections. *Journal of Clinical Microbiology*. 39:2151-2156.
- Arifur R.** (2011). Species Distribution, Antimicrobial Susceptibility and some Virulence Factors of Coagulase- Negative Staphylococci Isolated from Different Clinical Specimens at Mymensingh Medical College, Mymensingh. These de doctorat: Department of Microbiology Mymensingh Medical College Mymensingh, Bangladesh. 70p.
- Bailey J.C., Lochart B.P., Redpath M.B.** (1995).The epidermolytic (exfoliative) toxins of *S.A. Medical and Microbial Immunology*.184: 53-61.
- Bayer M.G., Heinrichs J.H., Cheungal.** (1996).The molecular architecture of the *sar* locus in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*. 178 (15) : 4563-4570.
- Beenken K. E., Blevins J.S., Smeltzer M .S.** (2003).Mutation of *sarA* in *Staphylococcus aureus*limits biofilm formation. *Infectiology and Immunology*. 71 : 4206-4211.
- Ben Arab N., Maaloul I., Hammami B., Marrakchi C .H.,Hammami A., Ben Jemaa M.** (2007).Les infections urinaires nosocomiales étude de 48 cas. *Tunis Infectiology*.1(4):16- 21.
- Berthelot P., Mallaval F .O., Fascia P., Turco M., Lucht F.**(2003). Maîtrise des moyens de prévention de l'infection urinaire nosocomiale : sondes et techniques. *Médecine et maladies infectieuses*. 33 : 499–505.
- Bisognano C.** (2000). Impact de la résistance antibiotique et des fluoroquinolones sur l'adhérence à la fibronectine de *Staphylococcus aureus* : étude fonctionnelle et mécanismes moléculaires. Thèse de doctorat : Université de Genève faculté des sciences département de biologie animale.110 P.
- Bosgiraud, C.** (2003). Microbiologie générale et santé. Edition ESKA.
- Bose S., KhodkeM., Basak S., Mallick S. K.** (2009). Staphylococci:need of the hour. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 3:1915-1920
- Botto H.** (2002). Infections urinaires nosocomiales de l'adulte : conférence de consensus 2002, texte court. *Médecine et maladies infectieuses*. 33 : 370–375
- Botto H.** (2003). Infections urinaires nosocomiales de l'adulte. *Médecine et maladies infectieuses*. 33 : 223s–244s.
- Boulard G., Ravussin P., Humayou J.** (1992). Prévention de l'infection urinaire nosocomiale au cours du sondage vésical. *Annale Français Anesthésie et Réanimation*. 11 : 720-723.

- Bourion F.** (1995). Etude de la formation et de la désinfection de biofilms mono- et bimicrobiens de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Listeria innocua*, thèse de doctorat de l'Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire, Massy, France. 200p.
- Boutaleb N.** (2007). Etude de la formation de biofilms sur les surfaces de matériaux couramment utilisés dans les canalisations d'eau potable. Thèse de doctorat : Université de Bretagne Sud UFR science et science de l'ingénieur. 194 p.
- Brun-Buisson C.** (1994). Analyse critique des méthodes diagnostiques d'infection liée au cathéter sur matériel enlevé. *Réanimation Urgence* .3: 343-6.
- Burin des roziers M .P. C.** (2002). Les biofilm. Thèse de doctorat : Ecole national Vétérinaire d'Alford. 92P.
- Butreau-Lemaire M , Botto H.** (1997). Infections urinaires nosocomiales. *Progrès en Urologie*.7 : 674-682.
- Castro Melo P., Ferreira L .M., Filho A. N., Zafalon L. F., Godoy Vicente H .I., de Souza V.** (2013). Comparison of methods for the detection of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Brazilian journal of microbiology*.44 (1): 1517-8382
- Caiazza N .C, O'Toole G. A.** (2003). Alpha-Toxin Is Required for Biofilm Formation by *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacteriology*.185(10): 3214-3217.
- Caron F.** (2003). Physiopathologie des infections urinaires nosocomiales. *Médecine et maladies infectieuses*. 33 : 438–446.
- Cramton S.E., Ulrich M., Gotz F.** (2001). Anaerobic conditions induce expression of polysaccharide intercellular adhesin in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Infection Immunology* .69:4079-4085.
- Cafiso V., Bertuccio T., Santagati M., Campanile F., Amicosante G., Perilli M.G., Selan L., Artini M., Nicoletti G., Stefani S.** (2004). Presence of the *ica* operon in clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* and its role in biofilm production. *Clinical Microbiology and Infectiology*. 10:1081-1088.
- Chaieb K., Mahdouania K., Bakhrouf A .** (2005). Detection of *icaA* and *icaD* loci by polymerase chain reaction and biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* isolated from dialysate and needles in a dialysis unit. *Journal of Hospital Infection* 61: 225–230.
- Cheung A.L, Ying P.** (1994). Regulation of alpha- and beta-hemolysins by the *sar* locus of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Bacteriology*. 176 (3) : 580-585.

- Chevalier C.** (2009). Fonction et mécanismes d'action de l'ARNIII et de nouveau ARN non codant de *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat : Université de strasbourg, école doctorale des sciences de la vie et de la santé. 290p.
- Characklis, W. G.** (1989). Biofilms. Edited by W. G. Characklis & K. C. Marshall. New York: Wiley. 55-89.
- Christensen G.D., Simpson W.A., Bisno A.L., Beachey E.H.** (1982). Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infectiology and Immunology*. 37: 318-326.
- Christensen G.D., Simpson W.A., Yonger J.J., Baddor 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. *Journal of Clinical Microbiology*. 22:996-1006.
- Cho S., Naber K., Hacker J., Ziebuhr W.** (2002). Detection of the *ica* ADBC gene cluster and biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* isolates from catheter-related urinary tract infections. *International Journal of Antimicrobial Agent*. 19:570-575.
- Chokr A., Watier D., Eleaume H., Pangon B., Ghnassi J.C., D Mack., Jabbouri S.** (2006). Correlation between biofilm formation and production of polysaccharide intercellular adhesin in clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. *International Journal of Medical Microbiology* 296: 381-388
- Collomb A.** (2011). Caractérisation de la différence de sensibilité à l'infection par *Staphylococcus aureus* de deux lignés de souris. Thèse doctorat : Médecine vétérinaire, école nationale vétérinaire de Toulouse .69P
- Conlon K.M., Humphreys H., O'Gara J.P.** (2002). Regulation of *icaR* gene expression in *Staphylococcus epidermidis*. *Microbiology*. 216: 171-177
- Corbière Morot-Bizot S.** (2006). Les staphylocoques à coagulase négative dans l'écosystème des salaisons. Thèse de doctorat : Université d'Auvergne, école doctorale des sciences de la vie et de la sante. 133 P
- Corne P.** (2004). *Staphylococcus aureus* dans un service de réanimation : étude génétique, phénotypique et épidémiologique. Thèse de doctorat : Université de Montpellier I U.F.R. de Meecine. 174P.
- Costerton J .W., Geesey G.G., Cheng G.K.** (1978). How bacteria stick. *Scientific American*. 238 : 86-95.

- Cramton S., Gerke C., Schnell N. F., Nichols W. W., Gotz F.** (1999). The Intercellular Adhesion (*ica*) Locus is Present in *Staphylococcus aureus* and is Required for Biofilm Formation. *Infection and immunity*. 67(10):5427-5433.
- Cucarella C., Solano C., Valle J., Amorena B., Lasa I., Penades J.R.** (2001). Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. *Journal of Bacteriology*. 183: 2888- 2896
- Daddi Oubekka S.** (2012). Dynamique réactionnelle d'antibiotiques au sein des biofilms de *Staphylococcus aureus* Apport de la microscopie de fluorescence multimodale. Thèse de doctorat : Université Paris Sud XI Spécialité : Microbiologie. 190p.
- Davido B.** (2010). Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à staphylocoque doré. Thèse de doctorat : Université Denis Diderot (Paris VII) Faculté de médecine Paris 7. 61p.
- Demir C., Aalants O., Duran N., Ocak S., Ozerb.** (2011). Investigation of toxin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated in Mustafa Kemal University Hospital. *Turkish Journal of Medical Science* .41 (2): 343-352
- De Sèze M., Shao E., Joseph P. A.** (2002). Infections urinaires nosocomiales en médecine physique et réadaptation : particularités des vessies neurologiques. *Médecine et maladies infectieuses*. 33 : 298s–310s.
- Dobinsky S., Kiel K., Rohde H., Bartscht K., Knobloch J.K., Horstkotte M.A. ., Mack D.** (2003). Glucose-related dissociation between *icaADBC* transcription and biofilm expression by *Staphylococcus epidermidis*: evidence for an additional factor required for polysaccharide intercellular adhesin synthesis. *Journal of Bacteriology*. 185, 2879-2886.
- Donlan R.M.** (2001). Biofilm formation: a clinically relevant microbiological process. *Clinical and Infectious Diseases*. 33:1387–92.
- Dupont H.** (2000) .Infections à staphylocoques. Conférences d'actualisation (scientifiques et médicales Elsevier SAS, et SFAR. 447-463.
- Ebrey R., Hamilton M.S., Cairns G.** (2004). Biofilms and hospital-acquired infections. In: Ghannoum M, O'Toole GA. Editor Microbial Biofilms. *Washington DC: ASM Press*: 294-313.
- El-Banna T., Abd El-Aziz A., Abo-Kamar A., Ghazal A., Abo Zahra R.** (2010) .*In vitro* activities of three kinds of antibiotics against Staphylococcal biofilm and planktonic cultures. *African Journal of Microbiology Research* .4(21): 2275-2282.

- El kharrat D., Arrouy I., BenhamouF., Dray A., Gren J., Le Corre A .**(2007) . Les infections urinaires.1ed .paris : springer.Épidémiologie de l'infection urinaire communautaire de l'adulte en France. p 1-20
- El Mahallawy H.A., Samah A., El-Wakil LM., Abeer K., Morcos H .** (2009). Clinical implications of *icaA* and *icaD* genes in coagulase negative Staphylococci and *S. aureus* bacteremia in febrile neutropenic pediatric cancer patients. *Pediatric Blood and Cancer*.52(7): 824-828
- Espinassea F., Pageb B., Cottard-Boullea B.**(2010). Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires*. 426 :51-63.
- Etienne O.** (2004). Développement d'interfaces a propriétés antimicrobiennes par la fonctionnalisation de multicouches de polyelectrolytes .Thèse de doctorat : Université Louis Pasteur Strasbourg d'Odontologie .221p
- Eveillard M.** (2007).Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat : Ecole doctorale D'Angers.159P.
- Fauchere J.L, Avril J.L.** (2002).Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris. 213-217.
- Felmingham D., Wilson A.P., Quintana A.P., Gruneberg R.N.**(1992). Enterococcus species in urinary tract infection. *Clinical Infection Disesis*. 15: 295–30
- Fitzpatrick F., Humphreys H., Smythy E., Kennedy C.A., O'Gara G.P.** (2002). Environmental regulation of biofilm formation in intensive care unit isolates of *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Hospital Infection*.42: 212-218.
- Fomba M.** (2006). Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des *Acinitobacter baumani* et des staphylocoques à coagulase négative a l'hôpital du point G thèse de doctorat : Faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie.95P.
- Foster T. J, Höök M.** (1998). Surface protein adhesins of *Staphylococcus aureus*. *Trends in Microbiology*. 6: 484-488.
- Freeman DJ., Falkner FR., Keane CT.** (1989). New method for detecting slime production by coagulase-negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology* .42:872-874.
- Gad G., El-Feky M., El-Rehewy M., Hassan M., Abolella H., Abd El-Baky R.** (2009). Detection of *icaA*, *icaD* genes and biofilm production by *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from urinary tract catheterized patients. *Journal of Infection Devices*. 3(5):342-351.

- Garnier F., Etien L., Merlin V., Vigot V., Martin C.** (2005). Enseignement supérieur en soins infirmiers adultes et pédiatriques 2005. 1^{ed}. Paris : Elsevier Masson. 3^{eme} partie, sondage intermittent versus sondage à demeure, p 75-77.
- Gerke C., Kraft A., Sussmuth R.** (1998). Characterization of the N-acetyl glucose aminyl transferase activity involved in the biosynthesis of the *Staphylococcus epidermidis* polysaccharide intercellular adhesion. *Journal of Biology and Chemotherapy*. 273:86-93.
- Gilbert P., Maira-Litran T., McBain A.J., Rickard A.H., Whyte F.** (2002). the physiology and collective recalcitrance of microbial biofilm communities. *Advances in Microbial Physiology*. 46: 203-256.
- Gonthier R.** (2000). Infection urinaire du sujet âgé. *La Revue de Gériatrie*. 25(2):95-103.
- Gotz F.** (2002). *Staphylococcus* and biofilms. *Molecular Microbiology*. 43, 1367–1378.
- Gras D.** (2006). Etude des interactions entre les cellules épithéliales respiratoires humaines normales et mucoviscidique et *Staphylococcus aureus* thèse de doctorat : Université de REIMS Champagne Ardenne U.F.R. de médecine. 185P.
- Guirguitzova B., Chankova D., Zozikov B.** (2002). Les staphylocoques comme uropathogènes—fréquence d’isolement chez des malades hospitalisés et sensibilité envers les substances antibactériennes. *Annales d’urologie*. 36 : 341–347.
- Heilmann C., Gerke C., Perdreau-Remington F., Gotz F.** (1996a). Characterization of Tn917 insertion mutants of *Staphylococcus epidermidis* affected in biofilm formation. *Infectiology Immunology*. 64, 277-282.
- Heilmann C., Schweitzer O., Gerke C., Vanittanakom N., Mack D., Gotz F.** (1996b). Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Molecular Microbiology*. 20 : 1083-1091.
- Hennekinne J.** (2009). Nouvelles approches pour la caractérisation des toxico-infections alimentaires à staphylocoques à coagulase positive. Thèse de doctorat : de l’Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l’Environnement (Agro Paris Tech). 183p.
- Herard A., Brasme L., Jaussaud R., Colin J., Vernet Garnier V., Lardennois B.** (1998). Place actuelle des staphylocoques à coagulase négative en urologie. *Progrès en Urologie*. 8 : 579-585.
- Holtfreter S., Grumann D., Schmudde M., Nguyen H. T., Eichler P., Strommenger, B., Kopron K., Kolata J., Giedrys-Kalemba S.** (2007). Clonal distribution of superantigen genes in clinical *Staphylococcus aureus* isolates. *Journal of Clinical Microbiology*. 45 : 2669–2680.

- Jacobsen S.M., Stickler D.J., Mobley H.L.T.** (2008) .Complicated catheter- associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical Microbiology Review.* (21) 1:26-59.
- Jarraud S.,Mougel C., Thioulouse J., Lina G., Meugnier H., Forey F., Nesme X., Etienne J., Vandenesch F.**(2002). Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. *Infectiology and Immunology.*70(2):631-41.
- Jidar K.** (2007).Prévalence du Staphylocoque doré résistant à la méthicilline chez les patients hospitalisé en dermatologie. Thèse de doctorat : université Paris Descart faculté de médecine Paris Descart. 55p.
- Johannes K.M., Knobloch M.A., Horstkotte H., Dietrich M.** (2002). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *Medical Microbiology and Immunology.* 191: 101–106.
- Kachlany S.C., Fine D.H., Figurski D.H.** (2000) .secretion of RTX leucotoxine by action *bacillusactinomycetemcomitans*. *Infectiology and immunology.*68:6094-6100.
- Kara Terki I., Hassaine H., Bellifa S., M'hamedi I., Lachachi M.** (2011).Infection urinaire nosocomiale : Etude prospective dans une unité de réanimation medical a l'ouest Algerien. *Revue de Microbiologie Industrielle Sanitaire et Environnementale* .6(1) : 118-130
- Karam O.** (2004). Sepsis à "*staphylocoque epidermidis*" chez les grands prématurés : situation à Genève, entre 1995 et 2002. Thèse de doctorat:Université de Genève. 41P.
- Khan F., Shukla I.R.M., Mansoor T., Sharma S.C.** (2011). Detection of biofilm formation in *Staphylococcus aureus* . Does it have a role in treatment of MRSA infection?.*Trends in Medical Research.* 10:1-8.
- Khadir A.M.** (2013). Effet inhibiteur de certains extraits de plantes aromatiques sur des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline SARM isolées du CHU de Tlemcen. These de doctorat: Université Abou Bekr Blekaid Tlemcen option microbiologie.123P.
- Knobloch J.K ., Bartscht K ., Sabottke A ., Rohde H ., Feucht H.H ., Mack D.** (2001). Biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis*depends on functional RsbU, an activator of the sigB operon: differential activation mechanisms due to ethanol and salt stress. *Journal of Bacteriology.* 183, 2624-2633.
- Leclercq R.** (2002).Résistance des Staphylocoques aux antibiotiques. *Annale Français d'anesthésie et réanimation.* 21: 375-383.

- Loulergue P, Turret S.** (2003). Le staphylocoque doré résistant à la méticilline d'origine Communautaire. Mémoire.64p
- Lecomte F, Lebeau B.** (1999). Les infections urinaires de la femme: vérités polémiques et nouveautés futures. John Libbey Eurotext. 179 p.
- Leyral G, Vierling E.** (2007). Microbiologie et toxicologie des aliments: hygiène et sécurité alimentaires.4eme éditions. France : Editions Doin, 287p.
- Lobel B.** (2003). Infections urinaires nosocomiales (IUN) en chirurgie (dont urologie) : qui traiter, quand traiter et comment traiter ?.*Médecine et maladies infectieuses*. 33 : 483–487.
- Léone M., Arnaud S., Boisson C., Blanc-Bimar M. C., Martin C.** (2000).Infections urinaires nosocomiales sur sonde en réanimation : physiopathologie, épidémiologie et prophylaxie.*Annale Français Anesthésie et Réanimation* .1 : 23-34.
- Liesse Iyamba J M.** (2012). Etude de l'interaction des souches cliniques de *Staphylococcus aureus* avec une surface abiotique. Thèse de doctorat : Université libre de Bruxelles, Faculté de Pharmacie, Ecole Doctorale en Sciences Pharmaceutiques. 226p.
- Lowy F.D.** (1998).*Staphylococcus aureus* infections. *English Journal of Medecine*. 339 : 520-532.
- Mack D., Nedelmann M., Krokotsch A., Schwarzkopf A., Heesemann J., Laufs R.**(1994). Characterization of transposon mutants of biofilm-producing *Staphylococcus epidermidis* impaired in the accumulative phase of biofilm production: genetic identification of a hexosamine-containing polysaccharide intercellular adhesin. *Infectiology and Immunology*. 62, 3244- 3253.
- Mack D., Siemssen N., Laufs R.** (1992). Parallel induction by glucose of adherence and a polysaccharide antigen specific for plastic-adherent *Staphylococcus epidermidis*: evidence for functional relation to intercellular adhesion. *Infectiology and Immunology*. 60, 2048-2057.
- Mack D., Fischer W., Krokotsch A., Leopold K., Hartmann R., Egge H., Laufs R.** (1996). The intercellular adhesin involved in biofilm accumulation of *Staphylococcus epidermidis* is a linear beta-1,6-linked glucosaminoglycan: purification and structural analysis. *Journal of Bacteriology*. 178, 175-183.
- Mack D.** (1999). Molecular mechanism of *staphylococcus epidermidis* biofilm formation. *Journal of hospital infections*.43:113-125.
- Maltezou H.C, Giamarellou H.** (2006).Community-acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* infections.*International Journal of Antimicrobial Agents*. 27: 87–96.

- Martín-López J.V., Pérez-Roth E., Díez Gil F.C.M.O., Batista N., Morales M., Méndez-Álvarez S.** (2002). Detection of *Staphylococcus aureus* clinical isolates harboring the *ica* Gene cluster needed for biofilm establishment. *Journal of Clinical Microbiology* .40(4): 1569–1570.
- Masrar A., Ouali M., Chabaa L., Tligui H., Tazi K., Hajjam Z., Sayrho O., Benouda A., Zouhdi M., Lakrissa A., Alaoui MA.**(2000). L'infection urinaire nosocomiale en milieu urologique : enquête prospective. *Biologie Infectiologie*.2:112-119.
- Mathur T, Singhal S, Khan S, Upadhyay DJ, Fatma T, Rattan A.** (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of Staphylococci: An evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology* .24 (1):25-9.
- Matillon Y.** (1999).Qualité de la pose et de la surveillance des sondes urinaires. www.onsil.fr/docs/site/notre-pratique/urologie/qualite-et-surveillance-pose-sonde-urinaires.pdf
- Mc Kenney D., Hubner J., Muller E., Wang Y., Goldmann D.A., Pier G.B.** (1998).The *ica* locus of *Staphylococcus epidermidis* encodes production of the capsularPolysaccharide /adhesin. *Infectiology and Immunology*. 66, 4711-4720.
- Mchich A.** (2002).les infections nosocomiales à propos 55 cas colligés au Maroc. Thèse doctorat : université cheikh Anta Diop de Dakar faculté de médecine, de pharmacie, et d'odontologie département pharmacie. 57p.
- Mehrotra M., Wang G., Johnson W M.**(2000). Multiplex PCR for Detection of Genes for *Staphylococcus aureus* Enterotoxins, Exfoliative Toxins, Toxic Shock Syndrome Toxin 1, and Methicillin Resistance. *Journal of clinical microbiology*. 38, No. 3 1032–1035.
- Mempel M., Feucht H., Ziebuhr W., Endres M., Laufs R., Gruter L.** (1994). Lack of *mecA* transcription in slime-negative phase variants of methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 38:1251-1255.
- Merlet A.** (2010). Implication de la leucocidine de Panton et Valentine dans les infections sévères à *Staphylococcus aureus* en Nouvelle-Calédonie thèse de doctorat : Université Bordeaux 2 des sciences médicales.117P.
- Mimoz O.** (2001). Infections urinaires en réanimation. www.mapar.org/article/pdf/301/Infections%20urinaires%20en%20réanimation.pdf
- Muller E., Hubner J., Gutierrez N., Takeda S., Goldmann D.A., Pier G.B.** (1993). Isolation and characterization of transposon mutants of *Staphylococcus epidermidis* deficient in capsular polysaccharide/adhesin and slime. *Infectiology and Immunology*. 61: 551-558.

- Nicolas M H., Espinasse F., Butreau-Lemaire M ., Botto H.** (1997). Infections urinaires nosocomiales. *Progrès en Urologie*.7: 674-682.
- Otto M.** (2004). Quorum-sensing control in *Staphylococci* a target for antimicrobial drug therapy? *Microbioly Letter*. 241, 135-141.
- Otto M.** (2008) .Staphylococcal biofilms. *Microbiology and immunology*.322: 207-228.
- Otto M .** (2012). Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinant of pathogenicity. *Review of Medicine*. 64:1-14.
- Oliveira A., de Lourdes R.S., Cunha M.** (2010). Comparison of methods for the detection of biofilm production in coagulase-negative staphylococci. *Biology Molecular and Cellular Research*. 3:260
- Parneix P., Boulard G., Maurette P.**(1995). L'infection urinaires au cour du sondage vésical a demeure : minimiser le risque en optimisant la gestion.*Réanimation Urgence*. 4 (1) : 35-39.
- Pavese P.** (2003). Infections urinaires nosocomiales : définition, diagnostic, physiopathologie, prévention, traitement. *Médecine et maladies infectieuses*. 33 : 266s–274s.
- Peters G., Locci R., Pulverer G.** (1982). Adherence and growth of coagulase-negative staphylococci on surfaces of intravenous catheters. *Journal of Infeciology and Diosis* . 146: 479-482.
- Perrin M., Le Garzic J., Tas A., Avril J L.**(1998). Infections urinaires communautariser et nosocomiales à Bacilles à Gram négatif en milieu gériatrique. *Médecine et Maladie Infectieuse*. 28:505-10
- Planchon S.** (2006). Aptitude de *Staphylococcus carnosus* et *Staphylococcus xylosus* à former des biofilms. Etude d'une souche "biofilm-positif" par une approche protéomique. Thèse de doctorat : Université Baise Pascal, ecole doctorales sciences de la vie et de la santé .237P.
- 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 Infectiology* . 3, 633-637.
- Qin Z., Yang X., Yang L., Jiang J., Ou Y., Molin S.**(2007). Formation and properties of in vitro biofilms of *ica-negative Staphylococcus epidermidis* clinical isolates. *Journal of Medical Microbiology*.56:83–93.
- Quincampoix J.C, Mainardi J.L.** (2001). Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif.*Réanimation*. 10: 267-275.

- Racha A. N., Abu Shady H.M., Hussein H.S.** (2012). Biofilm formation and presence of *icaAD* gene in clinical isolates of staphylococci. *Egyptian Journal of Medical. Human and Genetic* .13: 269–274.
- Rachid S., Ohlsen K., Witte W., Hacker J., Ziebuhr W.** (2000). Effect of subinhibitory antibiotic concentrations on polysaccharide intercellular adhesin expression in biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* .44: 3357-3363.
- RAISIN.** (2006). Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, France *Volume 1 - Méthodes, résultats, perspectives. INVS* 81 p.
- Rakotoarivony S.T., Riel M. A., Razafimpanarivo M., Velomara A.** (2009). Profil bactériologique des infections urinaires nosocomiales en réanimation chirurgicale de deux CHU à Antananarivo. *Revue d'Anesthésie Réanimation et de Médecine d'Urgence*. 1(3): 15-17.
- Rebiahi S .A.** (2011a). Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leurs antibiorésistance au niveau du centre hospitalo universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat : Université de Tlemcen, Option Microbiologie. 168P.
- Rebiahi S.A ., Abdelouahid D.E., Rahmoun M ., Abdelali S., Azzaoui H.** (2011b). Emergence de souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la vancomycine isolées du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (Algérie Nord-ouest). *Médecine et maladies infectieuses* .41 :646–651.
- Rediske A. M., Roeder B.L ., Brown M.K ., Nelson J.L ., Robison R.L., Draper D.O., Schaalje G.B., Robison R.A., Pitt W.G.** (1999). Ultrasonic enhancement of antibiotic action on *Echerichia coli* biofilm: an in vivo model. *Antimicrobial agent and chemotherapy*. 43(5) :1211-1214.
- Riegel P.** (2002). Aspects bactériologiques des infections urinaires nosocomiales. *Médecine et maladies infectieuses*. 33 : 255s–265s.
- Rohde H., Frankenberger S., ahringer U., Mack D.** (2010). Structure, function and contribution of polysaccharide intercellular adhesin (PIA) to *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation and pathogenesis of biomaterial-associated infections. *European Journal of Cell Biology*. 89: 103–11.
- Samou F .H. S.** (2005). Les infections nosocomiales dans le service de chirurgie « B » de l'hôpital du point G. thèse doctorat : Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. 106p.

- Salaun S.** 2009. Interaction entre la macroalgue brune *Laminaria Digitata* et ses epibiontes bactériens : étude moléculaire et spectroscopique et capacité d'adhésion et formation de biofilm. Thèse de doctorat : Université de Bretagne Sud. 265P.
- Seif El-Din S., El-Rehewy M.S., Ghazaly M.M., Abd-Elhamid M.H.** (2011). Biofilm Formation by Blood Stream Staphylococcal Isolates from Febrile Pediatric Cancer Patients at South Egypt Cancer Institute. *Journal American of Science*. 7 (1): 674-686.
- Sekhsokh Y., Chadli M., El Hamzaoui S .A.**(2008). Fréquence et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées dans les urines. *Médecine et maladies infectieuses*. 38 : 324–327.
- Soussy C.J.** (2012). Comité de l'antibiogramme de la société française de Microbiologie Recommandations 2012. <http://www.sfm-microbiologie.org/>
- Stepanovic S., Jezek P., Vukovic D., Dakic I., Petras P.** (2003). Isolation of Members of the *Staphylococcus sciuri* Group from Urine and Their Relationship to Urinary Tract Infections *Journal of clinical* .41(11) : 5262–5264.
- Stewart P.S.** (1996). Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 40: 2517–22.
- Stewart P. S, Costerton J .W.** (2001). Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* .358: 135-138.
- Tchougoune M. L.** (2007) . Prévalence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline au CHU du Point G. Thèse de doctorat : Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odontostomatologie. 89p.
- Thomas V., Riley ., Paul F., Schneidert.**(1992). Infrequency of slime production by urinary isolates of *Staphylococcus saprophyticus*. *Journal of Infection* .24:63-66
- Tojo M., Yamashita N., Goldmann D.A., Pier G.B.** (1988). Isolation and characterization of a capsular polysaccharide adhesin from *Staphylococcus epidermidis*. *Journal of Infectious Diseases*. 157 : 713-722.
- Tokunada S.H., Nishikawa T., Fuse H., Ohkawa M.** (1995). High prevalence of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci from urine specimens. Abstract. N° 3158, 19th *International Congress of chemotherapy, Montreal, Canada*.
- Toledo-Arana A., Merino N., Vergara-Irigaray M., Debarbouille M., Penades J.R., Lasa I.** (2005). *Staphylococcus aureus* Develops an Alternative, *ica*-Independent Biofilm in the Absence of the *arlRS* Two-Component System. *Journal of Bacteriology*. 187: 5318-5329.

- Touati A., Achour W., Abbassi M.S., Ben Hassen A.** (2007). Detection of *ica* genes and slime production in a collection of *Staphylococcus epidermidis* strains from catheter-related infections in neutropenic patients. *Pathology and Biology*. 55: 277–282
- Trouillet S.** (2011) Physiopathologie des infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Mémoire : Minister de l'enseignement supérieur et de la recherche école pratique des hautes études .102p.
- Tunney M.M., Jones D.S., Gorman S.P.** (1999) Biofilm and biofilm-related encrustation of urinary tract devices. *Methods Enzymology*. 310: 558-566.
- Valle J., Toledo-Arana A., Berasain C., Ghigo J.M., Amorena B., Penades J.R., Lasa I.** (2003). SarA and not sigmaB is essential for biofilm development by *Staphylococcus aureus*. *Molecular Microbiology*. 48: 1075-1087.
- Von Eiff C., Peters G., Heilmann C.** (2002). Pathogenesis of infections due to coagulase negative Staphylococci. *Infectious Diseases*. 2: 677-687.
- Von Eiff C., Jansen B., Kohne W., Becker K.** (2005). Infections associated with medical devices. Pathogenesis, management and prophylaxis. *Drugs*. 65: 179-214.
- Vuong C., Saenz H.L., Gotz F., Otto M.** (2000). Impact of the agr quorum-sensing system on adherence to polystyrene in *Staphylococcus aureus*. *Journal of Infectious Diseases*. 182: 1688-1693.
- Vuong C., Otto M.** (2002). *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbiology and Infectiology*. 4:481-489.
- Vuong C., Voyich J.M., Fischer E.R., Braughton K.R., Whitney A.R., De Leo F.R., Otto M.** (2004). Polysaccharide intercellular adhesin (PIA) protects *Staphylococcus epidermidis* against major components of the human innate immune system. *Cell Microbiology*. 6 : 269-275.
- Walev I., Weller U., Strauch S., Foster T., Bhakdi S.** (1996). Selective killing of human monocytes and cytokine release provoked by sphingomyelinase (beta-toxin) of *Staphylococcus aureus*. *Infectiology and Immunology*. 64 (8) : 2974-2979
- Walters M.C., Bugnicourt F., Franklin A., Stewart P.S.** (2003). Contributions of antibiotic penetration, oxygen limitation, and low metabolic activity to tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms to ciprofloxacin and tobramycin. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 47, 317-323.

Zargo-Goni D. (2003).Prévention de l'infection urinaire nosocomiale recommandation pour la pose et la gestion d'une sonde vésicale.www.onsil.fr/docs/site/notre-pratique/urologie/prevention-infection-urinaire-nosocomiale-et-sondage.pdf

Ziebuhr W., Heilmann C., Gotz F. (1997). Detection of the intercellular adhesion gene cluster (*ica*) and phase variation in *Staphylococcus epidermidis* blood culture strains and mucosal isolates. *Infectiology and Immunology*. 65:890-6.

Ziebuhr W., Krimmer V., Rachid S., Lossner I., Gotz F., Hacker J. (1999). A novel mechanism of phase variation of virulence in *Staphylococcus epidermidis*: evidence for control of the polysaccharide intercellular adhesin synthesis by alternating insertion and excision of the insertion sequence element IS256. *Molecular Microbiology*. 32 : 345–356.

Zobel C.E. (1943). The effect of solid surface upon bacteria activity. *Journal of bacteriology*.46 :39-56.

Annexe 1 : caractéristiques des 250 patients inclus dans l'étude

Age des Patients (ans)	Sexe (H :homme , F :femme)	Service	Durée de sondage	Infection urinaire	Nombre d'UFC/ml
34	H	Réanimation	72h	+	= 10 ⁵
40	H	Réanimation	10j	+	10 ⁶ -10 ⁷
56	F	Réanimation	10j	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
60	F	Réanimation	7J	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
60	H	Réanimation	15J	+	≥10 ⁷
47	H	Réanimation	17J	+	≥10 ⁷
16	H	Réanimation	72h	+	= 10 ⁵
48	H	Réanimation	10j	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
62	F	Réanimation	10j	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
59	F	Réanimation	10j	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
49	F	Réanimation	10j	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
36	F	Réanimation	72h	+	= 10 ⁵
62	F	Réanimation	15j	+	≥10 ⁷
48	H	Réanimation	20J	+	≥10 ⁷
19	H	Réanimation	72h	+	= 10 ⁵
48	H	Réanimation	17J	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
35	F	Réanimation	9j	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
48	F	Réanimation	15J	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
25	H	Réanimation	8j	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
50	H	Réanimation	10j	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
64	H	Réanimation	>14 J	+	≥10 ⁷
35	H	Réanimation	10j	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
28	F	Réanimation	72h	+	= 10 ⁵
44	F	Réanimation	7J	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
50	H	Réanimation	7J	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶
34	H	Réanimation	7J	+	≥10 ⁵ - 10 ⁶

50	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
31	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
35	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
50	H	Réanimation	15j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
70	H	Réanimation	15j	+	$\geq 10^7$
50	H	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
44	H	Réanimation	9j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
46	F	Réanimation	9j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
68	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
40	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
70	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
48	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
44	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
70	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
50	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
37	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
65	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
34	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
63	H	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
41	H	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
45	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
47	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
69	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^7$
31	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
59	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
64	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^7$
40	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
59	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
31	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
57	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^6 - 10^7$

39	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
34	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
57	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
44	H	Réanimation	10j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
60	H	Réanimation	10j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
60	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
57	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
38	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
57	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
60	H	Réanimation	15j	+	$\geq 10^7$
64	H	Réanimation	15j	+	$\geq 10^7$
54	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
59	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
22	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
57	F	Réanimation	9j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
57	F	Réanimation	9j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
55	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
44	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
58	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
60	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^7$
45	F	Réanimation	9j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
55	H	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
52	H	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
52	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
57	F	Réanimation	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
57	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
44	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
63	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
63	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
43	F	Réanimation	13j	+	$\geq 10^6 - 10^7$

60	F	Réanimation	13j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
47	F	Réanimation	14j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
38	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
57	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
33	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
74	F	Réanimation	16j	+	$\geq 10^7$
19	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
63	F	Réanimation	9j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
63	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
38	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
70	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^7$
18	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
51	H	Réanimation	10j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
60	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
63	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
63	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
63	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
78	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
51	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
60	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
34	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
41	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
45	H	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
60	H	Réanimation	10j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
38	H	Réanimation	10j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
51	H	Réanimation	12j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
65	H	Réanimation	16j	+	$\geq 10^7$
51	H	Réanimation	6j	+	$= 10^5$
60	H	Réanimation	17j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
59	H	Réanimation	17j	+	$\geq 10^7$

68	H	Réanimation	11j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
60	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^7$
17	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
64	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^7$
59	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
78	F	Réanimation	5J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
63	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
60	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
66	F	Réanimation	72h	+	$\geq 10^7$
53	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
53	F	Réanimation	4j	+	$= 10^5$
41	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
54	F	Réanimation	11j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
52	F	Réanimation	15j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
52	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
60	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
66	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
55	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
81	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^7$
60	H	Réanimation	10j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
62	H	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
38	H	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
39	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
34	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
81	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
61	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
67	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
45	F	Réanimation	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
60	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
65	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$

65	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
66	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
24	F	Réanimation	4J	+	$= 10^5$
59	F	Réanimation	16j	+	$\geq 10^7$
81	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^7$
65	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
65	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
45	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
67	F	Réanimation	10j	+	$\geq 10^7$
34	F	Réanimation	13j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
59	F	Réanimation	13j	+	$\geq 10^7$
42	F	Réanimation	72h	+	$= 10^5$
65	H	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
33	H	Réanimation	8j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
38	H	Réanimation	4J	+	$= 10^5$
39	F	Réanimation	5J	+	$= 10^5$
34	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^5 - 10^6$
42	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
59	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
45	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
63	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
63	F	Réanimation	8j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
29	H	Urologie	30j	+	$\geq 10^7$
70	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
39	F	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
34	F	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
70	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
85	H	Urologie	7J	+	$\geq 10^7$
70	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
63	F	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$

33	F	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
38	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
40	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
57	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
56	H	Urologie	7J	+	$= 10^5$
63	H	Urologie	7J	+	$= 10^5$
63	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
78	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
68	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
33	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
70	H	Urologie	10j	+	$\geq 10^7$
58	H	Urologie	10j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
66	H	Urologie	10j	+	$\geq 10^7$
71	H	Urologie	10j	+	$\geq 10^7$
42	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
46	F	Urologie	13j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
79	H	Urologie	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
50	H	Urologie	7J	+	$= 10^5$
46	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
45	H	Urologie	13j	+	$\geq 10^7$
64	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
41	H	Urologie	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
77	F	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
42	F	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
48	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
42	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
55	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
60	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
42	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
55	H	Urologie	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$

50	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
60	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
52	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
49	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
66	H	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
61	F	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
69	F	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
83	F	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
76	F	Urologie	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
44	F	Urologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
70	F	Urologie	13j	+	$\geq 10^7$
64	H	Urologie	13j	+	$\geq 10^7$
67	H	Urologie	13j	+	$\geq 10^7$
44	H	Neurologie	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
48	H	Neurologie	7J	+	$\geq 10^5 - 10^6$
38	H	Neurologie	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
70	H	Neurologie	7J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
48	F	Neurologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
77	F	Neurologie	10j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
72	F	Neurologie	10j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
83	F	Neurologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
42	F	Neurologie	13j	+	$\geq 10^6 - 10^7$
69	F	Neurologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
80	F	Neurologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
42	H	Neurologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
70	H	Neurologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
28	F	Neurologie	>14 J	+	$\geq 10^6 - 10^7$
75	F	Neurologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
78	H	Neurologie	>14 J	+	$\geq 10^7$
70	H	Neurologie	>14 J	+	$\geq 10^7$

S92	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S
S95	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R
S94	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R
S7	<i>S.epidermidis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S
S96	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R
S74	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	I	S	S
S51	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S
S59	<i>S.epidermidis</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
S87	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S
S60	<i>S.saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	I	S	S
S84	<i>S.saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R
S62	<i>S.aureus</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	I	R	R	S	S
S72	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
S80	<i>S.aureus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	R
S65	<i>S.aureus</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S78	<i>S.saprophyticus</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
S54	<i>S.aureus</i>	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	S
S79	<i>S.aureus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	R
S58	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	S
S69	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S
S73	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S
S64	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S
S77	<i>S.aureus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	R
S68	<i>S.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	I	S	S	S
S86	<i>S.saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	I
S71	<i>S.epidermidis</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S
S66	<i>S.saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S
S57	<i>S.aureus</i>	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
S52	<i>S.saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S
S100	<i>S.aureus</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S90	<i>S.epidermidis</i>	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S	R	S	R	S	S
S83	<i>S.aureus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	S

N 22p1(5)	<i>s.warneri</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S
N 36	<i>s.saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R
U21	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	S	R	S	S
U 35	<i>s.saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S
R 165	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S
R 81	<i>s.aureus</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S
R 68	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	I	R	S	S	R
R 58	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	I	R	S	S	S
U 32	<i>s.warneri</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
R 83	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
R 82	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S
R 102	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S
R 85	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	S	I	R	R	S	S
R 71	<i>s.haemolyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R
N 21	<i>s.saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S
R 69	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
R 171	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
R 92	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R
R 170	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S
R 172	<i>s.saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S
R 86	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S
R 84	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S
R 70	<i>s.saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
R 103	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R
R 90	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R
R 108	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S
R 173	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	S
R 173	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R
R 175	<i>s.epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R
R 1	<i>s.haemolyticus</i>	R	R	R	R	R	R	s	R	R	R	s	s	R	R	R	R	R
R 3	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	s	s	s	s	s	s	s	s	s	R	s	R	s	s
R 5	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	s	s	s	s	R	s	s	s	s	R	R	R	R	R

Annexes

R 10	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S
R 11	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S
R 23	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
R 25	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
N 1	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	s	s	s	s	s	s	s	s	s	R	s	R	s	s
N 10	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	s	s	s	s	s	s	s	s	s	R	s	R	s	s
O 3	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S
O10	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R
U 2	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R
C 4	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	S	S	S	S
U7	<i>S saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S
U 9	<i>S saprophyticus</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
U10	<i>S saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S
U13	<i>S saprophyticus</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
U17	<i>S saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S
U18	<i>S saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
R 16	<i>S saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
U 19	<i>S saprophyticus</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
R 18	<i>S saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
R 27	<i>S saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
N 22	<i>S saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R
N 24	<i>S saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	S	R	S	S
N 2	<i>S saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S
N 8	<i>S saprophyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
R 7	<i>S aureus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
R 9	<i>S aureus</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S
N 20	<i>S aureus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
N21	<i>S aureus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	I	R	I	S	S
N3	<i>S aureus</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S
U15	<i>S aureus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S
N19	<i>S epidérmidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S
No5	<i>S epidermidis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R

Annexes

T2	<i>S epidermidis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S
R2 (2)	<i>S sciuri</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
R6	<i>S sciuri</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
R 12	<i>S sciuri</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S
R 17	<i>S sciuri</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S
C 1	<i>S sciuri</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
M 3	<i>S cohnii</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S
R 14	<i>S cohnii spp uralyticum</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
H 1	<i>S cohnii</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S
H 3	<i>S cohnii</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
U3	<i>S cohnii</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S
R 18 p1(3)	<i>S hominis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S
R 2(1)	<i>S hominis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S
O5	<i>S xylosus</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
S186	<i>S hominis</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S
S187	<i>S hominis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S
S188	<i>S hominis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
S189	<i>S hominis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	R
S190	<i>S hominis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	S
S191	<i>S hominis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	S	S
S192	<i>S hominis</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S
S194	<i>S hominis</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S
S195	<i>S hominis</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
S196	<i>S hominis</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R
S197	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R
S198	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	R	R	S	R
S199	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	I	S	S	R
S200	<i>S haemolyticus</i>	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	R

Annexe 3 : Résultat de la formation de biofilm par les techniques TCP, TM et RCA pour les 200 staphylocoques étudiés.

Codes	souches	Valeurs de la DO par la technique TCP			RCA	TM
		BHIB	BHIB 1% glucose	BHIB 2% saccharose		
S106	<i>S.saprophyticus</i>	0,05666667	0,06933333	0,07466667	-	-
S107	<i>S.saprophyticus</i>	0,22666667	0,31333333	0,24366667	+	+
S108	<i>S.epidermidis</i>	0,027	0,02733333	0,061	-	-
S109	<i>S.epidermidis</i>	0,10333333	0,19633333	0,241	+	+
S110	<i>S.saprophyticus</i>	0,16433333	0,26433333	0,189	+	-
S103	<i>S.epidermidis</i>	0,03233333	0,026	0,07	-	-
S104	<i>S.saprophyticus</i>	0,01233333	0,01543333	0,01406667	+	-
S105	<i>S.aureus</i>	0,09266667	0,09466667	0,09033333	-	-
S99	<i>S.hominis</i>	0,061	0,077	0,07966667	+	-
S89	<i>S.aureus</i>	0,09266667	0,10366667	0,09466667	-	-
S91	<i>S.epidermidis</i>	0,02033333	0,077	0,05566667	-	-
S92	<i>S.epidermidis</i>	0,06133333	0,082	0,07333333	-	-
S95	<i>S.epidermidis</i>	0,08933333	0,19366667	0,20466667	+	+
S94	<i>S.epidermidis</i>	0,071	0,181	0,19266667	+	-
S7	<i>S.epidermidis</i>	0,01066667	0,05333333	0,074	-	-
S96	<i>S.epidermidis</i>	0,052	0,046	0,07066667	-	-
S74	<i>S.epidermidis</i>	0,14133333	0,186	0,265	-	-
S51	<i>S.epidermidis</i>	0,11666667	0,135	0,16233333	-	-
S59	<i>S.epidermidis</i>	0,07666667	0,09333333	0,07433333	+	-
S87	<i>S.epidermidis</i>	0,035	0,056	0,04933333	-	-
S60	<i>S.saprophyticus</i>	0,09266667	0,19166667	0,219	+	+
S84	<i>S.saprophyticus</i>	0,123	0,24466667	0,299	+	+
S62	<i>S.aureus</i>	0,029	0,02966667	0,04466667	-	-
S72	<i>S.epidermidis</i>	0,07666667	0,095	0,10166667	-	-
S80	<i>S.aureus</i>	0,063	0,13233333	0,20333333	+	-
S65	<i>S.aureus</i>	0,16433333	0,24466667	0,291	+	-
S78	<i>S.saprophyticus</i>	0,05933333	0,056	0,06533333	-	-
S54	<i>S.aureus</i>	0,03333333	0,08433333	0,07166667	-	-

S79	<i>S.aureus</i>	0,13566667	0,23933333	0,24933333	-	-
S58	<i>S.epidermidis</i>	0,12166667	0,19333333	0,21733333	+	+
S69	<i>S.epidermidis</i>	0,07866667	0,128	0,19	-	-
S73	<i>S.epidermidis</i>	0,141	0,244	0,282	+	+
S64	<i>S.epidermidis</i>	0,01766667	0,02433333	0,01633333	-	-
S77	<i>S.aureus</i>	0,05166667	0,051	0,05733333	-	-
S68	<i>S.epidermidis</i>	0,04	0,04166667	0,036	-	-
S86	<i>S.saprophyticus</i>	0,038	0,053	0,06533333	-	-
S71	<i>S.epidermidis</i>	0,02333333	0,05733333	0,064	-	-
S66	<i>S.saprophyticus</i>	0,05366667	0,06933333	0,043	-	-
S57	<i>S.aureus</i>	0,07466667	0,15	0,23	+	-
S52	<i>S.saprophyticus</i>	0,03533333	0,03233333	0,06133333	-	-
S100	<i>S.aureus</i>	0,14966667	0,255	0,21866667	+	-
S90	<i>S.epidermidis</i>	0,04466667	0,049	0,05733333	-	-
S83	<i>S.aureus</i>	0,05533333	0,051	0,04133333	+	-
S1	<i>S.saprophyticus</i>	0,16266667	0,26733333	0,289	+	+
R 128	<i>s.aureus</i>	0,249	0,324	0,33333333	+	-
R 27(61)	<i>s.aureus</i>	0,031	0,07233333	0,092	-	-
R 4i2(56)	<i>s.aureus</i>	0,16433333	0,24466667	0,289	-	-
R 131(97)	<i>s.saprophyticus</i>	0,15	0,255	0,299	+	-
R 127	<i>s.aureus</i>	0,18033333	0,19933333	0,1994	+	-
R 126	<i>s.aureus</i>	0,13433333	0,18833333	0,205	+	-
R 1(55)	<i>s.aureus</i>	0,146	0,20933333	0,25333333	+	-
R 10(76)	<i>s.cohni</i>	0,16766667	0,24466667	0,309		-
U p1(4)	<i>s.saprophyticus</i>	0,01716667	0,09166667	0,088	+	-
N 7p1(6)	<i>s.hominis</i>	0,04433333	0,06166667	0,08933333	+	-
N 19p1(2)	<i>s.cohni</i>	0,024	0,03433333	0,03766667		-
N p1	<i>s.cohni</i>	0,03733333	0,14766667	0,18766667	+	-
R 147(101)	<i>s.warneri</i>	0,027	0,19333333	0,077		-
R 21 (p1)	<i>s.hominis</i>	0,12866667	0,19733333	0,23433333	+	-
R 169	<i>s.warneri</i>	0,08733333	0,13	0,19666667	+	-
R 52(76)	<i>s.aureus</i>	0,15433333	0,197	0,27966667	-	-

U 16(88)	<i>s.cohni</i>	0,02263333	0,083	0,08466667	-	-
R 40(81)	<i>s.haemolyticus</i>	0,110666	0,19533333	0,23666667	+	-
R 46(85)	<i>s.aureus</i>	0,23366667	0,293	0,312	-	-
R 60(82)	<i>s.cohni</i>	0,09766667	0,115	0,108	-	-
R 131(97)	<i>s.saprophyticus</i>	0,03	0,059	0,07733333	+	-
R 118(93)	<i>s.saprophyticus</i>	0,01246667	0,08466667	0,09733333	+	-
R 41(98)	<i>s.aureus</i>	0,03366667	0,06866667	0,08766667	-	-
C 2	<i>s.warneri</i>	0,12133333	0,137	0,18733333	-	-
R 148(102)	<i>s.epidermidis</i>	0,177	0,18766667	0,18766667	+	-
R 34	<i>s.aureus</i>	0,01666667	0,045	0,04233333	+	-
N 1	<i>s.epidermidis</i>	0,01433333	0,02633333	0,02666667	+	-
R 39	<i>s.saprophyticus</i>	0,12466667	0,16633333	0,21833333	-	-
U	<i>s.aureus</i>	0,046	0,07233333	0,085	-	-
R 157	<i>s.aureus</i>	0,19266667	0,24433333	0,30733333	-	+
R 21	<i>s.aureus</i>	0,12733333	0,129	0,19666667	+	-
R 38	<i>s.aureus</i>	0,16133333	0,182	0,24	+	-
R 165	<i>s.epidermidis</i>	0,16433333	0,26433333	0,189	+	-
R 156	<i>s.epidermidis</i>	0,14966667	0,255	0,21866667	+	-
R 30	<i>s.aureus</i>	0,12866667	0,19733333	0,23433333	-	-
N 33	<i>s.epidermidis</i>	0,12566667	0,22733333	0,24133333	+	-
R 154	<i>s.cohni</i>	0,02056667	0,07366667	0,04666667	+	-
R 155	<i>s.aureus</i>	0,01433333	0,02633333	0,02666667	-	-
R 162	<i>s.epidermidis</i>	0,134	0,19633333	0,239	-	-
R 29	<i>s.aureus</i>	0,07466667	0,15	0,23	+	-
R 160	<i>s.haemolyticus</i>	0,14766667	0,21966667	0,29533333	+	+
N 32	<i>s.epidermidis</i>	0,134	0,19333333	0,21866667	+	-
R 73	<i>s.aureus</i>	0,149	0,296	0,205	+	-
U 19	<i>s.aureus</i>	0,10333333	0,19333333	0,16533333	+	-
R 164	<i>s.saprophyticus</i>	0,13033333	0,20533333	0,26133333	+	+
R 159	<i>s.sciuri</i>	0,115	0,21866667	0,22166667		-
R 94	<i>s.aureus</i>	0,009	0,01566667	0,032		-
R 161	<i>s.saprophyticus</i>	0,02633333	0,07066667	0,09466667	+	-

R 164	<i>s.aureus</i>	0,15	0,178	0,19233333	+	-
R 37	<i>s.aureus</i>	0,12	0,143	0,16466667	+	-
R 163(2)	<i>s.aureus</i>	0,127	0,135	0,14933333	+	-
R 165	<i>s.aureus</i>	0,09766667	0,12333333	0,17133333	+	-
R163	<i>s.aureus</i>	0,12266667	0,17066667	0,19133333	-	-
R 42	<i>s.aureus</i>	0,09766667	0,12333333	0,17133333	-	-
R162	<i>s.epidermidis</i>	0,10333333	0,19633333	0,241	+	+
R 158	<i>s.saprophyticus</i>	0,09266667	0,10366667	0,09466667	+	-
U36	<i>s.saprophyticus</i>	0,029	0,02966667	0,04466667	-	-
U 12	<i>s.epidermidis</i>	0,02333333	0,05733333	0,064	+	-
N 34	<i>s.saprophyticus</i>	0,10333333	0,09333333	0,06533333	-	-
N 35	<i>s.epidermidis</i>	0,13233333	0,22733333	0,24133333	-	-
R 166	<i>s.saprophyticus</i>	0,02633333	0,17066667	0,19466667	+	-
R167	<i>s.epidermidis</i>	0,114	0,133	0,14466667	+	-
U34	<i>s.haemolyticus</i>	0,07466667	0,15	0,23	-	-
N 22p1(5)	<i>s.warneri</i>	0,02633333	0,07066667	0,09466667	-	-
N 36	<i>s.saprophyticus</i>	0,10333333	0,09333333	0,06533333	-	-
U21	<i>s.epidermidis</i>	0,02	0,035	0,04933333	+	-
U 35	<i>s.saprophyticus</i>	0,01716667	0,18566667	0,19066667	+	-
R 165	<i>s.epidermidis</i>	0,029	0,02966667	0,04466667	-	-
R 81	<i>s.aureus</i>	0,09766667	0,12333333	0,17133333	+	-
R 68	<i>s.epidermidis</i>	0,11566667	0,12733333	0,19333333	+	-
R 58	<i>s.epidermidis</i>	0,10333333	0,19633333	0,241	-	-
U 32	<i>s.warneri</i>	0,05666667	0,02733333	0,04133333	-	-
R 83	<i>s.epidermidis</i>	0,09266667	0,12733333	0,19466667	+	-
R 82	<i>s.epidermidis</i>	0,09766667	0,12333333	0,17133333	+	-
R 102	<i>s.epidermidis</i>	0,12066667	0,22966667	0,24466667	+	-
R 85	<i>s.epidermidis</i>	0,134	0,213	0,33333333	+	+
R 71	<i>s.haemolyticus</i>	0,02333333	0,05733333	0,064	+	-
N 21	<i>s.saprophyticus</i>	0,01716667	0,09166667	0,88	-	-
R 69	<i>s.epidermidis</i>	0,13	0,259	0,27733333	-	-
R 171	<i>s.epidermidis</i>	0,12333333	0,24	0,27733333	+	-

R 92	<i>s.epidermidis</i>	0,127	0,154	0,18533333	+	-
R 170	<i>s.epidermidis</i>	0,12733333	0,22966667	0,24466667	-	-
R 172	<i>s.saprophyticus</i>	0,027	0,19333333	0,077	-	-
R 86	<i>s.epidermidis</i>	0,12133333	0,137	0,18733333	+	-
R 84	<i>s.epidermidis</i>	0,13033333	0,20533333	0,26133333	-	-
R 70	<i>s.saprophyticus</i>	0,02	0,035	0,04933333	-	-
R 103	<i>s.epidermidis</i>	0,12833333	0,22733333	0,29333333	+	+
R 90	<i>s.epidermidis</i>	0,124	0,22966667	0,24466667	+	-
R 108	<i>s.epidermidis</i>	0,10333333	0,19333333	0,22533333	-	-
R 173	<i>s.epidermidis</i>	0,19266667	0,24433333	0,30733333	+	-
R 173	<i>s.epidermidis</i>	0,14966667	0,255	0,21866667	-	+
R 175	<i>s.epidermidis</i>	0,104	0,12633333	0,17233333	+	-
R 1	<i>s.haemolyticus</i>	0,029	0,02966667	0,04466667	+	-
R 3	<i>S .haemolyticus</i>	0,09766667	0,12333333	0,17133333	+	-
R 5	<i>S .haemolyticus</i>	0,09266667	0,10366667	0,09466667	+	-
R 10	<i>S .haemolyticus</i>	0,029	0,02966667	0,04466667	-	-
R 11	<i>S .haemolyticus</i>	0,02333333	0,05733333	0,064	+	-
R 23	<i>S .haemolyticus</i>	0,14966667	0,255	0,21866667	+	-
R 25	<i>S .haemolyticus</i>	0,15433333	0,197	0,27966667	+	-
N 1	<i>S .haemolyticus</i>	0,01433333	0,02633333	0,02666667		-
N 10	<i>S .haemolyticus</i>	0,03	0,059	0,07733333	+	-
O 3	<i>S. haemolyticus</i>	0,05666667	0,02733333	0,04133333	+	-
O10	<i>S. haemolyticus</i>	0,01716667	0,09166667	0,088	-	-
U 2	<i>S. haemolyticus</i>	0,07466667	0,15	0,23	+	-
C 4	<i>S. haemolyticus</i>	0,03	0,059	0,07733333	-	-
U7	<i>S. saprophyticus</i>	0,11433333	0,224	0,26	+	-
U 9	<i>S. saprophyticus</i>	0,10333333	0,09333333	0,06533333	+	-
U10	<i>S .saprophyticus</i>	0,029	0,02966667	0,04466667	-	-
U13	<i>S .saprophyticus</i>	0,05666667	0,02733333	0,04133333	+	-
U17	<i>S .saprophyticus</i>	0,029	0,02966667	0,04466667	+	-
U18	<i>S .saprophyticus</i>	0,13033333	0,20533333	0,26133333	+	-
R 16	<i>S .saprophyticus</i>	0,05666667	0,02733333	0,04133333	+	-

U 19	<i>S .saprophyticus</i>	0,09766667	0,12333333	0,17133333	+	-
R 18	<i>S .saprophyticus</i>	0,13033333	0,20533333	0,26133333	+	+
R 27	<i>S .saprophyticus</i>	0,029	0,02966667	0,04466667	-	-
N 22	<i>S .saprophyticus</i>	0,06133333	0,082	0,07333333	+	-
N 24	<i>S .saprophyticus</i>	0,029	0,02966667	0,04466667	-	-
N 2	<i>S .saprophyticus</i>	0,02333333	0,02633333	0,02666667	+	-
N 8	<i>S .saprophyticus</i>	0,13033333	0,20533333	0,26133333	+	+
R 7	<i>S .aureus</i>	0,09766667	0,12333333	0,17133333	+	-
R 9	<i>S .aureus</i>	0,02333333	0,02633333	0,02666667	-	-
N 20	<i>S .aureus</i>	0,11433333	0,12733333	0,13	+	-
N21	<i>S .aureus</i>	0,14066667	0,235	0,24933333	-	-
N3	<i>S .aureus</i>	0,02	0,035	0,04933333	-	-
U15	<i>S .aureus</i>	0,11433333	0,12633333	0,18433333	-	-
N19	<i>S .epidérmidis</i>	0,15433333	0,197	0,27966667	-	-
No5	<i>S .epidermidis</i>	0,11433333	0,12733333	0,14	+	-
T2	<i>S .epidermidis</i>	0,12033333	0,23066667	0,26466667	+	-
R2 (2)	<i>S .sciuri</i>	0,029	0,02966667	0,04466667	-	-
R6	<i>S .sciuri</i>	0,09766667	0,10466667	0,08933333	-	-
R 12	<i>S .sciuri</i>	0,02	0,035	0,04933333	+	-
R 17	<i>S .sciuri</i>	0,05433333	0,094	0,02766667	-	-
C 1	<i>S .sciuri</i>	0,02333333	0,02633333	0,02666667	-	-
M 3	<i>S .cohnii</i>	0,02333333	0,02633333	0,02666667	+	-
R 14	<i>S .cohnii .spp .uralyticum</i>	0,09766667	0,02333333	0,07133333	+	-
H 1	<i>S .cohnii</i>	0,02333333	0,02633333	0,02666667	+	-
H 3	<i>S .cohnii</i>	0,02333333	0,02633333	0,02666667	+	-
U3	<i>S .cohnii</i>	0,02333333	0,02633333	0,02666667	-	-
R 18 p1(3)	<i>S .hominis</i>	0,029	0,02966667	0,02966667	-	-
R 2(1)	<i>S .hominis</i>	0,02333333	0,05733333	0,05733333	-	-
O5	<i>S .xylosus</i>	0,05666667	0,02733333	0,02733333	+	-
S186	<i>S .hominis</i>	0,06133333	0,082	0,082	-	-
S187	<i>S .hominis</i>	0,09766667	0,12333333	0,12333333	+	-

S188	<i>S .hominis</i>	0,02	0,035	0,035	-	-
S189	<i>S .hominis</i>	0,029	0,02966667	0,02966667	-	-
S190	<i>S .hominis</i>	0,02333333	0,02633333	0,02633333	-	-
S191	<i>S .hominis</i>	0,02333333	0,05733333	0,05733333	+	-
S192	<i>S .hominis</i>	0,05666667	0,02733333	0,02733333	-	-
S194	<i>S .hominis</i>	0,05666667	0,02733333	0,02733333	-	-
S195	<i>S .hominis</i>	0,03	0,059	0,059	-	-
S196	<i>S .hominis</i>	0,12133333	0,137	0,137	+	-
S197	<i>S .haemolyticus</i>	0,02	0,035	0,035	+	-
S198	<i>S .haemolyticus</i>	0,06133333	0,082	0,082	-	-
S199	<i>S .haemolyticus</i>	0,029	0,02966667	0,02966667	-	-
S200	<i>S .haemolyticus</i>	0,10333333	0,09333333	0,09333333	+	-

ملخص: العنقوديات مكون طبيعي لميكروفلورا الجلد والأغشية المخاطية، هي الأنواع الأكثر شيوعاً في التهابات المسالك البولية المرتبطة بالقسطرة البولية. قدراتها على الانضمام إلى سطح مواد حيوية وتشكيل بيوفيلم في وقت لاحق مقاوم للمضادات الحيوية والجهاز المناعي هي عوامل الخطر الرئيسية لهذه البكتيريا. تم عزل ما بين نوع من العنقوديات عن القسطرة البولية في مستشفى جامعة تلمسان مع غلبة أنواع البكتيريا الكروية العنقودية الجلدية *Staphylococcus epidermidis* 28% تليها البكتيريا الكروية العنقودية الذهبية 22%. أظهرت دراسة مقاومة المضادات الحيوية مقاومة كبيرة للمضادات الحيوية من نوع البيتا لاكتام. دراسة بيوفيلم أظهرت أن أكثر من نصف السلالات تنتج نسيج خارج الخلية بواسطة تقنية RCA، 49,5% من السلالات تتشكل بيوفيلم بواسطة تقنية TCP. 8% من سلالات تشكيل بيوفيلم بواسطة تقنية TM. من بين السلالات المختارة للدراسة الجزيئية 38% حمل الجينات *icaA/icaD* و 29,5% من السلالات وجدت إيجابية لواحد أو أكثر من الجينات السمية. مما يدل على خبث سلالات العنقوديات في التهابات المسالك البولية المرتبطة بالقسطرة البولية.

Titre :Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen

Résumé : Les staphylocoques constituant normaux de la microflore cutanée et muqueuse sont les espèces les plus fréquemment isolées d'infections liées aux sondages urinaires. Leurs capacités à adhérer à la surface des biomatériaux et par la suite la formation de biofilm résistant aux antibiotiques et au système immunitaire sont les principaux facteurs de virulence de ces espèces. 200 souches de staphylocoques ont été isolées de sondes urinaire au CHU de Tlemcen avec prédominance de l'espèce *Staphylococcus epidermidis* 28% suivie de *Staphylococcus aureus* 22%. L'étude de l'antibiorésistance a montré une importante résistance aux B-lactamine. Les études d'adhésion bactérienne et de formation du biofilm ont révélé que plus de la moitié des souches produisaient un slime bactérien par la technique du rouge congo 55,5%, 49,5 % d'entre elles étaient fortement formatrice de biofilm par la technique TCP aditionée de sucre. 8,5% de souches ont formé un biofilm par la technique TM. Parmi les 44 souches retenues pour l'étude moléculaire 38% présentaient les gènes *icaA /icaD* responsables de la synthèse du polysaccharide (PIA) et 29,5% étaient positives pour un ou plusieurs gènes toxiques démontrant ainsi la virulence des souches de staphylocoques responsables d'infections sur sondes.

Title: Charaterization and evaluation of biofilm formation in *Staphylococcus* spp isolated from urinary catheters from hospitalised patients at the UHC of Tlemcen.

Summary: Staphylococci normal constituent of the skin and mucosal microflora are the species most frequently isolated from infections related to urinary catheter, their capacities to adhere to the surface of biomaterials and later the formation of biofilm resistant to antibiotics and the immune system are the main virulence factors of these species. 200 strains of staphylococci were isolated from urinary catheter at the University Hospital of Tlemcen with a predominance of *Staphylococcus epidermidis* species (28%) followed by *Staphylococcus aureus* 22%. The study of antibiotic resistance showed significant resistance to B-lactam antibiotics. Studies of bacterial adhesion and biofilm formation revealed that the majority of strains produced a bacterial slime by RCA technique (55.5%), 49, 5% of the strains formed biofilm by the TCP technical and 8.5% of strains were biofilm formed by the TM technique. Among the 44 strains selected for molecular study 38% present *icaA/ IcaD* genes responsible for the synthesis of polysaccharide (PIA) and 29.5% were found to be positive for toxin genes which demonstrate the virulence of staphylococci responsible for catheter urinary tract infection.