

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

Université de Blida 1



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie

Mémoire de fin d'étude

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

Option : Microbiologie

Sous le thème

**Etude de la résistance à la méticilline chez les
souches de staphylocoques à coagulase négative**

Soutenu le : 13/07/2023

Réalisé par :

- **Mme MOULOUE** Maroua
- **Mr BENTOUATI** Aymen

Devant le jury :

Mme BOKRETA S.	MCB	Université Blida-1	Présidente
Mme ZEROUTI K.	MCB	Université Blida-1	Examinatrice
Mme HAMAI DI F.	Pr	Université Blida-1	Promotrice
Mme OUAHCHIA C.	MCB	Université Blida-1	Co-promotrice

Promotion : 2022-2023

Remerciements

Tout d'abord, on remercie Allah, le tout puissant, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de Master et de pouvoir réaliser ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble du membre
de jury :

Nous tenons à gratifier

Mme BOKRETA S

D'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire

Nous adressons nos vifs remerciements à

Mme ZEROUTI K

Pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de le juger

Nos remerciements également à notre

Promotrice **Pr. HAMAIDI** et notre Co-promotrice **Mme OUAHCHIA**

Pour leur encadrement, orientation et pour la confiance qu'elles nous ont témoigné tout au long de ce travail

Nous souhaitons tout particulièrement remercier beaucoup

Mr. TEFAHI

Pour son aide et son soutien tout au long la durée de stage

Nous remercions énormément

Les doctorants **Mr. BOUTEKFA**, **Mme HENNI**, **Mr. HAMMADOUCHE**, et **Mr. SEBSI**

Enfin, nous adressons nos sincères sentiments de gratitude et de reconnaissance à nos familles et à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dedication

From the depth of my heart, I wanna dedicate this work

*To my **Mom** and **Dad***

for giving me the best support and motivation the whole of my life

To the love of my life, the best friend I ever had, my back and my everything

*My husband **Rostom AOUADA** for helping me a lot in this project*

*To my friends **Sara, Raounak, Zino, Iness** and **Imane** for giving me the best
moment in my life*

Last but not least, I thank all those who have participated in this project

Maroua mld

Dédicace

Je dédie ce modeste travail

A ma chère mère

*Ma mère, ta présence dans ma vie est la plus grande bénédiction de Dieu.
Ma mère est mon paradis. Que Dieu prolonge ta vie et te garde en bonne
santé.*

A mon cher père

*Tu es mon soutien et que je suis fier de t'avoir comme père. Tu m'as appris le
sens de la virilité et de la responsabilité. Que Dieu prolonge ta vie avec santé
et bien-être.*

A mon cher frère et ma chère sœur

*Qui m'ont toujours encouragé **et** soutenu pendant mes études*

Aux petites princesses Maram, Reham et Melissa

A mes amis

A mon binôme Maroua

A toute la promotion de la microbiologie 2022/2023

MERCI

Liste des Tableaux

Tableau I :	Caractères biochimiques d'identification des SCN	5
Tableau II:	Mécanismes de résistance des SCN aux antibiotiques	8
Tableau III:	Nombre de prélèvement par sites	10
Tableau IV:	La répartition des prélèvements positifs selon les services	22
Tableau V:	Répartition des souches de l'environnement hospitalier selon les services	23
Tableau VI:	La répartition selon les travaux de Saouide et el ayne et al., (2014).....	23
Tableau VII:	Nombre de souches suspectées isolées sur Chapman selon le prélèvement	26
Tableau VIII:	Résultats des tests de catalase et oxydase	30
Tableau IX:	La répartition des SCN selon les sites de prélèvements.	32
Tableau X:	Résultats de la méthode RCA selon le prélèvement	39
Tableau XI:	Résultats de TCP des SCN isolées à partir du milieu hospitalier	40
Tableau XII:	Résultats de TCP des SCN isolées à partir de pus.....	41
Tableau XIII:	Répartition des SCN formatrices du biofilm selon les sites de prélèvements	41
Tableau XIV:	Distribution des isolats de SCN en fonction des espèces	43
Tableau XV:	La répartition des espèces selon les sites de prélèvement	44

Liste des Figures

Figure 1 : Etapes de formation de biofilm chez <i>S.epidermidis</i>	7
Figure 2 : Prélèvement de pus.....	11
Figure 3 : Les étapes d'identification des SCN.....	12
Figure 4 : Enrichissement sur TSB.....	13
Figure 5 : L'antibiogramme d'une souche de SCN après l'incubation.....	15
Figure 6 : CMI de la vancomycine en milieu liquide dans une microplaque.....	17
Figure 7 : Le test de résistance inductible à la clindamycine.....	17
Figure 8 : L'étude de la recherche de ma résistance à la méticilline.....	18
Figure 9 : Etapes de la méthode TCP.....	20
Figure 10 : Taux de prélèvements de pus positifs.....	24
Figure 11 : Répartition des résultats de pus selon le type de culture.....	26
Figure 12 : Aspect macroscopique des colonies de <i>staphylococcus</i> sur milieu Chapman.....	27
Figure 13 : Aspect macroscopique des SCN sur gélose nutritive et sur la gélose au sang.....	28
Figure 14 : Aspect macroscopique de staphylocoques sur milieu Baird Parker.....	28
Figure 15 : Observation microscopique à l'état frais.....	29
Figure 16 : Observation microscopique des staphylocoques après coloration de Gram.....	29
Figure 17 : Résultats de test de coagulase.....	31
Figure 18 : Résultat du test de coagulase selon le prélèvement.....	31
Figure 19 : Zones d'inhibition d'une souche de SCN à quelques antibiotiques.....	33
Figure 20 : Zones d'inhibition d'une souche de SCN isolée à partir du milieu hospitalier.....	34
Figure 21 : Pourcentage des résultats d'antibiogramme des SCN isolées à partir du milieu hospitalier.....	34
Figure 22 : Pourcentage des résultats d'antibiogramme des SCN isolées à partir de pus.....	35
Figure 23 : Résultats de la CMI d'une SCN après incubation.....	37
Figure 24 : Résultats du test de la détection de la résistance inductible à la CLI.....	37
Figure 25 : Les résultats de screening test.....	38
Figure 26 : Résultats de RCA.....	39

Liste des Abréviations

AB	Absence de biofilm
ADH	Arginine déshydrogénase
AK	Amikacine
ATB	Antibiotique
ATCC	American Type Culture Collection
BHIB	Bouillon coeur-cervelle
BM	Biofilm modéré
C	Chloramphénicol
CIP	Ciprofloxacine
CLI	Clindamycine
CMI	Concentration minimal inhibitrice
Coa	Coagulase
CX	Céfoxitine
D.O	Densité optique
DA	Clindamycine
Dot	Densité optique de témoin
E	Erythromycine
E.P.H	Etablissement Public Hospitalier
FB	Fort biofilm
FC	Acide fusidique
FOX	Céfoxitine
GC	Guanine Cytosine
GEN	Gentamicine
LEVO	Levofloxacine
MF	Mac Farland
MH	Mueller Hinton
NIT	Nitrate réductase
OFX	Ofloxacine
OXA	Oxacilline
P	Penicilline
PIA	Adhésine intercellulaire polysaccharidique
PLP	Protéine liant la pénicilline
PLP2a	Protéine liant la pénicilline chez les souches de staphylocoques
RCA	Rouge Congo Agar
RP	Pristinamycine
SCN	Staphylocoque à coagulase négative
SXT	Triméthoprim / sulfaméthoxazole
T.O.T	Transplantation des Organes et des Tissus
TCP	Plaque de Culture Tissulaire
TE	Tétracycline
TSB	Trypticase de Soja broth
TSBG	TSB additionné avec du Glucose
TSBS	TSB additionnée avec de Saccharose
VA	Vancomycine
VP	Voges-Proskauer

Résumé

Considérés comme des commensaux avirulents, les Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN) sont actuellement reconnus comme agents pathogènes opportunistes possédant une résistance aux antibiotiques et de formation de biofilms qui peut augmenter leur virulence. Cette étude prospective consiste à isoler, identifier, évaluer le profil de résistance aux antibiotiques et à étudier la formation du biofilm des SCN prélevées à partir du milieu hospitalier et de pus par l'utilisation de la méthode rouge congo et la méthode de plaque de culture de tissu.

Deux cent (200) échantillons de l'environnement hospitalier et cinquante (50) prélèvements de pus provenant d'E.h.s T.o.t. et de l'EPH(Blida) ont été prélevés. Analysés au niveau du laboratoire d'hygiène de Blida, les prélèvements étaient positifs avec un taux de 99% pour le milieu hospitalier et 54% pour le pus.

L'étude bactériologique des prélèvements a donnée 100 SCN isolées à partir du milieu hospitalier et 10 SCN de pus.

L'étude du profil de résistance a montré que les souches de SCN étaient résistantes à la majorité des antibiotiques.

L'évaluation de la formation du biofilm a été faite par deux méthodes :

La méthode Rouge Congo qui a révélé que 82 des SCN du milieu hospitalier et 6 SCN de pus sont formatrices du biofilm.

La méthode de plaque de culture de tissus a donné des résultats différents (fort biofilm, modéré ou son absence) selon le milieu de culture (TSB, TSBG, TSBS) et selon le prélèvement. Elle a aussi démontré qu'après l'addition de sucre dans le milieu d'enrichissement favoriserait la production du biofilm.

Mots clés : Milieu hospitalier, Pus, SCN, Antibiorésistance, Biofilm, Méthode Rouge Congo, méthode de plaque de culture de tissus.

Abstract

Considered as commensal avirulents, Coagulase Negative Staphylococci (CoNS) are currently recognized as opportunistic pathogens possessing antibiotic resistance and biofilm formation that can increase their virulence. This prospective study consists of isolating, identifying, evaluating the resistance profile and studying the biofilm formation of CoNS collected from the hospital environment and pus.

Two hundred (200) samples from the hospital environment and fifty (50) pus samples from E.h.s T.o.t. and EPH (Blida) were collected. Analyzed at the Blida hygiene laboratory, the samples were positive with a rate of 99% for the hospital environment and 54% for pus.

The bacteriological study of the samples gave 100 isolated CoNS from the hospital environment and 10 pus CoNS.

The resistance profile study showed that CoNS strains were resistant to the majority of antibiotics.

The evaluation of biofilm formation was carried out by two methods:

The Red Congo method that revealed that 82 of the hospital NSCs and 6 pus CoNS provoke the formation of biofilm.

The tissue culture plate method yielded different results (strong biofilm, moderate biofilm or absent of biofilm) depending on the culture medium (TSB, TSBG, TSBS) and the sampling. It also demonstrated that after the addition of sugar to the enrichment medium would favour the production of the biofilm.

Keywords: Hospital environment, Pus, CoNS, Antibiotic resistance, Biofilm, Congo Red Method, tissue culture plate method.

ملخص

كمولدات ممرضة انتهازية المكورات العنقودية ذات الخثارة السلبية SCN تعرف حاليا على أنها من مسببات الأمراض الانتهازية تمتلك مقاومة للمضادات الحيوية وتكوين الأغشية الحيوية التي يمكن أن تزيد من ضراوتها. تتكون هذه الدراسة المستقبلية من عزل وتحديد وتقييم ملف المقاومة ودراسة تكوين الأغشية الحيوية لـ SCN التي تم جمعها من بيئة المستشفى والقيح. بإستخدام طريقة الكونغو الأحمر و طريقة صفيحة زراعة الأنسجة.

مائتان (200) عينة من بيئة المستشفى وخمسون (50) عينة من القيح من E.h.s T.o.t و EPH (البليدة). تم تحليل العينات بمختبر النظافة في البليدة وكانت إيجابية بنسبة 99% لبيئة المستشفى و 54% للقيح.

أعطت الدراسة البكتريولوجية للعينات SCN 100 معزولة من بيئة المستشفى و SCN 50 من القيح. أظهرت دراسة مقاومة البكتيريا أن سلالات SCN كانت مقاومة لغالبية المضادات الحيوية. تم تقييم تكوين الغشاء الحيوي الرقيق بطريقتين : طريقة الكونغو الأحمر 82 من SCN التي تم عزلها من بيئة المستشفى و SCN 6 معزولة من القيح منتجة للغشاء الحيوي.

أعطت طريقة لوحة زراعة الأنسجة نتائج مختلفة (قوية ، متوسطة أو بدون غشاء حيوي) اعتمادًا على الوسط (TSB ، TSBG ، TSBS) و العينة. وأوضحت أيضًا أنه بعد إضافة السكر في وسط التخصيب ، سيؤدي ذلك إلى تحسين إنتاج الأغشية الحيوية.

الكلمات الرئيسية: SCN، بيئة المستشفى، القيح، RCA، TCP،

TABLE DES MATIERES

Remerciements

Dédicaces

Liste des Tableaux

Liste des Figures

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction.....1

Synthèse bibliographique

I. MICROORGANISMES DE L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER 2

II. GENERALITES SUR LES STAPHYLOCOQUES A COAGULASE NEGATIVE (SCN.... 2

Classification 3

Habitat..... 4

Transmission 4

Caractères bactériologiques..... 4

Caractères morphologiques 4

Caractères cultureux..... 4

Caractères biochimiques et métaboliques des SCN 5

Facteurs de virulence des SCN 5

Toxines..... 5

Enzymes 6

Capsule polysaccharidique 6

III. FORMATION DU BIOFILM CHEZ LES SCN 6

IV. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES..... 7

Mécanismes de résistance 8

Résistance aux antibiotiques des SCN..... 8

Partie expérimentale

I. MATERIEL ET METHODES 9

Matériel 9

Méthodes expérimentales 9

Types de prélèvements 9

Méthodes de prélèvements 9

Méthodologie de diagnostic 10

Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	15
Etude de la formation du biofilm	19
Identification biochimique par Galerie API –STAPH.....	20
II. RESULTATS ET DISCUSSION	22
Répartition des résultats selon les sites de prélèvements	22
Environnement hospitalier.....	22
Répartition des souches selon les services	23
Prélèvements de Pus	24
Répartition des prélèvements selon le type de culture	25
Etude bactériologique des souches	26
Examen macroscopique des souches.....	26
Etude microscopique des souches.....	29
Tests d'orientations	30
Tests de catalase et d'oxydase	30
Test de la coagulase	31
Profil de l'antibiorésistance.....	33
Antibiogramme	33
Détermination de la CMI.....	36
Tests complémentaires.....	37
Etude de la formation du biofilm.....	39
Méthode RCA.....	39
Méthode TCP.....	40
Résultats de l'identification biochimique	42
Conclusion	45
Références bibliographiques	
Annexes	

INTRODUCTION

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un enjeu de santé publique majeur. Elle est en augmentation depuis plusieurs décennies, engendrant des difficultés à traiter les patients. Elle entraîne une augmentation de la durée des soins et de la morbidité associée aux infections et peut remettre en cause le pronostic vital. Chaque année dans le monde, meurent plus de 24% des patients d'une septicémie d'origine nosocomiale et 52,3% des patients soignés en unité desoins intensifs (OMS, 2022).

Les Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN) font partie de la flore microbienne normale la plus fréquente de la peau et des muqueuses humaines (Shrestha *et al.*, 2017). Ces bactéries, longtemps considérées comme des contaminants, sont actuellement reconnues comme de véritables pathogènes dans les infections nosocomiales comme *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. saprophyticus* (Mandell *et al.*, 2000 ; Murray *et al.*, 2003). Ces bactéries produisent de multiples toxines agissent comme des facteurs de virulence, conduisant à des manifestations cliniques spécifiques (Argemi *et al.*, 2019).

D'autres mécanismes peuvent être mis en cause dans la diminution de l'efficacité du traitement antibiotique, comme la formation d'un biofilm, qui est défini comme une population de bactéries enfermées dans une matrice auto productrice, il est considéré comme un facteur important dans la persistance des infections à SCN (Tremblay *et al.*, 2013).

Il facilite l'adhésion et la colonisation des SCN sur les dispositifs médicaux et offre des avantages de survie en rendant les cellules moins accessibles au système de défense de l'hôte et aussi en altérant l'action des antibiotiques (Soumya *et al.*, 2017).

La résistance aux antibiotiques dans les SCN varie entre les espèces et les pays en raison de l'usage abusif ou excessif des antibiotiques pour la prophylaxie et pour le traitement (Al Tayyar *et al.*, 2015 ; El Kholy *et al.*, 2003).

Les SCN possèdent des gènes de résistance à la méthicilline et à d'autres antibiotiques (Soumya *et al.*, 2017).

Dans cette étude qui s'insère dans la thématique de 'l'équipe 2' du laboratoire Biotechnologies, Environnement et santé, nous nous sommes intéressés à rechercher, isoler, identifier, étudier le profil de résistance et évaluer la capacité de la formation de biofilm par les SCN à partir des échantillons provenant de différents sites de prélèvement de l'environnement et le pied diabétique appartenant aux différents services de l'hôpital de E.h.s T.o.t. Blida et de l'EPH de Blida (Faubourg).

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

I. MICROORGANISMES DE L'ENVIRONNEMENT HOSPITALIER

Le milieu hospitalier est un lieu contenant un grand nombre de microorganismes d'origine humaine et environnementale. On retrouve entre autre des bactéries, levures, moisissures, virus et parasites. Ils peuvent se définir comme étant des agents pathogènes obligatoires, occasionnels ou opportunistes. Par exemple un *Staphylococcus epidermidis* de la peau peut infecter une blessure ou une plaie (**Zenati et Belhadi, 2019**).

Cette contamination varie qualitativement et quantitativement dans le temps et d'un établissement à un autre. Au sein du même établissement, elle varie en fonction des services, des patients, des soins et des techniques pratiquées. La variation de la fréquence de contamination de l'environnement hospitalier peut résulter également de la différence entre les méthodes d'échantillonnage et de culture, des différents taux de contamination pendant les épidémies et des différences dans les pratiques de nettoyage et de désinfection.

L'origine principale de ces infections dites nosocomiales est :

- D'une part, le manque de pratiques d'hygiène, cause majeure de transmission des bactéries,
- Et d'autre part, les progrès de la médecine et de la chirurgie avec par exemple des soins thérapeutiques de plus en plus agressifs (**Chibi, 2015**).

Les staphylocoques à coagulase négative compte parmi les micro-organismes qu'on retrouve le plus fréquemment dans l'environnement hospitalier et les élevages animaliers (**Zlatian et al., 2018**).

II. GENERALITES SUR LES STAPHYLOCOQUES A COAGULASE NEGATIVE (SCN)

En effet, les SCN sont parmi les organismes les plus couramment isolés dans les laboratoires de microbiologie clinique et sont fréquemment isolés du sang, d'autres fluides corporels généralement stériles, des cathéters intraveineux, du liquide de dialyse péritonéale et de divers tissus (**Pfaller et Herwaldt, 1988**).

De nombreuses souches de staphylocoques ont la capacité de produire des biofilms, ce qui leur permet d'adhérer plus facilement aux équipements médicaux. Ils sont responsables de la grande majorité des infections causées par les biofilms (**Poly, 2007**).

Dans certaines circonstances, ils sont potentiellement pathogènes, principalement dans les implants à corps étrangers et/ou immunodéprimés (**Bali et Djebbas, 2015**). Parmi les espèces les plus impliquées dans les infections sont :

- *S. aureus*, le plus pathogène, *S. epidermidis*, souvent considéré comme un opportuniste et *S. saprophyticus*, responsable d'infections urinaires chez la femme jeune (**Bakhoun et Ndeye, 2004**).
- Et à fréquence moindre, on retrouve les *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*, et *S. auricularis* (**Curie, 2003**).

Selon une étude du National Nosocomial Infections Surveillance (1998), les SCN représentent 9% des bactéries qui causent d'infections nosocomiales, tous sites confondus. Ils sont également responsables de 4% des infections urinaires d'origine nosocomiales.

S. epidermidis est un type de germe qui peut provoquer des infections dans différentes parties du corps, comme les infections du shunt ventriculo-péritonéal, les infections des cathéters de dialyse péritonéale et les infections des prothèses valvulaires cardiaques. Dans certains cas, on peut même le retrouver chez près de la moitié des personnes atteintes d'infections urinaires (36% à 48% des cas). Cette bactérie est particulièrement fréquente chez les patients hospitalisés et/ou les patients utilisant des cathéters vésicaux (**Bakini et Nigri, 2014**). *S. hemolyticus* est le deuxième SCN le plus couramment isolé. Cette bactérie est plus fréquemment associée à une endocardite valvulaire native, une bactériémie, une péritonite et une infection du cathéter veineux central et représente 1,5 % des IU et 7,2 % à 22 % des IU SCN (**Herard et al., 1998**).

Classification

Selon Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les *Staphylocoques* sont classées parmi les bactéries à Gram positif pauvre en GC dans le phylum des firmicutes soit 30% à 38%, et ce sur la base de l'analyse du gène codant l'ARN ribosomal 16S.

- Classe : *Bacilli*
- Ordre : *Bacillales*
- Famille : *Staphylococcaceas* (**Bergey, 2011**).

Habitat

Comme évoqué, les SCN sont très fréquentes dans la nature (air, sol et eau), et donc nous entourent. Elles font partie de la flore normale de la peau et des muqueuses des mammifères et oiseaux et constituent une barrière contre les bactéries de la flore transitoire (**Abalain-Colloc, Béraud, Lay-Roguès, 2014**). *S. epidermidis* et *S. hominis* sont les principales espèces vivantes sur l'Homme (**Vallardo et Sata, 1988**).

Transmission

Peu d'informations subsistent sur la propagation des SCN dans le milieu hospitalier et les élevages d'animaux. Cependant les récents travaux mettent en évidence la multi-résistance des SCN, leur capacité à former des biofilms, l'utilisation accrue d'antibiotiques et d'antiseptiques et l'utilisation accrue de dispositifs médicaux invasifs peuvent contribuer à leur propagation et résistance (**Pourakbari et al., 2018 ; McGuinness et al., 2017 ; k Lakhundi et al., 2018**). Leur contribution à une morbidité et une mortalité importante a été reconnue dans les personnes dont le système immunitaire est affaibli telles que les immunodéprimés (**Horner et al., 2012 ; Anderson-Berry et al., 2010**).

Ainsi, les SCN sont considérés comme un réservoir de gènes résistants, mettant en évidence leur menace pour la santé publique.

Caractères bactériologiques

Caractères morphologiques

Les SCN sont des coques "cocci" de 0.5 à 1µm de diamètre, réguliers à Gram positif (**Ananthanarayan et Paniker, 2017**), disposées isolément, par paires ou groupées en amas sous forme de "grappes de raisin". De même, ils sont immobiles, non sporulés, parfois encapsulés, non exigeants, chimioorganotrophes, fermentaires et /ou respiratoires (aéro-anaérobies facultatifs). Également, ils ont une catalase positive et une oxydase négative (**Prescott et al., 2018**).

Caractères culturels

Ils poussent sur des milieux usuels tel que la gélose nutritive (colonies arrondies, semi bombées, luisantes) et des milieux sélectifs comme le milieu CHAPMAN et le milieu BAIRD-PARKER (**Baudry et Brezellec, 2006**), ainsi que sur la gélose au sang

et sur les bouillons nutritifs (trouble homogène très abondant tout le long du tube, avec dépôt sous forme d'une collerette après 48 heures).

Caractères biochimiques et métaboliques des SCN

Les principaux caractères biochimiques sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau I: Caractères biochimiques d'identification des SCN

	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.saprophyticus</i>	<i>S.haemolyticus</i>
Hémolyse(érythrocytes de bœuf)	-/±	-	(+)
Réduction de nitrate	+/±	-	+
Coagulase	-	-	+
Fructose	+	-	-/+
Galactose	(+)	-	V
Mannose	(+)	-	+
Saccharose	+	+	+
Mannitol	-	+	+/-

(Verdier et al., 2015).

Légende : + positif ; ± faible ; - : négatif ; V : variable ;

ces signes indiquent une fréquence de 90 à 100 p.100 ; entre () ils indiquent une fréquence de 70 à 89 p.100 .

Le principal critère de leur classification est la production de coagulase. On distingue ainsi trois espèces productrices de coagulase: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermidis*, et *Staphylococcus hyicus* (Bali et Djebbas, 2015).

Facteurs de virulence des SCN

Toxines

Des études in vitro ont montré que *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* et *S. haemolyticus* peuvent produire des toxines delta (Herard et al., 1998).

Cette toxine est codée par le gène hld situé au locus régulateur agr. La delta-toxine provoque la lyse des globules rouges en formant des pores dans la membrane plasmique (Vuong et Otto, 2002).

Enzymes

Par définition, les SCN ne fabriquent pas de coagulase. Ils produisent la lipase leur permettant d'envahir et de pénétrer les glandes sébacées de la peau, la fibrinolysine et de nombreuses protéases probablement et de survivre dans l'environnement où ils vivent (**Herard et al., 1998**).

Capsule polysaccharidique

Les polysaccharides à la surface des SCN sont certainement des facteurs de virulence majeurs impliqués dans l'attachement et l'adhérence ou la persistance des bactéries sur des matériaux étrangers (**Huebner et Goldmann, 1999**).

III. FORMATION DE BIOFILM CHEZ LES SCN

La capacité à former des biofilms est le facteur de virulence le plus important chez les SCN, contribuant à son adhésion et à la colonisation de matériaux artificiels (**Zatout, Djibaoui et al., 2020**).

Mack et al., (1994) ont proposé un modèle de formation de biofilm en deux phases chez les staphylocoques : l'attachement initial et l'accumulation (**Figure 01**).

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 (**Kara Terki, 2014**).

Le détachement des biofilms est essentiel pour la propagation des bactéries vers d'autres sites de colonisation. Plusieurs facteurs peuvent provoquer une dissociation, des forces mécaniques (par exemple, la circulation dans les vaisseaux sanguins), l'arrêt de la production de matériaux de construction de biofilms (par exemple, des exopolysaccharides) et l'importance des facteurs de dissociation dans des conditions strictes, telles que les enzymes destructrices de matrice ou les tensioactifs. (**shrestha et Bhattarai, 2017; Ahmed et al., 2016**).

En fait, le détachement contrôlé maintient une certaine épaisseur de biofilm et régit un taux spécifique de dissémination du biofilm. Pour les staphylocoques, ce mécanisme est contrôlé par le système de détection du quorum *agr* (**Otto, 2008**).

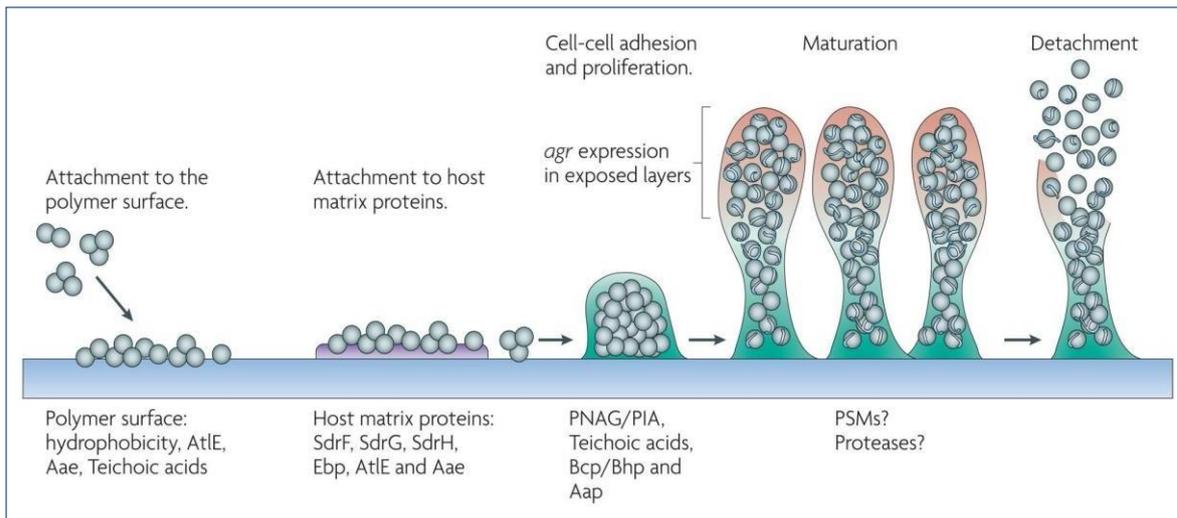


Figure 01 : Etapes de formation de biofilm chez *S. epidermidis* (Otto, 2009).

Les SCN sont responsables de la grande majorité des infections causées par les biofilms et peuvent rendre ces infections encore plus difficiles à traiter et nécessitent un remplacement plus fréquent des implants médicaux (Leisse Iyamba, 2012).

Le quorum sensing régule la physiologie du biofilm en modulant la taille des populations de biofilm. Il joue également un rôle dans la détermination de l'épaisseur du biofilm. Il peut inhiber ou stimuler l'expression de certaines propriétés comme la motilité ou certains facteurs de virulence extracellulaire comme les protéases (Pecastaings, 2010; Chalvet de Rochemonteix, 2009).

Les deux méthodes phénotypiques courantes pour détecter la formation de biofilms, la plaque de culture tissulaire (TCP) et la gélose rouge Congo (RCA), ont été développées respectivement par (Christensen et al., 1985; Freeman et al., 1989).

IV. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

La résistance aux antibiotiques se produit par des gènes présents sur les chromosomes (résistance chromosomique) ou dans des éléments mobiles tels que les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (résistance extrachromosomique). La résistance des bactéries peut être naturelle ou acquise (Carle, 2009).

Mécanismes de résistance

Il existe quatre mécanismes principaux par lesquels les microorganismes développent de la résistance aux antibiotiques :

- **Inhibition enzymatique** qui cause la production d'enzymes qui inactivent ou détruisent les antibiotiques. C'est le mécanisme de résistance le plus courant.
- **Réduction de la perméabilité cellulaire** par la modification de la perméabilité de la paroi ou de la membrane bactérienne qui empêche l'antibiotique d'atteindre sa cible.
- **Altération des sites de liaison ciblés par ATB** qui se fait par la baisse de l'affinité de l'antibiotique pour son site d'action.
- **Résistance par efflux**, cette résistance se fait par le rejet des antibiotiques à l'extérieur de la cellule par des pompes énergie dépendante (Carle, 2009).

Résistance aux antibiotiques des SCN

La résistance des SCN est comparable à celle observée chez les *S. aureus*. Notamment, les SCN résistent mieux aux antibiotiques que les germes *S. aureus*, particulièrement chez les *S. epidermidis* et *S. haemolyticus*, qui provoquent fréquemment des infections nosocomiales (Jidar, 2007).

Tableau II: Mécanismes de résistance des SCN aux antibiotiques.

Antibiotiques	Mécanismes de résistance
Les bêta-lactamines	Une production d'enzymes (pénicillinases) ou par modification de la cible PLP.
Les aminosides	La Production des enzymes à partir d'un plasmide R. Ces enzymes sont de trois catégories : les phosphotransférases, les adényltransférases et les acétyltransférases
Les glycopeptides	Épaississement des parois bactériennes qui emprisonnent les glycopeptides dans la couche superficielle, les empêchant d'atteindre la membrane plasmique où le peptidoglycane est synthétisé
Les macrolides, lincomycines, streptogramines (MLS)	Modification de la cible
Les tetracyclines	Sécrétion d'une protéine qui empêche la pénétration intrabactérienne de l'antibiotique.
Les fluoroquinolones	Une modification de la cible.

(Merlet, 2010; Tchougoune, 2007 et Corne,2004)

PARTIE
EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

I. MATERIEL ET METHODES

Cette étude prospective a été réalisée au niveau du **laboratoire d'hygiène de Blida** durant la période de février à juin 2023. S'agissant des prélèvements du milieu hospitalier, ils ont été effectués à l'**E.h.s T.O.T. de Blida**, au niveau des services chirurgie vasculaire, néphrologie et urologie. Quant aux échantillons de pus, ils ont été prélevés à l'**EPH de Blida** (Faubourg).

Matériel

- **Matériel non biologique** est détaillé dans l'**Annexe I**.
- **Matériel biologique** est composé des prélèvements de la souche de référence (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) et du plasma humain utilisés dans le test de coagulase (**Annexe II**).

Méthodes expérimentales

Types de prélèvements

On a prélevé 250 échantillons répartis comme suit : 200 prélèvements à partir des surfaces et instruments hospitaliers et 50 échantillons de pus (**Tableau III**). Les prélèvements ont été réalisés par écouvillonnage.

Concernant le pus, les échantillons des patients étaient accompagnés de fiches de renseignement (Nom, prénom, âge, sexe, service d'hospitalisation, nature de prélèvement et l'antibiothérapie).

Méthodes de prélèvements

Prélèvement de l'environnement hospitalier

- On humidifie l'extrémité d'un écouvillon stérile avec le bouillon d'enrichissement TSB (Trypticase Soja).
- On essuie une surface par cet écouvillon en traçant des stries parallèles.
- Ensuite, on l'incube à 37°C pendant 24h.

Prélèvement de pus (Figure 2)

- On nettoie la plaie avec une gaze stérile imbibée avec de l'eau physiologique.
- Puis, on passe un écouvillon stérile sur la surface, en faisant des mouvements.
- Pour conclure, on met l'écouvillon dans un tube contenant le TSB.

Tableau III : Nombre des prélèvements par sites

Lieu de prélèvement	Sites de prélèvements	Nbr. Prélèv.	Nbr. Total de prélèvements
S. Diabétologie	Pus	50	50
Service de chirurgie Vasculaire	Potence	6	59
	Table de coin	9	
	Lit	16	
	Poignet / porte	10	
	Armoire	4	
	Sanitaires	5	
	Chariot (table à manger)	9	
Service de néphrologie	Potence	9	65
	Table de coin	11	
	Lit	11	
	Poignet / porte	11	
	Armoire	4	
	Sanitaires	8	
	Chariot (table à manger)	11	
Service d'urologie	Potence	8	44
	Table de coin	5	
	Lit	8	
	Poignet / porte	5	
	Armoire	3	
	Sanitaires	6	
	Chariot (table à manger)	9	
Bloc opératoire	Masque respiratoire	6	32
	Table opératoire	4	
	Potence	3	
	Respirateur électrique	4	
	Interrupteurs	5	
	Scialytiques	4	
	Scopes	6	
Nbr. Total de prélèvements			200

Méthodologie de diagnostic

On a fait subir aux deux types de prélèvements les mêmes étapes d'identifications, illustrées par la **Figure 3**. Sachant que sur les prélèvements environnementaux on réalise une étape d'enrichissement de plus préalablement à l'examen macro-microscopique.



Figure 2 : Prélèvements de pus (Photos originales, 2023).

Prélèvement de l'environnement hospitalier

On observe pour le:

- **Pus :**
 - **La couleur:** elle peut être jaune, brun, vert, gris ou bleue (selon le germe pyogène).
 - **La consistance:** elle peut aller d'une substance liquide opaque jusqu'une matière épaisse et visqueuse.
 - **L'odeur:** fétide.
- **Milieu hospitalier (après l'enrichissement (Figure 4)) :**
 - **Limpide :** absence de la culture bactérienne.
 - **Trouble :** présence de la culture bactérienne.

Examen microscopique (Etat frais)

Le but de cette étape est d'observer la présence ou l'absence des bactéries, leur mobilité, leurs morphologies, leurs modes de regroupement, la présence des hématies, des parasites, et des leucocytes (pus) et si le prélèvement est monomicrobien ou polymicrobien (pus).

Cet examen se fait entre lame et lamelle. On effectue l'observation sous microscope optique à Gr:×40.

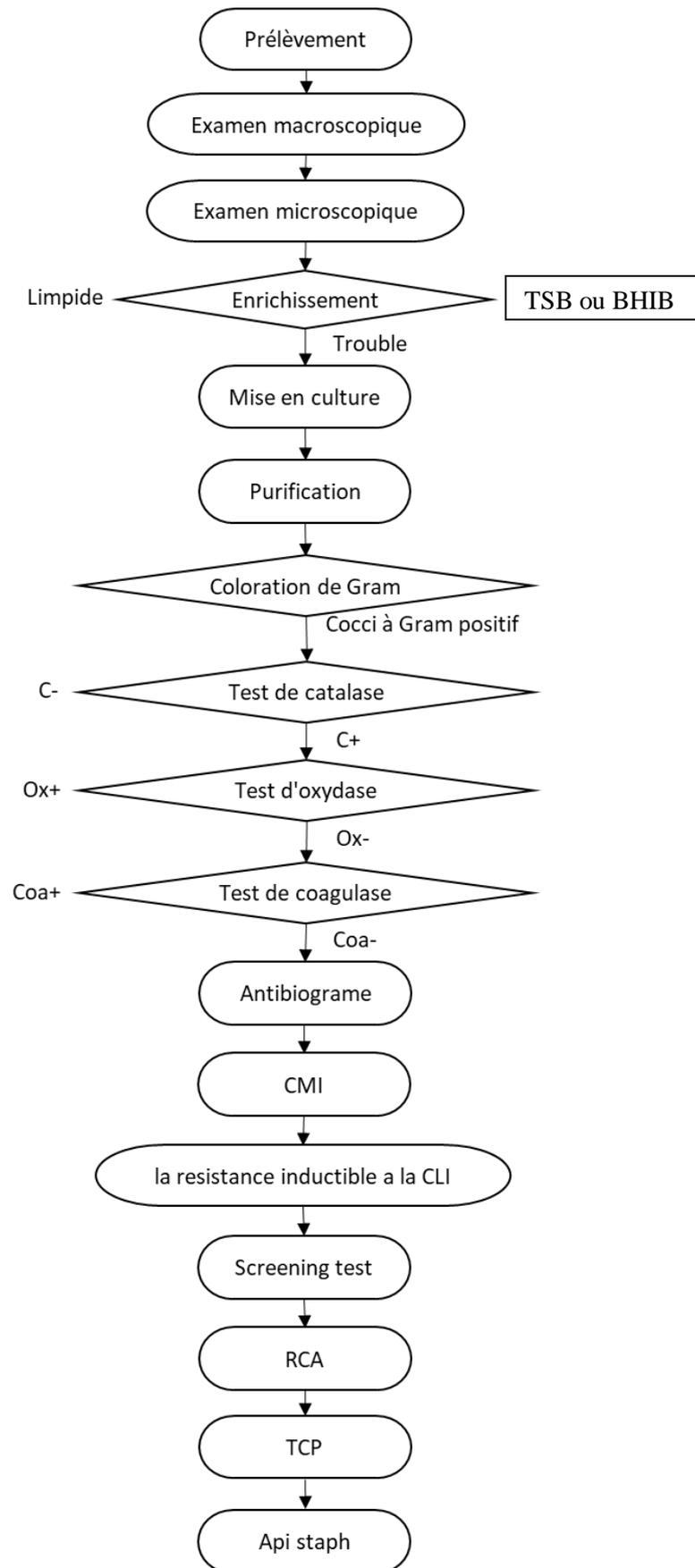


Figure 3 : les étapes d'identification des SCN.

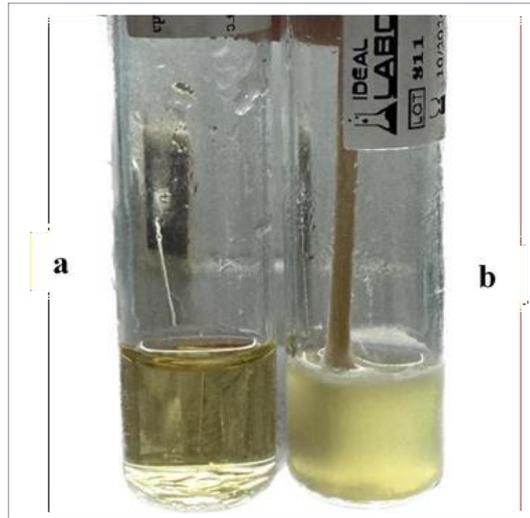


Figure 4 : Enrichissement sur TSB
(a: témoin, limpide / b: échantillon positif, trouble) (Photo originale, 2023)

Etude bactériologique

a) Enrichissement :

On effectue l'enrichissement des prélèvements sur le bouillon de trypticase de soja (TSB) ou le bouillon Brain Heart infusion (BHIB) à 37°C pendant 24h (**Figure 4**).

b) Mise en culture :

Après l'enrichissement, on ensemence les prélèvements à l'aide d'une anse ou une pipette Pasteur stérile par stries selon la méthode de quatre quadrants sur des boîtes de pétries contenant les milieux de cultures (Gélose nutritive, Chapman, Baird Parker, gélose au sang frais) et on laisse incuber dans l'étuve à 37°C pendant 24h.

Sur Chapman, les cultures blanches ou roses, non fermentaires du mannitol (absence de virage de couleur du rouge au jaune) sont suspectées d'être des Staphylocoques à coagulase négative (SCN).

Les colonies pigmentées en jaune dorés; fermentaire du mannitol; sont suspectées d'être des *Staphylococcus aureus*.

Pour les différencier, on met en culture sur milieu Baird Parker :

- *Staphylococcus aureus* est caractérisé par la formation de colonies noires entouré par un halo (éclaircissement du jaune d'œuf).
- Les SCN sont soit inhibés, soit il y a apparition de colonies noires sans éclaircissement.

c) Purification

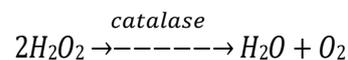
Pour avoir une culture pure présentant les mêmes caractères, on réalise la purification dans les mêmes milieux.

d) Examen microscopique après culture

- Etat frais : Ce test met en évidence la forme, la mobilité et le mode de regroupement.
- Coloration de Gram : (voir **Annexe III**).

Tests d'orientation**a) Test de catalase**

Ce test permet la recherche d'enzymes hydrolysant le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) suivant l'équation suivante :



- Sur une lame stérile, on dépose une goutte d'eau oxygénée. Puis on prend une colonie pure et jeune de notre culture bactérienne avec une pipette Pasteur pour la déposer sur l'eau oxygénée.
- On effectue la lecture par l'observation à l'œil nu de la présence (+) ou l'absence (-) des bulles d'air (O_2).

b) Test d'oxydase

Ce test sert à mettre en évidence la présence ou l'absence d'enzyme de la chaîne respiratoire c.à.d. le cytochrome oxydase.

- Sur une lame stérile, on dépose un disque d'oxydase que l'on humidifie avec l'eau physiologique. Puis à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on prend une colonie bactérienne et on la dépose sur le disque. Si:
 - **Oxydase +** : couleur bleue ou violette (Micrococcus).
 - **Oxydase -** : pas de couleur (Staphylococcus).

c) Test de coagulase

Ce test détecte la production de coagulase capable de polymériser le fibrinogène en fibrine par les bactéries.

- Dans un tube à hémolyse, on mélange 0,5 ml de plasma humain à 0,5 ml d'une suspension bactérienne (bouillon TSB + colonie bactérienne de 18h).

- On laisse incuber à 37°C pendant 5 heures. Durant cette incubation, on effectue une lecture à chaque heure.

Etude de la sensibilité aux antibiotiques

a) Antibiogramme par diffusion de disques

- .

Figure 5 : Antibiogramme d'une souche de SCN après l'incubation (**Photo originale, 2023**).

b) Concentration Minimale Inhibitrice (CMI)

Le disque de la vancomycine sur la SCN donne des diamètres d'inhibition similaires (R/S/I). Afin de savoir l'effet de cette ATB sur ces souches, on utilise la technique de la CMI en milieu liquide selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale CASFM/EUCAST (8^{ème} édition 2020) :

- **Préparation de la solution mère** : On dissout 10,24 mg de la vancomycine dans 1 ml d'eau distillée stérile jusqu'à l'homogénéisation. De cette façon, on obtient une concentration de 1024 µg/ml.
- **Préparation de l'inoculum** : On prépare une suspension bactérienne (eau physiologique stérile + colonies bactériennes des SCN (pures et jeunes) d'une densité de 0,5 MF (10⁸UFC/ml), que l'on dilue à 1/10^{ème}. On obtient ainsi un inoculum de 5.107UFC/ml.
- **L'opération** : On teste sur une microplaque de 96 puits (12 colonnes par 8 lignes) (**Figure 6**). Chaque souche sur une ligne. Le 1er puit représente le Témoin négatif (T-) et le 11^{ème} puit représente le Témoin positif (T+).
- On verse 50 µl du bouillon MH dans chaque cupule. Puis, on réalise à partir de la solution mère, des dilutions semi-logarithmiques pour obtenir des concentrations intermédiaires allant de 512µg/ml à 0,063µg/ml (dilution géométrique).
- A partir de la 2^{ème} cupule, on inocule les puits avec 10 µl de suspension bactérienne jusqu'au 11^{ème} puit (le 12^{ème} puit est le MH témoin).
- Suite à cela, on verse 140 µl du MH liquide dans les puits. On recouvre la plaque avec son couvercle et on laisse incuber à 37°C pendant 24h.
- **Lecture** : la CMI correspond à la 1^{ère} cupule claire. On la compare avec la CMI critique, puis on classe les souches suivant les 3 catégories (R/S/I). Les résultats sont indiqués dans l'**Annexe VI**.



Figure 6 : CMI de la Vancomycine en milieu liquide dans une microplaque (**Photo originale, 2023**).

c) Détection de la résistance inductible à la clindamycine

Figure 7 : Le test de la résistance inductible à la clindamycine (**Photo originale, 2023**).

Etude de la formation du biofilm

a) **Méthode Rouge Congo Agar (RCA)**

b) **Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)**

Figure 9 : Etapes de la méthode de TCP (**Photo original, 2023**).

Identification biochimique par Galerie API –STAPH

Cette galerie comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. On inocule les microtubes avec une suspension bactérienne réalisée à partir d'un API Staph Medium (Biomérieux) qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés révélés par l'addition des réactifs. Ainsi :

- On prépare un inoculum homogène (API Staph Medium + une colonie jeune et pure) d'opacité égale à 0.5MF.
- A l'aide d'une pipette Pasteur stérile, on remplit les tubes de la galerie avec l'inoculum.
- On ajoute l'huile de paraffine dans les tubes d'ADH et URE pour créer une anaérobiose.
- On ferme la galerie avec son couvercle, et on l'incube à 37°C pendant 18h à 24h.

- Après incubation, on ajoute les réactifs suivants :
 - **Test VP:** VP1 et VP2.
 - **Test PAL:** ZYM A et ZYM B.
 - **Test NIT:** NIT 1 et NIT2.
- On laisse passer 10 min et on effectue la lecture à l'aide du tableau de lecture. L'identification se fait par APIWEB™ (**Annexe IV**).

RESULTATS ET DISCUSSION

II. RÉSULTATS ET DISCUSSION

Sur une période de cinq mois, s'étalant du mois de février 2023 jusqu'au mois de juin 2023, nous avons recueilli 250 prélèvements biologiques (200 à partir du milieu hospitalier et 50 échantillons de pus) à partir des surfaces et instruments hospitaliers (environnement hospitalier) issus des services chirurgie vasculaire, néphrologie, urologie bloc opératoire provenant de l'E.h.s T.o.t. Blida et de l'EPH de Blida (Faubourg). Notre échantillon était composé de femmes et d'hommes de différents groupes d'âge.

Répartition des résultats selon les sites de prélèvements

Environnement hospitalier

Sur les 200 prélèvements du milieu hospitalier 198 d'entre eux se sont révélés positif générant un taux de 99%. La répartition de ces résultats par service est comme suit :

Tableau IV : La répartition des prélèvements positifs selon les services

Service	Total échantillons positifs	Ratio
Néphrologie	64	32.32%
Chirurgie vasculaire	59	29.80%
Urologie	44	22.22%
Bloc opératoire	31	15.66%
Tous les services	198	100.00%

On constate que plus des 60% des prélèvements positifs parviennent des services Chirurgie et Néphrologie (à partir des chariots, les lits et les tables coins), reparti pratiquement à parts égales (30%). Des résultats proches ont été obtenus par **Feleke et al.,(2018)**. On effet cette équipe de chercheurs ont constaté que les services de Chirurgie étaient là aussi le contributeur qui présentaient le taux de prévalence le plus élevé 41/173 (23,7%), suivie des services Médical 30/173 (17,3%) et de Gynécologie 28/173 (16,2%).

Nous avons également noté que les services Néphrologie et Chirurgie vasculaire étaient les contributeurs majeurs.

Répartition des souches selon les services

Sur la totalité des précédents 198 prélèvements positifs, nous avons obtenu 170 souches avec un taux de 85,9 %. La répartition de ces souches par service est la suivante :

Tableau V : Répartition des souches de l'environnement hospitalier selon les services

Service	Total Souches	%
Néphrologie	54	31.76%
Chirurgie vasculaire	46	27.06%
Urologie	41	24.12%
Bloc opératoire	29	17.06%
Tous les services	170	100.00%

Nous avons également noté que les services Néphrologie et Chirurgie vasculaire étaient les contributeurs majeurs.

Les résultats obtenus par les travaux de **Saouide el ayne et al.,(2014)** indiquent des taux différents (**Tableau VI**).

Tableau VI : La répartition selon les travaux **Saouide el ayne et al.,(2014)**

Service	Total Souches	Ratio
Réanimation	54	27.69%
Traumatologie	22	11.28%
Urgences	20	10.26%
Bloc opératoire	16	8.21%
Chirurgie vasculaire	16	8.21%
Médecine	16	8.21%
Pneumo-phtisiologie	16	8.21%
Pédiatrie	13	6.67%
Maternité	11	5.64%
Bloc maternité	11	5.64%
Tous les services	195	100.00%

Ces auteurs ont constaté que le service Chirurgie vasculaire est loin d'être le principal contributeur avec seulement 16/195 souches (8,21%). Il serait très difficile de généraliser l'apport des différents sites (ou services) sur le nombre des souches.

Prélèvements de Pus

Durant la période d'étude, 50 échantillons de pus ont été prélevés à partir de patients hospitalisés dans le service de diabétologie de l'EPH Blida. Seulement 27 prélèvements se sont avérés positifs constituant un taux de 54% (**Figure 10**).

Dans l'étude menée par **Bakri et al.,(2021)**, ont obtenu 74 prélèvements positifs sur un total de 87 échantillons, atteignant un taux de 85%, nettement supérieurs à nos résultats.

L'augmentation des résultats négatifs peuvent-être expliqués soit par la présence de bactéries exigeantes qui nécessitent des éléments nutritifs spéciaux dans leur milieu de culture, soit le patient sur lequel le prélèvement a été effectué est sous traitement antibiotique.

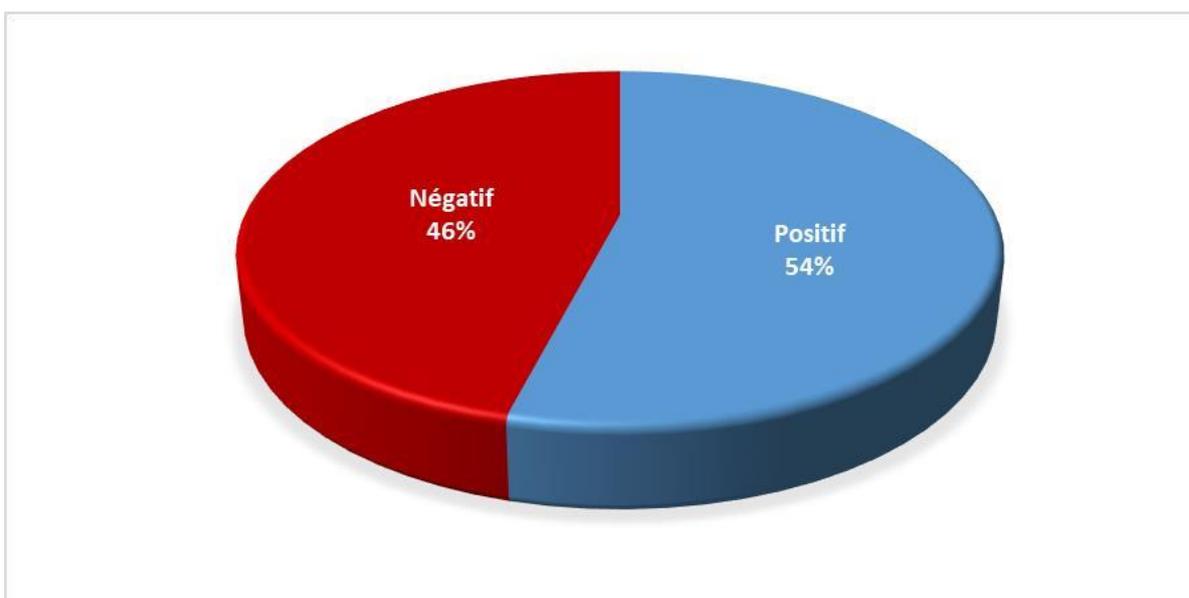
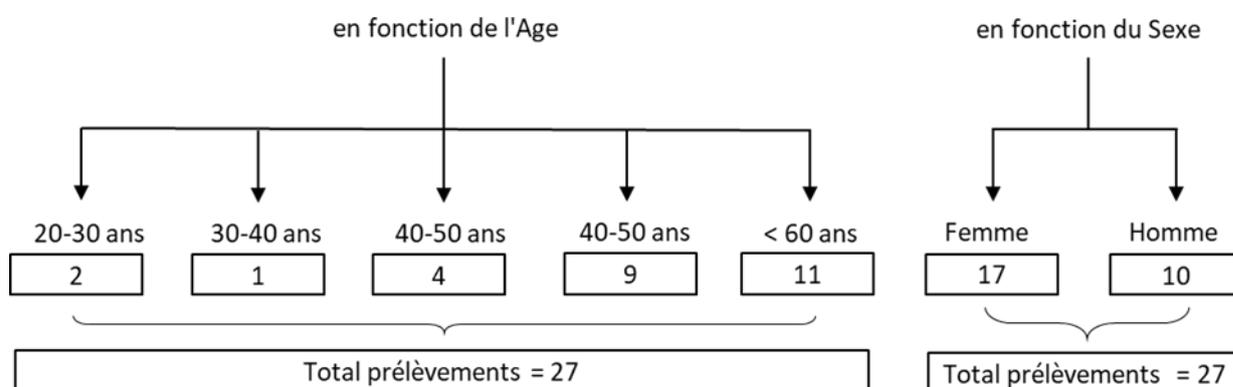


Figure 10 : taux de prélèvement de pus positif.

Du point de vue épidémiologique, l'analyse des 27 prélèvements positifs a été réalisée en fonction des paramètres suivants :



La distribution selon le sexe a donné une prédominance féminine, avec une valeur de **0,58**. Cette prédominance féminine est proche des résultats de travaux de **Boudina et al.,(2017)**, avec une prédominance féminine et un sex-ratio **0,75%**, mais contraire à celle obtenue par **Djibril et al.,(2018)** qui notent une prédominance masculine avec un sex-ratio de 1,38.

Selon l'âge, on a remarqué que les personnes âgées (40 ans et plus) sont plus sensibles, indiquant que les patients diabétiques âgés sont particulièrement affectés par les complications au niveau du pied **Pataky et al.,(2007)**. Les résultats obtenus dans cette étude rejoignent ceux de **Djibril et al., (2018)**. Cette dernière étude a précisé que l'âge moyen était de 60,74 ans avec des écarts extrêmes allant de 39 ans à 86 ans. Les tranches d'âge les plus représentées étaient celles comprises entre 50 ans et 59 ans (40,30 %) et celle plus de 70 ans (27,40%).

Répartition des prélèvements selon le type de culture

L'étude cyto-bactériologique de pus nous a permis de classer les prélèvements en deux groupes : 18 cultures monomicrobiennes avec un taux de 67% et 9 cultures polymicrobiennes avec un taux de 33% (**Figure 11**).

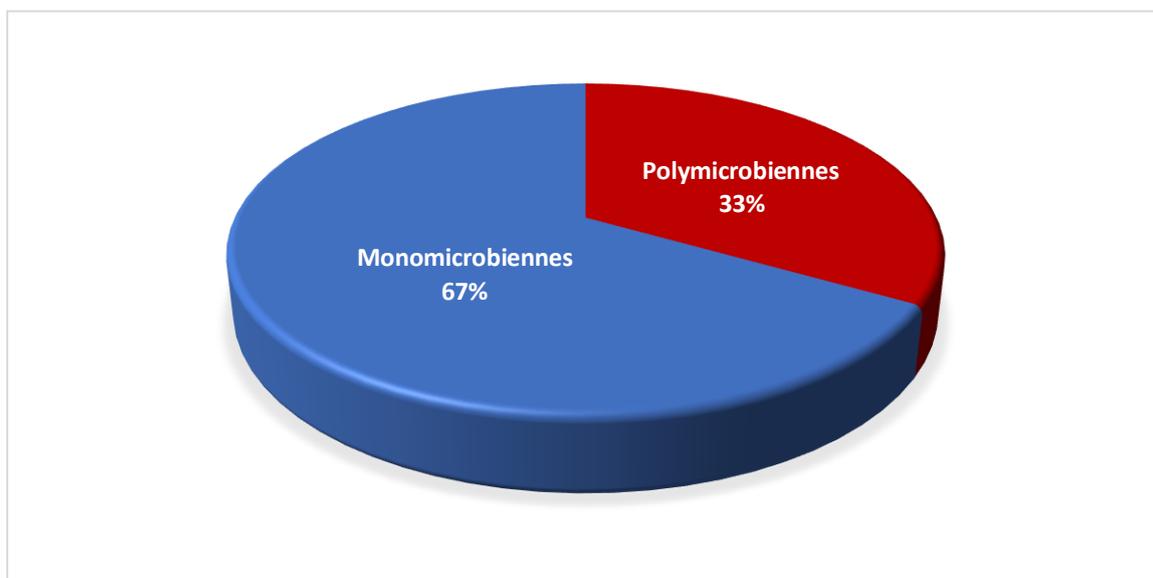


Figure 11 : Répartition des résultats de pus selon le type de culture.

Des résultats similaires ont été obtenus par **Verma, (2012)** avec la répartition suivante : 84,31%(86/102) des prélèvements mono-bactériens et 15,69%(16/102) des prélèvements poly-microbiens.

Etude bactériologique des souches

Examen macroscopique des souches

La culture sur Chapman montre une croissance bactérienne après 24 heures à 37°C d'incubation. Plusieurs bactéries apparaissent avec de différents aspects (**Tableau VII**).

Tableau VII : Nombre des souches suspectées isolées sur Chapman selon le prélèvement.

Souches	Milieu hospitalier	Pus	Total
<i>Streptococcus spp</i>	05	09	14
<i>Enterococcus spp</i>	00	00	00
<i>Bacillus spp</i>	11	00	11
<i>Micrococcus spp</i>	3	2	05
<i>Staphylococcus spp</i>	151	16	167
Total	170	27	197

Des résultats supérieurs ont été trouvés par **Pourakbari et al., (2018)**. Les bactéries les plus isolées étaient *Staphylococcus spp* (n = 928 soit 67%), suivi de *Enterococcus spp* (n = 139 soit 10 %), *Streptococcus pneumoniae* (n = 106, soit 8 %), *Streptococci viridans* (n = 180, soit 13 %), *Micrococcus spp* (n = 24, soit 1,7 %) et *Streptococcus groupe B* (16, soit 1%).

Selon une étude réalisée par **Zemmouri et al., (2015)** sur le profil bactériologique du pied diabétique, les germes les plus isolés étaient les bactéries à Gram positives appartenant à Staphylocoque (34%), suivi des Streptocoques (11%), des Entérocoques (11%) et de Bacillus (2%).

Nous nous sommes intéressés exclusivement aux staphylococcus, et plus particulièrement aux SCN (des colonies roses ou blanches, brillantes, rondes, avec des bords réguliers, 1 à 2 mm de diamètre, sans virage du milieu en jaune, c'est-à-dire pas de fermentation du mannitol (**Figure 12**).

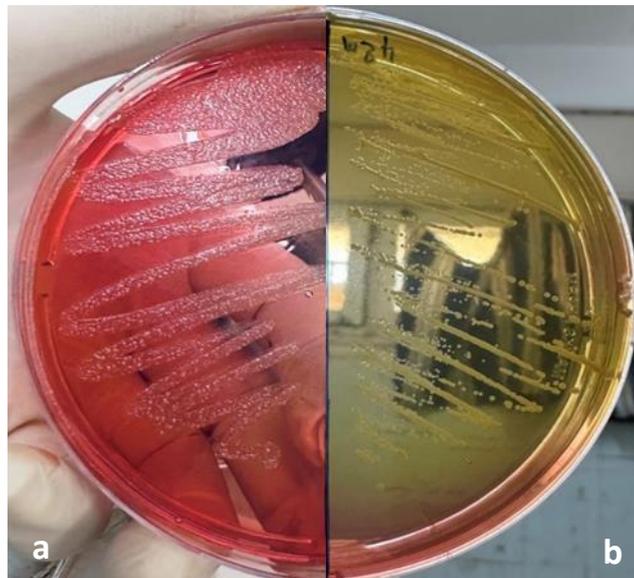


Figure 12 : Aspect macroscopique des colonies de *Staphylococcus* sur milieu Chapman :
a) SCN, b) *S.aureus* (**photo originale, 2023**).

Après 24h d'incubation, sur la gélose nutritive, on a observé des colonies arrondies bombées, opaque à contour net de 1 mm de diamètre et de couleur beige et sur gélose au sang, des colonies blanchâtres apparaissent (**Figure13**). Sur Milieu BAIRD-PARKER, des colonies noires avec halo clair (*S.aureus*) et les SCN sont presque totalement inhibés (**Figure 14**).

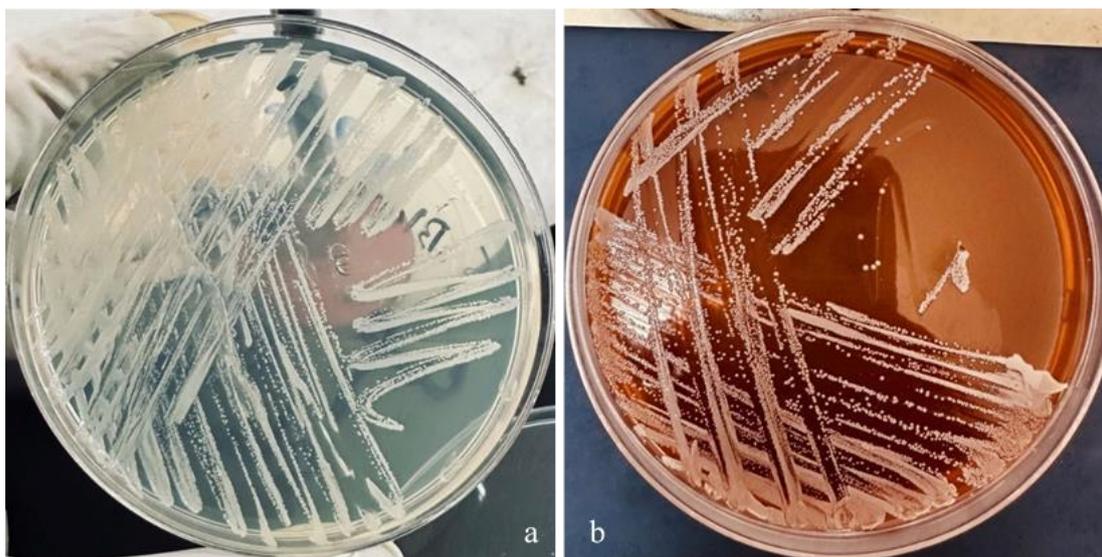


Figure 13: Aspect macroscopique des SCN sur : a) gélose nutritive et b) gélose au sang (Photo originale, 2023)



Figure 14 : Aspect macroscopique des staphylocoques sur milieu Baird-Parker (Photo originale, 2023).

Etude microscopique des souches

a) Etat frais

L'état frais nous a permis de voir la bactérie vivante, d'apprécier sa mobilité, sa morphologie et son mode de regroupement. Ainsi que les réactions cellulaires immunitaires (**Figure15**).

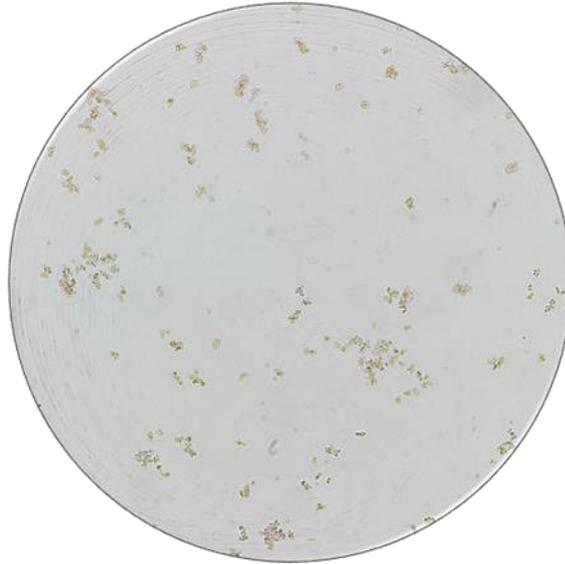


Figure 15 : Observation microscopique à l'état frais (**Photo originale, 2023**).

b) Examen microscopique après coloration de Gram

L'examen microscopique des staphylocoques après la coloration différentielle de Gram a montré la présence de cocci sphériques isolés, regroupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappes de raisin, colorés en violet (Gram positif) (**Figure 16**).

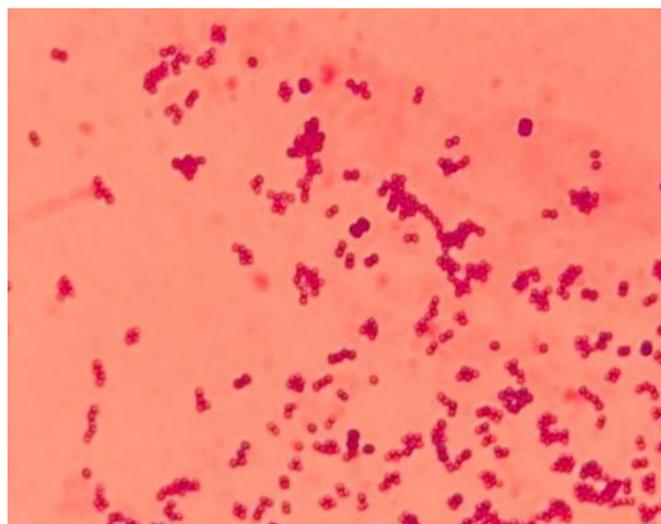


Figure 16 : Observation microscopique des staphylocoques après coloration de Gram
(**Photo originale, 2023**)

Tests d'orientations

Tests de catalase et d'oxydase

Les résultats du test de catalase et d'oxydase sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau VIII: Résultats des tests de catalase et d'oxydase

Service	catalase +	oxydase -
Nombre	183	167
photos originales		
Souches résiduelles après les résultats des tests	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus spp</i> • <i>Micrococcus spp</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus spp</i>

Le test de catalase a permis de différencier les staphylocoques des streptocoques. La formation immédiate de bulles d'oxygène témoigne de la présence d'une catalase chez 183 souches. Tous les SCN testés sont producteurs de catalase. Ils peuvent hydrolyser le peroxyde d'hydrogène en oxygène et en eau qui se traduit par un dégagement de bulles de gaz. Par contre, nous avons obtenu 167 souches de *Staphylococcus spp* oxydase -.

Test de la coagulase

Après incubation à 37°C et lecture chaque heure dans les 5 premières heures, l'observation visuelle des tubes en position inclinée révèle la présence ou non de la coagulase. L'apparition d'un caillot indique une réaction positive (coagulase positive) et la détection de l'enzyme coagulase (**Figure 17**).

Sur les 167 staphylocoques, on a obtenu 110 *staphylococcus* à coagulase négative (100 SCN à partir du milieu hospitalier avec une prépondérance sur les lits et les chariots (**Tableau IX**) et 10 à partir de pus) et 57 *staphylococcus* à coagulase positive (**Figure 18**).



Figure 17 : Résultats de test de coagulase : a)coagulase négative, b)coagulase positive (**Photos originales, 2023**).

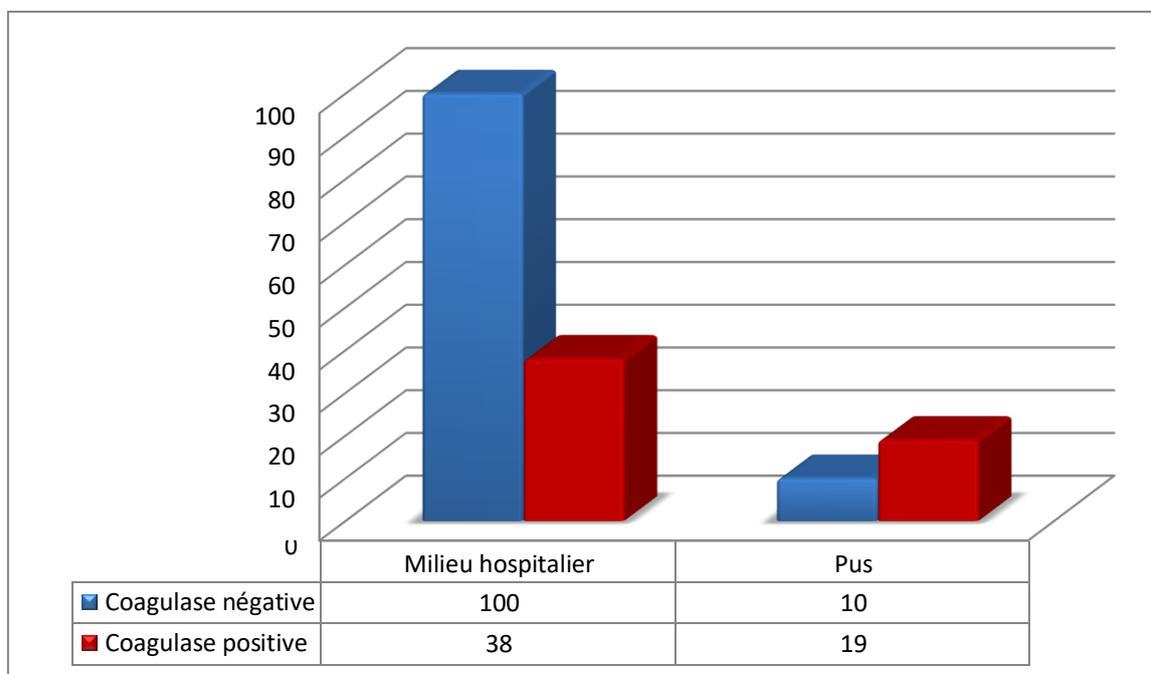


Figure 18 : Résultats du test de coagulase selon le prélèvement.

Tableau IX. La répartition des SCN selon les sites de prélèvements.

Lieu de prélèvement	Sites de prélèvements	Nbr. Des SCN	Nbr. Total des SCN
S. Diabétologie	Pus	10	10
Service de chirurgie Vasculaire	Potence	2	37
	Table de coin	5	
	Lit	9	
	Poignet / porte	5	
	Armoire	2	
	Sanitaires	6	
	Chariot (table à manger)	8	
Service de néphrologie	Potence	1	29
	Table de coin	7	
	Lit	9	
	Poignet / porte	3	
	Armoire	0	
	Sanitaires	3	
	Chariot (table à manger)	6	
Service d'urologie	Potence	1	25
	Table de coin	5	
	Lit	8	
	Poignet / porte	3	
	Armoire	1	
	Sanitaires	2	
	Chariot (table à manger)	5	
Bloc opératoire	Masque respiratoire	0	09
	Table opératoire	0	
	Potence	0	
	Respirateur électrique	1	
	Interrupteurs	2	
	Scialytiques	0	
	Scopes	6	
Nbr. Total des SCN			110

Darge et al.,(2019) ont trouvé des différents résultats, parmi les isolats bactériens totaux dans les équipements médicaux et les surfaces inanimées en l'hôpital spécialisé complet d'Ayder, staphylocoques à coagulase négative étaient 53/117 (34,9 %), parmi les équipements médicaux et les surfaces contaminé par les SCN Diaphragme de stéthoscope 6/53(11,3%), dessus de table de chevet 2/53(3,7%), Matelas 1/53 (1,8%), oreillette stéthoscope 4/53(7,5%).

Profil de l'antibiorésistance

Antibiogramme

Figure 19 : Zones d'inhibition d'une souche de SCN à quelques antibiotiques

(Photo originale, 2023).

a) Le milieu hospitalier

Figure 20 : Zones d'inhibition d'une SCN isolée à partir du milieu hospitalier
(Photo originale 2023)

Figure 21 : Pourcentage du résultat d'antibiogramme des SCN isolées à partir de
l'environnement hospitalier.

b) Le pus

Figure 22 : Résistance des SCN isolées à partir de pus.

Détermination de la CMI

Afin de connaître la sensibilité des SCN à la Vancomycine, nous avons mesuré sa concentration minimale inhibitrice sur milieu liquide (**Figure 23**). Cette étude a montré une sensibilité totale des souches à la VA.

Les études faites par **Zatout (2020)**; **Shrestha et al., (2017)**; **Seng et al., (2017)** et **Du et al.,(2013)** ont également trouvé ces résultats vis-à-vis de cet antibiotique.

Ces résultats sont dus au fait que la VA est considérée le plus souvent comme un ATB de choix pour des infections sévères à staphylocoque et résistantes à la méticilline comme l'a déjà signalé **Mainardi (1997)** dans ces travaux.

- **Screening test**

Figure 25 : les résultats de Screening test : a) souche sensible à la méticilline, b) souche résistante à la méticilline (**Photo originale, 2023**).

Etude de la formation du biofilm

Méthode RCA

Après l'incubation, des colonies noires (**Figure 26**) apparaissent (la production du slime).

Figure 26 : Résultats de RCA : a) production du slime, b) pas de production du slime
(**Photo originale, 2023**).

Tableau X : Résultats de la méthode RCA selon le prélèvement.

Méthode TCP

- .

Milieu hospitalier

Tableau XI : Résultats de TCP des SCN isolées à partir du milieu hospitalier.

Shrestha et al., (2017) ont montré que 65,38% des souches étaient formatrices de biofilm. **Seng et al., (2017)** ont trouvé des résultats en utilisant TSB additionné à 1% de Glucose (FB : 26,3%, BM : 66,1% et AB : 7,6%). Ces valeurs sont en accords avec nos résultats de TSBG.

Ce constat est similaire au travaux d'**Agarwal et Jain (2013)**.

Selon **Vuong et Otto (2002)**, l'addition de grandes quantités de sucre au milieu de croissance favorise la production du biofilm par l'augmentation de la production d'adhésine intercellulaire polysaccharidique (PIA).

Pus

Les travaux d'**Oliveira et Cunha (2010)** ont montré que l'ajout de 2% de glucose a donné les résultats suivants par rapport aux 100 isolats : 46 (46%) des souches forment un biofilm fort, 35 (35%) souches produisent un biofilm modéré, et 19 (19%) souches ne forment pas le biofilm.

Tableau XII : Résultats de TCP des SCN isolées à partir de pus.

Pour détecter les microorganismes formant le biofilm, la méthode TCP a donné des résultats, comme escompté, plus fiables et quantitatifs que celle de la RCA. Les mêmes constatations ont été observées dans les travaux de **Hassan et al., (2011)**.

Dans le milieu hospitalier, les SCN formatrices du biofilm sont prépondérantes sur les lits, les chariots et les tables de coins (**Tableau XIII**).

Tableau XIII. Répartition des SCN formatrices du biofilm selon les sites de prélèvements.

Résultats de l'identification biochimique

En fonction de la disponibilité des galeries API Staph, nous n'avons pu identifier que 18 isolats de SCN appartenant à 9 espèces différentes (**Tableau XIV**). Ces espèces sont particulièrement trouvées sur les lits et les chariots.

L'espèce dominante dans le groupe des SCN était *Staphylococcus haemolyticus* (n = 5) suivie de l'*S. epidermidis* (n = 4), de l'*S. hominis* (n = 2), de l'*S. chromogenes* (n = 2), de l'*S. xylosus* (n = 1), de l'*S. sciuri* (n = 1), de l'*S. simulans* (n = 1), de l'*S. capitis* (n = 1), et pour finir de l'*S. warneri* (n = 1).

Cette composante des SCN a été signalée aussi par **Seng et al.,(2017)** dans une étude qui a montré des résultats proches avec (26,2%) de *S. epidermidis*, (25,4%) de *S. haemolyticus* et (17,2%) de *S. capitis*.

Les travaux de **Shrestha et al., (2017)**, réalisée au département de Microbiologie, au Népal, ont donnée des résultats différents à ceux de cette étude. En effet, ils ont obtenu

un pourcentage élevé de *S. epidermidis* (52%) constituant l'espèce la plus fréquente, suivie de *S. saprophyticus* (18%) et *S. haemolyticus* (14%).

Tableau XIV : Distribution des isolats de SCN en fonction des espèces.

	Effectif	Pourcentage (%)	Photos originales
<i>S. haemolyticus</i>	5	27,77	
<i>S. epidermidis</i>	4	22,22	
<i>S. hominis</i>	2	11,11	
<i>S. chromogenes</i>	2	11,11	
<i>S. xylosum</i>	1	5,55	
<i>S. sciuri</i>	1	5,55	
<i>S. simulans</i>	1	5,55	
<i>S. capitis</i>	1	5,55	
<i>S. warneri</i>	1	5,55	
Total	18	100,00	

Tableau XV : La répartition des espèces selon les sites de prélèvement.

Lieu de prélèvement	Service	Les sites	Espèces	Nbr. de souches
Pus	Diabétologie		<i>S.haemolyticus</i>	1
			<i>S. warneri</i>	1
			<i>S.chromogenes</i>	1
			<i>S.epidermidis</i>	1
Milieu hospitalier	Chirurgie vasculaire	Lit	<i>S.hominis</i>	2
		Chariot	<i>S.chromogenes</i>	1
		Potence / lit / poignet	<i>S.epidermidis</i>	3
		Lit / chariot / sanitaires	<i>S.haemolyticus</i>	3
	Néphrologie	Lit	<i>S.xylosum</i>	1
		Lit	<i>S.capitis</i>	1
		Chariot	<i>S.haemolyticus</i>	1
	Urologie	Chariot	<i>S.simulans</i>	1
	Bloc opératoire	Scopes	<i>S.sciuri</i>	1

Une étude menée par **Dziri et al.,(2016)** des SCN récupérés à partir de 83 des 200 échantillons de surface inanimés (lits, tables de traitement, toilettes, robinets, poignets) au niveau de l'hôpital militaire de Tunis.

la répartition des espèces étaient Sur les 83 SCN, *S.haemolyticus* était l'espèce la plus répandue (n = 38/83), 45,8 %, suivie de *S.saprophyticus* (n=30/83), 36,1%, et en moindre proportion *S. xylosum* (n=4/83) 4,8%, *S.epidermidis* (n = 2/83), 2,4 %), *S. cohnii* (n = 2/83), 2,4 %, *S. warneri* (n = 2/83), 2,4 %, *S. sciuri* (n = 2/83), 2,4 %, *S.simulans* (n=1/83), 1,2 %, *S. pasteurii* (n=1/83), 1,2 % et *S. arlettae* (n=1/83), 1,2 %.

CONCLUSION

L'utilisation excessive des antibiotiques est considérée comme un facteur le plus important qui contribue à l'apparition de différents types de microbes résistants. De même, la production de biofilms par les SCN a été identifiée comme un facteur important de la pathogénèse les rendant couramment impliqués dans les infections nosocomiales.

Au total de 110 SCN ont été isolés, 100 sont originaires de l'environnement hospitalier (particulièrement des chariots, lits, et les tables de coins des services de néphrologie, urologie et chirurgie vasculaire) et 10 isolats provenaient du pus (pied du diabétique et infection nosocomiale). L'étude du profil de résistance des SCN isolés à partir du milieu hospitalier, montre que ces souches étaient très résistantes vis-à-vis de la P, E, AK, TE et la CX et modérément résistantes vis-à-vis la GEN, DA, CIP, OFX, FC et la LEVO. Les souches isolées à partir de pus présentaient une résistance très élevée vis-à-vis de l'E, DA, RP, FC, TE et la P.

La détermination de la CMI de la vancomycine en milieu liquide a montré qu'aucun isolat n'était résistant vis-à-vis de cet antibiotique.

Pour les tests complémentaires, la résistance inductible à la clindamycine a été retrouvée chez 43/100 SCN isolée à partir de l'environnement hospitalier et 3/10 SCN issus du pus.

Pour le screening test, 73 SCN isolées de l'environnement et 5 SCN de pus sont résistantes à l'oxacilline.

La méthode de TCP a révélé que la majorité des souches forment des biofilms d'intensités différentes et ceux de la méthode RCA indiquent que 82 des SCN isolée à partir du milieu hospitalier et 6 SCN ont formé un biofilm

L'addition de quantité de sucre au milieu de croissance a favorisé la production du biofilm par l'augmentation de la production d'adhésine intercellulaire polysaccharidique (PIA).

En perspectives, il serait intéressant de poursuivre des études par :

- L'identification des toutes les souches par API-Staph
- Effectuer la CMI pour tous les antibiotiques.
- Utilisation de la biologie moléculaire pour connaître les gènes responsables de la multirésistance et de la formation du biofilm.
- Savoir le lien entre l'ajout de sucre et l'augmentation de biofilm à l'échelle moléculaire.
- Le test du quorum sensing.

REFERENCES

BIBLIOGRAPHIQUES



A

- **Abalain-Colloc M. L.**, Béraud J., Lay-Roguès G. L., Tandé D. et Tran Minoui A. (2014) Bactériologie. In" Béraud J., Le technicien d'analyses biomédicales. 2ème Ed., 936-1067".
- **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.
- **Ahmed R.**, Singh S., Farooq U., Bharti A. K. and Kaur N. (2016) Occurrence and antimicrobial susceptibility pattern of methicillin-resistant Staphylococcus aureus and methicillin-resistant Coagulase-Negative Staphylococci isolated from different clinical specimens from the patients hospitalized in teerthanker mahaveer medical college and research centre, Moradabad, India. Int. J. Sci. Study, 3 (11), 41-47.
- **Al Tayyar I. A.**, AL-Zoubi M. S., Hussein E., Khudairat S. and Sarosiekf K. (2015) Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of coagulase-negative staphylococci (CoNS) isolated from clinical specimens in Northern of Jordan. Iran J Microbiol , 7(6), 294-301.
- **Al-Bakri A.G.**, Bulatova N.R., Younes N.A ., Othman G., Jaber D., Schleimer N. Kriegeskorte A., et Becker K. (2021) Characterization of staphylococci sampled from diabetic foot ulcer of Jordanian patients.
- **Amazian K.**, Rossello J., Castella A., Sekkat S., Terzaki S., Dhidah., L., Abdelmoumène T., Fabry J. (2004) Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne.
- **Ananthanarayan , R.**, et Paniker, C. J. (2017). Ananthanarayan and Paniker's Textbook of microbiology (10 ed.). (R. Kanungo, Ed.) Hyderabad, Inde: Universities press.
- **Anderson-Berry, A.**, Brinton, B., Lyden, E., & Faix, R. G. (2010). Risk Factors Associated with Development of Persistent Coagulase-Negative Staphylococci Bacteremia in the Neonate and Associated Short-Term and Discharge Morbidities. Neonatology.
- **Argemi, X.**, Hansmann, Y., Prola, K., & Prévost, G. (2019). Coagulase-Negative Staphylococci Pathogenomics. International Journal of Molecular Sciences.

B

- **BAKHOUM I ; NDEYE MS (2004)**, Contrôle de qualité et validation de différentes micro-méthodes d'identification bactérienne. Thèse du doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Sénégal en Afrique de l'Ouest.
- **BAKINI B ; NIGRI M (2014)**, Synthèse bibliographique sur les infections des dispositifs médicaux en milieu hospitalier. Rapport du stage. Université Kasdi Merbah. Ouargla (Algérie).
- **BALI T ; DJEBBAS A (2015)**, Résistance aux antibiotiques des Staphylocoques formant un biofilm sur les implants médicaux. Mémoire du master. Université Kasdi Merbah. Ouargla (Algérie).

- **Baudry, C., Brezellec, H.** (2006). Microbiologie-Immunologie. (2, Éd.) France: Wolters Kluwer.
- **Becker K., Heilmann C. and Peters G.** (2014) Coagulase-negative staphylococci. Clin Microbiol Rev.
- **Bergey, D. H.** (2011). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2 ed., Vol. 3). (S. S. Media, Ed.) Georgia, USA.
- **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 du doctorat. Université de Genève.
- **Bouyahya A., Bakri Y., Et-Touys A., Talbaoui A., Khouchlaa A., Charfi S., Abrini J. et Dakka N.** (2017) Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries.
- **Brun Y., Bes M. et Vandenesch F.** (2007) Staphylococcus. In " Freney J., Renaud F., Leclercq R. et Riegel P., Bactériologie clinique, 2 ème Ed. ESKA.

C

- **Carip C. (2008)** microbiologie hygiène (Bases microbiologiques de la diététique). Ed. Médicales internationales et Tec & Doc, Londres- Paris- New york.
- **Carle S. (2009)** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important! figure sélection de souches. Pharmactuel.
- **Chalvet de Rochemonteix A.** (2009). Les biofilms et la peau. Thèse Pour le Doctorat vétérinaire. École Nationale Vétérinaire D'alfort Paris
- **CHATANE I ; ZIADI C (2017)**, Analyse phénotypique et quantification de la formation de biofilm par les bactéries d'intérêt médical. Mémoire du master. Université des Frères Mentouri. Constantine (Algérie).
- **CHIBI A (2015)**, Evaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* isolées de CHU Tlemcen. Mémoire du master. Université Aboubekr Belkaid. Tlemcen (Algérie).
- **Christensen G. D., Simpson W. A., Yonger J. J., Baddor L. M., Barrett F. F., Melton D. M. and Beachey E. H.** (1985) Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol.*, 22, 996-1006.
- **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 Médecine. 174P.
- **Cuevas O., Cercenado E., Vindel A., Guinea J., Sa'nchez-Conde M., Sa'nchez-Somolinos M., Bouza E., and the spanish group for the study of Staphylococcus (2004)** Evolution of the antimicrobial resistance of Staphylococcus spp. In Spain: five nationwide prevalence studies, 1986 to 2002. Antimicrob Agents Chemother.
- **Cunha M. L. R. S., Sinzato Y. K. and Silveira L. V. A.** (2004) Comparison of Methods for the identification of Coagulase Negative Staphylococci. Mem Inst Oswaldo Cruz.
- **CURIE M (2003)**, Staphylocoques In Bactériologie.

D

- **DAOUADJI DS (2010)**, Détection de biofilm a staphylocoques sur cathéters veineux, Mémoire du master. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen (Algérie).
- **Darge, A., Kahsay, A. G., Hailekiros, H., Niguse, S., & Abdulkader, M.** (2019). Bacterial contamination and antimicrobial susceptibility patterns of intensive care units medical equipment and inanimate surfaces at Ayder Comprehensive Specialized Hospital, Mekelle, Northern Ethiopia. BMC Research Notes.
- **DECOSTER A** (2005), FLM, Staphylocoques **6 p.**
- **Desroches M.** ,Jehl F. ,Leclercq v ,Lina G. Vandenesch F. , Decousser J.-W. Doucet Populaire F. (2013), Résistance aux antibiotiques des Staphylococcus aureus résistants à la méticilline et staphylocoques à coagulase négative isolées d'infections ostéo-articulaires : étude prospective multicentrique française.
- **Djibril A.**, Komi Mossi E ., A Kodjo Djagadou A ., Balaka A, Tchamdja T., Moukaila R (2018) Pied diabétique: aspects épidémiologique, diagnostique, thérapeutique.
- **Dumitrescu O**, Dauwalder O, Boisset S, Reverdy M, ATristan A et F Vandenesch F (2010) Résistance aux antibiotiques chez Staphylococcus aureus.
- **Dziri, R., Klibi, N., Lozano, C., Said, L. B., Bellaaj, R., Tenorio, C., Boudabous, A., Slama, K. B., & Torres, C.** (2016). High prevalence of Staphylococcus haemolyticus and Staphylococcus saprophyticus in environmental samples of a Tunisian hospital. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.

E

- **Engelkirk P. G.** and Duben-Engelkirk J. (2008) Laboratory diagnosis of infectious diseases: essentials of diagnostic microbiology. Ed. Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business.
et évolutif à la Clinique Médico-chirurgicale du CHU Sylvanus Olympio de Lomé.

F

- **Fauchère J. L.** et Avril J. L. (2005) Bactériologie générale et médicale, Ed. Ellipses
- **Feleke.T.,Eshetie S., Dagnew M .,Endris M., Abebe W., Tiruneh M and Moges F.** (2018) Multidrug-resistant bacterial isolates from patients suspected of nosocomial infections at the University of Gondar Comprehensive Specialized Hospital, Northwest Ethiopia.
- **FLORENCE B J (2014)**, Identification et caractérisation des exopolymères de biofilms de bactéries marine.
- **Freeman D. J.**, Falkiner F. R., Keane C. T. (1989) New method for detecting slime production by Coagulase-Negative Staphylococci. *J Clin Pathol.*, 42, 872-874

H

- **Hassan A** , Usman J, Kaleem F, Omair M, Khalid A, Iqbal M. (2011) Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates.
- **Heikens E.**, Fleer A., Paauw A., Florijn A., and Fluit A. C. (2005) Comparison of genotypic and phenotypic methods for species-level identification of clinical isolates of Coagulase-Negative Staphylococci. *J Clin Microbiol*.
- **HEILMANN C** ; **PETERS G** (2014), *Biologie et pathogénicité de Staphylococcus epidermidis-Agents pathogènes Gram-positifs* Presse ASM Washington
- **Herard A.**, Brasme L., Jaussaud R., Colin J., Vernet-Garnier V. et Lardennois B. (1998) Place actuelle des staphylocoques à coagulase négative en urologie.
- **Horner, C.**, Mawer, D., & Wilcox, M. H. (2012). Reduced susceptibility to chlorhexidine in staphylococci: is it increasing and does it matter? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
- **Huebner J.** and Goldmann D. A. (1999) Coagulase-Negative Staphylococci: role as pathogens. *Annu Rev Med*.

I

- **Iorio N. L. P.**, Azevedo M. B., Frazão V. H. et al. (2011) Methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* carrying biofilm formation genes: detection of clinical isolates by multiplex PCR. *Int Microbiol*.

J

- **JAMAL D** (2015), Influence de stress environnementaux sur les propriétés physicochimiques de jeunes biofilms en cours de formation : Etude par spectroscopies vibrationnelles infrarouge-Raman et de force AFM.
- **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.
- **Jonathan Asante**, Daniel G. Amoako, Akebe L.K. ,et al,(2020), Review of Clinically and Epidemiologically Relevant Coagulase-Negative Staphylococci in Africa.

K

- **KARA TERKI** (2014), Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm de souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU de Tlemcen, Thèse du doctorat, Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen (Algérie).
- **Kholy, A. E.**, Baseem, H., Hall, G. S., Procop, G. W., & Longworth, D. L. (2003). Antimicrobial resistance in Cairo, Egypt 1999-2000: a survey of five hospitals. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(3).
- **KLOSS WE** ; **LAMBE JR**, (1981), *Staphylococcus* In *Manual of clinical Microbiology*, 4 th edition.

L

- **Lakhundi, S., & Zhang, K.** (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*.
- **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.

M

- **Mack D.,** Horstkotte M. A., Rohde H., and Knobloch J. K.-M. (2006) Coagulase-Negative Staphylococci. In" Pace J. L., Rupp M. E. and Finch R. G., *Biofilms, infection, and antimicrobial therapy*. Ed. Taylor and Francis.
- **Mainardi J.L** (1997) Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques/ Session interactive autour de l'antibiogramme.
- **Mandell GL,** Bennett JE, Dolin R. *Mandell, Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*, 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone Inc; 2000 [p.2069].
- **McGuinness W A,** Malachowa N, DeLeo F R(2017) Vancomycin Resistance in *Staphylococcus aureus*.
- **MERIEMECHE L ; NADIR F** (2016), Etude de la formation de biofilms associés aux plaies chroniques du pied diabétique. Mémoire du master. Université des Frères Mentouri Constantine (Algérie).
- **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.
- **MICHAEL AP ; LOREEN AH** (1988), Laboratory, Clinical, and Epidemiological Aspects of Coagulase-Negative Staphylococci- *Clinical microbiology reviews*.
- **Murray PR,** Baron EJ, Jorgensen JH, et al. *Manual of Clinical Microbiology*. Vol. 1. 8th ed. Washington, DC:2003. p. 304–404.

N

- **Nauciel C.** et Vildé J.-L. (2005) *Bactériologie médicale connaissances et pratique*. 2^{ème} édition Masson Paris.

O

- **Oliveira, A.** and Cunha, M.L.R.S. (2010) Comparison of Methods for the Detection of Biofilm Production in Coagulase-Negative Staphylococci. *BMC Research Notes*, 3, 260.
- **Organisation mondiale de la santé**<<De bons programmes de lutte anti-infectieuse peuvent diminuer les infections nosocomiales de 70 %>>, [En ligne], 6 mai 2022, [<https://www.who.int/fr/news/item/06-05-2022-who-launches-first-ever-global-report-on-infection-prevention-and-control>],(8 juillet 2023).
- **OTTO M (2009)**, *Staphylococcus epidermidis - the accidental pathogen - Nature Reviews Microbiology*.

P

- **Pataky Z** , Vischer U. Diabetic foot disease in the elderly *Diabetes & Metabolism* 33 (2007)
- **Pecastaings S.** (2010). Apport de modèles de biofilms à *Pseudomonas aeruginosa* et *Legionella pneumophila* à la maîtrise de la qualité microbiologique des réseaux d'eaux minérales naturelles. Thèse de doctorat. Université de Toulouse.
- **Pereira, V. R. A.**, Romero, L. C., Pinheiro-Hubinger, L., De Oliveira, A., Martins, K. B., & De Lourdes Ribeiro De Souza Da Cunha, M. (2020). Coagulase-negative staphylococci: a 20-year study on the antimicrobial resistance profile of blood culture isolates from a teaching hospital. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*
- **Poly M.C.** (2007). *Bactériologie médicale technique usuelles*. Elsevier Masson.p 170-180.
- **Pourakbari B**, Mahmoudi S, Moradzadeh M, Mahzari M, Ashtiani MTH, Tanzifi P, Mamishi S .Antimicrobialresistance patterns of the gram-positive Bacteriaisolatedfromchildrenwithbloodstream infection in an Iranianreferralhospital: a 6-year study. *Infect Disord Drug Targets*. 2018;18(2):136–44.
- **Prescott, L. M.**, Willey, J. M., Sherwood, L. M. & Woolverton, C. J., (2018). *Microbiologie de Prescott*. 5 éd. Bruxelles: de Boeck Supérieur.

S

- **Saouide el ayne N.**, Chaouch A.,Auajjar N.,Hamama S.,Soulaymani A . (2014) Rôle de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales surveillance de la flore des surfaces à l'hôpital el Idrissi de Kenitra Maroc.
- **Seng, R.**, Kittit, T., Thummeepak, R., Kongthai, P., Leungtongkam, U., Wannalerdsakun, S., & Sitthisak, S. (2017). Biofilm formation of methicillin-resistant coagulase negative staphylococci (MR-CoNS) isolated from community and hospital environments. *PLOS ONE*.
- **Shrestha L. B.**, Bhattarai N. R. and Khanal B. (2017) Antibiotic resistance and biofilm formation among Coagulase-Negative Staphylococci isolated from clinical samples at a tertiary care hospital of eastern Nepal. *Antimicrob Resist Infect Control*.
- **Soumya, K. R.**, Philip, S., Sugathan, S., Mathew, J., & Radhakrishnan, E. K. (2017). Virulence factors associated with Coagulase Negative Staphylococci isolated from human infections.
- **Stepanović, S.**, Vuković, D., Holá, V., Di Bonaventura, G., Djukic, S., Cirkovic, I., & Růžička, F. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci.

T

- **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.
- **Tremblay, Y. D. N.,** Lamarche, D., Chever, P., Haine, D., Messier, S., & Jacques, M. (2013). Characterization of the ability of coagulase-negative staphylococci isolated from the milk of Canadian farms to form biofilms. *Journal of Dairy Science*.
- **Trouillet S (2017),** Physiopathologie des infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*. Mémoire du master. Ecole pratique des hautes études. Lyon (France).

V

- **Varaldo P. E.** and Satta G. (1988) Staphylococcal diseases. *In* "Balows A., Hausler W. J. Jr., Ohashi M. and Turano A., Laboratory diagnosis of infectious diseases principles and Practice, Volume I. Ed. Springer-Verlag, 475".
- **VERDIER I ; GERARD L ; YVES G ; VANDENESCH F** (2015), Cour de Staphylocoques, Faculté de Médecine Laennec, Lyon, Service de Pédiatrie, Hôpital Edouard Herriot, Lyon.
- **Verma P,** A study on isolation of different type of bacteria from pus (2012).
- **Vuong C.** et Otto M. (2002) *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microb Infect*.

Y

- **Yousif A.,** Jamal M. A., and Raad I. (2015) Biofilm-based central line associated bloodstream infections. *In* " Donelli G., Biofilm-based Health care associated infections, Ed. Springer.

Z

- **Zatout A,** Djibaoui R, Kassah-Laouar A, Benbrahim, C. (2002) Coagulase negative staphylococci in Anti-Cancer Center, Batna, Algeria: antibiotic resistance pattern, biofilm formation, and detection of *mecA* and *icaAD* genes.
- **ZATOUT A,**(2020) *Staphylococcus* à coagulase négative isolés au Centre Anti-Cancer de Batna: étude bactériologique, profil de sensibilité aux antibiotiques, formation de biofilm et thérapie antistaphylococcique. Mémoire de doctorat Université Abdelhamid Ibn Badis de Mostaganem (Algérie).
- **Zemmouri A.,** Tarchouli M ., Benbouha A., Lamkinsi T., Bensghir M., Elouennass M ., Haimeur C,(2015) Profil bactériologique du pied diabétique et son impact sur le choix des antibiotiques.
- **ZENATI epse BELHADI K** (2019), Microbiologie de l'Environnement Hospitalier.cour. Université A. MIRA-Bejaia (Algérie).
- **ZIAD Y ; HAYOUN K** (2016), L'influence des propriétés physicochimiques sur l'adhésion bactérienne. Mémoire du master. Université des Frères Mentouri. Constantine (Algérie).

ANNEXES

I. ANNEXE I

Matériel non biologique

Pour la réalisation de ce travail nous avons utilisé divers matériels :

OUTILS DE LABORATOIRE	APPAREILLAGES	COLORANTS ET REACTIFS	AUTRES
LAMES ET LAMELLES	ETUVE	FUSCHINE	DISQUES D'ANTIBIOTIQUES
PIPETTES	BEC BENZENE	VIOLET DE GENTIANE	DISQUES D'OXYDASE
PASTEUR	MICROSCOPE OPTIQUE	BLEU DE METHYLENE	GALERIE API
TUBES A ESSAI STERILES	AUTOCLAVE	LUGOL	STAPH
ECOUVILLONS	BAIN MARIE	KOVACS	MILIEUX DE CULTURE
BOITES DE PETRI	BALANCE	L'HUILE DE PARAFFINE	LES BOUILLONS D'ENRICHISSEMENT
PORTOIR	MICROSCOPE	VP 1	MICROPLAQUES D'ELISA
PINCE METALLIQUE	OLYMPUS	VP 2	
SERINGUE STERILE	AGITATEUR POUR MICROPLAQUE	NIT 1	
ANSE DE PLATINE	PLAQUE CHAUFFANTE	NIT 2	
PIED A COULISSE	HAUTE	ZYM A	
DES FLACONS STERILES	LECTEUR ELISA	ZYM B	
MICROPIPETTES			
SPATULE			



Agitateur pour microplaque (Photo original)



Galerie API STAPH (Photo original)

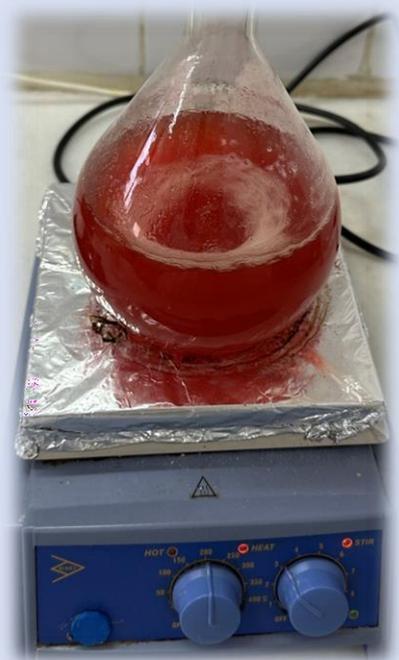
Composition des milieux de cultures

MILIEU	COMPOSITION G/L	PHOTOS
GELOSE NUTRITIF (GN)	<ul style="list-style-type: none"> • PEPTONE (10G) • EXTRAIT DE VIANDE (3G) • EXTRAIT DE LEVURE (3G) • AGAR (18G) • CHLORURE DE SODIUM (5G) • pH = 7, 3 	
GELOSE CHAPMAN (MSA)	<ul style="list-style-type: none"> • PEPTONE (10G) • EXTRAIT DE VIANDE (1G) • EXTRAIT DE LEVURE (3G) • AGAR (15G) • CHLORURE DE SODIUM (75G) • MANNITOL (10G) • ROUGE DE PHENOL (0,025G) • pH = 7, 5 	
GELOSE MUELLER HINTON (MH)	<ul style="list-style-type: none"> • EXTRAIT DE VIANDE (3G) • HYDROLYSAT DE CASEINE (17,7G) • AMIDON (15G) • AGAR (10G) • pH = 7 	
BRAIN HEART BROTH BHIB	<ul style="list-style-type: none"> • INFUSION DE CERVELLE DE VEAU (12.5G) • INFUSION DE COEUR DE BŒUF (5.0G) • PEPTONE (10.0G) • GLUCOSE (2.0G) 	

	<ul style="list-style-type: none">• CHLORURE DE SODIUM (2.0G)• PHOSPHATASE DI SODIQUE (5G)• pH =7.4	
BOUILLON TRYPTONE SOJA (TSB)	<ul style="list-style-type: none">• PEPTONE (ORIGINE NON-ANIMALE) (5G)• GLUCOSE (0.6G)• NaCl (1.25G)• K₂HPO₄ (0.6 G)• EAU DISTILLEE (250) ML• pH 7.3	
GÉLOSE AU SANG (MILIEU DE BASE COLUMBIA + LE SANG)	<ul style="list-style-type: none">• MÉLANGE SPÉCIAL DE PEPTONES (23G)• AMIDON (1G)• NaCl (5G)• AGAR (10G)• pH=7.3	

GÉLOSE ROUGE CONGO

- BHIB (37G/L)
- SACCHAROSE (50G/L)
- AGAR AGAR (10G/L)
- ROUGE CONGO (0.8G/L)



II. ANNEXE II

Les solvants :

L'eau physiologique	<ul style="list-style-type: none"> • Chlorure de Sodium (9g) • Eau distillée(1000 mL)
----------------------------	---

Les colorants :

Violet de gentiane:	<ul style="list-style-type: none"> • Phénol (2.0 g) • Violet de gentiane (1.0g) • Éthanol à (9010 ml) • Eau distillée (100 ml)
Fuschine:	<ul style="list-style-type: none"> • Fuchine basique (1.0g) • Phéno (15.0 g) • Éthanol à 90° (10 ml) • Eau distillée (100 ml)
Lugol	<ul style="list-style-type: none"> • 100 mg/ml d'iodure de potassium (KI) • 50 mg/ml d'iode (I2).

Les réactifs :

VP 1 (5 ml)	<ul style="list-style-type: none"> • KOH : 40 g • H2O : 100 ml
VP 2 (5 ml)	<ul style="list-style-type: none"> • Alpha-naphtol : 6 g • Ethanol : 100 ml
Nit 1(5 ml)	<ul style="list-style-type: none"> • Acide sulfanilique : 0,4 g • Acide acétique : 30 g • H2O : 70 ml
Nit 2(5 ml)	<ul style="list-style-type: none"> • N,N-diméthyl-1-naphtylamine : 0,6 g • Acide acétique : 30 g • H2O : 70 ml

III. ANNEXE III

Matériel biologique

PRELEVEMENTS DU MILIEU
HOSPITALIER



PRELEVEMENTS DE PUS



PLASMA SANGUIN



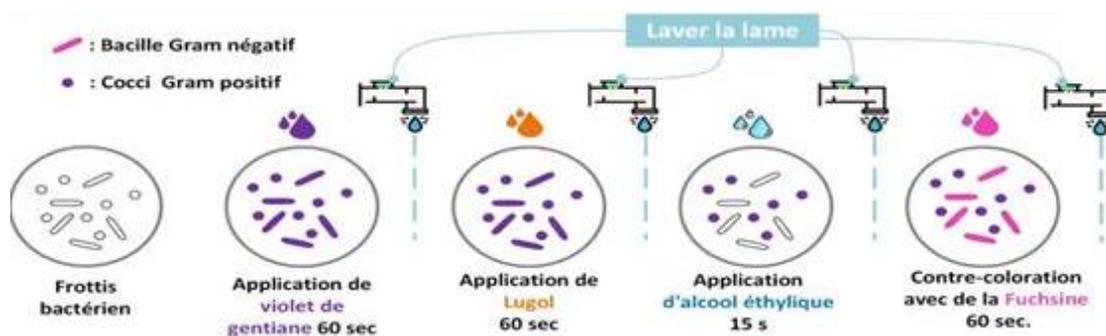
LA SOUCHE DE
REFERENCE (*STAPHYLOCOCCUS*
AUREUS ATCC 6538)



IV. ANNEXE IV

Technique de coloration de Gram

1. Inonder le frottis séché à l'air et fixé à la chaleur pendant 1 minute avec le réactif de coloration au cristal violet. Veuillez noter que la qualité du frottis (concentration cellulaire trop lourde ou trop légère) affectera les résultats de la coloration.
2. Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes
3. Inondation avec le mordant : iode ou lugol. Attendez 1 minute
4. Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes.
5. Inondation la lame avec agent décolorant. Attendre 15 secondes ou ajouter goutte à goutte pour faire sortir l'agent de décoloration
6. Inondation la lame avec contre-colorant, 'safranine'. Patienter 30 secondes à 1 minute.
7. Laver la lame dans un jet d'eau douce et indirecte de l'eau du robinet jusqu'à ce qu'aucune couleur n'apparaisse dans l'effluent, puis sécher avec du papier absorbant.
8. Observez les résultats de la procédure de coloration sous immersion dans l'huile. Examiner au microscope, objectif x100



V. ANNEXE V

Tableau de lecture de la galerie API STAPH

Tests	Composants actifs	Réactions/enzymes	Résultats	
			Négatif	Positif
0	Aucun	Témoin négatif	Rouge	-
GLU	D-glucose	Témoin positif	Rouge*	Jaune
FRU	D-fructose	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	acidification (D-ManNosE)		
MAL	Maltose	acidification (MALtose)		
LAC	Lactose	acidification (LACTose)		
TRE	D-tréhalose	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	acidification (D-MANnitol)		
XLT	Xylitol	acidification (XyLiTol)		
MEL	D-melibiose	acidification (D-MELibiose)		
NIT	Nitrate de potassium	Réduction des nitrates en nitrites		
			Incolore	Rouge
PAL	B-naphtyl ac. phosphate	Phosphatase alcaline	ZYM A+ ZYM B / 10min	
			Jaune	violet
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétyl méthyl-carbonyl	VP 1+ VP 2 /10min	
			Incolore/rose	Violet/rose
RAF	Raffinose	Acidification à partir du carbohydrate	Rouge	Jaune
XYL	Xylose			
SAC	Saccharose			
MDG	α -méthyl-D-glucosamine			
NAG	N-acétyl-glucosamine			
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Jaune	Orange/rouge
URE	Urée	Uréase	Jaune	Rouge/violet

Logiciel d'identification apiwebTM.

API 20 Staph	
Staphylococcus haemolyticus	TB Id
T	0,58
GLU	+
FRU	+
MNE	+
MAL	+
LAC	+
TRE	+
MAN	+
XLT	-
MEL	-
NIT	+
PAL	-
VP	-
RAF	-
XYL	-
SAC	-
MDG	-
NAG	-

API 20 Staph	
Staphylococcus hominis	Exc Id
T	0,94
GLU	+
FRU	-
MNE	+
MAL	+
LAC	+
TRE	+
MAN	-
XLT	-
MEL	-
NIT	+
PAL	-
VP	+
RAF	-
XYL	-
SAC	-
MDG	-
NAG	-

API 20 Staph	
Staphylococcus epidermidis	Exc Id
T	0,86
GLU	+
FRU	+
MNE	+
MAL	+
LAC	+
TRE	-
MAN	-
XLT	-
MEL	-
NIT	+
PAL	-
VP	+
RAF	-
XYL	-
SAC	-
MDG	-
NAG	-

VI. ANNEXE VI

Liste des antibiotiques à tester selon la famille

Familles d'antibiotiques	Groupe	Antibiotiques	Mode d'action
β – lactamines	Pénames	Pénicilline	Paroi bactérienne, partoxicité sélective Ils agissent sur la synthèse du peptidoglycane en inhibant les PLP.
		Oxacilline	
	Céphèmes	Céfoxitine	L'inhibition des PLP aboutit à l'inhibition de la formation des ponts pentacycliques responsables de la structure réticulée de la paroi.
Polymixines		Rifampicine	Ils possèdent une charge positive et agissent comme des agents tensio-actifs. Ils agissent sur la membrane cellulaire en se fixant sur les phospholipides d'où rupture de la barrière osmotique.
Quinolones		Ciprofloxacine	Inhibition sélective de la synthèse de l'ADN bactérien en agissant sur deux: l'ADN gyrase et l'ADN topoisomérase IV.
Fluoroquinolones		Lévofloxacine	
Macrolides		Erythromycine	Des inhibiteurs de la synthèse des protéines, ils agissent au niveau de la s/unité 50S du ribosome.
		Clindamycine	
Sulfamides + Triméthoprime		Triméthoprime + Sulfaméthoxazole	Agit sur deux enzymes : dihydroptéroate synthétase et dihydrofolate réductase
Phénicol		Chloramphénicol	Sous unité 50S du ribosome. Inhibition de la polymérase.
Cyclines		Tétracycline	Sous unité 30S du ribosome. Inhibiteurs de la phase d'élongation de la chaîne polypeptidique, ils empêchent la fixation de l'aminocyl-ARNt.
Aminosides		Amikacine	Inhibition de la synthèse des protéines bactériennes
		Gentamicine	
		Vancomycine	

Valeurs critiques du diamètre des zones d'inhibition et des CMI pour *Staphylococcus* spp

Antibiotiques testés	Charge des disque	Diamètres critiques (mm)			CMI critiques (µg/ml)			Commentaire	
		R	I	S	R	I	S		
Pénicilline	P	10 UI	≤28	-	≥29	≥0.25	-	≤0.12	Le test de la β-lactamase confirme les cas douteux. L'interprétation valable pour toutes les pénicillines inactivées par les β-lactamase (ampicilline ; ticarcilline, piperacilline)
Oxacillin (<i>stap.aureus</i> et <i>stap.lugdunensis</i>)	OX	-	-	-	≥23	≥4	-	≤2	Le disque d'oxacilline n'est pas fiable, tester le disque de cefoxitine 30µg pour détecter la résistance à la métiline de <i>stap.aureus</i> et des S.C.N
Cefoxitine (<i>stap.aureus</i> et <i>stap.lugdunensis</i>)		30 µg	≤21	-	≥22	≥8	-	≤4	Pour les staphylocoques (autre que <i>stap.lugdunensis</i> , <i>stap.epidemicus</i> , <i>Stap.pseudintermedius</i> et <i>stap.schleiferi</i>) les isolats dont la CMI à l'oxacilline comprises entre 0.5 et 2 µg/ml peuvent être MecA négatif. Pour les infections sévères, ces souches peuvent être testées pour les MecA ou la PLP2a, si le résultat est négatif elles peuvent être réparties sensibles à l'oxacilline
Oxacilline (S.C.N sauf <i>stap.lugdunensis</i>)	*	-	-	-	-	≥0.5	-	≤0.25	
Cefoxitine (S.C.N sauf <i>stap.lugdunensis</i> <i>Stap.pseudintermedius</i> et <i>stap.schleiferi</i>)		30 µg	≤24	-	≥25	-	-	-	
Gentamicine	CND	10 µg	≤12	13-14	≥15	≥15	8	≤4	Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à tous les autres aminosides sauf à la streptomycine
Amikacine (<i>stap.aureus</i>)	AK	30 µg	≤16	-	≥16	≥16	-	≤8	La détermination de la résistance à l'amikacine est mieux détectée avec la kanamycine
Amikacine (S.C.N)		30 µg	≤19	-	≥22	≥16	-	≤8	Kanamycine (30µg) : R < 18 mm pour <i>stap. aureus</i> , R < 22 pour S.C.N
Erythromycine	E	15 µg	≤12	13-14	≥15	≥8	1-4	≤0.5	Détecter la résistance inducible en plaçant le disque d'érythromycine à côté du disque de clindamycine en présence d'une image d'antagonisme, répondre (résistance à l'érythromycine et à la clindamycine)
clindamycine	CD	2 µg	≤14	15-20	≥21	≥4	1-2	≤0.5	
Vancomycine (<i>stap.aureus</i>)	VA	CMI	-	-	≥20	≥16	4-8	≤2	Le disque de vancomycine ne permet pas de différencier les souches vanco (S) et (I) de <i>Staphylococcus aureus</i> . Ni de différencier les souches vanco (S) et (I) et (R) de S.C.N, car les diamètres d'inhibition sont similaires. la détermination de la CMI de la vancomycine est obligatoire
Vancomycine (S.C.N)		CMI	-	-	-	≥32	8-16	≤4	
Teicoplanine		CMI	-	-	-	≥32	16	3	
Ofloxacine		5µg	≤14	15-17	≥18	≥4	2	≤1	
Ciprofloxacine	CP	5µg	≤15	16-20	≥21	≥4	2	≤1	
Levofloxacine		5µg	≤15	16-18	≥19	≥4	2	≤1	
Triméthoprime + sulfaméthoxazole	COT	1.25/23.75µg	≤10	11-15	≥16	≥4/75	-	≤2/38	
Rifampicine	RIF	5µg	≤16	17-19	≥20	≥4	2	≤1	
Tétracycline	TE	30µg	≤14	15-18	≥19	≥16	8	≤4	Les souches sensibles à la tétracycline sont sensibles à la doxycycline et à la minocycline
Chloramphénicol	C	30µg	≤12	13-17	≥18	≥32	16	≤8	
Quinupristine - daléfopriline	RD	15µg	≤15	16-18	≥19	≥4	2	≤1	A reporter pour les souches <i>Staph.aureus</i> métilino sensible Interprétation valable pour pristinamycine
Acide fusidique **	FS FA	10µg	≤24	-	≥24	≥1	-	≤1	
Fosfomycine IV**		200 µg	≤23	-	≥23	≥32	-	≤32	méthode de référence pour détermination de CMI est la dilution en milieu gélose en présence de glucose 6 phosphate (25mg/L)

S.C.N : staphylocoques à coagulase négatif

IV : intra veineuse CMI : concentration minimale inhibitrice

** extraits des recommandations du CASFM/EUCAST 2020

L'interprétation des souches du pus

L'interprétation des souches du milieu hospitalier pour la CMI

	VA
81G	S
43P	S
95P	S
3	S
96P	S
38P	S
81M	S
19	S
7	S
39P	S
44P	S
4	S
16	S
17''	S
17	S
77P	S
38M	S
76M	S
18	S
80P	S
8	S
141M	S
141P	S
142M	S
142P	S
143	S
144	S
145	S

	VA
146	S
147	S
149	S
150	S
151	S
153	S
155	S
158P	S
163	S
154	S
169	S
159P	S
172	S
171	S
178M	S
173	S
174	S
175	S
159M	S
178P	S
192P	S
188	S
189P	S
189G	S
194	S
181	S
187	S
187	S

189M	S
182	S
178PP	S
159MG	S
192M	S
179	S
111G	S
126	S
129M	S
129P	S
122	S
121	S
120P	S
118M	S
11P	S
115M	S
114M	S
114G	S
111P	S
106	S
107	S
101	S
105	S

104	S
102	S
167	S
195	S
78P	S
197	S
130M	S
130P	S
165	S
164	S
199	S
166	S
200	S
189M	S
15	S
18	S
183	S
32	S
177	S
129	S
25	S
112	S

L'interprétation des souches du PUS pour la CMI

VA	
769	S
809	S
711	S
MA	S
134	S
21	S
5	S
56	S
199	S
24	S

**L'interprétation de la résistance inductible à la clindamycine (les
souches de milieu hospitalier)**

L'interprétation de la résistance inductible à la clindamycine (les souches du pus)

L'interprétation de Screening test pour les souches du milieu hospitalier

L'interprétation de Screening test pour les souches du PUS

VII. ANNEXE VII

Méthode RCA

L'interprétation pour Les souches du milieu hospitalier

L'interprétation pour les souches du PUS

Méthode TCP

L'interprétation pour Les souches du milieu hospitalier

FB : Fort biofilm , **BM** :Biofilm modéré , **AB**: Absence de biofilm

L'interprétation pour Les souches du PUS

FB : Fort biofilm , **BM** :Biofilm modéré , **AB**: Absence de biofilm