
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
CENTRE UNIVERSITAIRE BELHADJ BOUCHAIB D'AÏN-TÉMOUCHENT



Institut des Sciences
Département des sciences de la nature et de la vie

Mémoire

Pour l'obtention du Diplôme de Master en Biologie
Option : Microbiologie Appliquée

Présenté par :
Melle. Fatna BELLAKDAR
Melle. Yakout ATTAR

EVALUATION DE LA FORMATION DU BIOFILM DES SOUCHES
ISOLEES DES CATHETERS VEINEUX PERIPHERIQUES CHEZ DES
PATIENTS HOSPITALISÉS A L'HOPITAL Dr BENZERDJEB (AÏN
TÉMOUCHENT).

Encadrant :
Mme. Meriem LACHACHI
Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu en 2018

Devant le jury composé de :

Président : M. Sofiane BENYAMINA Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Examinatrice : Mme. Imane M'HAMEDI Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Encadrant : Mme. Meriem LACHACHI Maitre de conférences "B" à C.U.B.B.A.T.

Remerciement

C'est grâce à la bénédiction de dieu le tout puissant et miséricordieux qu'on a accompli ce modeste travail.

Nos remerciements les plus sincères vont en particulier à :

Madame **Meriem LACHACHI**, notre encadreur qui a dirigée ce travail et nous a accordé toute sa confiance. Nous lui devons l'expression de notre profonde gratitude.

Monsieur **Sofiane BENYAMINA** qui nous a fait l'honneur de présider notre jury. Nous lui exprimons notre haute considération. Madame **Imane M'HAMEDI** nous ont marqué leur accord, a fin de juger notre travail.

Nos remerciements à **M^{elle} Lamia DOUKALI**, la biologiste qui faisait du personnel de l'unité de bactériologie au sein de l'établissement hospitalier Dr Benzardjab. Qui nous a beaucoup aidée durant notre stage et qui nous a tout donné a propos du travail en microbiologie ainsi que son soutien moral.

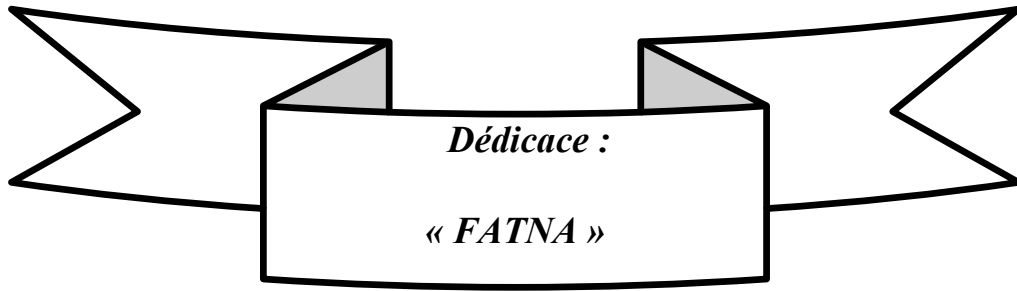
Nous remercions madame **Djamila MALIOUI** et madame **Nafissa**, pour leur aide matérielle et morale qu'ils trouvent notre reconnaissance et notre respectueuse admiration.

Nous tenons compte à remercier tout nos professeurs qui on voulu nous apprendre le métier de biologiste.

YAKOUT/ FATNA

Merci





Avec l'aide de Dieu, le tout puissant et tous les gens qui m'ont soutenu j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie à :

A mes très chers parents qui m'ont soutenu durant ce long trajet d'études, car toute réussite dans ma vie est grâce à leur sacrifice et leur soutien, Merci infiniment...

A ma chère sœur, mes chers frères pour leur soutien moral, leurs conseils, je vous remercie d'être toujours là pour moi.

A mes nièces et neveux Adem, Ayoub, Ali, Hadil et Amir, Merci d'avoir apporté la joie à mon cœur en toutes circonstances.

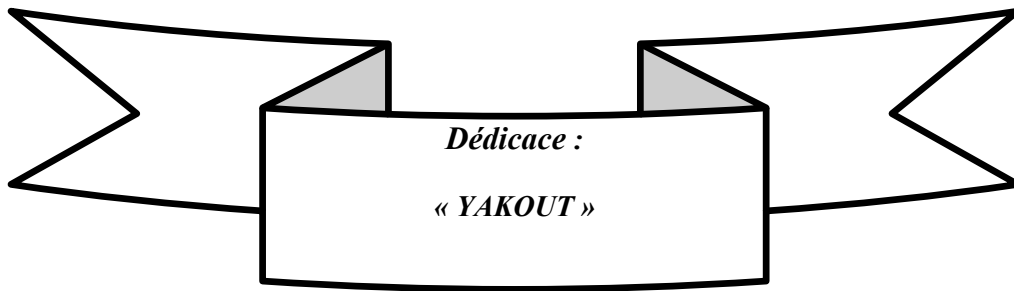
A tous les membres de ma familles : oncles, tantes et cousines.

Et

A ma meilleure amie Amel, ma sœur, avec qui je partage des moments de ma vie, tu es importante pour moi. Merci d'être là pour moi, Je t'aime.

A mon cher binôme Yakout.

A tous ceux que je connais de loin ou de près.



Grace a dieu le tout puissant, j'ai pu achever ce modeste travail que je dédie,

*A ma grande mère, mon exemple de la vie, en signe de profonde et affectueux reconnaissance pour tous les sacrifices qu'elle a bien voulu consentir pour moi. Merci
Mama.*

A mon père ABDELKADER et ma mère ASSIA, qui m'ont donnés l'opportunité de venir à la vie, merci mes chères parents je vous aime beaucoup

A ma tante KHEIRA, l'être le plus cher dans le monde qui n'a pas cessé de m'orienter vers la vie de réussite. Merci chère tante.

A son mari, ABDELKADER, ce qui je considère comme mon père, que Dieu vous bénisse, mon père spirituel.

A mes adorables frères et sœurs FATIMA ZOHRA et son époux KADIROU, YUCEF, ILHEM et ABDELAZIZ, et a mes tantes, NAWEL et FOUZIA et ses époux, pour l'amour, l'attention et l'aide qu'ils m'ont apportés.

A mes adorables neveux CHIRAZE, YACINE, RAYANE et MONSIF.

A mes très chères amies SALIHA, SOUMIA, et à mon cher binôme FATNA.

A tous ceux que je connais de loin ou de prés.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Première partie : Synthèse bibliographique

1. Les bactéries en milieu hospitalier 3

1.1 Les bactéries d'origine hospitalières responsables de la formation de biofilm 3

1.1.1 Bactéries Gram (+) Les Staphylocoques 4

1.1.2 Bactéries Gram (-) Les entérobactéries 4

2. Biofilm dans le secteur médical 5

3. Structure du biofilm 6

4. Formation du biofilm 7

5. Le quorum sensing 8

6. Les facteurs influençant la formation du biofilm 9

6.1. Caractéristiques de la surface 9

6.2. Caractéristiques de milieu 10

6.3. Propriétés des cellules 10

7. Processus par lequel un biofilm provoque des maladies 11

8. Biofilm et cathéters veineux périphériques 11

9. Biofilm face aux antibiotiques 13

Deuxième partie : Matériel et méthodes

1. Lieu d'étude 14

2. Prélèvement 15

3. Ensemencement et isolement 16

4. Purification 16

5. L'identification 16

5.1. Les staphylocoques 16

5.1. 1. Test de catalase 16

5.1. 2. Test de coagulase 17

5.1. 3. Identification et antibiogramme automatisées 17

5.2. Les entérobactéries	18
5.2. 1. Identification par la galerie API 20 ^E	18
5.2. 2. Antibiogramme Standard	18
6. Conservation des souches	19
7. Evaluation de la formation de biofilm in vitro	19
7.1 La méthode du Rouge Congo Agar (RCA)	19
7.2 Technique de plaque de Culture de Tissu (TCP)	19
Troisième partie : Résultats et discussion	
1. Prélèvement	22
2. Isolement et Identification	26
2.1. Les staphylocoques	26
1.1.1. Identification et antibiogramme automatisées	27
2.2. Les entérobactéries	29
2.2. 1. Identification par la galerie API 20 ^E	30
3. Evaluation de la formation de biofilm	34
3.1 La méthode du Rouge Congo Agar (RCA)	34
3.2 Technique de plaque de Culture de Tissu (TCP)	35
4. Antibiogramme	39
Conclusion générale	43
Références bibliographiques	44
Annexes	

Liste des abréviations :

AMC : Amoxiciline.

AMP : Ampicilline.

API : l'adhésine polysaccharidique intercellulaire.

BHIB : Bouillon infusion cœur cerveau.

BSI : Infection sanguine.

CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CFM : Cefotaxime.

CIP : Ciprofloxacine.

CIV : Cathéter intra vasculaire.

CT : Colistine.

CVP : Cathéter veineux périphérique.

CXT : Céfotaxime.

E : Erythromycine.

EPS : Exopolysaccharides.

FOS : Fosfomycine.

GEN : Gentamicine.

ICS : Infections de la circulation sanguine.

ISO : Infection du site opératoire.

IVU : Infection des voies urinaires.

LPM : Leucocytes polymorphonucléaires.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PBP : protéines liant la pénicilline.

PI : Acide pipémidique.

RCA : Méthode du Rouge Congo Agar.

RPA : Résistant à plus d'un agent Antimicrobien.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistante à la Méthicilline.

SCN : *Staphylocoques* à coagulase négative.

TCP : Méthode de Plaque de Culture de Tissus.

TE : Tétracycline.

UFC : Unité Formant Colonies

VA : Vancomycine.

Liste des figures :

Figure1: Surface externe du cathéter intraveineux récupéré d'un patient en microscope électronique à balayage.	6
Figure2: Les étapes de formation de Biofilm.....	8
Figure3: Cathéter vasculaire principales voies d'acquisition des microorganismes.....	12
Figure4: Colonisation extraluminale d'un cathéter.....	12
Figure5: Laboratoire central	14
Figure6: Schéma représentant la disposition de laboratoire central de L'EH	15
Figure7: Le Phoenix Dickinson.	18
Figure8: Détection et lecture de biofilm par méthode TCP	21
Figure9: Répartition de taux de la colonisation et d'infectivité des CVP Cathéter vasculaire principales voies d'acquisition des microorganismes	24
Figure10: Répartition CVP infecté en fonction de différent service concerné par l'étude	26
Figure11: Aspect phénotypique des Staphylocoques sur Chapman	27
Figure12: Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x 100).....	27
Figure13: Production de catalase par les souches isolées	29
Figure14: Production de coagulase par les souches isolées	29
Figure15: Les différents phénotypes observés sur la gélose Hektoen des CVP	30
Figure16: Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x 100).....	30
Figure17: Les différentes souches d'entérobactéries isolées	33
Figure18: Pourcentage des Staphylocoques et des Entérobactéries	34
Figure19: Evaluation de la production de biofilm par la méthode TCP	36
Figure20: Quantification de la formation de biofilm par les Staphylocoques et les entérobactéries en microplaques à 37°C	36
Figure 21: Taux de production de biofilm par la méthode TCP	38
Figure22: Résultats d'antibiogramme	39
Figure 23: Sensibilité des <i>Staphylocoques</i> aux antibiotiques	40
Figure 24: Sensibilité des <i>Entérobactéries</i> aux antibiotiques	40

Liste des tableaux :

Tableau 1: Classification de l'adhésion des <i>Staphylocoque spp</i> (Mathur <i>et al.</i> , 2006)	20
Tableau 2: Dépistage de la formation de biofilm (Hassan <i>et al.</i> , 2011).	20
Tableau 3: Les différents services et pathologies rencontrées chez les différents patients ...	22
Tableau 4: Résultat de l'identification par l'automate	28
Tableau 5: Résultat d'identification par la galerie Api 20 E des espèces isolées	32
Tableau 6: Résultat de la recherche de la production de slime sur milieu rouge Congo	35

Introduction

Introduction

Même si les bactéries sont capables d'une vie libre dans un environnement (vie planctonique), l'agglomération dans une structure pluri-microbienne représente leur mode de croissance le plus fréquent (**Seghir et al., 2016**). Leur regroupement et leur accumulation sur une surface conduisent à la formation de dépôt structuré regroupés sous le terme de biofilm (**Baillif et al., 2010**). Il s'agit d'une stratégie de survie qui permet aux ceux-ci de s'installer et de coloniser un environnement, en effet l'état planctonique pourrait se réduire au passage des bactéries d'une surface à l'autre (**Filloux et vallet, 2003**). Ces surfaces peuvent prendre de nombreuses formes, y compris les dispositifs médicaux à demeure et celles des tissus vivants tels que les valves cardiaques ou les poumons et l'oreille moyenne (**Donlan, 2001a**). La formation de biofilm offre une protection contre un large éventail de défis environnementaux, tels que la phagocytose et plusieurs antibiotiques et les agents antimicrobiens (**Stoodley et al., 2004**).

Les succès considérable de la médecine moderne sont liés à l'utilisation croissante des dispositifs médicaux. Conceptuellement, un dispositif médical est un appareil utilisé de façon provisoire ou permanente, externe ou interne, pour diagnostiquer des conditions ou pour préserver, restaurer ou augmenter une fonction dans le corps. Malgré le succès considérable obtenu avec ces dispositifs, ces surfaces abiotiques sont susceptibles à la colonisation bactérienne ce qui crée un problème important de la santé publique (**Treter et Macedo, 2011**).

Les Cathéters Intravasculaires (CIV) et leurs types (Cathéter veineux périphérique, Cathéter veineux central...) sont les dispositifs d'assistance les plus couramment utilisés chaque année pour différents fonctions (administration de liquide, du sang et de médicament, hémodialyse...). En raison de l'exposition au fluide corporel le dispositif devient un environnement approprié pour la formation de biofilm, par conséquence l'apparition d'une infection suivante avec prévalence de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Kumaravel, 2014**). Les cathéters intravasculaires sont devenus la principale cause des infections sanguines (BSI) associées aux soins. Ce processus réduit l'efficacité du traitement antimicrobien et prolongeant la durée du séjour dans les hôpitaux, les coûts et la morbidité (**Treter et Macedo, 2011**).

Introduction

L'infection associée au Cathéter veineux périphérique (CVP) est considérée comme impliquée dans 5% des cas de bactériémie nosocomiale qui a une moyenne de 670 pour 100.000 patients avec CVP (**Zhang *et al.*, 2003**). Pour ces raisons l'étude des infections liées aux CVP a pris de l'importance lors de l'évaluation des soins fournis aux patients.

En tenant compte de ces données, ce travail vise à étudier :

- ✓ Le risque infectieux lié aux cathéters veineux périphériques prélevés des patients hospitalisés au niveau de l'établissement hospitalier Dr. Benzerdjeb à Ain Témouchent,
- ✓ La recherche et l'identification des souches infectantes.
- ✓ La résistance des souches isolées des CVP aux antibiotiques et leurs capacité à former un biofilm in vitro par deux méthodes en mode statique sur la plaque 96 puits (TCP) et un dépistage phénotypique de la production de slime par la méthode du Rouge Congo Agar (RCA).

Synthèse bibliographique

1. Les bactéries en milieu hospitalier :

L'environnement hospitalier regroupe habituellement l'air, l'eau, les surfaces, le linge, les aliments, les dispositifs médicaux et les déchets, qui sont largement contaminés par des micro-organismes d'origine humaine ou spécifiquement environnementaux, cette contamination varie qualitativement et quantitativement dans le temps, d'un établissement à un autre et au sein d'un même établissement, en fonction des services, des patients, et les techniques des soins pratiqués (**Cavallo et al., 2002**).

Les microorganismes d'origines hospitaliers sont extrêmement variées ils peuvent être des bactéries, levures, champignons, virus et des parasites, la survie de ces espèces dans le milieu dépend de nombreux facteurs comme la nature du germe, la température, l'humidité, le type de surface et la formation du biofilm (**Bertrou et al., 2000**). Ce dernier est défini comme une communauté sessile dérivée de microbes, caractérisée par des cellules qui sont irréversiblement attachées à une interface et entre eux, et qui sont intégrés dans une matrice des substances polymériques extracellulaires autoproduite (**Donlan et Costerton, 2002a; M'hamedi et al., 2013**).

1.1 Les bactéries d'origine hospitalières responsables de la formation de biofilm :

Les bactéries responsables de la formation du biofilm en milieu hospitalier proviennent de la flore commensale du patient, de l'environnement ou de la microflore exogène transitoire véhiculée par le personnel hospitalier (**Seghir et al., 2016**). Dont lequel la flore commensale d'origine humains (peau, muqueuses) est essentiellement composée d'*Enterococcus*, les entérobactéries ou encore *Staphylococcus aureus*, pour la flore saprophyte (environnementale) les principaux sont les bacilles à Gram négatifs comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Legionella pneumophila* (**Cavallo et al., 2002**).

1.1.1 Bactéries Gram (+) Les Staphylocoques :

Les bactéries du genre Staphylocoques sont des commensales de la peau et des muqueuses humains. Cependant le système de surveillance des infections nosocomiales reconnaît que *Staphylococcus aureus* et les Staphylocoques à coagulase négatifs (SCN) sont des agents infectieux associés aux biofilm **(Roblerot et al., 2016)** le plus couramment isolé des infections chroniques liées à des implants médicaux **(Kara Terki et al., 2013)**.

Le processus global de formation de biofilm par *Staphylococcus epidermidis* et *Staphylococcus aureus* est très similaire **(Roblerot et al., 2016)** dont lequel la formation de biofilm est assurée par la production des Adhésines de Polysaccharide Extracellulaire (API), codées par les gènes *icaADBC* **(Valle et al., 2003)**.

1.1.2 Bactéries Gram (-) Les entérobactéries :

Les bacilles gram-négatifs varient dans les fréquences qu'ils causent les quatre types les plus fréquents d'infection nosocomiale: pneumonie, infection du site opératoire (ISO), infection des voies urinaires (IVU) et infection sanguine (BSI) **(Gaynes et al., 2005)**.

- *Pseudomonas aeruginosa* est un agent pathogène opportuniste qui provoque des infections nosocomiales sévères, aiguës et chroniques chez des patients immunodéprimés, cathétérisés ou brûlés **(Japoni et al., 2005)**. une fois que *P. aeruginosa* prend le mode de croissance du biofilm, il devient un agent pathogène hautement résistant, avec des conséquences importantes pour l'hôte **(Rogan, 2004)**.
- *Klebsiella pneumoniae* est un pathogène opportuniste qui infecte les patients immunodéprimés hospitalisés ou souffrant de maladies sous-jacentes graves, telles que l'obstruction pulmonaire chronique ou le diabète sucré, la formation de biofilm est considéré comme un facteur de virulence important pour *Klebsiella pneumoniae* **(Bellifa et al., 2013)**.

- *Acinetobacter spp*, sont des pathogènes nosocomiaux très importants, contribuant significativement à la morbidité et à la mortalité des patients, notamment hospitalisés en unité de soins intensifs (**Wroblewska et al., 2007**). *Acinetobacter baumannii* est l'une des bactéries courantes associées à des biofilms sur des dispositifs médicaux à demeure causant des bactériémies, des infections des voies urinaires, des méningites secondaires et des pneumonies (**M'Hamedi et al., 2013**).

2. Biofilm dans le secteur médical :

La plupart des infections peuvent être traitées efficacement avec des antibiotiques, cependant il y a deux exceptions importantes d'abord sont les bactéries résistantes et la seconde ceux qu'elles résident dans un biofilm qui peuvent être jusqu'à 1000 fois plus résistantes au traitement d'antibiotique que les mêmes organismes planctoniques (**Davey et al., 2000**). Le spectre des infections associées aux biofilms s'est profondément diversifié en intégrant des infections liées à des dispositifs médicaux implantés (prothèses articulaires, Valve prothétique, Cathéters urinaire, Cathéters vasculaires) (**Figure 1**) mais également des infections chroniques au cours desquelles les biofilms sont présents à la surface de tissus humains (**Lebeaux et al., 2016**).

Les preuves épidémiologiques montrent clairement que les biofilms jouent un rôle dans les maladies infectieuses, à la fois pour des affections spécifiques telles que la fibrose kystique et la parodontite et dans les infections sanguines et urinaires résultant de dispositifs médicaux à demeure (**Donlan et Costerton, 2002a**). L'OMS estime qu'entre 5 et 12% des patients hospitalisés dans le monde développent une infection associée aux soins (IAS) dont plus de 60% sont associées à l'implantation d'un dispositif médical ou chirurgical (**Espinasse et al., 2010**).

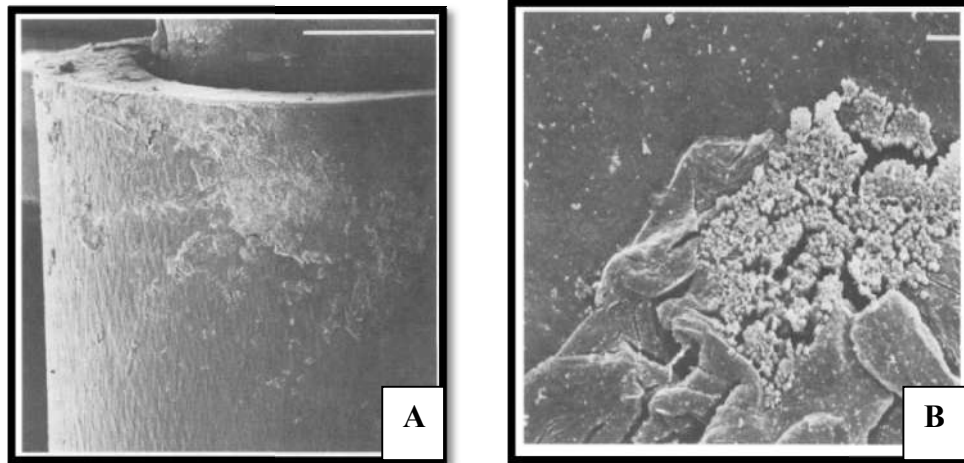


Figure 1 : **A** ; Surface externe du cathéter intraveineux récupéré d'un patient en microscope électronique à balayage. **B** ; Un grossissement plus élevé montre des amas de cellules coccoïdes intimement associés (**Marrie et Costerton, 1984**).

3. Structure du biofilm :

Un biofilm mature est composé de microcolonies de cellules d'environ 15% en volume (**Venkataramaiah et al., 2011**) qui peuvent être d'une seule espèce ou des espèces hétérogènes de bactéries et de champignons (**Abd El Baky, 2012**) et jusqu'au 85% de la matrice des substances exopolymériques (**EPS**) responsable de la morphologie et de la fonction des biofilms, l'eau et les polysaccharides sont les composants majeurs de cette matrice, mais les protéines, les acides nucléiques et les lipides sont souvent présents en quantités substantielles (**Cooper, 2010**) les canaux aqueux qui séparent les micro-colonies forment un réseau de circulation permettant d'une part, d'acheminer l'oxygène et les nutriments, et d'autre part d'évacuer les déchets (**Filloux et Vallet, 2003**).

Le biofilm est un milieu hétérogène au niveau biologique et physicochimique, dont lequel la présence d'EPS conduit à l'apparition de gradient d'oxygène et des nutriments qui se décroît depuis la surface vers la base ou les déchets métaboliques s'accumulent (**Lebeau et al., 2012**). L'hétérogénéité biologique est importante car les sous-produits métaboliques d'un organisme sert à soutenir la croissance d'un autre et l'adhésion d'une espèce fournit des ligands pour l'attachement d'autres espèces (**Abd El Baky, 2012**).

4. Formation du biofilm :

Les biofilms dans la nature peuvent avoir un niveau d'organisation élevé (**Chmielewski et Frank, 2003**). La colonisation microbienne des surfaces suit un modèle de base presque indépendant du type de surface et de l'emplacement (**Lutz, 1994**). Le développement de biofilm peut être divisé en quatre distinctes étapes (**Figure 2**): Fixation réversible, fixation irréversible, la maturation et le détachement (**Stoodly et al., 2002**).

- ❖ Le développement du biofilm commence à partir de la fixation initiale des bactéries à une interface, il s'agit d'un processus non spécifique et réversible dont lequel les bactéries peuvent perdre leur connexion à la surface (**Huihui et al., 2012**). L'adhésion peut être active ou passive selon la motilité cellulaire. L'attachement passif est entraîné par la gravité, la diffusion et la dynamique des fluides. En adhérence active, la surface de la cellule bactérienne facilite la fixation initiale (**Chmielewski et Frank, 2003**).
- ❖ Une fois que l'attachement réversible à une surface est affecté, les bactéries doivent maintenir leurs contact avec le substrat et se développer, il s'agit de la seconde phase de la fixation bactérienne est dite irréversible (**Stoodly et al., 2002**). Elle aboutit à un ancrage définitif des cellules, cette étape nécessitera l'expression de nouvelles structures adhésives telle que les fimbriae et les flagelles latéraux (**Biallif et al., 2010**) ainsi que la production d'exopolysaccharides (EPS) elle aboutit à une association stable avec la surface, la production commence suite un phénomène de communication cellule-cellule « Quorum Sensing », où les cellules bactériennes ressentent des signaux chimiques nécessaire pour la production d'EPS (**Treter et Macedo, 2011**).
- ❖ La maturation du biofilm qui suit l'attachement irréversible des microorganismes au support est caractérisée par un accroissement par division de ces bactéries, afin d'agrandir la colonie formée à la surface (**Klausen et al., 2003**). À ce stade, l'incorporation de bactéries d'espèces différentes ou d'autres microorganismes mène à la maturation et à la formation de biofilms polymicrobiens (**Abd El Baky, 2012; Lebeaux et Ghigo, 2012**).

- ❖ L'étape finale de la formation d'un biofilm est le détachement et la dispersion de cellules bactériennes, ces cellules ont la capacité d'adhérer à de nouvelles surfaces et de reformer un biofilm (**Yannick *et al.*, 2014**). Le détachement peut être causé par des perturbations externes, comme une augmentation du cisaillement des fluides ou par des processus de biofilms internes, tels que la dégradation enzymatique endogène d'EPS, Trois stratégies distinctes de dispersion de biofilm peuvent être identifiées: «dispersion d'essaimage» dans laquelle des cellules individuelles sont libérées d'une microcolonie, «dispersion agglutinante», dans laquelle les agrégats de cellules sont libérés comme amas ou emboles et «dispersion de surface», dans laquelle les structures de biofilm se déplacent sur les surfaces (**Stoodley *et al.*, 2004**).

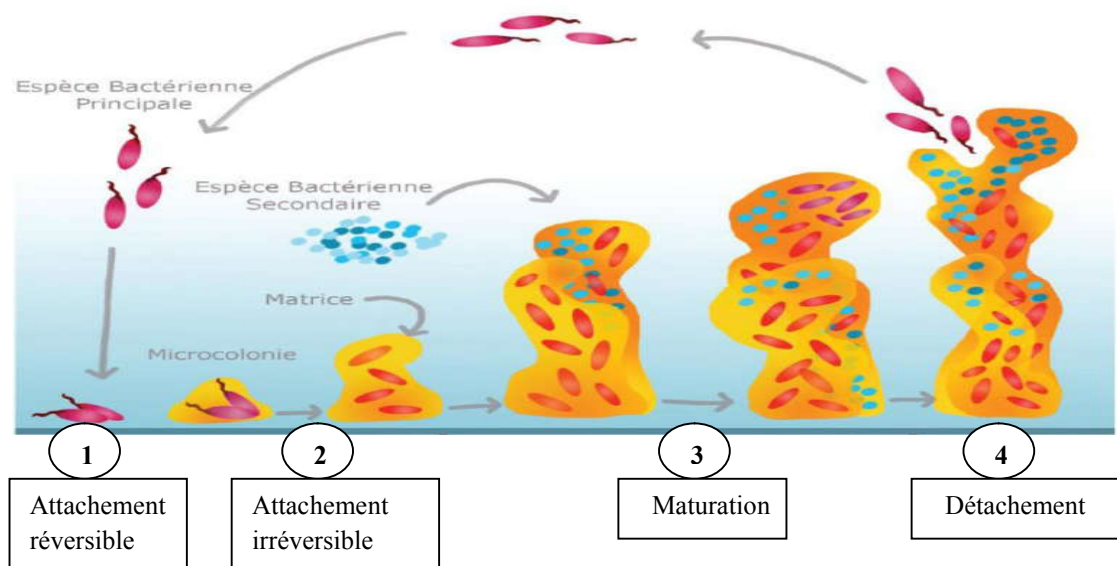


Figure 2 : Schéma présentant les étapes de formation du biofilm (**Yannick *et al.*, 2014**).

5. Quorum sensing :

Au cours de ces dernières années, un mode de régulation remarquable a été mis en évidence chez les bactéries, qui correspond à un mode de communication entre bactéries d'une même espèce (**Filloux et Vallet, 2003**) ce système, dit quorum sensing est une communication chimique implique la production, la libération, la détection et la réponse à de petites

molécules semblables à des hormones appelées auto-inducteurs (**Christopher et Bassler, 2007**).

Un premier système pour les bactéries à gram-positif qui s'appuie sur des polypeptides, et un deuxième pour les bactéries à gram-négatif est assuré par les N-acylhomosérines lactones (AHL) (**Seghir et al., 2016**). Ces molécules se fixent généralement à des récepteurs spécifiques et permettent l'activation d'un régulateur, induisant ainsi une réponse phénotypique collective lorsqu'un seuil de molécules est dépassé (**Lebeaux et Ghigo, 2012**).

6. Facteurs influençant la formation du biofilm :

La formation de biofilm est un processus bien organisé qui dépend des effets de la surface du conditionnement des films sur la surface, des caractéristiques du milieu et des propriétés de la cellule microbienne (**Martinez et al., 2007**).

6.1. Caractéristiques de la surface :

Les bactéries adhèrent aux surfaces biotiques ou abiotiques afin de les coloniser (**Roblero et al., 2016**). En général, les propriétés de surface telles que la composition chimique du matériau, l'énergie libre de surface, la charge, l'hydrophobicité, la rugosité et la porosité affectent directement l'adhérence bactérienne (**Treter et Macedo, 2011**).

L'adhésion bactérienne est contrôlée par l'hydrophobicité des surfaces, Les micro-organismes se fixent plus facilement à des surfaces hydrophobes que sur des matériaux hydrophiles (**Bendinger et al., 2003**). L'accumulation des biofilms à la surface des matériaux se réalise préférentiellement sur les surfaces poreuses en générale au niveau des aspérités, des ruptures de courbure et des coins (**Biallif et al., 2010**). En effet les surfaces lisses pourraient échapper à la colonisation (**Donlan et Costerton, 2002a**).

Le développement de couches adsorbées, souvent appelé «conditionnement» d'une surface, est considéré comme la première étape de la formation de biofilms. Ce film conditionné est susceptible de modifier les propriétés physicochimiques du substrat et donc d'influencer la fixation bactérienne (**Barnes et al., 1999**). Dont lequel de nombreuses études démontrent que la fixation se fait mieux sur les surfaces préconditionnées (**Chmielawski et Frank, 2003**).

6.2. Caractéristiques de milieu :

Les facteurs environnementaux tels que la température, la concentration bactérienne, l'existence de flux, la qualité des substances nutritives environnantes affectent l'adhésion bactérienne et la formation d'un éventuelle biofilm (**Biallif *et al.*, 2010**).

Les conditions d'écoulement sont considérées comme des facteurs dominants qui influencent le nombre de bactéries fixés (**Katsikogianni et Missirlis, 2004**). En effet, les bactéries forment les biofilms préférentiellement dans des environnements à très fort cisaillement (**Donlan et Costerton, 2002a**) ainsi que la structure peut changer en fonction de flux, les biofilms qui poussent dans les mouvements rapide ont tendance à former des serpentins filamenteux par contre dans les mouvements quiescentes, le biofilm tend pour former des structures en forme de champignons ou de monticules sont similaires à ceux de STROMATOLITES (**Stoodley et al., 2004**).

L'augmentation de la température favorise l'adhésion bactérienne, quand celle-ci croit l'expression de certains adhésines et la production de slime intervenant dans la phase d'adhésion irréversible augmente (**Biallif *et al.*, 2010**).

Les substances nutritives environnantes jouent un rôle majeur dans la formation de biofilm puisque une augmentation de la concentration en nutriments est corrélée à une augmentation du nombre de cellules bactériennes attachées (**Donlan, 2002b**).

6.3. Propriétés des cellules :

Pour une surface de matériau donnée, différentes espèces et souches bactériennes adhèrent différemment puisque les différentes espèces et souches ont des caractéristiques physicochimiques différentes (**Katsikogianni et Missirlis, 2004**). Les bactéries ont une charge de surface nette négative et se comportent habituellement comme des particules hydrophobes (**Chmielawski et Frank, 2003**). Généralement, les bactéries ayant des propriétés hydrophobes préfèrent les surfaces de matériau hydrophobes; ceux avec des caractéristiques hydrophiles préfèrent les surfaces hydrophiles (**Katsikogianni et Missirlis, 2004**). Mais les bactéries hydrophobes paraissent avoir une capacité d'adhésion supérieure par rapport aux bactéries hydrophiles (**Biallif *et al.*, 2010**). Les structures de surface cellulaire telles que les fimbriaes, les autres protéines et les flagelles jouent clairement un rôle important dans le processus d'attachement. (**Donlan, 2002b**).

7. Processus par lequel un biofilm provoque des maladies :

Le biofilm engendre des infections chez l'hôte humain par l'effet direct des cellules détachés qui peuvent être résistantes aux antibiotiques, cette résistance est acquise suite à un transfert génétique des plasmides par conjugaison (**Donlan et Costerton, 2002a**). Par ailleurs, si l'administration d'antibiotiques permet la disparition transitoire des symptômes en éradiquant les bactéries planctoniques, elle n'élimine pas le biofilm, qui constitue de nouveau une source d'infection (**Lebeaux, 2012**). Il est bien connu que les biofilms ont le potentiel d'agir comme une source chronique de contamination microbienne (**Barnes et al., 1999**).

Autre que l'effet direct les endotoxines produites par les bactéries Gram(-) peuvent toute fois susciter une réponse immunitaire. En plus de l'incapacité de système immunitaire (macrophage, anticorps...) d'accéder aux cellules bactériennes à cause de la matrice extracellulaire (**Donlan et Costerton, 2002**).

8. Biofilm et cathéters veineux périphériques :

Une grande variété de cathéters et de sites de perfusion sont utilisés pour fournir du liquide et de la nutrition aux patients, les cathéters périphériques sont les plus couramment utilisés (**Marrie et Costerton, 1984**). Il s'agit d'un tube simple utilisé pour la distribution de substances, implantés depuis la surface externe dans le vaisseau d'intérêt, dans lesquelles deux barrières sont violées lors du cathétérisme: la peau et la paroi veineuse, Cela permet le contact de l'environnement fortement contaminé par le flux sanguin le long de deux interfaces: la surface externe du cathéter et la lumière du cathéter (**Treter et Macedo, 2011**).

Les implants sont rapidement enrobés de protéines plasmatiques et conjonctives comme la fibronectine, fibrinogène et le collagène qui sert par la suite de récepteurs spécifiques aux microorganismes (**Von Eiff et al., 2005**) provenant essentiellement de la flore cutané du patient ou du professionnel migrant via le site d'insertion suivant la surface externe du cathéter (colonisation extraluminale) (**Figure 3,4**), Par contre la colonisation intraluminale du cathéter a pour origine l'introduction de microorganismes dans la lumière du cathéter par l'injection des préparations contaminées comme qu'elle peut également se résulter des épisodes bactériémiques occasionnés par la présence d'un foyer infectieux à distance (urinaire, pulmonaire, chirurgicale, digestive ou autre) (**Espinasse et al., 2010**).

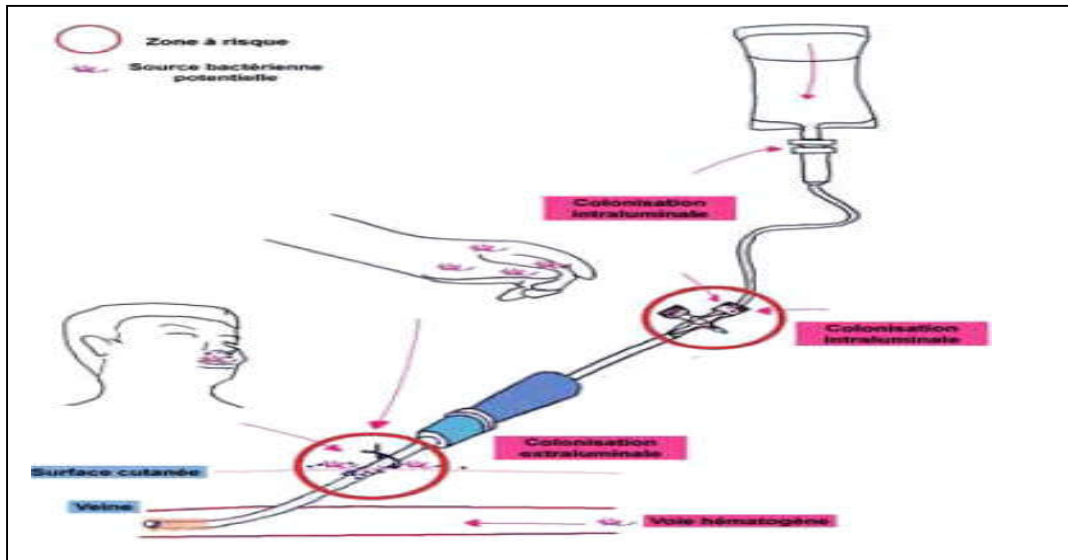


Figure 3 : Cathéter vasculaire principales voies d'acquisition des microorganismes (Espinasse *et al.*, 2010).

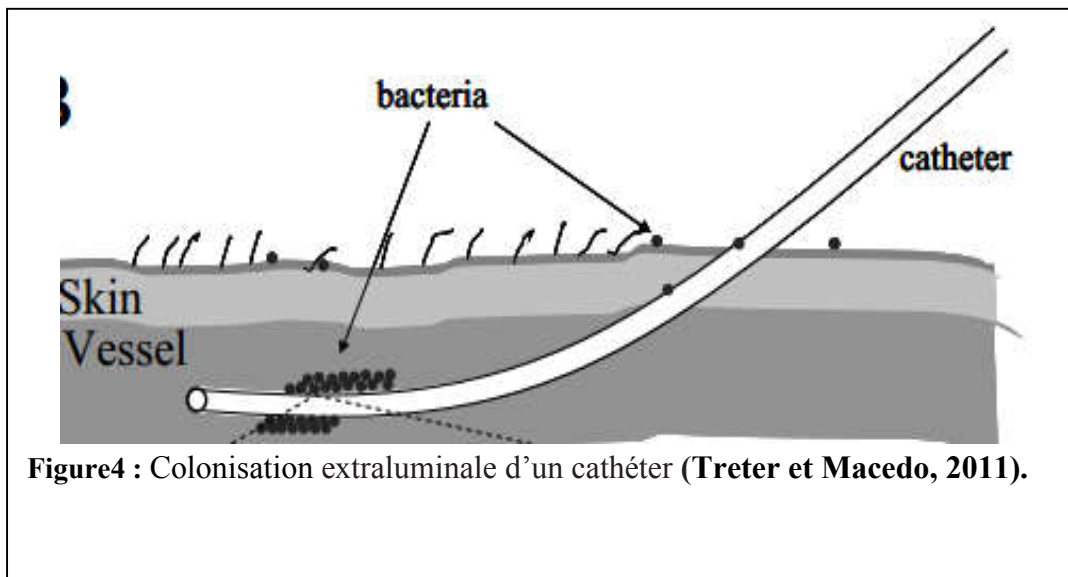


Figure4 : Colonisation extraluminaire d'un cathéter (Treter et Macedo, 2011).

9. Biofilm face aux antibiotiques :

Les antibiotiques se sont avérés être une catégorie dynamique de médicaments dans la lutte contre les bactéries infectieuses (**Iyoha et Tula, 2014**) cependant, même en présence des antibiotiques les bactéries peuvent adhérer, coloniser et survivre sur des dispositifs médicaux implantés (**Abd El-Baky, 2012**) de nombreux problèmes associés au développement des biofilms en milieu médical, ont pour origine leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens (**ROUX et al., 2006**) cette caractéristique, appelée tolérance, explique une partie des difficultés thérapeutiques rencontrées au cours du traitement des infections liées aux dispositifs médicaux implantés (**Lebeaux et al., 2014**).

Plusieurs facteurs peuvent expliquer la résistance des biofilms aux agents antimicrobiens, Un de ces facteurs est la matrice polymérique qui agit comme barrière réduisant ou empêchant la diffusion des agents antimicrobiens (**Yannick et al., 2014**) le ralentissement du rythme de croissance des cellules dans le biofilm, en raison de la limitation en nutriments, les cellules du biofilm ont un taux de croissance lent ce qui réduit leur sensibilité aux antimicrobiens (**Seghir et al., 2016**) en plus, la résistance acquise suite à un transfert génétique des plasmides par conjugaison entre les bactéries du biofilm (**Donlan, 2001b**).

Matériels et méthodes

1. Lieu d'étude :

Cette étude a été réalisée au niveau de L'Etablissement Hospitalier Dr Benzerdjeb de la wilaya d'Aïn Témouchent.

Depuis son ouverture en 2007, L'EH a fait un très grand pas dans la médecine puisqu' il rend d'énormes services non seulement pour la population de la région mais ainsi qu'aux malades en provenance des autres wilayas du pays.

Il est construit sur un modèle d'architecture hospitalière moderne avec une capacité litière de 240 lits qui sont répartis en 13 services spécialisé. Parmi lesquels le laboratoire central (**Figure 5**) qu'est composé de trois unités principale qui sont comme suit: L'unité de biochimie, d'hématologie et de bactériologie (**Figure 6**).

Cette dernière est d'une superficie de 80 m², elle contient un réfrigérateur, trois étuves, 4 microscopes optiques, 4 becs bunsens, 02 jarres, un appareil pour l'identification "BD phoenix " et un "Bactec fx40" pour l'hémoculture.

Le personnel de cette unité est composé de deux ingénieurs d'états en biologie "contrôle de qualité et analyses, un ingénieur en microbiologie, un ingénieur d'application et une laborantine paramédicale.



Figure 5 : Laboratoire central

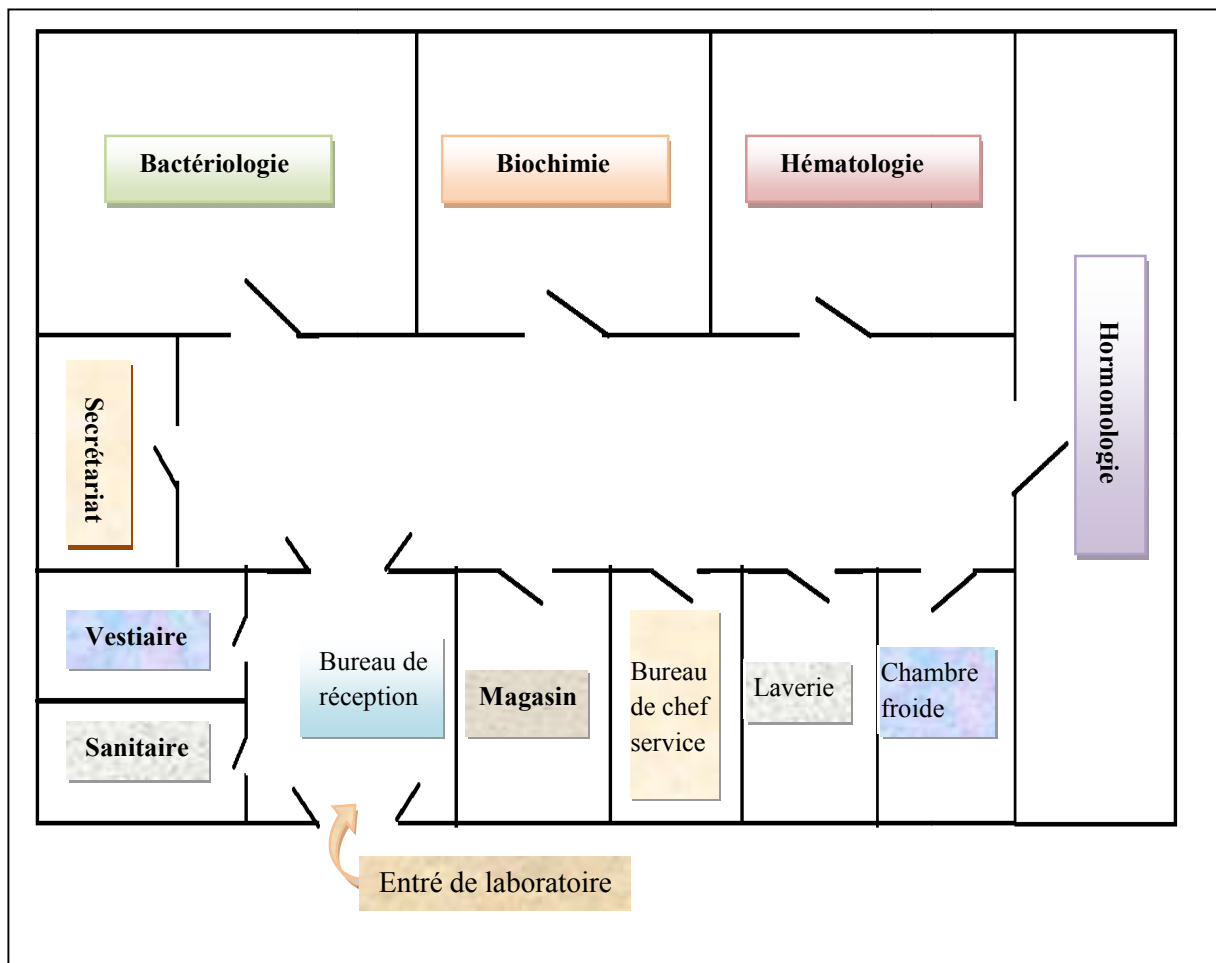


Figure 6 : Schéma représentatif de la disposition de laboratoire central

2. Prélèvement :

Les échantillons ont été prélevés sur une période de deux mois allant du mois de février jusqu'à avril 2018 dans différents services de l'établissement; les services concernés sont: Médecine interne, Cardiologie médicale, Urologie, Chirurgie cardio-vasculaire, Chirurgie générale, Neurologie et l'ophtalmologie.

Cathéters veineux périphériques (CVP) des patients hospitalisés pendant 48 heures et plus on été collectés aseptiquement et placés individuellement dans des tubes secs stériles puis acheminés au laboratoire pour l'analyse.

3. Ensemencement et isolement :

L'ensemencement a été effectué selon la méthode de « brun buisson », Il s'agit d'une technique quantitative qui explore la colonisation extraluminale et une partie de la colonisation endoluminale d'un cathéter (**Espinasse *et al.*, 2010**).

L'extrémité distale de chaque dispositifs a été coupée et mise dans 1ml d'eau physiologique stérile puis mise au vortex pendant une minute, un volume de 20µl est ensemencer sur la gélose nutritive pour la confirmation de l'infection et en même temps sur deux milieu sélectifs qui sont la gélose Chapman pour l'isolement des *Staphylocoques* et l'Hektoen pour l'isolement des *Entérobactéries*.

4. Purification :

Après l'isolement sur les deux milieux sélectifs, les colonies bactériennes obtenues ont été purifiés, selon l'aspect macroscopique par un repiquage sur les mêmes milieux sélectifs pour avoir des souches pures et identiques afin d'entamer l'identification bactérienne.

5. L'identification :

L'identification bactérienne a été réalisée par des techniques microbiologiques en différents étapes suivant le genre bactérien :

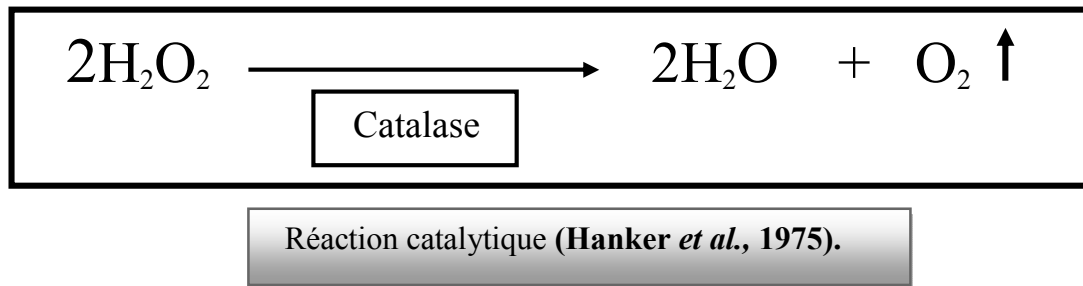
5.1. Les staphylocoques :

L'identification commence par un examen macroscopique de caractères cultureux (forme, couleur, taille, aspect) après la coloration différentielle de Gram, ces étapes permettent l'orientation à d'autres tests.

5.1.1. Test de catalase :

Le teste de catalase est une méthode pour différencier la plupart des bactéries aérobies et des anaérobies facultatifs, particulièrement pour différencier les staphylocoques des streptocoques (**Hanker *et al.*, 1975**).

A partir d'une culture pure, une petite quantité est prélevée et mise sur une lame contenant une goutte de peroxyde d'hydrogène le dégagement des bulles d'oxygène est considéré comme indicatif de l'activité de catalase dont lequel la réaction se fait selon la réaction suivante :



5.1.2. Test de coagulase :

Le test de coagulase est utilisé pour distinguer *Staphylococcus aureus* des autres *Micrococcaceae* (Barry *et al.*, 1973).

Les souches ont été testées pour la production de coagulase selon la technique de test de coagulase en tube, dont le quel les colonies prélevées ont été mises en suspension dans 0,5 ml de plasma humain d'un tube EDTA. Les tubes ont été incubés à 37°C, les résultats ont été interprétés après 24h pour la formation d'un caillot très ferme et opaque qui reste en place lorsque le tube est incliné (Sperber *et al.*, 1975).

5.1.3. Identification et antibiogramme automatisés :

L'identification bactérienne est essentielle dans le processus d'un examen bactériologique en donnant au clinicien des informations important sur la gravité ou le traitement d'une infection, pour cela elle doit être à la fois faible et rapide (Riegel *et al.*, 2016).

Selon le même principe que la technique biochimique manuelle pour l'identification bactérienne (la galerie API), les techniques automatisées permettent l'identification du genre et de l'espèce bactérienne et la réalisation d'un antibiogramme à partir de la même suspension. Parmi les principaux systèmes commerciaux le Phoenix Dickinson son débit est important puisque 100 bactéries peuvent être étudiées simultanément (Monier, 2003).

Cette technique se base sur l'identification et l'antibiogramme en milieu liquide, le Phoenix présente des panels combinées dont lequel une suspension bactérienne avec une densité optique comprise entre 0,30 et 0,60 DO, préalablement préparé dans deux réactifs spécifiques pour les deux compartiments est inoculé, puis mise en place au niveau de la cuve de l'automate (Figure 7), les résultats sont obtenus après 18h.



Figure 7 : Le Phoenix Dickinson

5.2. Les entérobactéries :

La caractérisation des entérobactéries se fait par des méthodes pareilles aux précédentes passant par l'étude macro et microscopique (coloration de Gram) ensuite vers l'identification biochimique avec les galeries API 20^E (Biomérieux France).

5.2.1. Identification par la galerie API 20^E :

La galerie API 20^E est un système miniaturisé et standardisé des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des entérobactéries, elle comporte 20 tests biochimiques.

Le principe est basé sur l'inoculation des micro-tubes avec une suspension qui réhydrate les milieux, l'incubation est à 37°C pendant 24h au cours duquel se déroulent les réactions biochimiques (décarboxylation, fermentation, désamination) (Ndoutamia et Bessimbaye, 2014).

5.2.2. Antibiogramme Standard :

L'antibiogramme a été effectué par la méthode de diffusion d'antibiotiques en gélose Muller Hinton selon la technique de Kirby-Bauer (Ndoutamia et Bessimbaye, 2014). La méthode consiste à déposer des disques imprégnés de 30µg des différents antibiotiques à la surface de la gélose préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne de 10⁸UFC/ml l'équivalent de 0.08 à 0.1 DO. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, chaque disque est entouré d'une zone d'inhibition, Les caractères de sensibilité ou de résistance ont été déduits

Matériels et Méthodes

selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM 2017).

Les disques d'antibiotiques testés sont les suivants : Gentamicine (Gen), Colistine (CL), Ciprofloxacine (Cip), Fosfomycine, (FOS) Céfotaxime (CTX), Acide pipémidique (PI) Amoxicilline(AMC) Ampicilline (AMP).

6. Conservation des souches :

Dans le cadre de maintenir les souches viable pour durée souhaité, la conservation à 4°C est réalisé dans des tubes de gélose nutritive incliné dont lequel les souches pure sont repiqués.

7. Evaluation de la formation de biofilm in vitro :

Il existe diverses méthodes pour détecter la production de biofilm comme la méthode de tissu en plaque (TCP) et la méthode Rouge Congo Agar (RCA) (Hassan *et al.*, 2011).

7.1. Méthode du Rouge Congo Agar (RCA) :

La caractérisation de la production de biofilm par production de slime a été réalisée par culture des souches sur le milieu RCA. La technique a été décrit par Freeman comme une méthode alternative de criblage de la formation de biofilm, ce qui nécessite l'utilisation d'un milieu solide spécialement préparé avec un bouillon de coeur infusion (BHIB) de (37 g / l), de saccharose (50 g / l), d'agar n (10 g / l) et de colorant rouge congo (0,8 g / l) (Mathur *et al.*, 2006). Le milieu préparé est ensuite ensemencé avec une anse d'une suspension des souches bactériennes et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Un résultat positif a été indiqué par les colonies noir et bordeaux presque noirs (caractère variable) alors que les souches non productrices ont développé des colonies rouges (Nasr *et al.*, 2012).

7.2 Méthode de plaque de culture de tissus (TCP) :

La détermination quantitative de la formation de biofilm dans les microplaques à 96 puits est basé sur la mesure colorimétrique du cristal violet incorporé par cellules sessiles (Chavant *et al.*, 2006).

Matériels et Méthodes

Les isolats ont été cultivées en milieu BHIB (Bouillon infusion cœur cerveau) et incubées 24h à 37°C. A partir de chaque culture jeune les puits d'une microplaque de 96 puits ont été inoculés avec 20 µl, chaque puits a été supplémenté de 150 µl de BHIB.

Un puits non inoculés est utilisés comme témoin négatif et trois puits sont inoculés horizontalement pour chaque isolat. Les microplaques sont recouvertes stérilement et incubées pendant 24h à 37°C.

Après l'incubation la microplaque a été vidée délicatement, rincée 3 fois avec de l'eau distillée stérile séchées en position inversée. Le biofilm formé est ensuite coloré avec du cristal violet pendant 30 min d'incubation. L'excès du colorant a été éliminé par 5 lavages successifs. Le colorant incorporé par les cellules adhérentes a été solubilisé avec l'éthanol à 95%. La quantité de cristal violet solubilisé après 5 min à été mesuré par lecture de la densité optique à 570nm dans un lecteur de plaque ELISA (**Figure 8**). L'interprétation de la production de biofilm a été faite selon les critères de **Mathur et al., (2006) (Tableau 1)**, pour les Staphylocoques tandis que l'interprétation de la production des entérobactéries a été faite selon les critères de **Hassan et al., (2011) (Tableau 2)**.

Tableau 1: Classification de l'adhésion des *Staphylocoque spp* selon **Mathur et al., (2006)**.

Valeur DO	Formation de biofilm
<0,120	Faible
0,120-0,240	Modéré
>0,240	Forte

Tableau 2: Dépistage de la formation de biofilm selon les critères d'**Hassan et al., (2011)**.

Valeur DO	Formation de biofilm
DO ≥ Témoin	Faible
2x DO > Témoin	Modéré
4x DO > Témoin	Forte

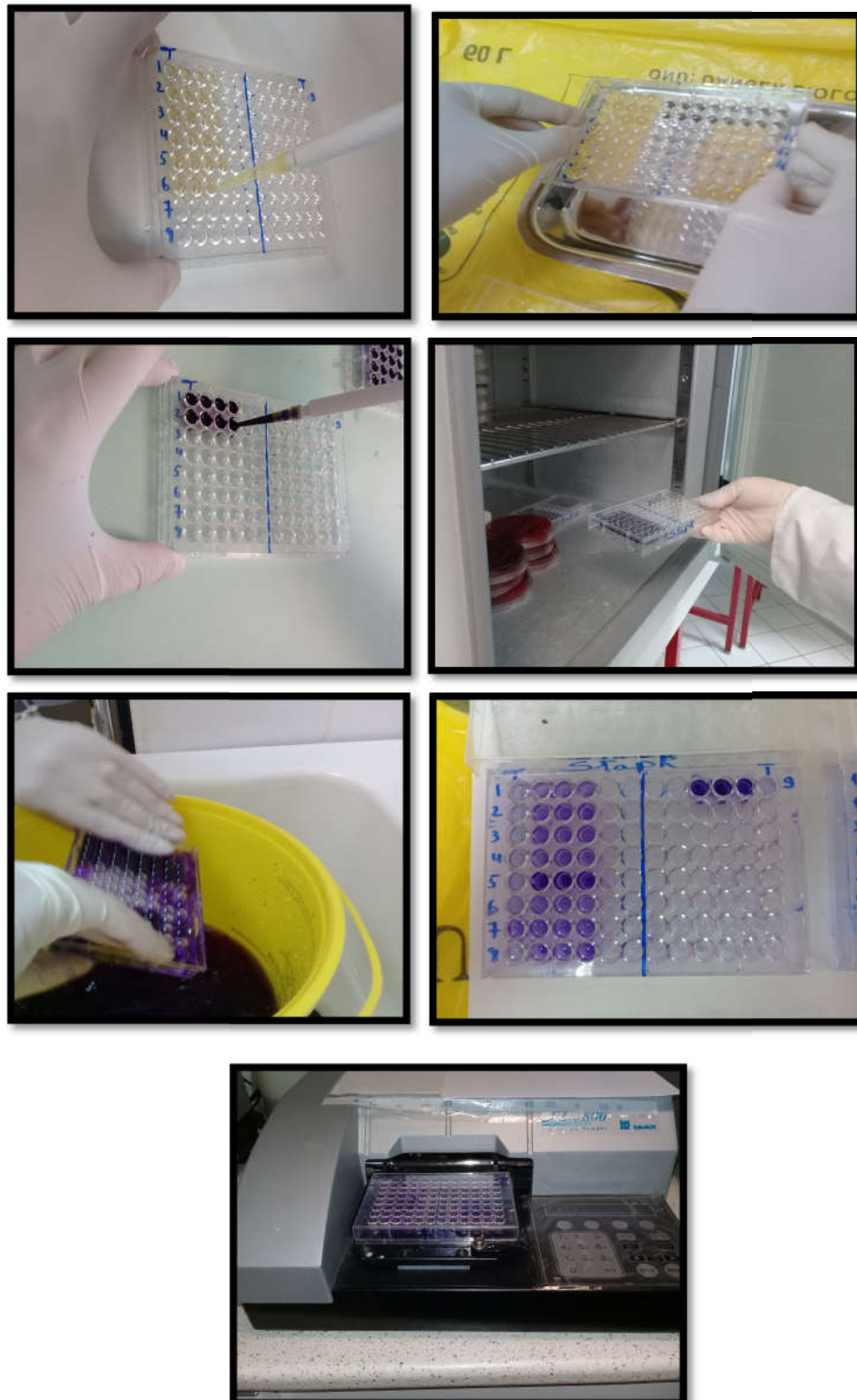


Figure 8 : Détection et lecture de biofilm par méthode TCP.

Résultats et Discussion

Résultats et discussion

1. Prélèvement :

Sur une période de deux mois allant du février à avril 2018 un ensemble de 68 cathéters veineux périphériques ont été prélevés chez 68 patients hospitalisés de 48h et plus dans sept services qui sont : Médecine interne, Cardiologie médical, Chirurgie générale, Chirurgie cardio-vasculaire, Urologie, Neurologie et l'ophtalmologie. L'âge des patients est compris entre 22 et 80 ans, les caractéristiques de ces patients sont résumées dans le **Tableau (3)**.

Tableau 3 : Les différents services et les pathologies rencontrées chez les différents patients.

Service	Nombre de prélèvements	Pathologie
Médecine interne	14	Pied diabétique. Déséquilibre glycémique.
Cardiologie médical	11	Insuffisance cardiaque. Pace Maker
Chirurgie générale	10	Cholécystectomie Appendicite. Occlusion. Néo de sein.
Chirurgie cardio-vasculaire	9	Coronariennes. Des varices. Pontage coronarien
Urologie	9	Infection urinaire. Lithiase rénale et vésicale. Fracture de la Viège.
Neurologie	7	Hernie discale lombaire. Hydrocéphalie. Kyste sébacé.
Ophtalmologie	8	Cataracte. Glaucome. Eviscération

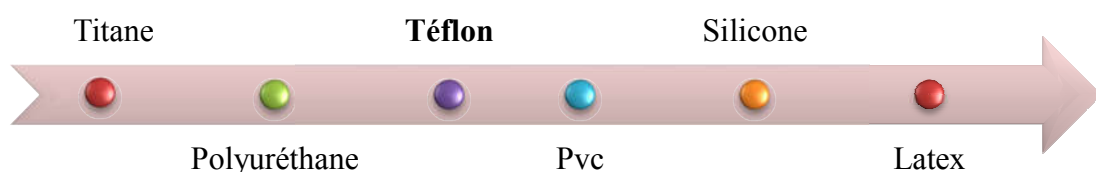
Résultats et discussion

Un dispositif est considéré comme colonisé si la numération des bactéries est supérieure ou égale à 10^3 UFC/mL. Celui-ci est considéré comme infecté si cette numération est accompagnée de symptômes cliniques (**M'hamedi, 2014**).

Dans notre étude 43% des CVP prélevés présentent une numération supérieure ou égale à 10^3 UFC/ml et qui sont considérés comme résultats positifs, contre 57% ayant une numération inférieure à celle-ci (**Figure 9**). Les patients porteurs de ces cathéters présentaient des signes d'infection que ce soit des signes locaux inflammatoires (rougeur, douleur), ou des signes généraux (fièvre supérieure à 38°C).

Nos résultats montrent que les CVP sont moyennement colonisés, Ce qui est en accord avec les résultats de **Boudelal (2013)** et de **Seghir (2015)** dont lequel la colonisation est de 44% et 23 % par ordre. En effet la colonisation bactérienne et la formation de biofilm sur les différents types de cathéters intraveineux (CIV) est influencée par la nature et la composition chimique de ceux-ci (**LOPEZ et al., 1991**).

Les CVP étudiées sont faits du Téflon, d'après **Pascual (2002)**, **Sheth et al., (1983)** l'évaluation de la cinétique d'adhérence de différents micro-organismes à des cathéters en différents biomatériaux a montré que l'adhésion bactérienne au Téflon était significativement plus faible que l'adhérence aux autres biomatériaux pour toutes les souches testées. L'adhésion microbienne aux biomatériaux se produit dans l'ordre suivant : (**Abd El Baky, 2012**).



L'utilisation de dispositifs pour l'accès vasculaire est associée à un risque de maladies principalement à des infections sanguines (**Maki et al., 2006**). Les infections associées aux cathéters sont une source importante de morbidité et de mortalité nosocomiales (**LOPEZ et al., 1991**). Plus de 200 000 infections sanguines nosocomiales se produisent chaque année aux

Résultats et discussion

États-Unis dont lequel la plupart de celle-ci sont liées à différents types de dispositifs intraveineux (Mermel *et al.*, 2001).

Dans les pays européens, la mortalité imputable aux infections par cathéter atteint 10 à 12% en Allemagne, 17,1% en Italie et 11% en France. D'après le Consortium international de contrôle des infections nosocomiales (CICIN) que dans les pays en développement, les taux d'infections associées aux dispositifs et de résistance bactérienne sont 3 à 5 fois plus élevés que les normes internationales (Treter et Macedo, 2011).

Selon Mermel *et al.*, (2001) une récente méta-analyse de 2573 infections de la circulation sanguine (ICS) à montré que 19% de létalité sont attribués à l'infection liée aux CIV mais les facteurs de risque d'infection varient selon le type de ceux-ci; la taille, le service de l'hôpital; l'emplacement du site d'insertion; et la durée du placement. Pour Espinase *et al.*, (2010) le risque infectieux associé aux CVP est perçu comme faible à cause de la courte durée d'exposition, mais probablement sous-estimé par manque de spécificité des signes locaux avec résolution spontanée de l'infection à l'ablation. Dont lequel deux cents études qui ont prospectivement examiné le risque des ICS lié aux cathéters vasculaires, ont révélés que les taux d'infections des CVP est seulement de 0,1% (Maki *et al.*, 2006).

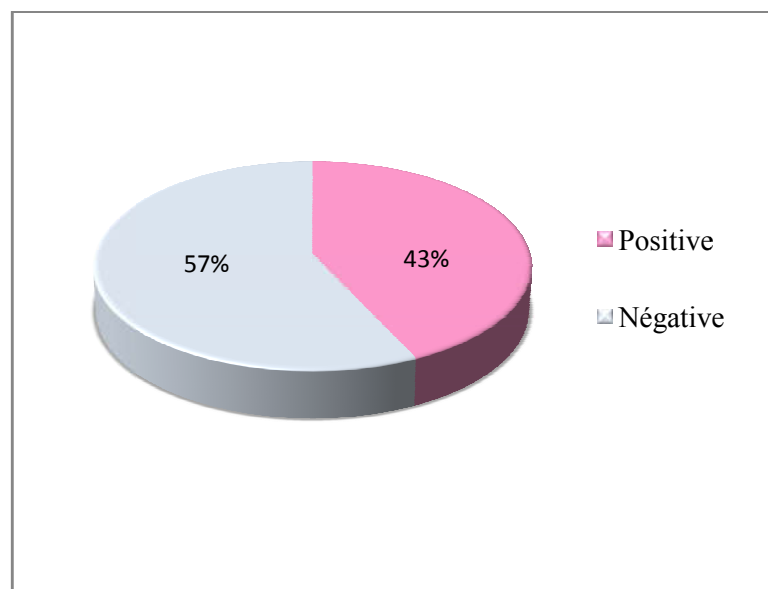


Figure 9: Répartition de taux de la colonisation et d'infectivité des CVP.

Résultats et discussion

D'après ces mêmes résultats et suivant la répartition des prélèvements en fonction des services, On constate que le service de la Médecine interne et de la Cardiologie Médicale présente un grand pourcentage des CVP infectés d'environ 64% suivi par le service d'Urologie, Neurologie, Chirurgie cardiovasculaire, Chirurgie générale et finalement L'ophtalmologie (**Figure 10**).

Nous avons remarqués que les CVP infectés issue des deux services avec les grands pourcentages concernent des patients ayant les pathologies suivantes : (Diabète, Pacemaker).

D'après **Katsikogianni (2004)**, le groupe le plus important des patients particulièrement sensibles pour les infections comprend ceux avec des corps de polymère étrangers implantés. Les infections résultent de la contamination du cathéter, où les micro-organismes sont partiellement protégés des mécanismes de défense de l'hôte, prolifèrent rapidement et provoquent des pathologies (**Ashkenazi et Mirelman, 1984**). Le processus peut être particulièrement pertinent pour les patients immunodéprimés, qui n'ont pas la capacité de combattre les organismes envahisseurs (**Donlan et Costerton, 2002a**). Tout comme les patients diabétiques qui sont caractérisés par un déficit fonctionnel des leucocytes polynucléaires favorisant leur susceptibilité à des infections (**Sidibé, 2007**).

Dans le cas des patients avec des stimulateurs cardiaques artificiels, les infections sont fréquentes, avec une incidence allant de 1% à 5% (**Lopes et al., 2017**). Cependant, les cathéters intraveineux sont colonisés par contamination intraluminale suite à un ensemencement hématogène à partir d'un site infectieux distal (**Bach et al., 1996**).

L'adhésion des bactéries à la surface d'un cathéter est une étape critique dans le développement d'une infection associée à celui-ci. La persistance des bactéries adhérentes est essentielle pour la colonisation et la formation du biofilm, Un facteur significatif dans cette persistance est l'immunité déprimée induite par la présence du dispositif. Le système du complément et l'activité des leucocytes polymorphonucléaires LPM peuvent être affectés par la présence d'un dispositif implanté (**Pascal, 2002**). A ce propos **Lopez et al., (1990)** expliquent l'effet des différents biomatériaux utilisés pour fabriquer des cathéters sur les mécanismes de défense de l'hôte, en particulier l'activité phagocytaire, En présence des cathéters en téflon la production de radicaux superoxydes par les LPM était significativement inhibée. Rappelons que les radicaux superoxydes synthétisés par les LPM servent à détruire les bactéries (**Borel et al., 1988**).

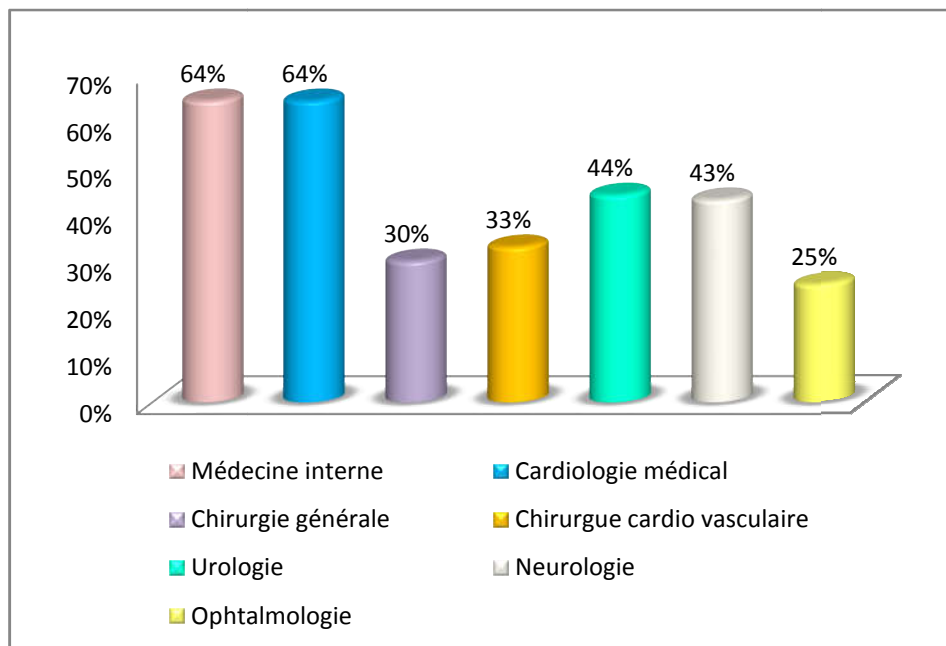


Figure 10: Répartition CVP infecté en fonction de différents services concernés par l'étude.

2. Isolement et Identification :

Sur les deux milieux sélectifs 37 souches ont été isolées et purifiées pour une éventuelle identification. Cette dernière est basée essentiellement sur des examens macroscopiques et microscopiques ainsi que l'identification biochimique. Les souches isolées ont permis d'assigner 23 souches des Staphylocoques et 14 souches des Entérobactéries.

2.1 Les staphylocoques :

Le milieu de Chapman est un milieu d'isolement sélectif pour les bactéries du genre *Staphylococcus* (bactéries halophiles) grâce à la forte concentration en chlorure de sodium. Cependant le développement des bactéries sur ce milieu peut être qu'une présomption des Staphylocoques puisque d'autres bactéries que ceux-ci peuvent y cultiver (*Enterococcus* et *Micrococcus*).

Les souches isolées sur ce milieu présentent l'aspect macroscopique caractéristique du genre *Staphylococcus* dont lequel les colonies apparues souvent pigmentées et entourées d'une auréole jaune dans le cas où le mannitol est fermenté, si non les colonies sont de couleur blanche (**Figure 11**).

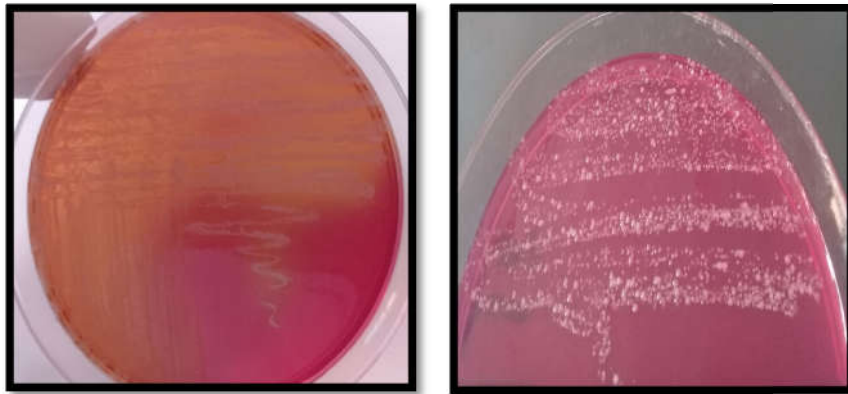


Figure 11: Aspect phénotypique des Staphylocoques sur Chapman.

L'examen microscopique après coloration de Gram a permis d'observer des cocci Gram positif regroupés en amas et parfois en diplocoque (**Figure 12**).

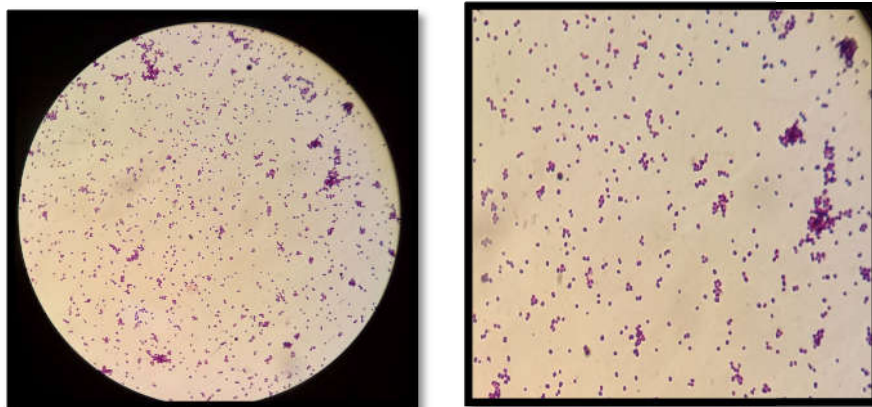


Figure 12: Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x 100).

2.1.1 Identification par l'automate :

Selon les moyens disponibles et à cause de l'insuffisance des panels nécessaire pour l'identification cela nous a incités à identifier seulement 9 isolats.

L'identification par l'automate a permis de caractériser 4 espèces de genre *Staphylococcus* *sp* et une espèce de genre *Aerococcus* *sp* (**Tableau 4**).

Tableau 4 : Résultat de l'identification par l'automate.

Genre	<i>Staphylococcus sp</i>				<i>Aerococcus sp</i>
Espèce	<i>S.haemoliticus</i>	<i>S.simulans</i>	<i>S.lugdunensis</i>	<i>S.aereus</i>	<i>A.viridans</i>
Nombre de souche	3	1	1	1	3

Nous avons trouvés que les deux espèces les plus répandus sont *S.haemoliticus* et *A.viridans* avec 3 souches pour chaque une d'entre elle.

Les Aérocoques sont de plus en plus reconnus comme pathogènes pour l'homme présentent à la fois comme une partie de la flore normale des voies urinaires et de la flore buccale et qui ont été montré pour causer des infections humaines parmi les mécanismes de virulence ; la formation de biofilm sur les implants médicaux à demeure (**Rasmussen, 2015**).

Aerococcus viridans provoque également des infections systémiques y compris les infections des voies urinaires, la bactériémie et l'endocardite. Les principaux facteurs de risque liés à l'infection systémique d'*A. viridans*, l'hospitalisation prolongée, l'implantation de corps invasifs (**Liang et al., 2010**).

Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont des agents pathogènes nosocomiaux majeurs dont lequel la capacité de former un biofilm est considérée comme le facteur de virulence le plus important dans les infections à SCN, Parmi les SCN, *Staphylococcus haemolyticus* est le deuxième dans sa fréquence d'isolement des hémocultures humaines, il joue un rôle important dans les infections opportunistes hospitalières liées aux dispositifs médicaux implantés (**Fredheim et al., 2009**).

La confirmation de l'identification biochimique automatisée a été réalisée par un test de catalase et de coagulase dont lequel toutes les bactéries du genre *Staphylococcus* sont catalase positif, ce qui est traduit par le dégagement de bulles d'air. Bien que Les Aérocoques apparaissent sous la forme de paires ou de grappes dans la coloration de Gram, mais contrairement aux staphylocoques, ils ne produisent pas de catalase (**Figure 13**).

Résultats et discussion

Aerococcus viridans a été décrit en 1953 comme étant une espèce à catalase négatif ou faiblement catalase positive, aérobic facultative ou microaérophile, produisant une croissance médiocre à la surface des milieux gélosés. Lors de l'identification d'un Aerocoque il est susceptible d'être classé comme un Streptocoque α hémolytique sur une gélose au sang ou comme un Staphylocoque après la coloration de Gram (Rasmussen, 2012).

Staphylococcus aureus est la seule espèce possédant l'enzyme de la coagulase libre ce qui a été confirmé par nos résultats dont lequel les Staphylocoques autre que celle-ci sont à coagulase négatif ainsi que l'*Aerococcus viridans* (Figure 14).

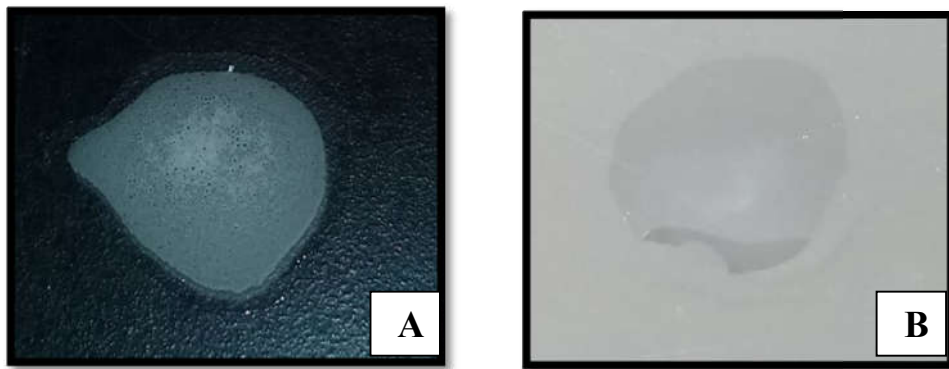


Figure 13 : Production de catalase par les souches isolées, A : réaction positive, B réaction négative.

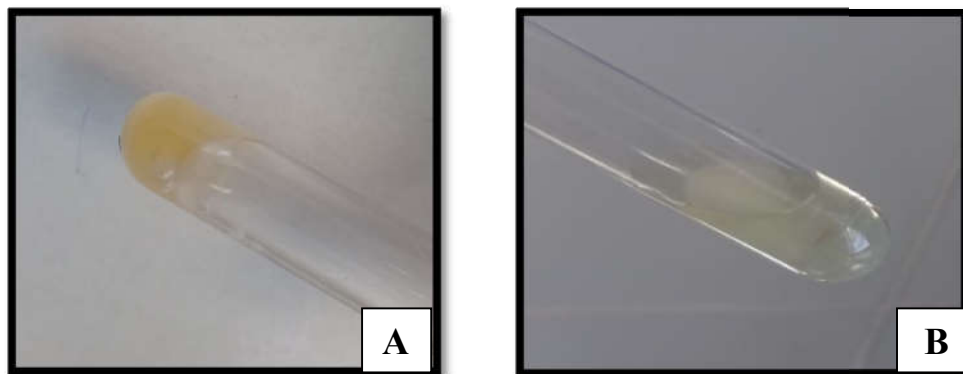


Figure 14: Production de coagulase par les souches isolées, A : Réaction positif, B Réaction négatif.

2. Les entérobactéries :

La gélose Hektoen est un milieu sélectif pour l'isolement des entérobactéries, Le principe de lecture est fondé sur la fermentation éventuelle des 3 glucides présents dans le milieu (lactose, saccharose, salicine). Les microorganismes qui fermentent au moins l'un d'entre eux fermentent

Résultats et discussion

des colonies de couleur “saumon” (*E.coli*, *Klebsiella*, *Enterobacter*), les autres donnant des colonies bleues ou vertes (*Pseudomonas*) (**Figure 15**).

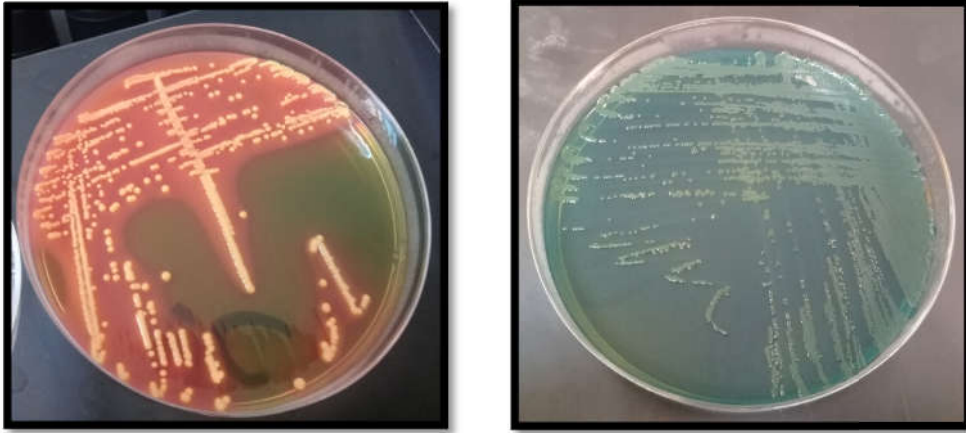


Figure 15 : Les différents phénotypes observés sur la gélose Hektoen.

La coloration de Gram des colonies isolées, a confirmée que c’est des bacilles à Gram négatif colorés en rose souvent incurvés non sporulés (**Figure 16**).

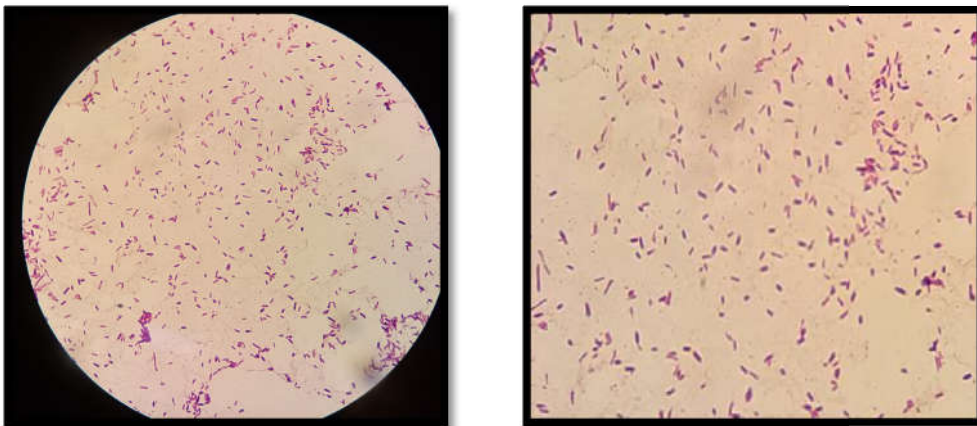


Figure 16: Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x 100).

2.2.1 L'identification par la galerie Api 20 E :

L'identification par la galerie Api 20 E a révélé l'existence de sept espèces réparties en 5 genres différents de bacilles Gram négatifs dont lequel 4 genres appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae* et un genre (*Pseudomonas sp*) de la famille de *Pseudomonadaceae*. (**Tableau 5**).

Résultats et discussion

Nous constatons que ces résultats sont effectivement logiques puisque ces germes là sont répandus en milieu hospitaliers, D'après **Bertrou *et al.*, (2000)** l'environnement hospitalier est fortement colonisé par la flore des bactéries saprophytes, est composée essentiellement de bacilles Gram négatif, la présence de ces germes dans le réservoir environnementale est impliquée dans le survenue des infections.

L'étude de **Nouetchognou *et al.*, (2016)** a montré une prédominance des organismes à Gram négatif en tant qu'agents infectieux pour les infections nosocomiales. Cela est dû à cause de l'exposition à l'eau du robinet pour les bacilles hydrophiles. D'autres bacilles Gram négatifs ont une origine fécale ressemblent à *E. coli* sont propagées en raison de manque d'hygiène personnelle du patient et en particulier à cause des mains des soignants.









Nos résultats montre que *Pseudomonas fluorescens* occupent une place importante dans la colonisation des CVP suivi par *P. aeroginosa*; *Klebseilla pneumonie et Acinitobacter baumannii*. Tout ces germes la sont responsable des infections nosocomiales liées aux cathétérismes (**Figure 17**).

Selon **Gershman *et al.*, (2008)** *P. fluorescens* provoque des (ICS) liée au cathéter dont lequel des échantillons de sang recueilli à partir de cathéters veineux périphériques présentent des cultures positives, les infections générés sont tous liées a la formation de biofilm puisque l'examen par microscope électronique à balayage a confirmé que l'ensemble des cathéters contenaient des niveaux détectables de cellules de *P. fluorescens* attachées.

Pseudomonas aeruginosa est également l'un des principaux agents causals des infections liés aux cathéters où la formation de biofilm est cruciale dans cette pathogenèse (**Olejnickova *et al.*, 2014**). Pour *A. baumannii* la bactériémie est l'infection la plus importante dont la source la plus fréquente est la colonisation des cathéters intravasculaires (**Cisneros *et al.*, 2002**). Un grand nombre d'infections à *K. pneumoniae* surviennent chez les patients qui ont besoin de procédures médicales invasives telles que le cathétérisme (**Cooper, 2010**).

Résultats et discussion

Tableau 5: Résultat d'identification par la galerie Api 20 E des espèces isolées.

Souche	Nombre	Identification par la galerie API 20	Biotype
<i>A. baumannii</i>	2		0004142 0204022
<i>P. fluorescens</i>	4		2220000 0200000 2000000 2200000
<i>P. aeroginosa</i>	2		2200002 2200022
<i>K. pneumonie</i>	2		5214663 5214773
<i>P. horyzihabitans</i>	1		0210000
<i>E. coli</i>	1		5144512
<i>Providancia stuarutii</i>	1		0220020
<i>A. calcoaceticus</i>	1		0205042

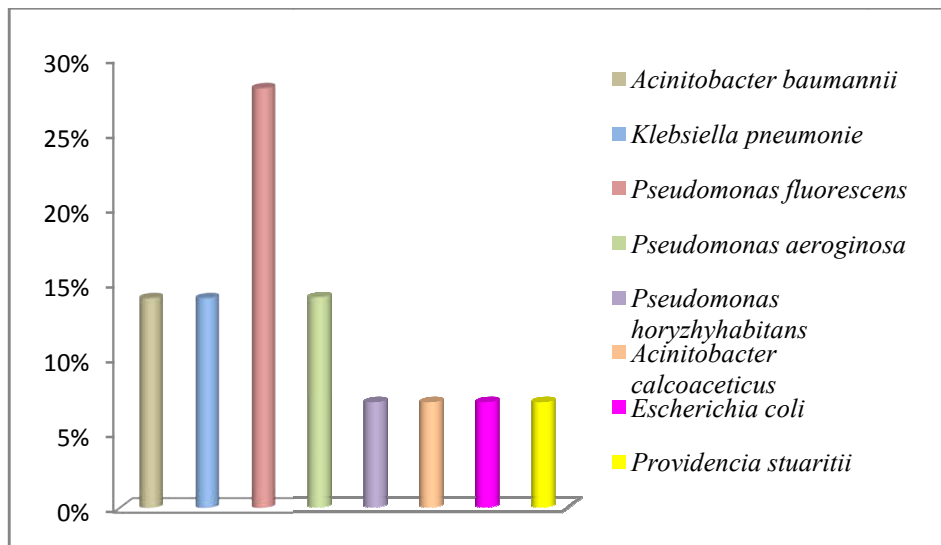


Figure 17: Les différentes souches d'entérobactéries isolées des CVP.

D'après les résultats obtenus nous constatons que la colonisation des CVP est dominée par les staphylocoques avec 62% en comparaison avec les Entérobactéries à 38% (**Figure 18**). Ce qu'est expliquer par la courte durée d'implantation allant de 48h jusqu'à 4 jours ainsi que par la nature des implants étudiés. Dans lequel Une colonisation maximale de Téflon a été observée par les Gram positifs en comparaison avec les gram négatifs (**Lopez et al., 1991**).

A ce sujet les explications que donne **Pascal (2002)**, dans son étude rapporte que la colonisation bactériennes dans le cas des cathéters a court terme moins de 8 jours est due principalement par des bactéries cutanés d'environ 90% suivi par des bactéries saprophytes d'environ 50% qu'elles colonisent principalement la lumière de dispositif, Contrairement aux cathéters de longue durée plus de 8 jours, la source de colonisation la plus fréquente sont les bactéries saprophytes.

Selon **Donlan (2001b)**, la colonisation intra ou extraluminale est influencée non seulement par la durée d'insertion du cathéter mais ainsi par la nature du liquide administré, les organismes Gram positifs (*S. epidermidis*, *S. aureus*) ne poussent pas bien dans les liquides intraveineux, alors que les Gram négatifs (*P. aeruginosa*, *Klebsiella spp.*) maintiennent leur croissance.

Résultats et discussion

Tous les dispositifs parmi lesquels les Cathéters Intravasculaires présentent une forte sensibilité aux infections des microorganismes. Les pathogènes prédominants sont *S. aureus* et *S. epidermidis* ou autres Staphylocoques à coagulase négatif (**Patrice et al., 1996**).

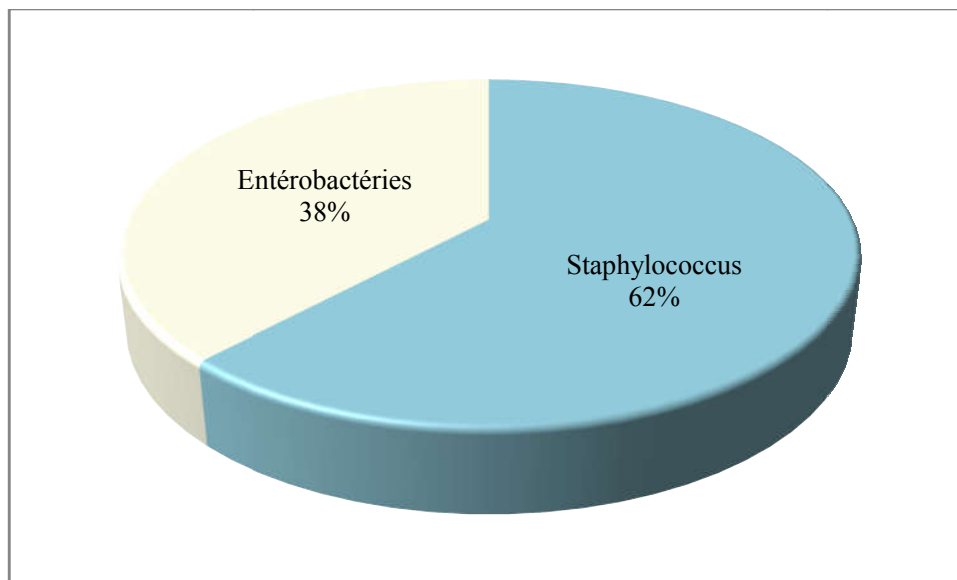


Figure 18: Pourcentage des Staphylocoques et des Entérobactéries.

3. Evaluation de la formation de biofilm :


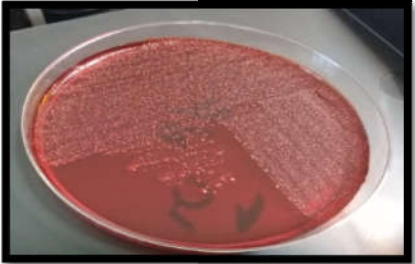

Suite à tous nos résultats, aux taux de la colonisation des CVP, essentiellement à la durée d'hospitalisation, nous avons trouvé qu'il est nécessaire d'expliquer l'installation bactérienne à ces dispositifs par la détection de la formation de biofilm. Dans ce sens seulement les souches identifiées feront l'objet de la détection.

La capacité des souches à former un biofilm a été évaluée par deux méthodes différentes, la technique Rouge Congo et la méthode TCP.

3.1 La méthode du Rouge Congo Agar (RCA):

La recherche de la production de slime sur milieu rouge Congo révèle que parmi les 23 souches identifiées, 19 souches productrices de Slime contre 4 non producteurs. Les souches productrices de Slime avaient un phénotype variable ou positif (**Tableau 6**).

Tableau 6 : Résultat de la recherche de la production de slime sur milieu rouge Congo.

	Nombre des souches/ Pourcentages		Phénotypes observés
Productrice de slime	01	4%	
Variable	18	78 %	
Non productrice de slime	04	17%	

3.2. Technique de plaque de Culture de Tissu (TCP) :

La technique de microplaque 96 puits permet non seulement une évaluation quantitative de la formation de biofilm mais aussi une évaluation qualitative. Après la quantification de la D.O avec le lecteur ELISA cette technique a révélée que sur les 23 souches identifiées ; trois sont fortement formatrices du biofilm, et 12 sont modérément formatrice pour le reste des souches elles sont faiblement adhérentes. Ce dépistage est en accord avec celui obtenu par l'observation de la coloration des puits inoculés (**Figure 19**). La densité optique obtenue pour les Staphylocoques est comprise entre 0.15 et 0.50, concernant les entérobactéries entre 0.15 et 0.79 (**Figure 20**).

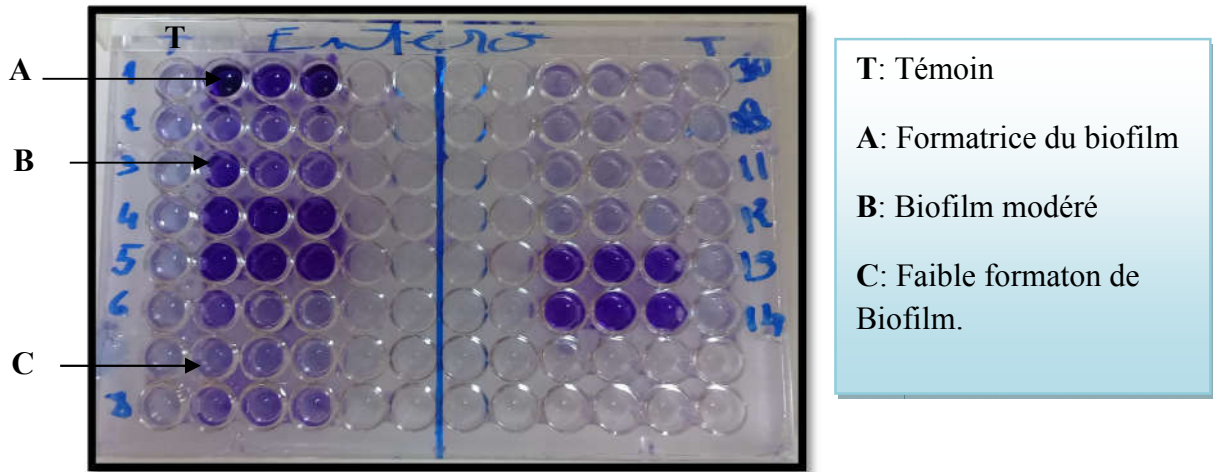


Figure 19: Evaluation de la production de biofilm par la méthode TCP.

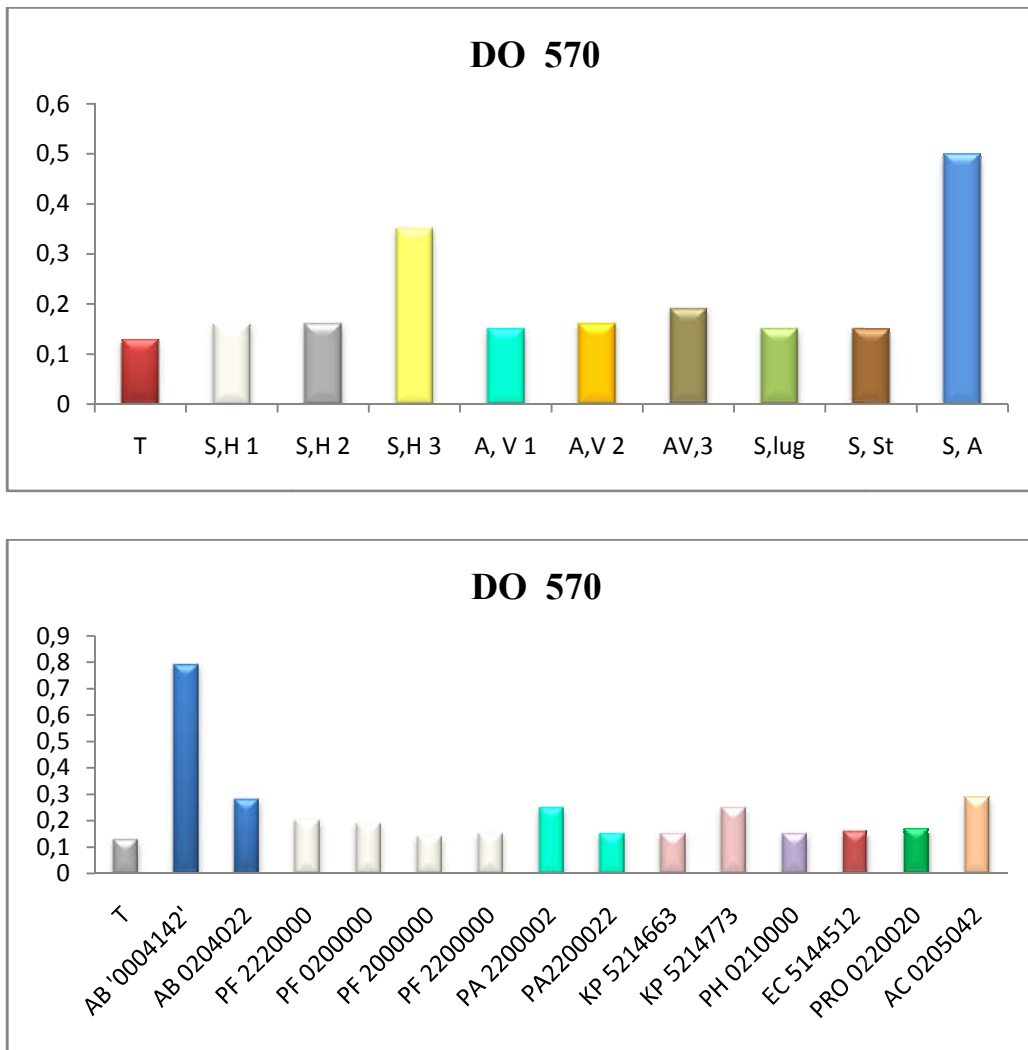


Figure 20: Quantification de la formation de biofilm par les *Staphylocoques* et les *entérobactéries* en microplaques à 37°C.

Résultats et discussion

La détermination quantitative de la formation de biofilm chez toutes nos souches a été réalisée dans des conditions de croissance standard, En utilisant le milieu de croissance BHIB non additionné de supplément.

Effectivement nous avons remarqué que la production de biofilm est faible puisque 3 souches seulement sont fortement formatrices soit 13% (**Figure 21**).

Ces résultats sont en accord avec les observations de **Cho et al., (2002)** ce dernier a montré dans son étude que la production de biofilm dans un milieu de base est de 27% mais après la stimulation par addition de chlorure de sodium ou d'un antibiotique, le taux global des souches formant des biofilms est augmenté de 27 à 39%, D'après le même auteur l'expression du biofilm est influencée par les signaux environnementaux et peut être induite en réponse au stress externe et aux concentrations sub-inhibitrices de certains antibiotiques.

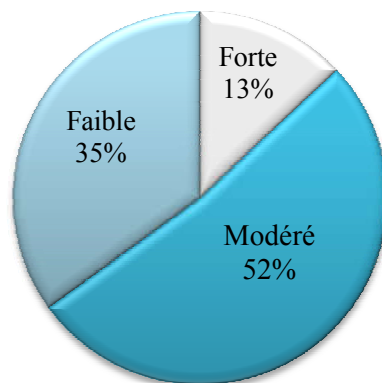
Par comparaison entre les résultats obtenus des deux techniques TCP et la RCA, nous constatons que les souches considérées comme non formatrices de slime *S. aureus* et *A. baumannii* «0004142», *P. aeroginosa* «2200002» et *K. pneumoniae* «5214663 » sont soit fortement ou modérément formatrice par ordre il s'agit de résultats faux négatifs rapporté par la RCA, les autres souches se sont des vrais positifs producteurs de biofilm par les deux techniques, une différence dans les résultats a également été observé par (**Bose et al., 2009; Hassan et al., 2011; Mathur et al., 2006; Nasr et al., 2012**) ces auteurs ont considérées que la TCP est la meilleur technique de dépistage pour la production de biofilm.

Hassan et al., (2011) dans son étude, a trouvé que le nombre d'isolats montrant la formation de biofilms était de 64,7% par la méthode TCP, pour la méthode RCA, la sensibilité et la spécificité sont restées faibles. De même **Bose et al., (2009)** a trouvé que la formation de biofilm est d'environ 6% avec la RCA tandis que la TCP révèle une production beaucoup plus importante avec 54%. C'est pourquoi ce test est facile à réaliser et à évaluer qualitativement et quantitativement la production de biofilm.

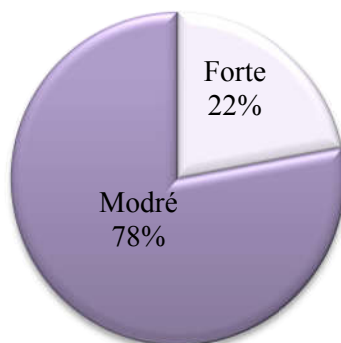
D'après **Lachachi et al., (2013)** la méthode RCA est révélée plus facile et plus rapide à réaliser que d'autres méthodes phénotypiques, mais elle pourrait probablement identifier seulement les producteurs de biofilm forts. Elle est imprécise dans l'identification des souches produisant modérément du biofilm, dont lequel quatre souches non productrices de slime ont été trouvés positifs pour l'opéron *ica* pour les Staphylocoques; Rappelons que la formation de biofilm par les Staphylocoques est assurée par l'adhésine polysaccharidique intercellulaire (API) codée par l'opéron *ica* (**Darouiche, 2001**). La plupart des Staphylocoques contiennent le groupe de gènes *ica*, mais seules quelques-unes l'expriment. Ces différences pourraient être dues au fait que l'expression de l'*ica* est soumise à une régulation environnementale. Des

Résultats et discussion

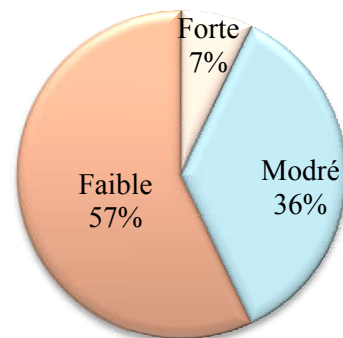
stimuli tels qu'une osmolarité élevée (3% de NaCl), une croissance dans des conditions anaérobies, des concentrations sub-inhibitrices de certains antibiotiques sont connus pour améliorer la transcription de l'*ica* et la formation de biofilm (Valle *et al.*, 2003).



L'ensemble des souches identifiées



Staphylocoques sp



Entérobactéries

Figure 21: Taux de production de biofilm par la méthode TCP.

4. Antibiogramme :

Un antibiogramme complet a été réalisé sur les isolats prélevés de 68 cathéters veineux périphériques. Etant donnés leurs phénotypes de résistance très différents.



Figure 22: Résultats d'antibiogramme d'une souche isolée à partir des cathéters veineux périphériques.

Le profil de résistance des souches isolées durant notre étude révèle une remarquable résistance vis-à-vis de la plupart des antibiotiques testés, Selon la **Figure 23** nous avons constaté que les Staphylocoques résistent à la majorité des antibiotiques testés dont l'Amoxicilline (AMC) (100%), la Céfotaxime (CFM) (100%), l'Ampicilline (AMP) (89%), la Ciprofloxacine (CIP) (78%), la Gentamycine (GEN) (67%), la Tétracycline (TE) (56%) et l'Erythromycine (E) (56%) . Ainsi que les Entérobactéries présentent une résistance importante à cinq antibiotiques qui sont l'Amoxicilline, l'Ampicilline, le Fosfomycine (FOS) avec 93%, la Céfotaxime (CXT) (79%) et à l'Acide pipémidique (PI) (50%) (**Figure 24**).

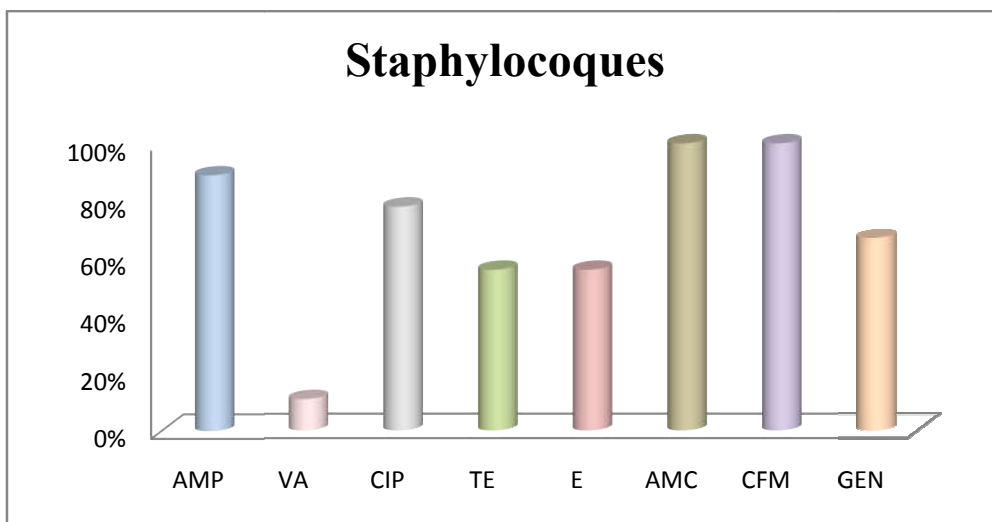


Figure 23 : Sensibilité des *Staphylocoques* aux antibiotiques.

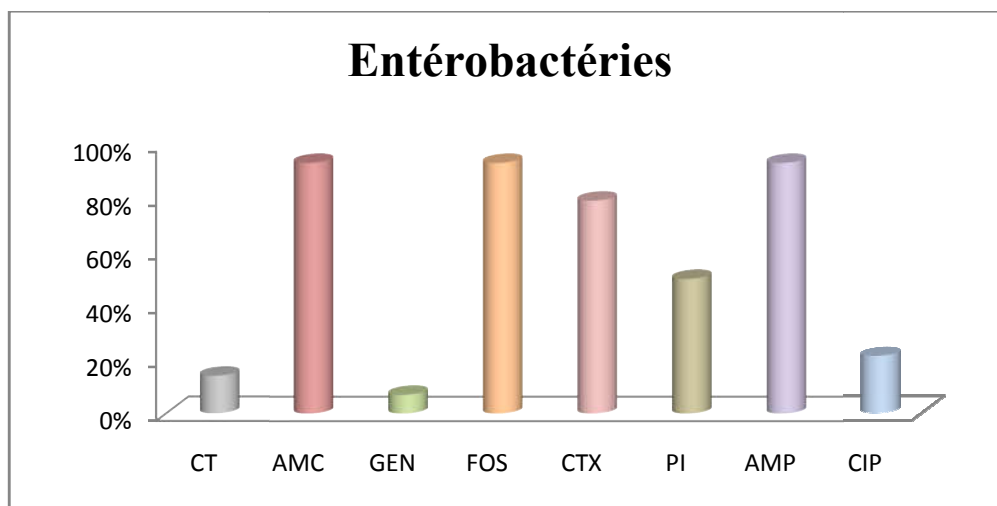


Figure 24: Sensibilité des *Entérobactéries* aux antibiotiques.

Selon les résultats obtenus nous avons remarqué que la résistance est montrée par les souches fortement productrices de biofilm qui sont *S.aureus*, *S.heamolitycus* et *A.bumanii* «0004142 » par rapport au non producteurs de biofilm.

Cette observation a été soutenue également par d'autres études comme celle de **Khan et al., (2011)** dont la résistance aux antibiotiques de divers producteurs de biofilm est importante. Durant l'étude de **Bose et al., (2009)** le test de sensibilité aux antibiotiques a été réalisé pour des isolats cliniques de *Staphylocoques sp* parmi lesquels les producteurs de biofilm ont été résistants à une grande variété d'antibiotiques qui sont l'Ampicilline, la Ciprofloxacine, l'Erythromycine et la Gentamycine.

Résultats et discussion

La majorité des patients hospitalisés subissent des procédures d'insertion de dispositifs étrangers, dans lesquels ils sont sensibles aux infections générées par le dispositif le plus souvent causées par de organismes résistants aux multiples antibiotiques. De manière significative, ces infections sont liées au biofilm causées par *S. epidermidis* ou *S. aureus* (**Seif El-Din et al., 2011**).

D'après l'étude de **Fredheim et al., (2009)** une très forte prévalence de gènes codant pour la résistance aux antibiotiques de la famille des bêta-lactamines (Ampicilline, Amoxiciline) et aux aminosides (Gentamycine) a été détectée chez des isolats cliniques de *S. haemolyticus*, Cela souligne l'importance de ce germe en tant que pathogène multirésistant, difficile à traiter avec des antibiotiques conventionnels.

Parmi toutes les résistances aux antibiotiques obtenues par *Staphylococcus aureus*, les deux plus remarquables sont la résistance à la méthicilline et à la vancomycine (**Hiramatsu et al., 2014**). La résistance à la méthicilline chez les isolats de *S. aureus* est un problème croissant, 52,3% des infections nosocomiales chez les patients en réanimation sont dues à SARM (**Cosgrove et al., 2003**).

La Vancomycine est l'antibiotique de choix pour le traitement des infections causées par des Staphylocoques résistants à la Méthicilline. Cependant, ces germes montrent une résistance à cet antibiotique. Une explication possible pourrait être que la Vancomycine est piégée par le slime Staphylococcique à cause de son poids moléculaire élevée (**Souli et al., 1998**).

Plus de 70% des bactéries qui causent des infections nosocomiales sont résistantes à au moins un des médicaments les plus couramment utilisés pour traiter ces infections (**Muto et al., 2003**). En termes littéraux, RPA signifie «résistant à plus d'un agent antimicrobien», les bactéries Gram-positives et Gram-négatives sont toutes deux affectées par l'émergence et l'augmentation de la résistance aux antibiotiques. Cependant, les bactéries à Gram négatif hautement résistantes inclus principalement *Acinetobacter sp*; ces organismes peuvent être résistants à tous les agents antimicrobiens actuellement disponibles (**Magiorakos et al., 2011**).

Acinetobacter baumannii est un pathogène nosocomial mondial important avec une capacité particulière à développer une résistance aux agents antimicrobiens (**Rodriguez et al., 2008**). Les mécanismes de résistance connus d'*A. Baumannii* aux antimicrobiens sont: la production

Résultats et discussion

de β -lactamases à large spectre, les enzymes de modification des Aminoglycosides, les changements des porines de la membrane externe et l'altération des protéines liant la pénicilline (PBP) (**Cisneros et Rodriguez, 2002**).

Plusieurs études comme celle de **Rao et al., (2008)** ont démontré une association entre la positivité de la formation du biofilm et la résistance aux multiples médicaments en particulier à la Ciprofloxacine des isolats cliniques d'*A. Baumannii*.

Les biofilms constituent un réservoir de pathogènes associés à la résistance aux agents antimicrobiens et aux infections chroniques (**Khan et al., 2011**).

Il y a au moins 3 raisons pour la résistance antimicrobienne intrinsèque des biofilms. Tout d'abord, les agents antimicrobiens doivent diffuser à travers la matrice EPS pour contacter et inactiver les organismes dans le biofilm. Les EPS retardent la diffusion en réagissant chimiquement avec les molécules antimicrobiennes ou en limitant leur vitesse de transport. Deuxièmement, les organismes associés au biofilm ont des métabolismes réduits ce qui minimise la vitesse à laquelle les agents antimicrobiens sont introduits dans la cellule et par conséquent, affecte la cinétique d'inactivation (**Donlan, 2001a**). Finalement, la résistance peut être aussi acquise, elle se fait par un transfert horizontal des gènes de résistances (**Normark, 2002**).

Conclusion

Conclusion

De nos jours, l'utilisation des dispositifs médicaux à demeure est devenue un acte essentiel dans la prise en charge des maladies en médecine actuelle.

Tous les patients hospitalisés du monde entier sont exposés à l'implantation des cathéters veineux périphériques pour l'administration des fluides nécessaire lors du traitement. L'utilisation excessive de ces dispositifs est accompagnée à un risque infectieux, puisque ils offrent un environnement approprié à la colonisation bactérienne. La physiopathologie de ces infections est liée principalement à la formation de biofilm, ce dynamique mode de vie est caractérisé par une résistance vis-à-vis les agents antimicrobiens ainsi pour les défenses immunitaires humaines.

Dans le cadre de notre étude, notre rôle était de déterminer la colonisation ou l'infectivités des CVP prélevés au niveau des services de l'EH Dr Benzerdjeb et d'identifier les germes infectants et leurs pouvoir de formation de biofilm ainsi leurs antibiorésistances.

Sur l'ensemble des dispositifs médicaux récoltés, 43% présentaient une infection. Par ordre de fréquence, les Staphylocoques représentent les germes les plus fréquemment isolés à 62% contre les Entérobactéries avec 38%.

L'étude de la formation de biofilm a été réalisée par deux méthodes, la TCP et la RCA montre qu'une minorité des souches isolées étaient fortement productrices de biofilm et de slime. Ainsi que le profil de résistance de ces isolats révèle une résistance remarquable aux antibiotiques testés.

Dans le cadre de la lutte contre les infections nosocomiales liées aux dispositifs médicaux. Ce travail montre l'importance du respect strict des règles d'hygiène et de la désinfection lors de l'insertion de dispositif, Ainsi que la diminution de la durée d'implantation de ce dernier est une étape critique dans la maîtrise des infections qui lui sont liées.

En perspective de ce travail, il serait intéressant d'élargir l'étude des infections liées aux CVP pour couvrir d'autres établissements de santé ainsi d'étudier le pouvoir de formation des biofilms et de déterminer les gènes responsables de cette pathologies.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abd El-Baky RM. (2012). Application of Scanning Electron Microscopy for the Morphological Study of Biofilm in Medical Devices. Scanning Electron Microscopy, Dr. Viacheslav Kazmiruk (Ed.), ISBN: 978-953-51-0092-8, InTech.

Ashkenazi S., D Mirelman. (1984). Adherence of bacteria to pediatric intravenous catheters and needles and its relation to phlebitis in animals. *Pediatric Research Journal*. 18 (12): 1365-1361.

B

Bach. A., H Schmidt., B-BSttiger., B-Schreiber., H-Bdhrer., J-Motsch..., H-G Sonntag. (1996). Retention of antibacterial activity and bacterial colonization of antiseptic bonded central venous catheters. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 37: 315-322.

Baillif-S., Hartmann-D., Freney-J., Kodjikian-L. (2010). Implant intraoculaire et adhésion bactérienne : influence des conditions environnementales, des propriétés bactériennes et des caractéristiques du matériau. *Journal français d'ophtalmologie*. 33: 210-221.

Barnes L-M., M R-ADAMS., A-H-L CHAMBERLAIN. (1999). Effect of Milk Proteins on Adhesion of Bacteria to Stainless Steel Surfaces. *Applied and Environmental Microbiology Journal* 65(10): 4543–4548.

Barry A-L., R-V-F LACHICA., F-W ATCHISON. (1972). Identification of *Staphylococcus aureus* by Simultaneous Use of Tube Coagulase and Thermonuclease Tests. *Applied Microbiology Journal*. 25(3): 496-497.

Bellifa Samia., Hafida Hassaine., Damien Balestrino., Nicolas Charbonnel., Imane M'hamedil., Ibtissem Kara Terki., Christiane Forestier. (2013). Evaluation of biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* isolated from medical devices at the University Hospital of Tlemcen, Algeria. . *African Journal of Microbiology Research*. 7(49): 5558-5564.

Bendinger Bernd., Huub H M Rijnaarts., Karlheinz Altendorf., Alexander J B Zehnder. (1993). Physicochemical Cell Surface and Adhesive Properties Of Coryneform Bacteria Related To The Presence And Chain Length Of Mycolic Acids. *Applied and Environmental Microbiology Journal*. 59 (11): 3973-3977.

Bertrou Anne., Catherine Chapuis., Joseph Hajjar. (2000). Vigilance environnementale : Contrôles microbiologiques de l'environnement hospitalier. Relation entre contamination et environnement hospitalier. *HYGIENES 2000; VIII(3)*: 143-146.

Borel Jacques-Paul., Jean-Claude Monboisse., Georges Bellon. (1988). Inflammation, collagène et radicaux libres oxygénés. *Revue médecine / sciences* .4 (5) : 304-310.

Bose S., Khodke M., Basak S., Mallick. S.K. (2009). Detection Of Biofilm Producing Staphylococci: Need Of The Hour. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 3:1915-1920.

Références bibliographiques

Boudelal Kheira. (2013). Evaluation de la Contamination des Dispositifs Médicaux (Cathéters et Sondes) à l'hôpital de Ain Témouchent. Mémoire en vue de l'obtention de diplôme de Master en Microbiologie. Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen.

C

Cavallo J-D., G-Antoniotti., N-Baffoy., S-Guignement., J-Hajjar., C-Horn., V-Salomon. (2002). Surveillance microbiologique de l'environnement dans les établissements de santé Air, eaux et surfaces. Ministère chargé de la santé. DGS/DHOS, CTIN, 1-77.

Chavant Patrick., Brigitte Gaillard-Martinie., Régine Talon., Michel Hébraud., Thierry Bernardi. (2007). A new device for rapid evaluation of biofilm formation potential by bacteria. *Journal of Microbiological Methods.* 2627: 1-8.

Chmielewski r-a-n., j-f Frank (2003). Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comprehensive reviews in food science and food safety.* 2: 22-32.

Christopher M-Waters., Bonnie L-Bassler (2007). Quorum Sensing: Cell-to-Cell Communication in Bacteria. *Annu. Rev. Cell Dev. Biol.* 21: 319-46.

Cho Seung-Hak., Kurt Naber., Jorg Hacker., Wilma Ziebuhr. (2000). Detection of the icaADBC gene cluster and biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* isolates from catheter-related urinary tract infections. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 19: 570-575.

Cisneros-J-M., J-Rodriguez-Bano. (2002). Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. *Clinical Microbiology and Infection.* 8: 687-693.

Cooper Ian R. (2010). Microbial biofilms: case reviews of bacterial and fungal pathogens persisting on biomaterials and environmental substrata, Current research. *Technologie and education Topics in Applied microbiologie and microbiol biotechnologie.* A. Mendez-Vilas (Ed).

Cosgrove Sara-E., George Sakoulas., Eli N-Perencevich., Mitchell J-Schwaber., Adolf W-Karchmer., Yehuda Carmeli. (2003). Comparison of Mortality Associated with Methicillin-Resistant and Methicillin- Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Meta-analysis. *Infectious Diseases Society of America.* 36: 53-59.

Crump J-A., P-J Collignon. (2000). Intravascular Catheter-Associated Infections. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.* 19:1-8.

D

Davey Mary ellen., George a-o'toole. (2000). Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiology and molecular biology reviews.* 64(4): 847-867.

Darouiche Rabih O. (2001). Device-Associated Infections: A Macroproblem that Starts with Microadherence. *Clinical Infectious Diseases.* 33:1567-72.

Références bibliographiques

Devi Venkataramaiah Prapulla., Baswaraj Biradar. (2011). Plaque Biofilm, Gingival Diseases – Their Aetiology, Prevention and Treatment, Dr. Fotinos Panagakos (Ed.), ISBN: 978-953-307-376-7, InTech.

Donlan Rodney M. (2001a). Biofilm Formation: A Clinically Relevant Microbiological Process. *Clinical Infectious Diseases*. 33 (8): 1392- 1387.

Donlan Rodney M. (2001b). Biofilms and Device-Associated Infections. *Emerging Infectious Diseases journal*. 7(2):281-277.

Donlan Rodney M., J-William Costerton. (2002a). Relevant Microorganisms Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically. *Clinical Microbiology Reviews*. 15(2):167.

Donlan Rodney M. (2002b). Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases Journal*. 8 (9): 881-89.

E

Espinasse F., Pageb B., Cottard-Boulea B. (2010). Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires*. 426: 51-63.

F

Filloux Alain., Isabelle Vallet. (2003). Biofilm: mise en place et Organisation d'une communauté bactérienne. *MEDECINE/SCIENCES*. 19: 77-83.

Fredheim Elizabeth Gladys Aarag., Claus Klingenberg., Holger Rohde., Stephanie Frankenberger., Peter Gaustad., Trond Flægstad., Johanna Ericson Sollid. (2009). Biofilm Formation by Staphylococcus haemolyticus. *Journal OF Clinical Microbiology*. 47(4): 1172–1180.

G

Gaynes Robert., Jonathan R. Edwards. (2005). The National Nosocomial Infections Surveillance System. Overview of Nosocomial Infections Caused by Gram-Negative Bacilli. *Clinical Infectious Diseases Journal*. 41: 848-854.

Gershman Mark D., Donald J. Kennedy., Judith Noble-Wang., Curi Kim., Jessica Gullion., Marilyn Kacic., Arjun Srinivasan. (2008). Multistate outbreak of Pseudomonas fluorescens bloodstream infection after exposure to contaminated heparinized saline flush prepared by a compounding pharmacy. *Clinical Infectious Diseases*. 47:1372–9. DOI: 10.1086/592968.

H

HANKER JACOB-S., ALBERT N-RABIN. (1975). Color Reaction Streak Test for Catalase-Positive Microorganisms. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*. 2(5) : 463-464.

Références bibliographiques

Hassan Afreenish., Javaid Usman., Fatima Kaleem1., Maria Omair., Ali Khalid., Muhammad Iqba. (2011). Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 15(4): 305-311.

Hiramatsu-K., Y-Katayama., M-Matsuo., T-Sasaki., Y-Morimoto., A-Sekiguchi., TBaba. (2014). Multi-drug-resistant *Staphylococcus aureus* and future chemotherapy Japanese Society of Chemotherapy and The Japanese Association for Infectious Diseases. 20 :593-601.

Huihui LIU., WANG Lingyu., XIE Zhixiong., SHEN Ping. (2012). Involvement of DNA in Biofilm Formation II: From Bacterial Adhesion to Biofilm Formation. *Journal of nature science*. (17)2: 162-168.

I

Iyoha-O., Tula-MY. (2014). Incidence and distribution of multi-drug resistant pathogens from clinical samples in a tertiary hospital in south-south Nigeria. *American Journal of Clinical and Experimental Medicine*. (15)3: 1326-1595.

J

Japoni-A., S-Farshad., A-Alborzi. (2005). *Pseudomonas aeruginosa*: Burn Infection, Treatment and Antibacterial Resistance. *Iranian Red Crescent Medical Journal*. 11(3): 244-253.

K

Kara Terki Ibtissem., Hafida Hassaine., Salwa Oufri., Samia Bellifa., Imen Mhamedi., Meriem Lachachi., Mohammed Timinouni. (2016). Detection of *icaA* and *icaD* genes and biofilm formation in *Staphylococcus* spp. isolated from urinary catheters at the University Hospital of Tlemcen (Algeria). *African Journal of Microbiology Research*. 7(47): 5350-5357.

Katsikogianni-M., YF-Missirlis. (2004). Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteriamaterial interactions *European Cells and Materials Journal*. 8: 37-57. DOI: 10.22203/eCM.v008a05.

Khan-F., Shukla-I R M., Mansoor-T., Sharma-SC. (2011). Detection of biofilm formation in *Staphylococcus aureus* . Does it have a role in treatment of MRSA infection?. *Trends in Medical Research*. 6 (2): 116-123.

Klausen Mikkil., Arne Heydorn., Paula Ragas., Lotte Lambertsen., Anders Aes-Jørgensen., Søren Molin., Tim Tolker-Nielsen. (2003). Biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* wild type, flagella and type IV pili mutants. *Journal of Molecular Microbiology*. 48 (6): 1511–1524.

Kumaravel-R S., S F-Maleeka Begum., B-Elayarajah., R-Rajesh. (2014). Antibacterial Modification of Intravascular Catheter Surface for the Prevention of CatheterAssociated Infection. *International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research*. 2 (10): 2716-2724.

L

Lachachi Meriem., Hafida Hassaine., Kaotar Nayme., Samia Bellifa., Imene M'hamedi., Ibtissem Kara Terki., Mohammed Timinouni. (2014). Detection of biofilm formation, icaA/BC gene and investigation of toxin genes in *Staphylococcus* spp. strain from dental unit waterlines, University Hospital Center (UHC) Tlemcen Algeria. *African Journal of Microbiology Research*. 8(6): 559-565.

Lebeaux-D., J-C Lucet., S-Barbier. (2012). Infections associées aux biofilms Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale?. *Médecine/sciences revue*. 28: 727-39.

Lebeaux David., Jean-Marc Ghigo., Jean-Christophe Lucet. (2014). Physiopathologie et prévention des infections liées aux dispositifs médicaux implantés, *La revue du praticien*. 64:220-225.

Lebeaux-D., J-C Lucet., S-Barbier. (2016). Nouvelles recommandations pour les infections associées au biofilm implications en réanimation. DOI 10.1007/s13546-016-1182-7.25:308-317.

Liang-Yu Chen., Wen-Chung Yu., Suang-Hao Huang., Mei-Lin Lin., Te-Li Chen., Chang-Phone Fung., Cheng-Yi Liu. (2012). Successful treatment of *Aerococcus viridians* endocarditis in a patient allergic to Penicillin. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 45: 158-160.

Lopes Álvaro Francisco de Sousa., Daniella Maia Marques., Rachel Maciel Monteiro., Artur Acelino Francisco Luz Queiroz., Denise Andrade., Evandro Watanabe. (2017). Prevention of biofilm formation on artificial pacemakers: is it feasible?. *Acta Paulista de Enfermagem*. 30(6): 644-50. doi.org/10.1590/1982-0194201700085.

Lopez-Lopez-G., A-Pascual., E-J-Pereat. (1990). Effect of plastic catheters on the phagocytic activity of human polymorphonuclear leukocytes, *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 9: 324-328.

LOPEZ-LOPEZ G., A-PASCUAL., E-J PEREA. (1991). Effect of plastic catheter material on bacterial adherence and viability. *Journal of Medical Microbiology*. 34: 349-353.

Lutz-Arend., Meyer-Reil. (1994). Microbial life in sedimentary biofilms – the challenge to microbial ecologists, *Marine Ecology Progress Series Journal*. 112: 303-31.

M

Magiorakos-A., Srinivasan R-B., Y-Carmeli., M-E-Falagas., C-G-Giske., S-Harbarth., D.L.Monnet. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Journal of clinical microbiology and infection*. 18: 268-281.

Maki Dennis-G., Daniel-M. Kluger., M-D., Christopher J-Crnich-MD. (2006). The Risk of Bloodstream Infection in Adults With Different Intravascular Devices: A Systematic Review of 200 Published Prospective Studies. *Mayo Foundation for Medical Education and Research*. 81(9):1159-117.

Références bibliographiques

Marrie Thomas J., J-W-Costerton. (1984). Scanning and Transmission Electron Microscopy of In Situ Bacterial Colonization of Intravenous and Intraarterial Catheters. *American Society for Microbiology journal*. 19(5): 687-693.

Martinez Luis-R., Arturo Casadevall. (2007). Cryptococcus neoformans Biofilm Formation Depends on Surface Support and Carbon Source and Reduces Fungal Cell Susceptibility to Heat, Cold, and UV Light. *Applied and Environmental Microbiology Journal*. 73(14): 4592–4601.

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

Mermel Leonard A., Barry M-Farr., Robert J-Sherertz., Issam I-Raad., Naomi O’Grady., JoAnn S-Harris., Donald-E. Craven. (2001). Guidelines for the Management of Intravascular Catheter Related Infections. *Journal of Intravenous Nursing*. 24: 1249–1272.

M’hamedi Imane., Hafida Hassaine., Samia Bellifa., Meriem Lachachi., Ibtissem Kara Terki., Ryad Djeribi. (2013). Biofilm formation by Acinetobacter baumannii isolated from medical devices at the intensive care unit of the University Hospital of Tlemcen Algeria. *African Journal of Microbiology Research*. 8(3): 270-276.

M’Hamedi Imane. (2014). Evaluation de la formation de biofilms des souches d’Acinetobacter baumannii isolées de dispositifs médicaux au CHU de Tlemcen. Thèse pour l’obtention du diplôme de doctorat en Biologie. Université Aboubeker Belkaid Tlemcen.

Mikkel Klausen., Anders Aaes-Jørgensen., Søren Molin., Tim Tolker Nielsen. (2003). Involvement of bacterial migration in the development of complex multicellular structures in Pseudomonas aeruginosa biofilms. *Molecular Microbiology journal*. 50(1): 61–68.

MONIER Julien. (2017). Evaluation du système Accelerate Pheno™ pour l’identification et l’antibiogramme rapides d’un panel de bacilles à Gram négatif directement à partir des flacons d’hémocultures. Thèse pour le diplôme d’état de docteur en pharmacie. Université d’Aix-Marseille. France.

Muto Carlene-A., John A. Jernigan., Belinda E-Ostrowsky., Hervé M-Richet .,WilliamR-Jarvis., M-D Barry M-Farr. (2003). SHEA Guideline for Preventing Nosocomial Transmission of Multidrug-Resistant Strains of Staphylococcus aureus and Enterococcus, *Infection control and hospital epidemiology journal*. 24(5): 362-386.

N

Nasr-RA., AbuShady-HM., Hussein-HS. (2012). Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of staphylococci. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 13: 269-274.

Ndoutamia Guelmbaye., Nadlaou Bessimbaye., Clément Kerah-hinzoumbé., Fissou Henry Yandaï., Lassana Sangaré., Alfred S-Traoré., Nicolas BARRO. (2014). Profil de

Références bibliographiques

résistance des agents étiologiques des diarrhées isolés au Tchad. *Internationale Journal of Biological and Chemical Sciences*. 10: 2461-2452.

Normark-B-H., Normark-S., (2002). Evolution and spread of antibiotic resistance. *Journal of Internal Medicine*. 252: 91–106.

Nouetchognoul Julienne Stéphanie., Jérôme Ateudjieu., Bonaventure Jemea., Edmond Nzene Mesumb., Dora Mbanya. (2016). Surveillance of nosocomial infections in the Yaounde University Teaching Hospital, Cameroon. *BMC Research Notes journal*. 9(505): 1-8. DOI 10.1186/s13104-016-2310-1.

O

Olejnickova Katerina., Veronika Hola., Filip Ruzicka. (2014). Catheter-related infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*: virulence factors involved and their relationships. *Pathogens and Disease journal*. 72: 87–94.

P

Pascual A. (2002). Pathogenesis of catheter-related infections: lessons for new designs. *ESCMID Medical Guideline*. 8: 256–264.

Paul Stoodley. (2014). Bacterial Biofilms: From the Natural Environment to Infectious Diseases. *Nature Reviews Microbiology*. 10.1038/nrmicro821.

Patrice François., Pierre Vaudaux., Timothy J-Foster., Daniel P-Lew. (1996). Host Bacteria Interactions in Foreign Body Infections. *Infection control and hospital epidemiology journal*. 17 (8): 520-514.

R

Rasmussen Magnus (2013). Aerococci and Aerococcal Infections. *Journal of infection journal*. 66 : 464-474.

Rasmussen. M (2015). Aerococcus: an increasingly acknowledged human pathogen. *Clinical Microbiology and Infection journal*. 66: 22–27.

Roblero Janet Jan., Sandra Rodríguez-Martínez., Mario E-Cancino-Díaz., Juan CCancino-Díaz. (2016). Staphylococcus Biofilms. *Book Microbial Biofilms*. 211-230.

Rodríguez Baño J., Marti S., Soto S., Fernández Cuenca F., Cisneros JM., Pachón J., Vila J. (2008). Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications. *clinical microbiology and infection journal*. 14: 276-278.

Riegel Philippe., Dominique de Brielb., Olivier Dauwalder. (2016). Automatisation de l'identification bactérienne. *Revue Francophone des laboratoires*. 482: 47-39

Rogan Mark P., Clifford C-Taggart., Catherine M-Greene., Philip G- Murphy., Shane J- O'Neill., Noel G-McElvaney. (2004). Loss of Microbicidal Activity and Increased

Références bibliographiques

Formation of Biofilm Due to Decreased Lactoferrin Activity in Patients with Cystic Fibrosis. *The Journal of Infectious Diseases*. 190: 1245-1253.

Rao RS., Karthika RU., Singh SP., Shashikala P., Kanungo R., Jayachandran S., Prashanth K. (2008). Correlation between biofilm production and multiple drug resistance in imipenem resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Indian Journal Of Medical Microbiology*. 26: 333-337.

ROUX Agnès., Jean-Marc GHIGO. (2006). Les biofilms bactériens. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. 3: 262-268.

S

Seghir A., Z Boucherit-Otmani., L Sari-Belkharroubi., K Boucherit. (2016). Risque infectieux lié à la formation des biofilms multi-espèces (*Candida* — bactéries) sur cathéters vasculaires périphériques. *Journale de mycologie médicale*. 27: 20-27.

Seghir Abdelfettah. (2014). Recherche de biofilms mixtes sur cathéters veineux périphériques au CHU de Tlemcen. Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en Biologie Cellulaire et Biochimie. Université Aboubekr Belkaïd-Tlemcen.

Seif El-Din S., El-Rehewy M-S., Ghazaly M-M., Abd-Elhamid M-H. (2011). Biofilm formation by blood stream staphylococcal isolates from febrile pediatric cancer patients at South Egypt Cancer Institute. *Journal American of Science*. 7 (1): 674-686.

Sheth Neela K., Timothy R-Franson., Harold D-Rose., Francis L-A-Buckmire., James A.-Cooper., Peter G Sohnle. (1983). Colonization of Bacteria on Polyvinyl Chloride and Teflon Intravascular Catheters in Hospitalized Patients. *Journal Of Clinical Microbiology*. 18: 1061-1063.

Sidibé EL Hassane. (2007). Diabète et tuberculose pulmonaire : aspects épidémiologiques, physiopathologiques et symptomatologiques. *Cahiers Santé Revue*. 17(1): 32-29. doi: 10.1684/san.2007.0055.

SOULI MARIA., HELEN GIAMARELLOU. (1998). Effects of Slime Produced by Clinical Isolates of Coagulase-Negative Staphylococci on Activities of Various Antimicrobial Agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy journal*. 42(4): 939–941.

SPERBER-W-H., S-R-TATINI. (1974). Interpretation of the Tube Coagulase Test for Identification of *Staphylococcus aureus*. *Applied microbiology journal*. 29(4): 502-505.

Stoodley P., K Sauer., D G Daviesand., JW Costerton. (2002). Biofilms as complex differentiated communities. *Annual review of microbiology*. 56:187–209.

T

Références bibliographiques

Treter J., Macedo AJ (2011). Catheters: a suitable surface for biofilm formation. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances.* 835- 839.

V

Valle Jaione., Alejandro Toledo-Arana., Carmen Berasain, Jean-Marc Ghigo., Beatriz Amorena., José R. Penadés., Iñigo Lasa (2003). SarA and nots ÓB is essential for biofilm development by *Staphylococcus aureus*. *Molecular Microbiology Journal.* 48(4): 1075–1087.

Von Eiff Christof., Bernd Jansen., Wolfgang Kohnen., Karsten Becker. (2005). Infections Associated with Medical Devices Pathogenesis, Management and Prophylaxis, *Review Article Journal.* 65 (2): 179-214.

W

Wroblewska Marta M., Anna Sawicka-Grzelak., Halina Marchel., Miroslaw Luczak., Alex Sivan. (2007). Biofilm production by clinical strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients hospitalized in tertiary care hospitals. *FEMS Immunology and Medical Microbiology journal.* 53:140–144.

Y

Yannick DN-Tremblay., Skander Hathroubi., Mario Jacques. (2014). Les biofilms bactériens leur importance en santé animale et en santé publique. *The Canadian Journal of Veterinary Research.* 78: 110-116.

Z

Zhang Li Morrison M., Nimmo G., Sriprakash K., Mondot S., Gowardman J., George N., Marsh Nicole., Rickard-Claire. (2013). Molecular investigation of bacterial communities on the inner and outer surfaces of peripheral venous catheters. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases.* 32: 1083-1090.

Annexe

Annexe 01: Résultats de l'antibiogramme

Famille d'antibiotique		Les antibiotiques testés							
		β-lactamine			Cycline	Macrolide	Glycopeptide	Quinolone	Aminoside
		AMP	AMC	CFM	TE	E	VA	CIP	GEN
<i>A. viridans</i>	1	S	R	R	R	R	S	I	S
	2	R	R	R	S	S	S	R	S
	3	R	R	R	S	I	S	S	S
<i>S. haemolyticus</i>	1	R	R	R	R	I	S	R	R
	2	R	R	R	S	R	S	R	R
	3	R	R	R	S	R	R	R	R
<i>S. aureus</i>		R	R	R	R	R	R	R	R
<i>S. simulans</i>		R	R	R	R	I	S	R	R
<i>S. lugdunensis</i>		R	R	R	R	R	S	R	R

(AMC) : Amoxiciline, (CFM) : Cefotaxime, (AMP) : Ampicilline, (CIP) : Ciprofloxacine, (VA) : Vancomycine, (TE) : Tétracycline, (E) : Erythromycine, (GEN) : Gentamycine.

Annexe

Famille d'antibiotique		Les antibiotiques testés							
		β-lactamine				Aminoside	Fosfomycine	Polymixine	Quinolone
Les souches		AMP	AMC	CXT	PI	GEN	FOS	CT	CIP
<i>P.fluorescens</i>	2220000	R	R	R	R	S	R	I	S
	2200000	R	I	S	S	S	R	S	S
	0200000	R	R	R	R	S	R	I	S
	2000000	R	R	I	I	S	R	S	S
<i>A.bumanii</i>	0004142	R	R	R	R	R	R	R	R
	0204022	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>P.aergeinosa</i>	2200002	R	R	I	I	S	R	S	S
	2200022	R	R	S	S	I	R	S	S
<i>K.pneumonie</i>	5214663	R	R	R	R	S	R	I	S
	5214773	R	R	R	R	I	R	S	R
<i>A.calcoaceticus</i>		R	R	I	S	S	R	S	S
<i>P.horyzihabitans</i>		R	R	R	S	S	R	I	S
<i>Providancia stuaritii</i>		R	R	R	R	S	R	R	S
<i>E.coli</i>		R	R	R	R	S	S	S	R

(AMC) : Amoxiciline, (AMP) : Ampicilline, (GEN) : Gentamycine, (CIP) : Ciprofloxacine, (FOS) : Fosfomycine, (CXT) : Céfotaxime, (PI) : l'Acide pipémidique, (CT) : Colistine.

Annexe 02 : les milieux de culture.

La formule théorique de ce milieu de culture en g/L d'eau purifiée est :

La gélose nutritive. pH = 7,3

-Peptone.....	6g
-Extrait de bœuf.....	1g
- Extrait de levure.....	2g
-Chlorure de sodium.....	5 g
-Agar.....	14g

La gélose Hektoen. pH = 7,5

- Peptone pepsique de viande.....	12,0 g
- Extrait autolytique de levure.....	3,0 g
- Lactose.....	12,0 g
- Saccharose	12,0 g
- Salicine.....	2,0 g
- Sels biliaries	9,0 g
- Chlorure de sodium.....	5,0 g
- Thiosulfate de sodium	5,0 g
- Citrate ferrique ammoniacal	1,5 g
- Bleu de bromothymol	65 mg
- Fuchsine acide	40 mg
- Agar	13,5 g

La gélose Chapman. pH = 7,5

-Peptone.....	11g
-Extrait de viande.....	1g
-NaCl.....	75g
-Mannitol.....	10g
-Rouge de phénol.....	0,025g
-Agar.....	15g

Annexe 03 : Rapport final de l'identification Biochimique des Staphylocoques par le Phoenix Dickinson.

Rapport Labo des Galeries Terminées

11/04/2018 08:19
V6.01A / V5.21A

EH Dr Benzerdjeb
AIN TEMOUCHENT
AIN TEMOUCHENT

N° Examen	51	Début Test	10/04/2018 14:50
N° Isolat	1	Fin Test	11/04/2018 05:48
N° Séquence	427611179441	N° Instr. / Alvéole	1/B03
Type Galerie	PMIC/ID-69	Finalisé	Non
Etat	TERMINE		

ID Finale Staphylococcus aureus Densité d'inoculum 0.5

ID(s) Instrument Valeur de Confiance
Staph. aureus 99%

<u>Antibiotique</u>	<u>CMI Instr</u>	<u>SIR Instr</u>	<u>SIR BDxpert</u>	<u>SIR Final</u>	<u>N° Règle</u>
Gentamicin-Syn	< = 500			S	
Gentamicin	< = 2	S		R	132
Imipenem	< = 2	S	R	R	132
Cefoxitin	> 8		R	R	132
Cefotaxime	< = 8	S		R	
Ampicillin	> 1	R		R	
Penicillin G	> 0.25	R		R	
Oxacillin	> 2	R		R	
Amoxicillin-Clavulanate	> 4/2	R		S	
Daptomycin	< = 1	S		R	
Trimethoprim-Sulfamethoxazole	> 4/76	R		S	
Teicoplanin	< = 1	S		S	
Vancomycin	< = 0.5	S	R	R	1517
Clindamycin	< = 0.5	S		R	
Erythromycin	> 4			S	
Fusidic Acid	4		S	S	
Linezolid	2		S	S	
Mupirocin High level	< = 256		S	S	
Nitrofurantoin	< = 16		S	S	
Ciprofloxacin	< = 0.5		S	S	
Moxifloxacin	< = 0.5		S	S	
Rifampin	< = 0.5		S	S	
Tetracycline	< = 0.5		S	S	

MARQ. RESISTANCE
1547 - STAIML Staphylocoque avec un phénotype MLS_H inductible

Abstract:

Peripheral venous catheters are the most widely used implantable medical devices in health facilities, they are essential in the care of patients. However, their presence is most often accompanied by infectious complications related to the formation of biofilm. The purpose of this study is to test the ability of strains isolated from peripheral venous catheters taken from the Hospital of Dr Benzerdjab to form the biofilm by two methods. Method of Tissue Culture Plate (TCP) and the method of Red Congo Agar (RCA). Our study allowed us to isolate a number of 23 strains of Staphylococcus 66% and 14 strains of Enterobacteria 34%. A minority of the strains collected are highly biofilm producing.

Key words : Biofilm, Peripheral venous catheters, Colonization, Catheters related infections.

Résumé :

Les cathéters veineux périphériques sont des dispositifs médicaux implantables les plus utilisées dans les établissements de santé, ils sont incontournable dans la prise en charge des patients. Cependant leur présence est le plus souvent accompagnée de complications infectieuses liées à la formation de biofilm. Le but de notre étude est d'évaluer la capacité des souches isolées à partir des cathéters veineux périphériques prélevés de l'EH Dr Benzerdjab à former le biofilm par deux méthodes. Méthode de Plaque de Culture de Tissus (TCP) et la méthode de Rouge Congo Agar (RCA). Notre étude nous a permis d'isoler un nombre de 23 souches des Staphylocoques soit 66% et 14 souches d'Entérobactéries soit 34%. Une minorité des souches collectées sont fortement productrices de biofilm.

Les mots clés : Biofilm, Cathéters veineux périphériques, Colonisation, Infection liée aux cathéters.

ملخص

القسطرة الوريدية الطرفية هي أكثر الأجهزة الطبية القابلة للزرع على نطاق واسع في مرافق الرعاية الصحية وهي ضرورية في رعاية المرضى. ومع ذلك، فإن وجودها غالباً ما يكون مصحوباً بمضاعفات معدية مرتبطة بتكوين الشريط الحيوي بيوفيلم. الهدف من دراستنا هو تقييم قدرة سلالات معزولة من القساطر الوريدية الطرفية من مستشفى الدكتور بن زرجب على تشكيل الشريط الحيوي بواسطة طريقتين مختلفتين سمحت لنا دراستنا بعزل 23 سلالة من المكورات العنقودية 66% و 14 سلالة من البكتيريا المعوية 34% أقلية من السلالات التي تم جمعها لها قدرة عالية لإنتاج الشريط الحيوي.

الكلمات المفتاحية: الشريط الحيوي، القسطرة الوريدية الطرفية، استيطان، العدوى المرتبطة بالقسطرة.