

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



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



DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

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

THESE

Présentée par :

Mme MEZIANI Zahira épouse BELHACHEMI

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

Option: microbiologie appliquée et moléculaire

*Evaluation des infections bactériennes sur les dispositifs cardiaques
implantables dans les hôpitaux de l'ouest Algérien*

Soutenu le 04/07/2022 devant le jury :

Président	REBIAHI S.	Pr	Université de Tlemcen
Directrice de thèse	HASSAINE H.	Pr	Université de Tlemcen
Examineur	BENCHOUK S.	Pr	Université de Tlemcen
Examineur	KARA-TERKI I.	MCA	Université de SBA
Examineur	KHADIR A.	MCA	Université d'Oran
Examineur	GHELLAI L.	MCA	Université de Saïda

Année Universitaire : 2021-2022

Remerciements

Avant tout je remercie **DIEU** le tout puissant qui m'a accordé la santé, le courage, la volonté et la patience de réaliser ce travail.

Mes remerciements s'adressent tout particulièrement à ma directrice de thèse, Madame **Hafida HASSAINE** Professeur à l'Université de Tlemcen, pour son encadrement constant et consciencieux, son engagement et son soutien, ses conseils précieux et ses remarques pertinentes dans un domaine à la fois passionnant et porteur d'espoir.

Aussi, je tiens à exprimer ma sincère gratitude à :

Monsieur le Professeur **Sid-Ahmed REBIAHI**, de nous avoir honoré par sa présence en acceptant de présider le jury de cette thèse.

Madame le Professeur **Samia BENCHOUK** (Université de Tlemcen) d'avoir accepté, d'examiner mon travail de thèse.

Madame **Ibtissam KARA-TERKI** (Université de Sidi Belabbès) d'avoir accepté d'évaluer mon manuscrit de thèse.

Monsieur **Abdelmounaïme KHADIR** (Université d'Oran) d'avoir accepté, d'examiner mon travail de thèse.

Monsieur **Lotfi GHELLAI** (Université de Saïda) d'avoir cordialement accepté d'être l'un des examinateurs de cette thèse.

Mes remerciements vont particulièrement au **Dr BENAHMED** médecin spécialiste en cardiologie à l'Etablissement Hospitalier d'Ain Témouchent ainsi qu'au **personnel médical et paramédical** pour m'avoir soutenue durant ces années par leur gentillesse et leur grande disponibilité en toutes circonstances.

J'adresse également mes remerciements aux membres de **LAMAABE** (Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement) au sein duquel j'ai réalisé mes expériences, et sans oublier les personnes que j'ai côtoyées au quotidien : **Hayet, Salima, Malika, Samia, Wafaa, Nadia, Amina** pour leur aide et leur sympathie.

Je remercie également les membres de l'équipe microscopie électronique à balayage avec lesquels j'ai eu l'occasion de découvrir le principe de cet appareil.

Un grand merci à **Mr BELHACHEMI Boucif** Professeur de Chimie-Physique option Thermodynamique à l'Université Abou-BekrBelkaïd de Tlemcen pour toutes ses relectures et ses conseils.

Merci à toi, **Fouad** ma moitié, mon meilleur ami, pour ton aide, ton amour, ton support, ta patience et surtout pour m'avoir toujours fait en sorte que je reste de bonne humeur en toutes circonstances...

Enfin, nous n'oublions pas de dire merci à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail. Merci à tous.

Dédicaces

Ce travail est dédié à:

Ma très chère maman, je te remercie tout particulièrement pour m'avoir encouragée. Sans toi, je n'aurais sans doute pas envisagé de faire une thèse ! Que DIEU te garde pour moi.

Douàa, Assia, Yassamine, Ines mes amoureuses, mes princesses, mes poupées. Lhamdou ALLAH d'être dans ma vie, votre amour me donne toute la force; merci mes filles: vous serez toujours le bonheur de chaque instant.

Mes sœurs, mon petit frère Wahid, ma belle soeur.

Mes nièces et neveux.

A ma belle-famille.

A mes voisines: Assia, Naïma, Asmaa.

Mes ami (e)s

Table des matières

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
Synthèse bibliographique.....	4
Chapitre 1 : Généralités sur les infections bactériennes liées aux implants médicaux et sur dispositifs cardiaques implantables	4
1. Infections liées aux dispositifs médicaux implantés	4
2. Les dispositifs cardiaques implantables	5
2 . 1. Les pacemakers : Stimulateurs cardiaques	6
2 . 2. Les défibrillateurs automatiques implantables (DAI)	6
2 . 3. Constitution et fonctionnement	6
3. Infections liées aux dispositifs cardiaques implantables (DCI).....	7
3 . 1. Infections strictement localisées au boîtier	8
3 . 2. Infections sur sondes	9
3 . 3. Endocardites	9
4. Facteurs de risque	10
Chapitre 2 : biofilm sur dispositifs cardiaques implantables	11
1. Complications des infections bactériennes sur DCI et biofilm	11
2. Biofilms.....	12
3. Caractéristique des biofilms	13
4. Principales étapes de la formation du biofilm	14
5. Les facteurs influençant la formation de biofilm sur dispositifs cardiaques implantables (DCI).....	15
5 . 1. Caractéristiques de la surface	15
5 . 2. Rugosité de la surface	15
5 . 3. Caractéristiques du milieu	16
5 . 4. Propriété des cellules.....	17

5 . 5. Les interactions physico-chimiques	17
6. Résistance des biofilms à divers agents antimicrobien	18
7. Régulation de la formation des biofilms.....	19
7 . 1. Le quorum sensing ; Définition et mécanismes	19
7 . 2. Les molécules du quorum sensing	20
Matériel et méthodes	22
1. Les patients étudiés	22
2. Collecte des caractéristiques cliniques : Echantillonnage	22
2 . 1. Mise en Culture bactérienne.....	23
2 . 2. Isolement et identification	23
2 . 3. Identification par Galerie API 20E, API 20NE API 20 STAPH (BioMérieux®)...	23
3. Conservation des souches	23
4. Antibiogramme.....	24
5. Détection de la production de biofilm	25
5 . 1. Quantification visuelle d'un biofilm par diffusion sur gélose au sang	25
5 . 2. La méthode de Plaque de Culture de Tissus (TCP)	25
5 . 3. La méthode du Rouge Congo Agar(CRA).....	26
6. Etude de l'hydrophobicité	26
7. Etude de la formation de biofilm de Staphylococcus epidermidis sous différentes conditions de culture	27
8. Cinétique de la formation de biofilm.....	27
9. Etude de la formation de biofilm sur différents biomatériaux	28
9 . 1. Préparation des supports.....	28
9 . 2. Adhésion bactérienne sur trois supports différents (sonde, plastique, boitier)	28
9 . 3. Observation de l'adhésion par environnemental microscopie électronique à balayage (MEB):	28
Résultats et discussions.....	31
1. Prévalence des infections bactériennes sur DCI dans les hôpitaux de l'ouest Algérien	31
2. Résultats de mise en cultures des DCI.....	35

3. Etude de l'état de la sensibilité des souches isolées des DCI	38
4. Quantification visuelle d'un biofilm par diffusion sur gélose au sang	43
5. Détection de biofilm	43
5 . 1. Rouge Congo Agar (RCA).....	44
5 . 2. Résultats de la méthode TCP	46
6. Etude de l'hydrophobicité de la paroi bactérienne	50
7. Influence des conditions de culture sur la formation de biofilm de Staphylococcus epidermidis.....	53
7 . 1. Effet de la température sur l'adhésion bactérienne	53
7 . 2. Effet du glucose sur l'adhésion bactérienne.....	55
7 . 3. Effet du pH sur l'adhésion bactérienne	57
7 . 4. Cinétique de la formation de biofilm in vitro de Staphylococcus epidermidis sur sonde.....	58
8. Influence de la nature du dispositif médical sur la formation de biofilm	60
Conclusion.....	64
Références Bibliographiques.....	69
Annexes	

Liste des figures

Figure 1: Principaux dispositifs médicaux implantés	4
Figure 2: Evolution des dispositifs cardiaques implantables	6
Figure 3: Dispositif cardiaque implantable.	7
Figure 4: Infection de la poche (extériorisation du boîtier).	9
Figure 5: Image de végétation d'une endocardite infectieuse vue par échographie trans- œsophagienne.	10
Figure 6: Microscopie électronique à balayage du biofilm de <i>S.aureus</i> sur sonde de pacemaker.....	12
Figure 7 : Principales étapes du développement d'un biofilm et préventives correspondantes	14
Figure 8: Mécanisme du quorum sensing chez les microorganismes.	19
Figure 9: Microscope électronique à balayage Hitachi TM1000.....	29
Figure 10: Taux de résistance aux antibiotiques des souches Gram négatif isolés des DCI étudiés.....	40
Figure 11: Taux de résistance aux antibiotiques des souches Gram positif isolés des DCI étudiés.....	40
Figure 12: Etat de multirésistances des souches Gram négatif isolées des sondes et boîtiers des pacemakers étudiés	42
Figure 13: Etat de multirésistance des souches Gram positif isolées des sondes et boîtiers des pacemakers étudiés.....	42
Figure 14: Diffusion d'un biofilm <i>Staphylococcus epidermidis</i> isolé de la connectine du patient P'4 sur gélose au sang.	43
Figure 15: Production de slime chez les souches isolées sur milieu rouge congo.	44
Figure 16: Formation de biofilm par la technique TCP chez les souches des DCI étudiées ..	48
Figure 17: Pourcentage d'affinité des souches isolées des DCI à l'héxadécane.....	51
Figure 18: Effet de la température sur la formation de biofilm de <i>Staphylococcus epidermidis</i> isolé de DCI.....	54
Figure 19: Influence du glucose sur la formation de biofilm par <i>Staphylococcus epidermidis</i> isolé de DCI.....	56
Figure 20: Influence du pH sur la formation de biofilm par <i>Staphylococcus epidermidis</i>	58
Figure 21: Cinétique de la formation de biofilm chez <i>Staphylococcus epidermidis</i> sur sonde de pacemaker.	59

Figure 22: Capacité d'adhésion des souches sélectionnées sur boîtier, sonde et connectine après 24h d'incubation.	60
Figure 23: Observation au MEB d'un biofilm de <i>Staphylococcus epidermidis</i> . (A-B) sur boîtier, (C-D) sur sonde, (E-F) sur connectine.....	62

Liste des tableaux

Tableau 1: Antibiotiques testés vis-à-vis les souches étudiées.	24
Tableau 2: Classification de l'adhérence bactérienne par la technique TCP	26
Tableau 3: Répartition des infections sur DCI selon le type du matériel.	31
Tableau 4: Répartition des infections sur DCI selon le sexe.	32
Tableau 5: Types d'infection sur DCI.	33
Tableau 6: Caractéristiques cliniques des patients infectés.	34
Tableau 7: Distribution des souches bactériennes sur les dispositifs cardiaques implantables (DCI)	36
Tableau 8: Formation de biofilm des souches isolées des parties du pacemaker selon RCA	45
Tableau 9: Répartition et caractérisation des souches formatrices de biofilm selon les parties du pacemaker.....	49

Liste des abréviations

AK	Amikacine
BATH	Bacterial Adhesion to Hydrocarbon
CAZ	Ceftazidime
CIP	Ciprofloxacine
CL	Colistine
CV	Cristal violet
DO	Densité Optique
DCI	Dispositif Cardiaque Implantable
DAI	Défibrillateur Automatique Implantable
EDS	Eau Distillé Stérile
EPS	Exopolysaccharides
GN	Gentamycine
IMP	Imipenème
IAS	Infection Associée aux Soins
LB	Luria Bertani
LPS	Lipopolysaccharide
LTA	Acide lipotéichoïque
MATH	Microbial Adhesion to Hydrocarbure
MEB	Microscope Electronique à Balayage
PBS	Phosphate Buffered Saline
PVC	Poly Chlorure de Vinyle
PM	Pacemaker
PIA	Adhésine Intercellulaire Polysaccharidique
QS	Quorum Sensing
SXT	Sulfaméthoxazole-triméthoprim
<i>S. epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
TCC	Ticarcilline- acide clavulanique
TCP	Méthode de Plaque de Culture de Tissus
TE	Tétracycline
TIC	Ticarcilline
TM	Tobramycine
UFC	Unité(s) Formant Colonie(s)

INTRODUCTION

Introduction

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

Tout dispositif (sonde urinaire, canule d'intubation, valve cardiaque, prothèse vasculaire ou orthopédique, etc.), implanté à titre provisoire ou permanent, peut devenir le site d'une éventuelle infection, et chaque procédure invasive et représenter par un corps étranger, met le patient à risque de complications diverses, parfois en raison de défaillances des dispositifs, de dommages aux tissus ou de la technique d'implantation.

Les dispositifs cardiaques implantables (DCI) sont devenus de plus en plus importants dans la gestion des maladies cardiaques au cours des 5 à 10 dernières années améliorant considérablement la qualité de vie [(**Whitaker et al., 2012**);(**Yew et al., 2012**)]. Malgré les aspects positifs des stimulateurs cardiaques permanents, les infections ont augmenté; conduisant, ainsi, à accorder plus d'attention aux facteurs de risque, à la gestion et à la prévention de ces dernières [(**Anselmino et al., 2009**);(**Durante Mangoni et al., 2011**)].

Depuis leur introduction au début des années 1980, les DCI sont devenus un outil thérapeutique de sauvetage pour les patients atteints d'arythmie. Pratiquement tous les pays ont enregistré une augmentation significative de leurs utilisations. Il est vrai que les infections secondaires à la mise en place d'un stimulateur cardiaque sont peu fréquentes. Cependant, les infections, principalement celles de la loge du boîtier est l'une des complications les plus courantes avec des incidences allant de 1 à 5% (**Santos et al., 2011**).

Une préoccupation parmi les professionnels et les microbiologistes est le risque de formation de biofilm et, par conséquent, l'infection. Au cours des dernières décennies, les biofilms ont été largement impliqués pour infections nosocomiales; on suppose que la présence de pacemakers est propice à la colonisation microbienne, contribuant grandement au développement du biofilm, pourrait expliquer l'apparition d'une endocardite.

Les premières descriptions d'infections liées aux biofilms sont associées à la contamination du matériel implanté. En 1982, un article rapportait le cas d'un patient porteur d'un stimulateur cardiaque ayant présenté trois épisodes de bactériémie à *S. aureus*. L'analyse en microscopie électronique du stimulateur cardiaque après son ablation a mis en évidence, pour la première fois, l'implication d'un biofilm dans la pathogénie d'une infection sur matériel (**Ken-ichi et al., 2018**).

Lors de l'implantation d'un matériel étranger, on considère que le risque d'adhérence bactérienne lié au geste chirurgical est majeur lors des six premières heures. Il s'engage alors une course de vitesse entre la prise en charge par le système immunitaire et la colonisation de la surface de l'implant par des bactéries à la suite d'une contamination préopératoire ou postopératoire précoce (**Rodrigues, 2011**). Par la suite, le risque de colonisation n'est jamais nul du fait de possibles contaminations par voie hématogène ou par contact avec l'environnement extérieur. Ces biofilms, une fois formés, constituent des réservoirs bactériens à l'origine d'infections liées aux soins.

Jusqu'à l'heure actuelle, aucune étude en Algérie ne s'est intéressée à l'origine bactérienne de l'infection sur dispositif cardiaque implantable (DCI) permanent qui est un des appareils de régulation du rythme cardiaque le plus utilisé.

Compte tenu de ce qui précède, cette étude vise à évaluer l'incidence de l'infection sur DCI dans quelques hôpitaux de l'ouest Algérien, à connaître l'incidence de la flore microbienne dans les infections de stimulateurs cardiaques, leurs états de résistance ainsi que leurs capacités à produire un biofilm. Mais, aussi, également à décrire les preuves scientifiques sur la formation du biofilm et l'infection associée aux stimulateurs cardiaques d'une part et d'autre part étudier certains paramètres (Antibiorésistance, Température, pH, hydrophobicité, support) qui peuvent influencer et favoriser l'adhésion sur les trois types de support qui composent le DCI.

SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE

Synthèse bibliographique

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

1. Infections liées aux dispositifs médicaux implantés

Le recours aux dispositifs médicaux implantés a constitué une source majeure de progrès médical dans de nombreux domaines comme la cardiologie (stimulateurs ou valves cardiaques), l'orthopédie (prothèses articulaires et matériel d'ostéosynthèse) ou l'oncologie (cathéters de longue durée pour l'administration de chimiothérapie anticancéreuse) (**Figure1**). Parallèlement, l'utilisation de ces dispositifs est associée à la survenue d'infections ayant comme caractéristiques communes d'être difficiles à traiter et de survenir chez des patients ayant, en règle générale, des comorbidités [(Zimmerli, 2006);(Lebeaux 1 et al., 2014)].

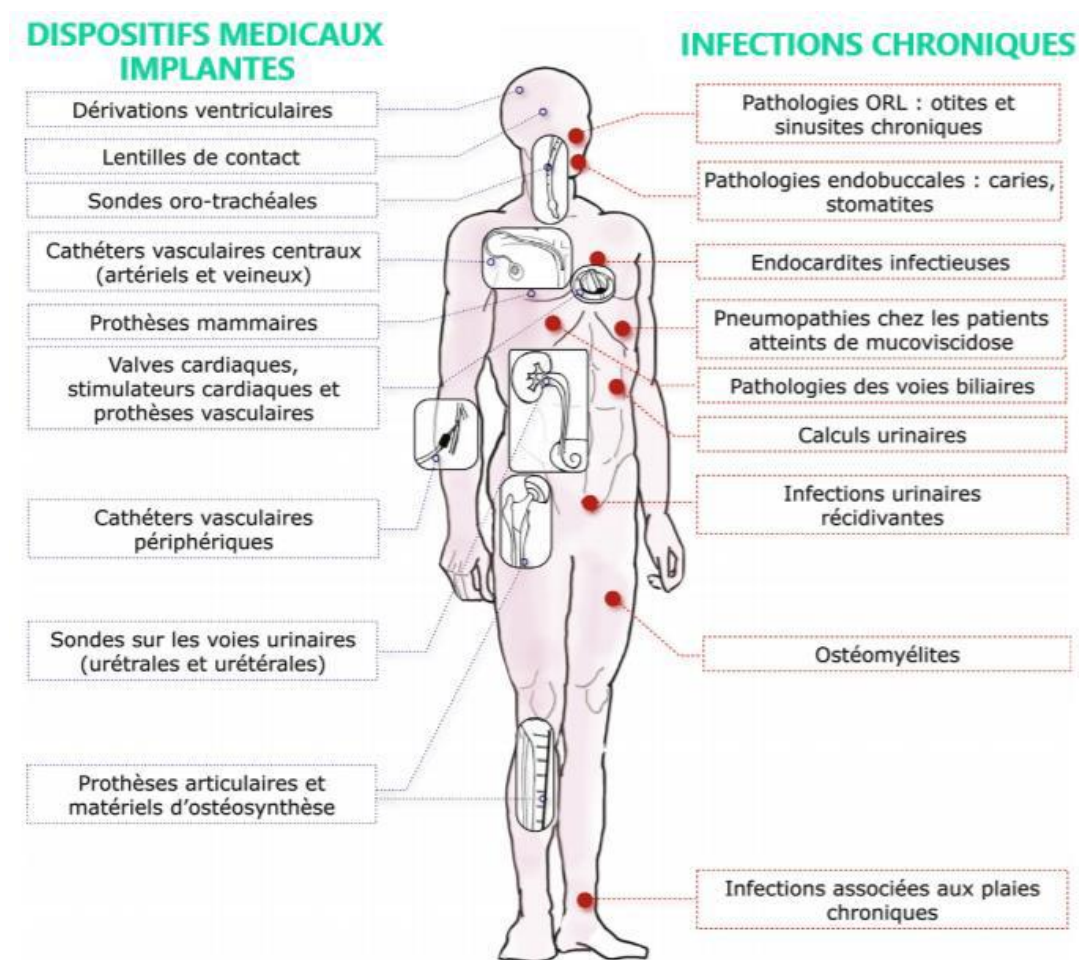


Figure 1: Principaux dispositifs médicaux implantés (Lebeaux et Ghigo 1, 2012).

La contamination peut survenir lors de la pose du matériel, dans les suites immédiates ou plusieurs mois ou années après l'implantation. Le risque zéro n'existe pas dès lors qu'un patient est porteur d'un dispositif médical implanté. La contamination survenant lors de l'insertion du matériel correspond à une infection du site opératoire. Toute contamination ne mène pas forcément à la colonisation du dispositif. En effet, après implantation, une course de vitesse s'engage entre la capacité du micro-organisme à adhérer à la surface du matériel et l'intervention du système immunitaire de l'hôte au site opératoire, puis l'intégration du matériel par les tissus du patient (**Gristina, 1987**).

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

Un deuxième scénario correspond à une contamination après l'implantation du matériel. En effet, certains dispositifs sont en contact avec la surface cutanée ou muqueuse du patient. Dans ce cas, la contamination peut survenir à n'importe quel moment de l'utilisation du dispositif. Les exemples classiques de cette situation correspondent aux cathéters vasculaires et aux sondes urinaires. Enfin, que le matériel soit totalement implanté ou en contact permanent avec l'extérieur, une contamination peut survenir par voie hématogène, à l'occasion d'une bactériémie d'une autre origine (**Lebeaux 1 et al., 2014**).

2. Les dispositifs cardiaques implantables

Un cœur en santé remplit ses fonctions grâce à son propre système de conduction électrique. Toutefois, chez certaines personnes, il peut se produire des troubles du rythme ou arythmies cardiaques. D'où la nécessité de recourir, dans certains cas, à l'implantation d'un stimulateur cardiaque permanent (**Langlois, 2000**).

Le stimulateur cardiaque, aussi appelé "pacemaker" ou « pile », est un petit appareil qui permet de surveiller et, si nécessaire, de réguler le rythme cardiaque lorsqu'il présente certaines perturbations. Celui-ci est implanté sous la peau, juste en dessous de la clavicule, au cours d'une petite intervention chirurgicale.

Les dispositifs cardiaques implantables (DCI) comprennent les stimulateurs cardiaques (SC) ou pacemakers et les défibrillateurs automatiques implantés (DAI) (**Langlois, 2000**).

2.1. Les pacemakers : Stimulateurs cardiaques

Leur fonction est la stimulation électrique des cavités ventriculaires et/ou auriculaires. Leurs indications ont été récemment étendues au traitement de l'insuffisance cardiaque évoluée, de la cardiomyopathie hypertrophique et de certaines fibrillations auriculaires. Ils sont « mono », « double » ou « triple » chambre, selon qu'ils stimulent une, deux ou trois cavités (Mathien et al., 2005).

2.2. Les défibrillateurs automatiques implantables (DAI)

Ces dispositifs permettent d'appliquer une thérapie électrique correspondant soit à une stimulation rapide soit à un choc électrique ce qui nécessite une quantité d'énergie nettement plus importante qu'en cas de simple stimulation. Ils sont constitués d'un boîtier plus large que celui des pacemakers (Hamoir et al., 2018).

Les dispositifs cardiaques implantables (DCI) se composent d'un boîtier, le plus souvent situé en position pré-pectorale, et de sondes, reliant le boîtier à l'endocarde en passant par la veine sous Clavière. Le stimulateur est régulièrement contrôlé à l'aide d'un programmeur qui permet de consulter les enregistrements et éventuellement de modifier la programmation (Carves, 2019). Les DCI sont passés par plusieurs modifications et évolutions de leurs tailles et leurs fonctionnements qui sont présentés par la **figure 2**.



Figure 2: Evolution des dispositifs cardiaques implantables (Seow, 2019).

2.3. Constitution et fonctionnement

Le pacemaker est constitué d'une coque en titane ou boîtier renfermant la batterie et le circuit électronique, ainsi que d'une partie en plastique transparent, la connectinne, permettant de brancher les sondes. Il existe des boîtiers simple, double ou triple chambres. Un boîtier de défibrillateur est plus volumineux car il contient en plus un condensateur permettant d'emmagasiner l'énergie à délivrer par le choc électrique à l'aide d'une batterie au lithium

reliée à une ou plusieurs sonde(s) qui permettent de conduire l'impulsion électrique du boîtier jusqu'à l'endocarde. Elles sont entourées d'une gaine isolante (**Figure 3**) (**Carves, 2019**).

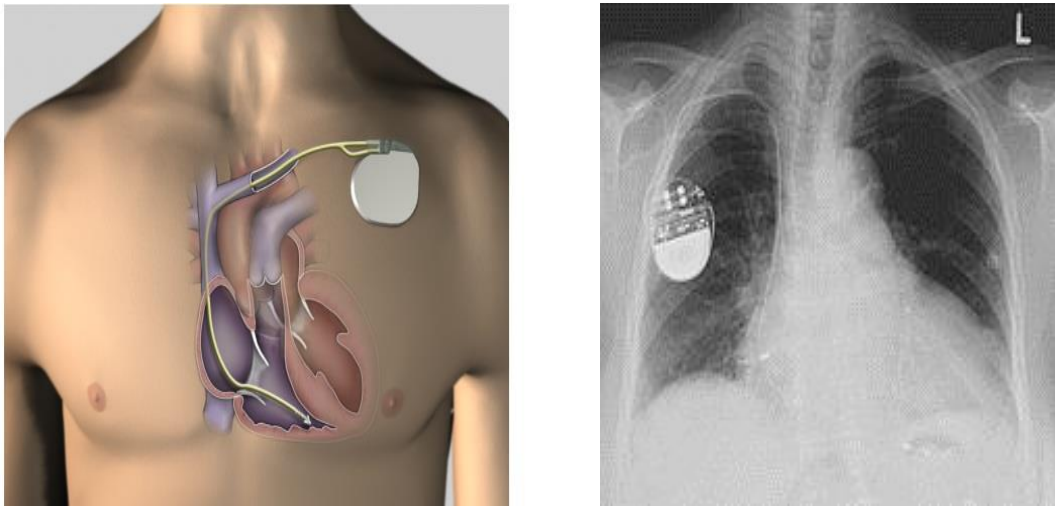


Figure 3: Dispositif cardiaque implantable (**Coombes, 2021**).

3. Infections liées aux dispositifs cardiaques implantables (DCI)

L'infection du dispositif reste un défi important car les indications cliniques de la thérapie par dispositif cardiaque implantable (DCI) continuent de s'étendre au-delà de la prévention et du traitement des arythmies cardiaques. Les patients recevant un traitement de DCI sont plus âgés et présentent des comorbidités importantes, ce qui les expose à un risque plus élevé de complications, y compris une infection.

L'infection sur DCI justifie le retrait de l'appareil complet, car la rétention est associée à un risque inacceptable de rechute et à une mortalité accrue. Cependant, le diagnostic des infections sur DCI reste un défi important qui repose sur une combinaison de résultats à l'examen physique, tests microbiologiques et l'imagerie avancée, comme l'échocardiographie trans-œsophagienne ou la tomographie par émission de positons *PET Scan*. L'isolement d'un pathogène causal et la réalisation de tests de sensibilité sont essentiels pour un choix, une voie, et pour la durée du traitement antimicrobien (**De Simone et Sohail, 2018**).

Les manifestations cliniques de l'infection sur DCI sont très variables. Elles peuvent être divisées en deux catégories qui se chevauchent, à savoir l'infection de la poche et l'infection systémique [(**Sohail 1 et al., 2007**);(**Tarakji et al., 2010**)]. Une infection de poche est généralement due à la contamination du site chirurgical. La plupart des cas, elle survient après quelques semaines ou des mois après l'implantation mais les intervalles de plus d'un an

sont observés avec des micro-organismes tels que *Corynebacterium*, *Propionibacterium* et certaines espèces de coagulase négative Staphylocoques (**Podoleanu et Deharo, 2014**).

Dans le monde, il y a environ 3,25 millions stimulateurs cardiaques fonctionnels et 180000 défibrillateurs cardiaques implantables. Le taux d'infection pour ces appareils allant de 1% à 7%, et la méthode optimale pour la gestion d'une telle infection, reste à définir (**Chua et al., 2000**).

Si l'infection se situe le plus fréquemment au niveau de la loge du boîtier, elle peut également atteindre le segment extravasculaire sous-cutané de la sonde et son segment endovasculaire. L'endocardite liée à un DCI est la forme la plus grave de l'infection. Depuis la fin des années 1960, la fréquence de l'infection après implantation de pacemaker a tout d'abord eu tendance à diminuer (**Camus, 2008**).

Cependant, l'incidence de l'infection des DCI augmente hors de proportion avec l'implantation des DCI. Une étude américaine a signalé une augmentation de 12% du nombre d'implantations de DCI entre 2004 et 2006, avec une augmentation de 57% des infections au DCI pendant la même période (**Tarakji et al., 2016**).

Il est également rapporté une augmentation de 48% du taux d'implantation des DCI en Australie entre 1997 et 2001 (**Mond et al., 2004**). Les DAI sont maintenant utilisés depuis plus de 20 ans. Du fait de la similitude entre les pacemaker (PM) et les DAI et du peu de données spécifiques pour ces derniers, on considère généralement que les données d'infection établies pour les PM peuvent s'appliquer aux défibrillateurs [(**Gandelman et al., 2007**);(**Sohail 2 et al., 2007**)].

L'infection sur les dispositifs cardiaques implantables (DCI) peut être locale, limitée à la poche du générateur lors de la manipulation chirurgicale, ou si le générateur ou les électrodes sous-cutanées s'érodent à travers la peau (**Tascini et al., 2006**).

3 . 1. Infections strictement localisées au boîtier

La poche peut s'infecter au moment de l'implantation, lors d'une manipulation chirurgicale ultérieure de la poche, ou si le générateur ou les électrodes sous-cutanées s'érodent à travers la peau. L'infection de poche peut suivre le long de la partie intravasculaire de l'électrode pour impliquer la partie intracardiaque du DCI. Alternativement, la poche ou la partie intracardiaque de l'électrode peut devenir infectée à la suite d'un ensemenement hématogène lors d'un accès de bactériémie ou de fongémie secondaire à un foyer infecté éloigné (**Bongiorni et al., 2012**). La **figure 4** montre une extériorisation du boîtier lors d'une infection de DCI.



Figure 4: Infection de la poche (extériorisation du boîtier) (Kabayadondo et al., 2011).

3.2. Infections sur sondes

Le segment sous-cutané d'une sonde peut se coloniser à partir d'une infection initialement localisée au boîtier. L'infection consécutive à l'érosion isolée d'un segment sous-cutané de sonde est devenue rare. L'infection sur la partie endovasculaire ou endocardique de la sonde peut être confirmée microbiologiquement par la culture de cette sonde ou les hémocultures (Chua et al., 2000). La distinction entre infection localisée et systémique est parfois difficile. Des microorganismes sont fréquemment isolés à la culture des sondes lors du retrait de matériel pour des infections dont la présentation clinique est purement locale (Klug et al., 2004).

3.3. Endocardites

L'endocardite liée à un DCI est assez particulière. C'est une inflammation de l'endocarde et de ses structures (valves), le plus souvent d'origine infectieuse, décrite par William Osler en 1885. Les causes non infectieuses d'endocardite (auto-immunes, cancéreuses) sont exceptionnelles. L'endocardite infectieuse est une maladie rare et sévère (20% de mortalité à la phase aiguë de la maladie). Le diagnostic est retenu sur un faisceau d'arguments cliniques, microbiologiques et échocardiographiques (Figure 5) (critères de Duke modifiés). Il est classique de distinguer les endocardites infectieuses sur valves natives (78%), et celles sur dispositif intracardiaque (5%) (Camou et Dijos, 2014).



Figure 5: Image de végétation d'une endocardite infectieuse vue par échographie transœsophagienne (Hoen *et al.*, 2013).

4. Facteurs de risque

Les facteurs prédisposant traditionnellement à l'infection après implantation de DCI sont le diabète, l'existence d'un cancer, le traitement au long cours par corticostéroïdes ou par anticoagulants, l'existence d'un hématome postopératoire, l'inexpérience de l'opérateur, une réintervention [(Bluhm, 1985);(Villamil Cajoto *et al.*, 2007)]. Dans différentes études récentes, la corticothérapie prolongée, l'implantation de plus de deux sondes (Sohail 1 *et al.*, 2007), la fièvre 24 heures après l'implantation, l'utilisation d'une stimulation temporaire, une réintervention précoce (Klug *et al.*, 2007) et la mise en place abdominale du matériel (en particulier pour les défibrillateurs) (Marschall *et al.*, 2007) sont démontrés comme des facteurs de risque significatifs d'infection (Tarakji *et al.*, 2016).

Chapitre 2 : biofilm sur dispositifs cardiaques implantables

1. Complications des infections bactériennes sur DCI et biofilm

L'implication et l'importance des biofilms dans les environnements naturels, industriels et médicaux sont aujourd'hui largement démontrées par la communauté scientifique. En médecine humaine plus particulièrement, la prévalence des infections associées aux biofilms attire considérablement l'attention du fait de l'inefficacité des traitements thérapeutiques. Dans ce contexte, la compréhension des mécanismes impliqués notamment dans l'échec de l'antibiothérapie est devenue un challenge, aussi bien de la recherche médicale que de la recherche fondamentale (**Boujemaa, 2017**).

Environ 80% des infections microbiennes chroniques et récurrentes dans le corps humain sont dues au biofilm bactérien. Les cellules microbiennes des biofilms ont montré 10 à 1000 fois plus de résistance aux antibiotiques que les cellules planctoniques (**Mah, 2012**). Les infections liées au biofilm peuvent être globalement divisées en deux types. Les biofilms peuvent se former sur les surfaces abiotiques, en particulier les infections associées aux dispositifs médicaux (**Sharma et al., 2019**) et les infections à biofilm natif des tissus hôtes (**Burmolle et al., 2010**).

Depuis plus de 15 ans, de nombreuses études cliniques ont tenté de préciser les modalités thérapeutiques optimales (souvent médico-chirurgicales) de ces complications [(**Zimmerli et al., 1998**);(**Zimmerli, 2006**)]. En parallèle, une approche plus fondamentale a mis en évidence que des communautés microbiennes enrobées par une matrice extracellulaire appelées biofilms sont trouvées à la surface des dispositifs médicaux implantés, en cas d'infection [(**Marrie et al., 1982**);(**Costerton et al., 1999**)].

Les biofilms sont responsables d'infections chroniques et posent de nombreux problèmes dans le domaine médical. Les infections liées à des biofilms touchent majoritairement les personnes légèrement ou fortement immunodéprimés et impliquent souvent des bactéries commensales comme *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Costerton, 1999**). Caractérisées par des symptômes qui surgissent de façon récurrente, elles contribuent de manière très importante aux infections nosocomiales : En effet, les biofilms ont la capacité de se développer sur divers instruments médicaux (**Figure 6**): sondes urinaires, cathéters veineux, tubes de ventilation artificielle, prothèses orthopédiques etc. (**Roux et Ghigo, 2006**).

Toutes les espèces bactériennes et la plupart des champignons sont capables de former des biofilms. Il est désormais bien documenté que les caractéristiques des microorganismes au sein du biofilm peuvent influencer l'évolution de l'infection ou expliquer certaines difficultés thérapeutiques. Par exemple, lorsque les bactéries forment un biofilm, leur capacité à survivre malgré les antibiotiques augmente et une partie d'entre elles peuvent survivre à des concentrations médicamenteuses atteignant 100 ou 1000 fois la concentration minimale inhibitrice (Lewis, 2008). L'autre inconvénient majeur fourni par ce mode de vie et de permettre d'échapper au système immunitaire [(Leid et al., 2002);(Jesaitis et al., 2003)]. Une fois établi, le « biofilm » contribue aux difficultés thérapeutiques rencontrées en cas d'infection liée aux dispositifs médicaux implantés. Les mesures préventives sont donc fondamentales afin de réduire le risque de contamination microbienne et de formation d'un biofilm (Lebeaux 2 et al., 2014).

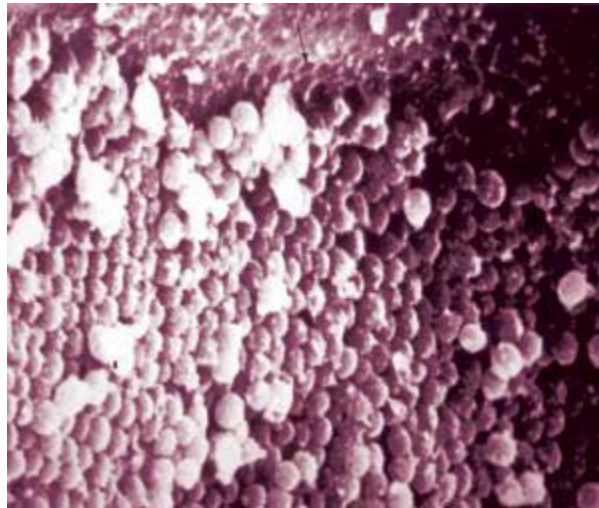


Figure 6: Microscopie électronique à balayage du biofilm de *S.aureus* sur sonde de pacemaker (Hall-Stoodley et al., 2004).

2. Les biofilms

Depuis la découverte des biofilms, la vision des biologistes sur le monde microbien a radicalement changé. En effet, les microorganismes (bactéries, archées, champignons, protistes, virus...) et, plus particulièrement, les bactéries, sont pendant longtemps uniquement considérés comme existant sous une forme dite « planctonique »; c'est-à-dire en suspension dans l'eau. Or, la vie microbienne de notre planète a colonisé non seulement les milieux aqueux mais également tous les milieux solides. Il est donc rare de trouver des surfaces totalement dépourvues de microbes, autre nom des micro-organismes.

Dans la nature, les biofilms sont observés dans des niches écologiques aussi variées que la surface des plantes, les sols, les interfaces air-eaux stagnantes, les sédiments marins, la peau et les microbiotes des animaux, etc. La plupart du temps, ces biofilms naturels comportent plusieurs espèces.

Tous les biofilms ont pour point commun une cohésion des cellules assurée grâce à une matrice extracellulaire. Celle-ci est composée de polymères complexes (souvent dérivés de polysaccharides), d'eau et quelque fois de protéines et d'acides nucléiques (**Douarche et al., 2018**).

Depuis leur découverte et jusqu'à ce jour, les biofilms livrent en permanence de nouveaux secrets. De nombreuses hypothèses ont été proposées pour expliquer certains phénomènes comme les processus d'adhésion, le Quorum Sensing et même la formation du biofilm lui-même comme avantage pour les microorganismes. La composition du milieu liquide (nature et concentration des matières organiques), le type de microorganismes (autotrophe ou hétérotrophe) et la surface servant de support au biofilm (toxique ou non toxique, vivante ou non) affectent, plus ou moins, la formation d'un biofilm. Une fois le biofilm formé, il commence à se développer en fonction de contraintes environnementales auxquelles il est soumis. Celles-ci peuvent être de nature chimique (substances antimicrobiennes par exemple), physiques (champ magnétique, lumière, etc.) et hydrodynamiques (vitesse de la phase liquide, vitesse de la surface, structuration de la surface, etc.). La maturation du biofilm est en fonction du temps; il évolue de manière cyclique: plus le biofilm est âgé, plus la biomasse, le nombre de microorganismes et l'épaisseur du biofilm sont importants jusqu'au décrochement et au renouvellement du biofilm (**Alnnasouri, 2010**).

3. Caractéristique des biofilms

Les biofilms bactériens sont généralement définis comme des agrégats de cellules bactériennes attachés à une surface et enrobés d'une matrice polymérique (**Yannick et al., 2014**). Les bactéries peuvent tout aussi bien adhérer à une surface biotique (cellules de la muqueuse) qu'à une surface abiotique (sondes urinaires, lentilles de contact, pacemakers). La formation d'un biofilm se fait en plusieurs étapes selon un modèle bien établi (**Figure 7**).

La capacité de former un biofilm est maintenant reconnue comme une caractéristique propre à plusieurs microorganismes. On estime d'ailleurs que 80% de la biomasse microbienne de notre planète réside sous forme d'un biofilm (**Richards et Melander, 2009**).

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

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

4. Principales étapes de la formation du biofilm

La formation d'un biofilm représente un changement radical de mode de vie des microorganismes qui le constituent. Le passage d'un mode de vie planctonique, individuel, à un mode de vie communautaire et sessile, est un processus dynamique et complexe (Costerton, 1999), qui passe par plusieurs étapes (Figure 7): adhésion réversible des bactéries de la phase planctonique à une surface, irréversibilité de l'adhésion correspondant à la synthèse de structures à la surface des bactéries, formation de microcolonies, puis développement de ces microcolonies traduisant le stade de maturation du biofilm et colonisation de nouvelles surfaces (Roux et Ghigo, 2006).

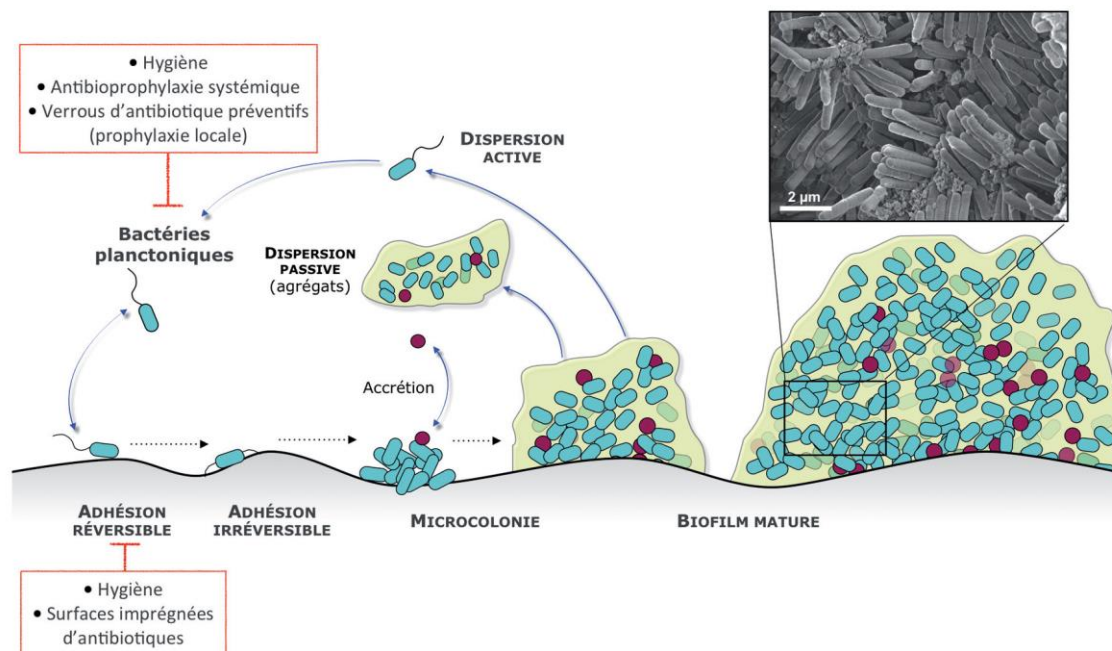


Figure 7 : Principales étapes du développement d'un biofilm et préventives correspondantes (Lebeaux et Ghigo 2, 2012).

5. Les facteurs influençant la formation de biofilm sur dispositifs cardiaques implantables (DCI)

La formation d'un biofilm est un phénomène complexe, sous l'influence de nombreux facteurs: caractéristiques du substrat sur lequel les bactéries vont se fixer, forces s'exerçant dans le milieu aqueux (hydrodynamique du fluide), caractéristiques du milieu et propriétés de la surface des cellules (**Donlan, 2002**).

5.1. Caractéristiques de la surface

N'importe quel matériau en contact avec un fluide contenant des bactéries est un support potentiel pour la formation d'un biofilm. La rugosité, les propriétés chimiques d'une surface et la présence préalable de films protéiques influent sur l'attachement des bactéries à cette surface et à la formation d'un biofilm (**De Chalvet De Rochemonteix, 2009**).

5.2. Rugosité de la surface

Plus une surface est rugueuse, plus la colonisation de cette surface par des micro-colonies est importante (**Characklis et al, 1990**). Les surfaces rugueuses sont colonisées de façon préférentielle car les forces répulsives sont moindres et la surface de fixation est augmentée, grâce à la présence d'aspérités (**Donlan, 2002**). Néanmoins, certaines souches sauvages de bactéries colonisent aussi des surfaces lisses (**Donlan et Costerton, 2002**). Les biofilms auront ainsi tendance à se former au niveau des aspérités des matériaux, formant des recoins propices aux proliférations bactériennes et moins sensibles aux agents désinfectants ou antiseptiques.

5.2.1. La charge de surface et le caractère hydrophobe des matériaux

La charge à la surface d'un solide peut engendrer des forces électrostatiques d'attraction ou de répulsion lors de l'approche de la bactérie. Les cellules bactériennes possèdent une charge négative sur leur membrane cellulaire mais cette charge est plus ou moins importante d'une souche à l'autre. La charge de surface du matériau peut être modifiée par le pH et la composition ionique de la solution environnante ainsi que par l'adsorption de protéines, qui a lieu au cours des premières étapes de l'adhésion. Cette adsorption augmente avec l'hydrophobicité du support [(**Nath et al., 2004**);(**Pamula et al., 2004**)].

5.2.2. Présence de films protéiques sur la surface

La présence de polymères sur un matériau modifie les propriétés physico-chimiques de sa surface, et a une influence directe sur l'attachement de bactéries à cette dernière. En effet, la présence préalable sur un biomatériau d'un film protéique comme le sang, les larmes,

l'urine, la salive, le liquide interstinal et les sécrétions respiratoires influe sur l'attachement des bactéries à sa surface, et favorise la formation de biofilms (Mittelman, 1996).

5.3. Caractéristiques du milieu

La formation et la dispersion d'un biofilm nécessitent des équipements enzymatiques précis et des entités structurales particulières, dont l'activation dépend de facteurs environnementaux clefs [(Fletcher, 1988);(O'Toole et al., 2000);(Donlan, 2002); (Martinez et Casadevall, 2007);(Goller et Romeo, 2008)].

5.3.1. Température

La température est importante non seulement parce qu'elle affecte l'activité métabolique et enzymatique des bactéries, mais aussi parce qu'elle influe sur certains paramètres physico-chimiques (pH, activité ionique, agitation thermique et solubilité des gaz) ainsi que sur les propriétés de surface des microorganismes. La température de croissance peut avoir un effet significatif sur la mobilité électrophorétique cellulaire et la production de flagelles et, ainsi sur l'adhésion (Dumas, 2007).

5.3.2. pH

Le pH du milieu environnant modifie la charge de surface des microorganismes ainsi que celle des supports solides suite au déplacement des équilibres d'ionisation (protonation/déprotonation) des groupements fonctionnels exposés selon leur pKa (Hamadi et al., 2004) ce qui peut avoir comme conséquence une réduction ou une augmentation des interactions électrostatiques répulsives défavorables à l'adhésion (Boutaleb, 2007).

5.3.3. L'oxygène

Plusieurs facteurs influents sur la formation du biofilm comme la concentration en oxygène, concentration en fer, osmolarité, présence d'ions spécifiques; la source de carbone joue un rôle sur sa formation et sur sa maturation (Martinez et Casadevall, 2007).

5.3.4. Nutriments

Dans un milieu statique, la concentration en nutriments doit être élevée pour qu'il puisse y avoir formation d'un biofilm; ce n'est pas le cas pour un milieu hydrodynamique (Spormann, 2008).

5.3.5. Electrolytes

L'augmentation de la concentration de plusieurs cations (sodium Na⁺, Calcium Ca²⁺, ion ferrique Fe³⁺) influence l'attachement de *Pseudomonas fluorescens* sur des surfaces

en verre, en réduisant les forces répulsives s'exerçant entre les bactéries chargées négativement et la surface de verre (**Fletcher, 1988**).

5 . 3 . 6. La fluidité du milieu

L'hydrodynamique du fluide: nous enseigne que selon la position du matériau dans un fluide, il sera plus ou moins exposé à des turbulences. La zone de moindres turbulences, à l'écart des flux laminaires, est appelée zone de fixation. C'est précisément dans cette zone qu'il est plus facile pour les micro-organismes de se fixer sur une surface, puisqu'ils sont moins soumis aux forces exercées par le fluide (**Donlan, 2002**).

5 . 4. Propriété des cellules

L'hydrophobicité de la surface de la cellule, la présence de fimbriae et de flagelles, et la production d'exopolysaccharides influencent l'attachement des bactéries sur une surface.

L'hydrophobicité d'une surface est importante dans l'adhésion des micro-organismes à cette dernière. Moins les matériaux sont polarisés, plus les liaisons hydrophobes deviennent importantes. La plupart des bactéries sont chargées négativement et présentent à leur surface des zones hydrophobes. Plusieurs éléments structuraux des bactéries interviennent dans leur attachement à une surface: flagelles, fimbriae, polysaccharides...

Il peut y avoir des compétitions ou des coopérations entre cellules lorsque plusieurs espèces de bactéries sont concernées. Les polymères apolaires situés à la surface des cellules comme les fimbriae, certaines protéines, et les acides mycoliques (composants de certaines bactéries Gram positif) semblent s'attacher de façon prédominante à des surfaces hydrophobes. Les exopolysaccharides et les lipopolysaccharides sont plus influents dans les mécanismes d'attachement à des surfaces hydrophiles (**Donlan, 2002**).

5 . 5. Les interactions physico-chimiques

La nature de la surface bactérienne détermine les interactions microorganisme-support [(**Reifsteck et al., 1987**);(**Bellon-Fontaine et al., 1996**)]. Ainsi, les interactions physicochimiques entre une surface bactérienne et un support résultent d'une combinaison de forces de Van der Waals, de forces électrostatiques, de propriétés acide-base de Lewis et de liaisons hydrophobes [(**Bellon-Fontaine et al., 1996**);(**Briandet, 1999**);(**Krepsky et al., 2003**)].

6. Résistance des biofilms à divers agents antimicrobiens

Les biofilms retrouvés dans des environnements naturels ou industriels sont résistants aux bactériophages, aux amibes ainsi qu'aux biocides utilisés dans les procédés industriels (**Costerton et al., 1999**). Comme indiqué précédemment, les biofilms permettent aux bactéries pathogènes de résister à la réponse immunitaire de l'hôte. De plus, les bactéries d'un biofilm sont généralement moins sensibles aux antibiotiques et aux désinfectants que ces mêmes bactéries sous forme planctonique. En fait, les bactéries d'un biofilm peuvent être de 10 à 1000 fois plus résistantes aux agents antimicrobiens [(**Olson et al., 2002**);(**Ceri et al., 2010**)].

Plusieurs facteurs peuvent expliquer la plus grande résistance (certains auteurs préfèrent plutôt parler d'une tolérance) des biofilms aux agents antimicrobiens [(**Anderson et al., 2008**);(**Hall-Stoodley et al., 2009**);(**Ceri et al., 2010**)]. Un de ces facteurs est la matrice polymérique qui agit comme barrière réduisant ou empêchant la diffusion des agents antimicrobiens. Les charges électrostatiques à la surface de la matrice polymérique peuvent aussi lier certains agents antimicrobiens. Le métabolisme des bactéries d'un biofilm joue également un rôle très important. Étant donné la faible concentration de certains nutriments et le gradient en oxygène, certaines cellules du biofilm seront peu actives métaboliquement et pourront même être sous forme dormante; ces cellules bactériennes dormantes sont d'ailleurs probablement responsables d'une grande partie de la tolérance associée aux biofilms (**Lewis, 2008**). La proximité spatiale des bactéries au sein d'un biofilm mature favorise probablement le transfert horizontal de gènes et l'augmentation de la résistance aux antibiotiques (**Yannick et al., 2014**).

Trois hypothèses principales sont avancées afin d'explicitier les mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques (**Stewart et Costerton, 2001**).

La première repose sur une notion de barrière physique qui explique la pénétration lente et incomplète de certains antibiotiques. La seconde hypothèse est liée à l'environnement spécifique du biofilm, dont les zones les plus profondes, riches en résidus acides et pauvres en oxygène et en nutriments, pourraient gêner l'action de l'antibiotique. Enfin, la dernière hypothèse s'appuie sur les modifications phénotypiques observées dans certains biofilms et dont les micro-organismes constituants pourraient présenter des formes plus résistantes.

Ces trois hypothèses reposent sur la nature communautaire et multi-cellulaire du biofilm. La plupart des spectres antibiotiques ont été étudiés sur des formes planctoniques, et doivent maintenant être étudiés sur des modèles de biofilms plus complexes. Ainsi, de

nouvelles concentrations minimales d'inhibition, ainsi que de nouvelles associations médicamenteuses doivent être envisagées.

7. Régulation de la formation des biofilms

7.1. Le quorum sensing ; Définition et mécanismes

La formation du biofilm est régulée par une « communication » de cellule à cellule fondée sur une détection de la densité cellulaire. L'amplitude du signal est en fonction de la taille de la population et, en fonction d'un certain seuil, le signal active un régulateur transformationnel inducteur de gènes spécifiques (mécanisme d'auto induction). Le mécanisme de QS commence par une signalisation par une molécule connue sous le nom auto-inducteur (AI) et un activateur ou R-protéine. Dans le cas d'une faible densité de microorganismes, c'est-à-dire quand la distance entre deux microorganismes est grande, l'auto-inducteur est produit à un niveau faible. En cas de forte densité de microorganismes (la distance entre les deux microorganismes est alors petite) le niveau de l'auto-inducteur augmente jusqu'à un seuil de concentration pour lequel l'auto-inducteur est capable d'activer la production des gènes cibles. Cela induit la réponse correspondante aux signaux comme la production d'exopolymères par exemple. La **figure 8** montre les deux cas (**Ronald, 1999**).

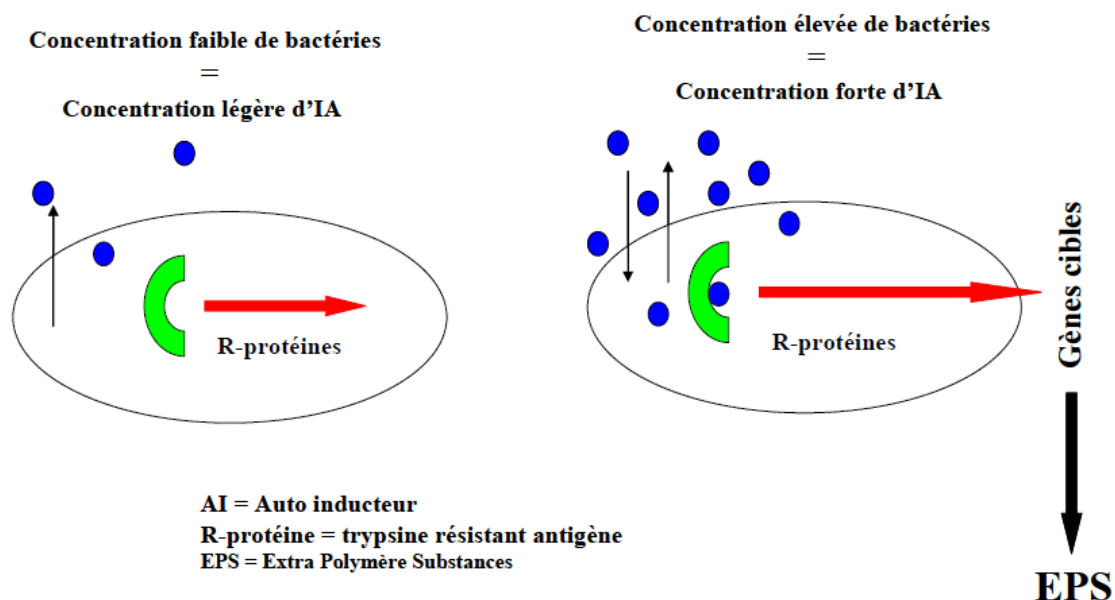


Figure 8: Mécanisme du quorum sensing chez les microorganismes (**Ronald et al., 1999**).

7.2. Les molécules du quorum sensing

Il existe plusieurs molécules de signalisation intercellulaire chez les microorganismes [(Ronald, 1999);(Miller et al., 2004)].

➤ Acyl Homoserine Lactones (AHL)

Le premier système de QS est décrit chez *Vibrio fischeri* (Nealson, 1977). AHL est trouvé uniquement chez les bactéries Gram-négatif.

➤ Peptides Auto-inducteurs

Chez de nombreuses espèces de bactéries Gram-positif, la sécrétion de ces peptides en tant que molécules de signalisation a été mise en évidence. Ce sont des molécules fréquemment produites par les bactéries de type *Streptocoques* (Steinmoen et al., 2002).

➤ Auto- inducteur 2 (AI-2)

C'est un signal de QS produit par certaines bactéries Gram-positif et Gram-négatif. Seules deux structures d'AI-2 ont été distinguées: celles de *Vibrio harveyi* (Chen et al.,2002) et de *Salmonella enterica* (Miller et al., 2004).

**MATERIEL ET
METHODES**

Matériel et méthodes

1. Les patients étudiés

Tous les patients cliniquement diagnostiqués avec une infection sur DCI, ou une endocardite infectieuse et ayant subi un retrait de leur dispositif cardiaque sont inclus dans cette étude. Celle-ci était effectuée sur une période entre décembre 2012 et août 2014 dans 4 unités de cardiologie de différents hôpitaux de l'ouest algérien.

Le diagnostic clinique de l'infection est fait par le clinicien qui s'est basé sur les signes locaux de l'inflammation comme l'érythème, la chaleur, rougeur ou drainage purulent, extériorisation du boîtier septicémie ou encore endocardite infectieuse.

Le temps de l'infection était enregistré et nous avons divisé les infections sur DCI comme très tôt soit à 1 mois de la dernière procédure sur DCI, précoce quand l'infection se situe entre 2 et 12 mois de la dernière procédure et infection tardive si elle est déclarée 12 mois après la dernière procédure.

2. Collecte des caractéristiques cliniques : Echantillonnage

Les caractéristiques cliniques: l'âge, le sexe, l'existence d'une cardiopathie antérieure sous-jacente ou d'un antécédent d'endocardite infectieuse, l'existence d'un diabète, d'une immunodépression, primo implantation ou changement de boîtier, antibiothérapie sont recueillies. De même qu'une éventuelle infection ou chirurgie programmée au cours des cinq dernières années (**Annexe 1**).

Sur une période de 21 mois allant de Décembre 2012 à Août 2014, un ensemble de 17 dispositifs cardiaques implantables (stimulateurs cardiaques, défibrillateurs) sont prélevés, chez des patients hospitalisés ou une confirmation de la présence d'une infection sur leurs DCI est faite par les médecins spécialistes.

Après retrait des Dispositifs Cardiaques Implantables (DCI) par les chirurgiens, ces derniers sont mis dans des bocaux stériles puis acheminés dans les 30 min au Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'Université Abou-Bekr Belkaid-Tlemcen pour être étudiés.

2 . 1. Mise en Culture bactérienne

Chaque élément du DCI (boîtier et sonde) est mis séparément dans une solution saline stérile et traité aux ultrasons pendant 5min à une fréquence de 20Khz, puis vortexés à nouveau pendant 30 secondes afin de détacher et détecter des bactéries sessiles accrochées à ces dispositifs [(Sampedro et al., 2010);(Bonkat et al., 2011);(Meziani et al., 2020)].

La sonication des implants après leurs retraits est introduite dans la pratique clinique et a montré de bons résultats pour le diagnostic microbiologique des infections liées aux dispositifs orthopédiques (Oliva et al., 2013), son application dans le cadre de DCI est encore limitée.

2 . 2. Isolement et identification

Après sonication, 100µL du liquide de trempage est ensemencé par étalement en surface du milieu Chapman puis incubé à 37°C pendant 24 à 48h pour la recherche des staphylocoques et 100µL sur milieu Mac Conkey puis incubé à 37°C pendant 24h afin de rechercher les entérobactéries .

2 . 3. Identification par Galerie API 20E, API 20NE API 20 STAPH (BioMérieux®)

L'identification biochimique des bactéries est faite par API 20E, API 20NE API staph (bioMérieux. Marcy l'Etoile, France). Cette galerie repose sur le même principe que les techniques biochimiques conventionnelles d'identification des bactéries. Elle se présente sous forme de 20 micro-tubes prêts à l'emploi contenant le substrat lyophilisé nécessaire aux différents tests biochimiques. Les substrats reconstitués suivant les recommandations du fabricant, sont examinés après incubation à 37°C pendant 24h; les réactions produites sont révélées par des virages colorés spontanés ou par l'addition de réactifs. La lecture de ces réactions se fait à l'aide de la matrice d'identification en utilisant le tableur Excel.

3. Conservation des souches

Toutes les souches identifiées sont conservées en double réplique, sur gélose nutritive inclinée à +4°C et dans du bouillon nutritif à 15% (v/v) glycérol à – 20°C. Ce dernier étant recommandé pour une bonne conservation à long terme des souches bactériennes.

4. Antibiogramme

La sensibilité des souches aux antibiotiques est déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé de Mueller-Hinton selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CASFM, 2010). A partir d'une culture pure de 24 heures une colonie est repiquée sur un milieu d'isolement dans 10mL de bouillon Cœur Cerveau (BHIB) et incubé à 37°C pendant 18 heures. Grâce à un colorimètre, la densité optique de l'inoculum est mesurée et ajustée entre 0.08 et 0.1 à 560nm équivalente à 10^8 UFC/ml (0,5 Mc Farland). Les disques d'antibiotiques (**Tableau 1**) sont déposés sur la surface. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés après incubation de 18-24h à 37°C. Les résultats sont comparés aux valeurs critiques figurant dans la table de lecture (**Annexe 2**), puis la bactérie est classée dans l'une des catégories suivantes: sensible, intermédiaire ou résistante.

Tableau 1: Antibiotiques testés vis-à-vis les souches étudiées.

	Antibiotique	Charge du risque
Bétalactamines	Peniciline	10ug
	Oxacilline	5ug
	Cefoxitine	30ug
Carbapénèmes	Imipéneme	10ug
Sulfamides	Triméthoprim /Sulfaméthoxazole	25ug
Aminosides	Gentamicine	10ug
	Amikacine	30ug
	Tobramycine	10ug
Glycopeptides	Vancomycine	30ug
Fluoroquinolones	Ofloxacine	5ug
Macrolides et apparentés	Erythromycine	15ug
	Clindamycine	2ug
	Pristinamycine	15ug
Rifamycines	Rifampime	30ug
Acides Fusidiques	Acide fusidique	10ug
Fosfomycine	Fosfomycine	50ug
Cyclines	Tetracycline	30ug
Phénicoles	Chloramphenicol	30ug

5. Détection de la production de biofilm

Deux méthodes phénotypiques ont été utilisées pour la détection de la production de biofilms de tous les isolats à l'aide d'une méthode qualitative (méthode de gélose rouge du Congo) et d'une méthode quantitative (méthode de la plaque de micro-titration).

5.1. Quantification visuelle d'un biofilm par diffusion sur gélose au sang

La surface solide sélectionnée pour cette étude est la connectine; petit morceau en silicone reliant le boîtier à la sonde. Avant chaque expérience et afin de couper la partie désirée; un couteau est trempé pendant 15min dans l'éthanol, rincé six fois avec de l'eau distillée puis stérilisé par autoclavage pendant 15min à 120°C (**Hamadi et al., 2009**).

La connectine est placée dans une boîte pétri contenant de la gélose au sang et incubée à 37°C pendant 24h (**Djeribi et al., 2012**).

5.2. La méthode de Plaque de Culture de Tissus (TCP)

Les microplaques utilisées sont en polystyrène comportant 96 puits sur lesquelles les bactéries vont adhérer et former un biofilm. La détermination quantitative de la formation de biofilm dans les microplaques à 96 puits est réalisée selon les recommandations de **Christensen et al. (1985)**.

Les bactéries sont cultivées en milieu BHIB et incubées toute une nuit à 37°C. Chaque culture jeune est ajustée pour l'obtention de 10^8 UFC/mL puis est diluée au 1/100 ème dans le même milieu (BHIB). Chaque puits de la plaque est rempli avec 0,2mL de cette dilution. Les microplaques sont recouvertes, scellées stérilement et incubées pendant 24h à 37°C.

Après incubation, les puits des microplaques sont vidés, rincés 3 fois avec de 200µL d'eau distillée, séchés en position inversée et colorés avec 200µL de cristal violet a 0,5% (p:v).

Le cristal violet (CV) est un colorant basique qui se lie sur les bactéries et les exopolysaccharides dans la matrice extracellulaire du biofilm (**Peeters et al., 2008**). La coloration au CV est initialement décrite par **Christensen et al. (1985)** et modifiée par **Stepanovic et al. (2000)** pour permettre la quantification de la biomasse du biofilm de faible épaisseur (âgés de quelques heures ou quelques jours).

Après 30min d'incubation, l'excès du cristal violet est éliminé par 5 lavages successifs avec 300µL d'eau distillée stérile. Le colorant incorporé par les cellules ayant adhéré ou ayant formé un biofilm est solubilisé avec 200µL d'éthanol à 95% (v/v). La quantité

de cristal violet solubilisé est mesurée par la lecture de la DO à 570nm dans un lecteur ELISA Auto Reader.

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

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

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

5.3. La méthode du Rouge Congo Agar(CRA)

Cette technique qualitative consistant à l'ensemencement des souches testées pour leur capacité à produire le biofilm sur milieu rouge Congo (**Freeman et al., 1989**), est une autre méthode indirecte qui permet de distinguer entre les souches productrices de slime et celles qui n'en produisent pas, en se basant sur la comparaison de la couleur de leurs colonies. Les souches testées sont ensemencées par stries en surface du milieu rouge Congo coulé en boîtes de Pétri. Les boîtes sont alors incubées en aérobiose pendant 24 à 48h à 37°C et ensuite pendant une nuit à température ambiante [(**Ziebuhr et al., 1997**);(**Diemond-Hernández et al., 2010**)].

Les colonies des souches non productrices de slime sont de couleur rose, tandis que celles qui ont la capacité à produire le slime sont de couleur grise légèrement noire à noire foncée [(**Arciola et al., 2005**);(**Liberto et al., 2009**)].

6. Etude de l'hydrophobicité

L'hydrophobicité de la paroi cellulaire est estimée selon le protocole BATH (Bacterial Adhesion to Hydrocarbon) (**Rosenberg, 1984**).

Un volume de 0.3mL du solvant hydrophobe retenu dans cette étude est additionné à 1.8mL de la suspension bactérienne initialement préparée selon le protocole ci-dessous. La densité optique de la suspension (DOi) est ajustée entre 0.08 et 0,1. L'ensemble est vortexé pendant 2min jusqu'à l'obtention d'une émulsion. Après une période de décantation de

20min, les deux phases sont ainsi séparées. La phase aqueuse est alors prélevée et une mesure de la densité optique à 570nm est effectuée (DO_f).

Le pourcentage d'adhésion au solvant est donné par la relation suivante :

$$\text{CSH}\% = [(\text{DO}_i - \text{DO}_f) / \text{DO}_i] \times 100$$

DO_i : représente la densité initiale, DO_f : la densité optique de la phase aqueuse après décantation.

Lorsque la

A(%) < 20% hydrophile

A(%) > 40% hydrophobe

20% < A(%) < 40% moyennement hydrophobes

7. Etude de la formation de biofilm de *Staphylococcus epidermidis* sous différentes conditions de culture

L'effet de la température, du pH et de la concentration en glucose sur la formation de biofilm sont testés sur microplaque de 96 puits (technique décrite précédemment) en utilisant le milieu LB additionné de différentes concentrations de glucose (0,2%, 0,5%, 1%, 2%, pH 7,2) et différentes valeurs de pH (4, 5,5, 6,5, 7,2, 8). L'intensité de la formation de biofilm est également évaluée à des températures de 30°C et 37°C.

8. Cinétique de la formation de biofilm

La cinétique de la formation de biofilm de *Staphylococcus epidermidis* est réalisée à l'aide de la méthode standard de dénombrement sur boîte.

Avant chaque expérience, la sonde du dispositif cardiaque est trempée pendant 15min dans l'éthanol, rincée six fois avec de l'eau distillée puis stérilisée par autoclavage pendant 15min à 120°C (**Hamadi et al., 2009**).

Cinq (05) morceaux de 1cm² sont découpés à partir des sondes cardiaque récoltées et sont choisis pour l'adhésion du *Staphylococcus epidermidis* à des temps variables de 6, 12, 24, 48 et 72h.

Une suspension bactérienne est préparée dans le milieu bouillon cœur cerveau (BHIB) à partir d'une culture jeune de *Staphylococcus epidermidis*. La densité optique de la suspension bactérienne est ajustée à 600nm jusqu'à l'obtention d'une valeur de 10⁸UFC/mL puis la suspension est répartie sur les tubes contenant les morceaux de sondes; et sont ensuite incubés à 37°C.

9. Etude de la formation de biofilm sur différents biomatériaux

9.1. Préparation des supports

Les surfaces solides sélectionnées pour cette étude sont: la sonde (Silicone), le plastique ou connectine (Silicone) et le boîtier (Titane). Avant chaque expérience, le substrat est trempé pendant 15min dans l'éthanol, rincé six fois avec de l'eau distillée puis stérilisé par autoclavage pendant 15min à 120°C (Hamadi et al., 2009).

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

Des coupes de 1cm² de chaque des supports choisis (sonde, plastique) sont introduites dans des tubes contenant 5mL d'une suspension bactérienne ajustée à une DO₆₀₀ de 0,1; d'une part et d'autre part un carré de 1cm² de surface est dessiné sur le boîtier afin de bien limiter la zone d'adhésion; puis une goutte de la suspension bactérienne est déposée sur ce dernier, l'ensemble est mis en incubation à 37°C pendant 24h.

Les supports sont récupérés, lavés abondamment à l'eau distillée stérile puis placés dans 5mL de PBS (pH 7,1). La sonication est effectuée 3 fois à l'aide de l'ultrason model Wise Clean WUC-D06H pendant 5min intercalée par un passage de 20sec au vortex. Une série de dilutions au 1/10 jusqu'au 1/100000 est effectuée pour chaque échantillon, puis ensemencée sur gélose nutritive. Le dénombrement des colonies est réalisé après 24h d'incubation à 37°C. L'expérience est réalisée 3 fois pour chaque échantillon.

9.3. Observation de l'adhésion par environnemental microscopie électronique à balayage (MEB):

L'adhésion bactérienne sur la sonde, le plastique et le boîtier est appréciée sous microscope électronique à balayage. Les échantillons (sonde, boîtier, connectine) sont mis en contact avec une suspension bactérienne de 10⁸UFC/mL de *Staphylococcus epidermidis* ajustée à une DO₆₀₀ et incubés à 37°C pendant 72h, séchés à température ambiante puis observés au microscope électronique à balayage du type Hitachi TM1000.



Figure 9: Microscope électronique à balayage Hitachi TM1000.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Résultats et discussions

1. Incidence des infections bactériennes sur DCI dans les hôpitaux de l'ouest Algérien

Bien que nos données puissent refléter l'épidémiologie de notre région, elles pourraient être d'un grand intérêt et fournir des informations utiles pour la gestion des infections sur DCI.

Les DCI sont devenus de plus en plus utilisés dans la gestion de maladie cardiaque dans beaucoup de pays, avec un grand impact dans la qualité de la vie des patients (Anselmino *et al.*, 2009).

Durant ces dernières décennies, le taux de ces infections s'est étendu largement. Il est passé de 0,13% à 19,9% avec une valeur moyenne de 10% [(Hall-Stoodley *et al.*, 2004);(Ruttman *et al.*, 2006)].

L'incidence globale d'infection sur dispositifs cardiaques implantables DCI est estimée à 1,9 pour mille par an (Habib *et al.*, 2009). Selon une estimation de Camus (2008), il y a plus de trois millions de patients porteurs de stimulateurs cardiaques (PM) dans le monde et 180000 porteurs de défibrillateurs implantables (DI). Parmi les complications survenant après implantation de DCI, l'infection est certainement la plus grave.

Entre décembre 2012 et Aout 2014, sur un total de 315 implantations de DCI; 17 patients (13 hommes et 4 femmes) dans 4 hôpitaux de l'ouest Algérien avaient développé une infection sur leurs DCI, soit une incidence de 5,4% (Tableau 3, 6).

L'âge moyen était compris entre 60 et 75 ans; 76,4% étaient des hommes, 29,41% étaient diabétiques, tous les patients étaient sous antibiothérapie le jour de la suppression de leurs dispositif cardiaque (Tableau 4).

Tableau 3: Répartition des infections sur DCI selon le type du matériel.

DCI	Nombre de patients infectés	%
PM	16	94,11
DI	1	5,88

DCI : dispositif cardiaque implantable PM : pacemaker DI : défibrillateurs implantables

Tableau 4: Répartition des infections sur DCI selon le sexe.

Sexe	Nombre de patients	%
Homme	13	76,4
Femme	4	23,5

Toutes ces infections sont diagnostiquées et confirmées par les cardiologues spécialistes des différents services, avec présentation des symptômes d'infections à savoir: l'érythème, chaleur, rougeur avec ou sans drainage purulent, extériorisation du boîtier septicémie ou encore endocardite infectieuse du cœur.

Le taux retrouvé de 5,4% semble assez élevé si on le compare à d'autres études telles l'étude de **Klug et son équipe (2007)** en France où l'incidence des complications infectieuses était seulement de 0,68%. En **2010**, **Baddour et al. Voigt et al.** ont estimé le pourcentage entre 0,13% et 20% en USA. **Lin et al.**, en **2021** l'ont estimé à 12%. Ceci est sûrement en apport avec l'augmentation du taux d'implantation des DCI dans le monde en général.

Chez les 17 patients infectés, 16 avaient présenté une infection sur pacemaker (PM) soit une incidence de 4,12%. Dans la littérature, l'incidence des infections sur pacemaker varie entre 0,13% et 19,9% des patients, survenant la plupart du temps au niveau du site d'implantation du générateur et dans 10% des cas responsables d'endocardite infectieuse (**Conklin et al., 1975**).

Un seul patient parmi les 17 présentait une infection après implantation du défibrillateur (DI), soit une incidence de 5,88% ; celle-ci variait entre 0,7% et 1,2% dans l'étude de **Moss et al., (2002)**.

Dans cette étude rétrospective de 21 mois, tous les patients avaient subi un seul acte chirurgical à l'exception d'un patient ou deux actes ont été programmés en espace de trois mois suite à des infections répétées de son DCI.

Quatre facteurs prédictifs indépendants d'infection des dispositifs cardiaques implantables sont retrouvés dans ce travail: ré-intervention, longue procédure, sujets multitarés, et implantation d'un DCI.

L'infection du boîtier d'un DCI est une complication précoce rare et très redoutée. Elle est définie comme une infection survenant dans les six mois suivants les procédures (**Sandoe et al., 2015**). Elle est souvent accompagnée de fièvre et de signes locaux qui nécessitent une antibiothérapie urgente et une ablation immédiate du matériel (**Del Río et al., 2003**).

Dans notre étude, 11 des 17 (65%) patients avaient présenté une infection tardive sur DCI, seuls 6 (35,29%) d'entre eux étaient identifiés avec une infection précoce. Il est probable que les infections tardives sur DCI sont plus importantes, ceci déjà constaté par l'étude de **Ben Abid et al. (2017)** où 25% des infections étaient précoces et 42% tardives; et aucune différence n'a été signalée quant au type de bactéries infectieuses (**Tableau 5**).

Tableau 5: Types d'infection sur DCI.

Type d'infection	Nombre de patient	%
Tardive	11	65
Précoce	6	35

L'incidence des infections en primo-implantation semble être un peu plus dominante que celle d'un changement de boîtier, cela s'explique par leur durée d'implantation qui est plus élevée que celle d'un changement de boîtier, jouant un rôle primordiale dans ces infections à DCI, puisque la plaie est exposée aux germes pathogènes et très souvent multirésistants de l'environnement hospitalier.

Selon le **tableau 6**, l'intervention chez 7 patients avait durée en moins de 60 min, pour 4 d'entre eux l'acte chirurgical était un changement de boîtier. La durée d'intervention dépassait plus d'une heure chez 10 patients dont 6 étaient des primo implantation avec la présence d'un cas sévère ou l'acte a duré plus de 7h, celui-ci avait déjà présenté deux récidives d'infection.

Neuf (9) des patients infectés présentaient une extériorisation du boîtier soit 52,94%, ce taux est considérable si on le compare à l'étude de **klug et al. (2004)** où 29,52% des patients présentaient la même cause d'infection.

Divers facteurs prédisposant à l'infection DCI sont signalés, y compris l'âge avancé le diabète, le cancer et l'immunosuppression, l'anticoagulation et présence d'un fil de stimulation temporaire, la durée de l'intervention, et l'expérience de l'opérateur (**Villamil Cajoto et al., 2007**).

Effectivement le diabète, l'âge avancé étaient chez la plupart des patients facteurs prédisposant. Le taux le plus élevé des infections est observé dans la tranche d'âge comprise entre 60 et 75 ans et essentiellement chez les malades de sexe masculin et dont 29,41% étaient diabétiques. Nos résultats sont en accord avec l'étude de **Wang et al. (2017)** où la majorité des patients infectés sur leurs DCI étaient de sexe masculin âgé de 68 ans.

Les complications suites aux implantations d'un DCI ou après manipulation de ce dernier ainsi que les gestes répétés sur ce matériel représentent des facteurs de risque de survenue d'endocardite infectieuse. Toutes ces complications constituent des signaux d'alarme et nécessitent une surveillance rapprochée de ces patients ainsi qu'une grande vigilance malgré l'absence de signes systémiques d'infection [(Duval *et al.*, 2004);(Catanchin *et al.*, 2010)]. L'incidence des endocardites infectieuses était présente chez 1,3% des patients étudiés; ce taux est inquiétant par rapport à l'étude de **Da Costa *et al.* (2000)** où ils avaient rapporté que l'endocardite sur sonde de pacemaker était à 0,1%.

Tableau 6: Caractéristiques cliniques des patients infectés.

Patient	Hôpital	Sexe (M/F)	Durée d'intervention	Primo ou changement de boîtier	Endocardite
P1	CHU Tlemcen	F	50min	P	
P2	CHU Tlemcen	M	1h 20min	C	
P3	EH AinTemouchent	M	7h	P	
P4	EH AinTemouchent	M	4h	P	
P5	CHU Tlemcen	M	1h 30min	P	
P6	CHU Tlemcen	F	1h 10min	C	Positive
P7	CHU Tlemcen	M	25min	C	
P8	CHU Tlemcen	M	1h 15min	P	
P9	EH AinTemouchent	M	20min	P	
P10	CHU Tlemcen	F	1h 10min	C	
P11	CHU Tlemcen	M	1h 15min	C	
P12	CHU Tlemcen	M	1h	P	
P13	CHU Tlemcen	M	20min	C	Positive
P14	CHU Tlemcen	M	25min	C	
P15	Clinique privée	M	1h	C	Positive
P16	CHU Tlemcen	F	55min	P	Positive
P17	EHU Oran	M	1h 15min	P	

P : primo-implantation C : changement de boîtier

2. Résultats de mise en cultures des DCI

Après culture, 15 des 17 DCI étudiés (boîtiers et sondes) avaient présenté une culture positive, quant aux deux autres DCI restant, l'un était positif sur sonde et l'autre sur boîtier (**Tableau 7**). 8 sur 15 DCI étaient infectés par le même genre bactérien.

Victor et al. (1999) estime que l'infection des sondes est associée à celle du boîtier dans un cas sur deux. Celle-ci peut être isolée et survient dans un quart des cas quelques semaines après l'implantation.

Suite à l'identification bactérienne, nous constatons que l'infection causée par le dispositif cardiaque implantable est dans la majorité des cas pluri-microbienne (**Tableau 7**).

Tableau 7: Distribution des souches bactériennes sur les dispositifs cardiaques implantables (DCI)

DCI	Souches isolées	
	Boîtier	Sonde
P1	Négative	S ₁ : <i>Moraxella</i> S' ₁ : <i>Staphylococcus xylosus</i>
P2	P' ₂ : <i>Staphylococcus xylosus</i>	Négative
P3	P₃: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S_{3p}: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> S ₃ : <i>Enterobacter cloacae</i>
P4	P'₄: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	S'₄: <i>Staphylococcus epidermidis</i>
P5	P' ₅ : <i>Staphylococcus sciuri</i>	S ₅ : <i>Proteus penneri</i>
P6	P ₆ : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> P' ₆ : <i>Staphylococcus sciuri</i>	S ₆ : <i>Vibrio fluvialis</i> S' ₆ : <i>Staphylococcus capitis</i>
P7	P'₇: <i>Staphylococcus sciuri</i>	S'₇: <i>Staphylococcus sciuri</i>
P8	P₈: <i>Vibrio fluvialis</i> P' ₈ : <i>Staphylococcus sciuri</i>	S₈: <i>Vibrio vulgaris</i> S' ₈ : <i>Staphylococcus epidermidis</i>
P9	P ₉ : <i>Pseudomonas horyzihabitans</i> P' ₉ : <i>Staphylococcus simulans</i>	S ₉ : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> S' ₉ : <i>Staphylococcus haemolyticus</i>
P10	P₁₀: <i>Proteus penneri</i> P'' ₁₀ : <i>Chrysobacterium indolegenes</i> P' ₁₀ : <i>Staphylococcus hominis</i>	S₁₀: <i>Proteus penneri</i> S' ₁₀ : <i>Staphylococcus warneri</i>
P11	P ₁₁ : <i>Pasteurella pneumotropica</i> P' ₁₁ : <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	S ₁₁ : <i>Ochrabactrum antrophi</i> S' ₁₁ : <i>Staphylococcus epidermidis</i>
P12	P₁₂: <i>Ewingella americana</i> P'₁₂: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	S₁₂: <i>Ewingella americana</i> S'₁₂: <i>Staphylococcus epidermidis</i>
P13	P ₁₃ : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> P' ₁₃ : <i>Staphylococcus hominis</i>	S ₁₃ : <i>Vibrio fluvialis</i>
P14	P₁₄: <i>Photobacterium damsela</i>	S₁₄: <i>Photobacterium damsela</i>
P15	P ₁₅ : <i>Serratia liquefaciens</i>	S ₁₅ : <i>Enterobacter aerogenes</i> S' ₁₅ : <i>Staphylococcus epidermidis</i>
P16	P ₁₆ : <i>Serratia plymuthica</i> P' ₁₆ : <i>Staphylococcus hominis</i> P'' ₁₆ : <i>Pasteurella pneumotropica</i>	S ₁₆ : <i>Photobacterium damsela</i> S' ₁₆ : <i>Staphylococcus hominis</i>
P17	P ₁₇ : <i>Photobacterium damsela</i> P' ₁₇ : <i>Staphylococcus epidermidis</i>	S ₁₇ : <i>Moraxella</i> S' ₁₇ : <i>Staphylococcus epidermidis</i>

54 bactéries Gram+ et Gram- ont été isolées et identifiées dont presque la moitié 46,3% (25/54) étaient des staphylocoques à coagulase négative (SCN) (**Tableau 7**). 53,71% étaient représentées par des bactéries à Gram négatif avec une variété de genres espèces dont *Pseudomana sp*, *Proteus sp*, *Serratia sp*, *Enterobacter sp* isolées de 9 DCI.

Dans l'étude d'**Oliva et al. (2018)** des bactéries à Gram négatif ont été détectées dans seulement 5,8% (4/68) des dispositifs, ce qui montre un pourcentage plus faible que les nôtres et même pour d'autres données publiées **Inacio et al. (2015)** où les bacilles à Gram négatif comme organismes étaient responsables dans 27,4% des DCI. Cette constatation pourrait avoir d'importantes répercussions thérapeutiques dans notre établissement, où le traitement empirique ne couvre habituellement pas les bacilles Gram-négatif.

On note la présence exceptionnelle de 3 espèces dont d'*Ewingella americana*, *Ochrabactrum antropi*, *Photobacterium damsela* sur des DCI de 5 patients. Ces bactéries n'étaient rapportées que par quelques auteurs, leurs présences n'étaient pas associées à des endocardites infectieuses [(**Pien et al., 1986**);(**Mahmood et al., 2000**);(**Austin et al., 2016**)].

Les staphylocoques à coagulase négative étaient prédominants pour l'ensemble des bactéries isolées des boîtiers et des sondes des DCI étudiés.

Selon le **tableau 7**, on constate que chez 10 patients, le boîtier et la sonde étaient colonisés par la même espèce bactérienne et le même biotype cela est dû probablement à une infection du boîtier qui s'est érodée vers la sonde.

Une infection polymicrobienne a été retrouvée chez 15 sujets (88,23%) en raison d'une combinaison entre: *Pseudomonas aeruginosa* / *Staphylococcus sciuri*, *Vibrio fluvialis* /*Staphylococcus capitis*.

Nos résultats sont inquiétants si on les compare à l'étude thaïlandaise de **Korkerdsup et al. (2018)** où seuls 9,3% des isolats étaient polymicrobiens et celle de **Lin et al. 2021** où deux types de bactéries ont été détectées chez seulement 4% des patients.

Selon plusieurs auteurs l'infection du dispositif cardiaque implantable est monomicrobienne dans la grande majorité des cas où le rôle dominant des staphylocoques a été constaté dans 60 à 80% des cas dans la plupart des études rapportées [(**Camus et al., 1993**); (**Klug et al., 1997**);(**Del Río et al., 2003**);(**Sohail 1 et al., 2007**);(**Lin et al.,2021**)]. Tout de même d'autres auteurs détectaient également des bacilles Gram négatif, des champignons et des mycobactéries non tuberculeuses [(**Baddour et al., 2010**);(**Kodali et Khalighi, 2015**);(**Hussein et al., 2016**)].

Bulkyholderia cepacia (*B. cepacia*) est une cause rare d'infection sur DCI avec seulement quelques cas d'infection de poche de DCI annoncés dans la littérature [(**Chacko et al., 2003**);(**Oliva et al., 2013**);(**Gill et al., 2017**) et (**Stacey et al., 2017**)].

Dans notre étude, les staphylocoques à coagulase négative étaient les plus fréquemment isolés des DCI; *S. epidermidis* était le principal agent. Il est remarqué dans plusieurs études que *S. epidermidis* est l'espèce dominante, elle constitue une partie significative de la flore bactérienne normale de la peau et des muqueuses humaines. Elle est probablement introduite comme contaminant lors de l'implantation chirurgicale du dispositif (**Otto, 2008**).

Staphylococcus epidermidis, sont particulièrement les pathogènes les plus prévalent dans les infections nosocomiales (**Argemi et al., 2019**) et la formation de biofilm est la principale voie par laquelle le *S. epidermidis* colonise et infecte les dispositifs médicaux (**Le et al., 2018**).

Effectivement, les infections sur DCI sont principalement causées par une contamination de la flore bactériologique locale de la peau lors de l'implantation ou du remplacement. Les micro-organismes de la peau migrent à partir du site d'insertion le long de la surface de la sonde, colonisent la partie distale intravasculaire et finalement infecte le sang (**Da Costa et al., 1998**).

La contamination peut également se produire par l'air, les appareils ou les mains des opérateurs. Après la procédure, les bactéries se développent sur l'appareil et forment un biofilm épais en multicouches pour résister aux agents antimicrobiens et au système immunitaire humain.

3. Etude de l'état de la sensibilité des souches isolées des DCI

La résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème apparu dès le début de la commercialisation des antibiotiques. En effet, les bactéries possèdent une capacité à acquérir des mécanismes de résistance sous l'influence de la pression de sélection des antibiotiques.

La résistance bactérienne étant un phénomène mondial et croissant, avec des bactéries de plus en plus résistantes, voire résistantes à tous les antibiotiques, associée à l'amenuisement de l'arsenal thérapeutique, font de cette problématique une véritable menace de santé publique (**Muller, 2017**).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées au niveau des quatre structures hospitalières avait montré une résistance à un taux important vis-à-vis à plusieurs molécules d'antibiotique (**Figure 10 et 11**).

La résistance aux antibiotiques est qualifiée comme facteur d'échec de la gestion du traitement et d'augmentation des coûts d'infection (**Anselmino et al., 2009**).

Nos souches isolées (sonde, boîtier) se caractérisaient par une résistance aux antibiotiques marqueurs: amoxicilline /acide clavulanique, cefotaxime, gentamycine. Trois (3) d'entre elles étaient résistantes à l'imipénème. Aucune des souches de staphylocoque n'était résistante à la vancomycine.

La **figure 10** illustre le caractère résistant des souches Gram négatif présentant une résistance croisée aux β -lactamines qui s'étend à d'autres familles d'antibiotiques réduisant ainsi le choix des molécules thérapeutiques. Presque la totalité des bactéries Gram négatif isolées dans ce travail se sont avérées également résistante à l'ampicilline, l'amoxicilline, la cefotaxime et à la ceftiaxone.

Ces souches ont été également échappées à l'action des quinolones traduisant des taux de résistance allant de 54,54% pour l'acide nalidixique jusqu'à 11,11% pour la ciprofloxacine.

Nos résultats sont en désaccord avec l'étude d'**Ango et al. (2020)** où 74,19% des entérobactéries produisaient une bêtalactamase à spectre élargie est résistante aux aminosides (61,29%), à la ciprofloxacine (58,06%) et à la péfloxacine (12,9%).

Bien que l'imipénème soit hautement actif sur les souches testées, trois isolats pouvaient exprimer une résistance à cette molécule.

Dans l'étude de **Dali-ali et al. (2019)** sur les infections associées aux dispositifs médicaux invasifs, la résistance d'*Acinetobacter baumannii* à l'imipénème a été détectée chez 93,9% des souches isolées.

La tétracycline et la tobramycine avaient présenté respectivement des pourcentages de résistance de 55,55% et de 44,44%.

Contrairement aux bactéries Gram négatif, les staphylocoques avaient affichés un niveau de sensibilité plus important avec tout de même une résistance vis-à-vis de l'acide nalidixique et de la tétracycline (**Figure 11**).

D'après les **figures 10** et **11**, les souches isolées à partir des sondes étaient plus résistantes que celles isolées des boîtiers, cela est dû probablement à l'emplacement de la sonde qui se trouve à l'intérieur du ventricule milieu très favorable à la prolifération bactérienne.

Dans une étude de **Camus (2008)**, la majorité des staphylocoques étaient multisensibles, notamment aux aminosides, par contre nos résultats montrent que nos souches

présentaient une résistance à la kanamycine et à la tobramycine avec un pourcentage de 28,6% et de 18,52% respectivement.

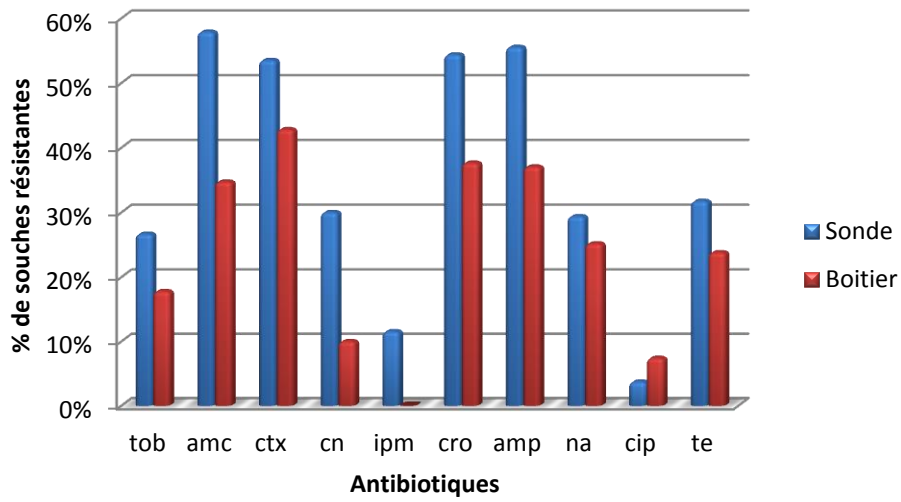


Figure 10: Taux de résistance aux antibiotiques des souches Gram négatif isolés des DCI étudiés.

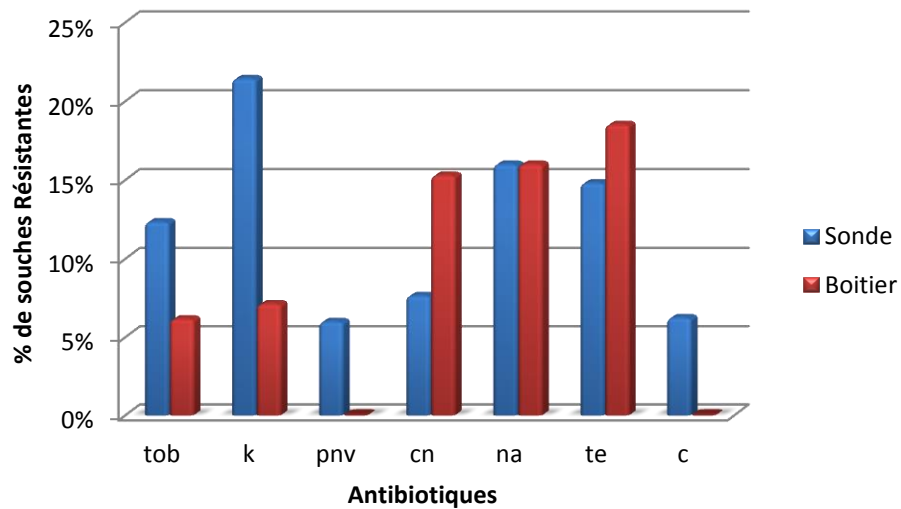


Figure 11: Taux de résistance aux antibiotiques des souches Gram positif isolés des DCI étudiés.

A travers ces histogrammes, les sondes étaient colonisées par des souches plus résistantes, puisque 13 souches à Gram(-) sur 15 pouvaient résister à plus de 4 molécules d'antibiotiques. La sonde **S₅** était colonisée par une souche résistante à 12 antibiotiques. Le même phénomène a été observé pour les souches à Gram(+) où les sondes étaient infectées par des souches multi-résistantes pouvant aller de 2 à 6 antibiotiques à l'exception du boîtier **P₈** qui était colonisé par une souche Gram(+) résistante à 8 molécules antibiotiques. En effet sur les 27 souches isolées des sondes, 25 étaient résistantes à 2 antibiotiques, 21 souches résistantes à 4 antibiotiques, 7 souches résistantes à 8 antibiotiques et une seule résistante à 12 molécules d'antibiotiques (**Figures 12, 13**).

La multirésistance bactérienne constatée dans notre série représente un indicateur indirect du degré d'hygiène. Cette dernière est favorisée par l'augmentation de la durée d'implantation ainsi à l'expérience de l'opérateur. De même, l'usage abusif des antibiotiques, le non-respect des précautions standards et complémentaires constituent des facteurs qui la pérennisent. En parallèle la multirésistance peut prolonger le temps d'hospitalisation, augmenter le coût du traitement et le nombre de décès (**García-Solache et Rice, 2019**).

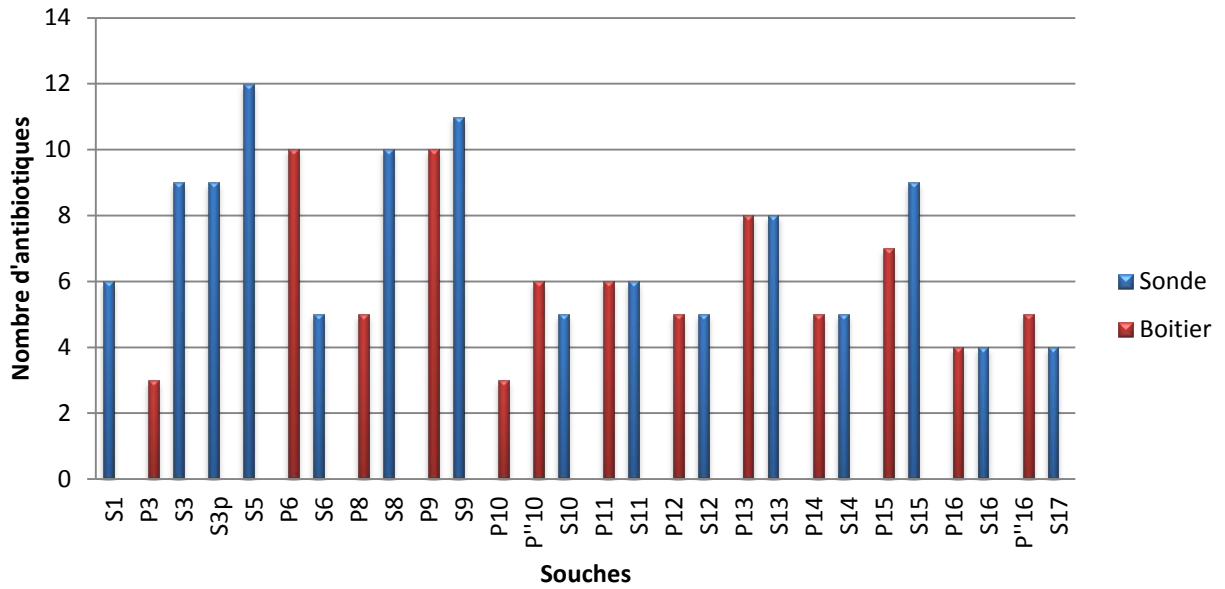


Figure 12: Etat de multirésistances des souches Gram négatif isolées des sondes et boîtiers des pacemakers étudiés

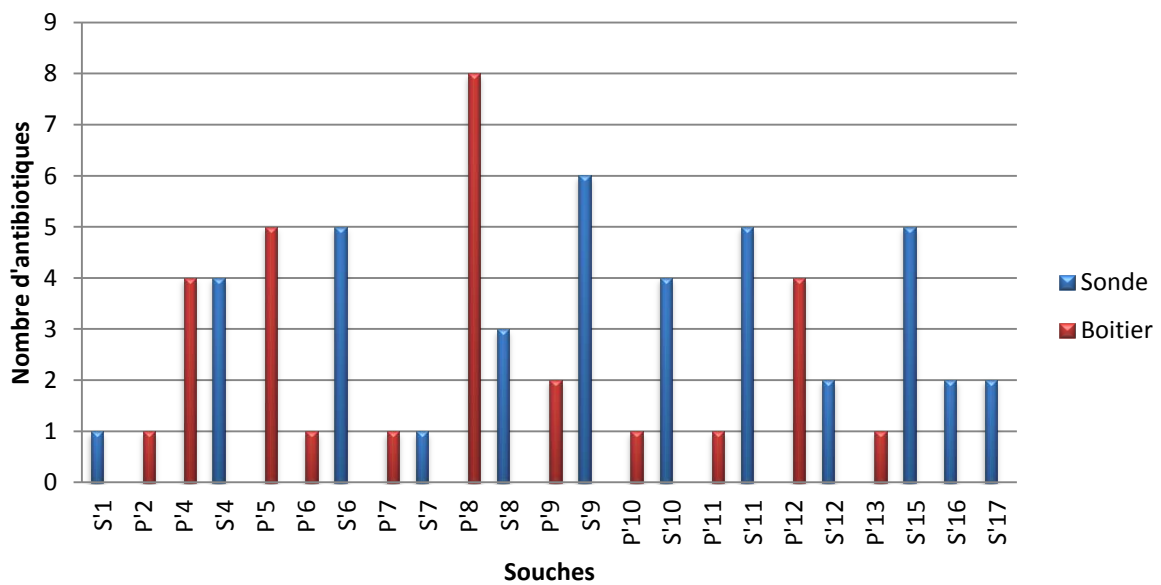


Figure 13: Etat de multirésistance des souches Gram positif isolées des sondes et boîtiers des pacemakers étudiés

4. Quantification visuelle d'un biofilm par diffusion sur gélose au sang

Dans le souci de savoir si les DCI infectés étaient colonisés par des bactéries formatrices de biofilm. La technique de **Djeribi et al. (2012)** (décrite en matériel et méthode) nous a permis de visualiser le détachement et la diffusion du biofilm formé à l'intérieur de la connectine, (petit morceau de plastique reliant le boîtier à la sonde) sur gélose au sang. La photo ci-dessous (**Figure 14**) le confirme, et qu'au bout de 24h d'adhésion, une très bonne diffusion du biofilm était nettement observée pour la connectine du patient **P'4** colonisé par un *Staphylococcus epidermidis*. Des photos similaires étaient observées chez 15 des 17 DCI récupérés.



Figure 14: Diffusion d'un biofilm *Staphylococcus epidermidis* isolé de la connectine du patient **P'4** sur gélose au sang.

5. Détection de biofilm

Le développement et la persistance d'infections bactériennes sont souvent associés aux matériels et matières étrangères des dispositifs utilisés et à la capacité de ces bactéries à s'adhérer sur ces supports. Les souches bactériennes implantées à la surface d'un dispositif sont insérées et protégées par une matrice extracellulaire polysaccharidique dense et sont plus résistantes aux antibiotiques, constituant le biofilm que nous avons détecté par deux techniques quantitative et qualitative (RCA et TCP) (**Bongiorni et al., 2012**).

5.1. Rouge Congo Agar (RCA)

Cette méthode qualitative se base sur le caractère phénotypique des souches sur milieu Rouge Congo. Un résultat positif donne des colonies noires avec une consistance cristalline sèche susceptibles de produire un slime. Des colonies non productrices de slime restent généralement roses (**Figure 15**).

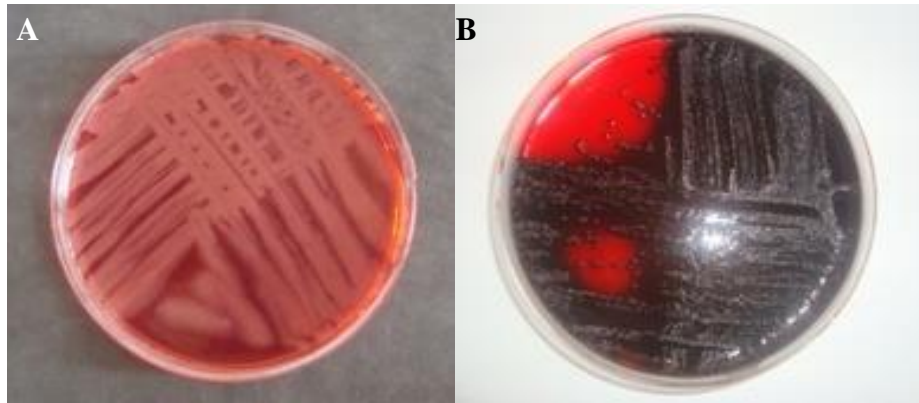


Figure 15: Production de slime chez les souches isolées sur milieu rouge congo.

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

Selon le **tableau 8**, nos résultats révèlent que 81.5% des isolats sur pacemaker (44 sur 54) ont produit un slime sur le milieu rouge congo, soit 85% (23/27) sur sonde et 77% (21/27) sur boîtier et que seules 10 bactéries sont non productrices.

Tableau 8: Formation de biofilm des souches isolées des parties du pacemaker selon RCA

		Production du Slime			
		Sonde		Boitier	
Gram +	S ₁ <i>Staph xylosus</i>	+	P ₂ <i>Staph xylosus</i>	-	
	S ₄ <i>Staph epidermidis</i>	-	P ₄ <i>Staph epidermidis</i>	-	
	S ₆ <i>Staph capitis</i>	+	P ₅ <i>Staph sciuri</i>	+	
	S ₇ <i>Staph sciuri</i>	+	P ₆ <i>Staph sciuri</i>	+	
	S ₈ <i>Staph epidermidis</i>	+	P ₇ <i>Staph sciuri</i>	+	
	S ₉ <i>Staph haemolyticus</i>	+	P ₈ <i>Staph sciuri</i>	+	
	S ₁₀ <i>Staph warneri</i>	+	P ₉ <i>Staph simulans</i>	+	
	S ₁₁ <i>Staph epidermidis</i>	+	P ₁₀ <i>Staph hominis</i>	+	
	S ₁₂ <i>Staph chromogenes</i>	+	P ₁₁ <i>Staph lugdunensis</i>	+	
	S ₁₅ <i>Staph epidermidis</i>	+	P ₁₂ <i>Staph epidermidis</i>	+	
	S ₁₆ <i>Staph hominis</i>	+	P ₁₃ <i>Staph hominis</i>	-	
	S ₁₇ <i>Staph epidermidis</i>	+	P ₁₆ <i>Staph hominis</i>	+	
			P ₁₇ <i>Staph warneri</i>	+	
	12	11	13	10	
Gram -	S ₁ <i>Moraxella</i>	-	P ₃ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	
	S ₃ <i>Enterobacter cloacae</i>	+	P ₆ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	
	S _{3p} <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	P ₈ <i>Vibrio fluvialis</i>	+	
	S ₅ <i>Proteus penneri</i>	+	P ₉ <i>Pseudomonas</i>	+	
	S ₆ <i>Vibrio fluvialis</i>	+	<i>horyzihabitans</i>		
	S ₈ <i>Vibrio vulgaris</i>	+	P ₁₀ <i>Proteus penneri</i>	+	
	S ₉ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	P ₁₀ <i>Chrysobacterium</i>	+	
	S ₁₀ <i>Proteus penneri</i>	+	<i>indolegenes</i>		
	S ₁₁ <i>Ochrabactrum antropi</i>	+	P ₁₁ <i>Pasteurella pneumotropica</i>	+	
	S ₁₂ <i>Ewingella Americana</i>	+	P ₁₂ <i>Ewingella Americana</i>	+	
	S ₁₃ <i>Vibrio fluvialis</i>	-	P ₁₃ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	
	S ₁₄ <i>Photobacterium damsela</i>	+	P ₁₄ <i>Photobacterium damsela</i>	+	
	S ₁₅ <i>Enterobacter aerogenes</i>	+	P ₁₅ <i>Serratia liquefaciens</i>	+	
	S ₁₆ <i>Photobacterium damsela</i>	+	P ₁₆ <i>Serratia plymuthyca</i>	-	
	S ₁₇ <i>Moraxella</i>	-	P ₁₇ <i>Photobacterium damsela</i>	-	
			P ₁₆ <i>Pasteurella</i>	-	
			<i>pneumotropica</i>		
	15	12	14	11	
Total	27	23	27	21	

L'adhésion microbienne est considérée comme la première étape de la formation de biofilm. Cette structure constitue un milieu protecteur contre les stress environnementaux et les défenses de l'hôte humain. Il est documenté qu'environ 65% de toutes les infections cliniques sont associées à la formation de biofilms microbiens à la surface de tissus, d'organes ou de dispositifs médicaux [(Kojic et Darouiche, 2004);(Sousa et al., 2011)].

Effectivement l'adhésion et la persistance de l'infection à Staphylocoques à coagulase négative sont souvent associées à des matériaux étrangers. L'attachement est lié d'abord aux forces physico-chimiques non spécifiques, puis en raison de l'interaction spécifique des adhésines de la surface bactérienne non pas directement avec le dispositif mais surtout avec des protéines d'hôte qui enrobent le dispositif (Mack et al., 2006).

Les staphylocoques à coagulase négative peuvent adhérer directement à des polymères plastiques de l'appareil via des structures protéiniques de la surface de fimbria ou via des adhésines polysaccharidiques capsulaire (Veenstra et al., 1996).

Les couches des bactéries sur la surface d'un dispositif implanté sont emboîtées dans une matrice polysaccharide extracellulaire constituant un biofilm [(Heilmann et al., 1996);(Vuong et Otto, 2002)].

Les bactéries dans un biofilm sont ainsi protégées et sont plus résistantes aux antibiotiques et aux défenses de l'hôte. Le biofilm pose un problème de santé publique pour les personnes nécessitant un dispositif médical à demeure (Vuong et Otto, 2002).

5.2. Résultats de la méthode TCP

La méthode TCP a décelé la production de biofilm chez 89% des isolats dont 55,55% étaient de très bonnes formatrices avec des $DO_{570} > 0,240$ présentant ainsi un facteur de risque non négligeable. Alors que la méthode de RCA n'avait révélé que 81,5% des souches (Tableau 9, Figure 15).

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

Selon la figure 16, les bactéries à Gram (-) étaient plus performantes en biofilm où on constate que les DO étaient toutes supérieures à 0,2 les classant très bonnes formatrices de biofilm et cela indépendamment du support (sonde ou boîtier). Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* marquaient bien ce caractère d'adhésion. Contrairement aux bactéries à Gram positif constituées majoritairement de souches de *Staphylococcus* moyennement ou non formatrices de biofilm.

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

A travers le **tableau 9**, les bactéries sur sondes étaient plus performantes en biofilm que celles isolées sur boîtiers et colonisées par des souches multi-résistantes pouvant aller jusqu'à 12 antibiotiques. En effet, cela est dû sûrement à la nature de la sonde qui est généralement composée de silicone et au boîtier dont la surface est composée de titane.

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

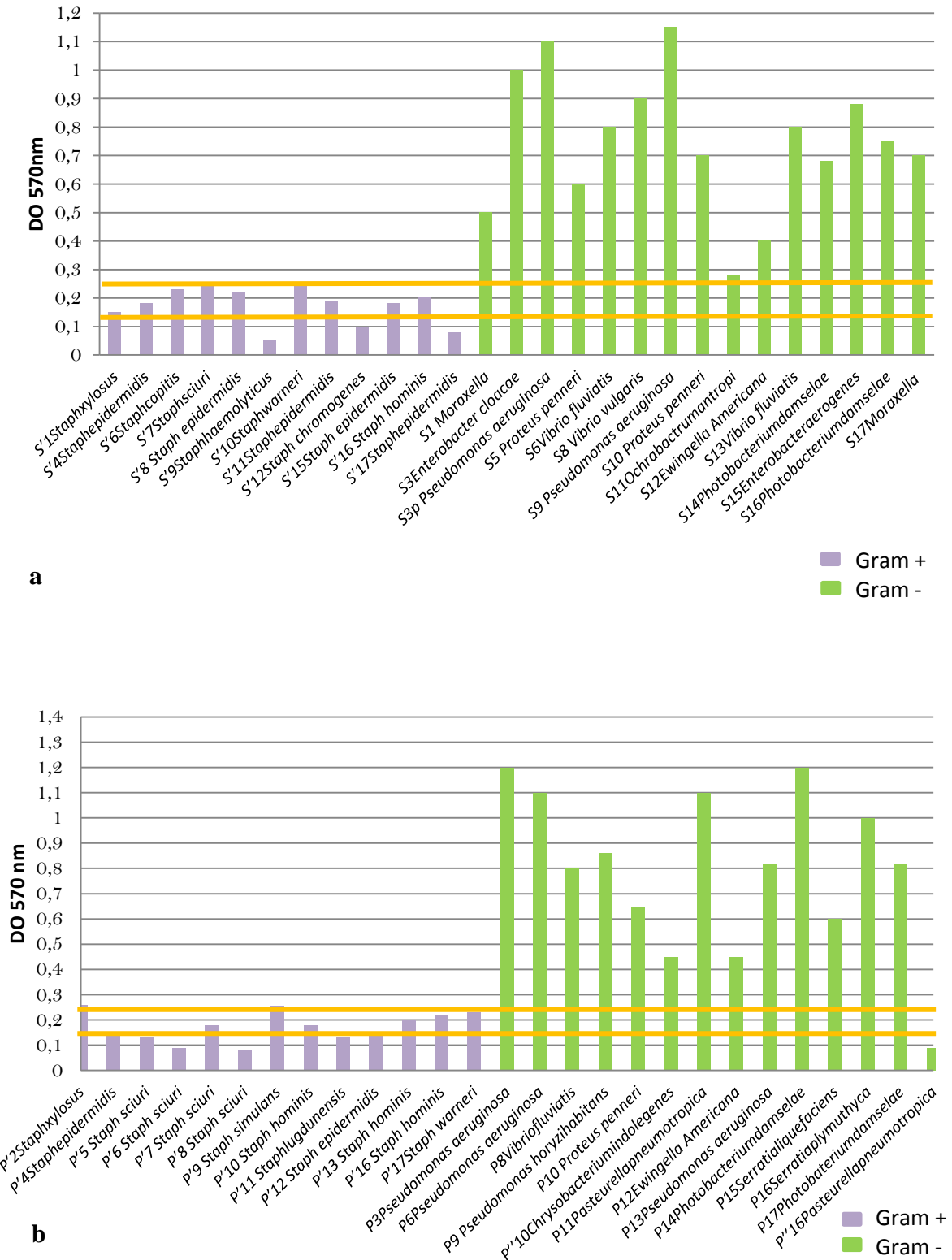


Figure 16: Formation de biofilm par la technique TCP chez les souches des DCI étudiées

a: sur sondes b: sur boîtiers.

Tableau 9: Répartition et caractérisation des souches formatrices de biofilm selon les parties du pacemaker.

Souches	Slime	TCP	Résistance aux antibiotiques
S ₅ <i>Proteus penneri</i>	Productrice	Fort	12
S ₉ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Productrice	Fort	11
S ₈ <i>Vibrio vulgare</i>	Productrice	Fort	10
P ₆ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Productrice	Fort	10
P ₉ <i>Pseudomonas horyzihabitans</i>	Productrice	Fort	10
S ₃ <i>Enterobacter cloacae</i>	Productrice	Fort	9
S _{3P} <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Productrice	Fort	9
S ₁₅ <i>Enterobacter aerogenes</i>	Productrice	Fort	9
S ₁₃ <i>Vibrio fluvialis</i>	Non-Productrice	Fort	8
P'8 <i>Staph sciuri</i>	Productrice	Faible	8
P ₁₃ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Productrice	Fort	8
P ₁₅ <i>Serratia liquefaciens</i>	Productrice	Fort	7
S ₁ <i>Moraxella</i>	Non- Productrice	Fort	6
S ₁₁ <i>Ochrobactrum antropi</i>	Productrice	Fort	6
P'' ₁₀ <i>Chrysobacterium indolegenes</i>	Productrice	Fort	6
P ₁₁ <i>Pasteurella pneumotropica</i>	Productrice	Fort	6
S' ₉ <i>Staph haemolyticus</i>	Productrice	Faible	6
S' ₆ <i>Staph capitis</i>	Productrice	Modérée	5
S' ₁₁ <i>Staph epidermidis</i>	Productrice	Modérée	5
S' ₁₅ <i>Staph epidermidis</i>	Productrice	Modérée	5
S ₆ <i>Vibrio fluvialis</i>	Productrice	Fort	5
S ₁₀ <i>Proteus penneri</i>	Productrice	Fort	5
S ₁₂ <i>Ewingella Americana</i>	Productrice	Fort	5
S ₁₄ <i>Photobacterium damsela</i>	Productrice	Fort	5
P'5 <i>Staph sciuri</i>	Productrice	Modérée	5
P ₈ <i>Vibrio fluvialis</i>	Productrice	Fort	5
P ₁₂ <i>Ewingella Americana</i>	Productrice	Fort	5
P ₁₄ <i>Photobacterium damsela</i>	Productrice	Fort	5
P'' ₁₆ <i>Pasteurella pneumotropica</i>	Non- Productrice	Faible	5
S' ₄ <i>Staph epidermidis</i>	Non-Productrice	Modérée	4
S' ₁₀ <i>Staph warneri</i>	Productrice	Modérée	4
S ₁₆ <i>Photobacterium damsela</i>	Productrice	Fort	4
S ₁₇ <i>Moraxella</i>	Non-Productrice	Fort	4
P' ₄ <i>Staph epidermidis</i>	Non-Productrice	Modérée	4
P' ₁₂ <i>Staph epidermidis</i>	Productrice	Modérée	4
P ₁₆ <i>Serratia plymuthica</i>	Non-Productrice	Fort	4
S' ₈ <i>Staph epidermidis</i>	Productrice	Modérée	3
P ₃ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Non- Productrice	Fort	3
P ₁₀ <i>Proteus penneri</i>	Productrice	Fort	3
S' ₁₂ <i>Staph chromogenes</i>	Productrice	Faible	2
S' ₁₆ <i>Staph hominis</i>	Productrice	Modérée	2
S' ₁₇ <i>Staph epidermidis</i>	Productrice	Faible	2
P' ₉ <i>Staph simulans</i>	Productrice	Fort	2
S' ₁ <i>Staph xylosus</i>	Productrice	Modérée	1
S' ₇ <i>Staph sciuri</i>	Productrice	Modérée	1
P' ₂ <i>Staph xylosus</i>	Non- Productrice	Fort	1
P' ₆ <i>Staph sciuri</i>	Productrice	Faible	1
P' ₇ <i>Staph sciuri</i>	Productrice	Modérée	1
P' ₁₀ <i>Staph hominis</i>	Productrice	Modérée	1
P' ₁₁ <i>Staph lugdunensis</i>	Productrice	Modérée	1
P' ₁₃ <i>Staph hominis</i>	Non-Productrice	Modérée	1
P' ₁₆ <i>Staph hominis</i>	Productrice	Modérée	-
P' ₁₇ <i>Staph warneri</i>	Productrice	Modérée	-
P ₁₇ <i>Photobacterium damsela</i>	Productrice	Fort	-
TOTAL	54(100%)	44(81,5%)	48 (89%)

P: souche isolée du boitier S: souche isolée de sonde

6. Etude de l'hydrophobicité de la paroi bactérienne

La fixation des bactéries sur les surfaces est influencée par les propriétés physicochimiques de l'environnement (température, pH), de la surface (hydrophobicité), du milieu (substrat) et de microorganisme (hydrophobicité, la flagellation et la motilité) (Ouchar et al., 2013).

Les différences dans les structures et la composition chimique de la surface externe des bactéries caractérisent et déterminent leur hydrophobicité; qui est un paramètre utile à leur adhésion.

L'hydrophobicité de surface des bactéries peut être estimée par le test MATS (Microbial Adhesion to Solvents). Elle est basée sur les comparaisons entre l'affinité microbienne pour un solvant monopolaire et un solvant apolaire (Djeribi et al., 2013) ; en utilisant l'héxadécane comme solvant. Cette technique consiste à mettre en contact une suspension bactérienne de DO connue avec un solvant. Après une brusque agitation et décantation, si les cellules sont hydrophobes, elles adhèrent à la phase apolaire et montent avec cette dernière. Si les cellules sont hydrophiles, elles restent dans la phase aqueuse polaire. La mesure de l'hydrophobicité (relative) de la paroi bactérienne est la proportion des cellules liées à la phase organique, déterminée par la mesure de la diminution de l'absorbance de la phase aqueuse (Skvarla et al., 2002).

Dans cette partie, le pouvoir hydrophobicité est détecté pour 41 souches dominantes avec les genres les plus représentatifs sur sondes et boîtiers: *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Vibrio*, *Serratia*, *Ochrabactrum*, *Photobacterium*, *Ewingella* (Figure 17 a et b).

Le caractère hydrophobe était marqué chez 34% des souches avec un pourcentage d'adhésion à l'héxadécane supérieur à 50% et cela quel que soit le support (boîtier, sonde). Les valeurs étaient comprises entre 40% et 90%, à l'exception de la souche P₁₀ qui s'est montrée très hydrophobe (+ de 95%).

Les souches restantes soit 54% étaient hautement hydrophiles avec des valeurs inférieures à 20%. La majorité était des staphylocoques isolés sur sonde et boîtier. Seules 5 souches isolées étaient moyennement hydrophobes, toutes étaient formatrices de biofilm, quelque soit le support (boîtier,sonde) (Figure 17 a et b).

Cette variation du potentiel d'hydrophobicité peut être expliquée par les différences dans les structures et la composition chimique caractérisant la surface externe des deux types de bactéries étudiées, notamment la présence de structures cellulaires telles que les flagelles,

les fimbriae, les pili, la production des polysaccharides extracellulaires et la composition du peptidoglycane chez les cellules bactériennes (Kalai-Hacini, 2020).

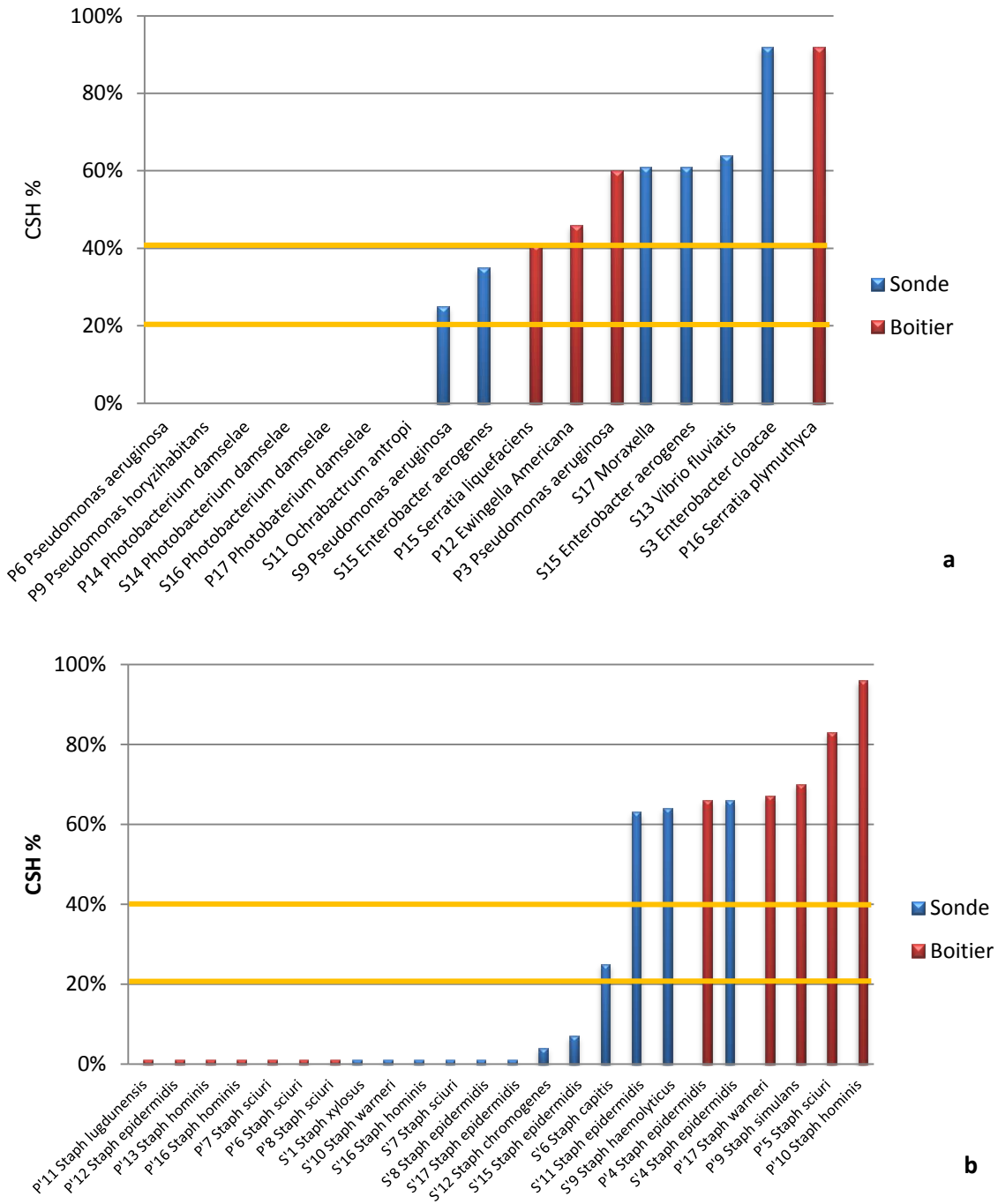


Figure 17: Pourcentage d'affinité des souches isolées des DCI à l'héxadécane.

a: Gram négatif **b:** Gram positif.

Chez les bactéries à Gram positif, LTA (acide lipotéichoïque) est également impliqué dans les interactions hydrophobes. L'hydrophobicité de surface des bactéries dépend donc des souches et des conditions environnementales (**Rosenberg et al., 1990**).

Plusieurs travaux antérieurs avaient montré que l'adhésion des bactéries hydrophobes est généralement supérieure à celle des bactéries hydrophiles car une bactérie hydrophobe aura plus de facilité pour enlever le film d'eau le séparant de la surface à coloniser et qu'elle établira plus facilement contact avec cette surface, qu'une bactérie hydrophile [(**Van Loosdrecht et al., 1987**);(**Bruinsma et al., 2001**);(**Gallardo-Moreno et al., 2002**);(**Bayouhd et al., 2006**)].

De la même façon **Vacheethasane et al. (1998)**, **Bruinsma et al. (2001)**, **Bayouhd et al. (2006)** montraient que les souches hydrophobes adhèrent mieux qu'une souche hydrophile sur support abiotique quel que soit son hydrophobicité. **Costa et al. (2006)**, **Pour et al. (2011)** estimaient qu'il existe une corrélation positive entre le degré d'hydrophobicité bactérienne et l'adhérence aux surfaces abiotiques.

Ce qui pourrait éventuellement expliquer l'adhérence de nos souches essentiellement les bactéries à Gram négatif fortement productrices de biofilm sur ces dispositifs cardiaques implantables.

Les bactéries adhérentes sûrement aux protéines de l'hôte, telles que le fibrinogène, fibronectine, et collagène qui couvre la surface du dispositif implanté le rendant ainsi hydrophobe (**Vijaranakul et al., 1997**).

L'étude de **Boutaleb en 2008** a également montré que l'adhésion de *P. aeruginosa* bactéries à Gram négatif relativement hydrophobe est 4 à 100 fois plus importante qu'*E. coli* qui présente un caractère hydrophile.

7. Influence des conditions de culture sur la formation de biofilm de *Staphylococcus epidermidis*

La formation de biofilm bactérien est un processus complexe et dynamique impliquant l'attachement, la maturation et la dispersion (Cappitelli et al., 2014). Plusieurs rapports ont démontré que l'adhésion est influencée par les caractéristiques physico-chimiques de l'enveloppe cellulaire, la surface des substrats et les milieux d'incubation (Chmielewski et Frank, 2003).

Suite aux résultats précédents et à la dominance du *Staphylococcus epidermidis* sur les DCI étudiés et couramment incriminés dans les biofilms associés aux infections liées aux dispositifs médicaux, nous avons jugé important d'étudier l'influence de quelques paramètres (températures, concentrations de glucose et différentes valeurs de pH) sur l'adhésion de cette bactérie.

7.1. Effet de la température sur l'adhésion bactérienne

Staphylococcus epidermidis agent normal de la flore cutanée humaine est également l'une des bactéries prédominante dans les infections sur DCI de plus formant un biofilm d'importance médicale. Il nous a semblé important de connaître si la température pouvait influencer l'adhésion de cette bactérie sur ce dispositif cardiaque implantable. Notre choix s'est fait pour ces deux indices de températures 30 et 37°C, car généralement le boîtier du DCI est sous l'épiderme donc à une température moins de 37°C et la sonde qui est plus en profondeur où la température est pratiquement à 37°C. La **figure 18** montre clairement que la formation de biofilm chez *Staphylococcus epidermidis* est jugée plus importante à 37°C avec des valeurs de DO₅₇₀ deux fois supérieures.

La formation de biofilm peut être limitée non seulement par le changement de températures mais aussi par la capacité du microorganisme à produire des substances polymères extracellulaires (EPS). La température peut avoir eu un effet sur la production d'EPS, qui est connu pour améliorer la capacité d'adhérence de cellules bactériennes et essentiel non seulement pour l'adhérence initiale, mais dans l'ancrage solide des bactéries aux surfaces solides et dans la capacité des micro-organismes du biofilm à faire face aux stress tels que les limitations en nutriments et les variations de température [(Perrot et al., 1998); (Norwood et al., 2001)].

Pavlovsky et al. (2015) constataient que les changements de température affectent la morphologie, la viabilité cellulaire et les propriétés mécaniques des biofilms bactériens du *Staphylococcus epidermidis*. De même Da Silva Meira et al. en 2012 montraient que des

isolats de *S. aureus* ont présenté une capacité à adhérer et former un biofilm lorsqu'il étaient immergés dans un bouillon nutritif à 7 et 28°C.

Des études sur microscopie électronique à balayage ont montré que les cellules de *Listeria monocytogenes* produisaient une matrice EPS à 21°C mais pas à 10°C ou 35°C (Else et al., 2003).

La température optimale pour un microorganisme est associée avec une augmentation de l'apport en nutriments entraînant une formation rapide de biofilm (Stepanovic et al., 2003).

Le métabolisme des nutriments est directement associé et dépendant de la présence d'enzymes. Il peut donc être juste de dire que la formation d'un biofilm dépend de la présence et des taux de réaction d'enzymes, qui contrôlent le développement de nombreux systèmes physiologiques et biochimiques des bactéries (Garrett et al., 2008).

Bonaventura et al. (2008) avaient aussi montré que la formation de biofilm par *Stenotrophomonas maltophilia* est plus élevée à basse température. De même, l'expression des gènes impliqués dans la formation de biofilm chez *E. coli K12* est positivement régulée à une température de 23°C (White- Ziegler et Davis, 2009).

Il est également rapporté que la température de croissance a un effet significatif sur la mobilité électrophorétique cellulaire et la production de flagelles et, ainsi sur l'adhésion (Briandet et al., 1999).

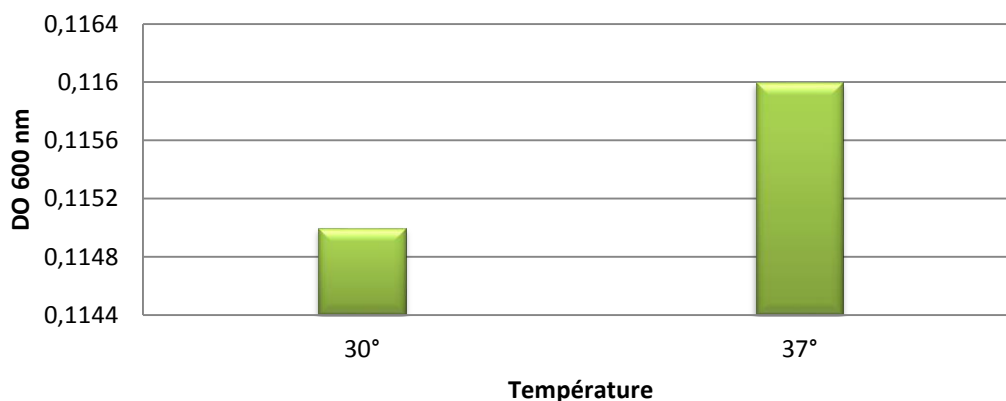


Figure 18: Effet de la température sur la formation de biofilm de *Staphylococcus epidermidis* isolé de DCI

7.2. Effet du glucose sur l'adhésion bactérienne

Pour évaluer l'impact des conditions environnementales sur la formation de biofilm pour les isolats cliniques de *Staphylococcus epidermidis*, nous avons détecté la formation de biofilm en utilisant le milieu de croissance (LB) additionné de 0,2%, 0,5, 1 et 2% de glucose. Il en résulte une augmentation de la DO des souches capables de former un biofilm par la technique des microplaques qu'au-delà de 0.5% avec un maximum à 2% de glucose, celui-ci semble stimuler plus la formation du biofilm (**Figure 19**).

Nos résultats sont également en accord avec l'étude de **Kara-Terki (2014)** qui a montré que la formation de biofilm par des souches de staphylocoques isolées des sondes urinaires étudiées augmente de 30% à 49,5% après l'ajout de 1% de glucose. Cette démonstration peut fournir des indices sur les raisons pour lesquelles les patients atteints de diabète succombent à des infections plus chroniques et récurrentes par rapport aux patients non diabétiques (**Chanchamroen et al., 2009**).

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

La composition du milieu est capable d'influencer la capacité des bactéries à produire des biofilms *in vitro*, en particulier la présence de glucose dans le milieu de croissance est notée pour améliorer la formation de celui-ci (**Stepanovic et al., 2007**).

Tous les biofilms de *S. epidermidis* développés dans du bouillon nutritif additionné de sources de carbone ont une densité de biomasse plus élevée que les biofilms développés dans un milieu non supplémentés (**Zou et Liu, 2020**).

D'autres études ont aussi démontré que l'enrichissement du milieu TSB avec du glucose augmente la capacité des staphylocoques à former des biofilms [(**Stepanovic et al., 2003**);(**Mathur et al., 2006**)]. L'étude de **Rasha et ses collaborateurs (2012)** ainsi que celle de **Jain et Agarwal en 2009** ont montré une augmentation significative de la production de biofilm par des isolats cliniques de *Staphylococcus* lorsqu'ils sont exposés à des concentrations de glucose différentes.

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

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

D'une façon générale, les bactéries ont tendance à adhérer et former un biofilm mature sur des surfaces dont l'environnement procure suffisamment de nutriments plutôt que des surfaces pauvres en nutriments (Dawei et al., 2012). La concentration en nutriments influence aussi bien la population du biofilm que sa morphologie. En effet l'épaisseur de biofilm en présence de concentrations croissantes de glucose (40-400mg/L), augmente de 30 à 130µ au bout de 17h de culture sous flux turbulent (Stoodley et al., 1999).

L'étude de Chanchamroen et al. (2009) sur les isolats de type sauvage, avaient observé que la formation de biofilm a augmenté de manière significative en parallèle avec l'augmentation des concentrations de glucose dans le milieu de culture et que l'addition de celui-ci exerce un effet positif sur l'établissement du biofilm chez *B. pseudomallei*.

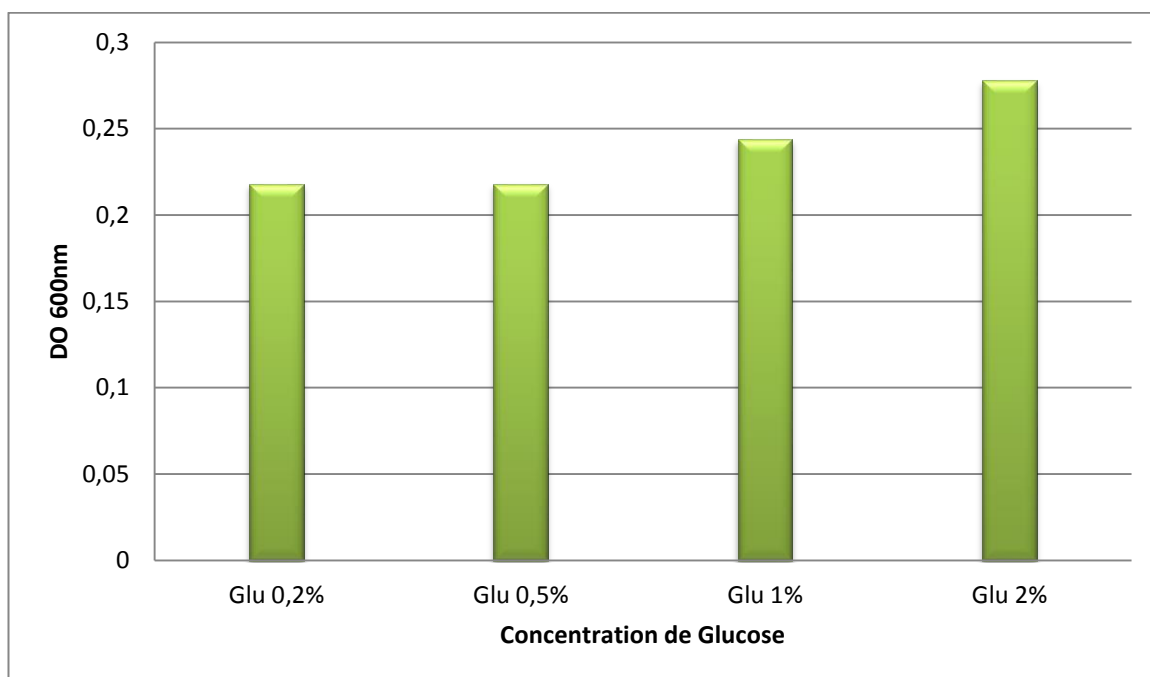


Figure 19: Influence du glucose sur la formation de biofilm par *Staphylococcus epidermidis* isolé de DCI

7.3. Effet du pH sur l'adhésion bactérienne

Les résultats de l'effet du pH sur l'adhérence de *Staphylococcus epidermidis*, montre une corrélation sur le caractère acide-base mesuré et la formation de biofilm. Selon la **figure 20**, on constate que la formation de biofilm est influencée et favorisée par un pH de 5 (acide) et même par un pH de 8 (alcalin).

Les bactéries réagissent aux changements de pH interne et externe en ajustant l'activité et la synthèse des protéines associées avec de nombreux processus cellulaires différents (**Orapiriyakul et al., 2018**).

Les mêmes résultats étaient observés par **Gaboriaud et al. (2006)** sur des bactéries Gram (-) comme *Shewanella putrefaciens* qui adhéraient mieux au polystyrène en passant d'un pH 4 à un pH 10.

Des effets similaires étaient observés par **Hsu et Huang (2002)** pour *Giardia cyst* et *Cryptosporidium oocysts* entre pH 2,4 et 11,1.

Selon l'étude menée par **Udayalaxmi et al. (2012)** sur la pathogenèse de la vaginose bactérienne a montré que toutes les souches de *Gardnerella vaginalis* présentaient une bonne adhérence à un pH optimal de 5.

Des études ont montré qu'une augmentation progressive de l'acidité augmente la chance de survie cellulaire par rapport à une augmentation par addition rapide de HCl (**Li et al., 2001**). Cela suggère que les bactéries contiennent des mécanismes en place qui permettent à la population à s'adapter aux petits changements environnementaux en pH. Cependant, il existe des processus cellulaires qui ne s'adaptent pas aux fluctuations de pH si facilement; l'un de ces processus est l'excrétion de substances exopolymères (polysaccharides).

Chanhamroen et al. (2009) avaient montré que le pH optimal pour la formation de biofilm de *B. pseudomallei* était à 7,2 (le pH du poumon humain est de 7,4) suggérant que l'infection des poumons humains fournit une niche idéale pour la colonisation chez l'hôte.

Nos résultats sont en désaccord avec la bibliographie si on prend en considération les données d'**Oliveira et al. (1994)** dont le pH optimal pour la production de polysaccharides dépend de l'espèce individuelle, mais il est d'environ pH 7 pour la plupart des bactéries.

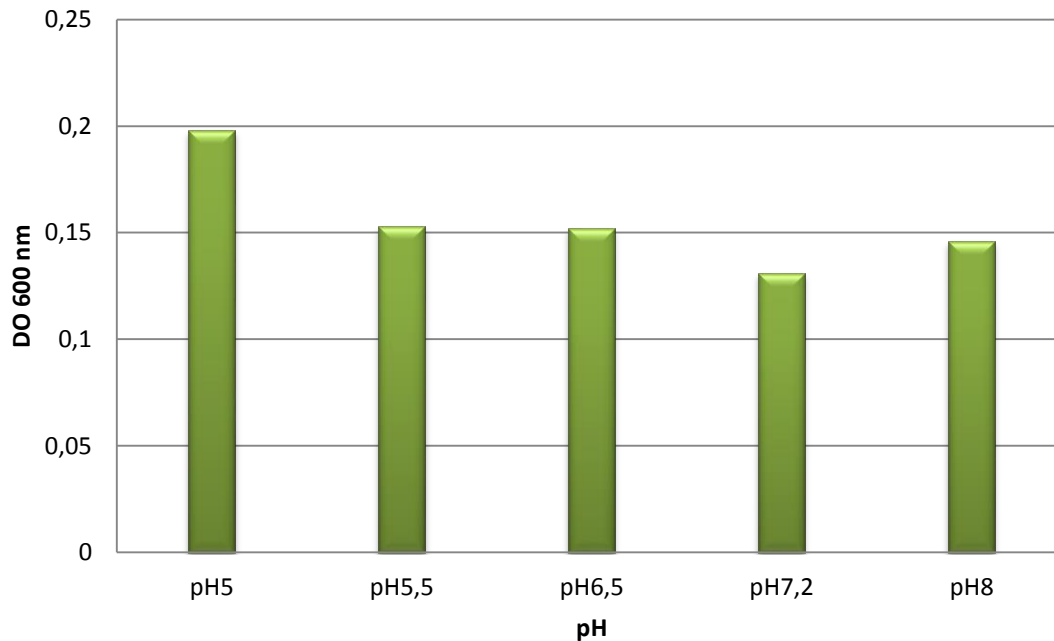


Figure 20: Influence du pH sur la formation de biofilm par *Staphylococcus epidermidis*
Isolé de DCI

7.4. Cinétique de la formation de biofilm in vitro de *Staphylococcus epidermidis* sur sonde

La durée d'implantation du dispositif est également un facteur qui influe de manière significative sur la formation de biofilm (Domka et al., 2007). Afin de comprendre l'adhésion du *Staphylococcus epidermidis* sur ces implants, nous avons essayé de faire une cinétique de la formation de son biofilm sur des morceaux de sondes. La **figure 21** montre qu'une valeur maximale de DO_{570} de la formation du biofilm est atteinte après 24h d'incubation chez la souche *Staphylococcus epidermidis*, celle-ci diminue après 72h d'incubation. La première période correspond sûrement à la formation de biofilm, alors que la seconde à la dispersion du biofilm, avec une libération de cellules bactériennes dans le milieu de culture.

Ainsi, le temps d'incubation peut être connu comme le temps pour lequel les bactéries entrent en contact avec la surface. En effet, plus le temps de contact augmente plus les bactéries ont assez de temps pour se fixer et former un biofilm sur la surface du dispositif.

Lors d'une étude menée sur la formation de biofilm à la surface des dispositifs médicaux (polystyrène), par M'hamedi (2015) montre qu'une valeur maximale de DO_{570} de biofilm était atteinte après 72h d'incubation chez les souches *Acinetobacter baumani* et qu'elle diminuait à 96h d'incubation.

Les résultats obtenus pour des souches pyocyaniques issues d'expectorations des patients mucoviscidosiques, confirment l'importance du biofilm bactérien dans les atteintes pulmonaires où la formation de biofilm est détectée après au moins 2h d'incubation (**Olivares et al., 2016**).

D'après **Bellifa (2014)**, la plupart des souches isolées à partir des sondes urinaires de type latex étaient de bonnes formatrices de biofilm au bout de 48h de contact. Selon **Hola et al. (2006)**, le biofilm est mature après 12h. Au bout de 34h, il commence à être perturbé.

Dans l'étude d'**Argemi et al. (2017)** sur les infections osseuses et articulaires, la production de biofilm des *Staphylococcus lugdensis* a été détectée après 4h d'incubation; ce qui pourrait expliquer pourquoi ces espèces sont responsables dans un large éventail d'infections prothétiques dans lesquelles la production de biofilm joue un rôle crucial.

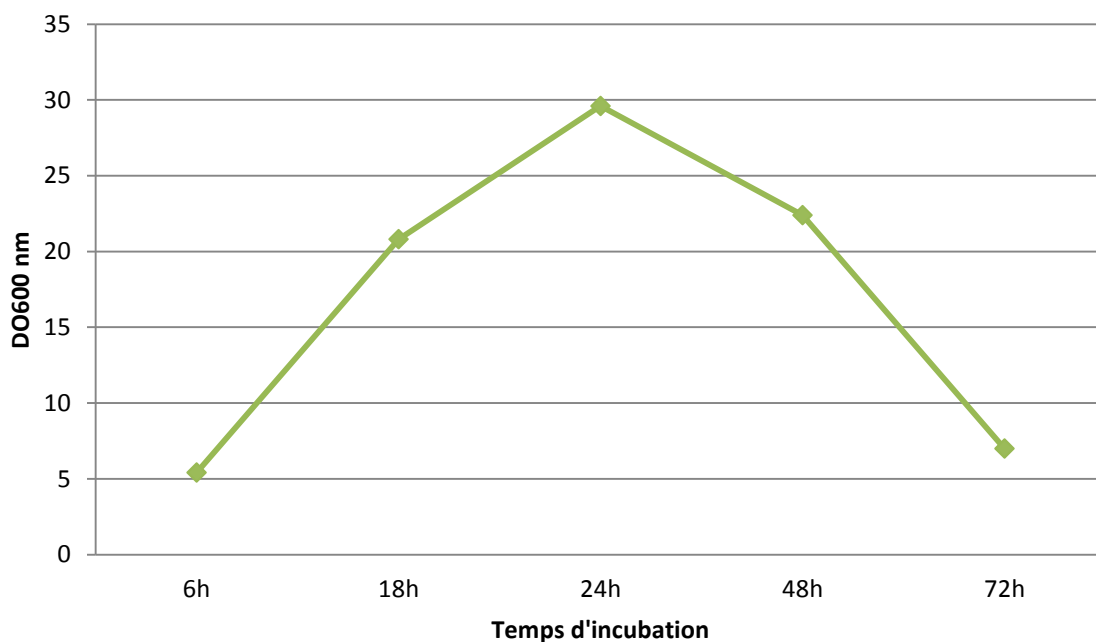


Figure 21: Cinétique de la formation de biofilm chez *Staphylococcus epidermidis* sur sonde de pacemaker.

8. Influence de la nature du dispositif médical sur la formation de biofilm

Un autre facteur important pouvant influencer la formation de biofilm est le type de dispositif médical ainsi que sa composition chimique.

Dans cet objectif nous avons formé des biofilms sur les 3 supports qui composent ce dispositif médical: le boîtier, la sonde et la connectine avec 4 souches sélectionnées pour leur grande capacité à former un biofilm et leurs différents caractères d'hydrophobicité ; soit la souche **P₃** *Pseudomonas aeruginosa* (hydrophobe), **P₁₂** *Ewingella americana* (hydrophile) toutes les deux à Gram négatif et deux souches à Gram positif **P₄'** *Staphylococcus epidermidis* (hydrophobe), **P₇'** *Staphylococcus sciuri* (hydrophile).

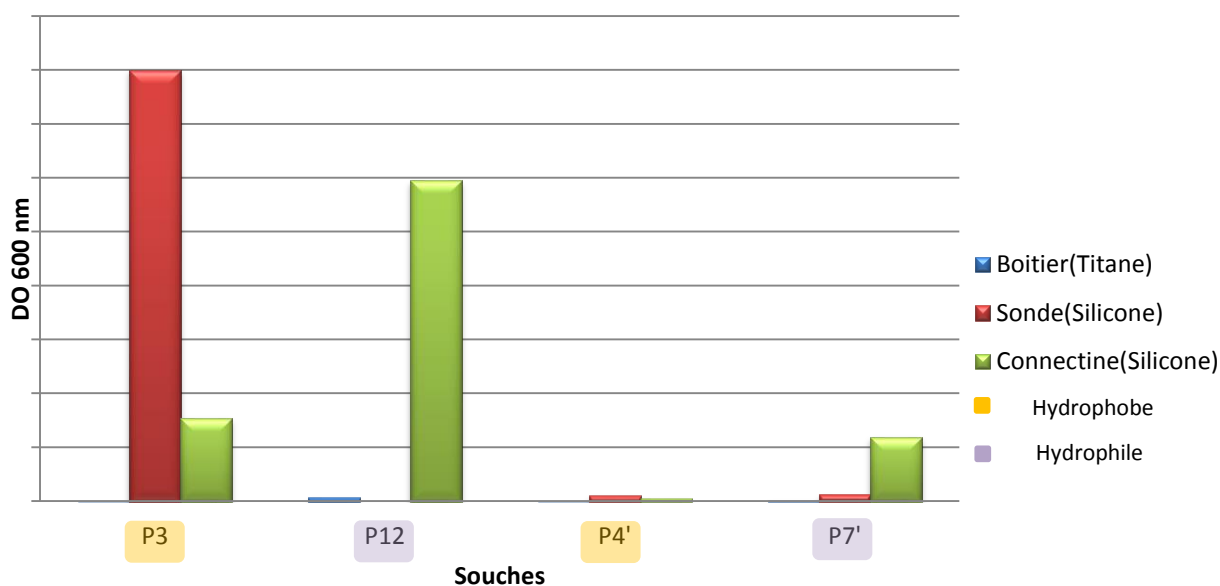


Figure 22: Capacité d'adhésion des souches sélectionnées sur boîtier, sonde et connectine après 24h d'incubation.

Les résultats montrent une adhésion plus importante sur la connectine (Silicone) (hydrophobe) suivi de près par la sonde de même composition, et du boîtier formé de titane (hydrophobe) avec une faible adhésion (**Figure 22**).

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

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

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

Plus le degré d'hydrophobicité est élevé, plus l'adhésion est grande (**Phaller et Herwaldt, 1988**). Contrairement à d'autres études pour lesquelles l'adhérence sous flux de bactéries dépendait de l'hydrophobie de surface [(**Katsikogianni et Missirlis, 2010**);(**Tegoulia et Cooper, 2002**)].

L'adhérence des bactéries dans nos expériences ne semble pas être impactée significativement par le changement d'hydrophobicité de surface (**Figure 22**). Cependant, sur les deux surfaces hydrophobes, on n'a pas trouvé de différence significative du nombre de bactéries adhérentes après 24h de mise en culture.

De la même façon, **Fabre en 2017** n'avait révélé aucune différence sur l'évolution de l'adhérence de *S. aureus* en fonction du temps d'incubation sur des surfaces modifiées (hydrophobe /hydrophile).

Afin de confirmer tous nos résultats nous avons essayé de former des biofilm de 24h suivant les résultats de la cinétique sur les 3 différents supports et d'essayer de visualiser l'adhésion par microscopie électronique de type environnemental Hitachi TM1000.

La **Figure 23** est un exemple de photographie obtenue par microscopie électronique qui nous montre la présence du biofilm sur les trois surfaces étudiées indiquant une colonisation différentielle de la morphologie sur la sonde, la connectine et le boîtier.

Le biofilm formé par *Staphylococcus epidermidis* P₄ sur la connectine **Figure 23 (C et D)** et la sonde (**E et F**) nous semble être un biofilm mature, dominé par la présence de la matrice exopolysaccharidique qui enrobe les cellules bactériennes et ne permettant pas de les distinguer, lui conférant ainsi une forme de champignons. Quant au boîtier (**Figure 23 A-B**), le biofilm formé semble dans un stade de développement moins avancé et moins adhérent.

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

Grâce à des images de microscopie électronique à balayage **Marrie et al. (1982)** ont révélé que les souches de *Staphylococcus aureus* adhéraient bien sur la sonde de pacemaker. L'hôte peut contribuer de manière significative à l'adhérence des infections liées au dispositif, en particulier avec les staphylocoques. Plusieurs récepteurs spécifiques sur la surface de la

cellule, appelés adhésines, se lient aux molécules hôtes (par exemple, protéine/composants de glycoprotéine dans le plasma ou des plaquettes ou des composants de l'hôte extracellulaire matrice) (Hall-Stoodley et al., 2004).

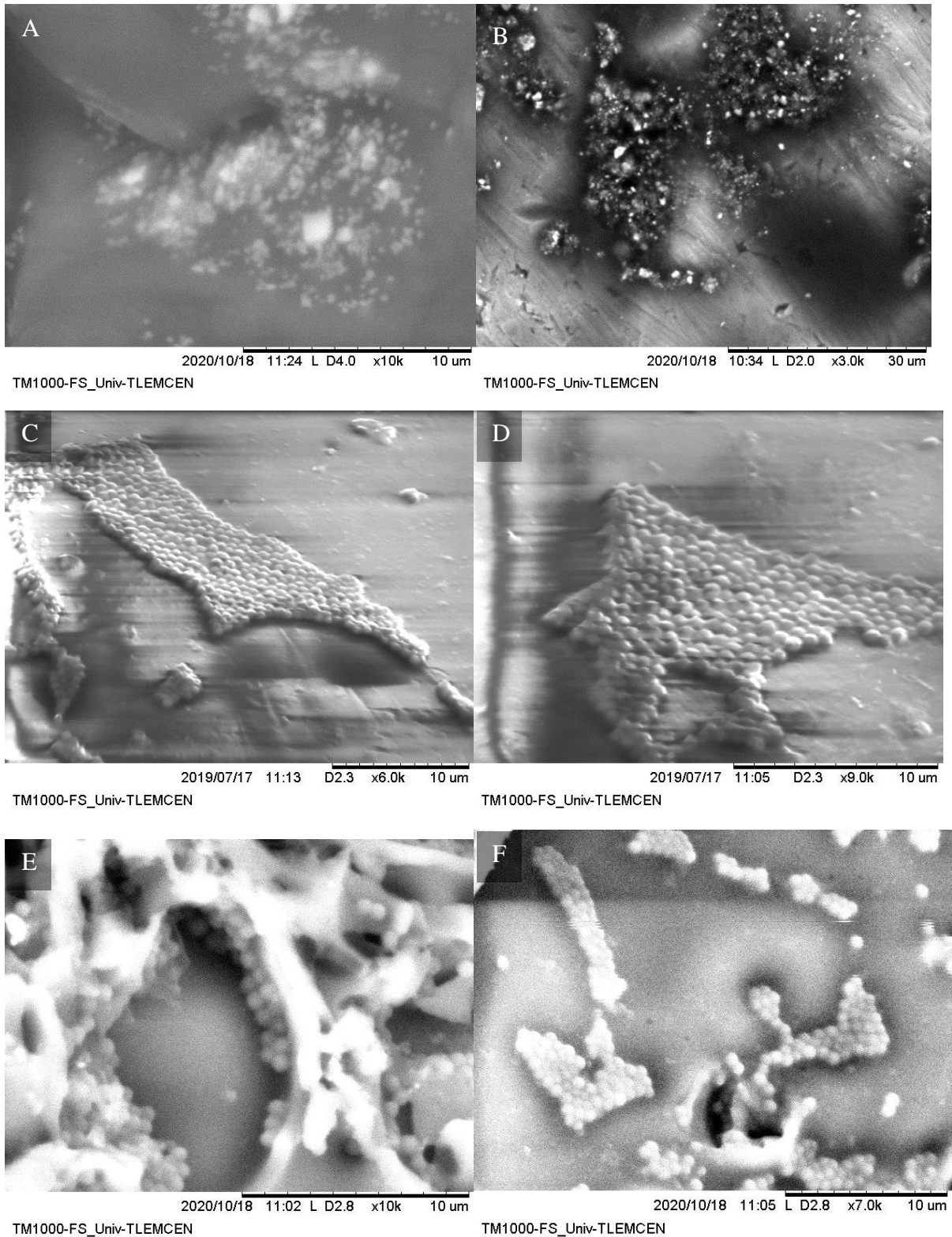


Figure 23: Observation au MEB d'un biofilm de *Staphylococcus epidermidis*. (A-B) sur boîtier, (C-D) sur sonde, (E-F) sur connectine.

CONCLUSION

Conclusion

Les infections secondaires, à la mise en place d'un stimulateur cardiaque, sont peu fréquentes mais constituent une complication redoutée et grave. Le stimulateur cardiaque est une des alternatives les plus prometteuses dans le traitement des arythmies, mais elle peut provoquer des réactions naturelles ou complexes, réactions précoces ou tardives. Cette étude visait à décrire les preuves scientifiques sur le risque d'infection et de la formation de biofilm associée au stimulateur cardiaque.

Au bout de 21 mois d'étude et sur un total de 315 patients ayant subi un remplacement de leurs implants cardiaque DCI, dix-sept (17) ont fait l'objet d'un diagnostic (microbiologique et/ou clinique), pour complications et infections. Une infection par stimulateur cardiaque a été détectée chez 5,4% des patients; ce qui classe nos hôpitaux à grand risque.

L'expérience de l'opérateur, la longueur de la procédure qui dans notre étude était de plus d'une heure ainsi que les gestes itératifs sont considérés comme des facteurs favorisants. S'ajoutent, aussi, les facteurs de risque des patients, tels que l'âge avancé, immunodépression en raison de multiples causes et maladies sous-jacentes.

Le mécanisme incriminé est en premier lieu celui d'une contamination locale survenue à notre avis au cours même de l'implantation. Quinze (15) des dix-sept (17) DCI étudiés (boîtiers et sondes) avaient présentés une culture positive sur sonde et boîtier, 54 bactéries Gram+ et Gram- ont été isolées et identifiées.

Nos résultats ont confirmé la haute sensibilité de la sonication de la culture dans le diagnostic des DCI, même chez les patients sous traitement antimicrobien. De plus, à notre avis, la sonication pourrait fournir aux médecins des renseignements importants sur la pathogénèse de ces infections en détectant rapidement les patients qui présentent un risque majeur d'endocardite liée au dispositif.

La présence d'un staphylocoque est observée dans la majorité des infections liées à la pose d'un pacemaker (46,3%). *Staphylococcus epidermidis* est plutôt pourvoyeur d'infections tardives et précoces chez 65% des patients. 44% des bactéries étaient responsables d'infections aiguës précoces, taux qui restent très alarmants par rapport à d'autres études.

54 bactéries Gram+ et Gram- ont été isolées et identifiées par des méthodes conventionnelles de microbiologie classique dont presque la moitié soit 46,3% (25/54) étaient des staphylocoques à coagulase négative (SCN) dont *S. epidermidis* été le principal agent. 53,71% était représenté par des bactéries à Gram négatif avec une variété de genres espèces

dont *Pseudomana sp*, *Proteus sp*, *Serratia sp*, *Enterobacter sp*. bactéries souvent incriminées dans des infections associées aux soins en milieux hospitaliers et souvent présentes à un manque de précautions et de règles d'hygiène. Aussi 88,23% des DCI ont présenté une culture polymicrobienne.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées au niveau des quatre structures hospitalières avait montré une résistance à un taux important vis-à-vis à plusieurs molécules d'antibiotiques. Les sondes étaient colonisées par des souches multi-résistantes pouvaient résister à plus de 12 et 10 et 8 molécules d'antibiotiques essentiellement chez des bactéries dites nosocomiales telles les souches de *Pseudomonas*, d'*Enterobacter* et de *Staphylococcus*.

Cette résistance doit être revue par les spécialistes qui doivent inclure de nouvelles stratégies et combinaisons d'antibiotiques pour inhiber et réduire la formation de biofilms essentiellement dans le cas des infections tardives à staphylocoques ou alors développer de nouveaux agents.

Le biofilm est un sujet actuel et peu étudié dans le domaine de cardiologie et encore moins lorsqu'il est connecté au pacemaker. Ce qui nous a incités à confirmer que 89% des souches identifiées avaient la capacité de produire un biofilm. 81,5% étaient susceptibles de produire le slime et 56% d'entre elles étaient de très bonnes formatrices de biofilm. Cette capacité était plus observée sur sondes que sur boîtiers. Les différences de caractéristiques du biofilm peuvent refléter la voie d'adhésion telle que l'hydrophobicité de la paroi bactérienne, nature de support et la composition du milieu de développement.

Le pouvoir hydrophobe est détecté seulement pour les souches les plus pertinentes sur le plan clinique isolées de sondes et boîtiers productrice de biofilm; 39,02% étaient hydrophobes, 5% étaient moyennement hydrophobes et 51,21% étaient hydrophiles.

L'étude de l'évolution de l'adhérence des souches étudiées a différent caractère d'hydrophobicité sur les 3 supports qui compose ce dispositif médical (le boîtier, la sonde et la connective); a confirmé que sur les différents types de surface aucune différence n'est apparue. Cependant, nos résultats ne reflètent pas cette hypothèse: « les bactéries à caractère hydrophobe préfèrent adhérer aux surfaces hydrophobes et que les bactéries à caractère hydrophile préfèrent adhérer aux surfaces hydrophiles ».

Les résultats obtenus ont montré que la formation de biofilm de *S. epidermidis* prédominant et très incriminés dans les biofilms associés aux infections sur DCI est jugée plus importante après 24h d'incubation+, à 37°C, à 2% de glucose et peut être aussi influencée par le pH 5 (acide) ou le pH 8 (alcalin).

La formation de biofilm est un facteur clé dans le développement et la survie des micro-organismes qui peuvent devenir très persistants et difficiles à éradiquer et à éliminer de tout corps étranger. Dans le biofilm, les micro-organismes peuvent être jusqu'à 1000 fois plus résistants aux antimicrobiens que leurs homologues planctoniques.

Les images de la microscopie électronique environnementale à balayage (MEB) confirment une colonisation différentielle de la morphologie du biofilm de *S. epidermidis* sur la sonde, la connectine et le boîtier qui constitue le Pacemaker.

Le biofilm formé sur la connectine et la sonde nous semble être un biofilm mature, dominé par la présence de la matrice exopolysaccharidique qui enrobe les cellules bactériennes, lui conférant ainsi une forme de champignons. Quant au boîtier le biofilm formé semble dans un stade de développement moins avancé. La formation du biofilm est sûrement liée à l'hôte à la nature des biomatériaux et au micro-organisme lui-même.

La majorité des prothèses et dispositifs médicaux sont en métaux, polymères, produits céramiques, composites et composants naturels. Ces derniers sont en contact avec des fluides biologiques et sont exposés à de nombreux microorganismes (bactéries, levures...) et à des macromolécules telles que les protéines. Ces différentes entités peuvent s'adsorber et/ou adhérer sur une surface et la coloniser.

De plus dans ce cadre, aucune étude n'a exploré la nature des biomatériaux qui composent les stimulateurs cardiaques et formation de biofilm; ce qui souligne l'importance de développer des avancées dans les biomatériaux du pacemaker.

Tout de même nous posons la question: est-ce que les stimulateurs imprégnés d'agents antimicrobiens naturels ou autres peuvent réduire ou inhiber la formation de biofilm? domaine qui reste à explorer en collaboration avec les spécialistes et voire la possibilité de faire des essais *in vitro* sur des animaux de laboratoire.

En résumé, les données analysées montrent que le sujet est d'une grande importance mais peu étudié, car très peu d'articles ont été publiés à ce jour. De plus, compte tenu du risque d'infections associées aux procédures invasives, il est nécessaire d'accorder une grande importance aux mesures de surveillance des infections associées aux soins, principalement en Algérie; un pays marquée par la diversité culturelle, les inégalités socioéconomiques, modèles hétérogènes de soins de santé en termes de structure, le type de patients et d'infections. Il y a un vrai défi à relever car la mise en place d'un système d'analyse et de surveillances de ces infections IAS nécessite beaucoup de ressources et une grande volonté. Mais il serait impératif de pratiquer une asepsie stricte lors de l'implantation du dispositif cardiaque afin de minimiser les contaminations dues à des bactéries d'origines nosocomiales.

Pour améliorer la compréhension de ces mécanismes et comprendre le problème posé par le biofilm dans le secteur sanitaire, un travail plus approfondi, impliquant la caractérisation des gènes de régulation du biofilm, et de ses médiateurs chez les bactéries responsables spécifiquement ceux du *Staphylococcus epidermidis* serait intéressant pour une éventuelle étude.

L'étude du biofilm mixte sur DCI semble être une bonne piste de recherche pour enrichir les connaissances dans ce domaine et mieux maîtriser le processus qui, aujourd'hui, continue à exercer son rôle néfaste, notamment associé aux infections sur dispositifs médicaux.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

Alnnasouri M. (2010). Etude du développement de biofilms dans des réacteurs de traitement d'eau. *Thèse Doctorat*. Institut National Polytechnique de Lorraine.

Anderson G.G., O'Toole G.A. (2008). Innate and induced resistance mechanisms of bacterial biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol*. 322:85–105.

Ango P.D., Konan K.D., Kouamé K.A., Sai S.S., Tchimou A.M.Y., et al. (2020). Écologie Microbienne des Surfaces et Dispositifs Médicaux au Service de Réanimation du Centre Hospitalier et Universitaire (CHU) de Treichville. *Health Sci. Dis*: 21

Anselmino M., Vinci M., Comoglio C., Rinaldi M., Bongiorno M.G., et al. (2009). Bacteriology of infected extracted pacemaker and ICD leads. *Cardiovasc. Med. (Hagerstown)*. 10 693–8. doi:10.2459/JCM.0b013e32832b3585

Argemi X., Hansmann Y., Prola K., Prévost G. (2019). Coagulase-negative staphylococci pathogenomics. *Int J Mol Sci*. 20:1215.

Argemi X., Hansmann Y., Riegel P., Prévost G. (2017). Is *Staphylococcus lugdunensis* Significant in Clinical Samples?. *J Clin Microbiol*. 55(11): 3167–3174.

Aricola C.R., Commpaoccia D., Baldassari L., Donati M.E., Gamberini S., Montanaro L. (2005). Detection of biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* from implant infections Comparisons of a PCR method that recognize the presence of *ica* genes with two classic phenotypic methods. *Journal of Biomedical Research*. 76 (2): 425-430.

Austin B., Austin D.A. (2016). Bacterial fish pathogens: *Disease of farmed and wild fish, sixth edition*, doi:10.1007/978-3-319-32674-0.

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

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

- Bayouhd S., Othmane A., Bettaieb F., Bakhrouf A., Ben Ouada H., Ponsoonnet L. (2006).** Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Materials Science and Engineering*. 26:300-305.
- Bellifa S. (2014).** Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen. *Thèse doctorat*. Université de Tlemcen. 92 pages.
- Bellon-Fontaine M.N., Rault J., Van Oss C.J. (1996).** Microbial adhesion to solvents: a novel method to determine the electron-donor/electron-acceptor or Lewis acid-base properties of microbial cells. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 47-53.
- Bluhm G.L. (1985).** Pacemaker infections. A 2-year follow-up of antibiotic prophylaxis. *Scand. J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 19 231–5.
- Ben Abid F., Al-Saoub H., Howadi F., AlBishawi A. Thapur M. (2017).** Delayed Pacemaker Generator Pocket and Lead Primary Infection Due to *Burkholderia Cepacia*. *Am J Case Rep.* 18: 855–858.
- Bonaventura G.D., Piccolomini R., Paludi D., D'Orio V., Vergara A., Conter M., Ianieri A. (2008).** Influence of temperature on biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on various food-contact surfaces: relationship with motility and cell surface hydrophobicity. *J Appl Microbiol.* 104(6):1552-61.
- Bongiorni M.G., Tascini C., Tagliaferri E., Di Cori A., Soldati E., et al. (2012).** Microbiology of cardiac implantable electronic device infections. *Europace.* 14 1334–1339.
- Bonkat G., Rieken M., Rentsch C.A., Wyler S., Feike A., et al. (2011).** Improved detection of microbial ureteral stent colonisation by sonication. *World J. Urol.* 29, 133–138.
- Boudjemaa R.Y. (2017).** Vers une meilleure compréhension de la tolérance aux antibiotiques de biofilms bactériens cliniques. *Thèse doctorat* Université Paris-Saclay.
- Boutaleb N., Latrache H., Sire O. (2008).** Interactions bactéries-matériaux dans les canalisations d'eau potable. Rôle des propriétés physico-chimiques de surface sur le pouvoir d'adhésion. *TSM.* 73-90.

- Boutaleb N. (2007).** Étude de la formation de biofilms sur les surfaces de matériaux couramment utilisés dans les canalisations d'eau potable. Thèse de doctorat. Universités de Bretagne-Sud, France.
- Briandet R. (1999).** Maîtrise de l'hygiène des surfaces par la création de biofilms. Aspects physico-chimiques, Thèse de Docteur de l'ENSAR - Mention Physico-chimie et Qualité des Bioproduits, Rennes, France.
- Bruinsma G.M., Van der Mei H.C., Busscher H.J. (2001).** Bacterial adhesion to surface hydrophilic and hydrophobic contact lenses. *Biomaterials*. 3217-3224.
- Burmolle M., Thomsen T.R., Fazli M., Dige I., Christensen L., et al. (2010).** Biofilms in chronic infections –a matter of opportunity– monospecies biofilms in multispecies infections. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 59:324–36.
- Camou F., Dijos M. (2014).** Physiopathologie et prévention des infections liées aux dispositifs médicaux implantés. *La revue du praticien*. 64 : 1153-1161.
- Camus C. (2008).** Infections graves liées aux stimulateurs cardiaques et défibrillateurs implantables. *Reanimation*. 17, 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2008.01.004>
- Camus C., Leport C., Raffi F., Michelet C., Cartier F., Vilde J.L. (1993).** Sustained bacteremia in 26 patients with a permanent endocardial pacemaker: assessment of wire removal. *Clin Infect Dis*. 17: 46–55.
- Cappitelli F., Polo A., Villa F. (2014).** Biofilm formation in food processing environments is still poorly understood and controlled. *Food Engineering Reviews*. 6: 29–42.
- Carves J.B. (2019).** Initiation aux stimulateurs cardiaques et défibrillateurs. *Cardio-online.SFC*.
- CASFM. (2010).** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.
- Catanchin A., Liew R., Behr E.R., Ward D.E. (2010).** Cardiac Arrhythmia Management using a Noncontact Mapping Multielectrode Array. *Clin. Cardiol*. 33, 3, E19– E24.
- Ceri H., Olson M.E., Turner R.J. (2010).** Needed, new paradigms in antibiotic development. *Expert Opin Pharmacother*. 11: 1233–1237.

- Chacko S.T., Chandy S.T., Abraham O.C., Swaminathan S., Varghese G.M., et al. (2003).** Pacemaker endocarditis caused by *Pseudomonas aeruginosa* treated successfully. *J Assoc Physicians India*. 51: 1021–1022.
- Chanchamroen S., Kewcharoenwong C., Susaengrat W., Ato M., Lertmemongkolchai G. (2009).** Human polymorphonuclear neutrophil responses to *Burkholderia pseudomallei* in healthy and diabetic subjects. *Infect Immun* 77. 456–463.
- Characklis W.G., Mc Feters G.A., Marshall K.C. (1990).** Physiological ecology in biofilm systems. *Biofilms*. New York: John Wiley & Sons. 341-394.
- Chen X., Schauder S., Potier N., Van Dorsselaer A., Pelczer I., et al. (2002).** Structural identification of a bacterial quorum sensing signal containing boron. *Nature*. 415 : 545-549.
- Chmielewski R.A.N., Frank J.F. (2003).** Biofilm formation and control in food processing facilities. *Compr Rev Food Sci F*. 2:22-32
- Cho S., Naber K., Hacker J., Ziebuhr W. (2002).** Detection of the *ica* ADBC gene cluster and biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* isolates from catheter-related urinary tract infections. *International Journal of Antimicrobial Agent*. 19:570-575.
- Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., et al. (1985).** Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol*. 22: 996–1006.
- Chua J.D., Wilkoff B.L., Lee I., Juratli N., Longworth D.L., Gordon S.M. (2000).** Diagnosis and management of infections involving implantable electrophysiologic cardiac devices. *Ann Intern Med*. 133:604-8.
- Conklin E.F.,Giannelli S., Nealon T. F. (1975).** Four hundred consecutive patients with permanent transvenous pacemakers. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 69: 1–7.
- Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. (1999).** Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 284:1318-22.

- Costerton J.W. (1999).** Introduction to biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 11:217-721.
- Da Costa A., Kirkorian G., Isaaz K., Touboul P. (2000).** Secondary infections after pacemaker implantation. *La Rev Med Interne*. 2000; 21: 256–265.
- Da Costa A., Lelièvre H., Kirkorian G., Célard M., Chevalier P., et al. (1998).** Role of the Preaxillary Flora in Pacemaker Infections. *Circulation*. 97:1791–1795.
- Coombes D. (2021).** Pacemaker therapy: clinical indications, placement and complications. *Nursing Times*. 117: 11, 22-24.
- Dali-ali A., Agag F., Beldjilali H., Tidjani R., Boukhari H., et al. (2019).** Profil épidémiologique des infections associées aux dispositifs médicaux invasifs dans un service de réanimation algérien. *La revue médicale de l'HMRUO*. 6:879-886.
- Darouiche RO. (2001).** Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence. *Clin Infect Dis*. 33:1567–1572.
- Da Silva Meiraa Q.G., De Medeiros Barbosaa I., AguiarAthaydea A.J.A., De Siqueira-Júniorb J.P., EvandroLeite De Souzaa E.L. (2012).** Influence of temperature and surface kind on biofilm formation by *Staphylococcus aureus* from food contact surfaces and sensitivity to sanitizers. *Food control*. 25: 469-475.
- Dawei G., Liping W., Chengping L. (2012).** *In vitro* biofilm forming potential of *Streptococcus suis* isolated from human and swine in China. *Brazilian Journal of Microbiology*. 43 : 993-1004.
- De Chalvet De Rochemonteix A. (2009).** Thèse de Doctorat .Les biofilms et la peau. La faculté de médecine de Créteil.
- De M. Costa G. F., Tognim M.C.B., Cardoso C.L., Carrara-Marrone F.E., Garcia L.B. (2006).** Preliminary evaluation of adherence on abiotic and cellular surfaces of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from catheter tips. *Braz J Infect Dis*. 10: 346–351.

- Del Río A., Anguera I., Miró J.M., Mont L., Fowler Jr V.G., et al. (2003).** Hospital Clínic Endocarditis Study Group, Surgical treatment of pacemaker and defibrillator lead endocarditis: the impact of electrode lead extraction on outcome., *Chest*. 124: 1451–1459.
- De Simone D.C., Sohail M.R. (2018).** Approach to Diagnosis of Cardiovascular Implantable-Electronic-Device Infection.*J Clin Microbiol*. 56(7): e01683-17.
- Diemond-Hernández B., Solórzano-Santos F., Leños-Miranda B., Peregrino-Bejarano L., Miranda-Novales G. (2010).** Production of icaA/BC-encoded polysaccharide intercellular adhesin and therapeutic failure in pediatric patients with staphylococcal device-related infections. *BMC Infectious Diseases*. 10:68
- Djeribi R., Bouchloukh W., Jouenne T., Mena B. (2012).** Characterization of bacterial biofilms formed on urinary catheters. *American journal of infection control*. 40: 854-859.
- Djeribi R., Boucherit Z., Bouchloukh W., Zouaoui W., Latrache H., et al. (2013).** A study of pH effects on the bacterial surface physicochemical properties of *Acinetobacter baumannii*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 102 : 540-545.
- Domka J., Lee J., Bansal T., Wood T.K. (2007).** Temporal gene-expression in *Escherichia coli* K-12 biofilms. *Environmental microbiology*. 9: 332-346.
- Donlan R.M. (2002).** Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerging Infectious Disease journal*. 8 (9): 881-890
- Donlan R.M., Costerton J. W. (2002).** Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev*. 15:167-193.
- Douarche C., Bailleux V., Even C., Allain J.M., Regeard C., Raspaud E. (2018).** La mécanique des biofilms à la surface de liquides. *Reflète de la Physique*. 56 :20-24.
- Dumas C. (2007).** Catalyse électro-microbienne dans les piles à combustible. Thèse de Doctorat. Institut National polytechnique de Toulouse.
- Durante Mangoni E., Carbonara S., Iacobello C., Tripodi M.F., , Mattucci I et al. (2011).** Management of infections from cardiac implantable electronic devices: recommendations from a study pan-el. *Infez. Med*. 19, 4, 207-223.

- Duval X., Selton-Suty C., Alla F., Salvador-Mazenq M., Bernard Y., et al. (2004).** Endocarditis in patients with a permanent pacemaker: a 1-year epidemiological survey on infective endocarditis due to valvular and/or pacemaker infection. *Clinical Infectious Diseases*. 39:68–74.
- Else T.A., Pantle C.R., Amy P.S. (2003).** Boundaries for Biofilm Formation: Humidity and Temperature. *Applied And Environmental Microbiology*. 69: 5006–5010.
- Fabre H. (2017).** Contributions des propriétés physico-chimiques de surfaces de titane sur l'adhérence de microorganismes : Application aux chambres implantables. *Thèse doctorat*. Le Mans Université.
- Fletcher M (1988).** Attachment of *Pseudomonas fluorescens* to glass and influence of electrolytes on bacterium- substratum separation distance. *Journal of Bacteriology*. 170: 2027-2030.
- Freeman D.J., Falkner F.R., Keane C.T. (1989).** New method for detecting slime production by coagulase-negative staphylococci. *Journal of Clinical Pathology*.42:872-874.
- Gaboriaud F., Dague E., Bailet S., Jorand F., Duval J., Thomas F. (2006).** Multiscale dynamics of the cell envelope of *Shewanella putrefaciens* as a response to pH change. *Colloids Surf B Biointerfaces*.52(2):108-16.
- Gallardo-Moreno A.M., Gonzalez-Martin M.L., Pérez-Giraldo C., Garduno E., Bruque J.M., Gomez-Garcia A.C. (2002).** Thermodynamic Analysis of Growth Temperature Dependence in the Adhesion of *Candida parapsilosis* to Polystyrene. *Applied and Environmental microbiology*. 68: 2610-2613.
- Gandelman G., Frishman W.H., Wiese C., Green-Gastwirth V., Hong S., et al. (2007).** Intravascular device infections: epidemiology, diagnosis, and management. *Cardiol Rev*. 15:13-23.
- García-Solache M., Rice L.B. (2019).** The *Enterococcus*: a Model of Adaptability to Its Environment. *Clinical Microbiology Reviews*. 32(2): e00058-18
- Garrett T.R., Bhakoo M., Zhang Z. (2008).** Bacterial adhesion and biofilms on surfaces. *Progress in Natural Science*. 1049–1056.

- Gill J.S., Singh N., Khanna S.P. (2017).** Risk of cardiac pacemaker pocket infection in a tertiary care hospital. *Indian J Pathol Microbiol.* 60: 185-188.
- Goller C.C, Romeo T. (2008).** Environmental influences on biofilm development. *Current Topics in Microbiology and Immunology.* 322: 37- 66.
- Gristina A.G. (1987).** Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. *Science.* 237:1588-95.
- Habib G., Hoen B., Tornos P., Thuny F., Prendergast B., et al. (2009).** Guidelines on the prevention, diagnosis, and treatment of infective endocarditis (new version 2009): *Eur Heart J.* 30: 2369–2413. doi:10.1093/eurheartj/ehp285.
- Hall-Stoodley L., Costerton J., Stoodley P. (2004).** Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.* 2: 95–108; doi:10.1038/nrmicro821.
- Hall-Stoodley L, Stoodley P. (2009).** Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol.* 11:1034–1043.
- Hamadi F., Latrache H., Mliji E., Mallouki B., Mabrouki M., Ellouali M. (2009).** Adhésion de *staphylococcus aureus* au verre et au téflon *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* 3: 1-16.
- Hamadi F., Latrache H., El Ghmari A., Ellouali M., Mabrouki M., Kouider N. (2004).** Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and electron acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Annals of Microbiology.* 54: 213-225.
- Hamoir X., Hamoir V., Pruvost N., Kirsch J. (2018).** Dispositifs cardiaques implantables : apport de l'imagerie médicale. *Louvain Médical.* 137(4) : 174-185.
- Heilmann C., Schweitzer O., Gerke C., Vanittanakom N., Mack D., Götz F. (1996).** Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis.*, *Mol. Microbiol.* 20 (5): 1083–91.
- Hoen B., Duval X. (2013).** Infective endocarditis. *N Engl J Med.* 368 : 1425-33.

- Holá V., Růžička F., Votava M. (2006).** The dynamics of *Staphylococcus epidermis* biofilm formation in relation to nutrition, temperature, and time. *Scripta Medica (Brno)*. 79 (3): 169–174.
- Hsu B.M., Huang C. (2002).** Influence of ionic strength and pH on hydrophobicity and zeta potential of *Giardia* and *Cryptosporidium*. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 201: 201-206.
- Hussein A.A., Baghdy Y., Wazni O.M., Brunner M.P., Kabbach G., et al. (2016).** Microbiology of Cardiac Implantable Electronic Device Infections. *clinical electrophysiology*. 2(4): 498-505.
- Inacio R.C., Klautau G.B., Murça M.A., Da Silva C.B., Nigro S., et al. (2015).** Microbial diagnosis of infection and colonization of cardiac implantable electronic devices by use of sonication. *Int J Infect Dis*. 38:54-9.
- Jain A., Agarwal A. (2009).** Biofilm production, a marker of pathogenic potential of colonizing and commensal staphylococci. *Journal of Microbiology and Methods*. 76: 88–92.
- Jesaitis A.J., Franklin M.J., Berglund D., Sasaki M., Lord C.I., et al. (2003).** Compromised host defense on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: characterization of neutrophil and biofilm interactions. *J Immunol*. 171:4329-39.
- Kabayadondo M.G., de Meester A. (2011).** Early Complications After Pacemaker Implantations. In book: *Cardiac Pacemakers - Biological Aspects, Clinical Applications and Possible Complications*.
- Kalai - Hacini A. (2020).** Utilisation de produits antimicrobiens naturels et chimiques dans la lutte contre le biofilm de *Bacillus cereus* dans le milieu laitier. *Thèse de doctorat*. Université de Tlemcen 91 page.
- Kara-Terki I. (2014).** Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm des souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU Tlemcen. *Thèse de doctorat*. Université de Tlemcen 98 page.
- Katsikogianni M.G., Missirlis Y.F. (2010).** Interactions of bacteria with specific biomaterial

surface chemistries under flow conditions. *Acta Biomater.* 6 1107-1118.

Ken-ichi O., Ryuichi N., Satomi Y., Shinya S., Chikara S., et al. (2018). The Composition and Structure of Biofilms Developed by *Propionibacterium acnes* Isolated from Cardiac Pacemaker Devices. *Frontiers in Microbiology*. doi: 10.3389/fmicb.2018.0018

Klug D., Wallet F., Lacroix D., Marquié C., Kouakam C., et al. (2004). Local symptoms at the site of pacemaker implantation indicate latent systemic infection. *Heart*.90:882-6.

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

Klug D., Lacroix D., Savoye C., Goullard L., Grandmougin D., et al. (1997). Systemic infection related to endocarditis on pacemaker leads: clinical presentation and management. *Circulation*. 95: 2098–2107.

Kodali A., Khalighi K. (2015). A Case of Late Implantable Cardiac Device Infection with *Aspergillus* in an Immunocompetent Host. *Am J Case Rep.* 16: 520-523.

Kojic EM., Darouiche R.O. (2004). *Candida* Infections of Medical Devices. *Clin Microbiol Rev.* 17(2): 255–267.

Korkerdsup T., Ngarmukos T., Sungkanuparph S., Angsana Phuphuakrat A. (2018). Cardiac implantable electronic device infection in the cardiac referral center in Thailand: incidence, microbiology, risk factors, and outcomes. *J Arrhythm.* 34(6):632-639.

Krepesky N., Rocha Ferreira R.B., Ferreira Nunes A.P., Casado Lins U.G., Costa E., et al. (2003). Cell surface hydrophobicity and slime production of *Staphylococcus epidermidis* Brazilian isolates. *Current Microbiology*. 46: 280-286.

Langlois C. (2000). Implantation d'un stimulateur cardiaque. Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec.

Le K.Y., Park M.D., Otto M. (2018). Immune evasion mechanisms of *Staphylococcus epidermidis* biofilm infection. *Front Microbiol.* 9:359. doi: 10.3389/fmicb.2018.00359

- Lebeaux D. 1, Ghigo J.M. (2012).** Infections associées aux biofilms: quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale? *.Med Sci (Paris)*. 28:727-39.
- Lebeaux D. 2, Ghigo J.M. (2012).** Management of biofilm-associated infections: What can we expect from recent research on biofilm lifestyles?. *Med Sci (Paris)*. 28(8-9):727-39
- Lebeaux D. 1, Ghigo J.M., Lucet J.C. (2014).** Physiopathologie et prévention des infections liées aux dispositifs médicaux implantés. *La Revue du praticien*. 64(5) ; 620-5.
- Lebeaux D. 2, Fernandez-Hidalgo N., Chauhan A., Lee S., Ghigo J., et al. (2014).** Management of infections related to totally implantable venous access ports: challenges and perspectives. *Lancet Infect Dis*. 14:146-59.
- Leid J.G., Shirliff M.E., Costerton J.W., Stoodley P. (2002).** Human leukocytes adhere to, penetrate, and respond to *Staphylococcus aureus* biofilms. *Infect Immun*. 70:6339-45.
- Lewis K. (2008).** Multidrug tolerance of biofilms and persister cells. *Curr Top Microbiol Immunol*. 322:107-31.
- LI Y.H., Hanna M.N., Ter G.S., Ellen R.P., Cvitkovitch D.G. (2001).** Cell Density Modulates Acid Adaptation in *Streptococcus mutans*: Implications for Survival in Biofilms. *J Bacteriol*. 183:6875–84.
- Liberto M.C., Matera G., Quirino A., Lamberti A.G., Capicotto R., et al. (2009).** Phenotypic and genotypic evaluation of slime production by conventional and molecular microbiological techniques. *Microbiological Research*. 164: 522-528.
- Lin G., Zou T., Dong M., Liu J., Cui W., et al. (2021).** Risk Stratifying and Prognostic Analysis of Subclinical Cardiac Implantable Electronic Devices Infection: Insight From Traditional Bacterial Culture. *J Am Heart Assoc*. 10:e022260.
- Mack D., Rohde H., Harris L.G., Davies A.P., Horstkotte M.A., Knobloch J.K. (2006).** Biofilm formation in medical device-related infection. *Int J Artif Organs*. 29(4):343-59.
- Mah T.F. (2012).** Biofilm-specific antibiotic resistance. *Future Microbiol*. 7: 1061–72.
- Mahmood M.S., Sarwari A.R., Khan M.A., Sophie Z., Khan E., Sami S. (2000).** Infective endocarditis and septic embolization with *Ochrobactrum anthropi*: case report and review of

literature. *J Infect.* 40: 287–290.

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

Marschall J., Hopkins-Broyles D., Jones M., Fraser V.J., Warren D.K. (2007). Case-control study of surgical site infections associated with pacemakers and implantable cardioverter defibrillators. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 28:1299-304.

Martinez LR, Casadevall A. (2007). *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on surface support and carbone source and reduces fungal cells susceptibility to heat, cold and UV light. *Applied and Environmental Microbiology.* 4592- 4601.

Mathien C., Pynn S., T. Le Maitre T., Chauvin M., F. Schneider F. (2005). Stimulateurs cardiaques et défibrillateurs automatiques implantés: connaissances basiques pour le réanimateur. *Réanimation.* 15. 137-144.

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

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

M'Hamedi I. (2015). Evaluation de la formation de biofilms des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées de dispositifs médicaux au CHU de Tlemcen. *Thèse Doctorat.* Université de Tlemcen. 66 pages.

Miller S.T., Xavier K.B., Campagna S.R. (2004). *Salmonella typhimurium* recognizes a chemically distinct form of the bacterial quorum-sensing signal AI-2. *Mol Cell.* 15:677–687.

Mittelman MW. (1996). Adhesion to biomaterials. Bacterial adhesion. *Molecular and ecological diversity.* 89- 127.

- Mond H.G., Irwin M., Morillo C., Ector H. (2004).** The world survey of cardiac pacing and cardioverter defibrillators: calendar year 2001. *Pacing Clin Electrophysiol.* 27:955-64.
- Moss A.J., Daubert J., Zareba W. (2002).** MADIT-II: clinical implications. *Card Electrophysiol Rev.* 6: 463–465.
- Muller A. (2017).** Bon usage des antibiotiques: résultats d'actions dans différents types d'établissements de santé. *Thèse Doctorat.* Université Bourgogne Franche-Comté.
- Nath N., Hyun J., Ma H., Chilkoti, A. (2004).** Surface engineering strategies for control of protein and cell interactions. *Surf. Sci.* 570: 98-110.
- Nealson K.H. (1977).** Autoinduction of bacterial luciferase. Occurrence, mechanism and significance. *Arch Microbiol.* 112:73–79.
- Norwood D.E., Gilmour A. (2001).** The differential adherence capabilities of two *Listeria monocytogenes* strains in monoculture and multispecies biofilms as a function of temperature. *Lett. Appl. Microbiol.* 33:320–324.
- Oli M.W., Otoo H.N., Crowley P.J., Heim K.P., Nascimento M.M., et al. (2012).** Functional amyloid formation by *Streptococcus mutans*. *Microbiol.* 158: 2903–2916.
- Oliva A., Nguyen B.L., Mascellino M.T., D'Abramo A., Iannetta M., et al. (2013).** Sonication of explanted cardiac implants improves microbial detection in cardiac device infections. *J Clin Microbiol.* 51(2): 496-502. doi:10.1128/JCM.02230-12.
- Oliva A., Mascellino M., Nguyen B., De Angelis M., Cipolla A., et al. (2018).** Detection of biofilm-associated implant pathogens in cardiac device infections: High sensitivity of sonication fluid culture even in the presence of antimicrobials. *J Glob Infect Dis.* 10(2): 74–79.
- Olivares E., Badel-Berchoux S., Provot C., Jaulhac B., Prévost G., et al. (2016).** The BioFilm Ring Test: a Rapid Method for Routine Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation Kinetics. *Journal of clinical microbiology.* 54(3): 657–661.

- Oliveira R., Melo L., Oliveira A. (1994).** Polysaccharide production and biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens*: effects of pH and surface material. *Colloids Surf B: Biointerf.* 2:41–6.
- Olson M.E., Ceri H., Morck D.W., Buret A.G., Read R.R. (2002).** Biofilm bacteria: Formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res.* 66:86–92.
- Orapiriyakul W., Young P.S., Damiati L., Tsimbouri P.M. (2018).** Antibacterial surface modification of titanium implants in orthopaedics. *J Tissue Eng.* 9:1-16.
- O’Toole G. A., Kaplan HB., Kolter R. (2000).** Biofilm formation as microbial development. *The Annual Review of Microbiology.* 54: 49- 79.
- Otto, M. (2008).** Staphylococcal biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol.* 322: 207–228.
- Ouchar Mahamat O., Tidjani A., Savadogo A., Abakabir Mahamat A., Somda M.K., Traore A.S. (2013).** Isolement et caractérisation des bactéries productrices des biofilms issues des produits alimentaires. *Rev Microbiol. Ind. San et Environn.* 7: 187-210.
- Pamula E., De Cupere V., Dufrene Y.F., Rouxhet P.G. (2004).** Nanoscale organization of adsorbed collagen: Influence of substrate hydrophobicity and adsorption time. *J. Colloid Interf. Sci.* 271: 80.
- Pavlovsky L., Sturtevant R.A., Younger J.G., Solomon M.J. (2015).** Effects of Temperature on the Morphological, Polymeric, and Mechanical Properties of *Staphylococcus epidermidis* Bacterial Biofilms. *Langmuir.* 31(6): 2036–2042. doi:10.1021/la5044156
- Peeters E., Nelis H.J., Coenye T. (2008).** Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. *Microbiological Methods.* 72: 157–165.
- Perrot F., Jouenne T., Feuilloy M., Vaudry H., Junter G.A. (1998).** Gel immobilization improves survival of *Escherichia coli* under temperature stress in nutrient-poor natural water. *Water Res.* 32:3521–3526.
- Phaller M.A., Herwaldt L.A. (1988).** Laboratory, clinical, and epidemiological aspects of coagulase-negative staphylococci. *Clin Microbiol Rev.* 1:281–299.

- Pien F.D., Bruce A.E. (1986).** Nosocomial *Ewingella americana* bacteremia in an intensive care unit. *Arch Intern Med.* 146: 111–112.
- Podoleanu C., Deharo J.C. (2014).** Management of Cardiac Implantable Electronic Device Infection. *Arrhythm Electrophysiol Rev.* 3(3):184-9.
- Pour N.K., Dusane D.H., Dhakephalkar P.K., Zamin F.R., Zinjarde S.S., Chopade B.A. (2011).** Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* strains isolated from urinary tract infection and urinary catheters. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 62: 328–338.
- Pradier C.M., Rubio C., Poleunis P., Bertrand P., Marcus P., Compère C. (2015).** Surface Characterization of Three Marine Bacterial Strains by Fourier Transform IR, X-ray Photoelectron Spectroscopy, and Time-of-Flight Secondary-Ion Mass Spectrometry, Correlation with Adhesion on Stainless Steel Surfaces. *J Phys Chem B.* 109, 19, 9540–9549
- Racha A.N., Abu Shady H.M., Hussein H.S. (2012).** Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of staphylococci. *Egyptian Journal of Medical Human and Genetic.* 13: 269–274.
- Reifsteck F., Wee S., Wilkinson B.J. (1987).** Hydrophobicity-hydrophilicity of staphylococci. *Journal of Medical Microbiology.* 24: 65-73.
- Richards J.J., Melander C. (2009).** Controlling bacterial biofilms. *ChemBioChem.* 10: 2287–2294.
- Rodrigues L.R. (2011).** Inhibition of bacterial adhesion on medical devices. *Adv Exp Med Biol.* 715 : 351–367.
- Ronald J. Doyle. (1999).** Methods in Enzymology. *Ap Academic Press.* 310:118-119.
- Rosenberg M., Doyle R.J. (1990).** Microbial cell surface hydrophobicity: History, measurement and significance. *ASM publications, Washington,* 1-37.
- Rosenberg M. (1984).** Bacterial adherence to polystyrene: a replica method of screening for bacterial hydrophobicity. *Applied and Enviromental Microbiology.* 42: 375-377.

- Roux A., Ghigo J.M. (2006).** Les biofilms bactériens. *Bull. Acad. Vét. France.* 159(3) :261-268.
- Ruttman E., Hangler H.B., Kilo J., Höfer D., Müller L.C., et al. (2006).** Transvenous pacemaker lead removal is safe and effective even in large vegetations: an analysis of 53 cases of pacemaker lead endocarditis. *Pacing Clin Electrophysiol.* 29: 231–236.
- Sampedro M.F., Huddleston P.M., Piper K.E., Karau M.J., Dekutoski M.B., et al. (2010).** A biofilm approach to detect bacteria on removed spinal implants. *Spine (Phila. Pa. 1976).* 35, 1218–24. <https://doi.org/10.1097/BRS.0b013e3181c3b2f3>
- Sandoe J.A.T., Barlow G., Chambers J.B., Gammage M., Guleri A., et al. (2015).** Guidelines for the diagnosis, prevention and management of implantable cardiac electronic device infection. *J Antimicrob Chemother.* 70: 325–359. doi:10.1093/jac/dku383.
- Santos A.P.A., Watanabe E., De Andrade D. (2011).** Biofilm on artificial pacemaker: fiction or reality?. *Arq Bras Cardiol.* 97(5):e113-20.
- Seow S.C. (2019).** The Future of Cardiac Devices. *National University Health System.* www.nuhcs.com.sg/Heart-Health/Articles/Pages/The-Future-of-Cardiac-Devices.aspx
- Škvarla J., Kupka D., Turčániová L. (2002).** A complementary study of hydrophobicity and surface charge of *Thiobacillus ferrooxidans* The effect of ionic surfactants. *Acta Montanistica Slovaca.* 2, 85-88.
- Sharma D., Misba L., Khan A.U. (2019).** Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. *Antimicrobial Resistance and Infection Control.* 8:76.
- Sohail MR. 1, Uslan DZ., Khan AH., Friedman PA., Hayes DL., et al. (2007).** Risk factor analysis of permanent pacemaker infection. *Clin Infect Dis.* 45:166-73.
- Sohail MR. 2, Uslan DZ., Khan AH., Friedman PA., Hayes DL., et al. (2007).** Management and outcome of permanent pacemaker and implantable cardioverter-defibrillator infections. *J Am Coll Cardiol.* 49:1851-9.
- Sousa C., Henriques M., Oliveira R. (2011).** Mini-review: antimicrobial central venous catheters-recent advances and strategies. *Biofouling.* 27 609–620.

- Spormann AM. (2008).** Physiology of microbes in biofilms stability of *Burkholderia cenocepacia* biofilms. *Applied and Environmental Microbiology*.5208- 5218.
- Stacey D., Légaré F., Lewis K., Barry M.J., Bennett C.L., et al. (2017).** Decision aids for people facing health treatment or screening decisions. *Cochrane Database Syst Rev*. 4(4):CD001431.
- Steinmoen H., Knutsen E., Håvarstein L.S. (2002).** Induction of natural competence in *Streptococcus pneumoniae* triggers lysis and DNA release from a subfraction of the cell population . *Proc . Natl . Acad . Sci . USA* 99:7681-7686.
- Stepanovic S., Vukovic D., Dakic I., Savic B., Svabic-Vlahovic M. (2000).** A modified microtiter-plate test for quantification of Staphylococcal biofilm formation. *J. Microbiol. Methods*. 40: 175–179.
- Stepanovic S., Cirkovic I., Mijac V. (2003).** Influence of the incubation temperature, atmosphere and dynamic conditions on biofilm formation by *Salmonella spp.* *Food Microbiol*. 20:339–43.
- Stepanovic S., Dragana V., Veronika H., Giovanni D.B., Slobodanka D., et al. (2007).** Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and practical recommendations for assessment of biofilm production by staphylococci. *APMIS*. 115, 891- 9.
- Stewart P.S., Costerton J.W. (2001).** Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet*. 358(9276): 135-8.
- Stoodley P., Lewandowski Z., Boyle J.D., Lappin-Scott H.M. (1999).** Structural deformation of bacterial biofilms caused by short-term fluctuations in fluid shear: an *in situ* investigation of biofilm rheology. *Biotechnol Bioeng*. 65 : 83-92.
- Tarakji K.G., Ellis C.R., Defaye P., Kennergren C. (2016).** Cardiac implantable electronic device infection in patients at risk. *Arrhythm Electrophysiol Rev*. 5:65–71.
- Tarakji K.G., Chan E.J., Cantillon D.J. (2010).** Cardiac implantable electronic device infections: Presentation, management, and patient outcomes. *Heart Rythm*. 7:1043–7.

- Tascini C., Bongiorno M.G., Gemignani G., Soldati E., Leonildi A., et al. (2006).** Management of Cardiac Device Infections: A Retrospective Survey of a Non-Surgical Approach Combining Antibiotic Therapy with Transvenous Removal. *J. Chemother.* 18 (2): 157-163. doi:10.1179/joc.2006.18.2.157.
- Tegoulia V.A., Cooper S.L. (2002).** *Staphylococcus aureus* adhesion to self-assembled monolayers effect of surface chemistry and fibrinogen presence, *Colloids and Surfaces B - Biointerfaces.* 24 217- 228.
- Udayalaxmi B.G., Kotigadde S., Kotian S. (2012).** Effect of pH on the adherence, surface hydrophobicity and the biofilm formation of *Gardnerella vaginalis*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research,* 6(6), 967-969.
- Vacheethasanee K., Temenoff J.S., Higashi J.M., Gary A., Anderson J.M., et al. (1998).** Bacterial surface properties of clinically isolated *Staphylococcus epidermidis* strains determine adhesion on polyethylene. *J Biomed Mater Res.* 5;42(3):425-32.
- Van Houdt R., Michiels C.W. (2010).** Biofilm formation and the food industry, a focus on the bacterial outer surface. *J Appl Microbiol.* 109:1117–1131.
- Van Loosdrecht M.C., Lyklema.J., Norde W., Schraa G., Zehnder A.J. (1987).** The role of bacterial cell wall hydrophobicity in adhesion. *Appl Environ Microbiol.* 53(8):1893-7.
- Veenstra G.J., Cremers F.F., van Dijk H., Fleer A. (1996).** Ultrastructural organization and regulation of a biomaterial adhesin of *Staphylococcus epidermidis*. *J Bacteriol.* 178: 537–541.
- Victor F., De Place C., Camus C., Le Breton H., Leclercq C., et al. (1999).** Pacemaker lead infection: echocardiographic features, management, and outcome. *Heart.* 81: 82–87.
- Vijaranakul U., Nadakavukaren M.J., Bayles D. O., Wilkinson B. J., Jayaswal R.K. (1997).** Characterization of an NaCl-sensitive *Staphylococcus aureus* mutant and rescue of the NaCl-sensitive phenotype by glycine betaine but not by other compatible solutes. *Appl Environ Microbiol.* 63: 1889–1897.
- Villamil Cajoto I., Rodríguez Framil M., Van den Eynde Collado A., José Villacián Vicedo M., Canedo Romero C. (2007).** Permanent transvenous pacemaker infections: an analysis of 59 cases. *Eur J Intern Med.* 18:484-8.

- Voigt A., Shalaby A., Saba S. (2010).** Continued rise in rates of cardiovascular implantable electronic device infections in the United States: temporal trends and causative insights. *Pacing Clin Electrophysiol.* 33: 414–419. doi:10.1111/j.1540-8159.2009.02569.x.
- Vuong C., Otto M. (2002).** *Staphylococcus epidermidis* infections. *Microbes Infect.* 4: 481–489.
- Whitaker J., Williams S., Arujuna A., Rinaldi C.A., Chambers J., Klein J.L. (2012).** Cardiac implantable electronic device-related endocarditis: a 12-year single-centre experience. *Scand. J. Infect. Dis.* 44, 922-926.
- White-Ziegler C.A., Davis T.R. (2009).** Genome-Wide Identification of H-NS-Controlled, Temperature-Regulated Genes in *Escherichia coli* K-12. *Journal Of Bacteriology.* 1106–1110.
- Wang R., Li X., Wang Q., Zhang Y., Wang H. (2017).** Microbiological characteristics and clinical features of cardiac implantable electronic device infections at a tertiary hospital in china. *Frontiers in microbiology.* 8: 360.
- Yannick Tremblay D.N., Hathroubi S., Jacques M. (2014).** Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *The Canadian Journal of Veterinary Research.* 78(2): 110–116.
- Yew K.L. (2012).** Infective endocarditis and the pacemaker: cardiac implantable electronic device infection. *Med. J. Malaysia.* 67, 618-619.
- Ziebuhr W., Loessner I., Krimmer V., Hacker J. (2001).** Methods to detect and analyze phenotypic variation in biofilm-forming staphylococci. *Methods Enzymol.* 336:195–205.
- Zimmerli W. (2006).** Infection and musculoskeletal conditions: Prosthetic-joint-associated infections. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 20:1045-63.
- Zimmerli W., Widmer AF., Blatter M., Frei R., Ochsner P.E. (1998).** Role of rifampin for treatment of orthopedic implantrelated staphylococcal infections: a randomized controlled trial. Foreign-Body Infection (FBI) Study Group. *JAMA.* 279:1537-41.

Zou M., Liu D. (2020). Effects of carbon sources and temperature on the formation and structural characteristics of food-related *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Food Science and Human Wellness*. 9 370–376.

ANNEXES

Annexe 1

Etablissement:



Questionnaire

N°:

Médecin opérateur:

Aides:

Nom et prénom du patient:

Age:

Adresse:

Profession:

Tares associés:

motif de stimulation:

date:

Primo-implantation:

Changement de boîtier:

Mode de stimulation:

type:

Durée d'intervention:

Complications associées:

Traitement ATB prophylactique:

Symptomatologie d'infection (locale et générale):

Précoce:

Tardives:

Examens para-cliniques:

Geste associés:

Localisation d'infection (sonde ou boîtier):

Annexe 2

Luria Bertani liquide (LB)

Tryptone.....	10g
Extrait de levure.....	05g
NaCl.....	05g
Eau distillée.....	(qsp) 1L

Le tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) à 0,1M, pH= 7,2± 2

KH ₂ PO ₄	0,29g
K ₂ HPO ₄	1,19g
NaCl.....	4,93g
Eau distillée.....	(qsp) 1L

Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *S. aureus* (CASFM, 2010)

Antibiotique	Charge du disque	S	I	R
Pénicilline (P)	10UI	≥ 29	-	≤28
Oxacilline (OX)	5µg	≥20	-	<20
Imipénème (IMP)	10µg	≥16	14 - 15	≤13
Ofloxacin (OFX)	5µg	≥18	15 - 17	≤14
Gentamicine (CN)	10µg	≥15	13 -14	≤12
Amikacine (AK)	30µg	≥17	15 - 16	≤14
Erythromycine (E)	15µg	≥23	14 - 22	≤13
Vancomycine (VA)	30µg	≥15	-	-
Acide fusidique (FA)	10µg	≥22	15 - 21	≤15
Tétracycline (TE)	30µg	≥19	15 - 18	≤15
Fosfomycine (FF)	50µg	≥14	-	≤14
Chloramphénicol (C)	30µg	≥18	13 -17	≤12

Liste des travaux et publications

Publication internationale

Zahira MEZIANI, Hafida HASSAINE, Fouad BELHACHEMI (2020). Infections of implantable cardiac devices by biofilm forming bacteria in western Algeria hospitals. *African Journal of Cinical and Experimental Microbiology*; 21(4): 290 - 303

Communications

Zahira MEZIANI-BELHACHEMI, Hafida HASSAINE, Fouad BELHACHEMI, Abderrahim MEZIANE TANI (2014). Infection nosocomiales à *Pseudomonas* sur un défibrillateur triple chambre. 26^{èmes} Entretiens Cardiologiques de l'hôpital central de l'Armée ENSM.

Zahira MEZIANI-BELHACHEMI, Hafida HASSAINE, Fouad BELHACHEMI, Abderrahim MEZIANE TANI (2014). Infection nosocomiales à *Pseudomonas* sur un défibrillateur triple chambre. Congrès International de la Société Algérienne de Cardiologie.

Zahira MEZIANI-BELHACHEMI, Hafida HASSAINE, Fouad BELHACHEMI, Abderrahim MEZIANE TANI (2015). Une infection grave et récidivante sur un défibrillateur triple chambre. 5^{ème} journée scientifique Algerythme.

Zahira MEZIANI-BELHACHEMI, Hafida HASSAINE, Fouad BELHACHEMI, Abderrahim MEZIANE TANI (2015). Infection nosocomiales à *Pseudomonas aeruginosa* sur un défibrillateur triple chambre. 10^{ème} congrès 'biologie et hygiène hospitalière Paris, France.

**Original Article****Open Access****Infections of implantable cardiac devices by biofilm forming bacteria in western Algeria hospitals**¹Meziani, Z., ¹Hassaine, H., and ²Belhachemi, F.¹Laboratory of Applied Microbiology in Food, Biomedical and Environment (LAMAABE),
University of Tlemcen, Algeria²Department of Cardiology, Hospital of Tlemcen, Algeria*Correspondence to: zahera_fd@yahoo.fr; 00213553406801**Abstract:**

Background: The significant increase in the use of implantable cardiac devices (ICDs) has been accompanied by biofilm formation and increase rate of infection on the devices. The purpose of our study is to describe the clinical and microbiological findings of infection of ICDs in the cardiology units of western Algeria hospitals.

Methodology: All patients with clinical diagnosis of ICD infections or infective endocarditis upon removal of their ICDs from December 2012 to August 2014 in cardiology units of 4 Algerian hospitals were included in the study. Each element of the ICD pocket and lead was separately sonicated in sterile saline, inoculated onto Chapman and MacConkey agar plates and incubated aerobically at 37°C for colony count after 24 hours. Biochemical identification of the bacteria isolates was made by API 20E, API 20 NE and API Staph, and confirmed by Siemens Healthcare Diagnostics WalkAway® 96 Plus System. Antibiotic susceptibility testing on each isolate was performed by the disk diffusion method on Mueller Hinton agar. Biofilm formation was detected by Congo Red Agar (CRA) and Tissue Culture Plate (TCP) methods, and hydrophobicity of the bacterial cell was determined by the MATH protocol.

Results: Over a period of twenty-one months, 17 ICDs were removed from patients with post-operative infections; 6 (35.3%) had early infection of ICD and 11 (64.7%) had late ICD infection. Fifty-four bacterial strains were isolated and identified, with coagulase-negative staphylococci being the predominant bacteria with 46.3% (25/54). There was no significant association between hydrophobicity and antimicrobial resistance in the 54 isolates but there is positive correlation between biofilm production and antimicrobial resistance, with the strongest biofilm producers resistant to more than one antibiotic. Four independent predictors of infection of resynchronization devices were reported; reoperation, multi-morbidity, long procedure, and ICD implantation.

Conclusion: Our study is the first in Algeria to describe microbiological characteristics of ICD infection. The bacteria in the biofilm were protected, more resistant and tolerated high concentrations of antibiotics and thus played a major role in the development of ICD infections. Despite the improvements in ICD design and implantation techniques, ICD infection remains a serious challenge.

Keywords: implantable cardiac devices, staphylococci, resistance, biofilm, hydrophobicity

Received January 28, 2020; Revised May 4, 2020; Accepted May 6, 2020

Copyright 2020 AJCEM Open Access. This article is licensed and distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License , which permits unrestricted use, distribution and reproduction in any medium, provided credit is given to the original author(s) and the source.

Infections des dispositifs cardiaques implantables par des bactéries formant un biofilm dans les hôpitaux de l'ouest de l'Algérie¹Meziani, Z., ¹Hassaine, H., et ²Belhachemi, F.¹Laboratoire de microbiologie appliquée à l'alimentation, la biomédecine et l'environnement (LAMAABE),
Université de Tlemcen, Algérie

²Département de cardiologie, Hôpital de Tlemcen, Algérie
*Correspondance avec: zahera_fd@yahoo.fr; 00213553406801

Résumé:

Contexte: L'augmentation significative de l'utilisation de dispositifs cardiaques implantables (DCI) s'est accompagnée d'une formation de biofilm et d'une augmentation du taux d'infection sur les dispositifs. Le but de notre étude est de décrire les résultats cliniques et microbiologiques de l'infection des DCI dans les unités de cardiologie des hôpitaux de l'ouest de l'Algérie.

Méthodologie: Tous les patients avec un diagnostic clinique d'infections CIM ou d'endocardite infectieuse lors du retrait de leurs CIM de décembre 2012 à août 2014 dans les unités de cardiologie de 4 hôpitaux algériens ont été inclus dans l'étude. Chaque élément de la poche et du plomb de l'ICD a été soniqué séparément dans une solution saline stérile, inoculé sur des plaques de gélose Chapman et MacConkey et incubé en aérobiose à 37°C pour le comptage des colonies après 24 heures. L'identification biochimique des isolats de bactéries a été réalisée par API 20E, API 20 NE et API Staph, et confirmée par le système WalkAway® 96 Plus de Siemens Healthcare Diagnostics. Des tests de sensibilité aux antibiotiques sur chaque isolat ont été effectués par la méthode de diffusion sur disque sur gélose Mueller Hinton. La formation de biofilm a été détectée par les méthodes Congo Red Agar (CRA) et Tissue Culture Plate (TCP), et l'hydrophobicité de la cellule bactérienne a été déterminée par le protocole MATH.

Résultats: Sur une période de 21 mois, 17 DCI ont été retirés de patients atteints d'infections postopératoires; 6 (35,3%) avaient une infection précoce de la CIM et 11 (64,7%) avaient une infection tardive de la CIM. Cinquante-quatre souches bactériennes ont été isolées et identifiées, les staphylocoques à coagulase négative étant la bactérie prédominante avec 46,3% (25/54). Il n'y avait pas d'association significative entre l'hydrophobie et la résistance aux antimicrobiens dans les 54 isolats, mais il existe une corrélation positive entre la production de biofilm et la résistance aux antimicrobiens, les producteurs de biofilm les plus puissants résistant à plus d'un antibiotique. Quatre prédicteurs indépendants d'infection des dispositifs de resynchronisation ont été signalés; réopération, multi-morbidité, procédure longue et implantation ICD.

Conclusion: Notre étude est la première en Algérie à décrire les caractéristiques microbiologiques de l'infection ICD. Les bactéries présentes dans le biofilm étaient protégées, plus résistantes et toléraient de fortes concentrations d'antibiotiques et jouaient ainsi un rôle majeur dans le développement des infections par DCI. Malgré les améliorations apportées à la conception de la CIM et aux techniques d'implantation, l'infection à la CIM reste un défi sérieux.

Mots-clés: dispositifs cardiaques implantables, staphylocoque, résistance, biofilm, hydrophobicité

Introduction:

The permanent implantable cardiac device (ICD) is one of the most widely used cardiac rhythm control devices. Since their introduction in the early 1980s, ICD have become a life-saving therapeutic tool for patients with ventricular arrhythmia. Virtually all the countries surveyed showed significant rise in the use of ICD, the largest implanter being the USA with 434 new implants per million populations (1). Despite improvements in cardiac device design, application of timely infection control practices, and administration of antibiotic prophylaxis at the time of device placement, infections continue to be observed. The infection rate is highly variable, ranging from 0.5 to 12% (2,3).

Infection of implantable cardiac device (ICD) may be local, limited to the pulse generator pocket and/or the subcutaneous portion of the leads, or systemic, involving the transvenous intravascular electrode (4). Several factors have been reported to be associated with a greater risk of ICD infections and these include; immunosuppression (e.g. renal dysfunction and corti-

steroid use); oral anticoagulation use; co-existing illnesses; periprocedural factors including failure to administer perioperative antimicrobial prophylaxis; device revision/replacement; and operators' experience (5).

Because of the invasiveness, these devices have multiple comorbidities in ICD recipients, the benefits of which can be overshadowed by infectious complications. Infection of ICD is usually a serious and fearsome complication requiring both complete removal of the infected device and systemic antimicrobial treatment (5,6). Although the implantation of pacemakers is a procedure characterized by low rate of complication, infections, mainly of the pacemaker generator pocket, is one of the most common complications with incidence ranging from 1 to 5%. Despite the low incidence, such infections have a worrying development, mostly because it is associated with high morbidity and potential fatality (7).

Microbiological diagnosis of ICD infection is of great importance for appropriate treatment. Staphylococcal species including *Staphylococcus aureus* and coagulase negative staphylococci (CoNS) represent the majority of bacterial agents of ICD infection

(8,9). However, some unusual microorganisms such as *Propionibacterium* spp., *Corynebacterium* spp., *Acinetobacter baumannii*, and *Haemophilus influenzae* may also be involved and antibiotic resistance is often detected in them (10,11). Furthermore, one major concern among professionals and bacteriologists is the risk of biofilm formation on the ICDs which consequently favors infection. In recent decades, biofilm formations have been widely reported to be responsible for nosocomial infections especially of prosthetic implants, tubes, leads and catheters (12,13).

It is speculated that the presence of an ICD is conducive for microbial colonization contributing greatly to the development of biofilms, which in turn, explains the occurrence of endocarditis (14,15). It is interesting to note that biofilm consists of a structured medium of microbial cells that adhere to a solid surface and is surrounded by a matrix of extracellular polymeric substances. This microbial combination is a form of protection encouraging symbiotic relationships, tolerance, as well as antimicrobial resistance (16).

The goal of this study is to first describe the bacteriological characteristics of ICD infections over a period of 2 years in four cardiology units of one private and three university hospital centers in western Algeria, and secondly to determine whether the isolated bacteria have the ability to form biofilms that may be responsible for triggering infection, especially in late stage endocarditis.

Materials and method:

Study setting:

This study is carried out at the Laboratory of Microbiology Applied to Food, Biomedical and Environment (LAMAABE) of the University Abou-Bekr Bekaid-Tlemcen, Algeria.

Subjects

All the patients with clinical diagnosis of ICD infection or infective endocarditis upon removal of their cardiac devices from December 2012 to August 2014 in four cardiology units of three hospitals in Algeria were included in this study. The clinical diagnosis of ICD infection was made by the clinician based on local signs of inflammation such as erythema, heat, redness or purulent drainage, outward displacement of the pocket, septicemia or infectious endocarditis of the heart. The time of infection was recorded and ICD infection was categorized as; 'very early' if infection occurs 1 month

after the latest ICD procedure; 'early' if infection occur between 2 and 12 months of the latest procedure, and 'late' if infection occurs 12 months after the latest procedure.

Ethical approval

Ethical clearance was obtained from the Institutional Review Board at the Faculty of Health Science of the University of Algeria. The administrative authorizations were obtained from the Delegation of Public Health of the Regional Hospitals of Western Algeria. Moreover, written informed consent was obtained from all study patients prior to interview and DCI collection

Collection of demographic and clinical data

Demographic and clinical data collected from each patient by direct interview included age, gender, existence of an underlying anterior cardiopathy or a history of infective endocarditis, existence of diabetes, immunosuppression, primary implantation or change of pocket, antibiotic therapy and possible infection or surgery programmed during the last five years.

Microbiological culture of the ICDs

After removal by the surgeons, the implantable cardiac devices (ICDs) were placed in sterile boxes and transported to the microbiology laboratory within 30 minutes. Each element of the ICD pocket and lead was soaked separately in sterile saline solution and sonicated for 5 minutes at a frequency of 20Khz, and vortexed for 30sec to detach and detect sessile bacteria hanging on to these devices (17,18). After sonication, 100µL of the soaking liquid was inoculated onto Chapman agar and MacConkey agar plates. The number of CFU/mL was counted after 24 hours aerobic incubation. The minimum detection threshold was 2 CFU/mL (19).

Biochemical identification and susceptibility testing of bacteria isolates

The biochemical identification of the bacteria isolates was done using the API 20E and API 20NE Staph API (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France), and confirmed by the Siemens Healthcare Diagnostics WalkAway® 96 Plus System. The antibiotic susceptibility and resistance phenotypes were determined by the disk diffusion method on Mueller-Hinton agar (Biorad, Marnes-la-Coquette, France) according to the recommendations of the antibiogram committee of the French Society of Microbiology (20). The antibiotic disks used were penicillin (10iu), oxacillin (5µg), cefoxitin (30µg), gentamicin (10µg), tobramycin (10µg), amikacin (30µg), vanco-

mycin (30µg), rifampin (30µg), fosfomycin (50µg), fusidic acid (10µg), clindamycin (2 µg), pristinamycin (15µg), erythromycin (15 µg), ofloxacin (5µg), tetracycline (30µg), chloramphenicol (30µg), imipenem (10µg), and trimethoprim/sulfamethoxazole (25µg), cefotaxime (5µg), ceftriaxone (30µg), nalidixic acid (30µg), ciprofloxacin (5µg), amoxicillin (20µg), and clavulanic acid (10µg).

Detection of biofilm by Tissue Culture Plate (TCP) method

Quantitative measurement of biofilm production in the isolates was done using a microtiter assay. In brief, cells were grown overnight in Brain Heart Infusion Broth (BHIB). The broth was then diluted 1:100 and inoculated into microtiter plates. After 24 hours incubation at 37°C, the plates were washed, stained with crystal violet, and the optical density measured at 570 nm (20). Each test was performed in triplicate. As a negative control, the uninoculated medium was used to determine the initial OD. Mean OD values were calculated for all tested strains and the negative control.

The threshold value (OD_c) was established as three standard deviations (SD) above the mean OD of the negative control i. e. OD_c=mean OD of the negative control + (3×SD of negative control). The OD_c value was calculated separately for each microtiter plate. When a negative value was obtained, it was presented as zero, while any positive value indicated the production of biofilms. For the interpretation of the results, the classification of the obtained results was based on the control OD. The strains are classified as follows: OD ≤ DO_t (control) is non-biofilm forming; DO_t × 2 ≤ OD ≤ DO_t × 4 is moderate biofilm-forming, and DO_t × 4 ≤ OD is highly (strong) biofilm-forming (21).

Detection of biofilm by Congo Red Agar (CRA) method

The Congo Red Agar method was used for detecting the ability of isolate to produce slime. The CRA medium was prepared with 37 g/L BHI broth, 50 g/L sucrose, 10 g/L agar, and 0.8 g/L Congo Red. The Congo Red stain was prepared as a concentrated aqueous solution and autoclaved at 121°C for 15 min separately from other medium constituents, and was then added when the agar had cooled to 55°C. The plates were inoculated with bacterial isolate and incubated at 37°C for 24 hours. A positive result was indicated by black colonies while non-producing strains developed red colonies (22). For the evaluation of colonies colors, a

four-color reference scale was used according to Satorres and Alcaráz (23). Black and almost black burgundy were classified as biofilm producers, while burgundy and red as non-biofilm producing strains. This test was performed in triplicate

Hydrophobicity assays

The hydrophobicity of the bacterial wall was evaluated with the MATH protocol (24) using hexadecane as a solvent. The bacteria strains were first grown in 50 mL of Luria Bertani (LB) and incubated for 18 hours at 37°C. The cells were recuperated by centrifugation at 5000 rpm for 15 min. The pellet obtained was then washed after two successive centrifugations with PBS (Phosphate Buffered Saline pH 7.1) and suspended in the same buffer at an initial optical density (OD_i) between 0.8 and 1 at 600nm. A volume of 0.3ml of each solvent was added to 1.8ml of bacterial suspension and the mixture was vortexed for 2 min. After a 20 min settling, the optical density (OD_f) of the aqueous phase was measured at 600nm and the percentage of adhesion to solvent was then calculated using the following equation; CSH % = [(OD_i - OD_f) / OD_i] × 100 (25). A CSH of 0-20% is defined as weak, 21-50% as moderate and > 40% as strong hydrophobicity.

Results:

From December 2012 to August 2014, a total of 315 implantable cardiac devices (ICDs) were implanted by the cardiology units of the four hospitals, out of which ICD was removed in 17 patients, all of whom developed infection on the ICDs, giving an infection rate of 5.4%. All 17 patients underwent only one surgical procedure except for one patient who had two surgical procedures within three months due to repeated infections of his ICD. The age range of the patients was 60 to 75 years; 13 (76.4%) were male and 5 (29.4%) were diabetic.

All the patients were on antibiotic therapy on the day of cardiac device insertion. Four independent predictive factors of ICD infection identified were; re-intervention, long procedure, multi-morbidity, and ICD implantation procedure. Six patients (35.3%) had early infection of ICD while 11 patients (64.7%) had late infection. There were 9 patients with associated primary ICD implantation infections while there were 8 with change of pocket ICD infection (Table 1).

Table 1: Distribution of bacteria strains according to the implantable cardiac device (ICD)

Pacemaker	Isolated strains		Hospital	Gender (M/F)	Duration of the intervention	Primo or change of pocket (P/C)	Endocarditis
	Pocket	Lead					
P1	Negative	S1: <i>Moraxella</i> S'1: <i>Staphylococcus xylosum</i>	CHU Tlemcen	F	50min	P	
P2	P'2: <i>Staphylococcus xylosum</i>	Negative	CHU Tlemcen	M	1h 20 min	C	
P3 (DAI)	P3: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	S3: <i>Enterobacter cloacae</i> S3p: <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	EH Ain Temouchent	M	7h	P	
P4	P'4: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	S'4: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	EH Ain Temouchent	M	4hs	P	
P5	P'5: <i>Staphylococcus sciuri</i>	S5: <i>Proteus penneri</i>	CHU Tlemcen	M	1H30 min	P	
P6	P6: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> P'6: <i>Staphylococcus sciuri</i>	S6: <i>Vibrio fluvialis</i> S'6: <i>Staphylococcus capitis</i>	CHU Tlemcen	F	1h 10 min	C	Positive
P7	P'7: <i>Staphylococcus sciuri</i>	S'7: <i>Staphylococcus sciuri</i>	CHU Tlemcen	M	25 min	C	
	P8: <i>Vibrio fluvialis</i>	S8: <i>Vibrio vulgaris</i>	CHU Tlemcen	M	1h 15 min	P	
P8	P'8: <i>Staphylococcus sciuri</i>	S'8: <i>Staphylococcus epidermidis</i>					
P9	P9: <i>Pseudomonas horzyhihabitans</i> P'9: <i>Staphylococcus simulans</i>	S9: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> S'9: <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	EH Ain Temouchent	M	20 min	P	
	P10: <i>Proteus penneri</i>	S10: <i>Proteus penneri</i>	CHU Tlemcen	F	1h 10 min	C	
P10	P'10: <i>Chryso bacterium indolegenes</i> P'10: <i>Staphylococcus hominis</i>	S'10: <i>Staphylococcus warneri</i>					
P11	P11 : <i>Pasteurella pneumotropica</i> P'11: <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	S11: <i>Ochrabactrum antropi</i> S'11: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	CHU Tlemcen	M	1h 15min	C	
P12	P12: <i>Ewingella americana</i> P'12: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	S12: <i>Ewingella americana</i> S'12: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	CHU Tlemcen	M	1h	P	
P13	P13: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> P'13: <i>Staphylococcus hominis</i>	S13: <i>Vibrio fluvialis</i>	CHU Tlemcen	M	20 min	C	Positive
P14	P14: <i>Photobacterium damsela</i>	S14: <i>Photobacterium damsela</i>	CHU Tlemcen	M	25min	C	
P15	P15: <i>Serratia liquefaciens</i>	S15: <i>Enterobacter aerogenes</i> S'15: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Kara Clinic	M	1h	C	Positive
P16	P16: <i>Serratia plymuthica</i> P'16: <i>Pasteurella pneumotropica</i> P'16: <i>Staphylococcus hominis</i>	S16: <i>Photobacterium damsela</i> S'16: <i>Staphylococcus hominis</i>	CHU Tlemcen	F	55min	P	Positive
P17	P17: <i>Photobacterium damsela</i> P'17: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	S17: <i>Moraxella</i> S'17: <i>Staphylococcus epidermidis</i>	CHU Tlemcen	H	1h 15min	P	

CHU: University Hospital Centre

EH: Hospital / Health Institution

Kara clinic: Private Clinic

All 17 ICDs (pockets and leads) were positive for bacteria on culture plates, and 54 bacteria (26 Gram positives and 26 Gram-negatives) were isolated and identified, with the most frequent being coagulase-negative staphylococci (CoNS) representing 46.3% (25

/54) of the total isolates (Table 2 and 3). A total of 27 bacterial isolates were recovered from the ICD pockets and 27 from the ICD leads. The most frequently isolated enteric bacteria were *Pseudomonas* spp, *Klebsiella* spp, *Proteus* spp., *Serratia* spp, and *Entero-*

bacter spp identified in 9 ICDs comprising 29 out of the 54 (53.7%) strains.

Other infrequently isolated bacteria from some ICDs included *Ochrabactrum antropi*, *Ewingella americana*, and *Photobacterium damselae* which were not associated with infectious endocarditis in the patients. Polymicrobial infection was recorded in 15 of the 17 patients (88.2%) with varying

combinations of *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus sciuri*, *Vibrio fluvialis* and *Staphylococcus capitis* while the infection was monomicrobial in a patient (P₄) where the ICD pocket and the lead were colonized by the same *Staphylococcus epidermidis* strain and another patient (P₂) where only the pocket was colonized by *Staphylococcus xylosum* (Table 1).

Table 2: Distribution of Gram-negative bacteria strains according to the implantable cardiac device (ICD)

Strains	Production of slime	Tissue culture plate	MATH	Antibiotype
S1 <i>Moraxella</i>	Non- Producer	Strong		na ^R amp ^R , amc ^R cro ^R ctx ^R kf ^R
P3 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Non- Producer	Strong	Strong	caz ^R ctx ^R , tcc ^R cn ^I
S3 <i>Enterobacter cloacae</i>	Producer	Strong	Strong	cn ^R c ^R ak ^I ffi ^R cro ^R te ^R amc ^R tob ^R fa ^R ctx ^R amp ^R
S3p <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Producer	Strong	Strong	tob ^I na ^R cn ^R te ^R amc ^R cro ^R kf ^R amp ^R ctx ^R caz ^R
S5 <i>Proteus penneri</i>	Producer	Strong		amc ^R amp ^R kf ^R ipm ^R ctx ^R cro ^R ofx ^R cip ^R na ^R cn ^R tob ^R te ^R
P6 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Producer	Strong	Weak	tob ^R ak ^I na ^R cn ^R te ^R amc ^R cro ^R kf ^R amp ^R ctx ^R caz ^R
S6 <i>Vibrio fluvialis</i>	Producer	Strong		na ^R te ^I amc ^R cro ^I kf ^R amp ^R ctx ^R
P8 <i>Vibrio fluvialis</i>	Producer	Strong		na ^R amc ^R kf ^R amp ^R ctx ^R
S8 <i>Vibrio vulgaris</i>	Producer	Strong		ak ^R na ^R cn ^R te ^R amc ^R cro ^R kf ^R amp ^R ctx ^R caz ^R
P9 <i>Pseudomonas horyzihabitans</i>	Producer	Strong	Weak	tob ^R ak ^R na ^R cn ^R te ^R amc ^R cro ^R kf ^R amp ^R ctx ^R
S9 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Producer	Strong	Moderate	cip ^I ofx ^R tob ^R ak ^R na ^R cn ^R te ^R amc ^R cro ^R kf ^R amp ^R ctx ^R
P10 <i>Proteus penneri</i>	Producer	Strong		cip ^R ofx ^R na ^R ctx ^I
P ¹⁰ <i>Chryso bacterium indolegenes</i>	Producer	Strong		cip ^R ofx ^R tob ^I na ^R cn ^I te ^R amc ^I kf ^R ctx ^R
S10 <i>Proteus penneri</i>	Producer	Strong		na ^I amc ^R cro ^R kf ^R amp ^R ctx ^R
P11 <i>Pasteurella pneumotropica</i>	Producer	Strong		na ^R amc ^R kf ^R amp ^R ctx ^R cro ^R
S11 <i>Ochrabactrum antropi</i>	Producer	Strong	Weak	na ^R amc ^R kf ^R amp ^R ctx ^R ipm ^R
P12 <i>Ewingella americana</i>	Producer	Strong	Strong	ctx ^R cro ^R amp ^R fa ^I amc ^R tob ^R
S12 <i>Ewingella Americana</i>	Producer	Strong	Strong	ctx ^R cro ^R amp ^R fa ^I amc ^R tob ^R
P13 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Producer	Strong	Strong	ctx ^R cro ^R amp ^R c ^R fa ^R caz ^R ffi ^R te ^R amc ^R tob ^I
S13 <i>Vibrio fluvialis</i>	Non- Producer	Strong		ctx ^R cro ^R amp ^R fa ^I cip ^I ffi ^R ofx ^I te ^R amc ^R tob ^R ipm ^R
P14 <i>Photobacterium damselae</i>	Producer	Strong	Weak	ctx ^R cro ^R amp ^R te ^R amc ^R
S14 <i>Photobacterium damselae</i>	Producer	Strong	Weak	ctx ^R cro ^R amp ^R te ^R amc ^R
P15 <i>Serratia liquefaciens</i>	Producer	Strong	Strong	ctx ^R cro ^R amp ^R fa ^R ffi ^R te ^R amc ^R tob ^R
S15 <i>Enterobacter aerogenes</i>	Producer	Strong	Strong	ctx ^R cro ^R amp ^R cn ^R kf ^R te ^R amc ^R tob ^R caz ^R
P16 <i>Serratia plymuthyca</i>	Non- Producer	Strong	Strong	amc ^I cro ^R kf ^R amp ^R ctx ^R
S16 <i>Photobacterium damselae</i>	Producer	Strong	Weak	cn ^I tob ^I amc ^R cro ^R amp ^R ctx ^R
P17 <i>Photobacterium damselae</i>	Producer	Strong	Weak	tob ^I cro ^I
S17 <i>Moraxella</i>	Non- Producer	Strong	Strong	ctx ^R cro ^R amp ^R te ^I amc ^R
P ¹⁶ <i>Pasteurella pneumotropica</i>	Non- Producer	Weak		cn ^I tob ^I amc ^R cro ^R kf ^R amp ^R ctx ^R

na=nalidixic acid; amp=ampicillin; amc=amoxicillin; cro=ceftriaxone; ctx=cefotaxime; caz=ceftazidime; te=tetracycline; tob=tobramycin; fa=fusidic acid; ffi=fosfomycin; ipm=imipenem; cip=ciprofloxacin; ofx=ofloxacin; cn=chloramphenicol

Table 3: Distribution of Gram-positive bacteria strains according to the implantable cardiac device (ICD)

Strains	Production of slime	Tissue culture plate	Math	Antibiotype
P'2 <i>Staphylococcus xylosus</i>	Non- Producer	Strong		na ^l k ^R va ^l
P'9 <i>Staphylococcus simulans</i>	Producer	Strong	Strong	na ^R va ^l te ^R
P'10 <i>Chrysobacterium indolegenes</i>	Producer	Strong		cip ^R ofx ^R tob ^l na ^R cn ^l te ^R amc ^l kf ^R ctx ^R
S'1 <i>Staphylococcus xylosus</i>	Producer	Moderate	Weak	na ^l k ^R va ^l
P'4 <i>Staphylococcus épidermidis</i>	Non- Producer	Moderate	Strong	ox ^R tob ^R cn ^R va ^l ox ^R
S'4 <i>Staphylococcus épidermidis</i>	Non- Producer	Moderate		ox ^R ra ^S tob ^R cn ^R va ^l ox ^R
P'5 <i>Staphylococcus sciuri</i>	Producer	Moderate	Strong; Hydrophobe	na ^R amc ^R cro ^l amp ^R ctx ^R kf ^R va ^l
S'6 <i>Staphylococcus capitis</i>	Producer	Moderate	Moderate	na ^R amc ^R cro ^l amp ^R ctx ^R kf ^R va ^l
P'7 <i>Staphylococcus sciuri</i>	Producer	Moderate	Weak	na ^l c ^l va ^l te ^R
S'7 <i>Staphylococcus sciuri</i>	Producer	Moderate	Weak	na ^l c ^l va ^l te ^R
S'8 <i>Staphylococcus épidermidis</i>	Producer	Moderate	Weak	ox ^l na ^R c ^R va ^l te ^R tob ^l
P'10 <i>Staphylococcus hominis</i>	Producer	Moderate	Strong; Hydrophobe	cro ^l kf ^l ctx ^R
S'10 <i>Staphylococcus warneri</i>	Producer	Moderate	Weak	na ^l amc ^R cro ^l kf ^R amp ^R ctx ^R ff ^l
P'11 <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	Producer	Moderate	Weak	na ^l kf ^l amp ^l ctx ^R
S'11 <i>Staphylococcus épidermidis</i>	Producer	Moderate	Strong	na ^l amc ^R cro ^R kf ^R amp ^R ctx ^R
P'12 <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Producer	Moderate	Weak	ox ^R na ^R n ^l va ^l te ^R tob ^R
P'13 <i>Staphylococcus hominis</i>	Non- Producer	Moderate	Weak	va ^l te ^R
S'15 <i>Staphylococcus épidermidis</i>	Producer	Moderate	Weak	ox ^R na ^S pnv ^R n ^S c ^S k ^S cip ^S pef ^S va ^l te ^R ra ^R tob ^R
P'16 <i>Staphylococcus hominis</i>	Producer	Moderate	Weak	na ^l va ^l
S'16 <i>Staphylococcus hominis</i>	Producer	Moderate		ox ^l na ^R n ^l va ^l te ^R
P'17 <i>Staphylococcus warneri</i>	Producer	Moderate	Strong	na ^l va ^l
P'6 <i>Staphylococcus sciuri</i>	Producer	Weak	Weak	na ^R va ^l
P'8 <i>Staphylococcus sciuri</i>	Producer	Weak	Weak	tob ^l ak ^l na ^R cn ^R te ^R amc ^R cro ^R kf ^R amp ^R ctx ^R
S'9 <i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Producer	Weak	Strong; Hydrophobe	na ^R amc ^R cro ^R kf ^R amp ^R ctx ^R
S'12 <i>Staphylococcus chromogenes</i>	Producer	Weak	Weak	na ^l k ^R va ^l te ^l tob ^R
S'17 <i>Staphylococcus épidermidis</i>	Producer	Weak	Weak	na ^l k ^R va ^l tob ^R

na=nalidixic acid; tob=tobramycin; va=vancomycin; cn=chloramphenicol; te=tetracycline; cro=ceftriaxone; ctx=cefotaxime; amp=ampicillin; amc=amoxicillin; ox=oxacillin; ff=fosfomycin; cip=ciprofloxacin; pnv=pristinamycin; pef=pefloxacin

This study of antibiotic susceptibility of the isolated strains in the four hospital centers showed resistance at a significant level against several antibiotics (Fig 1 and Fig 2). Fig 1 is a histogram illustrating the resistant pattern of the Gram-negative bacterial isolates showing high resistance rate (>90%)

to amoxicillin, clavulanic acid, cefotaxime, and gentamycin, with 3 isolates resistant to imipenem. None of the staphylococcal strains was resistant to vancomycin. Fig 2 is a histogram illustrating the resistance pattern of the Gram-positive isolates.

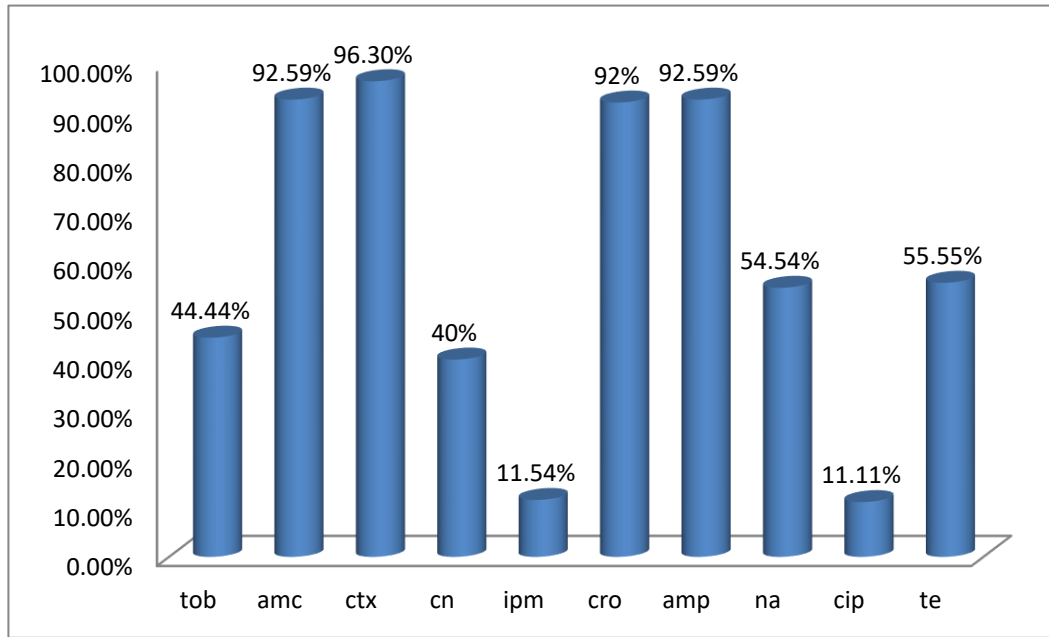


Fig 1: (Histogram A₁): Resistance rate of Gram-negative bacteria isolates

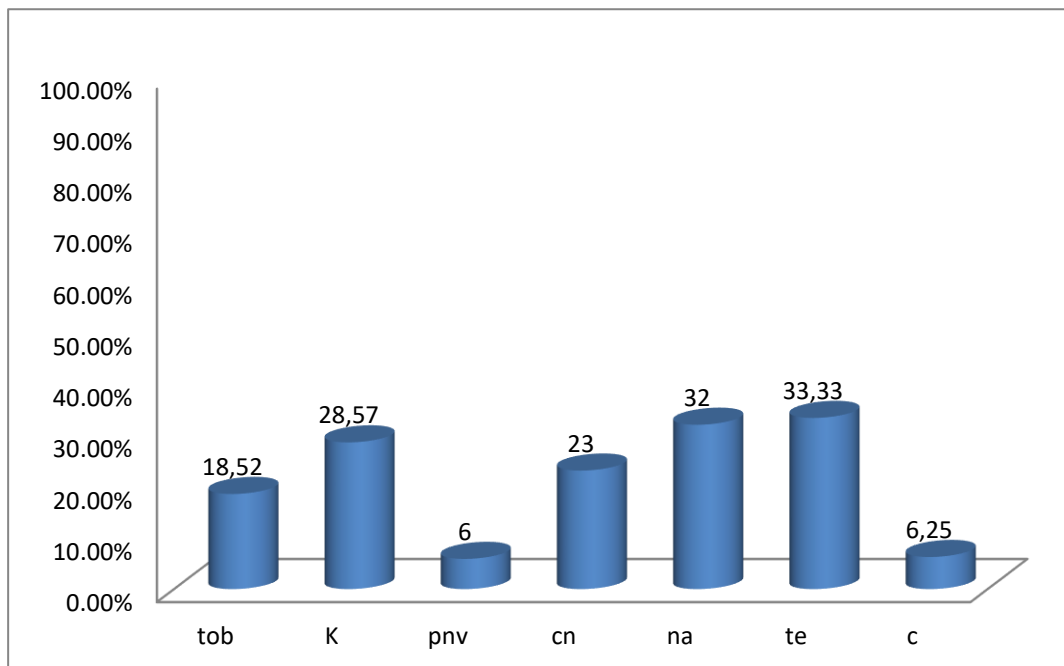
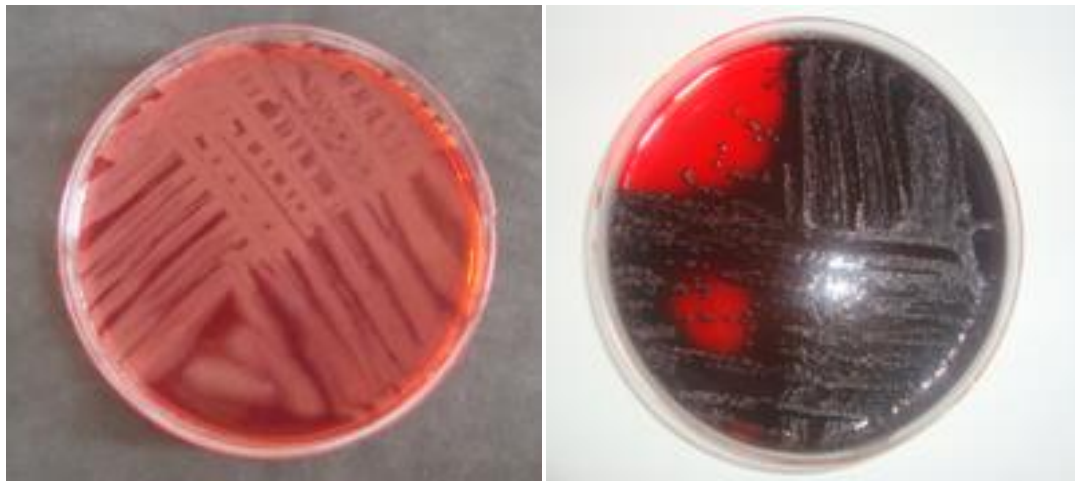


Fig 2: (Histogram A₂): Resistance rate of Gram-positive bacteria isolates



A

B

Fig 5: Slime production in the strains isolated on Congo red medium
A: slime generating, B: non-slime generating

Results of biofilm detection

The results of the biofilm production by the bacterial isolates with the qualitative CRA and the quantitative TCP methods are presented in Table 2. Out of the 54 bacteria isolates, 44 (81.5%) were slime producers by the CRA method and 24 of them were strong (very good) biofilm producers using the TCP method, with OD 570 > 0.240. The TCP method detected biofilms in 48 (88.9%) of 54 isolates with different intensities; 30 (55%) isolates were strong producers, 18 (33.3%) isolates were moderate, 6 (11.1%) isolates were low biofilm producers, while 10 (18.5%) were non-producers of biofilms. Thirty-seven (68.5%) of the 54 isolates were positive by both TCP and RCA methods. Fig 3 is a photograph of CRA plate showing slime prod-

uction by a positive isolate (A) and non-slime production by a negative isolate (B).

Result of hydrophobicity

The results of the microbial adhesion to the solvent (hydrophobicity) are summarized in Figs 4 and 5. A total of 14 Gram positive and 7 Gram negative bacteria isolates had affinity to hexadecane (apolar solvent) suggesting a weak hydrophilic character. On the other hand, 17 (41.5%) isolates were relatively hydrophobic between 1% and 96%, and 2 (5%) strains were moderately hydrophobic. Fig 4 is a histogram of the cell surface hydrophobicity of the Gram-negative bacteria isolates and Fig 5 is a histogram of the cell surface hydrophobicity of Gram-positive bacteria isolates.

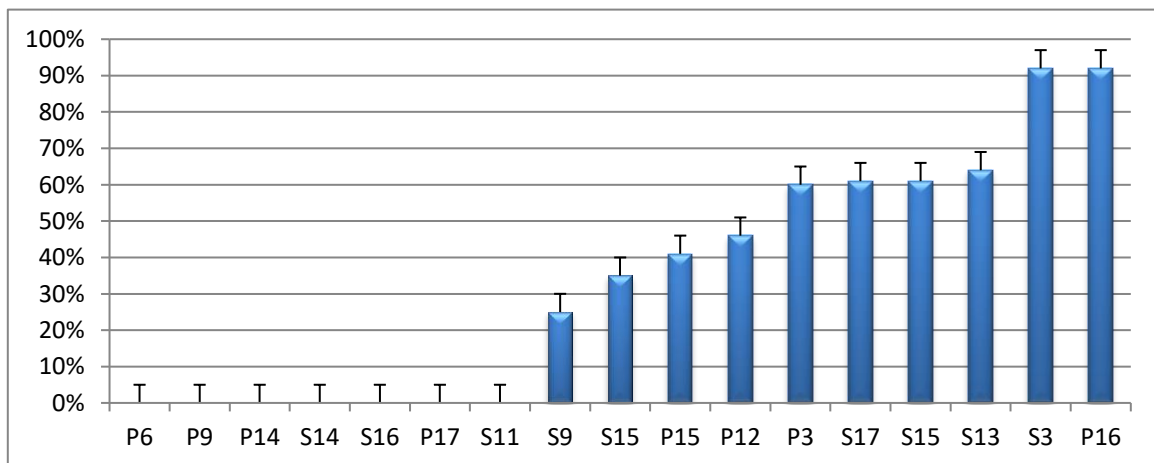
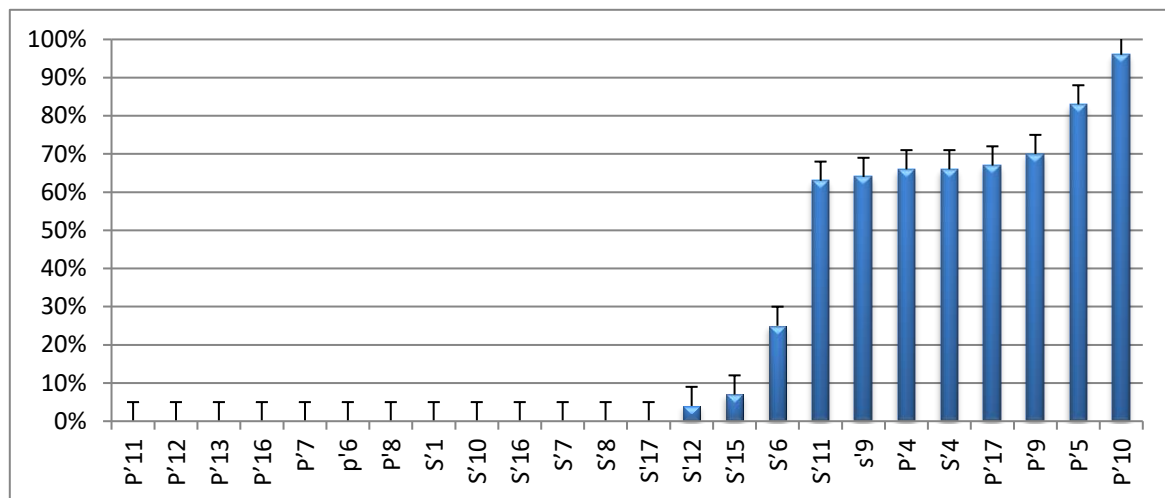


Fig 3: (Histogram B₁): Cell surface hydrophobicity of Gram-negative bacteria isolatesFig 4: (Histogram B₂): Cell surface hydrophobicity of Gram-positive bacteria isolates

Discussion:

ICDs have become increasingly of great importance in the management of heart disease in many countries around the world with a great impact on the quality of life of patients (10). The advances in the development of permanent pacemakers and the technologies of implantable cardiac defibrillators have helped this process. Nevertheless, with the increase in ICD implantations, infections on these devices have correspondingly increased. To the best of our knowledge, this is the first and only study on the microbiological characteristics of ICD infections in Algeria. Although our data reflect the epidemiology of ICD infections in the region, they could be of great interest and provide useful information for ICD infections management in other regions.

In recent decades, the rate of these ICD infections has increased worldwide from 0.13% to 19.9% with an average rate of 10% (15,26). The overall incidence of infection on ICD implantable cardiac devices is estimated at 1.9 per thousand per year (27). According to an estimate by Camus et al., there are more than three million patients on pacemaker (PM) worldwide and 180,000 carriers of implantable defibrillator (ID) (28). Among the complications occurring after the implantation of an ICD, infection is certainly the most serious (29). In this retrospective study of 21 months, of a total of 315 ICD implantations in 4 hospitals, 17 patients presented with infection of their ICDs, giving an incidence rate of 5.4%. All the infections were diagnosed and confirmed by specialist cardiologists with clinical presentations that

included erythema, heat, redness with or without purulent drainage, sepsis and infectious endocarditis. This rate is quite high when compared to other studies such as the French study by Klug and his team (30) in 2000 where the incidence of infectious complications was only 0.68%. In 2010, Baddour et al., (31) and Voigt et al., (32) estimated the incidence to be between 0.13% and 20%, which was related to the increase in the implantation rate of ICDs in the world in general. Of the 17 infected patients, 16 had infection of their pacemakers (PM), giving an incidence rate of 5.1% in the study. In the literature, the incidence of pacemaker infections is known to vary between 0.13% and 19.9% occurring mostly at the site of implantation of the generator, and in 10% of cases, it is the cause of infectious endocarditis (33). Only one patient had an infection after defibrillator implantation (DI) representing an incidence of 0.3%, which is known to vary between 0.7% and 1.2% (34).

The infection of an ICD pocket is a rare but much feared early complication, which is defined as an infection occurring within the six months following the procedures (35) and often accompanied by fever and local signs that require urgent antibiotic therapy and immediate removal of the device (36). In our study, 6 of the 17 (35.3%) infected patients had early infection of ICD. According to the study by Ben Abid et al., (37), 25% of ICD infections are early and 42% are late, with no significant difference reported with respect to the type of infectious organisms. Nine of the 17 (52.9%) infected patients had an outward displacement of the pocket, a rate that is considerably higher

compared to the study of Klug et al., (38) where 29.5% of the patients presented with an outward displacement of the pocket in a study of 105 patients.

There are various factors predisposing to ICD infection that have been reported including advanced age, diabetes, cancer and immunosuppression, anticoagulation, presence of a temporary stimulation lead, duration of intervention, and the surgeon's experience (39). Indeed, diabetes mellitus and age are predisposing factors in most of our patients. The highest rate of infection was observed in the age group 60 to 75 years who were mainly male patients among whom 29.4% were diabetic. A total of 15 patients had positive cultures on the lead and the pocket of their ICDs, 8 of whom were infected by the same bacterium. Victor et al., (40) reported that the infection of the lead is associated with that of the pocket in every two cases. This infection can occur in isolation and in one fourth of cases a few weeks after implantation (40). The culture of the removed devices allows the possibility of an etiological diagnosis of ICD infection in the vast majority of cases. This means that microbiological analysis is mandatory in the case of suspicion of an ICD infection.

A total of 54 bacteria were isolated and identified from the ICDs; 46.3% Gram positive bacteria were isolated, which were mostly CoNS with predominance of *S. epidermidis*. These findings closely agree with those reported by Gill et al., (41) who estimated that about 41.2% of ICD infections were caused by CoNS. The dominant role of staphylococci is consistent with what has been previously reported where staphylococcal species accounted for 60 to 80% of the cases in most of the reported studies (36,42,44-44). In several studies, *S. epidermidis* was the most frequently isolated CoNS species and constitutes a significant part of the normal bacterial flora of human skin and mucous membranes from where it is easily introduced as a contaminant during surgical implantation of the polymer device (45).

Gram-negative bacteria constituted 53.7% of the isolated bacteria, with high frequency of enteric bacteria such as *Proteus* spp, *Serratia* spp, *Enterobacter* spp and *Pseudomonas* spp. These bacteria which are involved contamination and care-related infections were recovered twice in the space of a few weeks in two different hospitals. This implies either contamination or poor technique during the surgical procedure. We noted the exceptional recovery of three uncommon bacteria species; *Ewingella ameri-*

cana, *Ochrabactrum antropi*, and *Photobacterium damsela* from the ICDs in our study, which have been reported only by a few authors such as Pien et al., (46), Mahmood et al., (47), and Austin et al., (48). Nevertheless, the important causative microorganisms of ICD infections are CoNS followed by Gram-negative bacilli, fungi, non-tuberculous mycobacteria and *Bulkholderia cepacia*. The bacterial complex is a rare cause of ICD infection with only a few cases of ICD pocket infection reported in the literature (41,49,50-51). ICD infections are mainly caused by the contamination of the local bacterial flora during implantation. Skin micro-organisms migrate from the insertion site along surface of the lead, colonize the intravascular distal portion, and finally infect the blood (52).

Nearly all of the isolated Gram-negative bacteria in this study were resistant to ampicillin, amoxicillin, cefotaxime, and ceftriaxone. Although imipenem was highly active on the tested strains, three isolates were resistant to this antibiotic. These strains were also resistant to quinolones with rates ranging from 11.1% for ciprofloxacin to 54.5% for nalidixic acid. Resistance rates of isolates to tetracycline and tobramycin were 55.5% and 44.4% respectively. Unlike Gram-negative bacteria, CoNS isolates displayed a higher level of sensitivity but with some were resistant to nalidixic acid and tetracycline. According to 2008 Camus study (28), majority of staphylococci are multi-sensitive with especial sensitivity to aminoglycosides, but the isolates in our study were resistant to kanamycin (28.5%) and tobramycin (18.5%).

The development and persistence of bacterial infections are often associated with the foreign equipment and materials used in the devices and the ability of these bacteria to adhere to them. The bacterial strains implanted on the surface of a device are inserted and protected by a dense polysaccharide extracellular matrix and are more resistant to antibiotics, constituting the biofilm that can be detected by quantitative and qualitative techniques (1). Adherence and persistence of CoNS infection are often associated with foreign materials. Adhesion is primarily related to non-specific physico-chemical forces, and then to specific interaction of the bacterial surface adhesins (not directly with the device) with host proteins coating the device (53). CoNS may adhere directly to the device plastic polymers via fimbria-like surface protein structures or via a capsular polysaccharidic adhesion (54). Bacteria may also adhere to host matrix proteins such as fibrinogen, fibronectin, and

collagen that coat the surface of an implanted device (55). The layers of bacteria on the surface of an implanted device are encased in an extracellular slime made of a polysaccharide intercellular adhesion and constitute the biofilm (56,57). Microbes in a biofilm are protected by this dense extracellular matrix and are more resistant to antibiotics and host defenses. Biofilm forming bacteria are therefore a public health challenge for those requiring indwelling medical devices (56).

In our study, the presence of infection was influenced by the ability of 48 out of 54 strains to form a biofilm, whatever the support (pocket and leads), and thus representing a significant risk factor. The TCP technique, which is the most widely used method, is considered the 'gold standard' test for sensitive, accurate and reproducible screening method for the detection of biofilm production in clinical isolates (58). The adherence capacity of clinical isolates to host cells depends on bacterial surface properties such as hydrophobicity. In a recent study, it was reported that there is a significant difference in cell surface load between group B streptococci treated with antibiotics and those untreated (59). The determination of the acid-base properties (acceptor electron, donor electron) may be of great importance in many research areas of phagocytosis and microbial adhesion (60).

Our data indicated that affinity to hexadecane (apolar solvent) suggests low hydrophilicity for the majority of the bacteria isolated from surfaces of hydrophobic medical device. This contradicts several studies which reported that hydrophobic cells tend to adhere to hydrophobic substrates, while hydrophilic cells tend to adhere to hydrophilic substrates (61,62). It has also been suggested that there is a positive correlation between the degree of bacterial hydrophobicity and adhesion to abiotic surfaces (63). Our finding can be explained by the fact that these bacteria adhere to host proteins such as fibrinogen, fibronectin, and collagen which cover the surface of the implanted device, making it hydrophobic (55). The comparison between the biofilm formation (by RCA and TCP), hydrophobicity and antimicrobial resistance of the 54 bacteria isolates revealed that there is no significant association in terms of isolates but that there is correlation between biofilm formation and resistance to antibiotics, with the strong biofilm producers resistant to more than one antibiotic.

Conclusion:

This study is the first in Algeria to describe microbiological characteristics of ICD infections. CoNS were the most frequent cause of ICD infections in our study but *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia* spp were also significant cause of bacteremia in patients with ICD, with comparable rate to the CoNS. This situation may imply bacteria contamination or poor technique during surgical procedure for implantation of the ICDs.

The bacteria in the biofilm were protected, more resistant and tolerated high concentrations of antibiotics, and thus played a major role in the development of ICD infections. Despite the improvements in ICD design and implantation techniques, ICD infection remains a serious challenge. It is therefore essential that proper infection prevention and control practices be put in place as well as strict indications for antibiotic prophylaxis during implantation of ICDs.

Conflict of interest statement:

No conflict of interest is declared.

Acknowledgements:

The authors acknowledge with special thanks, the medical and paramedical staff of CHU Tlemcen Algeria and Dr Benahmed Khaled, cardiologist of the EH ain Temouchent Algeria, for his collaboration.

References:

1. Bongiorni, M. G., Tascini, C., Tagliaferri, E., et al. Microbiology of cardiac implantable electronic device infections, *Europace*. 2012; 14: 1334 - 1339. doi:10.1093/europace/eus044.
2. Bluhm, G. L. Pacemaker infections. A 2-year follow-up of antibiotic prophylaxis., *Scand J Thorac Cardiovasc Surg*. 1985; 19: 231-235. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4081673>
3. Kearney, R. A., Eisen, H.J., and Wolf, J. E. Nonvalvular infections of the cardiovascular system. *Ann Intern Med*. 1994; 121 (3): 219-230. doi:10.7326/0003-4819-121-3-199408010-00010.
4. Tascini, C., Bongiorni, M. G., Gemignani, G., et al. Management of Cardiac Device Infections: A Retrospective Survey of a Non-Surgical Approach Combining Antibiotic Therapy with Transvenous Removal. *J Chemother*. 2006; 18 (2): 157-163. doi:10.1179/joc.2006.18.2.157.
5. Baddour, L. M., Epstein, A. E., Erickson, C. C., et al. Update on cardiovascular implantable electronic device infections and their management: a scientific statement from the

- American Heart Association, *Circulation*. 2010; 121(3):458-477. doi:10.1161/circulationaha.109.192665.
6. Dababneh, A. S., and Sohail, M. R. Cardiovascular implantable electronic device infection A stepwise approach to diagnosis and management. *Cleveland Clin J Med*. 2011; 78 (8): 529-537. doi:10.3949/ccjm.78a.10169.
 7. Santos, A. P. A., Watanabe, E., and de Andrade, D. Biofilm on artificial pacemaker: fiction or reality?, *Arq Bras Cardiol*. 2011; 97: e113-120. doi:10.1590/S0066-782X2011001400018.
 8. Sohail, M. R., Hussain, S., Le, K. Y., et al. Risk factors associated with early- versus late-onset implantable cardioverter-defibrillator infections., *J Interv Card Electrophysiol*. 2011; 31(2): 171-183. doi:10.1007/s10840-010-9537-x.
 9. Nagpal, A., Baddour, L. M. and Sohail, M. R. Microbiology and pathogenesis of cardiovascular implantable electronic device infections. *Circ Arrhythmia Electrophysiol*. 2012; 5: 433-441. doi:10.1161/CIRCEP.111.962753.
 10. Anselmino, M., Vinci, M. Comoglio, C., et al. Bacteriology of infected extracted pacemaker and ICD leads. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2009;10:693-698. doi:10.2459/JCM.0b013e32832b3585.
 11. Viola, G. M. Awan, L. L., and Darouiche, R.O. Nonstaphylococcal infections of cardiac implantable electronic devices. *Circulation*. 2010;121(19):2085-2091. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.936708.
 12. Agostinho, A., James, G., Wazni, O., Citron, M., and Wilkoff, B. D. Inhibition of *Staphylococcus aureus* biofilms by a novel antibacterial envelope for use with implantable cardiac devices. *Clin Transl Sci*. 2009; 2(3): 193-198.
 13. Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., and Costerton, J. W. Biofilms as Complex Differentiated Communities. *Annu Rev Microbiol*. 2002;56:187-209. doi:10.1146/annurev.micro.56.012302.160705.
 14. Khardori, N., and Yassien, M. Biofilms in device-related infections. *J Ind Microbiol*. 1995; 15: 141-147. doi:10.1007/BF01569817.
 15. Ruttman, E., Hangler, H. B., Kilo, J., et al. Transvenous pacemaker lead removal is safe and effective even in large vegetations: an analysis of 53 cases of pacemaker lead endocarditis. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2006; 29: 231-236. doi:10.1111/j.15408159.2006.00328.x.
 16. Costerton, J. W., Lewandowski, Z., Caldwell, D. E., Korber, D. R., and Lappin-Scott, H. M. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*. 1995;49:711-745. doi:10.1146/annurev.mi.49.100195.003431.
 17. Bonkat, G., Rieken, M., Rentsch, C. A., et al. Improved detection of microbial ureteral stent colonisation by sonication. *World J Urol*. 2011; 29: 133-138. doi:10.1007/s00345-010-0535-5.
 18. Sampedro, M. F. Huddleston, P. M., Piper, K. E., et al. A biofilm approach to detect bacteria on removed spinal implants., *Spine (Phila. Pa. 1976)*.2010;35:1218-1224. doi:10.1097/BRS.0b013e3181c3b2f3.
 19. Kara Terki, I., Hassaine, H. Bellifa, S., et al. Evaluation of biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* isolated from medical devices at the University Hospital of Tlemcen, Algeria. *Afr J Microbiol Res*. 2013; 7: 5558 - 5564. doi:10.5897/AJMR12.2331.
 20. CASFM. 2010; Antibioqram Committee of the French Society of Microbiology.
 21. Christensen, G. D. Simpson, W. A., Younger, J. J., et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol*.1985;22:996-1006. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3905855>.
 22. Terki, I. K., Hassaine, H., and Bellifa, S. Biofilm production and antibiotic susceptibility profiles of staphylococcus strains isolates from urinary catheter at the university hospital center of Tlemcen (Algeria). *IJSRST*. 2015; 1 (6): 77-85.
 23. Satorres, S. E., and Alcaraz, L. E. Prevalence of *icaA* and *icaD* genes in *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from patients and hospital staff. *Centr Eur J Publ Hlth*. 2007; 15 (2): 87-90.
 24. Rosenberg, M. Bacterial adherence to polystyrene: a replica method of screening for bacterial hydrophobicity. *Appl Environ Microbiol*. 1984; 42: 375-377.
 25. Imane, M., Hafida, H., Samia, B., Meriem, L., Ibtissem, K. T., and Ryad, D. Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* isolated from medical devices at the intensive care unit of the University Hospital of Tlemcen (Algeria). *Afr J Microbiol Res*. 2014; 8: 270-276. doi:10.5897/AJMR2013.6288.
 26. Hall-Stoodley, L. Costerton, J. W., and Stoodley, P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*.2004;2:95-108. doi:10.1038/nrmicro821.
 27. Habib, G. Hoen, B. Tornos, P., et al. Guidelines on the prevention, diagnosis, and treatment of infective endocarditis (new version 2009): the Task Force on the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and the International Society of Chemotherapy (ISC) for Infection and Cancer. *Eur Heart J* 2009; 30: 2369-2413. doi:10.1093/eurheartj/ehp285.
 28. Camus, C. Infections graves liées aux stimulateurs cardiaques et défibrillateurs implantables. *Reanimation*. 2008; 17: 225 - 232 doi:10.1016/j.reaurg.2008.01.004.
 29. Touboul, P. Indications du défibrillateur automatique implantable ventriculaire, 2007. <https://sfcardio.fr/sites/default/files/pdf/reco0010.pdf>
 30. D. Klug, D., M. Balde, M., and D. Pavin, D., et al. PEOPLE Study Group, Risk factors related to infections of implanted pacemakers and cardioverter-defibrillators: results of a large prospective study. *Circulation*. 2007; 116: 1349-1355. doi:10.1161/Circulationaha.106.678664.
 31. Baddour, L.M., Epstein, A.E., and Erickson, C.C., et al. A summary of the update on cardiovascular implantable electronic device infections and their management: a scientific statement from the American Heart Association. *J Am Dent Assoc* 2011; 142 (2): 159-165. doi: 10.14219/jada.archive.2011.0058.
 32. Voigt, A., Shalaby, A., and Saba, S. Continued rise in rates of cardiovascular implantable electronic device infections in the United States: temporal trends and causative insights. *Pacing Clin Electrophysiol*. 2010; 33: 414-419. doi:10.1111/j.1540-8159.2009.02569.x.
 33. Conklin, E. F. Giannelli, S., and Nealon, T. F. Four hundred consecutive patients with permanent transvenous pacemakers. *J Thorac Cardiovascular Surg*. 1975; 69: 1-7 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1110570>
 34. Moss, A. J., Daubert, J., and Zareba, W. MADIT-II: clinical implications. *Card Electrophysiol Rev*. 2002;6:463-465. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12438829>
 35. Sandoe, J. A. T., Barlow, G. Chambers, J. B., et al. Guidelines for the diagnosis, prevention and management of implantable cardiac electronic device infection. Report of a joint Working Party project on behalf of the British Society for

- Antimicrobial Chemotherapy (BSAC, host organization), British Heart Rhythm Society (BHRS), British Cardiovascular Society (BCS), British Heart Valve Society (BHVS) and British Society for Echocardiography (BSE). J Antimicrob Chemother. 2015; 70: 325 – 359. doi:10.1093/jac/dku383.
36. del Río, A. Anguera, I., Miró, J. M., et al. Hospital Clínic Endocarditis Study Group, Surgical treatment of pacemaker and defibrillator lead endocarditis: the impact of electrode lead extraction on outcome., Chest. 2003; 124: 1451– 1459. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14555579>
 37. Ben Abid, F., Al-Saoub, H., Howadi, F., AlBishawi, A. and Thapur, M. Delayed Pacemaker Generator Pocket and Lead Primary Infection Due to *Burkholderia cepacia*. Am J Case Rep. 2017;18:855–858. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28769025>
 38. Klug, D., Wallet, F., Lacroix, D., et al. Local symptoms at the site of pacemaker implantation indicate latent systemic infection., Heart. 2004; 90:882–886. doi:10.1136/hrt.2003.010595.
 39. Villamil Cajoto, I., Rodríguez Framil, M., Van den Eynde Collado, A., José Villacián Vicedo, M. and Canedo Romero, C. Permanent transvenous pacemaker infections: an analysis of 59 cases. Eur J Intern Med. 2007; 18:484-488.
 40. Victor, F., De Place, C., Camus, C., et al. Pacemaker lead infection: echocardiographic features, management, and outcome., Heart. 1999;81:82–87. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10220550>
 41. Gill, J. S., Singh, N., and Khanna, S. P. Risk of cardiac pacemaker pocket infection in a tertiary care hospital. Indian J Pathol Microbiol. 2017; 60: 185–188. doi:10.4103/IJPM.IJPM_190_16.
 42. Camus, C., Leport, C., Raffi, F., Michelet, C., Cartier, F., and Vilde, J. L. Sustained bacteremia in 26 patients with a permanent endocardial pacemaker: assessment of wire removal. Clin Infect Dis. 1993; 17: 46 - 55 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8353245>
 43. Sohail, M. R., Uslan, D. Z., Khan, A. H., et al. Management and outcome of permanent pacemaker and implantable cardioverter-defibrillator infections. J Am Coll Cardiol. 2007; 49:1851–1859. doi:10.1016/j.jacc.2007.01.072.
 44. Klug, D., Lacroix, D., Savoye, C., et al. Systemic infection related to endocarditis on pacemaker leads: clinical presentation and management. Circulation. 1997; 95: 2098 – 2107. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9133520>
 45. Otto, M. Staphylococcal biofilms. Curr Top Microbiol Immunol. 2008; 322: 207–228. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18453278>
 46. Pien, F. D., and Bruce, A. E. Nosocomial *Ewingella americana* bacteremia in an intensive care unit. Arch Intern Med. 1986; 146: 111-112 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3942442>
 47. Mahmood, M. S., Sarwari, A. R., Khan, M. A., Sophie, Z., Khan, E., and Sami, S. Infective endocarditis and septic embolization with *Ochrobactrum anthropi*: case report and review of literature. J Infect 2000; 40: 287–290. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10908026>
 48. Austin, B., and Austin, D. A. Bacterial fish pathogens: Disease of farmed and wild fish, sixth edition, 2016. doi:10.1007/978-3-319-32674-0.
 49. S.T. Chacko, S. T., S.T. Chandy, S. T., O.C. Abraham, O. C., et al. Pacemaker endocarditis caused by *Pseudomonas aeruginosa* treated successfully. J Assoc Physicians India. 2003; 51: 1021–1022. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14719599>
 50. Maskarinec, S. A., Thaden, J. T., Cyr, D. D., Ruffin, F., M. Souli, M., and Fowler, V.G. The Risk of Cardiac Device-Related Infection in Bacteremic Patients Is Species Specific: Results of a 12-Year Prospective Cohort. Open Forum Infect Dis. 2017; 4: 132 doi:10.1093/ofid/ofx132 .
 51. Oliva, A., Nguyen, B. L., Mascellino, M. T., et al. Sonication of explanted cardiac implants improves microbial detection in cardiac device infections. J Clin Microbiol. 2013;51(2):496-502 doi:10.1128/JCM.02230-12.
 52. Da Costa, A., Kirkorian, G., Isaaz, K., and Touboul, P. [Secondary infections after pacemaker implantation]., La Rev Med Interne. 2000;21:256–265. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10763187>
 53. Mack, D., Rohde, H., Harris, L. G., Davies, A. P., Horstkotte, M. A., and Knobloch, J. K. Biofilm formation in medical device-related infection. Int J Artif Organs. 2006; 29 (4): 343–359.
 54. Veenstra, G. J., Cremers, F. F., van Dijk, H., and Fleer, A. Ultrastructural organization and regulation of a biomaterial adhesin of *Staphylococcus epidermidis*. J Bacteriol. 1996;178:537–541. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8550477>
 55. Vijaranakul, U., Nadakavukaren, M. J., Bayles, D. O., Wilkinson, B. J., and Jayaswal, R. K. Characterization of a NaCl-sensitive *Staphylococcus aureus* mutant and rescue of the NaCl-sensitive phenotype by glycine betaine but not by other compatible solutes. Appl Environ Microbiol. 1997;63:1889–1897. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9143120>
 56. Vuong, C., and Otto, M. *Staphylococcus epidermidis* infections. Microbes Infect. 2002; 4: 481–489. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11932199>
 57. Heilmann, C., Schweitzer, O., Gerke, C., Vanittanakom, N., Mack, D., and Götz, F. Molecular basis of intercellular adhesion in the biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. Mol Microbiol. 1996;20(5):1083–1091. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8809760>
 58. Oli, M. W., Otoo, H. N., Crowley, P. J., et al. Functional amyloid formation by *Streptococcus mutans*, Microbiol. (United Kingdom). 2012; 158: 2903–2916. doi:10.1099/mic.0.060855-0.
 59. Araújo, A. M. M., de Oliveira, I. C. M., de Mattos, M. C., and Benchetrit, L. C. Cell surface hydrophobicity and adherence of a strain of group B streptococci during the post-antibiotic effect of penicillin. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2008;50(4):203–207. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18813757>
 60. Hamadi, F., and Latrache, H. Comparison of contact angle measurement and microbial adhesion to solvents for assaying electron donor-electron acceptor (acid-base) properties of bacterial surface. Colloids Surf B Biointerfaces. 2008;65:134–139. doi:10.1016/j.colsurfb.2008.03.010.
 61. de M. Costa, G. F., Tognim, M. C. B., Cardoso, C. L., Carrara-Marrone, F. E., and Garcia, L. B. Preliminary evaluation of adherence on abiotic and cellular surfaces of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from catheter tips. Braz J Infect Dis. 2006; 10: 346 – 351. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17293924>
 62. Djeribi, R., Boucherit, Z., Bouchloukh, W., et al. A study of pH effects on the bacterial surface physicochemical properties of *Acinetobacter baumannii*. Colloids Surf B. Biointerfaces. 2013; 102:540–545. doi:10.1016/j.colsurfb.2012.08.047.
 63. Pour, N. K. Dusane, D. H., Dhakephalkar, P. K., Zamin, F. R., Zinjarde, S. S., and Chopade, B. A. Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* strains isolated from urinary tract infection and urinary catheters. FEMS Immunol Med Microbiol. 2011;62: 328–338.

المخلص

يمكن أن يؤدي استخدام أجهزة القلب المزروعة إلى خطر الإصابة بالعدوى مما يؤدي إلى تكوين غشاء حيوي على هذا النوع من الأجهزة. الدراسة التي أجريت في أربعة (04) مستشفيات في غرب الجزائر ، كشفت أن 5.4% من المرضى مصابون بعدوى بكتيرية في أجهزة القلب المزروعة الذي يشكل خطرا في مستشفياتنا. أكدت نتائجنا الحساسية العالية للصوتنة في تشخيص عدوى: تم عزل أربع وخمسين (54) سلالة واختبارها لقدرتها على تكوين غشاء حيوي ، معظمها من المكورات العنقودية السلبية المخثرة. تم البحث أيضا عن العوامل التي يمكن أن تؤثر على هذه العملية مثل: مقاومة الجدار البكتيري للماء ، ودرجة الحرارة ، ووجود الجلوكوز والتغير في درجة الحموضة في وسط المزرعة، ومدة الزرع وطبيعة الجهاز الطبي. .. السلالات لديها القدرة على تكوين غشاء حيوي، ولكن هذه العملية مهمة عند 37 درجة مئوية والحد الأقصى في 24 ساعة من الحضانة. زاد تكوين البيوفيلم في وجود الجلوكوز وانخفض عند درجة الحموضة 5.5 ودرجة الحموضة 7.2. يبدو أن السلالات تلتصق بشكل أفضل بالمسبار (السيليكون) والوصلة (السيليكون) أكثر من العلبة (النيوتانيوم) ولم يتم الكشف عن أي علاقة واضحة بين مقاومة الماء وتكوين الأغشية الحيوية.

الكلمات المفتاحية: جهاز القلب القابل للزرع ، الالتهابات ، البكتيريا ، المكورات العنقودية البشروية ، الغشاء الحيوي الرقيق ، السطح.

Résumé

L'utilisation des Dispositifs Cardiaques Implantables (DCI) peut entraîner un risque d'infection se traduisant par la formation d'un biofilm sur ce genre de dispositifs. L'étude, effectuée dans quatre (04) hôpitaux de l'ouest algérien, a décelé que 5,4 % des patients présentent une infection bactérienne sur DCI ; ce qui classe nos hôpitaux à grand risque. Nos résultats ont confirmé la haute sensibilité de la sonication dans le diagnostic des infections sur DCI : cinquante-quatre (54) souches ont été isolées et testées pour leur capacité à former un biofilm dont la majorité sont des staphylocoques à coagulase négative. Les facteurs qui peuvent influencer ce processus tels que: l'hydrophobicité de la paroi bactérienne, la température, la présence du glucose et le changement du pH du milieu de culture, la durée d'implantation et la nature du dispositif médical ont été également recherchés.

Les souches isolées ont la capacité de former un biofilm, cependant ce processus est important à 37°C et maximal à 24h d'incubation. La formation de biofilm a augmenté en présence de glucose et a diminué à pH 5,5 et à pH 7,2. Les souches semblent mieux adhérentes à la sonde (silicone) et à la connectine (silicone) qu'au boîtier (titane) et aucune relation apparente n'a été détectée entre hydrophobicité et formation de biofilm.

Mots clés: dispositif cardiaque implantable, infections, bactéries, *Staphylococcus epidermidis*, biofilm, surface.

Abstract

The use of Implantable Cardiac Devices (ICD) can lead to a risk of infection resulting in the formation of a biofilm on this type of device. The study, carried out in four (04) hospitals in western Algeria, revealed that 5.4% of patients have a bacterial infection on DCI; which classifies our hospitals as high risk. Our results confirmed the high sensitivity of sonication in the diagnosis of ICD infections: fifty-four (54) strains were isolated and tested for their ability to form a biofilm, the majority of which are coagulase-negative staphylococci. The factors which can influence this process such as: the hydrophobicity of the bacterial wall, the temperature, the presence of glucose and the change in the pH of the culture medium, the duration of implantation and the nature of the medical device have also been researched. .

The isolated strains have the ability to form a biofilm, however this process is important at 37°C and maximum at 24h of incubation. Biofilm formation increased in the presence of glucose and decreased at pH 5.5 and pH 7.2. The strains seem to adhere better to the probe (silicone) and to the connectin (silicone) than to the case (titanium) and no apparent relationship was detected between hydrophobicity and biofilm formation.

Keywords: Implantable cardiac device, infections, bacteria, *Staphylococcus epidermidis*, biofilm, surface.