



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université de Tlemcen
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de
l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire : Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique

MEMOIRE

Présenté par

MR Bereksi Reguig Abdelillah

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Biochimie

Thème

**Recherche d'altérations mixtes (levures/bactéries) sur dispositifs
médicaux au service de réanimation du CHU de Tlemcen**

Soutenu le, 30 Juin 2020, devant le jury composé de :

Présidente	Kazi Tani Zahira Zakia	MCA	Université de Tlemcen
Encadreur	Boucherit-Otmani Zahia	Professeur	Université de Tlemcen
Examineur	Seghir Abdelfettah	MCA	C.U. d'Ain Témouchent

Année universitaire 2019/2020

ملخص :

ركزت الدراسة الحالية على البحث عن التغيرات الميكروبية فيمسابير الشفط الطبية من المرضى في المستشفى لمدة 48 ساعة أو أكثر في قسم التخدير والإنعاش في مستشفى جامعة تلمسان. تم أخذ العينات في فبراير 2020.

من بين 4 مسابير تم استردادها ، تم تغيير 3 منها ، واحد منها بالبكتيريا فقط و 2 بواسطة الخمائر والبكتيريا في وقت واحد. 5 بكتيريا سالبة الجرام ممثلة بـ *Acinetobacter baumannii* و *Acinetobacter Iwoffii* و *Klebsiella pneumoniae* و 1 *Escherichia coli* و 3 إيجابية Gram تنتمي جميعها إلى أنواع المكورات العنقودية الذهبية و 1 خميرة من جنس المبيضات ، في هذه الحالات تم العثور على *Candida glabrata* .

كان تغيير في المسابير الثلاثة مختلطاً أو متعدد انواعالميكروبية. تتعايش خميرة *Candida glabrata* مع المكورات العنقودية الذهبية و *Acinetobacter Iwoffii* على المسبار رقم 1 ومع المكورات العنقودية الذهبية و *Acinetobacter baumannii* و *Klebsiella pneumoniae* على ال المسبار رقم 2. من ناحية أخرى ، في المسبار رقم 3 ، تتعايش الأنواع البكتيرية فقط. هي المكورات العنقودية الذهبية ، *Escherichia coli* و *Acinetobacter baumannii* .

الكلماتالمفتاحية: أجهزة طبية - تدهور مختلط - بكتيريا - خمائر

Résumé :

La présente étude a porté sur la recherche des altérations microbiennes sur des sondes d'aspiration de patients hospitalisés depuis 48 heures et plus au service d'anesthésie-réanimation du CHU de Tlemcen.

Les prélèvements étaient effectués au mois de février 2020.

Sur les 4 sondes récupérées, 3 étaient altérées dont une par les bactéries uniquement et 2 par les levures et les bactéries simultanément.

5 bactéries à Gram négatif représentées par 2 *Acinetobacter baumannii*, 1 *Acinetobacter Iwoffii*, 1 *Klebsiella pneumoniae* et 1 *Escherichia coli*, 3 à Gram positif appartenant toutes à l'espèce *Staphylococcus aureus* et 1 levure du genre *Candida*, en l'occurrence *Candida glabrata* sont identifiées.

L'altération des 3 cathéters étaient mixte ou multi-espèces. *Candida glabrata* cohabitait avec *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter Iwoffii* sur le cathéter N°1 et avec *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* et *Klebsiella pneumoniae* sur le cathéter N°2. En revanche, sur le cathéter N°3, cohabitaient des espèces bactériennes uniquement. Il s'agit de *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* et *Escherichia coli*.

Mots clés : dispositifs médicaux – altération mixte – bactéries - levures

Abstract

The present study focused on the search for microbial alterations on aspiration probes of patients hospitalized for 48 hours or more in the anesthesia-intensif care unit of the CHU de Tlemcen.

The samples were taken in February 2020.

Of the 4 probes recovered, 3 were altered, one of them by only bacteria and 2 by yeasts and bacteria simultaneously.

5 Gram negative bacteria represented by 2 *Acinetobacter baumannii*, 1 *Acinetobacter Iwoffii*, 1 *Klebsiella pneumoniae* and 1 *Escherichia coli*, 3 Gram positive all belonging to the species *Staphylococcus aureus* and 1 yeast of the genus *Candida*, in this case *Candida glabrata* are identified.

The alteration of the 3 catheters was mixed or multi-species. *Candida glabrata* coexisted with *Staphylococcus aureus* and *Acinetobacter Iwoffii* on catheter N°1 and with *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* and *Klebsiella pneumoniae* on catheter N° 2. On the other hand, on catheter N°3, only bacterial species coexisted. These are *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* and *Escherichia coli*.

Keywords: medical devices - mixed alterations - bacteria – yeasts

Table des matières

Première partie : Synthèse bibliographique	1
Deuxième partie : Matériel et méthodes	5
1. Prélèvement.....	5
2. Isolement et purification	5
3. Identification des souches.....	5
3.1. Identification des bactéries	5
3.1.1. Test TSI (<i>Triple Sugar Iron</i>).....	6
3.1.2. Test d'oxydase	6
3.1.3. Test de catalase	6
3.1.4. Galerie Api	6
3.2. Identification des levures.....	6
Troisième partie : Résultats et discussion	8
1. Altération des cathéters	8
2. Identification des Microorganismes.....	9
2.1 Identification des bactéries	9
2.2 Identification des levures	12
3. Répartition des souches par cathéters.....	13
Quatrième partie : Conclusion générale	15
Cinquième partie : Références bibliographiques	16

Je dédie ce travail à mes chers parents qui ont toujours veillé sur moi

A mon cher frère

À toute ma famille et tous mes amis

A ceux qui m'ont donné sans rien demander en retour

Abdelillah

Remerciements

Ce travail a été effectué au laboratoire de recherche «Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique» de l'Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen.

Je remercie très chaleureusement mon encadreur, Madame Boucherit-OtmaniZahia, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour avoir accepté la charge de m'encadrer, de son soutien permanent, son aide, ses conseils fructueux.

Je la remercie vivement pour l'aide scientifique précieuse et tous les conseils qu'elle a pu me fournir pendant la durée de ce mémoire. J'ai eu beaucoup de chance de vous avoir comme encadreur. Je tiens à lui exprimer également ma profonde gratitude pour ses qualités pédagogiques et scientifiques, sa sympathie et sa gentillesse, qui m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions.

Ma profonde reconnaissance s'adresse également à Madame Kazi Tani Zahira Zakia Maître de conférences classe A au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers. Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen qui m'a fait l'honneur de présider ce jury.

Ma profonde reconnaissance s'adresse également à Monsieur Seghir Abdelfettah Maître de conférences classe A au Centre universitaire Belhadj Bouchaib d'Ain Témouchent, pour avoir accepté d'examiner et d'évaluer ce travail.

Je tiens aussi à mentionner le plaisir que j'ai eu en travaillant au laboratoire «Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique». J'adresse mes vifs remerciements aux doctorants, aux mastérantsainsi qu'à Mlle Benledghem Rachida, ingénieur du laboratoire pour leur sympathie, leur aide et leur amitié.

Liste des figures

Figure N°1 : Cycle de vie d'un biofilm (**Seneviratne et coll., 2008**)

Figure N°2 : Altération multi-espèce des cathéters

Figure N°3 : Aspects macroscopiques des souches isolées sur milieu de culture spécifique et résultat du test TSI

Figure N°4 : Résultat du test enzymatique API 20NE , 20E et API Staph

Figure N°5: Identification des levures par croissance sur milieu CHROM-Agar™ *Candida*

Figure N°6 : Répartition des souches isolées par cathéters

Première partie

Synthèse bibliographique

Les infections associées aux soins (IAS) constituent un réel problème en santé publique de par le monde. Elles sont à l'origine d'un accroissement significatif de la mortalité, de la morbidité et du coût de prise en charge des patients. Cette augmentation est en grande partie dû à d'importantes modifications des pratiques médicales telles que le recours de plus en plus fréquent à des antibiotiques à spectre large, aux techniques diagnostiques ou thérapeutiques de plus en plus invasives, aux chimiothérapies cytotoxiques, aux greffes d'organe et aux traitements immunosuppresseurs.

La prévalence des infections associées aux soins dans les pays à revenu faible/revenu intermédiaire (PFR/PRI) est de 15,5%. Cette prévalence est significativement plus élevée par rapport à celle observée en Europe ou aux Etats Unis d'Amérique où elle est estimée à 7,1% et 4,5% respectivement. Par ailleurs, la prévalence des AIS est plus importante en soins intensifs dans les PFR/PRI ou elle atteint 35,2%, alors qu'elle est de 9,1% aux Etats Unis d'Amérique et de 23% en Europe **(Phu et coll., 2016)**.

Selon le bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 5 à 12% des patients hospitalisés dans le monde développent une infection associée aux soins **(OMS 2013)**.

Plusieurs microorganismes émergents ou multi-résistants sont à l'origine de ces infections et la place des levures appartenant au genre *Candida* est non négligeable **(Chandra et coll., 2012)**.

Les candidoses systémiques se classent au troisième rang des septicémies acquises à l'hôpital et sont dues à des levures commensales opportunistes du genre *Candida* **(Garcia-Cuesta et coll., 2014)**. Dans les unités de soins intensifs et dans les services d'onco-hématologie leur taux varie de 70 à 90% des infections fongiques invasives **(Njall et coll., 2013)**.

Les levures du genre *Candida* sont des levures commensales de la peau, des muqueuses digestives et génito-urinaires de l'hôte sain. Elles se multiplient de façon asexuée par bourgeonnement et produisent deux formes cellulaires, la forme (blastospores), et la forme filamenteuse (pseudomycéliums et mycéliums vrais) qui coexistent souvent dans les foyers d'infections **(Berman et Sudbery, 2002)**.

Certaines espèces du genre *Candida* présentent également la caractéristique d'alterner entre ces deux formes. Cette transition morphologique connue sous le nom de dimorphisme, est considérée comme étant une stratégie de survie qui permet aux levures de se disséminer dans l'hôte **(Sudbery et coll., 2004)**.

L'espèce *Candida albicans* est responsable de 50 à 70% des mycoses invasives malgré l'émergence d'espèces non-*albicans* telles que *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* et *Candida lusitanae*...dans les isolats cliniques **(Gil-Alonso et coll., 2015)**.

Par ailleurs, les levures du genre *Candida* cohabitent avec les bactéries dans une variété d'environnements **(Lynch et Robertson, 2008)**. Selon, **(Chen et coll., 2015)**, 27-57% des infections à *Candida albicans* sont polymicrobiennes, impliquant d'autres agents pathogènes ou opportunistes.

Il est important de signaler également l'émergence d'infections mycosiques profondes sur dispositifs médicaux (cathéters, sondes...) dont l'utilisation a connu un essor considérable lié aux progrès médicaux **(López-Ribot, 2005)**. Or, les microorganismes se développent préférentiellement à l'état sessile fixés à un support biotique ou abiotique formant ainsi des biofilms qui sont défini comme étant des communautés microbiennes structurées attachées fortement à une surface de manière irréversible et encastrées dans une matrice de substance exo-polymérique qui peut occuper jusqu'à 75% ou plus du volume d'un biofilm mûre **(Kokar et coll., 2009)**. En effet, en contact avec les dispositifs médicaux, les microorganismes adhèrent sur le matériau et développent un biofilm qui une fois formé est difficile à éradiquer et a tendance à s'étendre **(Donlan et Costerton, 2002)**.

La formation des biofilms est un processus qui se résume en quatre étapes, la phase initiale précoce dite d'adhérence, suivie de la phase intermédiaire de croissance du biofilm puis de la phase de maturation et enfin une phase de dispersion des microorganismes à partir du biofilm **(Seviratne et coll., 2008) (figure N°1)**.

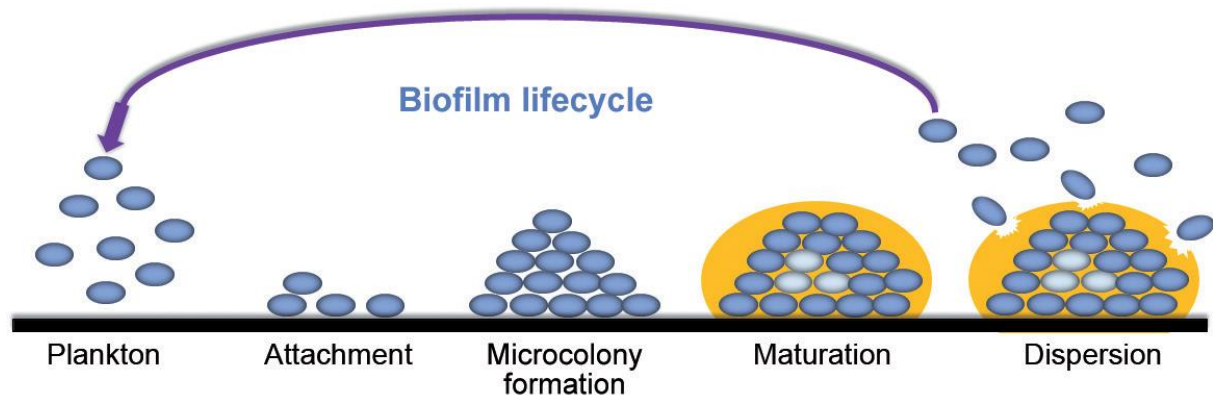


Figure N°1 : Cycle de vie d'un biofilm (Seneviratne et coll., 2008)

L'organisation des microorganismes sous forme de biofilms présente des avantages significatifs par rapport au mode de vie libre ou planctonique. Comme rapporté par **(Hall-Stoodley et coll., 2004)**, le développement sur un support solide permet, d'une part, d'apporter une stabilité dans les paramètres environnementaux, facilitant ainsi la croissance microbienne. D'autre part, le biofilm permet de se prémunir contre la déshydratation ou encore la phagocytose et la présence de virus et d'antibiotiques. De ce fait, la création d'un tel microenvironnement au sein des biofilms rend difficile voire impossible l'efficacité des antimicrobiens **(Gilbert et coll.2011)**.

Un biofilm est donc caractérisé par sa topologie ou sa morphologie, et par les microorganismes qui le composent. De nombreux paramètres, plus ou moins en interaction, vont participer à la structuration du biofilm, et ce depuis la phase d'adhésion jusqu'au biofilm mûre.

Si l'implication des biofilms dans de nombreux processus infectieux n'est plus à démontrer, leur impact sur la transmission de germes pathogènes reste largement sous-estimé. Les biofilms représentent, par conséquent, des réservoirs de micro-organismes qui s'intègrent dans un cycle de contamination incluant les patients, les agents causaux (micro-organismes) et des vecteurs tels que l'air, l'eau, le personnel soignant et les dispositifs médicaux.

La cohabitation des levures de type *Candida albicans* et des bactéries au sein d'un biofilm semble être la situation la plus rencontrée dans un contexte clinique. En **2008**, **Ader et ses collaborateurs** ont étudié l'interaction entre *Candida albicans* et *Pseudomonas aeruginosa* et ont montré que cette bactérie exploite les formes filamenteuses de *Candida albicans* pour promouvoir sa croissance et son organisation en biofilm. La même organisation a été observée par **Lohse et coll., (2017)** pour *Staphylococcus epidermidis*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et diverses espèces de *Streptococcus* qui se lient aux cellules hyphales de *Candida albicans* présentes dans un biofilm.

Candida albicans a été également co-isolée avec *Streptococcus mutans* et *Streptococcus gordonii* de stomatites et de portages dentaires (**Lohse et coll., 2017**)

En Algérie, les travaux réalisés par notre équipe de recherche au laboratoire de recherche «Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique » de l'université de Tlemcen, ont mis en évidence la cohabitation de *Candida albicans* et *Serratia liquefaciens*, *Candida albicans* et *Bordetella sp.* et *Candida albicans* et *Eenterobacter cloacae* sur des cathéters veineux périphériques prélevés des services de cardiologie et de chirurgie au CHU de Tlemcen (**Seghir et coll., 2014**) et de *Candida glabrata* et *Diplococcus* au CHU de Sidi Bel Abbes (**Seddiki et coll., 2015**). En **2016**, **Bekkal Brikci** a montré que *Candida albicans* cohabitaient avec *Candida glabrata* et *Candida parapsilosis* sur des cathéters veineux périphériques prélevés au service de neurochirurgie au CHU de Tlemcen.

Cette étude s'inscrit dans cet même ordre d'idée et consiste à rechercher les altérations multi-espèces de dispositifs médicaux au service de d'anesthésie-réanimation du CHU de Tlemcen.

Deuxième partie

Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé au laboratoire Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique de l'université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen.

1. Prélèvements

Durant le mois de Février 2020, quatre cathéters implantés depuis plus de 48 heures ont été prélevés de patients hospitalisés au service de réanimation du CHU de Tlemcen.

Les cathéters prélevés, sont recueillis immédiatement dans des tubes secs stériles auxquels 1mL d'eau physiologique est ajouté. Les tubes sont agités au vortex pendant 2 minutes.

200µL sont prélevés et répartis à volume égale dans deux tubes différents. L'un destiné à la recherche des levures, auquel sont ajoutés 900µL de milieu Sabouraud liquide, l'autre destiné à la recherche des bactéries auquel sont ajoutés 900µL de bouillon nutritif.

2. Isolement et purification

A partir des échantillons présentant un trouble, des boîtes de Pétri contenant la gélose Sabouraud pour la recherche des levures et la gélose Mac Conkey et Chapman pour l'isolement des bactéries, sont ensemencées par la méthode d'épuisement. Après incubation à 37°C pendant 24 à 48 heures, les souches sont purifiées par passages successifs sur les mêmes milieux.

Chaque souche pure est conservée sur gélose inclinée en tube à 4°C.

3. Identification des souches

3.1. Identification des bactéries

Les bactéries isolées sont identifiées par différents tests biochimiques.

3.1.1. Test TSI (*Triple Sugar Iron*)

La gélose TSI (*Triple Sugar Iron*) permet d'étudier la fermentation du glucose, l'utilisation du lactose et du saccharose et la production d'H₂S. L'ensemencement est réalisé par des stries serrées au niveau de la pente et par piqûre centrale au niveau du culot. La lecture se fait après 18 à 24 heures d'incubation à 37°C.

3.1.2. Test d'oxydase

Ce test permet de détecter la présence du cytochrome C de la chaîne respiratoire chez les bactéries à Gram négatif.

Le test d'oxydase est réalisé en ajoutant un disque d'oxalate N-diméthylphénylène-diamine à une suspension bactérienne dense en eau physiologique. Une réaction positive se traduit par une coloration violette.

3.1.3. Test de catalase

Ce test est utilisé pour détecter la présence de la peroxydase responsable de la dégradation du H₂O₂ chez les bactéries à Gram positif.

Sur une lame et à l'aide d'une pipette Pasteur, on dépose une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée (à 10 volumes).

- Catalase(+): effervescence. - Catalase (-): pas d'effervescence

3.1.4. Galerie API

Le système API (Biomérieux) est une version miniaturisée et standardisée des techniques biochimiques conventionnelles pour l'identification des bactéries. Il permet l'identification des entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif (API 20E/20NE), et l'identification des genres *Staphylococcus*, *Micrococcus* et *Kocuria* (API Staph).

Une suspension bactérienne équivalente à 0,5 Mc Farland est répartie dans les microtubes. Les réactions produites pendant la période d'incubation 18 à 24 heures à 37°C se traduisent par des virages de couleur spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture est réalisée en utilisant le tableau de lecture et les souches sont identifiées en se référant au tableau d'identification du catalogue analytique.

Les souches identifiées sont conservées sur gélose nutritive inclinée à +4 °C.

3.2. Identification des levures

L'identification des levures, nous avons utilisé le CHROM-Agar™ *Candida*, un milieu sélectif qui colore spécifiquement les trois principales classes de levures du genre *Candida*. Les colonies de *Candida albicans* sont ainsi repérées par une coloration vert-turquoise sur ce milieu. *Candida tropicalis* donne sur CHROM-Agar™ *Candida*, des colonies avec une couleur bleue, *Candida krusei* des colonies couleur prune de grande taille avec un relief irrégulier, *Candida glabrata* des colonies roses/blanches et toutes les autres espèces des colonies blanchâtres.

Des boîtes de Pétri contenant du CHROM-Agar™ *Candida* sont ensemencées par stries puis placées dans une étuve à 35°C pendant 48 heures.

Des tests supplémentaires comme le test de filamentation dans le sérum humain et la recherche de chlamydocolonies sur milieu RAT (*Rice Agar Tween*) peuvent être utilisés pour confirmer l'identification de l'espèce *Candida albicans*.

Les levures identifiées sont conservées sur gélosé Sabouraud inclinée en tube à +4°C.

Troisième partie

Résultats et discussion

Les infections associées aux soins sont des infections nosocomiales exogènes dont le facteur de risque principal est l'utilisation de dispositifs médicaux invasifs tels que les cathéters vasculaires sur lesquels se développe en général un biofilm. Des études ont montré que les patients hospitalisés en réanimation présentent une immunoparalysie, phénomène associé à un risque accru d'acquies une infection qui peut être à l'origine d'une augmentation de la morbidité et entraînant, ainsi, un surcoût majeur en raison d'une augmentation de la durée de séjour hospitalier des patients. Par conséquent, la prévention des infections sur cathéters intravasculaires constitue une priorité de lutte contre les infections associées aux soins dans les services de soins intensifs.

Notre travail rentre dans ce contexte et consiste à isoler des levures et les bactéries à partir de cathéters après leurs ablations des patients admis au service d'anesthésie-réanimation du CHU de Tlemcen.

1. Altérations des cathéters

Les résultats relatifs à l'altération des cathéters prélevés au service d'anesthésie réanimation du CHU de Tlemcen. Rappelons que seuls les cathéters implantés pendant 48 heures et plus sont prélevés.

Sur les 4 cathéters prélevés, 3 seulement sont altérés dont 1 par les bactéries uniquement et 2 par les bactéries et les levures. Toutes les altérations sont multi-espèces (bactéries/bactéries ou bactéries/levures) (**Figure N°2**).

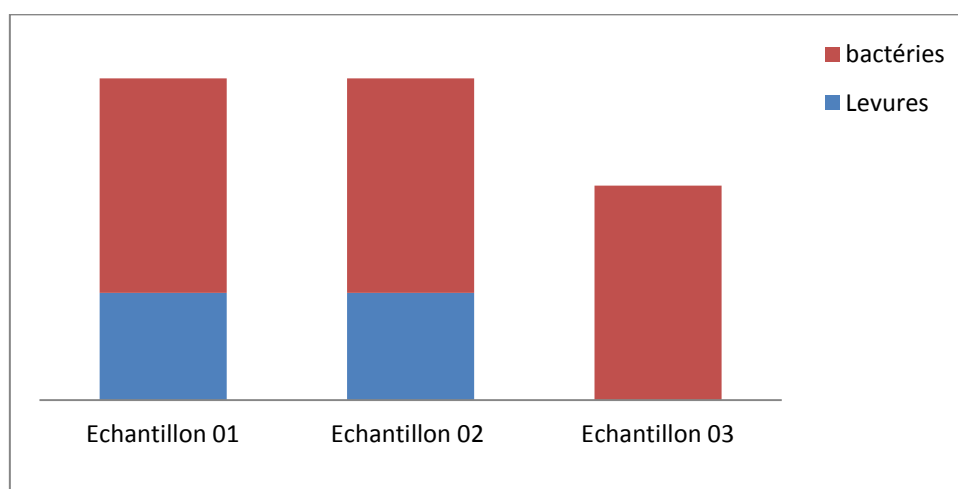


Figure N°2 : Altération multi-espèce des cathéters

Les altérations des 3 cathéters sont multi-espèces dont une intra-règne (bactéries/bactéries) et deux inter-règnes (bactéries/levures). Ce résultat est en accord avec les travaux de **Seghir et coll., (2015)**, et de **Souza dos Santos et coll., (2018)** qui ont montré que dans un contexte infectieux, la cohabitation de plusieurs espèces est la situation la plus probable.

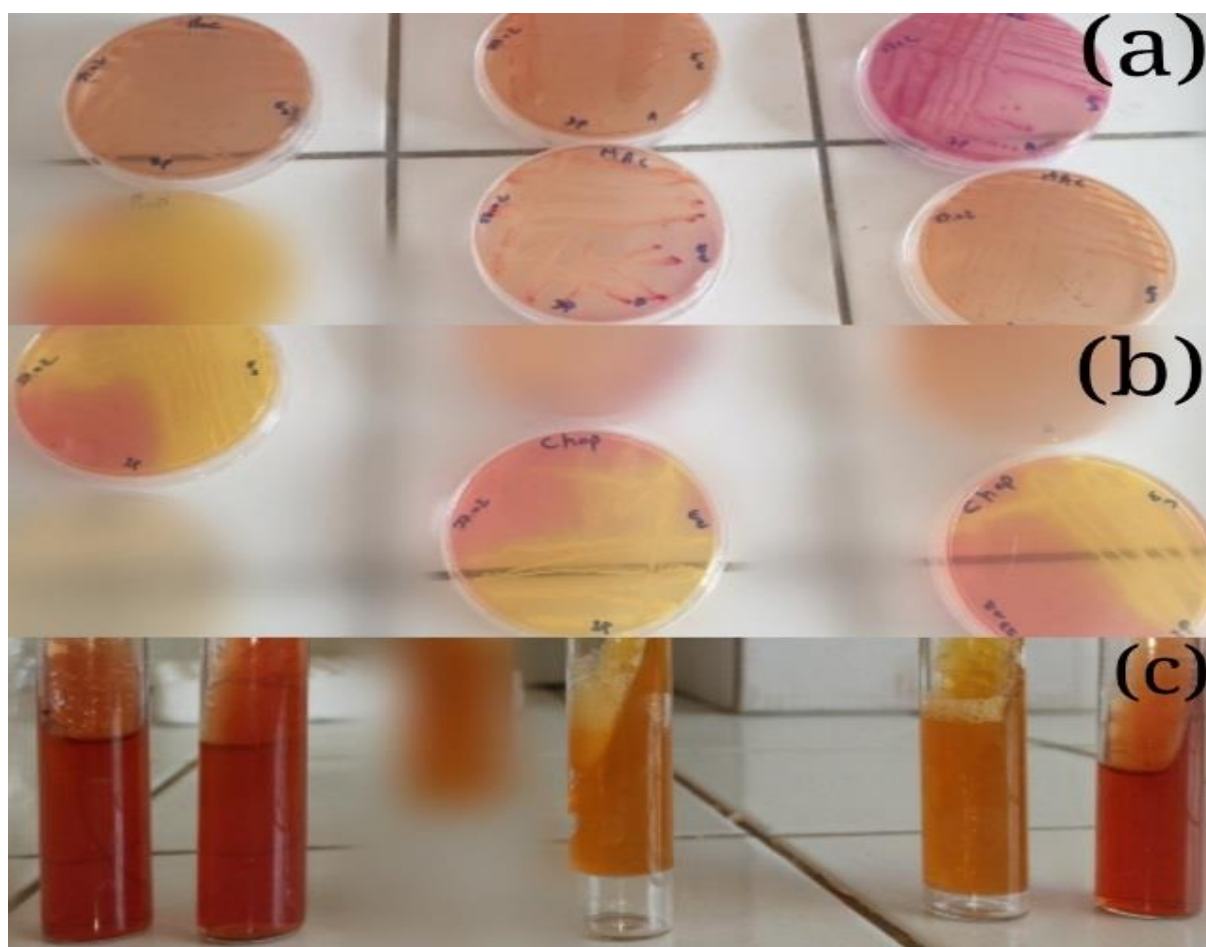
2. Identification des microorganismes

2.1. Identification des bactéries

L'identification des bactéries a été basée essentiellement sur des méthodes conventionnelles à savoir les examens macroscopiques, microscopiques et l'étude des caractères biochimiques.

Après 24 heures d'incubation à 37°C, les cultures sur milieu Mac Conkey (colonies rouges : lactose + et colonies jaunes ou incolores : lactose -) et milieu Chapman nous ont permis d'identifier 5 bactéries à Gram négatif et 3 bactéries à Gram positif respectivement.

De plus, l'utilisation du milieu TSI a montré que sur les 5 bactéries à Gram négatif, 2 sont fermentaires et 3 non fermentaires (**Figure N°3**).



(a) Milieu de culture Mac Conkey pour les bacteries à gram -
(b) Milieu de culture chapman pour les bacteries à gram +
(c) test triple sugar iron (TSI)

Figure N°3 : Aspects macroscopiques des souches isolées sur milieu de culture spécifique et résultat du test TSI

Les 8 bactéries isolées des 3 cathéters ont été identifiées par les galeries API20E et API20NE et API Staph (Biomérieux, France) (**Figure N°4**).

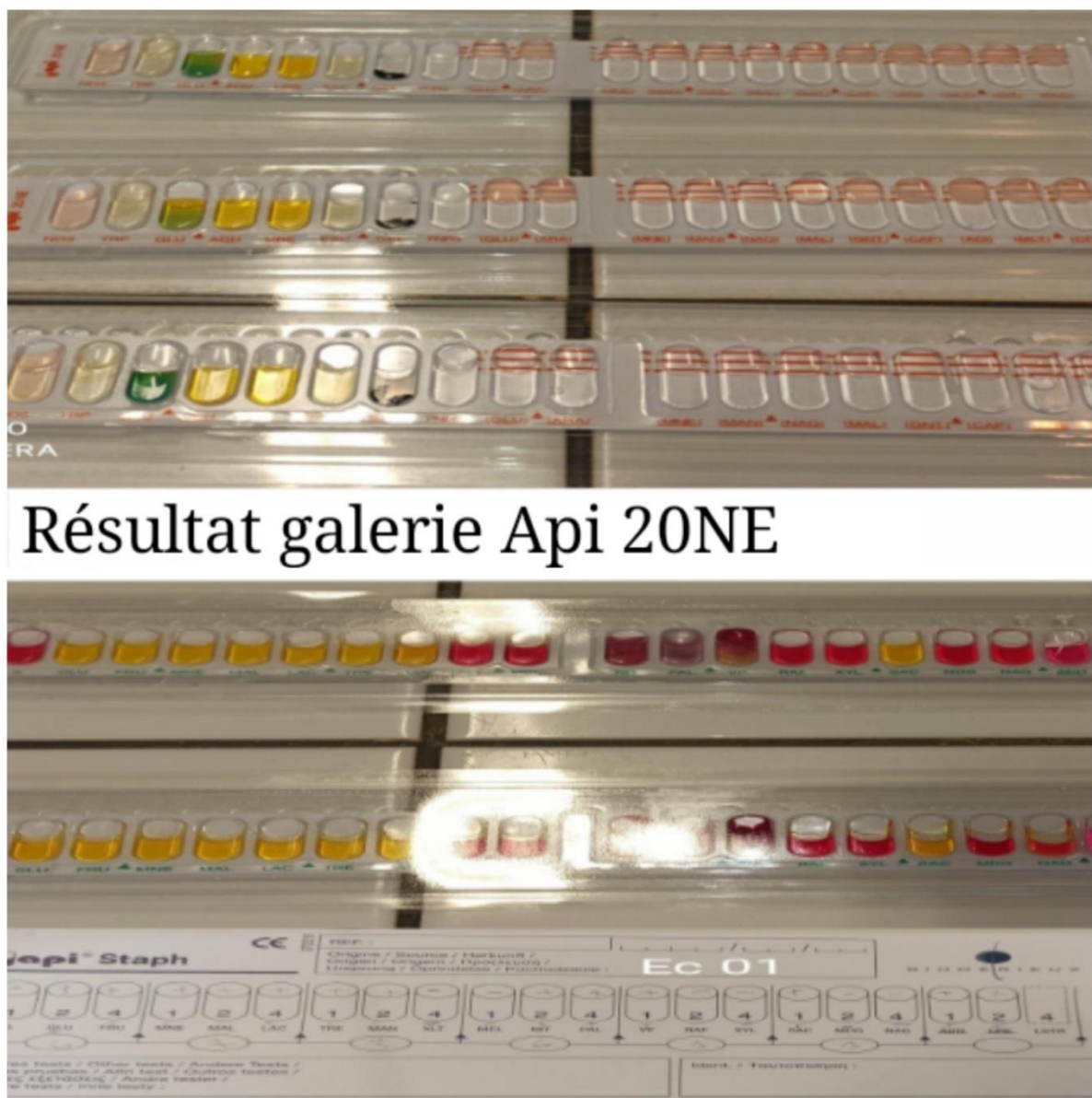


Figure N°4 : Résultat du test enzymatique API 20NE, 20E et API Staph

Les résultats obtenus ont montré que les 5 bactéries à Gram négatif appartiennent aux espèces *Acinetobacter baumannii* (2), *Acinetobacter Iwoffii* (1), *Klebsiella pneumoniae* (1) et *Escherichia coli* (1). Alors que les 3 bactéries à Gram positif isolées, elles appartiennent toutes à l'espèce *Staphylococcus aureus*.

Nous remarquons que les bactéries à Gram négatif sont majoritaires dans nos isolats cliniques avec une dominance de l'espèce *Acinetobacter baumannii*.

Il est important de rappeler que l'espèce *Acinetobacter baumannii* apparait comme l'espèce génomique la plus impliquée dans les infections nosocomiales (90 à 95% des *Acinetobacter*) dans des services accueillant des patients fragilisés, notamment les services de soins intensifs et de réanimation (Lambert, 2007).

2.1. Identification des levures

Les levures isolées sont identifiées par croissance sur milieu CHROM-Agar™ *Candida*. Les résultats obtenus sont regroupés sur la **figure N°5**.

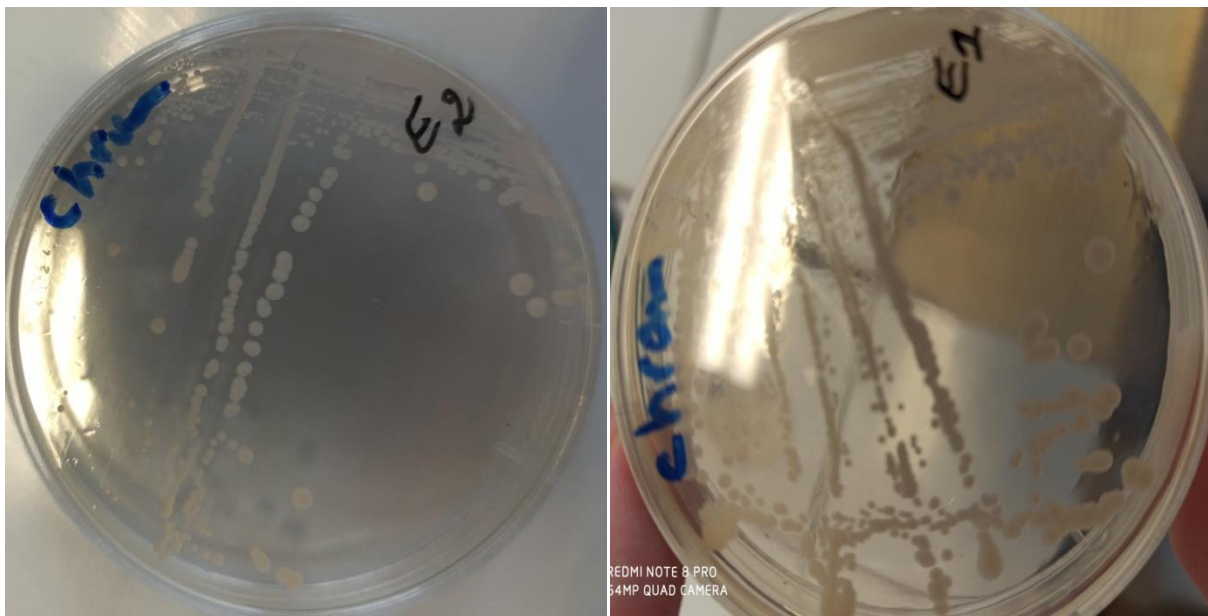


Figure N°5 : Identification des levures par croissance sur milieu CHROM-Agar™
Candida

Nous remarquons que les colonies des levures sont de couleur rose/blanchâtre, il s'agit, par conséquent, de l'espèce *Candida glabrata*.

Cette espèce a été isolée au CHU de Tlemcen aux services de chirurgie générale et de cardiologie (**Seghir et coll., 2014**), de neurochirurgie (**Bekkal Brix-Benhabib, 2016**) et de gastro-entérologie (**Lahfa-Hassaine et coll., 2017**). Elle a été isolée également au CHU de Sidi Bel Abbes (**Seddiki et coll., 2015**).

C'est une espèce émergente du genre *Candida* qui, depuis le début des années quatre vingt dix, est impliquée dans 15% des cas de candidoses systémiques. Elle est souvent responsable d'un allongement de la durée de séjour et d'une augmentation de la charge en soins (**Wisplinghoff et coll., 2004**).

3. Répartition des souches par cathéters

La répartition des microorganismes isolés par dispositifs médicaux a donné les résultats représentés sur la **figure N°6**.

L'altération bactérienne descathéters récupérés du service de réanimation au CHU de Tlemcen est caractérisée par une dominance des bactéries à Gram négatif. Ce résultat est en accord avec celui de **Madi et coll., 2019**.

Ce résultat est en accord avec celui de **Seghir et coll., 2014** qui ont montré que l'altération bactérienne est plus fréquente chez les hommes, De plus, les hommes sont légèrement plus exposés aux altérations mixtes.

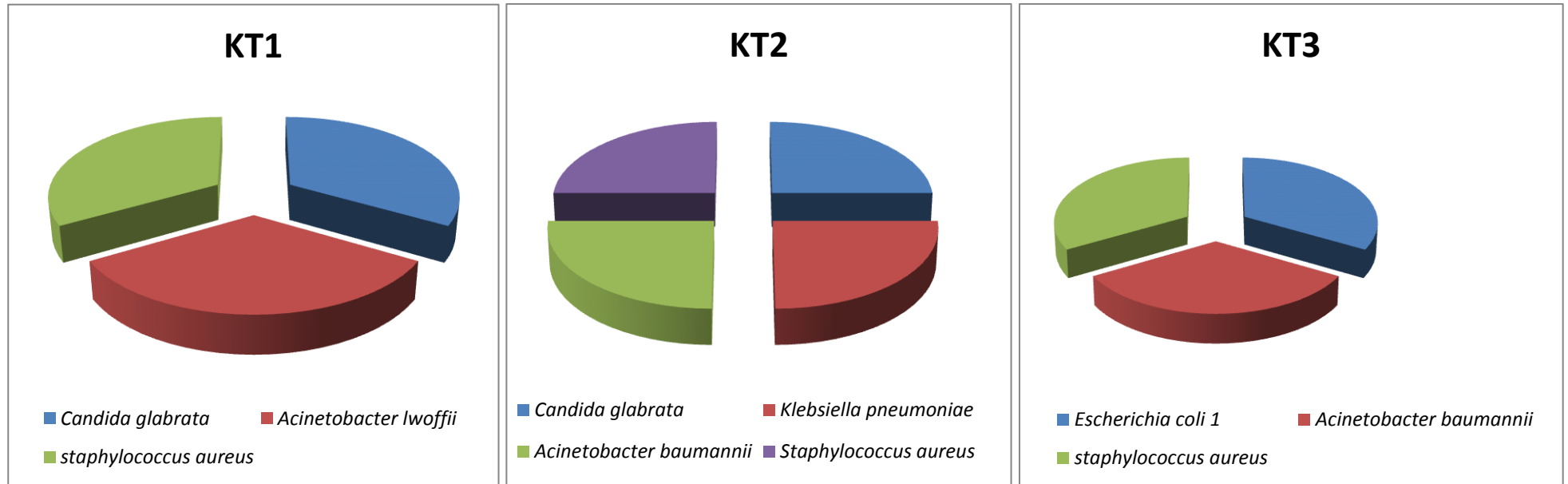


Figure N°6 : Répartition des souches isolées par cathéter

Quatrième partie

Conclusion générale

L'étude que nous avons réalisée a porté sur la recherche d'altérations microbiennes de dispositifs médicaux prélevés de patients hospitalisés depuis 48 heures et plus au service d'anesthésie-réanimation du CHU de Tlemcen.

Il ressort de cette étude que :

- Sur les 4 cathéters prélevés, 3 sont altérés dont 1 par les bactéries et 2 par les bactéries et les levures simultanément.
- Les altérations des 3 cathéters sont multi-espèces dont une intra-règne (bactéries/bactéries) et deux inter-règnes (bactéries/levures).
- Toutes les altérations sont multi-espèces (bactéries/bactéries ou bactéries/levures)
- Cinq bactéries à Gram négatif représentées par 2 *Acinetobacter baumannii*, 1 *Acinetobacter lwoffii*, 1 *Klebsiella pneumoniae* et 1 *Escherichia coli*, 3 à Gram positif appartenant toutes à l'espèce *Staphylococcus aureus* et 1 levure du genre *Candida*, en l'occurrence *Candida glabrata* sont identifiées.
- L'altération des 3 cathéters étaient mixte ou multi-espèces. *Candida glabrata* cohabitait avec *Staphylococcus aureus* et *Acinetobacter lwoffii* sur le cathéter N°1 et avec *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* et *Klebsiella pneumoniae* sur le cathéter N°2. En revanche, sur le cathéter N°3, cohabitaient des espèces bactériennes uniquement. Il s'agit de *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* et *Escherichia coli*.

Pour compléter ce travail, il serait intéressant de :

- Etudier la sensibilité des bactéries et des levures isolées aux antimicrobiens seuls et combinés.
- Evaluer le potentiel des bactéries et des levures co-isolées d'un même dispositif médical à former des biofilms mixtes.

Cinquième partie

Références bibliographiques

1. Ader F., Faure K., Guery B., Nseir S. (2008) Interaction de *Pseudomonas aeruginosa* avec *Candida albicans* dans les voies respiratoires : de la physiopathologie à une perspective thérapeutique. *Pathologie Biologie*.56(3) : 164-9.
2. Bekkal Brikci-Benhabib O. (2016) Recherche de biofilms mixtes sur des surfaces inertes au Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen. Thèse de Doctorat en Sciences option biochimie appliquée. Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen
3. Berman J. et Sudbery PE. (2002) *Candida albicans*: a molecular revolution built on lessons from budding yeast. *Nat Rev Genet*, 3 (12):918-30.
4. Chandra J., Mukherjee P.K., Ghannoum M.A (2012). *Candida* biofilms associated with CVC and medical devices. *Mycoses*, 55 (s1), 46-57.
5. Chen Y., Wang XY., Huang YC., Zhao GQ., Lei YJ., Ye LH., Huang QB. And Duan WS. (2015) Study on the structure of *Candida albicans-Staphylococcus epidermidis* mixed species biofilm on polyvinyl chloride biomaterial. *Cell. Biochem. Biophys.* ; 73(2):461-468. 11.
6. Donlan R.M. and Costerton J.W. (2002) Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*; 15: 167 – 193.
7. Garcia-Cuesta C., Sarrion-Pérez M.G. and Bagán J. V. (2014), Current treatment of oral candidiasis : A literature review. *J Clin. Exp. Dent.* 2014;6 (5):e576-82.
8. Gil-Alonso S., Jauregizar N., Canton E., Eraso E. and Quindos G. (2015) *In vitro* fungicidal activities of anidulafungin, caspofungin and micafungin against *Candida glabrata*, *Candida braccarensis* and *Candida nivariensis* evaluated by time-kill studies. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 59:3615–3618.
9. Gilbert P., McBain A.J. (2001) Biofilms: their impact on health and their recalcitrance toward biocides. *Am. J. Infect. Control.* 29(4): 252-255.
10. Grinand N. (2012) Les biofilms à *Candida sp.* : Epidémiologie et sensibilité aux antifongiques. Thèse de Doctorat. Université de Nantes, faculté de pharmacie. P 12.
11. Hall-Stoodley L., Costerton J.W., and Stoodley P. (2004) Bacterial biofilms: From the nature environment to infectious diseases. *Nature Reviews Microbiology*, 2: 95-108.

12. Kokar C.R., Chakraborty S., Khopade A.N. and Mahadik K.R. (2009) Biofilm : importance and applications. *Indian Journal of Biotechnology*; 8: 159 – 168.
13. Lahfa-Hassaine I., Boucherit-Otmani Z., Sari-Belkherroubi L. and Boucherit K. (2017), Retrospective study of *Candida sp.* contaminations of endoscopes at the University Hospital of Tlemcen (Algeria). *Journal de Mycologie Médicale* 27(2) 127-132
14. Lambert ET (2007) *Acinetobacter*. Livre Bactériologie médicale : techniques usuelles, Identification et Systématique Bactérienne.
15. Lohse, M. B., Gulati, M., Johnson, A. D., and Nobile, C. J. (2017) Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 16(1), 19–31
16. López-Ribot, J.L. (2005). *Candida albicans* biofilms: more than filamentation. *Current Biology*, Vol.15, No.12, pp. 453-455, ISSN 0960-9822
17. Lynch A.S., Robertson G.T. (2008) Bacterial and fungal biofilm infections. *Annual Review of Medicine*, 59, 415-428.
18. Njall C, Adiogo D, Bitá A, Ateba N, Sume G, Kollo B.(2013) Écologie bactérienne de l'infection nosocomiale au service de réanimation de l'hôpital Laquintinie de Douala, Cameroun. *Pan Afr Med J*; 14:140
19. Phu VD, Wertheim HFL, Larsson M, Nadjm B., Dinh Q-D, Nilsson LE. (2016) Burden of hospital acquired infections and antimicrobial use in vietnamese adult intensive care units. *PLoS ONE* 11(1): e0147544. doi:10.1371/journal.pone.0147544
20. Ramos, M. H. Branquinha, A. M. Bolognese, J. Columbano Neto, M. Roudbary (2018) What are the advantages of living in a community? A microbial biofilm perspective. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, Vol. 113(9): e180212, 2018
21. Seddiki S.M.L., Boucherit-Otmani Z., Boucherit K., Kunkel D (2015) Infectivités fongiques des cathéters implantés dues à *Candida sp.* Formation des biofilms et résistance. *Journal de Mycologie Médicale* ; 25 : 130-135.
22. Seghir A., Boucherit-Otmani Z., Belkherroubi-Sari L., and Boucherit K (2014) Cathétérisme et risque infectieux fongique au centre hospitalo-universitaire de Tlemcen : épidémiologie et sensibilité aux antifongiques. *Journal of Medical Mycology*, 24(4), e179-e184.

23. Seghir A., Boucherit-Otmani Z., Boucherit K., Sari-Belkharroubi L., Anselme-Bertrand I. (2015) Évaluation du potentiel de formation de biofilms mixtes entre *Candida albicans* et quelques espèces bactériennes isolées de cathéters vasculaires périphériques au CHU de Tlemcen. Première étude en Algérie. *Journal of Medical Mycology*, 25(2), 123-129.
24. Seneviratne C. JIN L., Samarnayake Y. and Samarnayake L. (2008) cell density and cell aging as factors modulating antifungal resistance of *Candida albicans* biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*; 52:3259-3266
25. Sudbery, P., N. Gow, and J. Berman. 2004 The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends Microbiol*12:317-24.
26. Wisplinghoff H., Bischoff T., Tallent SM., Seifert H., Wenzel RP., Edmond MB (2004) Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nation wide surveillance study. *Clin. Infect. Dis*; 39:309–317.