

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



Université Aboubekr Belkaïd -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

**THESE**

En vue de l'obtention du diplôme de

**Doctorat de 3<sup>ème</sup> cycle en sciences biologiques**

**Spécialité : Biochimie Appliquée**

Présentée par

**Mme ZIANE ep. MAARIF Hanane**

**Thème**

**Etude de la formation et de l'inhibition des biofilms mixtes *Candida non albicans*/ bactéries isolées des dispositifs médicaux du Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen**

Soutenue publiquement le : 19/12/2024 devant le jury composé de :

<b>Président</b>	Pr. BOUCHERIT-OTMANI Zahia	Univ. Tlemcen
<b>Directrice de thèse</b>	Pr. SARI-BELKHERROUBI Lamia	Univ. Tlemcen
<b>Examineurs</b>	Pr. GHELLAI Lotfi	Univ. Saïda
	Dr. HALLA Noureddine	Univ. Saïda
	Dr. SEGHIR Abdelfettah	Univ. Tlemcen

**Année universitaire : 2024-2025**

*Au nom d'Allah, le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux,  
Seigneur, accorde ta prière, ta paix et tes bénédictions, à notre  
Prophète Mouhammad ainsi qu'à sa famille et ses compagnons,  
une prière et une paix permanentes*

## **Résumé :**

Les levures *Candida non albicans* sont de plus en plus incriminées dans les mycoses systémiques en milieu hospitalier et sont souvent associées à des bactéries dans des biofilms multi-espèces. La prise en charge des infections liées aux biofilms mixtes est difficile et de nouvelles solutions thérapeutiques sont donc nécessaires. L'objectif de la présente étude est d'évaluer la capacité des levures *Candida non albicans* et des bactéries co-isolées d'un même dispositif médical mis en place chez des patients hospitalisés aux services de neurologie médicale, d'anesthésie-réanimation et de chirurgie ortho-traumatologie du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen à former des biofilms et de rechercher des moyens d'inhiber ces structures polymicrobiennes. Pour cela, nous avons dans un premier temps, recherché des altérations multi-espèces *Candida non albicans*/bactéries sur les dispositifs médicaux, et tester leur sensibilité aux agents antimicrobiens. Ensuite nous avons évalué leur capacité à former des biofilms mono-espèces et mixtes levures/bactéries. Enfin, nous avons testé l'efficacité des solutions de verrouillages sur les biofilms mixtes. Les résultats obtenus ont montré que sur 340 prélèvements effectués, 19 levures *Candida non albicans* ont été identifiées dont *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* et *C. famata*. En parallèle, 25 bactéries ont été co-isolées avec les espèces de *Candida non albicans* dont 18 bacilles à Gram négatif et 7 bactéries à Gram positif. Les tests de sensibilité ont révélé une sensibilité des espèces fongiques à l'amphotéricine B et une résistance bactérienne importante à l'ensemble des agents antibactériens testés. Les levures isolées sont formatrices de biofilms mixtes avec les bactéries co-isolées. La quantité des biofilms produite varie en fonction des souches, des espèces et des milieux de culture utilisés. Les résultats relatifs à l'effet des solutions de verrouillages sur les biofilms mixtes révèlent une réduction de la biomasse de biofilm mixte (*Candida non albicans*- Bactéries) par la solution verrou d'EDTA (25 à 55%) ou d'amphotéricine B seule (40 à 70%). Cette efficacité est supérieure en associant l'amphotéricine B et l'EDTA. De même, l'utilisation de l'acide acétylsalicylique (40mg/mL) comme solution verrou, permet de réduire la biomasse des biofilms mixtes jusqu'à une réduction complète au bout de 24h ou de 48h en fonction des souches impliquées dans le biofilm mixte.

**Mots-clés :** Dispositifs médicaux, infectivité, *Candida non albicans*, bactéries, biofilms mixtes, effet anti-biofilm mixte, solution verrou

## ملخص:

تتدخل خمائر *Candida non albicans* بشكل متزايد في الإصابة بداء الفطريات المستعصية على مستوى المستشفيات وغالبًا ما ترتبط هذه الأخيرة بالبكتيريا في الأغشية الحيوية المختلطة. إن علاج الالتهابات المرتبطة بالأغشية الحيوية المختلطة أمر صعب مما يستدعي البحث عن حلول عاجلية مناسبة. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم قدرة خمائر *C non albicans* والبكتيريا المعزولة من نفس الجهاز الطبي المستخدم عند المرضى المقيمين بالمستشفى الجامعي بتلمسان على تكوين الأغشية الحيوية الرقيقة وكذا البحث عن طرق من أجل تثبيط هذه الأغشية متعددة الميكروبات. للقيام بذلك، قمنا أولاً بعزل خمائر *Candida non albicans* و البكتيريا الموجودة على مستوى الأجهزة الطبية، واختبار حساسيتها للعوامل المضادة للميكروبات. بعد ذلك قمنا بتقييم قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية الرقيقة المختلطة من نوع *Candida non albicans* بكتيريا. وأخيراً، قمنا باختبار فعالية المحاليل المقفلة على الأغشية الحيوية المختلطة

أظهرت النتائج أنه من بين 340 عينة مأخوذة، تم تحديد 19 من خمائر *Candida non albicans* بما في ذلك *C.tropicalis* و *C. glabrata* و *C. parapsilosis* و *C. Famata*. في الوقت نفسه، تم عزل 25 نوع من البكتيريا مع خمائر *Candida non albicans*، منها 72% عصيات سالبة الجرام و 28% بكتيريا موجبة الجرام. كما تكشف النتائج المتعلقة بتأثير محاليل القفل على الأغشية الحيوية المختلطة *Candida non albicans* / بكتيريا عن انخفاض جزئي في كتلة الأغشية المختلطة بعد استخدام المحلول المقفل (25-55%) EDTA أو amphotéricine B وحده (40-70%)، و تزداد هذه الفعالية بشكل واضح عند استخدام amphotéricine B و EDTA معا. و يؤدي استخدام حمض الأسيتيل ساليسيليك كمحلول مقفل إلى تثبيط هذه الأغشية الحيوية المختلطة.

**الكلمات المفتاحية:** القسرة، *Candida non albicans* ، البكتيريا، الأغشية الحيوية المختلطة، التأثير المضاد للأغشية الحيوية المختلطة، المحلول المقفل.

## **Abstract:**

*Non-albicans Candida* yeasts are increasingly implicated in systemic mycoses in hospitals, and are often associated with bacteria in multi-species biofilms. Management of mixed biofilm infections is difficult, and new therapeutic solutions are needed. The aim of the present study was to assess the ability of *non-albicans Candida* yeasts and co-isolated bacteria to form biofilms on the same medical device used on patients hospitalized at the University Hospital of Tlemcen, and to find ways of inhibiting these polymicrobial structures. To do this, we first looked for multi-species *non-albicans Candida* /bacteria alterations on medical devices, and tested their sensitivity to antimicrobial agents. Then we assessed their ability to form mono-species and mixed yeast/bacteria biofilms. Finally, we tested the effectiveness of lock solutions on mixed biofilms. The results showed that out of 340 samples taken, 19 *non-albicans Candida* yeasts were identified, including *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* and *C. famata*. At the same time, 25 bacteria were co-isolated with *non-albicans Candida* species, 72% of which were Gram-negative bacilli and 28% Gram-positive bacteria. Susceptibility tests revealed that the fungal species were sensitive to amphotericin B and highly resistant to all the antibacterial agents tested. Isolated yeasts form mixed biofilms with co-isolated bacteria. The quantity of biofilms produced varies according to strain, species and culture medium composition. Results relating to the effect of lock solutions on mixed biofilms reveal a partial reduction in mixed biofilm biomass (*non-albicans Candida* -Bacteria) by the EDTA (25 -55%) or amphotericin B lock solution alone (40-70%). The efficacy of amphotericin B in combination with EDTA is significantly higher. Similarly, the use of acetylsalicylic acid as (40mg/mL) a lock solution reduces the biomass of mixed biofilm until it is completely reduced after 24 or 48 hours, depending on the strains involved in the mixed biofilm.

**Keywords:** medical devices, infectivity, *non-albicans Candida*, bacteria, mixed biofilms, mixed anti- biofilm effect, lock solution

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**En guise de reconnaissance, je dédie ce travail :**

A la mémoire de ma chère grand-mère, qu'Allah ait son âme.

A mes très chers parents ; Vous trouverez ici le fruit de vos sacrifices. Je souhaite que j'aie réalisé l'un de vos rêves par ce modeste travail. Puisse Dieu vous accorder une longue vie pleine de santé et de bonheur.

A mon cher mari et ma petite princesse Arwa Loudjaine ; Pour leur encouragement, tendresse, amour et soutien durant mes études.

A mes chères sœurs pour leur amour, soutien et compréhension

A toute ma famille ainsi qu'à toutes mes amies

**Hanène**

## *Remerciements*

**Je rends grâce à Allah le tout Puissant de m’avoir donné la santé, le courage et la force de mener ce travail à bout.**

Ce travail a été effectué au laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physicochimie, synthèse et activité biologique » de l’université Aboubekr Belkaïd Tlemcen.

Je remercie très chaleureusement ma directrice de thèse Madame SARI-BELKHERROUBI Lamia, 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. Je la remercie pour toutes les heures qu’elle a consacré pour l’accomplissement de ce travail. 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.

J’exprime mes plus vifs remerciements, ma reconnaissance toute particulière et ma gratitude, qui ne seront jamais concrètement exprimées à l’égard de Madame BOUCHERIT-OTMANI Zahia, Professeur à la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l’Univers de l’université de Tlemcen, pour l’aide précieuse et chaleureuse qu’elle m’a offerte et pour l’honneur qu’elle me fait en acceptant de présider ce jury. Votre générosité et votre grande patience m’ont à chaque fois permis de rebondir dans les moments difficiles. Veuillez trouver par ces quelques mots Madame la Professeur, l’expression de mes remerciements les plus chaleureux.

Ma profonde reconnaissance s’adresse à Monsieur BOUCHERIT Kebir 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. Votre grande générosité et votre détermination pour la recherche font de vous un exemple exceptionnel à suivre. Veuillez trouver dans cet ouvrage l’expression de mes plus profonds respects et mon entière reconnaissance.

Je suis très honoré que Monsieur GHELLAI Lotfi, Professeur à l’université de Saïda ait accepté de consacrer de son temps à la lecture et à l’appréciation de ce manuscrit, qu’il trouve ici le témoignage de notre respectueuse gratitude.

J’aimerais témoigner ma profonde reconnaissance à Monsieur HALLA Noureddine, Maître de conférences Classe « A » à l’université de Saïda qui me fait l’honneur de faire partie de ce jury.

J'exprime ma gratitude à Monsieur SEGHIR Abdelfettah, Maître de conférences Classe « A » à l'université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour son aide précieuse ainsi que son accord pour examiner ce travail. Veuillez trouver dans cet ouvrage l'expression de mes plus profonds respects et mon entière reconnaissance.

Je remercie très chaleureusement Madame KAZI TANI- BABA AHMED Zahia Z., directrice du laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie, synthèse et activité biologique (LapSab) », faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, université Aboubekr Belkaïd Tlemcen pour m'avoir accueilli dans son laboratoire. Je la remercie pour son aide précieuse, son soutien et sa disponibilité.

Mes sincères remerciements à Monsieur CHERIFI Achraf pour la réalisation des microphotographies en Microscopie Electronique à Balayage.

Je tiens aussi à mentionner le plaisir que j'ai eu en travaillant au sein du laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique » et j'en remercie l'ensemble des doctorants ainsi que les ingénieurs du laboratoire pour leur aide et leur amitié.

Je remercie également le directeur du Centre Hospitalo-Universitaire de Tlemcen et les chefs des services de chirurgie ortho-traumatologie, neurologie médicale et service d'anesthésie-réanimation ainsi que l'ensemble du personnel pour leur aide et leur collaboration.

Je ne saurais oublier tous ceux qui m'ont apporté leurs savoir-faire, leur aide, leurs expériences nécessaires pour la réalisation et le développement de ce travail.

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1:</b> Répartition des prélèvements par service et par type de dispositif médical.....	30
<b>Tableau 2:</b> Répartition des prélèvements donnant une culture positive par type de dispositif médical et par service .....	31
<b>Tableau 3:</b> Répartition des prélèvements de culture positive selon la nature des microorganismes (bactérienne-fongique-mixte) par service et par dispositif médical.....	32
<b>Tableau 4:</b> Les différents types d'infectivités microbiennes dans les trois services du CHU de Tlemcen. ....	34
<b>Tableau 5:</b> Les différents types d'infectivités en fonction du dispositif médical et du groupe microbien. B*: Bactérienne, F*: Fongique, M*: Mixte .....	37
<b>Tableau 6:</b> Répartition des espèces de <i>Candida non albicans</i> isolées par service au CHU de Tlemcen. ....	43
<b>Tableau 7:</b> Répartition des espèces de <i>Candida non albicans</i> isolées par type de dispositif médical au CHU de Tlemcen. ....	44
<b>Tableau 8:</b> Répartition des espèces bactériennes co-isolées avec les espèces de <i>Candida non albicans</i> par type de dispositif médical au niveau des trois services du CHU de Tlemcen. ....	46
<b>Tableau 9:</b> Répartition des espèces bactériennes co-isolées avec les espèces de <i>Candida non albicans</i> au CHU de Tlemcen. ....	47
<b>Tableau 10:</b> Infectivité mixte ( <i>Candida non albicans</i> / bactéries) en fonction du type de dispositif médical et du service au CHU de Tlemcen.....	48
<b>Tableau 11 :</b> Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes à Gram négatif co-isolées avec les espèces de <i>Candida non albicans</i> au CHU de Tlemcen. ....	52
<b>Tableau 12 :</b> Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes à Gram positif co-isolées avec les espèces de <i>Candida non albicans</i> au CHU de Tlemcen. ....	53
<b>Tableau 13:</b> Répartition des espèces de <i>Candida non albicans</i> isolées en fonction de l'activité métabolique des cellules adhérentes. ....	59
<b>Tableau 14:</b> Classification des isolats cliniques de <i>Candida non albicans</i> selon leur capacité à former des biofilms sur le RPMI 1640 et le bouillon Tryptone Soja. ....	66
<b>Tableau 15:</b> Classification des espèces bactériennes co-isolées avec les levures <i>Candida non albicans</i> selon leurs capacités à former des biofilms sur le RPMI 1640 et le bouillon Tryptone Soja .....	72

<b>Tableau 16:</b> Les différentes associations de biofilm mixte <i>Candida non albicans</i> / bactéries isolées des dispositifs médicaux au CHU de Tlemcen.....	73
<b>Tableau 17:</b> Densités optiques des biofilms multi-espèces formés par <i>Candida non albicans</i> /bactéries à différentes proportions après 48h d'incubation. ....	80

## Liste des figures

<b>Figure 1 :</b>	Etape de formation de biofilm (Sauer K. et coll., 2022).....	8
<b>Figure 2 :</b>	Principaux mécanismes de résistance et/ou de tolérance aux antifongiques dans les biofilms de <i>C. albicans</i> ((Kaur J. et Nobile C., 2023).....	11
<b>Figure 3 :</b>	Mécanisme de résistance des biofilms bactériens chez les bactéries à gram positif et à gram négatif (Mohamad F. et coll., 2023) .....	12
<b>Figure 4 :</b>	Stratégies de revêtement antimicrobien pour les dispositifs médicaux (Ricardo S. et coll., 2020) .....	13
<b>Figure 5 :</b>	Stratégie de la solution verrouillée dans le traitement de biofilms sur les dispositifs médicaux (Kaur M. et coll., 2023 modifié).....	15
<b>Figure 6 :</b>	Les différents types d'infectivités en fonction du groupe microbien (Levures, bactéries, levures +bactéries).....	35
<b>Figure 7 :</b>	Répartition des types d'infectivités selon l'âge.....	39
<b>Figure 8 :</b>	Répartition des types d'infectivités selon la durée de pose.....	40
<b>Figure 9 :</b>	Répartition des types d'infectivités selon l'antibiothérapie .....	41
<b>Figure10 :</b>	Distribution du taux des espèces bactériennes co-isolées avec les levures <i>Candida non albicans</i> au CHU de Tlemcen .....	45
<b>Figure11 :</b>	Concentrations minimales inhibitrices de l'amphotéricine B vis-à-vis des <i>Candida non albicans</i> isolées .....	51
<b>Figure12 :</b>	Concentrations Minimales Inhibitrices de l'amphotéricine B vis-à-vis des cellules planctoniques et sessiles des <i>Candida non albicans</i> après 48h d'incubation... ..	57
<b>Figure13 :</b>	Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique <i>Candida tropicalis</i> (souche T1-T9) .....	61
<b>Figure14 :</b>	Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique <i>Candida glabrata</i> (souche G1-G4).....	62
<b>Figure15 :</b>	Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique <i>Candida parapsilosis</i> (souche P1-P3).....	64
<b>Figure16 :</b>	Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique <i>Candida famata</i> (souche F1-F3).....	65
<b>Figure17 :</b>	Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique <i>Candida non albicans</i> .....	67

<b>Figure18 :</b>	Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm mono- espèce des bactéries à Gram négative.....	69
<b>Figure19 :</b>	Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm mono- espèce des bactéries à Gram positive.....	70
<b>Figure20 :</b>	Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm bactérien mono-espèce .....	71
<b>Figure21 :</b>	Biomasse des biofilms mixtes <i>Candida tropicalis</i> / bactéries co-isolées en fonction du milieu de culture.....	75
<b>Figure22 :</b>	Biomasse des biofilms mixtes <i>Candida glabrata</i> /bactéries co-isolées en fonction du milieu de culture .....	76
<b>Figure23 :</b>	Biomasse des biofilms mixtes <i>Candida parapsilosis</i> / bactéries co-isolées en fonction du milieu de culture.....	77
<b>Figure24 :</b>	Biomasse des biofilms mixtes <i>Candida famata</i> / bactéries co-isolées en fonction du milieu de culture .....	78
<b>Figure25 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours <i>C. tropicalis</i> / <i>E. coli</i> .....	85
<b>Figure26 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>C. tropicalis</i> / <i>P. stuartii</i> (souche n°1) .....	86
<b>Figure27 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>Candida tropicalis</i> / <i>P. stuartii</i> (souche n°2) .....	88
<b>Figure28 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>Candida tropicalis</i> / <i>P. mirabilis</i> (souche n°1).....	89
<b>Figure29 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>Candida tropicalis</i> / <i>P. mirabilis</i> (souche n°2). .....	90
<b>Figure30 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>C. tropicalis</i> / <i>E. coli</i> / <i>S. aureus</i> . .....	91
<b>Figure31 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>Candida tropicalis</i> / <i>A. baumannii</i> / <i>E. cloacae</i> .....	93
<b>Figure32 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>C. tropicalis</i> / <i>P. stuartii</i> / <i>P. aeruginosa</i> .....	94
<b>Figure33 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>C. glabrata</i> / <i>S. epidermidis</i> . .....	96

<b>Figure34 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>C. glabrata</i> / <i>P. mirabilis</i> .....	97
<b>Figure35 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>C. glabrata</i> / <i>P. stuartii</i> / <i>S. aureus</i> . .....	98
<b>Figure36 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>C. parapsilosis</i> / <i>P. mirabilis</i> / <i>S. epidermidis</i> .....	100
<b>Figure37 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>C. parapsilosis</i> / <i>A. baumannii</i> / <i>S. epidermidis</i> . .....	101
<b>Figure38 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>C. famata</i> / <i>S. epidermidis</i> .....	103
<b>Figure39 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>C. famata</i> / <i>K. pneumoniae</i> / <i>P. mirabilis</i> .....	104
<b>Figure40 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de <i>C. famata</i> / <i>E. coli</i> / <i>P. aeruginosa</i> / <i>S. aureus</i> . .....	105
<b>Figure41 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 24h de <i>Candida tropicalis</i> / <i>P. mirabilis</i> . .....	107
<b>Figure42 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 24h de <i>Candida glabrata</i> / <i>P. stuartii</i> / <i>S. aureus</i> . .....	108
<b>Figure43 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 24h de <i>C. parapsilosis</i> / <i>P. mirabilis</i> / <i>S. epidermidis</i> . .....	110
<b>Figure44 :</b>	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 24h de <i>C. famata</i> / <i>E. coli</i> / <i>P. aeruginosa</i> / <i>S. aureus</i> . .....	111
<b>Figure45 :</b>	Effet de la solution verrou de l'acide acétylsalicylique sur les biofilms mixtes <i>Candida non albicans</i> /bactéries .....	114

## Liste des photos

- Photo N°01 :** Observations au Microscope Electronique à Balayage des biofilms mixtes formés sur cathéter veineux périphérique par *C. tropicalis*/*P. mirabilis* sur milieu TSB avant et après traitement par la solution verrou amphotéricine B (1mg/mL) + EDTA (30mg/ mL)..... **117**
- Photo N°02 :** Observations au Microscope Electronique à Balayage des biofilms mixtes formés sur cathéter veineux périphérique par *C. parapsilosis*/*A. baumannii*/*S. epidermidis* sur milieu TSB avant et après le traitement par la solution verrouillée l'amphotéricine B (1mg/mL) + EDTA (30mg/ mL)..... **118**

## Liste des abréviations

AmB	: Amphotéricine B
BHIB	: Brain Heart Infusion Broth
CMI	: Concentration Minimale Inhibitrice
DO	: Densité optique
EDTA	: Ethylène Diamine Tétra Acétique
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute medium
TSB	: Tryptic soy broth

## SOMMAIRE

<b>Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>Partie bibliographique.....</b>	<b>5</b>
1. Etapes de la formation des biofilms.....	8
1.1. L'adhésion réversible.....	8
1.2. L'adhésion irréversible.....	8
1.3. Le développement et la maturation du biofilm.....	9
1.4. La dispersion.....	9
2. Régulation de la formation de biofilms.....	9
3. Mécanisme de résistance des biofilms aux antimicrobiens :.....	10
4. Lutte anti-biofilms.....	13
<b>Matériel et méthodes.....</b>	<b>17</b>
1. Prélèvements.....	18
2. Dénombrements.....	18
3. Mise en culture.....	19
4. Isolement et purification.....	19
5. Identification.....	19
5.1. Identification des levures.....	19
5.1.1 Milieu chromogénique (CHROMagar ® <i>Candida</i> ).....	19
5.1.2. Identification par les Galeries Api <i>Candida</i> .....	20
5.2. Identification des bactéries.....	20
6. Tests de sensibilités aux antimicrobiens.....	21
6.1. Tests de sensibilité aux antifongiques.....	21
6.1.1 Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices des cellules planctoniques.....	21
6.1.2 Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices Sessiles (SCMI).....	21
6.2. Tests de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme).....	23

7.	Evaluation de la capacité des souches isolées à former des biofilms .....	23
7.2.	Mesure de la biomasse dans le biofilm par la coloration au Crystal violet .....	24
8.	Evaluation de l'activité antimicrobienne des solutions verrous sur la formation de biofilm mixte ( <i>Candida non albicans</i> - bactéries).....	25
8.1.	Préparation des solutions verrous .....	25
8.2.	Effet de la solution verrou sur des biofilms mixtes de 5 jours.....	25
8.3.	Effet de la solution verrou sur des biofilms mixtes de 24-48heures .....	26
8.3.1	Protocole de Raad et <i>coll.</i> (2008).....	26
8.3.2	Protocole de Chan et <i>coll.</i> (2021) .....	26
9.	Etude statistique .....	26
10.	Observation par microscopie électronique à balayage (MEB) .....	26
<b>Résultats et discussions.....</b>		<b>28</b>
1.	Prélèvements .....	29
2.	Détermination des différents types d'infectivités : .....	33
3.	Facteurs de risque et type d'infectivité :.....	39
3.1.	Infectivité et âge : .....	39
3.2.	Infectivité et durée cathétérisme : .....	40
3.3.	Infectivité et antibiothérapie :.....	41
4.	Identification des espèces microbiennes .....	42
5.	Test de sensibilité aux antimicrobiens .....	49
5.1.	Evaluation de la sensibilité des levures à l'amphotéricine B.....	49
5.2.	Evaluation de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.....	50
6.	Evaluation du potentiel des souches isolées à former les biofilms .....	56
6.1.	Evaluation du potentiel de formation de biofilm fongique .....	56
6.1.1	Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices des cellules Sessiles (SCMI) (Ramage et <i>coll.</i> , 2001).....	56
6.2.	Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm .....	59
6.2.1	Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique mono espèce .....	60

6.2.2	Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm bactérien.....	68
7.	Evaluation du potentiel à former des biofilms mixtes .....	73
8.	Evaluation de l'activité antimicrobienne des solutions verrous sur la formation de biofilm mixte ( <i>Candida non albicans</i> - bactéries).....	84
8.1.	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mature de 5jours.....	84
8.1.1.	Effet antimicrobien de la solution verrou sur les biofilms mixtes <i>Candida tropicalis</i> / bactéries .....	84
8.1.2.	Effet antimicrobien de la solution verrou sur les biofilms mixtes <i>Candida glabrata</i> / bactéries	95
8.1.3.	Effet antimicrobien de la solution verrou sur les biofilms mixtes <i>C. parapsilosis</i> / .....	99
	bactéries .....	99
8.1.4.	Effet antimicrobien de la solution verrou sur les biofilms mixtes <i>C. famata</i> / .....	102
	bactéries .....	102
8.2.	Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mature de 24- 48h.....	106
8.2.1	Effet de la solution verrou de l'Acide Ethylène Diamine Tetra-acétique (EDTA) et l'Amphotéricine B sur les biofilms mixtes ( <i>Candida non albicans</i> / bactéries) de 24h.....	106
8.2.2	Effet la solution verrou de l'Acide acétylsalicylique (aspirine) sur les biofilms mixtes ( <i>Candida non albicans</i> / bactéries) de 48h. ....	113
9.	Observation des biofilms multi-espèces au Microscope Electronique à Balayage (MEB) avant et après l'addition de la solution verrouillée .....	116
	<b>Conclusion générale.....</b>	<b>119</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>123</b>
	<b>Annexes .....</b>	<b>147</b>

---

---

# Introduction

---

---

Le cathétérisme vasculaire et urinaire sont des actes routiniers dans les centres hospitaliers ce qui expose les patients au risque infectieux dont la physiopathologie est étroitement liée à la présence des microorganismes sur ces implants [(Di Domenico E. et coll., 2022) ; (Araújo D. et coll., 2024) ; (Joana P. et coll., 2024)]. L'augmentation du nombre de patients immunodéficients, le cathétérisme prolongé des patients hospitalisés, la résistance accrue de certains microorganismes aux traitements habituels ainsi que l'émergence de nouvelles espèces pathogènes sont autant de facteurs favorisant le développement d'infections aussi bien fongiques que bactériennes [(Merzougui L. et coll., 2018) ; (Rodrigues M. et coll., 2019)]. De même, les levures et les bactéries sont souvent co-isolées [(Seghir A. et coll., 2017) ; (Thakre R., et coll., 2024)]. Cette association levures-bactéries est d'autant plus virulente ce qui augmente le risque infectieux et la difficulté de la prise en charge médicale [(Khatoon Z. et coll., 2018) ; (Babushkina I. et coll., 2020)].

De plus, l'ampleur des candidoses invasives qui sont le plus souvent liées à l'utilisation de dispositifs médicaux [(Deorukhkar S. et coll., 2014) ; (Rodrigues M. et coll., 2019) ; (Di Domenico E. et coll., 2022)], est accompagnée d'une augmentation de l'incidence de certaines espèces auparavant peu représentées comme d'importants agents infectieux, il s'agit des espèces de *Candida* autres que *Candida albicans* qui sont généralement graves, rapidement évolutives et de diagnostic souvent difficile constituant une préoccupation majeure à l'échelle mondiale [(Malinovská Z. et coll., 2023) ; (Tornerio F. et coll., 2023)].

La capacité à former des biofilms est considérée comme un facteur de virulence important pour les microorganismes pathogènes. Il s'agit d'une structure vivante, dynamique, en perpétuel remaniement, composée de cellules fixées dans une matrice auto-synthétisée de substances de polymères extracellulaires [(De Paula S. et coll., 2014) ; (Serra D. et Klauck, G., 2015) ; (Satish S. et coll., 2023)]. Le potentiel de servir de réservoir infectieux pour une variété de bactéries et de levures, rend les biofilms difficiles à diagnostiquer et à traiter, nécessitant des stratégies complexes de traitement poly- chimiothérapie (Dos Santos A. et coll., 2018).

Même si les techniques aseptiques sont scrupuleusement respectées, le développement du biofilm est rapide et inéluctable sur la plupart des matériaux utilisés en médecine humaine (Gaston J. et coll., 2020). Ce mode de croissance confère certains avantages à ses membres, notamment l'échange de substrat, la résistance aux médicaments antimicrobiens, au système immunitaire, aux contraintes mécaniques et environnementales, à la capacité d'adhésion, aux sources nutritionnelles et à la communication cellulaire (Dos Santos A. et coll., 2018).

En raison de l'hétérogénéité des microorganismes présents dans la flore humaine, les biofilms

## INTRODUCTION

---

qui peuvent être générés sont le plus souvent polymicrobiens, impliquant soit des espèces du même genre, soit des espèces de différents règnes (**Shirtliff M. et coll., 2009**). En effet, la diversité, la complexité et les différents pathogènes associés aux biofilms polymicrobiens peuvent contribuer de manière significative à des implications cliniques graves (**Ribeiro S. et coll., 2016**).

Les données actuelles montrent que les mécanismes par lesquels les espèces bactériennes et levuriennes coexistent en harmonie dans les biofilms mixtes sont mal compris, alors que ces réservoirs infectieux sont difficiles à éliminer nécessitant ainsi des stratégies complexes de traitements poly-chimio-thérapeutiques. L'étude des mécanismes qui régissent leur formation donne la possibilité de découvrir des procédés ou des molécules limitant le développement des biofilms et réduire ainsi le risque d'infections mixtes chez l'homme.

La gestion de ces infections liées aux implants médicaux consiste à retirer et à remplacer le dispositif infecté et à utiliser un traitement antimicrobien systémique. Cependant, le retrait du dispositif infecté n'est pas une solution adéquate chez la majorité des patients (**Chaves F. et coll., 2018**).

L'une des stratégies thérapeutiques visant à inhiber ou éradiquer la multiplication microbienne sur les dispositifs médicaux est l'utilisation de solutions de verrouillage [(**Blanco -Di Matteo M. et coll., 2023**) ; (**Petratiene R. et coll., 2024**)]. Cette technique est recommandée par les directives actuelles dans le cadre de la gestion des infections liées aux cathéters [(**Pittiruti M. et coll., 2016**) ; (**Alonso B. et coll., 2020**) ; (**Signorino C. et coll., 2023**)]. Elle consiste à instiller de fortes concentrations d'une solution antimicrobienne dans la lumière du cathéter pendant une période appropriée afin d'éradiquer les bactéries et les champignons incrustés dans le biofilm microbien intra-luminal du cathéter (**Buonsenso D. et coll., 2022**).

Bien que les directives cliniques pour l'utilisation des solutions de verrouillage pour les biofilms polymicrobiens ne soient pas encore développées, les études disponibles suggèrent une efficacité des solutions de verrouillage dans la gestion des infections mono-espèces liées aux cathéters [(**Akbari F. et coll., 2015**) ; (**Chandra J. et coll., 2018**) ; (**Petratiene R. et coll., 2024**)].

C'est dans ce cadre de recherche que s'inscrit notre travail qui a pour objectif d'étudier la capacité de formation et d'inhibition des biofilms mixtes *Candida non albicans*-bactéries isolées des dispositifs médicaux au centre hospitalo-universitaire de Tlemcen.



---

---

# **Partie bibliographique**

---

---

Les micro-organismes, tous groupes confondus (levures et bactéries), vivent en communauté dans l'environnement. En pathologie humaine ces ensembles polymicrobiens sont à l'origine d'infections mixtes, et peuvent interagir d'une manière synergique ou antagoniste. Ces infections sont de plus en plus fréquentes et représentent un véritable problème de santé publique [(**Khatoon Z. et coll., 2018**) ; (**Babushkina I. et coll., 2020**) ; (**Thakre R., et coll., 2024**)]. Bien que les espèces pathogènes soient capables d'une vie libre dans un environnement liquide (vie planctonique), l'agglomération dans une structure plurimicrobienne dite biofilm représente leur mode de croissance le plus fréquent dans la nature [(**Flemming H. et coll., 2019**) ; (**Coenye T. et coll., 2024**)]. Il s'agit de communautés complexes et dynamiques structurées de cellules microbiennes, intégrées dans une matrice autoproduite de polymères extracellulaires et d'autres biomolécules fixées à une interface avec une architecture tridimensionnelle qui peut contenir de nombreuses espèces qui évoluent et interagissent entre elles et avec leur environnement [(**Satish S. et coll., 2023**) ; (**Coenye T. et coll., 2024**) ; (**Thakre R., et coll., 2024**)]. Le potentiel de servir de réservoir infectieux pour une variété de micro-organismes, rend les biofilms plus compliqués, difficiles à diagnostiquer, nécessitant ainsi des stratégies complexes de traitements poly-chimio-thérapeutiques [(**Melo A. et coll., 2011**) ; (**Nieminen et coll., 2014**)].

Les bactéries et les levures du genre *Candida* se retrouvent souvent dans des biofilms multi-espèces. La recherche sur les interactions fongiques-bactériennes est en plein essor depuis les années 2000, certaines études ont exploré les interactions entre les levures du genre *Candida* et les bactéries dans les infections opportunistes à biofilm [(**Wang A. et coll., 2007**) ; (**Shircliff M. et coll., 2009**) ; (**Chen M. et Sun H., 2013**) ; (**Barros J. et coll., 2022**)]. De même, la présence des *Candida* dans des biofilms polymicrobiens dans le tractus gastro-intestinal est associée à des taux de mortalité bien plus élevés que ceux des biofilms polymicrobiens uniquement bactériens (75 % contre 30 %) (**Baddour L. et coll., 2015**). En outre, plusieurs espèces de *Candida*, telles que *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* et *C. krusei*, ont été retrouvées en association avec d'autres espèces bactériennes [(**Baddour L. et coll., 2015**) ; (**Ramstedt M. et Burmølle M., 2022**)].

En général, les biofilms multi-espèces présentent une meilleure aptitude et une plus grande capacité à résister à différents types de stress. Cela peut se traduire par une augmentation de la biomasse du biofilm, une tolérance accrue aux antibiotiques et une plus grande capacité à se développer en dehors de la niche écologique prévue (**Gaston J. et coll., 2020**).

Les interactions au sein des biofilms multi-espèces sont toutefois complexes et gouvernées par de nombreux facteurs, tels que, le taux de croissance et le type de micro-organismes, la formation des substances polymériques extracellulaires, les caractéristiques de la surface (rugosité, hydrophobicité) ou de l'interface (solide, liquide ou gaz) et le temps de contact [(Ramstedt M. et Burmølle M., 2022) ; (Coenye T. et coll., 2024)]. L'attachement nécessite aussi des équipements enzymatiques précis, dont l'activation dépend de plusieurs facteurs environnementaux tels que le pH, la source de carbone ainsi que la température, la concentration en oxygène et certains cations (Martinez L., 2010). De même, l'architecture, la cinétique, les interactions entre les microorganismes dans les biofilms polymicrobiens et les composantes réglementaires contrôlant la formation du biofilm varient d'un pathogène à l'autre [(Wimpenny J. et coll., 2000) ; (Burmølle M. et coll., 2014) ; (Floyd K. et coll., 2017)].

Le maintien d'un biofilm multi espèces comme une organisation dynamique implique un équilibre rigoureux des microorganismes qui bascule de la synergie à l'antagonisme selon les conditions environnantes notamment la composition du milieu de culture qui favorise une adhésion différente des bactéries et des levures sur les supports [(Molin S. et coll., 2004) ; (Fracchia L. et coll., 2010) ; (Serrano I. et coll., 2015)]. À savoir, la capacité des levures à métaboliser le glucose disponible module le pH du milieu et le rend favorable à certaines bactéries (Romano J. et Kolter R., 2005) ou encore le lactate excrété par les streptocoques en tant que source de carbone pour la croissance de certaines levures (Holmes A. et coll., 2006).

Plusieurs interactions polymicrobiennes peuvent soutenir la virulence et la pathogénicité des *Candida* et des bactéries tout en ayant un impact distinctif sur la réponse immunitaire pathogène-hôte (Lebeaux D. et coll., 2014). L'étude de Levison M. et Pitsakis P. (1999) a montré que l'adhésion de *C. albicans* aux surfaces est renforcée par certaines bactéries comme *Escherichia coli* au niveau de la muqueuse vésicale dans les infections des voies urinaires.

En revanche, les études de Kerr J. (1999) et Solano C. et coll. (2014) ont montré que, la croissance de *C. albicans* est inhibée par la pyocyanine et le 1-Hydroxyphenazin, deux substances sécrétées par *Pseudomonas aeruginosa*. Ces composés ont un pouvoir antifongique, avec des concentrations minimales inhibitrices comparables à celles de l'amphotéricine B envers *C. albicans* [(Landini P. et coll., 2010) ; (Solano C. et coll., 2014)].

Les travaux de **Gourari-Bouzouina K. et coll. (2024)** montrent quant à eux que les infections de la fibrose kystique impliquent souvent des biofilms polymicrobiens à *C. tropicalis* associée à *S. aureus*, qui sont difficiles à éradiquer.

Même si les techniques aseptiques sont scrupuleusement respectées, le développement du biofilm est rapide et inéluctable sur la plupart des matériaux utilisés en médecine humaine (**Gaston J. et coll., 2020**). La formation de biofilms sur les surfaces des dispositifs médicaux par les micro-organismes peut se produire dans les 24 heures suivant l'insertion et sont omniprésentes et persistantes [(**Ebrey R. et coll., 2004**) ; (**Gominet M. et coll., 2017**) ; (**Fergus W. et coll., 2023**)].

L' utilisation des dispositifs médicaux invasifs est de plus en plus courante dans les systèmes de santé modernes, à savoir les cathéters intravasculaires tels que les cathéters veineux centraux et périphériques et les sondes vésicales [(**Barros J. et coll., 2022**) ; (**Fergus W. et coll., 2023**)].

Le biofilm est composé de 10 % de masse microbienne et de 90 % d'eau. De 50 à 90 % de la totalité de la composition organique des biofilms est attribuée aux polysaccharides qui forment la matrice. Les chaînes de polysaccharides sont tissées ensemble dans une structure dense, semblable à une maille. Les groupes hydroxyles des polysaccharides augmentent la résistance mécanique en interagissant les uns avec les autres [(**Sutherland I., 2001**) ; (**Donlan M., 2002**) ; (**Singh S. et coll., 2021**)]. L'architecture du biofilm peut contenir des ions chargés positivement, tels que  $\text{Ca}^{2+}$  ou  $\text{Mg}^{2+}$ , qui forment des ponts transversaux de soutien entre les polymères et permettent aux biofilms de croître (**Vandana et Das, 2021**).

Le mécanisme de la formation de biofilm passe par plusieurs étapes qui nécessite la présence et l'interaction de microorganismes quels qu'ils soient bactériens ou fongiques et quelle que soit la surface (biotique ou abiotique). Les étapes de la formation d'un biofilm illustrées dans la figure 1 sont : l'adhésion réversible, l'adhésion irréversible, la synthèse et la sécrétion des substances polymériques extracellulaires (EPS), la maturation et la dispersion.



Figure 1 : Etapes de formation de biofilm *in-vitro* (Sauer K. et coll., 2022)

### 1. Etapes de la formation des biofilms

#### 1.1. L'adhésion réversible

C'est une étape courte, de l'ordre de minute au cours de laquelle les cellules planctoniques sont transportées à la surface de l'objet par convection, mouvement brownien, ou par sédimentation (Kranjec C. et coll., 2021). Au cours de cette phase, des interactions physicochimiques de faible énergie telles que les forces de Van Der Waals, les interactions hydrophobes et électrostatiques favorisent l'adhésion microbienne aux surfaces des biomatériaux et contribuent à la formation de biofilms [(Gupta P. et coll., 2016) ; (Stoica P. et coll., 2017) ; (Carniello V. et coll., 2018) ; (Khatoon Z. et coll., 2018)]. En raison de la faible adhésion entre les cellules planctoniques et la surface des matériaux biologiques, le stade initial de l'adhésion n'est pas absolu mais constitue un processus réversible [(Khatoon Z. et coll., 2018) ; (De Silva L. et Heo G., 2022)].

#### 1.2. L'adhésion irréversible

C'est une étape plus longue, de l'ordre de l'heure, qui nécessite des adhésines produites par les cellules. Après cette étape, l'organisme devient fermement attaché à la surface d'une manière permanente. Les cellules commencent à synthétiser et à sécréter les polymères de la matrice extracellulaire permettant aux microorganismes de consolider leur fixation sur la surface

[(Renner L. et Weibel D., 2011) ; (bakhsh N. et Namvar A., 2016) ; (Pierrat X. et coll., 2021) ; (Pietrocola G. et coll., 2022)].

### 1.3. Le développement et la maturation du biofilm

La synthèse des exo-polysaccharides, qui débute dès les premières étapes de l'adhésion, se poursuit pendant la maturation du biofilm et la matrice peut alors occuper jusqu'à 75 à 95% du volume d'un biofilm mature [(Baudin M., 2017) ; (Abebe G., 2020)]. La sécrétion des substances polymériques extracellulaires aide à stabiliser la structure du biofilm et l'empêche d'être attaqué par des agents antibactériens et des cellules immunitaires (Fu H. et coll., 2022). La maturation du biofilm se caractérise par une augmentation globale de la densité et de la complexité du biofilm due à la réplication active des microorganismes liés à la surface, à l'interaction entre les particules organiques et inorganiques à proximité immédiate et les composants extracellulaires générés pour créer la matrice extracellulaire et dominer la contribution physique et chimique à l'attachement par un processus biologique (Kranjec C. et coll., 2021).

### 1.4. La dispersion

C'est l'étape permettant aux microorganismes au sein du biofilm de retourner à un état planctonique. Celle-ci permet aux microorganismes de promouvoir une diversité génétique, de fuir un environnement défavorable ou bien de coloniser de nouvelles niches écologiques engendrant la formation d'autres biofilms. Les formes planctoniques ainsi libérées peuvent conserver des caractéristiques des cellules du biofilm, comme l'antibiorésistance [(Gupta P. et coll., 2016) ; (Fleming D. et coll., 2017) ; (Shen D. et coll., 2018) ; (Wang D. et coll., 2023) ; (Öztürk F. et coll., 2023)]. La dispersion des biofilms peut être en mode actif initié par les microorganismes eux-mêmes du biofilm afin de s'échapper de celui-ci [(Baudin M., 2017) ; (Wille J. et Coenye T., 2020)], ou en mode passif dû à des forces externes appliquées au biofilm qui décrochent les cellules du biofilm [(Davies D., 2011) ; (McDougald D. et coll., 2012) ; (Khatoun Z. et coll., 2018) ; (Jamal M. et coll., 2018) ; (Wille J. et Coenye T., 2020)].

## 2. Régulation de la formation de biofilms

Le passage d'un mode de vie planctonique à un mode biofilm est un processus dynamique complexe régulé par le quorum sensing, un système de communication intercellulaire qui repose sur des molécules de signalisation diffusibles (Gupta P. et coll., 2016).

Différentes molécules de signalisation sont sécrétées par les bactéries à savoir l'homosérine lactone acylée (AHL) sécrétée par les bactéries à Gram négatif (Kumar et coll., 2013), le

peptide auto-inducteur (AIP) sécrété par les bactéries à Gram positif et l'auto-inducteur-2 (AI-2) sécrété par les bactéries à Gram négatif et à Gram positif (**Wang Y. et coll., 2022**).

Concernant les levures, plusieurs molécules auto inductrices ont été décrites parmi lesquelles :

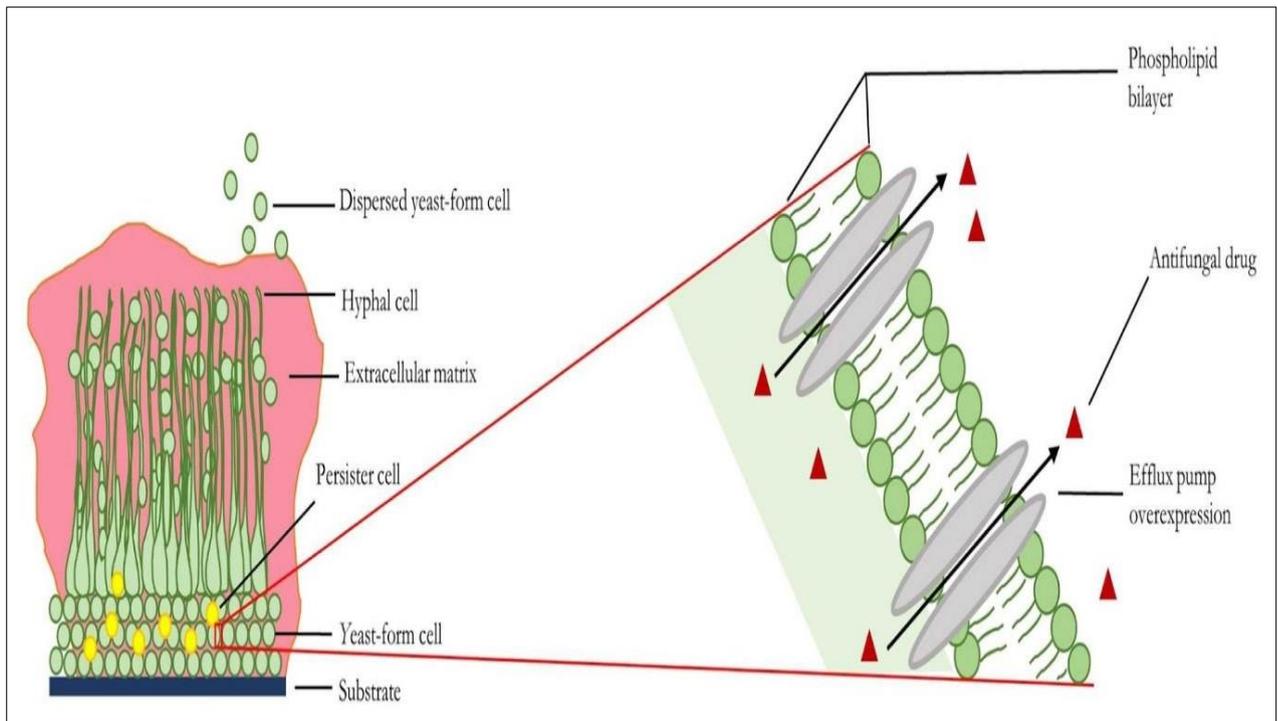
- Le Morphogenic Auto Regulatory Substance (MARS) qui permet la répression de la germination (**Solano C. et coll., 2014**).
- Le farnésol qui inhibe la formation des hyphes et la colonisation des surfaces et augmente la résistance des levures aux antifongiques en maintenant l'intégrité de la paroi cellulaire [(**Williams P. et Cámara M., 2009**) ; (**Nett J. et coll., 2009**) ; (**Solano C. et coll., 2014**)].
- Le tyrosol, qui contrairement au farnésol accélère la formation des tubes germinatifs (**Chen H. et coll., 2004**).

La synthèse du farnésol et du tyrosol diffère selon les phases du développement des biofilms, et la réponse cellulaire au quorum sensing s'accorde avec l'accumulation de l'un ou de l'autre durant la phase correspondante [(**Monds R. et O'toole G., 2008**) ; (**Solano C. et coll., 2014**)].

### **3. Mécanisme de résistance des biofilms aux antimicrobiens :**

Le biofilm limite la pénétration des substances à travers la matrice extracellulaire et empêche ainsi l'action antimicrobienne. Il protège les pathogènes des réponses immunitaires de l'hôte et permet la dissémination hématogène des cellules, contribuant ainsi à la propagation de l'infection [(**Seneviratne C. et coll., 2008**) ; (**Cascioferro, S. et coll., 2021**) ; (**Pokharel K. et coll., 2022**)].

L'une des raisons de l'émergence de la résistance antifongique des biofilms (figure2) est que les substances polymériques extracellulaires agissent comme une barrière à la diffusion des agents antimicrobiens (**Güneş B. et Akçelik N., 2022**). Les cellules de levure dans les biofilms contenant des substances polymériques extracellulaires sont 20% plus résistantes à l'amphotéricine B que les mêmes cellules après l'élimination des substances polymériques extracellulaires [(**Mitchell K. et coll., 2015**) ; (**Sheng Y. et coll., 2023**)].



**Figure 2 : Principaux mécanismes de résistance et/ou de tolérance aux antifongiques dans les biofilms de *C. albicans* (Kaur J. et Nobile C., 2023).**

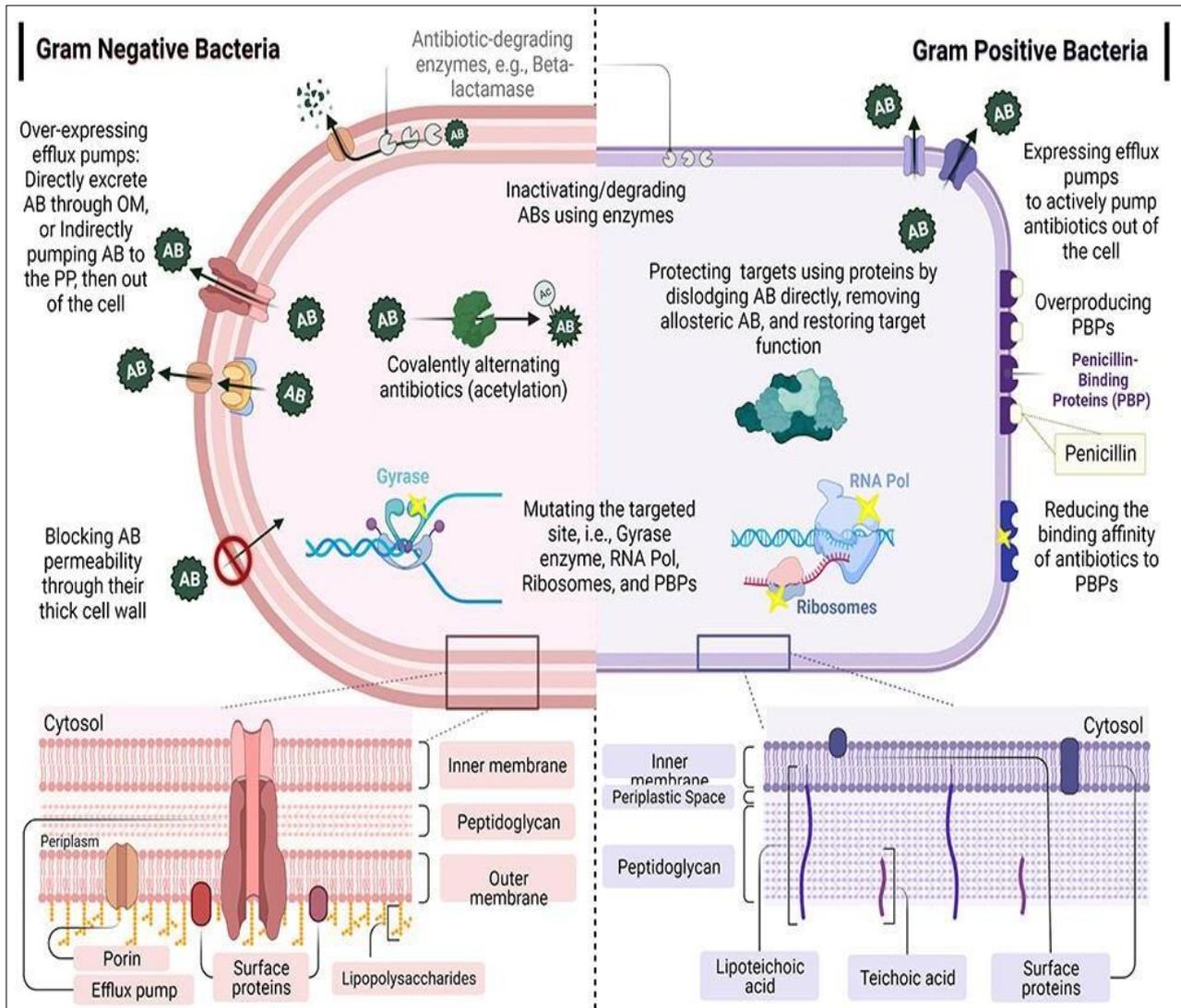
La matrice extracellulaire est une caractéristique déterminante de tous les biofilms de *Candida*, car elle protège les cellules des facteurs hostiles tels que l'immunité de l'hôte et les agents antifongiques (Silva S. et coll., 2012). Le principal composant glucidique qui joue un rôle important dans la résistance des levures *Candida* est le  $\beta$ -1,3 glucane (Mitchell K. et coll., 2015).

Les pompes à efflux contribuent également à la résistance antifongique des biofilms (figure2) [(Prasad R. et coll., 2015) ; (Khosravi K. et coll., 2016) ; (Silva S. et coll., 2017) ; (Varela M. et coll., 2023)].

Pour ce qui est des biofilms bactériens (figure3) plusieurs mécanismes de résistance ont été mis en évidence :

- La modification de l'expression des protéines des pompes à efflux [(Seukep A. et coll., 2022) ; (Gaurav A. et coll., 2023)],
- La diminution de la perméabilité membranaire et la réduction de la diffusion des petites molécules inhibitrices [(Yan J. et coll., 2018) ; (Güneş B. et Akçelik N., 2022) ; (Tian C. et coll., 2023) ; (Mishra S. et coll., 2023)],

- L'inactivation ou la dégradation des antibiotiques à l'aide d'enzymes et la mutation des sites ciblés [(Ciofu et coll., 2017) ; (Ghai I. et Ghai S., 2018) ; (Mohamed H. et coll., 2022) ; (Mohamad F. et coll., 2023)].



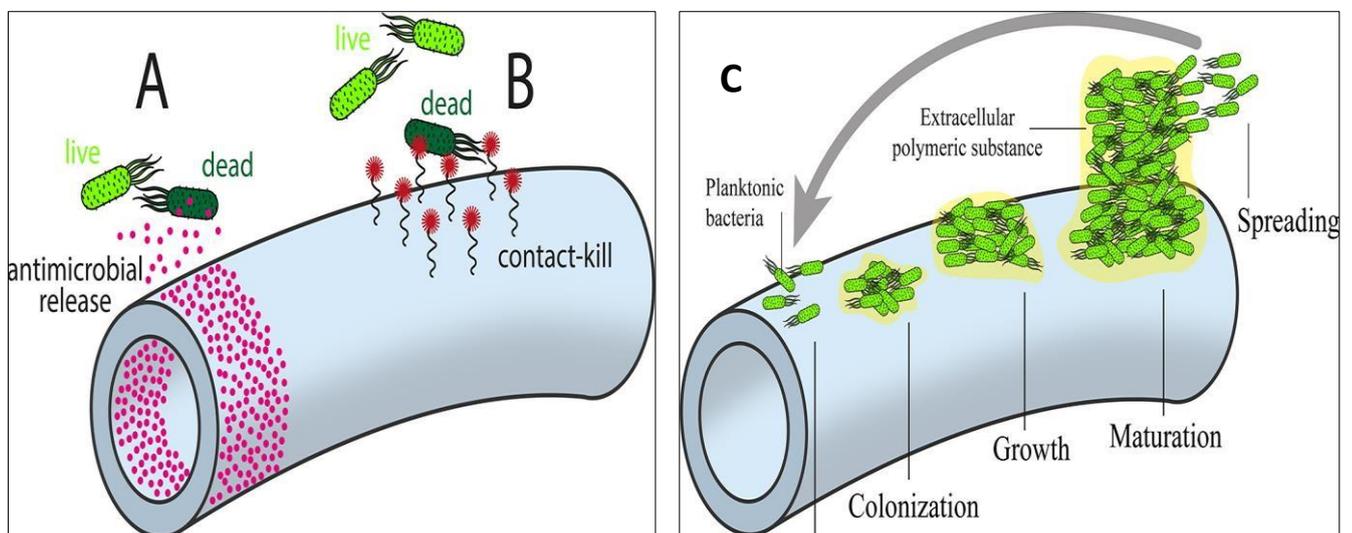
**Figure 3 : Mécanisme de résistance des biofilms bactériens (Mohamad F. et coll., 2023).**

**AB :** antibiotique ; **AC :** acétylation ; **OM :** membrane externe ; **PP :** périplasme ; **PBP :** protéines de liaison à la pénicilline ; **ARN Pol :** ARN polymérase.

#### 4. Lutte anti-biofilms

Les approches actuellement utilisées en médecine humaine pour lutter contre les biofilms peuvent être classées en deux catégories : les mesures préventives et les traitements curatifs.

Le blocage des étapes précoces du développement de biofilm peut s'effectuer soit en ciblant l'interaction entre les adhésines et leur substrat, soit en bloquant la biogenèse des structures d'adhérence elles-mêmes. La principale limite de cette approche correspond à la multiplicité des structures impliquées dans le phénomène d'adhésion (Korea C. et coll., 2011). Il a également été proposé de modifier la structure des biomatériaux afin d'inhiber les phénomènes d'adhérence réversible [(Tiller J. et coll., 2001) ; (Yang L. et coll., 2011)]. La couverture ou l'imprégnation des cathéters par des agents anticoagulants ou anti-infectieux qui réduisent l'adhérence de micro-organismes et la production de biofilm, ont également été proposée [(Hetrick E. et Schoenfisch M., 2006) ; (O'Grady N. et coll., 2011) ; (Oie Y. et coll., 2014) ; (Lown et coll., 2016) ; ; (Visek J. et coll., 2019) ; (Ricardo S. et coll., 2020) ; (Blair N. et coll., 2024)]. Dans ce contexte, un revêtement biocompatible à base de polysaccharides (le chitosan et l'acide hyaluronique) obtenu par la technique couche-par-couche, a diminué l'adhésion des levures et des bactéries et arrêté la formation du biofilm (figure 4) (Tan Y. et coll., 2016).



**Figure 4 : Stratégies de revêtement antimicrobien pour les dispositifs médicaux (Ricardo S. et coll., 2020).** (A) : Revêtement ou imprégnation à libération antimicrobienne ; (B) : revêtement tuant par contact ; (C) : Formation de biofilm en absence de revêtement antimicrobien.

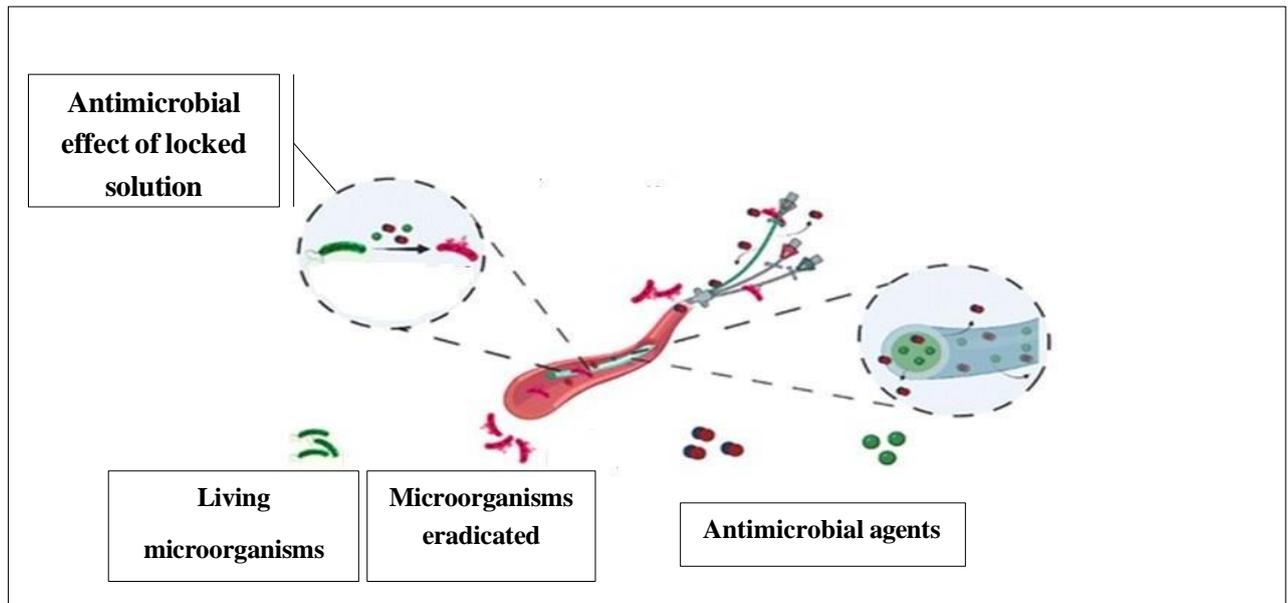
L'utilisation des huiles essentielles a permis également de limiter la formation de biofilms à *C. albicans* (levures et hyphes) et quelques espèces bactériennes (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *A. baumannii* et *K. pneumoniae*) et d'éliminer plus facilement le biofilm mixte préformé [(Budzyńska A. et coll., 2017) ; (Soliman S. et coll. 2017)].

D'autres approches ont été proposées pour disperser les biofilms infectieux comme l'utilisation d'enzymes capables de dissocier les polymères composant la matrice extracellulaire du biofilm (Flemming H. et Wingender J., 2010) ou l'utilisation de petites molécules comme le monoxyde d'azote (NO), l'acide cis-2-decenoid ou les acides aminés dextrogyres (Davies D. et Marques C., 2009).

Govaert M. et coll. (2019) et Patange A. et coll. (2019) ont quant à eux mis en évidence l'effet antibiofilm du plasma sur les micro-organismes bactériens. Le plasma froid peut détruire la matrice du biofilm par l'intermédiaire des activateurs biologiques, tels que les particules chargées, les ions, les électrons, les champs électriques et les rayons ultraviolets. (Lu X. et coll., 2016).

D'autres stratégies ont été proposées telles que l'utilisation de peptides antimicrobiens [(Baptista V. et coll., 2018) ; (Sodhi K. et Singh K., 2022) ; (Shree P. et coll., 2023)], ou l'utilisation de substance anti facteurs de virulence [(Cascioferro S. et coll., 2014) ; (Zrelows N. et coll., 2021) ; (Dehbanipour R. et Ghalavand Z., 2022)].

Malgré toutes les solutions citées plus haut et proposées pour inhiber les biofilms, actuellement, la gestion des infections liées aux cathéters consiste à retirer et à remplacer le dispositif infecté et à utiliser un traitement antimicrobien systémique. Cependant, le retrait du dispositif infecté n'est pas une solution adéquate chez la majorité des patients [(Baddour L. et coll., 2010) ; (Chaves F. et coll., 2018) ; (Fergus W. et coll., 2023)]. Une approche thérapeutique différente, appelée « traitement verrou » ou *lock therapy* peut, dans certains cas, être envisagée. Son principe repose sur le remplissage *in situ* de la lumière du cathéter par un faible volume d'une solution très concentrée en agent antimicrobien, 100 à 1000 fois la concentration minimale inhibitrice laissée en place pendant quelques heures à quelques jours. La solution concentrée joue alors un rôle de « verrou » sur la lumière du cathéter (figure5) [(O'Grady N. et coll., 2002) ; (Donlan M., 2008)].



**Figure 5 : Stratégie de la solution verrouillée dans le traitement de biofilms sur les dispositifs médicaux (Kaur M. et coll., 2023).**

Il a été démontré que l'utilisation d'une thérapie antimicrobienne par verrouillage en conjonction avec des antibiotiques systémiques est supérieure aux antibiotiques locaux seuls pour le traitement des cathéters, avec un taux de réussite supérieur à 70 % (Gompelman M. et coll., 2021). Récemment, il a été proposé d'utiliser des solutions verrous avec la taurolidine, l'éthanol ou des composés chélateurs (citrate de sodium, tétrasodium-EDTA) comme agents antimicrobiens [(Colombari B. et coll., 2021) ; (Akbarzadeh I. et coll., 2023)].

Bien que les études disponibles suggèrent une efficacité des solutions de verrouillage dans la gestion des infections mono-espèces bactériennes liées aux cathéters [(Akbari, F. et coll., 2015) ; (Chandra J. et coll., 2018) ; (Petraitiene R. et coll., 2024)], les données de la littérature concernant l'efficacité des verrous antifongiques sont moins nombreuses [(Tournu H. et Van Dijck P., 2012) ; (Chandra J. et coll., 2018)]. Des modèles de cathéters infectés traités par différents verrous antifongiques semblent avoir des activités anti biofilm à *Candida* [(Ko et coll., 2010) ; (Oncu S., 2011)]. D'autres travaux ont montré que l'acide acétylsalicylique est efficace pour réduire le biofilm fongique à *Candida non albicans* (Chan A. et coll., 2021).

Toutes les différentes solutions citées plus haut, sont proposées comme solutions de verrouillage dans le traitement des biofilms mono-espèces, mais il n'y a aucune recommandation pour l'utilisation des solutions verrous dans le traitement des biofilms polymicrobiens.

C'est pourquoi nous avons entrepris ce travail où, dans un premier temps nous avons recherché la capacité des levures *Candida non albicans* et les bactéries co- isolées d'un même dispositif médical à former des biofilms mixtes. Dans un second temps, nous avons évalué l'efficacité antimicrobienne de quelques solutions verrous sur les biofilms mixtes *Candida non albicans*-bactéries.

Le plan de travail que nous avons adopté est le suivant :

- Prélèvement de différents dispositifs médicaux implantés chez des patients hospitalisés aux services de neurologie médicale, d'anesthésie-réanimation et de chirurgie ortho-traumatologie du centre hospitalo-universitaire (CHU) de Tlemcen afin d'isoler les levures appartenant aux espèces de *Candida non albicans* et les bactéries co-existantes.
- Évaluation de la sensibilité des levures *C. non albicans* et des bactéries co-isolées aux antimicrobiens (antifongiques et antibiotiques).
- Étude de la capacité de ces pathogènes isolés à partir des mêmes dispositifs médicaux à former des biofilms mono-espèces et mixtes *C. non albicans*/bactéries co-existantes.
- Evaluation de l'efficacité antimicrobienne de solutions verrous sur les biofilms mixtes *C. non albicans*/bactéries co-isolées.

---

---

# Matériel et méthodes

---

---

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

### 1. Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués entre Janvier et Décembre 2015. L'étude concerne les patients hospitalisés dans les services de neurologie médicale, anesthésie - réanimation et chirurgie ortho-traumatologie du centre hospitalo-universitaire (CHU) de Tlemcen.

Les prélèvements ont été réalisés à partir des différents dispositifs médicaux (cathéters veineux périphériques et centraux, sondes vésicales, drains de Redon ainsi que des implants d'ostéosynthèses). Seuls les dispositifs médicaux mis en place depuis 48 heures et plus sont prélevés selon les recommandations de **Gürçüoğlu E.** et *coll.* (2010) et **Quinet (2006)**.

Pour chaque patient porteur d'un dispositif médical prélevé, nous avons établi une fiche contenant des données cliniques : l'âge, le sexe, la durée d'hospitalisation et la durée de mise en place du dispositif, la pathologie pour laquelle il est hospitalisé, les pathologies sous-jacentes ainsi que le traitement administré (annexe n°1).

Les dispositifs sont retirés des patients puis sont coupés aux extrémités distales (3 à 5 cm de longueur) et mis directement dans un tube contenant 1 mL d'eau physiologique stérile puis agités au vortex pendant deux minutes selon la technique de **Brun-Buisson** et *coll.* (1987) afin de détacher toutes les cellules adhérentes à la surface du cathéter (**Boucherit et coll., 2011**).

À partir de chaque échantillon un dénombrement et une mise en culture sont réalisés.

### 2. Dénombrements

Afin de déterminer les différents types d'infectivités, nous avons effectué un dénombrement des levures et des bactéries présentes sur le dispositif médical.

Le dénombrement des levures est effectué sur cellule de Thoma, alors que celui des bactéries est réalisé par la mise en culture de 10 $\mu$ L de l'échantillon sur une gélose de Mueller-Hinton (à 37°C pendant 24heures), afin de déterminer le nombre d'unités formant colonies (UFC).

Les différents types d'infectivités (contamination, colonisation et infection) sont déterminés en fonction du nombre de microorganismes présents sur le dispositif médical, associés aux signes locaux enregistrés :

- La contamination est définie comme une culture positive non significative (<10<sup>3</sup>UFC/mL) en absence de signes locaux ou généraux d'infection.
- La colonisation est définie comme une culture positive significative ( $\geq 10^3$ UFC/mL) en absence de signes locaux ou généraux d'infection.
- L'infection quant à elle est définie comme culture positive significative ( $\geq 10^3$ UFC/mL) en présence de signes locaux ou généraux d'infection.

### 3. Mise en culture

Dans un premier temps, à partir de chaque échantillon de départ 200µL sont prélevés et répartis à volume égal dans deux tubes différents, l'un destiné à la recherche des levures, auquel sont ajoutés 900µL de Sabouraud liquide, l'autre destiné à la recherche des bactéries auquel sont ajoutés 900 µL de bouillon nutritif. Les tubes sont ensuite mis à incuber pendant 24 à 48 heures voir 72 heures à 35°C.

Dans un second temps, afin de s'assurer que toutes les levures se détachent du dispositif médical après agitation, nous avons jeté l'eau physiologique restant dans le tube de l'échantillon initial est nous l'avons remplacée par 1mL de Sabouraud liquide. L'incubation se fait 24 à 48heures voir 72 heures à 35 °C (**Boucherit et coll., 2011**).

### 4. Isolement et purification

À partir des cultures présentant un trouble (opacité observée à l'œil nu), les deux types de microorganismes (levures et bactéries) ont été isolés et purifiés.

L'isolement des bactéries se fait d'une part sur gélose Mac Conkey afin d'isoler uniquement les bactéries à Gram négatif. D'autre part sur gélose Chapman afin d'isoler les Staphylocoques. Les levures quant à elles, sont isolées sur la gélose Sabouraud. Les différentes cultures sont mises à incuber à 37°C pendant 24 heures à 48heures.

Après purification, les souches sont conservées à 4°C sur la gélose nutritive pour les bactéries ou sur gélose Sabouraud inclinée en tube pour les souches fongiques.

### 5. Identification

#### 5.1. Identification des levures

L'identification des souches fongiques isolées est basée sur leurs caractères morphologiques sur le milieu chromogénique (CHROM agar® *Candida*) et leurs caractères biochimiques par les galeries d'identification Api *Candida* (BioMérieux®, Marcy l'Etoile, France).

##### 5.1.1 Milieu chromogénique (CHROMagar ®*Candida*)

Le CHROMagar® *Candida* est un milieu sélectif et différentiel largement utilisé pour l'identification présomptive de *Candida spp.* [(**Pfaller M. et coll., 1996**) ; (**Odds C. et Bernaerts R., 1994**)]. Ce milieu a l'avantage supplémentaire de faciliter la détection des cultures de levure non pure, puisque leurs colonies présentent des couleurs différentes (**Bauters T. et coll., 2002**).

Le test est effectué par ensemencement de l'échantillon sur la gélose CHROMagar®. Après 48h d'incubation à 35°C, la présence de substrats chromogènes dans ce milieu permet aux colonies de *C. albicans*, *C. tropicalis* et de *C. krusei* d'y produire des couleurs distinctes qui les différencient sur la boîte de Pétri d'isolement (**Murray P. et coll., 2003**). Les colonies de *C. albicans* sont d'un vert clair à moyen, celles de *C. tropicalis* sont bleu verdâtre à bleu métallisé

et celles de *C. krusei* sont rose pâle, blanchâtres en périphérie. D'autres espèces de levure peuvent prendre leur couleur naturelle (crème) ou un aspect rose ou mauve clair à foncé (*C. glabrata*).

### 5.1.2. Identification par les Galeries Api *Candida*

La galerie Api *Candida* (BioMérieux ®, Marcy l'Etoile, France) est un moyen standardisé pour l'identification des levures du genre *Candida*. Elle comprend 10 cupules contenant des substrats déshydratés pour réaliser 12 tests d'identification (acidification des sucres et réactions enzymatiques).

À partir d'une culture jeune de levure (18 à 24 heures), l'inoculum est ajusté à une concentration cellulaire de  $10^7$  cellules/mL. Celui-ci est réparti ensuite dans chacune des cupules de la galerie. Pour créer l'anaérobiose, les 5 premières cupules plus la dernière sont couvertes avec de l'huile de paraffine stérile. La galerie ainsi préparée est placée dans une étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures. Les virages de couleur dans les cupules se traduisent par l'établissement d'un code à 4 chiffres pour chaque souche. L'identification se fait à l'aide d'un tableau d'identification fourni avec les galeries. Seules les levures *Candida non albicans* sont retenues pour cette étude.

### 5.2. Identification des bactéries

L'identification des souches est établie, après vérification de leur pureté par l'étude de caractères macroscopiques (aspects des colonies sur milieu solide) et microscopiques (mobilité et coloration de Gram) (**Larpent J. et coll., 1990**). La coloration de Gram permet de différencier les micro-organismes selon la structure de leur paroi, c'est la première étape d'identification bactérienne. Elle a été effectuée selon le protocole décrit par **Prescott L. et coll., (2002)**. Les bactéries sont par la suite identifiées selon leurs caractères biochimiques (API 20E, API 20NE et API Staph, Bio Mérieux®, France) (**Ventura M. et coll., 2002**).

Rappelons que les bactéries qui ont été isolées sur MacConkey sont considérées comme bactéries à Gram négatif et que leur identification se fait par les galeries API 20E® et API 20NE®. Les bactéries isolées sur Chapman sont considérées comme des staphylocoques et identifiées par galerie API Staph.

La galerie API comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. A partir d'une culture jeune de la bactérie à identifier (18 à 24 heures), l'inoculum est ajusté à une concentration cellulaire de  $10^6$  cellules/ mL. Celui-ci est réparti ensuite dans chacune des cupules de la galerie. Les réactions produites pendant 18 à 24h à 37°C se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

La lecture de ces réactions se fait à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique ou d'un tableau Excel (Leyral G. et Joffin J., 1998).

### 6. Tests de sensibilité aux antimicrobiens

#### 6.1. Tests de sensibilité aux antifongiques

##### 6.1.1 Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices des cellules planctoniques

Les Concentrations Minimales Inhibitrices des cellules planctoniques des différentes souches sont déterminées par la technique de micro dilution sur microplaque selon le protocole standard de **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)** publié en **2008** dans le document M27A3. Le milieu utilisé est le Roswell Park Memorial Institute 1640 (RPM 1640) (SIGMA) tamponné.

L'inoculum est utilisé à une concentration finale de  $1,5 \times 10^3$  cellules/mL. 100  $\mu$ L de l'inoculum sont ajoutés dans chaque puits. L'antifongique testé est l'amphotéricine B (SIGMA). La solution mère de l'amphotéricine B est préparée dans le diméthyle sulfoxyde (SIGMA) à une concentration de 1mg/mL. Les concentrations finales en antifongique dans chaque puits sont comprises entre 0,03 et 16  $\mu$ g/mL. Les microplaques sont scellées puis mises à incuber à 35°C pendant 24 et 48 heures.

Les CMI sont déterminées à l'œil nu. Un contrôle de qualité a été réalisé au préalable de chaque manipulation avec la souche de référence *C. albicans* ATCC10231.

##### 6.1.2 Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices Sessiles (SCMI)

Le protocole suivi est celui décrit par **Pierce** et ses collaborateurs (2008), qui permet de mesurer l'activité métabolique des cellules sessiles après leur exposition aux agents antifongiques.

Cette méthode, précise et reproductible, est basée sur la réduction du tétrazolium dit XTT : 2,3-bis 2- méthoxy-4-nitro-5-sulfo-phényl -2H-tétrazolium 5-carboxanilide. Le XTT converti en formazane par l'enzyme déshydrogénase, est un produit de couleur orange soluble dans l'eau qui peut être quantifié par un lecteur de microplaque. L'intensité de la couleur est proportionnelle au taux de cellules viables [(Ernst E. et Rogers P., 2005) ; (Pierce C. et coll., 2008)].

Le XTT étant un produit photosensible, les tests doivent être effectués en extemporané et à l'obscurité. La solution mère de tétrazolium est préparée dans le PBS (10 mM, pH 7,4) à une concentration de 5mg/mL. Après sa stérilisation par filtration à travers un filtre millipore de 0,22  $\mu$ m de porosité, elle est stockée à -20°C. La ménadione (2-méthyle-1,4-naphthoquinone) ou vitamine K3 est utilisée comme accepteur d'électrons de la chaîne respiratoire. La solution mère de ménadione (10mM) est préparée dans l'acétone à une concentration de 0,17mg/mL, puis filtrée et stockée.

L'évaluation des SCMI se déroule en trois étapes successives, la formation des biofilms, le test antifongique et le test de réduction du tétrazolium.

L'ensemencement des puits de la microplaque est réalisé après ajustement de la concentration cellulaire de départ à  $10^6$  cellules/mL. Après addition de 100  $\mu$ L de l'inoculum dans chaque puits, la microplaque est scellée puis placée dans une étuve à 37°C pendant 24 heures. À l'aide d'une micropipette multicanal, les puits sont ensuite rincés deux fois avec 200  $\mu$ L de PBS stérile afin d'éliminer les cellules planctoniques et les cellules non adhérentes aux surfaces des puits.

Un égouttage de la microplaque est réalisé en l'inversant. Le liquide résiduel du PBS est écarté en la tamponnant sur des serviettes stériles en papier buvard.

Ensuite, 100  $\mu$ L du milieu RPMI 1640 sont ajoutées dans chaque puits de la microplaque. 100 $\mu$ L de la solution d'amphotéricine B (à la concentration finale de 64  $\mu$ g/mL) sont incorporés dans le puits n°1. Après homogénéisation, une série de dilutions de  $\frac{1}{2}$  est effectuée de puits en puits.

En parallèle, un témoin négatif et un témoin positif sont préparés. Le témoin négatif correspond à une incubation de l'agent antifongique dans le milieu de culture en l'absence de levures, alors que le témoin positif consiste à incuber les levures en l'absence d'agent antifongique.

Les microplaques sont convenablement scellées et incubées pendant 48h à 37°C.

Après incubation et afin de quantifier la viabilité des cellules, les puits sont rincés avec du PBS stérile et 100  $\mu$ L du mélange XTT/ménadione sont ajoutés dans chaque puits de la microplaque (y compris le contrôle positif).

Les microplaques sont ensuite scellées et placées dans une étuve à 37°C pendant 2 à 3heures. À ce stade, le tétrazolium est converti en formazan par les cellules viables. Après l'incubation des microplaques, 75  $\mu$ L du contenu de chaque puits sont transférés dans une nouvelle microplaque stérile. Celle-ci est placée dans un lecteur de microplaques pour mesurer l'absorbance à une longueur d'onde de 490 nm.

Les SCMI sont calculées en pourcentage d'inhibition selon la formule suivante (**Dalleau S. et coll., 2008**).

$$SCMI = 100 [1 - (DO \text{ à } 490 \text{ nm de l'échantillon} / DO \text{ à } 490 \text{ nm du contrôle positif})]$$

Cette formule permet de calculer les SCMI des antifongiques correspondants pour chaque puits de la microplaque.

### 6.2. Tests de sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)

L'antibiogramme est réalisé par la technique de diffusion sur gélose selon le protocole du Comité d'Antibiogramme -Société Française de Microbiologie- (CASFM, 2015).

Un contrôle de qualité a été réalisé au préalable de chaque antibiogramme en utilisant des souches de référence : *Escherichia coli* ATCC 25922 et *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. À partir d'une culture bactérienne de 24h sur gélose, une colonie est mise en suspension dans 10 mL de bouillon Cœur Cerveau (BHIB) puis incubée sous agitation à 37°C pendant 6 à 7 heures. La densité optique de l'inoculum est mesurée par la suite grâce à un colorimètre et ajustée à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à 625 nm correspondante à  $10^8$  UFC /mL (0,5 Mc Farland). Ensuite, un écouvillon est trempé dans cette suspension puis étalé à trois reprises sur la surface entière de la gélose, en tournant la boîte de 60° après chaque application afin d'obtenir une distribution égale de l'inoculum.

Les disques d'antibiotiques sont appliqués sur les boîtes de Pétri à l'aide d'un distributeur de disques. Les boîtes sont incubées à 35°C pendant 18 à 24 heures.

La comparaison des diamètres des zones d'inhibition aux valeurs critiques permet de classer les bactéries dans l'une des trois catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

### 7. Evaluation de la capacité des souches isolées à former des biofilms

Les précultures fongiques sont réalisées dans le milieu Sabouraud liquide. Après 24 heures d'incubation à 30°C, la suspension est centrifugée à 3000g pendant 5 minutes à 4°C. Le culot est lavé deux fois avec du PBS (tampon phosphate salé) à pH 7,4 (0,1M), puis resuspendu dans les milieux de culture choisis pour la formation de biofilm (RPMI 1640 tamponné à pH 7,4 avec du MOPS à 0,165 mol/L et le Bouillon Tryptone Soja, TSB à pH 7,4) à raison de  $10^6$  cellules/mL. Les précultures bactériennes des souches isolées des mêmes dispositifs médicaux que *Candida non albicans* sont réalisées dans le milieu BHIB. Après 24 heures d'incubation à 37°C, la suspension est centrifugée à 1000 g pendant 15 minutes, le culot est lavé deux fois avec du PBS (pH 7,4 0,1M) puis resuspendu dans les mêmes milieux de culture choisis pour la formation de biofilm (RPMI 1640 et TSB) à raison de  $10^7$  cellules/mL.

Pour la formation de biofilm mono espèce (fongique ou bactérien), 100 µL d'une suspension fongique ou bactérienne sont ajoutées au puits d'une microplaque à 96 puits.

Pour la formation des biofilms mixtes (Levures+ bactéries), un volume de la suspension levurienne est additionné à un volume de la suspension bactérienne à différentes proportions (10/90%, 50/50% ou 90/10%). La plaque est scellée puis mise à incuber à 37°C pendant 24, 48 et 72 heures.

### 7.1. Evaluation de l'activité métabolique des levures *Candida non albicans*.

L'activité métabolique des cellules adhérentes de *Candida* dans un biofilm est mesurée après 48 heures d'incubation. Les souches de *Candida* sont considérées comme productrices de biofilms lorsque la densité optique mesurée à 490 nm est supérieure ou égale à 0,2 (**Villar-Vidal M. et coll., 2011**).

Le XTT est réduit par les levures en formazan dont la concentration est déterminée par mesure de la densité optique dans le milieu extracellulaire (protocole décrit précédemment).

Selon **Villar-Vidal M. et coll. (2011)**, les souches sont regroupées en 6 catégories en fonction de la densité optique à lue 490 nm :

- Catégories +6 (DO > 1,30) et +5 (DO = 1 à 1,29) : souches hautement productrices de biofilms.
- Catégories +4 (DO = 0,70 à 0,99) et +3 (DO = 0,40 à 0,69) : souches modérément productrices de biofilms.
- Catégorie +2 (DO = 0,20 à 0,39) : souches faiblement productrices de biofilms.
- Catégorie +1 (DO < 0,20) : souches non-productrices de biofilms

### 7.2. Mesure de la biomasse dans le biofilm par la coloration au Crystal violet

La technique de coloration au Crystal violet mesure la quantité de biomasse à l'intérieur du biofilm (**Christensen G. et coll., 1985**). Le Crystal violet se lie aux molécules extracellulaires chargées négativement, tels que les molécules de la surface cellulaire ou les polysaccharides de la matrice exo polymérique des biofilms (**Li X. et coll., 2003**).

Après la formation de biofilms (étapes citées précédemment), le milieu est aspiré et les puits sont lavés 3 fois avec du PBS (pH 7,4-0,1M) stérile pour écarter les cellules planctoniques et/ou les cellules non adhérentes.

Pour la fixation du biofilm, 100 µL de méthanol absolu sont ajoutés aux différents puits de la microplaque. Après une incubation de 15 minutes à température ambiante, les puits sont lavés et 100 µL d'une solution de Crystal violet sont ajoutés. Les microplaques sont laissées pendant 20 minutes à température ambiante. Le Crystal violet lié est libéré par l'addition de 150 µL d'acide acétique (33%). La densité optique est ensuite lue à 490 nm à l'aide d'un lecteur de microplaques.

### **8. Evaluation de l'activité antimicrobienne des solutions verrous sur la formation de biofilm mixte (*Candida non albicans*- bactéries)**

#### **8.1. Préparation des solutions verrous**

Les solutions de verrouillage sont fraîchement préparées dans du diméthylsulfoxyde (DMSO) : une solution mère d'EDTA (SIGMA) à 30 mg/mL, une solution mère d'amphotéricine B (SIGMA) à 1 mg/mL, et une solution combinant EDTA (30 mg/mL) + amphotéricine B (1 mg/mL). Et enfin une solution mère d'acide acétylsalicylique (Aspirine UPSA) à 1000mg/mL. La solution d'acétylsalicylique est diluée dans le milieu Roswell Park Memorial Institute (RPMI) supplémenté avec 2 % de glucose à une concentration finale de 40mg/mL.

#### **8.2. Effet de la solution verrou sur des biofilms mixtes de 5 jours**

Selon le protocole de **Ko et coll. (2010)**, des morceaux de cathéters stériles (1,5cm de longueur) sont placés dans 10mL d'une suspension cellulaire (levure/bactérie : 50/50) de  $10^7$  UFC/mL dans le milieu Yeast Nitrogen Base (6,7g/ 100mL) supplémenté avec 5% de glucose (YNB-Glc) et incubé pendant cinq jours à 37°C sous agitation continue à 75rpm pour permettre la formation du biofilm.

Après 5 jours d'incubation, les morceaux de cathéters sont lavés deux fois avec du PBS pour éliminer les cellules non adhérentes. Les morceaux colonisés sont par la suite transférés dans du YNB-Glc contenant la solution antimicrobienne.

L'activité anti-biofilm de chaque solution antimicrobienne a été évaluée après des périodes de verrouillage de 1, 3, 5 ou 7jours. Les solutions antimicrobiennes ont été renouvelées tous les 2 jours.

La biomasse du biofilm est évaluée par la mesure de la densité optique des cellules viables. Les morceaux de cathéter ont été déplacés dans de nouveaux tubes et lavés deux fois avec 10 mL de PBS stérile pour éliminer les cellules planctoniques. Ensuite, les cellules adhérentes ont été récupérées par agitation au vortex à grande vitesse dans 3mL de PBS stérile, suivi d'une sonication dans des conditions de 120s, 30% de cycle, 3,5s d'impulsions.

La densité optique est ensuite lue à 570nm à l'aide d'un spectrophotomètre (Specord 200 plus). Chaque expérience a été réalisée en triplicata.

### 8.3. Effet de la solution verrou sur des biofilms mixtes de 24-48heures

Pour cette partie de l'étude nous avons suivi deux protocoles afin de comparer leur efficacité ; à savoir le protocole de Raad et coll. (2008) et celui de Chan et coll. (2021).

#### 8.3.1 Protocole de Raad et coll. (2008)

Dans les puits d'une microplaque, des morceaux de cathéters stériles (1,5cm) sont placés auxquels sont ajoutés 1mL de plasma sanguin. Après une incubation de 24heures à 37°C sous agitation continue, le plasma est retiré. Ensuite 1mL d'une suspension poly microbienne levures et de bactéries (50/50) à  $10^7$  UCF/mL est ajouté à chaque puits de la microplaque. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, le bouillon est retiré et remplacé par 1mL de PBS. Après 30min d'agitation, le PBS est retiré et les morceaux de cathéters sont transférés dans des tubes contenant 0,5mL de solution antimicrobienne à tester et incubés à 37°C pendant 6 heures et 8 heures. Après incubation, la solution antimicrobienne est retirée et les bouts de cathéters sont lavés avec 0,5mL de PBS. Les morceaux de cathéters sont ensuite transférés dans d'autres tubes contenant 5mL de PBS et soumis au sonicateur pendant 5minutes puis au vortex pendant 30 secondes. La densité optique est lue à 490nm (Specord 200 plus).

#### 8.3.2 Protocole de Chan et coll. (2021)

Dans les puits d'une microplaque, des morceaux de cathéters stériles (1,5cm) sont placés auxquels sont ajoutés 200 $\mu$ L de RPMI et 50 $\mu$ L de suspension polymicrobienne levures /bactéries (50/50). Après 48 heures incubation à 37°C, les cathéters sont rincés avec du PBS et transférés dans les puits d'une autre microplaque contenant du RPMI et la solution d'acide acétylsalicylique. Incuber à nouveau à 37°C pendant 4heures, 24 heures et 48 heures.

La quantification de la biomasse du biofilm se fait par la méthode colorimétrique de réduction de XTT.

### 9. Etude statistique

Toutes les données sont exprimées en tant que moyennes de trois répétitions. La comparaison statistique dans tous les groupes est effectuée avec une analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs pour toutes les associations de biofilm mixtes testées, suivie d'un test post hoc de Tukey et test t de Dunett avec le logiciel Graph Pad Prisme 8 (Graph Pad Software).  $p \leq 0,05$  est considéré comme statistiquement significatif,  $p \leq 0,01$  : très significatif,  $p \leq 0,001$  : très hautement significatif.

### 10. Observation par microscopie électronique à balayage (MEB)

Les observations microscopiques ont été réalisées par microscopie électronique à balayage (MEB) au Centre de Recherche et de Développement de Boumerdes (Algérie) afin de mettre en évidence l'efficacité de la solution verrou sur des biofilms mixtes (*C. tropicalis* /*E. coli*) et

(*C. parapsilosis*/*P. mirabilis*/*S. epidermidis*) formés *in vitro* sur des cathéters veineux périphériques.

La préparation des échantillons pour les observations aux MEB consiste à rincer les biofilms matures avec du PBS pH 7,4, 0,1 M, ensuite une solution de glutaraldéhyde (50%) est ajoutée dans les puits de la microplaque pour avoir une concentration finale de 2,5%(v/v). Les échantillons sont ensuite envoyés au Centre de Recherche et de Développement de Boumerdes.

---

---

# Résultats et discussions

---

---

Durant leur prise en charge à l'hôpital, la plupart des malades hospitalisés sont exposés à différents actes médicaux indispensables qui impliquent le cathétérisme vasculaire, urinaire ou drainage pleural (**Joana P. et coll., 2024**). Cependant, l'implantation temporaire de ces dispositifs médicaux est associée à un risque infectieux non négligeable. Il a été estimé que 60 % des infections associées aux soins auraient pour origine un dispositif invasif (**Merzougui L. et coll., 2018**). La physiopathologie de ces infections est étroitement liée à la constitution d'un biofilm sur ces dispositifs médicaux[ (**Harriott M. et Noverr M., 2011**) ; (**Satish S. et coll., 2023**)]. C'est dans ce cadre de recherche que s'inscrit notre étude au Centre Hospitalo-Universitaire (CHU) de Tlemcen qui a pour objectif d'évaluer les capacités de formation et d'inhibition des biofilms mixtes *Candida non-albicans*-bactéries co-isolées à partir des dispositifs médicaux.

### 1. Prélèvements

De janvier à décembre 2015, 340 dispositifs médicaux ont été prélevés au CHU de Tlemcen dont 132 au service de chirurgie ortho-traumatologie, 108 au service de neurologie médicale et 100 au service d'anesthésie-réanimation. Seuls les dispositifs implantés depuis 48h et plus sont inclus dans cette étude. La répartition des prélèvements par service et par type de dispositif médical est regroupée sur le tableau 01.

Nous constatons que les cathéters veineux périphériques sont beaucoup plus utilisés dans le service de chirurgie ortho- traumatologie et de neurologie médicale contrairement au service de réanimation où ce sont les cathéters veineux centraux et les sondes vésicales qui sont les plus utilisés. Nous remarquons également que les drains ne sont utilisés que dans le service de chirurgie ortho-traumatologie. Il est à noter que certains patients portaient plus d'un type de dispositif médical.

**Tableau 1: Répartition des prélèvements par service et par type de dispositif médical.**

Services \ Dispositifs médicaux	Cathéters veineux périphériques	Cathéters veineux centraux	Sonde vésicale	Matériels d'ostéosynthèse	Cathéters de drainage	Total
Chirurgie ortho-Traumatologie	96	1	10	22	3	<b>132</b>
Neurologie Médicale	96	-	12	-	-	<b>108</b>
Anesthésie-Réanimation	2	19	79	-	-	<b>100</b>
<b>Total</b>	<b>194</b>	<b>20</b>	<b>101</b>	<b>22</b>	<b>3</b>	<b>340</b>

Dans un premier temps nous avons déterminé les prélèvements donnant une culture positive.

D'après le tableau 02, nous constatons que sur les 340 prélèvements effectués, 128 ont donné une culture positive soit 37,6% dont 16 (sur 132 prélèvements) au service de Chirurgie Ortho-Traumatologie soit 12,1%, 23 (sur 108prélèvements) au service Neurologie Médicale soit 21,3% et 89 (sur 100 prélèvements) au service d'anesthésie-réanimation (89%).

Nous remarquons que sur 96 cathéters veineux périphériques prélevés au service de neurologie médicale, 14 étaient de culture positive, ce qui correspond à un taux de 14,6%. Ce taux est près de 4 fois supérieur à celui observé au service de chirurgie ortho-traumatologie ou seulement 4 cathéters veineux périphériques sur 96 (4%) ont donné une culture positive.

Pour ce qui est des sondes vésicales, sur 12 prélèvements effectués au service de neurologie médicale 9 étaient de culture positive. Au service de chirurgie ortho-traumatologie 6 cathéters urinaires (sur 10) ont donné une culture positive (60%). Pour le matériel d'ostéosynthèse, parmi les 22 prélèvements effectués, seulement 5 étaient de culture positive (22,7%).

Quant au service d'anesthésie-réanimation 13 cathéters veineux centraux (CVC) sur 19 prélevés ont donné des cultures positives (68,4%). Alors que près de la totalité des sondes vésicales prélevées étaient de culture positive (76/79).

**Tableau 2 : Répartition des prélèvements donnant une culture positive par type de dispositif médical et par service.**

<b>Dispositifs médicaux</b>	<b>Cathéters veineux périphériques</b>	<b>Cathéters veineux centraux</b>	<b>Sonde vésicale</b>	<b>Matériels d'ostéosynthèse</b>	<b>Cathéters de drainage</b>	<b>Total</b>
<b>Services</b>						
<b>Chirurgie Ortho-Traumatologie</b>	<b>4/96</b> (4%)	<b>0/1</b>	<b>6/10</b> (60%)	<b>5/22</b> (22,7%)	<b>1/3</b> (33,3%)	<b>16/132</b> (12,1%)
<b>Neurologie Médicale</b>	<b>14/96</b> (14,6%)	-	<b>09/12</b> (75%)	-	-	<b>23/108</b> (21,3%)
<b>Anesthésie-Réanimation</b>	<b>0/2</b>	<b>13/19</b> (68,4%)	<b>76/79</b> (96,2%)	-	-	<b>89/100</b> (89%)
<b>Total</b>	<b>18/194</b> (9,3%)	<b>13/20</b> (65%)	<b>91/101</b> (90,1%)	<b>5/22</b> (22,7%)	<b>1/3</b> (33,3%)	<b>128/340</b> (37,6%)

Dans un second temps, nous avons déterminé la nature des microorganismes présents sur les prélèvements de culture positive (bactérienne, fongique ou mixte). Les résultats obtenus sont regroupés sur le tableau 03.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Tableau 3 : Répartition des prélèvements de culture positive selon la nature des microorganismes (bactérienne-fongique-mixte) par service et par dispositif médical.**

Type de microorganismes Type de dispositif	Chirurgie ortho- traumatologie (n =16)		Neurologie médicale (n = 2 3)			Anesthésie-Réanimation (n = 89)		
	Bactérienne	Mixte	Bactérienne	Fongique	Mixte	Bactérienne	Fongique	Mixte
<b>Cathéter veineux périphérique (n= 18)</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>10</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>Cathéter veineux central (n= 13)</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>3</b>
<b>Sonde vésicale (n= 91)</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>-</b>	<b>4</b>	<b>35</b>	<b>2</b>	<b>39</b>
<b>Matériel d'Ostéosynthèse (n= 5)</b>	<b>5</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>Drains de Redon (n=1)</b>	<b>1</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>-</b>
<b>Total (n=128)</b>	<b>12</b>	<b>4</b>	<b>9</b>	<b>10</b>	<b>4</b>	<b>39</b>	<b>8</b>	<b>42</b>

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

Sur les 128 prélèvements de culture positive, 60 étaient d'origine bactérienne (soit un taux de 46,9%), 18 d'origine levurienne (soit un taux de 14%) et 50 dispositifs étaient de nature levurienne et bactérienne à la fois ce qui représente un taux de 39%.

La répartition des prélèvements de culture positive selon la nature des microorganismes (bactérienne-fongique-mixte) par service est comme suit :

Sur les 89 prélèvements de culture positive isolés du service d'anesthésie-réanimation, 08 étaient d'origine levurienne, 39 d'origine bactérienne et 42 étaient altérés par les deux microorganismes à la fois.

Dans le service d'anesthésie-réanimation, les cultures mixtes sont beaucoup plus importantes, elles sont environ 10 fois supérieures à celles des deux autres services. En effet, selon **Oubihi B. (2015)**, c'est au niveau du service de réanimation que les infections nosocomiales sont les plus fréquentes, elles sont liées à l'utilisation des dispositifs invasifs.

Quant au service de neurologie médicale où 09 prélèvements étaient d'origine bactérienne, 10 d'origine fongique et 04 présentaient une origine d'altération mixte (levures-bactéries).

Au service de traumatologie, sur les 16 prélèvements de culture positive 12 étaient d'origine bactérienne alors que quatre (04) présentaient les deux types de microorganismes (levures-bactéries) en même temps.

Nous remarquons également que l'altération bactérienne et l'altération mixte sont de même aussi bien au service de traumatologie qu'au service de neurologie médicale. Cependant, aucune altération fongique seule n'est observée dans le service de chirurgie ortho-traumatologie.

### **2. Détermination des différents types d'infectivités :**

Suite aux cultures positives, nous avons déterminé les différents types d'infectivité en fonction du nombre total de microorganismes aussi bien d'origine bactérienne que levurienne (nombre de levures/ mL + nombre de bactéries/ mL). Selon **Brun Buisson (1987)**, le seuil de signification est supérieur ou égal à  $10^3$  UFC/mL en culture quantitative.

Le tableau 04 regroupe la répartition des différents types d'infectivités dans trois services du CHU de Tlemcen concernés par cette étude.

**Tableau 4: Les différents types d'infectivités microbiennes dans les trois services du CHU de Tlemcen.**

Types d'infectivité Services	Contamination	Colonisation	Infection
<b>Chirurgie Ortho –Traumatologie</b>	3 (2,34%)	4 (3,12%)	9 (7,03%)
<b>Neurologie Médicale</b>	7 (5,46%)	10 (7,8%)	6 (4,68%)
<b>Anesthésie-Réanimation</b>	1 (0,78%)	24 (18,7%)	64 (50%)
<b>Total n=128 (100%)</b>	<b>11 (8,59%)</b>	<b>38 (29,7%)</b>	<b>79 (61,7%)</b>

Les résultats obtenus montrent qu'au service de chirurgie-ortho traumatologie, 9 prélèvements étaient infectés, 4 étaient colonisés alors que 3 étaient contaminés. De même, au service de neurologie médicale, 6 prélèvements étaient infectés, 7 étaient contaminés et 10 étaient colonisés. Enfin, au service d'anesthésie réanimation, 64 dispositifs étaient infectés, 24 colonisés avec une seule contamination. La comparaison par le test de Khi-deux des différents types d'infectivité en relation avec les dispositifs médicaux dans les services étudiés au CHU de Tlemcen montre une différence significative ( $p = 0,000$ ).

Par conséquent, sur les 128 prélèvements de cultures positives (bactéries, levures et mixtes), plus de la moitié sont infectés (61,7%), environ le tiers (29,7%) sont colonisés et 8,6% représentent une source de contamination pour les patients.

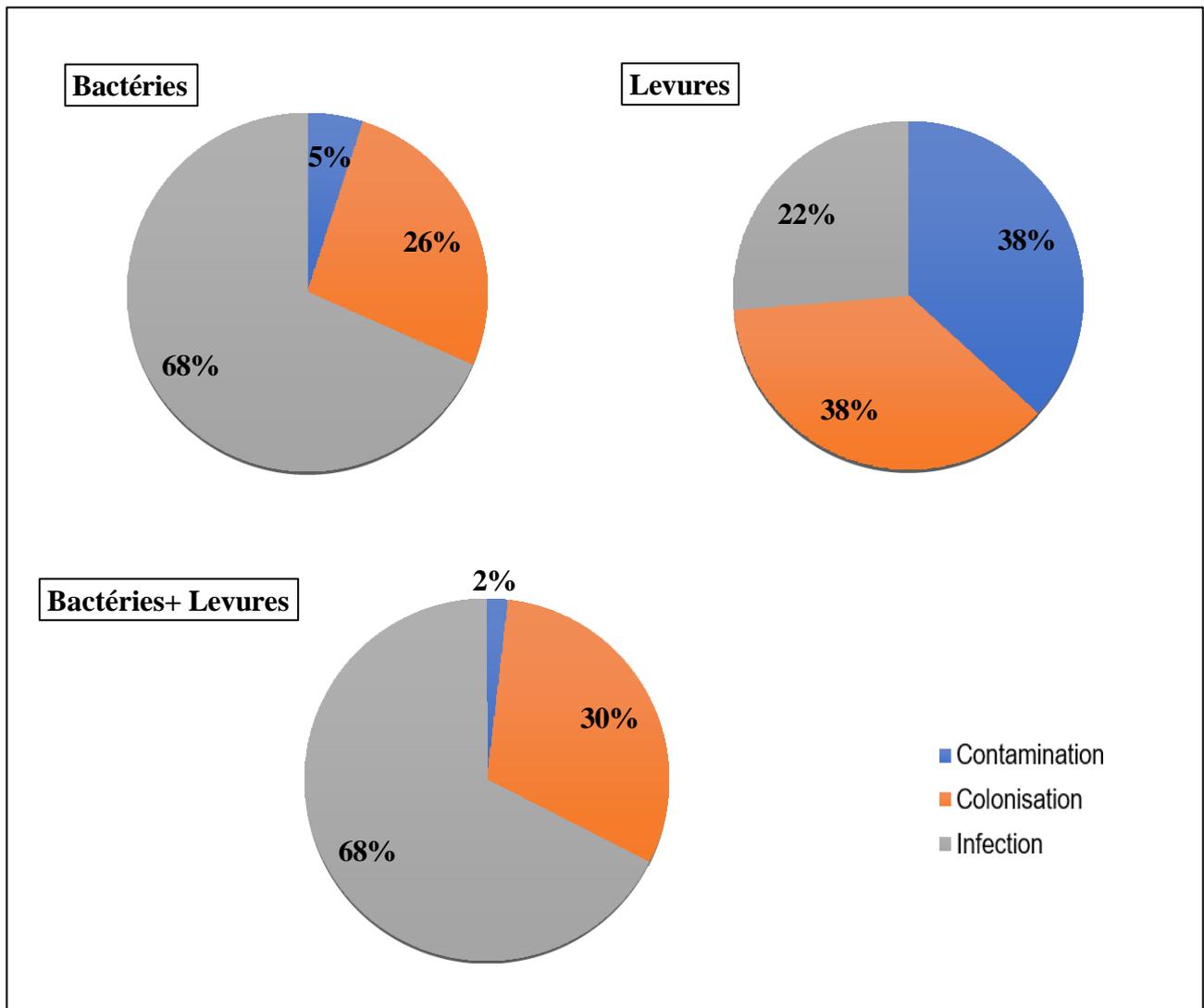
Nous remarquons également que le taux d'infections dans les trois services est deux fois supérieur au taux de colonisations. Le service d'Anesthésie-Réanimation occupe la première place avec un taux de 50% alors qu'il n'est que de 7,03% et 4,68% aux services de chirurgie ortho-traumatologie et de neurologie médicale respectivement.

Concernant les colonisations des dispositifs prélevés, le service de réanimation est le plus touché avec un taux de 18,75%, suivi du service de neurologie médicale (7,81%). Au service de chirurgie ortho-traumatologie, le taux n'est que de 3%. Le taux de contamination le plus élevé (5,46%) est observé au service de neurologie médicale. Or, les contaminations et les colonisations peuvent être des étapes qui précèdent l'infection.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

En effet, selon **Stephan et coll. (2002)**, une souche colonisante est dans la plupart des cas une souche infectante. De même, **Quinet (2006)**, a montré que la colonisation du cathéter aboutit à une infection dans 20 % des cas chez l'adulte et dans 8 % des cas chez l'enfant.

Suite à ces premiers résultats nous avons ensuite déterminé la répartition des différents types d'infectivité en fonction de la nature des microorganismes présents (levurienne ou bactérienne) (figure 6).



**Figure 6 : Les différents types d'infectivités en fonction du groupe microbien (Levures, bactéries, levures +bactéries).**

D'après la figure 6, nous remarquons que pour l'altération d'origine bactérienne, les infections occupent la première place avec un taux de 68% suivi des colonisations avec un taux de 26,6%. Les contaminations arrivent en dernière position avec un taux de 5%. Concernant l'altération fongique, elle est à l'origine de 22% d'infections et 38% de contaminations et de colonisations respectivement. En revanche, l'altération mixte des dispositifs (bactéries-levures)

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

a montré que ce sont les infections qui occupent le premier rang avec un taux de 68% suivies des colonisations à 30%. Le taux de contaminations ne représente que 2%.

Les résultats relatifs à la répartition des différents types d'infectivité microbienne en fonction du type de dispositif médical par service montrent qu'au service de neurologie médicale, les contaminations sont essentiellement dues aux levures (86%) et à moindre taux aux bactéries (14%). Aucune contamination mixte n'est observée. Dans ce même service les colonisations sont à 50% d'origine bactérienne, 40% d'origine fongique et 10% d'origine mixte. Quant aux infections, elles sont à 50% dues aux bactéries seules et 50% d'origine mixte.

Pour ce qui est du service de chirurgie ortho-traumatologie, les colonisations sont toutes d'origine bactérienne. Les contaminations sont comparables aux infections, elles sont causées par des bactéries seules et des bactéries associées aux levures avec des taux de 67% et 33% respectivement.

Il est important de signaler que les levures seules ne sont responsables ni de contamination, ni de colonisation, ni d'infection au service de la chirurgie ortho-traumatologie.

Par ailleurs, au niveau du service d'anesthésie-réanimation, les levures sont à l'origine des contaminations, des colonisations et des infections avec des taux respectifs de 100%, 13% et 8%. Les bactéries seules sont responsables uniquement de colonisations (29%) et d'infections (50%). Cependant, le taux de colonisations et d'infections mixtes est respectivement de 58% et 42%.

Concernant la répartition des différents types d'infectivités microbiennes en fonction de dispositifs prélevés (tableau 5), nous remarquons que le type d'infectivité varie selon le type de dispositif utilisé au niveau du CHU de Tlemcen.

Les contaminations touchent essentiellement les cathéters veineux périphériques (82%) alors que les colonisations concernent aussi bien les sondes vésicales (47%) que les cathéters veineux centraux (27%) et périphériques (21%). Quant aux infections, elles sont retrouvées sur les sondes vésicales (92%). Or ce type de dispositifs est souvent incriminé à plus de 70% dans les infections nosocomiales (**Nicolle, 2014**).

Selon nos résultats les cathéters veineux centraux sont davantage infectés (levure et bactéries) que colonisés. Ces résultats vont dans le même sens que les travaux de **Shoham (2011)** qui ont montré que ce type de cathéter est responsable d'infections.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Tableau 5: Les différents types d'infectivités en fonction du dispositif médical et du groupe microbien. B\*: Bactérienne, F\*: Fongique, M\*: Mixte**

Infectivité	Dispositif	Contamination			Colonisation			Infection		
		B* (N <sup>bre</sup> -%)	F* (N <sup>bre</sup> -%)	M* (N <sup>bre</sup> -%)	B* (N <sup>bre</sup> -%)	F* (N <sup>bre</sup> -%)	M* (N <sup>bre</sup> -%)	B* (N <sup>bre</sup> -%)	F* (N <sup>bre</sup> -%)	M* (N <sup>bre</sup> -%)
Chirurgie Ortho- Traumatologie	CVP (n=4)	1	-	1	1	-	-	1	-	-
	SV (n=6)	-	-	-	-	-	-	3	-	3
	MO (n=5)	1	-	-	2	-	-	2	-	-
	CD (n=1)	-	-	-	1	-	-	-	-	-
	<b>Total (n=16)</b>	<b>2</b> (67%)	<b>-</b>	<b>1</b> (33%)	<b>4</b> (100%)	<b>-</b>	<b>-</b>	<b>6</b> (67%)	<b>-</b>	<b>3</b> (33%)
Neurologie médicale	CVP (n=14)	1	6	-	3	4	-	-	-	
	SV (n=9)	-	-	-	2	-	1	3	-	3
	<b>Total (n=25)</b>	<b>1</b> (14%)	<b>6</b> (86%)	<b>-</b>	<b>5</b> (50%)	<b>4</b> (40%)	<b>1</b> (10%)	<b>3</b> (50%)	<b>-</b>	<b>3</b> (50%)
Anesthésie- réanimation	SV (n= 76)	-	-	-	4	-	11	31	2	28
	CVC (n= 13)	-	1	-	3	3	3	1	2	-
	<b>Total (n= 89)</b>	<b>-</b>	<b>1</b> (100%)	<b>-</b>	<b>7</b> (29%)	<b>3</b> (13%)	<b>14</b> (58%)	<b>32</b> (50%)	<b>4</b> (6%)	<b>28</b> (44%)
Total= 128	<b>3</b>	<b>7</b>	<b>1</b>	<b>16</b>	<b>7</b>	<b>15</b>	<b>41</b>	<b>4</b>	<b>34</b>	
	<b>11 (8.5%)</b>			<b>38 (29.6%)</b>			<b>79 (61.7%)</b>			

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

Une enquête de prévalence de l'infection nosocomiale menée par **Fki et coll. (2008)** à Sfax, (Tunisie) a montré un lien direct entre l'infection et les abords veineux centraux et périphériques. Plusieurs études ont également montré que le cathétérisme central et périphérique est un facteur de risque certain de l'infection nosocomiale et que celle-ci est la conséquence de la qualité de pose, des soins d'entretien et du délai d'ablation (**Dadi N. et coll., 2021**).

Les résultats que nous avons obtenus dans cette partie de l'étude, sont également en accord avec ceux de **Dadi N. et coll. (2021)** et **Timsit J.** et ses collaborateurs (**2011**) et **Seabra R.** et **Bhokal N. (2009)** qui ont montré que l'utilisation des cathéters périphériques et centraux est la principale source d'infections invasives chez les patients hospitalisés, notamment dans les services de soins intensifs. De plus, les dispositifs intravasculaires causent 20 à 30% des bactériémies nosocomiales, la grande majorité provient des cathéters veineux centraux, tandis que les cathéters périphériques sont moins souvent à l'origine de bactériémie (**Hot et coll., 2007**).

D'un autre côté, au service de chirurgie ortho-traumatologie, l'origine microbienne de l'infektivité du matériel d'ostéosynthèse (vis, broches, plaques, clou...) est strictement bactérienne qu'il s'agisse de contamination, de colonisation ou d'infection. Au sein de ce même service, les drains sont colonisés par les bactéries.

Les infections urinaires sont répandues dans le monde entier et représentent environ 40 % des infections nosocomiales dont 75 à 80 % de ces infections sont associées à l'utilisation de sondes urinaires [(**Tenke P. et coll., 2017**) ; (**CDCP, 2021**)].

Selon **Mimoz (2001)**, les infections urinaires liées à l'implantation prolongée des sondes vésicales représentent la deuxième cause d'infections nosocomiales acquises en réanimation après les infections respiratoires. De même, l'étude de **Gunardi et coll. (2021)** ont montré que sur 109 patients porteurs de sondes vésicales, 78% d'entre eux présentent une source d'infection pour les patients.

### 3. Facteurs de risque et type d'infectivité :

Nous avons ensuite évalué les facteurs de risque pouvant influencer le développement des micro-organismes.

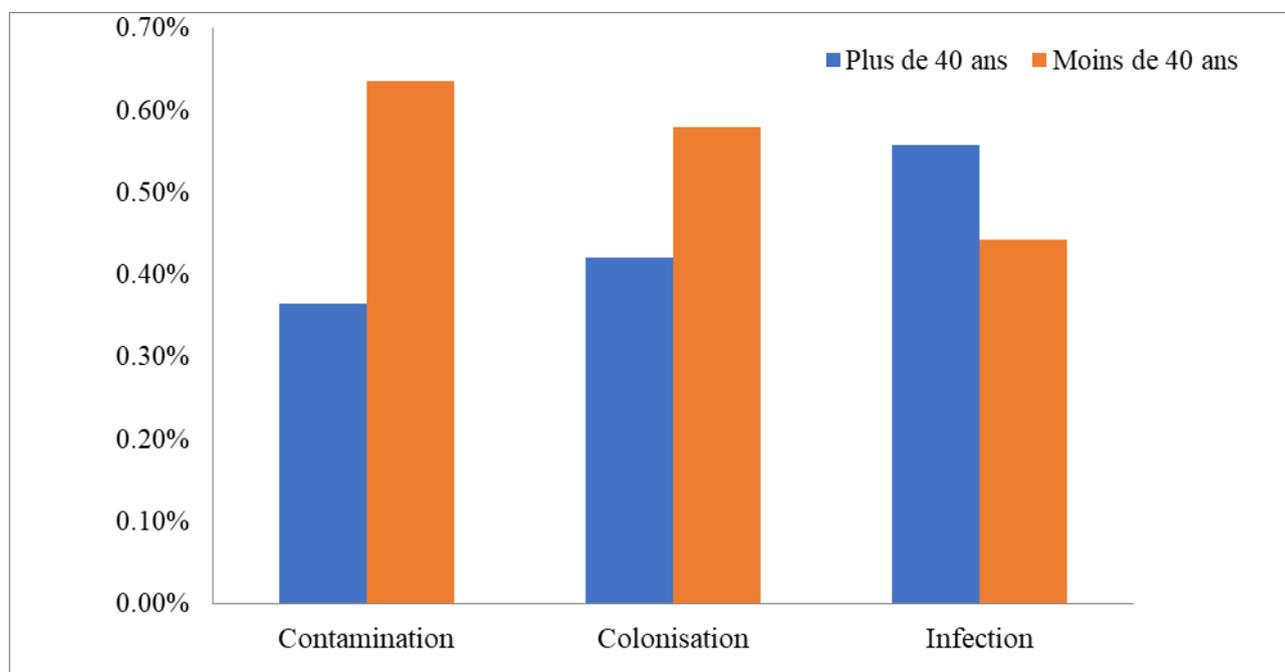
L'étude menée par **Wenzel et Gennings (2005)** définit les facteurs de risques des infections invasives qui permettent de sélectionner les patients à haut risque et ainsi recourir rapidement à un traitement antibiotique préventif afin de réduire la mortalité de ces patients.

C'est pourquoi, un questionnaire est renseigné pour chaque patient inclus dans cette étude, il permet de recenser les autres facteurs de risque qui peuvent également être à l'origine des différents types d'infectivités à savoir le sexe, l'âge, la durée de pose de dispositif médical ainsi que le traitement administré (Annexes1 et 2).

#### 3.1. Infectivité et âge :

La figure 7 regroupe la répartition des différents types d'infectivités en fonction de l'âge des patients.

Nous remarquons que les patients âgés de plus de 40 ans sont les plus concernés par les cathéters contaminés et colonisés avec des taux de 63,63%, 57,89% respectivement. Ils sont moins touchés par les cathéters infectés par rapport aux patients jeunes âgés de moins de 40 ans (44,3% versus 55,69%).



**Figure 7 : Répartition des types d'infectivités selon l'âge.**

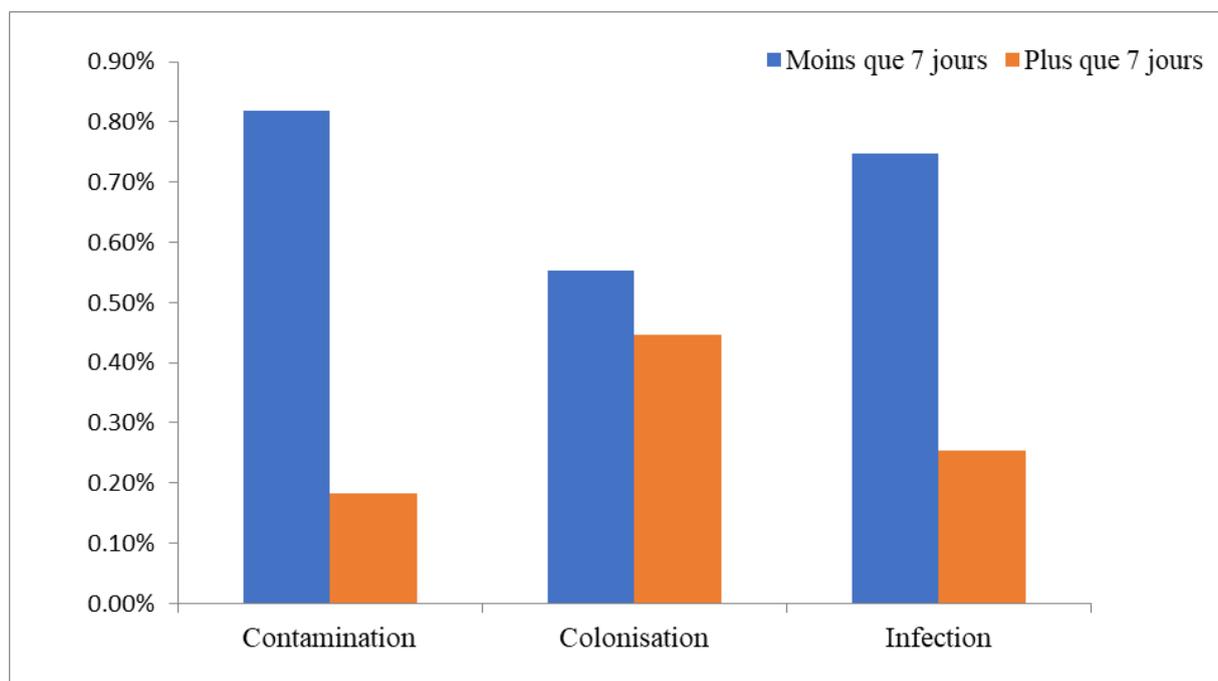
## RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'infection est observée chez les patients âgés de plus de 41 ans. C'est pourquoi avec un cathéter infecté, le risque de développer une infection est plus important (**Laupland k. et coll., 2003**). Nos résultats concordent avec les études de **Laupland K. et coll., (2003)** et d'**Haley R. et coll. (1995)** qui montrent que le risque d'infection nosocomiale augmente avec l'âge et celles de **Cruse P. et Foord R. (1980)** qui soulignent que l'âge est un facteur de risque infectieux aux deux extrémités de la vie.

### 3.2. Infectivité et durée du cathétérisme :

La figure 8 regroupe la répartition des différents types d'infectivités en fonction de la durée de pose des dispositifs médicaux.

Nous constatons que le taux de cathéters contaminés est de 81,81% pour les cathéters mis en place pendant moins de sept jours. Cependant, près de 80% des cathéters infectés sont observés sur des cathéters mis en place pendant une durée inférieure ou égale à 7 jours. Il semblerait que le taux d'infections est trois fois supérieur pour les cathéters mis en place pendant moins de sept jours que ceux restés en place moins longtemps.



**Figure 8 : Répartition des types d'infectivités selon la durée de pose de dispositif médical.**

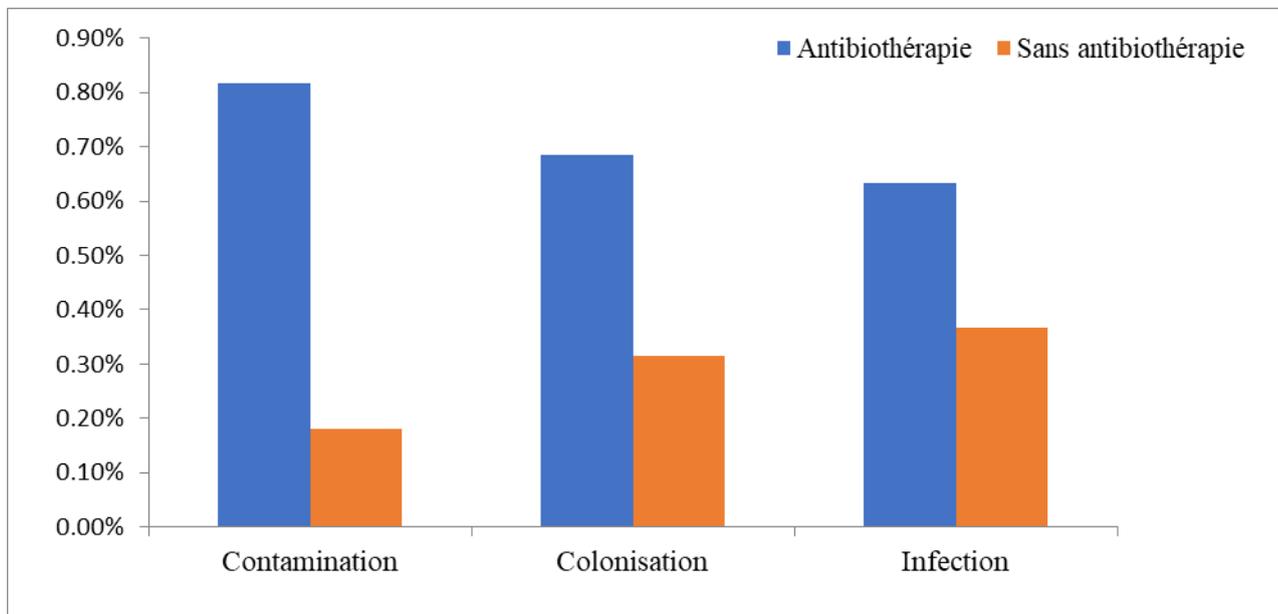
## RESULTATS ET DISCUSSIONS

Les résultats obtenus sont en accord avec **Al Mohajer M. et Darouiche O. (2013)** qui ont confirmé les observations de **Brun-Buisson (1987)**. Ces derniers ont constaté que l'infection d'un cathéter est liée à une durée de pose moyenne de 8 jours. De plus, selon les recommandations de **Lolom I. et coll. (2009)**, la durée de maintien de la voie veineuse ne devrait pas dépasser les 96 h (soit quatre jours de maintien au maximum) chez l'adulte. Ceci est en accord avec d'autres données de la littérature qui citent la durée du cathétérisme comme l'un des principaux facteurs de risques spécifiques des infections liées aux cathéters (**Espinasse F. et coll., 2010**). De même, nous remarquons qu'une longue hospitalisation augmenterait considérablement le risque d'acquérir une infection. En effet, des contaminations sont observées chez les patients porteurs de ces dispositifs, hospitalisés depuis plus de 8 jours.

Nous constatons que la majorité des cathéters contaminés concernent les différents dispositifs implantés pendant de 2 à 7 jours vis-à-vis tous les dispositifs utilisés. Cependant, la durée d'hospitalisation était plus longue chez les patients infectés au niveau des trois services d'études. Ce résultat est comparable à une étude multicentrique canadienne, qui montrait que la durée du séjour augmentait en moyenne de 4 jours chez les patients infectés (**Heyland D. et coll., 1999**).

### 3.3. Infectivité et antibiothérapie :

La figure 9 regroupe les résultats de la répartition des différents types d'infectivité en fonction de l'antibiothérapie administrée.



**Figure 9 : Répartition des types d'infectivités selon l'antibiothérapie.**

Nous constatons que dans la majorité des cas, les trois types d'infectivités sont le plus souvent accompagnés d'un traitement antibiotique. En effet, les contaminations sont accompagnées d'un traitement antibiotique à 81,81%. Quant aux colonisations et aux infections, l'antibiothérapie est de l'ordre 68,42%, 63,29% respectivement. Ceci est en accord avec les travaux de **Raad I. et Bodey G. (1992)** qui ont révélé que les germes doivent dans un premier temps résister aux antibiotiques. Nos résultats concordent aussi avec les travaux de **Rüddel T. et coll., (2022)**, **Guinan J. et coll. (2019)** et **Mimoz et coll., (2001)** qui montrent que l'antibiothérapie favorise la survenue des infections.

L'infection liée aux dispositifs médicaux est une des composantes non négligeables de la pathologie infectieuse nosocomiale. C'est pourquoi, une meilleure connaissance des principaux facteurs de risque infectieux et de l'écologie microbienne doit permettre une approche et une appréciation plus rationnelles de la prévention de ces infections (**CCLIN, 2001**).

À côté des principaux facteurs de risque liés au patient (les tranches d'âges extrêmes, la dénutrition, l'immunodépression induite par une chimiothérapie, l'existence d'un foyer infectieux à distance et la présence de lésions cutanées sévères) [(**Rüddel T. et coll., 2022**) ; (**Mimoz O., 2001**)], d'autres facteurs liés à la pose du cathéter ont été identifiés tels que la nature du cathétérisme (périphérique ou central), les conditions de pose du cathéter, le site d'insertion et les défauts d'asepsie (lavage des mains absent ou inapproprié) (**CCLIN, 2001**), la durée du cathétérisme, la fréquence et les conditions de manipulations de la ligne veineuse, le type de soluté perfusé (composition, pH, osmolarité, débit de perfusion) [(**Safdar N. et coll., 2002**) ; (**Maki D. et coll., 2006**)].

#### 4. Identification des espèces microbiennes

Après avoir défini les différents types d'infectivité, nous avons identifié les souches levuriennes et bactériennes isolées des différents dispositifs médicaux. A partir de 128 prélèvements ayant donné une culture positive, 71 levures et 163 bactéries ont été identifiées.

Sur les 71 levures identifiées, 36 appartenaient au genre *Geotrichum sp.*, 34 au genre *Candida sp.* et une seule à *Saccharomyces cerevisiae*. Seules les levures *Candida non-albicans* sont retenues pour cette présente étude.

Parmi les 34 levures de *Candida sp.*, 19 étaient des levures *Candida non-albicans* dont 9 *C. tropicalis*, 4 *C. glabrata*, 3 *C. famata* et 3 *C. parapsilosis*. La répartition des espèces de *Candida non-albicans* isolées est représentée sur le tableau 6.

**Tableau 6: Répartition des espèces de *Candida non albicans* isolées par service au CHU de Tlemcen.**

<i>Candida</i> Service	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. famata</i>	Total
<b>Chirurgie Ortho – Traumatologie</b>	-	1	1	1	<b>3</b>
<b>Neurologie Médicale</b>	1	-	-	-	<b>1</b>
<b>Anesthésie- Réanimation</b>	8	3	2	2	<b>15</b>
<b>Total (%)</b>	<b>9 (47%)</b>	<b>4 (21%)</b>	<b>3 (16%)</b>	<b>3 (16%)</b>	<b>19 (100%)</b>

L'espèce *C. tropicalis* occupe le premier rang avec un taux de 47% suivie de *C. glabrata* (21%) et enfin *C. parapsilosis* et *C. famata* avec des taux égaux pour les deux espèces (16%).

Nous remarquons que les espèces isolées sont réparties dans les trois services d'étude avec une prédominance au service d'anesthésie-réanimation (15 isolats) suivi par le service de chirurgie ortho- traumatologie avec 3 espèces et enfin une seule espèce est isolée au service de neurologie médicale.

1seule souche de chacune des espèces *C. glabrata*, *C. parapsilosis* et *C. famata* sont isolées au service de chirurgie ortho-traumatologie. Alors qu'au service de neurologie médicale, seule l'espèce de *C. tropicalis* est isolée.

En ce qui concerne le service d'anesthésie-réanimation, nous remarquons une prédominance de l'espèce de *C. tropicalis* (8 levures) suivie de *C. glabrata* (3levures) et enfin 2 souches de *C. parapsilosis* et 2 souches *C. famata* avec un même nombre de 2 espèces.

Le tableau7 regroupe la distribution des espèces de *Candida non-abicans* isolées en fonction des différents dispositifs médicaux implantés.

**Tableau 7: Répartition des espèces de *Candida non albicans* isolées par type de dispositif médical au CHU de Tlemcen.**

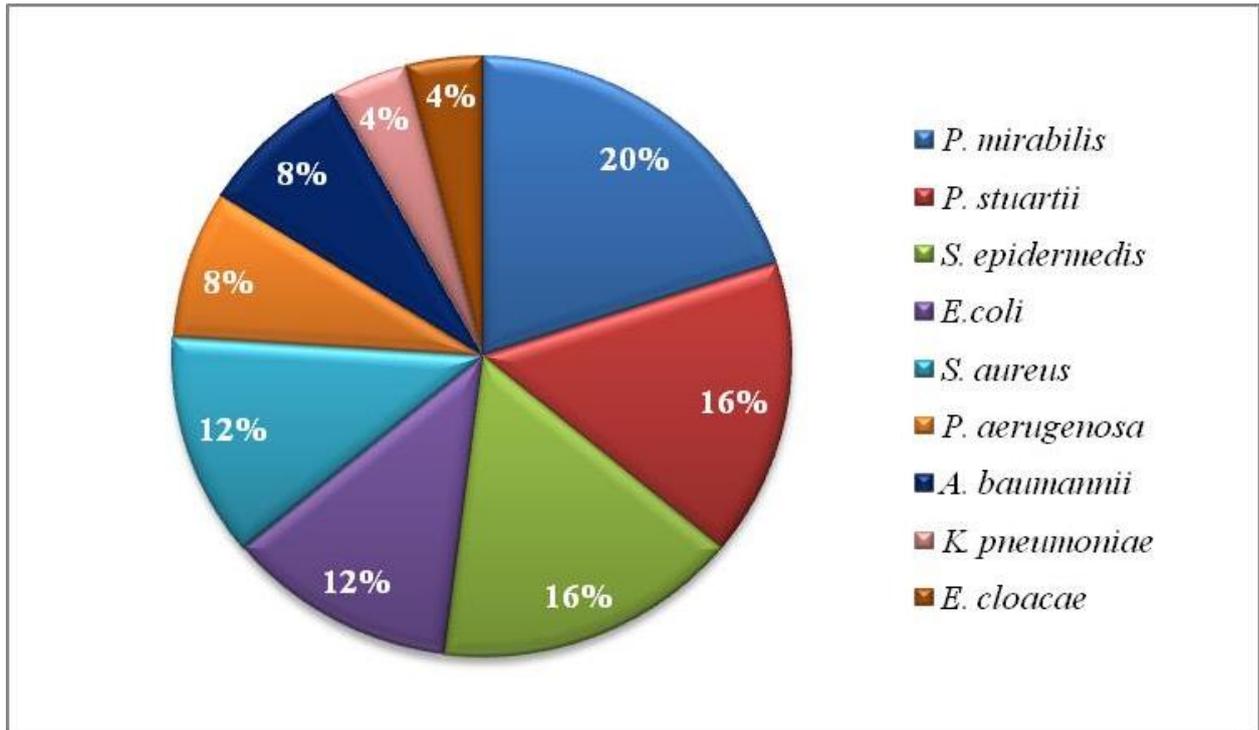
<i>Candida</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. famata</i>	Total
<b>Dispositif médicale</b>					
<b>Cathéter veineux Périphérique</b>	-	-	1	-	<b>1</b> <b>(5,3%)</b>
<b>Cathéter veineux central</b>	1	1	2	-	<b>4</b> <b>(21,1%)</b>
<b>Sonde vésicale</b>	8	3	-	3	<b>14</b> <b>(73,7%)</b>
<b>Total</b>	<b>9</b> <b>(47%)</b>	<b>4</b> <b>(21%)</b>	<b>3</b> <b>(16%)</b>	<b>3</b> <b>(16%)</b>	<b>19</b> <b>(100%)</b>

Nous remarquons que l'espèce de *C. famata* est isolée uniquement des sondes urinaires. *C. parapsilosis* est isolée des cathéters veineux périphériques (1/3) et centraux (2/3). *C. glabrata* et *C. tropicalis* sont plus isolées des sondes vésicales que de cathéters veineux centraux.

Dans un second temps, nous avons identifié les espèces bactériennes co-isolés avec les *Candida non albicans*.

A partir des échantillons prélevés, 25 bactéries ont été co-isolées avec les levures à partir des mêmes dispositifs médicaux dont 18 bactéries à Gram négatif et 7 à Gram positif.

Les résultats relatifs à la distribution de taux des espèces bactériennes isolées au CHU de Tlemcen sont représentés sur la figure 10. Alors que la répartition des espèces bactériennes isolées par service et par dispositif médical est regroupée sur le tableau 8.



**Figure 10 : Distribution du taux des espèces bactériennes co-isolées avec les levures *Candida non albicans* au CHU de Tlemcen :** *K. pneumoniae*: *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*: *Escherichia coli*, *P. stuartii*: *Providencia stuartii* *P. aeruginosa*: *Pseudomonas aeruginosa*, *P. mirabilis*: *Proteus mirabilis*, *E. cloacae*: *Enterobacter cloacae*, *A. baumannii*: *Acinetobacter baumannii*, *S. aureus*: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*: *Staphylococcus epidermidis*.

Nous remarquons que 72% des germes isolés sont des bacilles à Gram négatif, il s'agit de : *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Entérobacter cloacae* et *Acinetobacter baumannii*. Les bactéries à Gram positif co-isolées avec les levures *Candida non albicans* ne représentent que 28% du taux global (*Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*).

La distribution des espèces bactériennes isolées indique une prédominance du germe *P. mirabilis* avec un taux de 20% suivi de *P. stuartii* et *S. epidermidis* avec un taux identique (16%). Les espèces *E. coli* et *S. aureus* représentent un taux de 12%.

Les souches de *P. aeruginosa*, *A.baumannii* sont retrouvés dans des proportions non négligeable (8%) alors que les espèces de *K. pneumoniae* et *E. cloacae* ne représentent qu'une faible proportion (figure 10).

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Tableau 8 : Répartition des espèces bactériennes co-isolées avec les espèces de *Candida non albicans* par types de dispositif médical au niveau des trois services du CHU de Tlemcen.**

Bactéries		Gram-							Gram+		Total
		<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. stuartii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	
Chirurgie-Ortho-Traumatologie (n=4)	CVP	-	-	-	-	-	-	1	-	1	2 (8%)
	SV	-	-	-	-	-	-	-	-	2	
Neurologie-Médicale (n=1)	SV	-	1	-	-	-	-	-	-	-	21 (84%)
Anesthésie-Réanimation (n=20)	SV	1	2	4	2	4	1	1	3	-	
	CVC	-	-	-	-	1	-	-	-	1	2 (8%)
Total		1	3	4	2	5	1	2	3	4	25 (100%)
		18							7		

D'après le tableau 8, 84% des bactéries identifiées sont isolées à partir des sondes urinaires, le reste est isolé des dispositifs de cathétérisme périphérique ou central.

Nous remarquons que les espèces bactériennes sont isolées au niveau des trois services, cela peut être dû à la flore endogène du patient ou exogène qui est liée à la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, matériel, alimentation...) ou transmission par manutention du personnel médical. Un taux élevé (80%) est observé au service d'anesthésie-réanimation pourrait être en rapport avec la sévérité des pathologies sous-jacentes, le séjour relativement prolongé des patients et la fréquence des procédures invasives à visée diagnostique et/ou thérapeutique.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

D'après le tableau 9 qui regroupe la répartition des souches bactériennes co-isolées avec les différentes espèces de *Candida non albicans* au sein de trois services du CHU de Tlemcen, nous remarquons que la majorité des bactéries co-isolées avec les souches *C. tropicalis* et *C. famata* sont des bactéries à Gram négatif. Or, les souches *C. glabrata* et *C. parapsilosis* sont isolées par équivalence avec des bactéries à Gram négatif et positif.

**Tableau 9 : Répartition des espèces bactériennes co-isolées avec les espèces de *Candida non albicans* au CHU de Tlemcen.**

Bactéries  Type de <i>Candida</i>	Gram-							Gram+		Total
	<i>K.pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. stuartii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>A. baumannii</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	
<i>C. tropicalis</i>	-	2	3	1	2	1	1	1	-	<b>11</b>
<i>C. glabrata</i>	-	-	1	-	1	-	-	1	1	<b>4</b>
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	-	1	-	1	-	2	<b>4</b>
<i>C. famata</i>	1	1	-	1	1	-	-	1	1	<b>6</b>
<b>Total</b>	<b>18</b>							<b>7</b>		<b>25</b>

D'après le tableau 10 qui regroupe les différents types d'infektivités en fonction des espèces microbiennes et du type de dispositif médical, nous remarquons que ce sont les colonisations qui arrivent en première position avec un nombre de 8/9 associations suivies des infections (7/8). Les contaminations ne représentent qu'un seul prélèvement. Concernant les levures seules, elles sont à l'origine d'un seul cathéter contaminé, un cathéter colonisé et d'un cathéter infecté.

Les résultats obtenus montrent que les colonisations liées aux levures de *Candida non albicans* occupent la première place (9/19) suivies des infections (8/19). Les contaminations arrivent en dernier rang (2/19).

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Tableau 10: Infectivité mixte (*Candida non albicans*/ bactéries) en fonction du type de dispositif médical et du service au CHU de Tlemcen.**

		Contamination			Colonisation			Infection		
		Fongique	Mixte		Fongique	Mixte		Fongique	Mixte	
		Levure	Levure	Bactéries	Levure	Levure	Bactéries	Levure	Levure	Bactéries
Chirurgie Ortho-Traumatologie	CVP (1)		- <i>C. parapsilosis</i>	- <i>A. baumannii</i> + <i>S. epidermidis</i>						
	SV (2)								- <i>C. glabrata</i> - <i>C. famata</i>	- <i>S. epidermidis</i> - <i>S. epidermidis</i>
Neurologie médicale	SV (1)					- <i>C. tropicalis</i>	- <i>E.coli</i>			
Anesthésie-réanimation	SV (11)					- <i>C. tropicalis</i> - <i>C. famata</i>  - <i>C. tropicalis</i> - <i>C. tropicalis</i> - <i>C. tropicalis</i> - <i>C. glabrata</i>	- <i>E.coli</i> + <i>S.aureus</i> - <i>E.coli</i> + <i>P.aeruginosa</i> + <i>S.aureus</i> - <i>P.stuarti</i> - <i>P.stuarti</i> + <i>P.aeruginosa</i> - <i>P.stuarti</i> - <i>P.stuarti</i> + <i>S.aureus</i>		- <i>C. glabrata</i> - <i>C. famata</i>  - <i>C. tropicalis</i> - <i>C. tropicalis</i> - <i>C. tropicalis</i>	- <i>P. mirabilis</i> - <i>k. pneumoniae</i> + <i>P. mirabilis</i> - <i>P. mirabilis</i> - <i>P. mirabilis</i> - <i>E.cloaceae</i> + <i>A.baumannii</i>
	CVC (4)	- <i>C. Tropicalis</i>			- <i>C. glabrata</i>	- <i>C. parapsilosis</i>	- <i>P.mirabilis</i> + <i>S. epidermidis</i>		- <i>C. parapsilosis</i>	

Nous avons noté également la dominance de l'espèce *Candida tropicalis* au service de neurologie médicale et anesthésie-réanimation alors qu'aucune espèce n'était détectée au service de chirurgie ortho traumatologie. Nous remarquons aussi que les espèces de *C. tropicalis* et *C. parapsilosis* sont impliquées dans les trois types d'infectivité (contamination, colonisation et infection).

L'espèce *C. tropicalis* est responsable de 11% des contaminations, 56% des colonisations et 33% des infections. Alors que le taux des colonisations est comparable aux infections liées à la présence de l'espèce *C. glabrata* (50% pour chacune). De même, *C. famata* est à l'origine de 33% de colonisations et 67% d'infection. De plus, *C. parapsilosis* est impliqué dans les trois types d'infectivité avec un taux de 33% pour chacune.

### 5. Test de sensibilité aux antimicrobiens

#### 5.1. Evaluation de la sensibilité des levures à l'amphotéricine B

Les résultats relatifs aux Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de l'amphotéricine B vis-à-vis des souches isolées après 24 heures et 48 heures d'incubation sont représentés sur la figure 11. La Concentration Minimale Inhibitrice de l'amphotéricine B vis-à-vis de la souche de référence *Candida albicans* ATCC 10231 est de 0,5 µg/mL.

Les tests de sensibilité à l'amphotéricine B vis-à-vis des souches isolées, ont montré qu'après 24 heures d'incubation, les CMI sont comprises entre 0,5 et 1 µg/mL vis-à-vis de *C. tropicalis*, entre 0,5 et 4 µg/mL envers *C. famata*, de 0,5 µg/mL envers *C. parapsilosis* et de 4 µg/mL vis-à-vis de *C. glabrata*. L'incubation de 48h donne des CMI comprises entre 1 et 2 µg/mL envers l'espèce *C. tropicalis*, alors qu'aucune CMI n'est changée vis-à-vis des autres espèces de *Candida* isolées.

Nous remarquons après un temps d'incubation de 24 heures à 35°C, que pour 8 souches de *Candida tropicalis*, les CMI sont à 1 µg/mL et pour une souche une CMI de 0,5µg/mL. Lorsque le temps d'incubation est de 48 heures, 3/8 CMI restent inchangées (figure 11-A).

En revanche, toutes les souches de *Candida glabrata* isolées marquent une résistance à l'amphotéricine B avec des CMI 4µg/mL après 24h d'incubation. Ces CMI restent inchangées lorsque le temps d'incubation est de 48 heures à 35°C (figure 11-B).

Les trois souches de *Candida parapsilosis* sont toutes sensibles à l'amphotéricine B avec des CMI égale à 0,5 µg/mL. Ces CMI restent inchangées après 48 heures d'incubation (figure 11-C).

Pour les trois souches de *Candida famata*, les CMI sont identiques après 24 et 48 heures d'incubation, elles sont de 4µg/mL pour deux souches et de 0,5µg/mL pour la troisième (figure11-D).

### 5.2. Evaluation de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques

Les tableaux11 et 12 regroupent les résultats de l'antibiogramme des souches bactériennes co-isolées avec les espèces de *Candida non albicans*.

Les résultats de l'antibiogramme montrent une multirésistance de la plupart des souches isolées dans trois services du CHU de Tlemcen aux différentes familles d'antibiotique.

Les espèces *Pseudomonas aeruginosa* et *Proteus mirabilis* ont montré une résistance à la plupart des antibiotiques, avec quelques exceptions notables pour la gentamicine et l'amikacine selon les souches. De même, les espèces *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae* et *Escherichia coli* présentent une résistance importante avec une sensibilité pour l'amikacine. *Providencia stuartii* montre aussi une résistance à la plupart des antibiotiques testés avec une sensibilité à la gentamicine et à la ciprofloxacine. Les bactéries à Gram positif présentent aussi une résistance multiple pour la plupart des antibiotiques sélectionnés avec une sensibilité à l'acide fusidique et au macrolides (érythromycine et clindamycine) selon les souches testées.

La résistance élevée des bactéries aux antibiotiques pose des défis significatifs pour le traitement des infections.

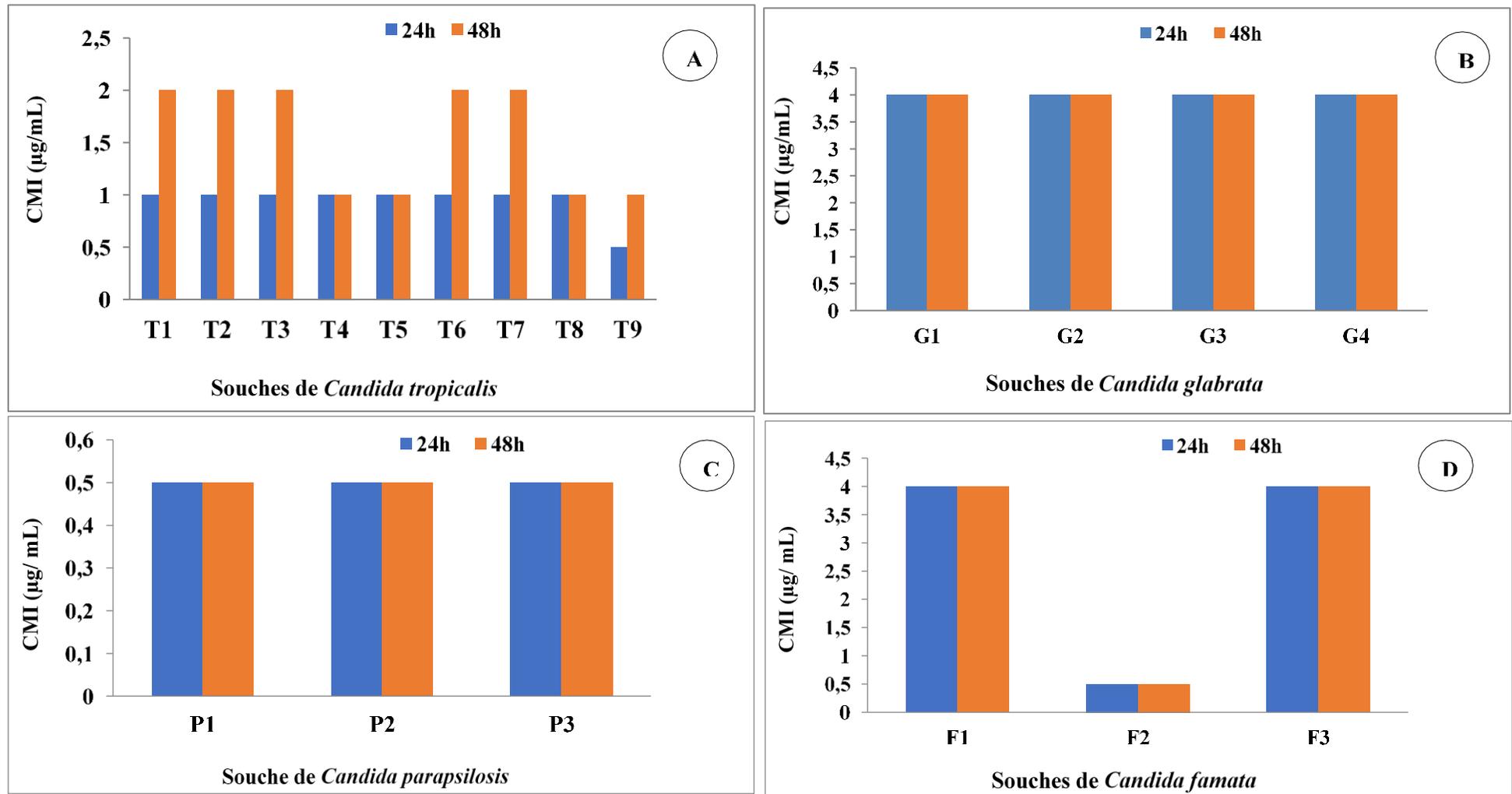


Figure 11 : Concentrations Minimales Inhibitrices de l'amphotéricine B vis-à-vis des *Candida non albicans* isolées. (A) : *C. tropicalis* (souche T1 à T9), (B) : *C. glabrata* (souche G1 à G4), (C) : *C. parapsilosis* (souche P1 à P3) et (D) : *C. famata* (souche F1 à F3).

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Tableau 11 : Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes à Gram négatif co-isolées avec les espèces de *Candida non albicans* dans trois services du CHU de Tlemcen.

Antibiotiques  Bactéries		Inhibiteurs de la synthèse des enveloppes bactériennes							Inhibiteurs de la synthèse des protéines			Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques		
		B-lactamines							Aminosides			Quinolones	Quinolones fluorescents	
		Pénicillines			Carbapénème	Monobactame	Céphalosporin es 2G	Céphalosporin es 3G						
		AMX	AMC	TIC	IPM	AT M	FOX	CAZ	GN	TOB	A K	A N	CIP	OFX
<i>P. aeruginosa</i>	S.1	R	R	I	S	I	R	R	S	S	S	R	S	R
	S.2	R	R	I	S	I	R	R	S	I	S	R	S	R
<i>A. baumannii</i>	S.1	R	R	I	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R
	S.2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>K. pneumoniae</i>	S.1	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	R	R	R
<i>E. coli</i>	S.1	R	R	R	S	R	S	R	R	I	S	S	S	S
	S.2	R	R	R	S	R	R	R	R	R	I	R	R	R
	S.3	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R
<i>P. stuartii</i>	S.1	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	S.2	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	S.3	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	S.4	R	R	S	S	S	S	I	S	S	S	R	R	R
<i>P. mirabilis</i>	S.1	R	R	R	S	R	S	R	S	I	S	R	S	R
	S.2	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	S.3	R	R	R	S	R	S	R	S	I	S	R	I	R
	S.4	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
	S.5	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>E. cloacae</i>	S.1	R	R	R	S	S	R	I	I	R	S	R	R	R

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Tableau 12 : Sensibilité aux antibiotiques des souches bactériennes à Gram positif co-isolées avec les espèces de *Candida non albicans* dans trois services du CHU de Tlemcen.**

Antibiotiques		Inhibiteurs de la synthèse des enveloppes bactériennes					Inhibiteurs de la synthèse des protéines					Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques		
		$\beta$ -lactamines					Aminosides			Macrolides		Acide fusidique	Tétracycline	Quinolones
		P	OX	IPM	FOX	VA	GN	TOB	K	E	DA			CIP
<i>S. aureus</i>	S.1	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R
	S.2	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R
	S.3	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R
<i>S. epidermidis</i>	S.1	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R
	S.2	R	R	S	R	R	R	R	R	I	S	S	S	R
	S.3	R	R	30	R	R	R	14	R	I	S	S	S	R
	S.4	R	R	20	R	R	R	13	R	R	S	S	S	R

**TIC** : Ticarcilline, **TCC** : ticarcylène-acide clavulanique, **CAZ** : Ceftazidime, **ATM** : Aztréonam, **IPM** : Imipénème, **AMX** : Amoxicilline, **FOX** : Céfoxitin, **GN** : Gentamycine, **TOB** : Tobramycine, **AK** : Amikacine, **AN** : Acide nalidixique, **CIP** : Ciprofloxacine, **K** : Kanamycine, **NOR** : Norfloxacine, **AMC** : Amoxicilline + acide clavulanique, **OFX** : Ofloxacine, **P** : Pénicilline G, **E** : Erythromycine, **DA** : Clindamycine, **OX** : Oxacilline, **VA** : Vancomycine.

Le cathétérisme central, périphérique et urinaire sont des facteurs de risque certains de l'infection nosocomiale qui est la conséquence de la qualité de pose, des soins d'entretien et du délai d'ablation. Jusqu'à ces dernières années *Candida albicans* était l'agent le plus fréquemment isolé lors d'infections fongiques systémiques, cependant de plus en plus d'espèces *non albicans* sont régulièrement isolées et incriminées dans ce type de mycoses (**Toubas D., 2013**). D'un autre côté, levures et bactéries cohabitent dans l'environnement et peuvent causer des infections polymicrobiennes ce qui implique un impact sur la pathogénèse et la santé des patients. Cette première partie de notre étude montre une prédominance de l'espèce *Candida tropicalis* (9 isolats) à l'origine de 11% des contaminations, 56% des colonisations et 33% des infections. 8 souches de cette espèce sont co-isolées avec des entérobactéries (*Escherichicola*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae*) alors qu'une seule souche de cette espèce est co-isolée avec *Staphylococcus aureus*. Ces bactéries pourraient provenir de la flore cutanée du patient, de la micro-flore exogène du personnel hospitalier, ou encore de l'environnement contaminé.

*Candida glabrata* occupe la deuxième place de nos isolats (4souches). Elle est co-isolée essentiellement des sondes vésicales aussi bien avec *Staphylococcus aureus* qu'avec différentes espèces d'entérobactéries (*P. mirabilis*, *P. stuartii*). Le taux de colonisation est comparable à celui des infections causées par cette levure alors qu'aucune contamination n'est liée à cette espèce. **Lima R. et coll. (2010)** considèrent *C. glabrata* comme étant un agent important d'infections chez les patients immunodéprimés. La fréquence de cette espèce a doublé par rapport aux données enregistrées dix années auparavant ( **García-Figueroa B. et coll., 2009**). Or selon des études plus récentes [(**Poulain D., 2013**) ; (**Seddiki S., 2014**) ; (**Brikci O., 2020**)] *Candida glabrata* se situe au premier rang en termes de fréquence et de gravité parmi les espèces de *Candida non albicans*. Il est à noter que cette prévalence varie considérablement selon les services avec une prédominance pour les unités de soins intensifs (**Lundstrom T. et Sobel J., 2001**).

Quant à *Candida parapsilosis* que nous avons isolé, elle est impliquée dans les trois types d'infectivités (contamination, colonisation et infection), sa présence est en rapport avec l'utilisation des cathéters veineux périphériques et centraux. Elle est co-isolée avec plusieurs entérobactéries tels que *Acinetobacter baumannii* et *P. mirabilis*. Or selon **Gallien S. et coll. (2007)** et **Kaitwatcharachai C. (2002)**, l'isolement de *Candida parapsilosis* est fortement associé à une infection du cathéter veineux ce qui fait de cette espèce l'une des principales causes d'infections fongiques des cathéters. *C. parapsilosis* fait partie de la flore commensale de la peau (**Seghir et coll., 2014**).

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

Enfin nous avons isolé l'espèce *C. famata* à partir des cathéters de sondage urinaire, elle est à l'origine de 33% des colonisations et 67% des infections. Elle est co-isolée avec 3 entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*) ainsi qu'avec *S. aureus*.

Par ailleurs les bactéries que nous avons co-isolé avec les levures *Candida non albicans* sont majoritairement des espèces d'entérobactéries (18/25) avec seulement 3 souches de *Staphylococcus aureus* et 2 *Staphylococcus epidermidis*. Notons également que toutes les souches isolées sont multi-résistantes. Or ces bactéries sont souvent incriminées dans les infections hospitalières. L'espèce *S. aureus* quant à elle compte parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés dans les infections nosocomiales et communautaires grâce à sa capacité à adhérer aux implants médicaux temporaires ou permanents.

Nous remarquons également que l'association *Candida non albicans*/entérobactéries est présente dans tous les types d'infectivité que nous avons observés. Cependant l'association *Candida non albicans*/*Staphylococcus aureus* n'est observée que dans les colonisations des cathéters prélevés. Notons qu'aucune infection liée à cette dernière (*Candida non albicans*/*S. aureus*) n'est observée alors que *Candida non albicans*/ entérobactéries est à l'origine de toutes les infections des dispositifs prélevés. Cependant, rappelons qu'une souche colonisante est dans la plupart des cas une souche infectante et la colonisation d'un cathéter aboutit à une infection du patient (Stephan F. et coll., 2002).

### 6. Evaluation du potentiel des souches isolées à former les biofilms

#### 6.1. Evaluation du potentiel de formation de biofilm fongique

Afin d'évaluer le potentiel de formation des biofilms fongiques nous avons d'une part déterminé les SCMI en amphotéricine B envers les levures, d'autre part nous avons évalué l'activité métabolique des cellules viables par la réduction des sels de tetrazolium (XTT).

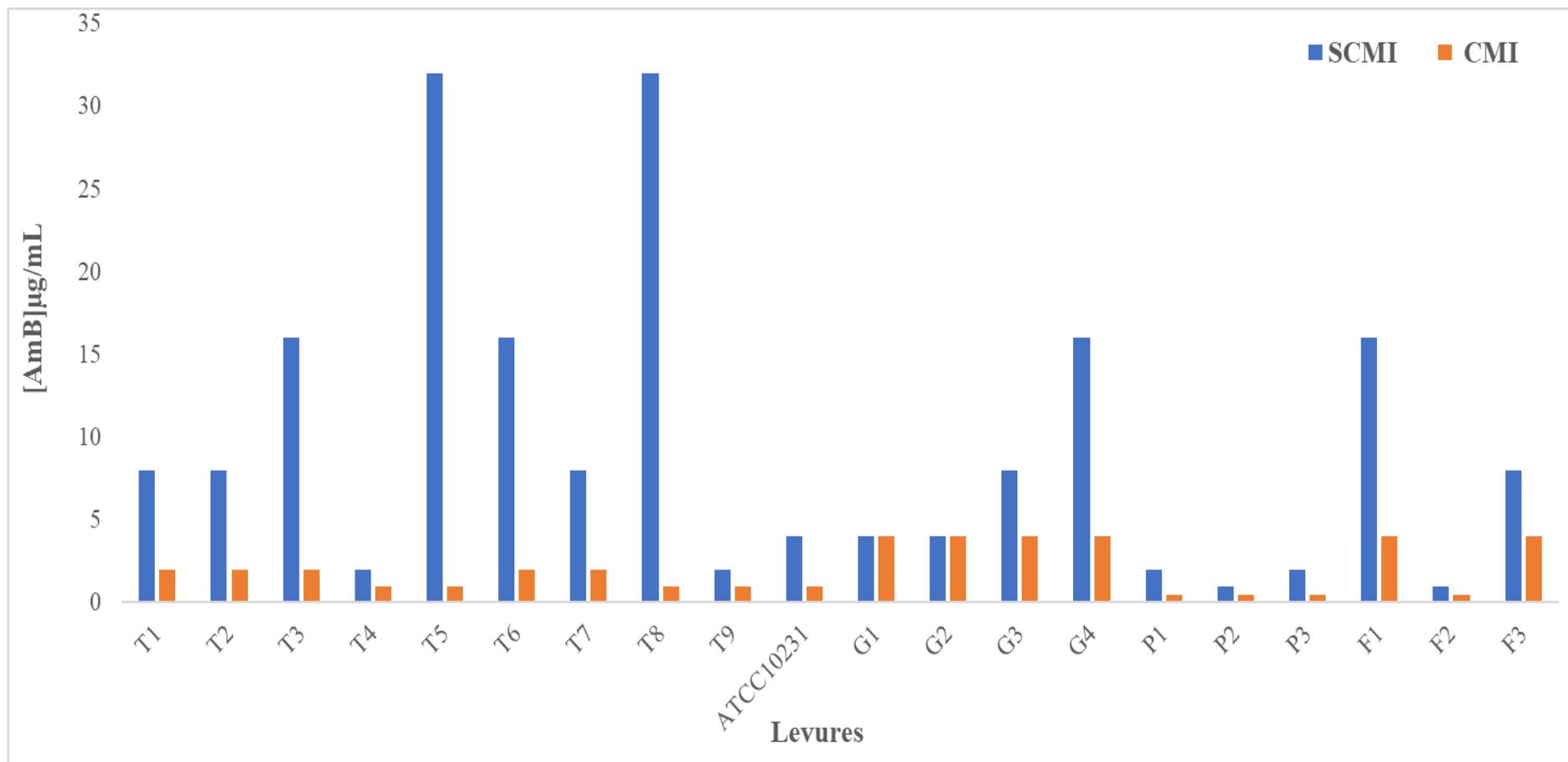
##### 6.1.1 Détermination des Concentrations Minimales Inhibitrices des cellules Sessiles (SCMI) (Ramage et coll., 2001)

La figure 12 représente les résultats relatifs aux Concentrations Minimales Inhibitrices des cellules planctoniques et sessiles (CMI et SCMI) de l'amphotéricine B vis-à-vis des isolats de *Candida non albicans*. Nous remarquons qu'après 48 heures d'incubation, les CMI sont comprises entre 1 et 2 µg/mL pour l'espèce *C. tropicalis*, entre 0,5 et 4 µg/mL pour *C. famata*, de 0,5 µg/mL pour *C. parapsilosis* et de 4 µg/mL vis-à-vis de *C. glabrata*. Quant aux cellules sessiles de *Candida non albicans*, les tests de sensibilité à l'amphotéricine B ont montré que les SCMI présentent une valeur maximale de 32 µg/mL pour deux souches de *Candida tropicalis*, alors que pour le reste des souches, les SCMI varient entre 1 et 16 µg/mL.

Nous remarquons qu'après 48 heures d'incubation, la valeur de SCMI est égale à 32 µg/mL envers deux souches de *Candida tropicalis* (T5 et T8). Alors qu'elle est de 16 µg/mL pour les deux souches T3 et T6. De même, la SCMI est égale à 8 µg/mL envers les souches T1, T2 et T7 et à l'ordre de 2 µg/mL pour deux autres souches T4 et T9.

En revanche, les tests de sensibilité à l'amphotéricine B de *Candida glabrata* après 48h d'incubation à 35°C ont montré que la valeur de la SCMI est égale à 16 µg/mL pour la souche G4, 8 µg/mL pour la souche G3 et 4 µg/mL pour les deux autres souches (G1 et G2). De même, les valeurs de SCMI de *Candida parapsilosis* varient entre 1 et 2 µg/mL après 48 heures d'incubation. De plus, les concentrations minimales inhibitrices des cellules sessiles de *Candida famata* après 48 heures d'incubation présentent des valeurs de 16 µg/mL pour la souche F1, 8 µg/mL pour la souche F2 et 2 µg/mL pour la souche F3.

Les SCMI sont jusqu'à 32 fois plus importantes que les CMI pour l'amphotéricine B. L'augmentation des concentrations minimales inhibitrices des cellules sessiles par rapport à leurs homologues planctoniques témoigne de leur capacité à former les biofilms. Ces résultats vont dans le même sens que ceux de **Bojsen et coll. (2014)** et **Ramage et coll. (2001)** qui ont montré que les cellules sessiles fongiques peuvent être jusqu'à mille fois plus résistantes aux agents antimicrobiens que leurs homologues planctoniques.



**Figure 12 : Concentrations Minimales Inhibitrices de l’amphotéricine B vis-à-vis des cellules planctoniques et sessiles des *Candida non albicans* après 48h d’incubation.** *C. tropicalis* (souche T1 à T9), *C. glabrata* (souche G1 à G4), *C. parapsilosis* (souche P1 à P3), *C. famata* (souche F1 à F3), souche de référence *Candida albicans* (ATCC10231).

### 6.1.2 Evaluation de l'activité métabolique par réduction des sels de tétrazolium (XTT)

Les souches de *Candida* sont considérées comme productrices de biofilms lorsque la densité optique mesurée à 490 nm est supérieure ou égale à 0,2. L'activité métabolique des cellules adhérentes de *Candida* dans un biofilm est mesurée après 48 heures d'incubation [(Villar M. et coll., 2011) ; (Valentin et coll., 2007)]. Les souches productrices de biofilms sont regroupées par catégorie.

Le tableau 13 regroupe les résultats relatifs à la répartition des espèces de *Candida non albicans* en fonction de l'activité métabolique des cellules adhérentes. Nous remarquons que 4 souches sont fortement productrices de biofilms avec une densité optique supérieure ou égale à 1, il s'agit d'une souche de *Candida parapsilosis* et 3 souches de *Candida tropicalis*.

12 souches de levures sont faiblement ou modérément productrices de biofilms et se répartissent comme suit : 4 souches de *C. tropicalis*, 3 souches de *C. glabrata*, 3 souches de *C. famata* et 2 souches de *C. parapsilosis* présentant des densités optiques comprises entre 0,20 et 0,99.

Nous remarquons également que 2 souches de *C. famata* et 1 souche de *C. glabrata* présentent des densités optiques inférieures à 0,2. Ce sont des souches non productrices de biofilms.

Sur l'ensemble des levures de *C. non albicans* que nous avons isolés (19), 16 souches d'entre elles sont productrices de biofilms. La densité de biofilm formé dépend de la souche productrice. D'un autre côté, la mesure de l'activité métabolique à confirmer les résultats observés après la détermination des SCMI à savoir que les souches dont la SCMI augmente par rapport à la CMI, sont productrices de biofilm.

Ces résultats obtenus sont en accord avec les travaux de **Tumbarello et coll. (2012)** qui ont rapporté que les isolats cliniques de *Candida sp.* forment des biofilms mono espèces avec des densités optiques comprises entre 0,125 et 1,358.

De même, les travaux de **Li X. et coll. (2003)** ainsi que ceux de **Pathak A. et coll. (2012)** ont montré que pour une même espèce de levure, la capacité à former un biofilm varie d'une souche à une autre. Ces résultats sont confirmés par ceux de **Jin Y. et coll. (2003)**, qui ont mis en évidence l'existence d'une grande variabilité dans la capacité des souches cliniques à produire un biofilm. Aussi, selon **Sánchez L. et coll. (2013)**, le potentiel à former des biofilms par les souches de *Candida sp.* dépend de l'origine clinique de l'espèce.

**Tableau 13 : Répartition des espèces de *Candida non albicans* isolées en fonction de l'activité métabolique des cellules adhérentes.**

Catégories de formation de biofilm	DO à 490 nm	Souches
Hautement productrice de biofilm +6	(> 1,3)	<i>Candida tropicalis</i> (T5)
Hautement productrice de biofilm +5	(1-1,29)	<i>Candida tropicalis</i> (T3, T8) <i>Candida parapsilosis</i> (P1)
Modérément productrice de biofilm +4	(0,7- 0,99)	<i>Candida tropicalis</i> (T4)
Modérément productrice de biofilm +3	(0,4- 0,69)	<i>Candida tropicalis</i> (T2, T7) <i>Candida glabrata</i> (G4) <i>Candida famata</i> (F1, F3)
Faiblement productrice de biofilm +2	(0,2- 0,39)	<i>Candida tropicalis</i> (T6) <i>Candida parapsilosis</i> (P2, P3) <i>Candida glabrata</i> (G1, G2) <i>Candida famata</i> (F2)
Non productrice de biofilm +1	(< 0,2)	<i>Candida glabrata</i> (G4) <i>Candida famata</i> (F1, F3)

## 6.2. Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm

Dans cette partie de l'étude nous avons suivi la méthode de la mesure de la biomasse par le Crystal violet afin d'évaluer dans un premier temps la capacité des levures et des bactéries co-isolées à former des biofilms mono espèces en fonction du milieu de culture utilisé.

Dans un second temps, nous avons évalué la capacité de ces souches co-isolées à former des biofilms mixtes (levures/ bactéries).

### 6.2.1 Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique mono espèce

#### a. *Candida tropicalis*

D'après la figure 13, nous remarquons que les densités optiques de biofilm varient entre (0,07-0,80) et (0,04-0,9) après 24h d'incubation sur le RPMI 1640 et TSB respectivement. Alors qu'après 48h d'incubation, les densités optiques des différentes souches de *C. tropicalis* varient respectivement entre (0,2 - 1,32) et (0,27- 1,37) sur les mêmes milieux de culture.

Au bout de 72h d'incubation, le biofilm atteint les biomasses les plus élevées avec des densités optiques maximales de 1,52 et de 1,62 sur le RPMI 1640 et le TSB respectivement.

Selon la classification de **Guinea J.** et ses collaborateurs (2014), 7 souches de *C. tropicalis* sont formatrices de biofilm sur le RPMI 1640 alors que 6 souches le sont sur le TSB.

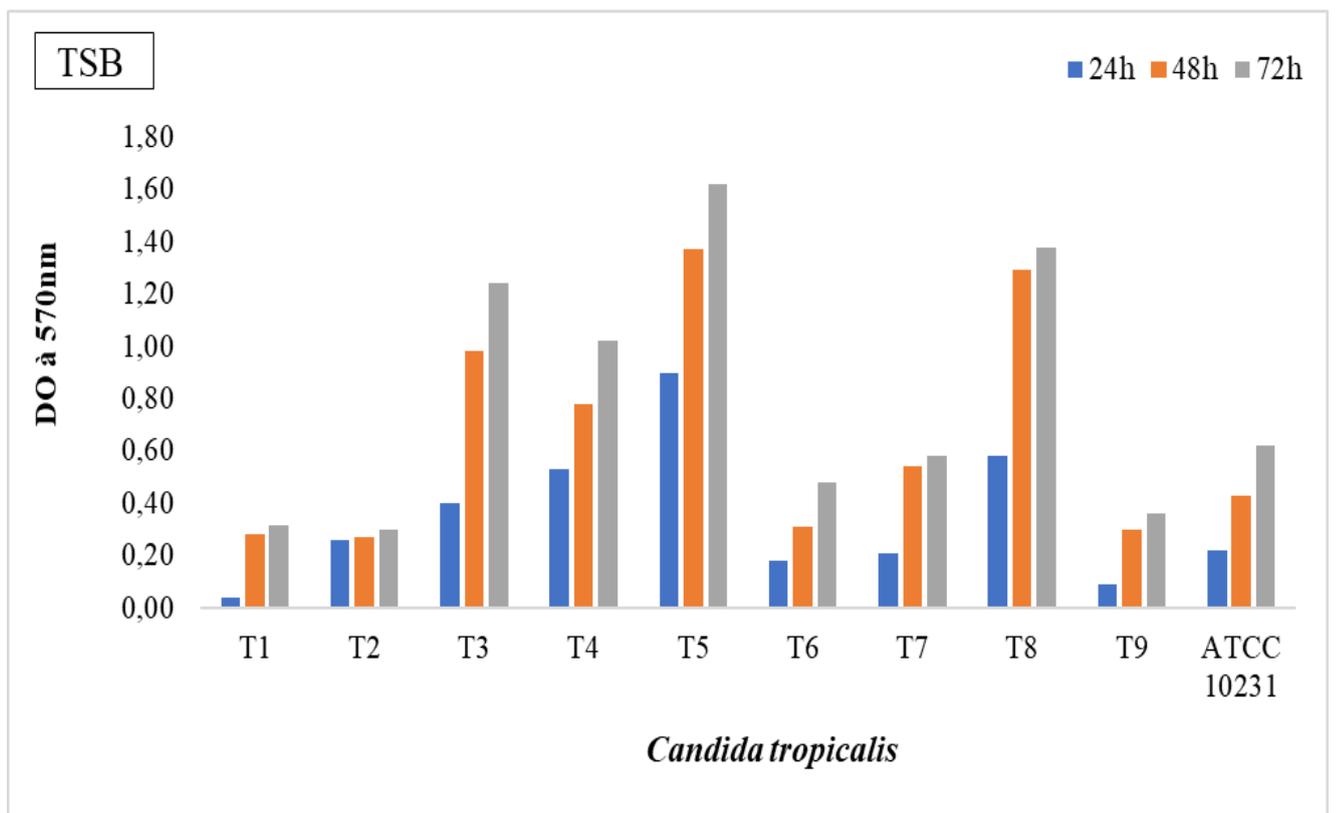
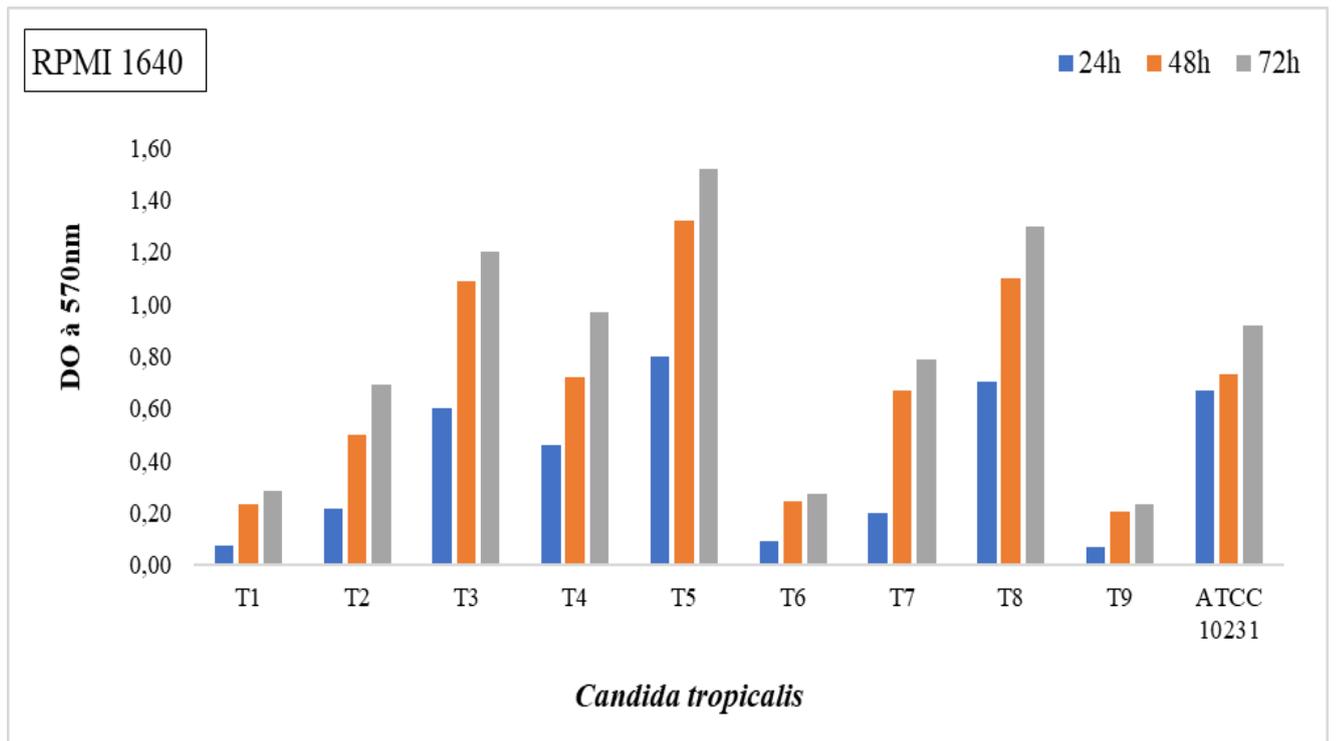
En fonction des densités optiques obtenues, il apparaît clairement que la souche T5 présente la biomasse la plus élevée sur le RPMI 1640 et TSB suivie par les souches T8 et T3. Les DO varient entre 1,52 et 1,62 après 72h d'incubation. Ce résultat confirme celui observé après mesure de l'activité métabolique (tableau 13). L'analyse statistique montre une différence hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les biofilms formés sur TSB et ceux formés sur RPMI. De même, il y a une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les biofilms de 24h, 48h ou 72h.

#### b. *Candida glabrata*

Nous remarquons sur la figure 14 qu'après 24h d'incubation les densités optiques de biofilms varient de 0,05 à 0,17 sur RPMI 1640 et de 0,06 à 0,18 sur le TSB.

Les densités optiques des différentes souches varient de (0,15 à 0,3) sur RPMI 1640 et (0,18 à 0,42) sur TSB après une incubation de 48h. Le biofilm de *C. glabrata* atteint sa maturité après 72h d'incubation avec des biomasses importantes dont les densités varient entre (0,21 à 0,6) sur RPMI 1640 et de (0,29 à 0,7) sur TSB.

Selon la classification de **Guinea J.** et *coll.* (2014), sur les 4 souches de *C. glabrata*, la souche G4 est formatrice de biofilm sur le TSB. Cette dernière présente la biomasse la plus élevée sur le RPMI 1640 et TSB après 72h d'incubation. Alors qu'aucune souche n'est considérée comme productrice de biofilm sur le RPMI (les densités optiques sont inférieures à 0,44) ce qui explique un faible potentiel de formation de biofilm. Ce résultat confirme celui observé après la mesure de l'activité métabolique (tableau 13). L'analyse statistique montre une différence hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les biofilms formés sur TSB et ceux formés sur RPMI et entre les biofilms à 24h, 48h ou 72h.



**Figure 13 : Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique *Candida tropicalis* (souche T1 à T9).**

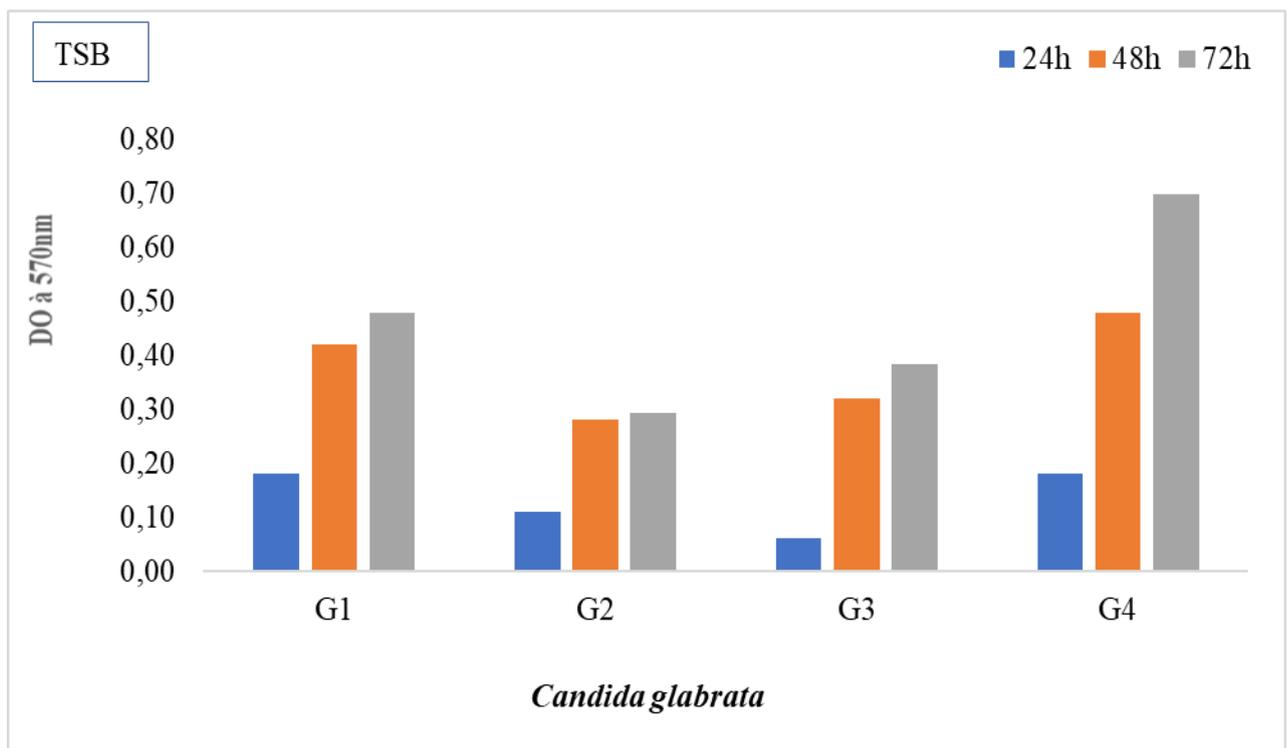
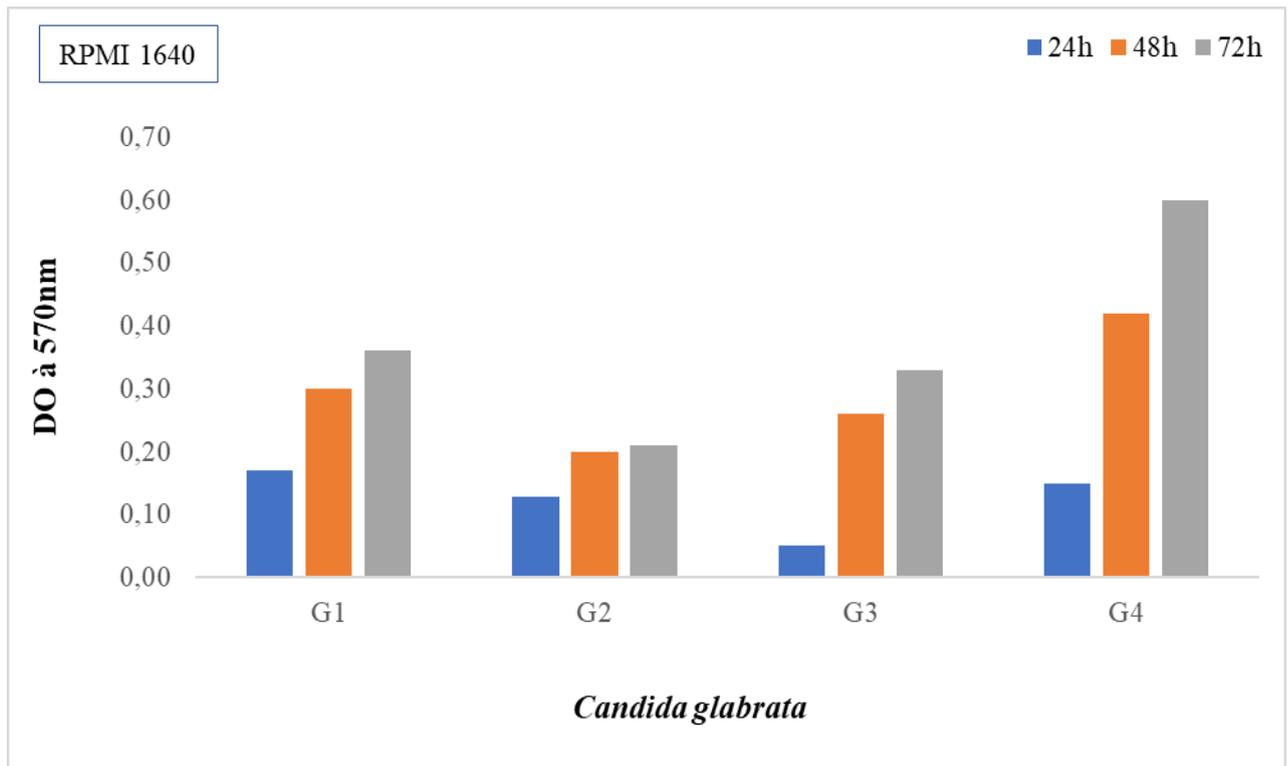


Figure 14 : Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique *Candida glabrata* (souche G1 à G4).

### *c. Candida parapsilosis*

D'après la figure 15, nous remarquons que les biomasses de biofilm de *C. parapsilosis* varient de 0,09 à 0,85 sur le RPMI 1640 et de 0,09 à 0,64 sur TSB après 24h d'incubation. Alors qu'après 48h d'incubation, la biomasse de biofilms varie de 0,28 à 1,11 sur RPMI 1640 et de 0,26 à 1,01 sur le milieu TSB.

Après 72h d'incubation, le biofilm de *C. parapsilosis* atteint sa maturité sur les deux milieux de cultures avec des densités optiques allant de 0,25 à 1,40 sur RPMI 1640 et de 0,33 à 1,09 sur le TSB. Il est à noter que la souche P1 présente la biomasse la plus élevée sur les deux milieux de culture utilisés avec des DO de 1,40 et 1,09.

Selon la classification de **Guinea J. et coll. (2014)**, seule la souche P1 est considérée comme productrice de biofilm. Ce résultat confirme ceux obtenus après la mesure de l'activité métabolique (tableau13). L'analyse statistique montre une différence hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les biofilms formés sur TSB et ceux formés sur RPMI et entre les biofilms à 24h et 72h.

### *d. Candida famata*

La figure 16 montre que les DO des biomasses de *C. famata* varient entre (0,07- 0,18) et (0,1- 0,19) après 24h d'incubation sur le RPMI 1640 et TSB respectivement. Alors que les biomasses des différentes souches varient respectivement entre (0,22-0,63) et (0,21-0,48) sur les mêmes milieux de culture après 48h d'incubation.

Les biomasses les plus élevées sont observées après 72h d'incubation avec une prédominance de la souche F1 avec une DO égale à 0,78 sur le RPMI 1640. Alors que sur le milieu TSB, c'est la souche F3 qui présente la biomasse la plus élevée avec une DO égale à 0,53.

Selon la classification de **Guinea J. et coll. (2014)**, deux souches de *C. famata* sont productrices de biofilms sur le milieu RPMI 1640 ; il s'agit des souches F1 et F3 avec des densités optiques de 0,49 et 0,63 respectivement. Alors que sur le Bouillon Trypticase Soja seule la souche F3 est formatrice de biofilm avec une DO égale à 0,48. Ce résultat confirme ceux obtenus après la mesure de l'activité métabolique (tableau13). L'analyse statistique montre une différence hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les biofilms formés sur TSB et ceux formés sur RPMI et entre les biofilms à 24h et 48h.

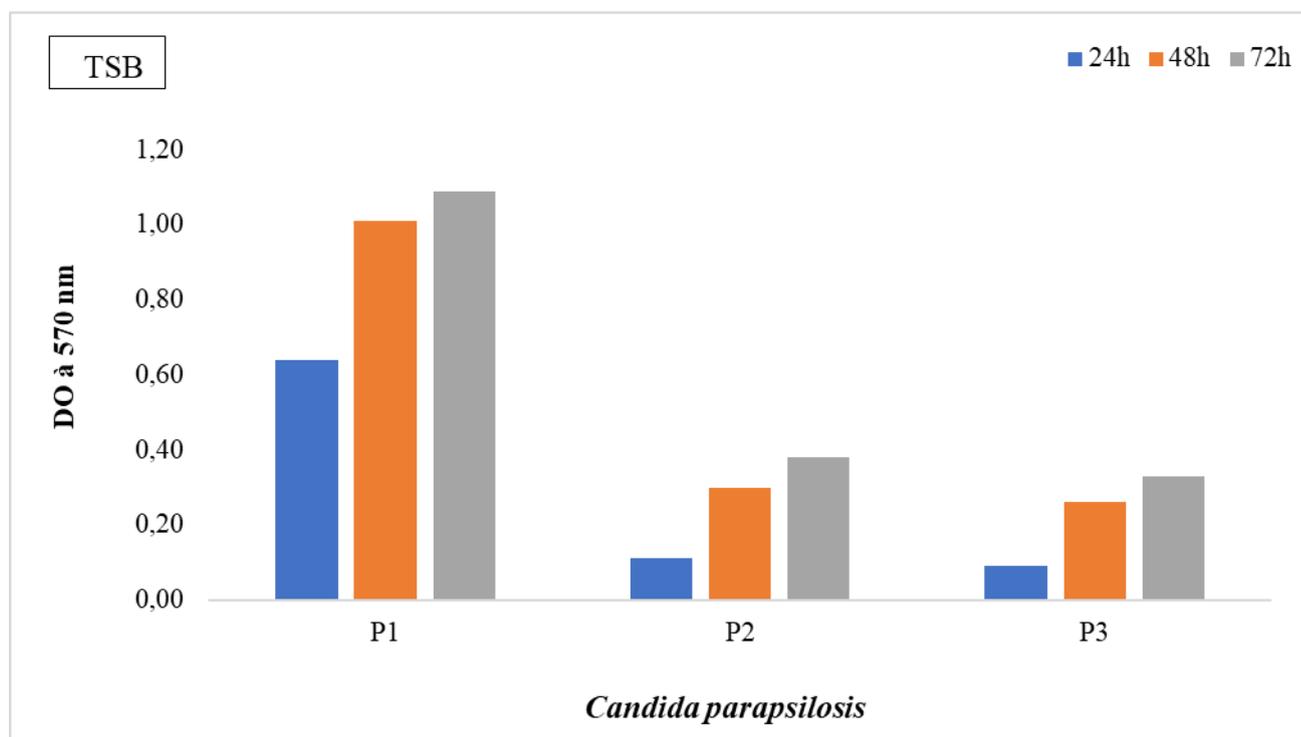
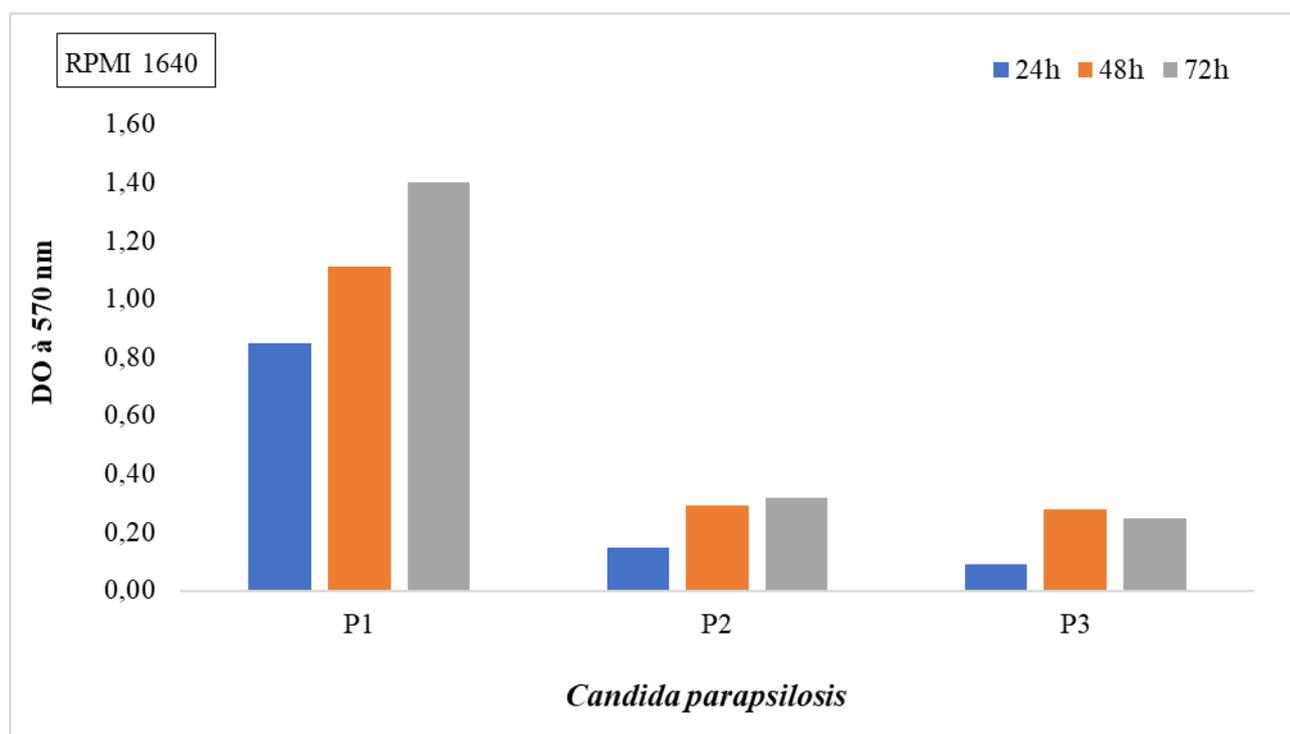


Figure 15 : Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique *Candida parapsilosis* (souche P1 à P3).

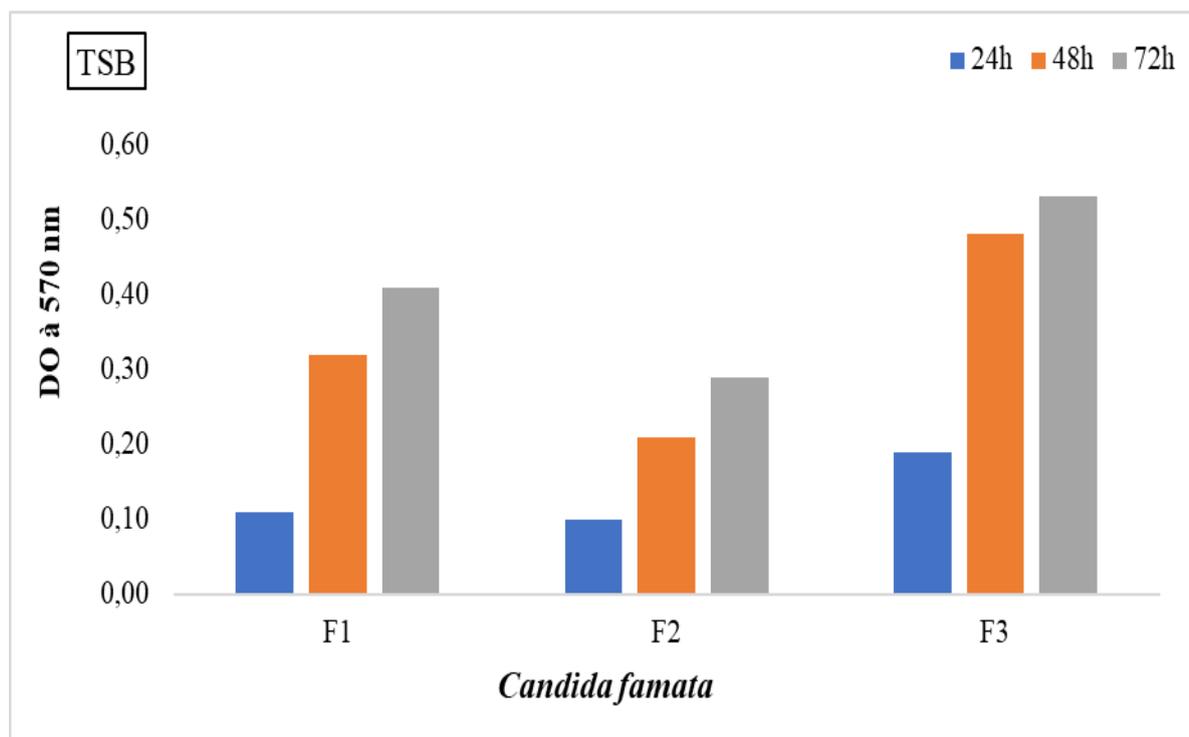
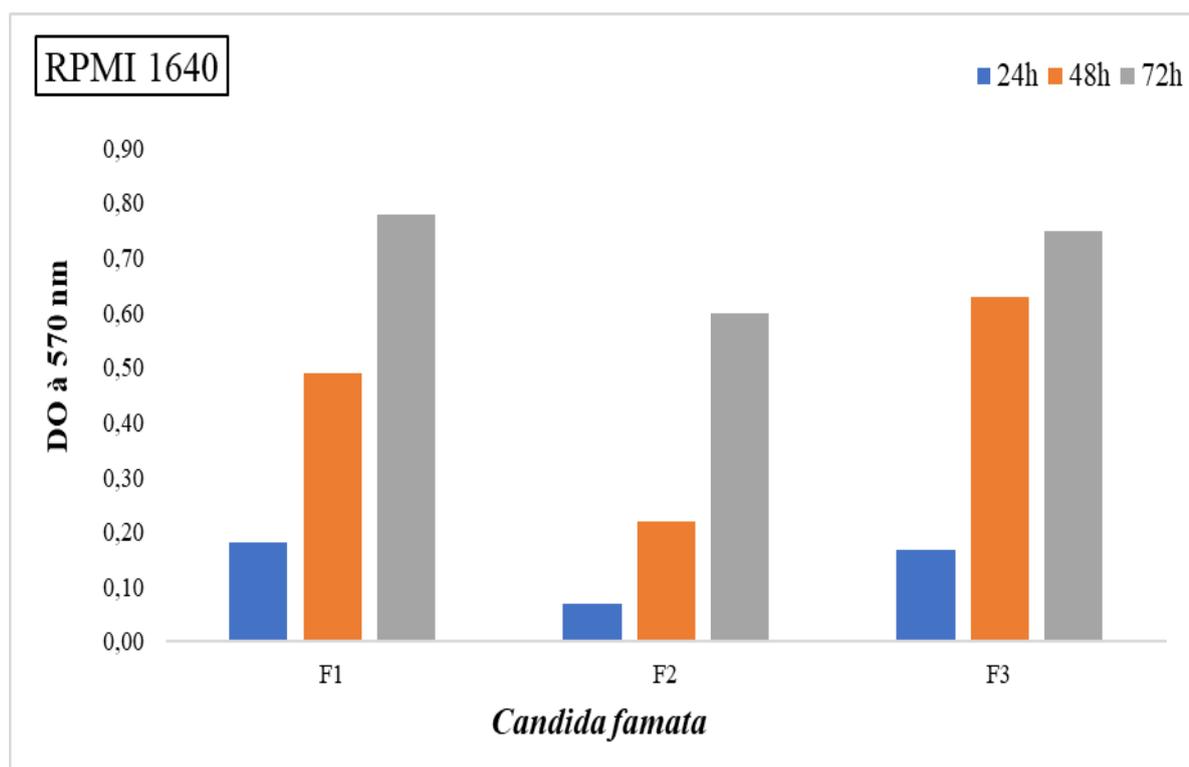


Figure 16 : Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique *Candida famata* (souche F1 à F3).

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

D'après les résultats que nous avons obtenus, il apparaît d'une part que la majorité des levures isolées sont formatrices de biofilm, d'autres part que l'intensité de la biomasse de ces biofilms dépend de plusieurs paramètres (figure 17) à savoir l'espèce fongique isolée et la nature du milieu réactionnel (tableau 14) ainsi que la durée d'incubation ou il apparaît clairement qu'au bout de 72 heures nous obtenons des biofilms matures plus dense.

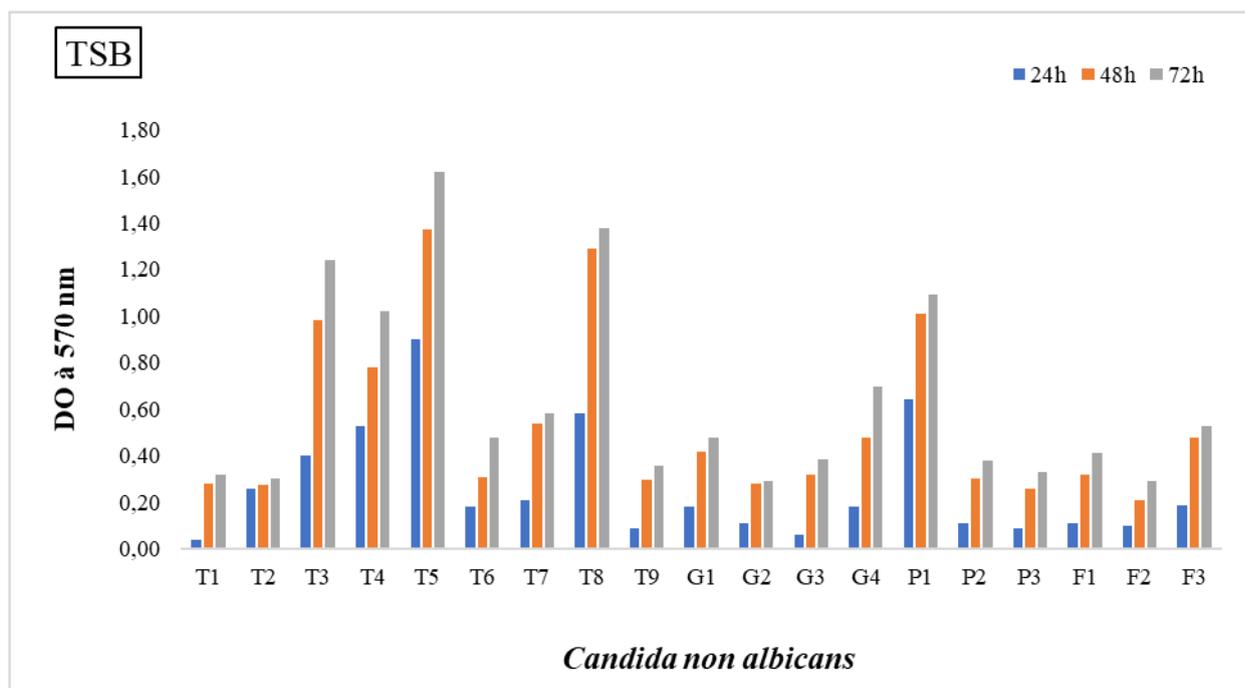
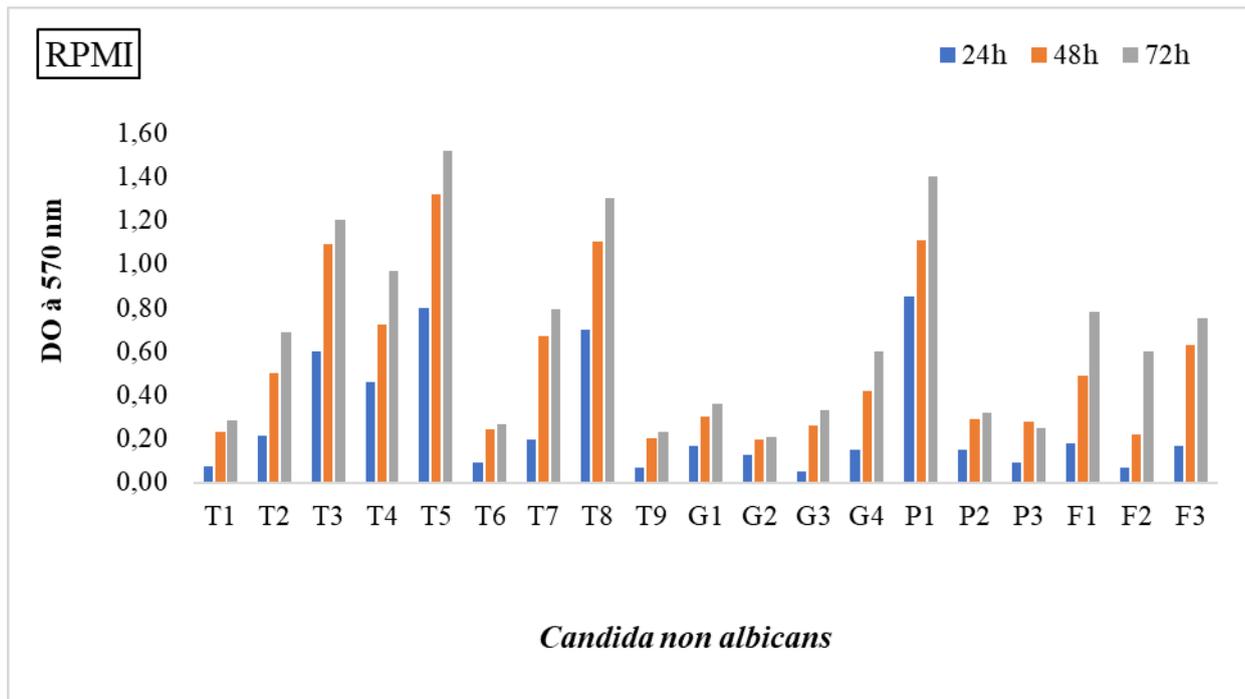
La majorité des souches isolées appartenant à l'espèce *Candida tropicalis* forment un biofilm plus dense sur milieu TSB que sur le RPMI 1640. De même, pour l'espèce *C. glabrata* ou les densités optiques des biofilms formés dans le milieu TSB sont plus importantes que ceux formés sur le RPMI 1640.

En revanche, les levures *Candida famata* et *C. parapsilosis* forment des biofilms plus denses sur le milieu RPMI 1640. L'analyse statistique montre une différence hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les biofilms de *Candida non albicans* formés sur TSB et ceux formés sur RPMI et entre les biofilms à 24h, 48h et 72h.

**Tableau 14: Classification des isolats cliniques de *Candida non albicans* selon leur capacité à former des biofilms sur le RPMI 1640 et le bouillon Tryptone Soja (Guinea J et coll., 2014).**

Catégorie	Milieu de culture	
	RPMI 1640	TSB
<b>Hautement productrice de biofilm</b>	3 souches de <i>C. tropicalis</i> 1 souche de <i>C. parapsilosis</i>	2 souches de <i>C. tropicalis</i> 1 souche de <i>C. parapsilosis</i>
<b>Modérément productrice de biofilm</b>	3 souches de <i>C. tropicalis</i> 1 souche de <i>C. glabrata</i> 1 souche de <i>C. famata</i>	3 souches de <i>C. tropicalis</i> 2 souches de <i>C. glabrata</i> 1 souche de <i>C. famata</i>
<b>Faiblement productrice de biofilm</b>	3 souches de <i>C. tropicalis</i> 3 souches de <i>C. glabrata</i> 2 souches de <i>C. parapsilosis</i> 2 souches de <i>C. famata</i>	4 souches de <i>C. tropicalis</i> 2 souches de <i>C. glabrata</i> 2 souches de <i>C. parapsilosis</i> 2 souches de <i>C. famata</i>

## RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure 17 : Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm fongique *Candida non albicans*. *C. tropicalis* (souche T1 à T9), *C. glabrata* (souche G1 à G4), *C. parapsilosis* (souche P1 à P3), *C. famata* (souche F1 à F3), (ATCC1023 : souche de référence de *C. albicans*)**

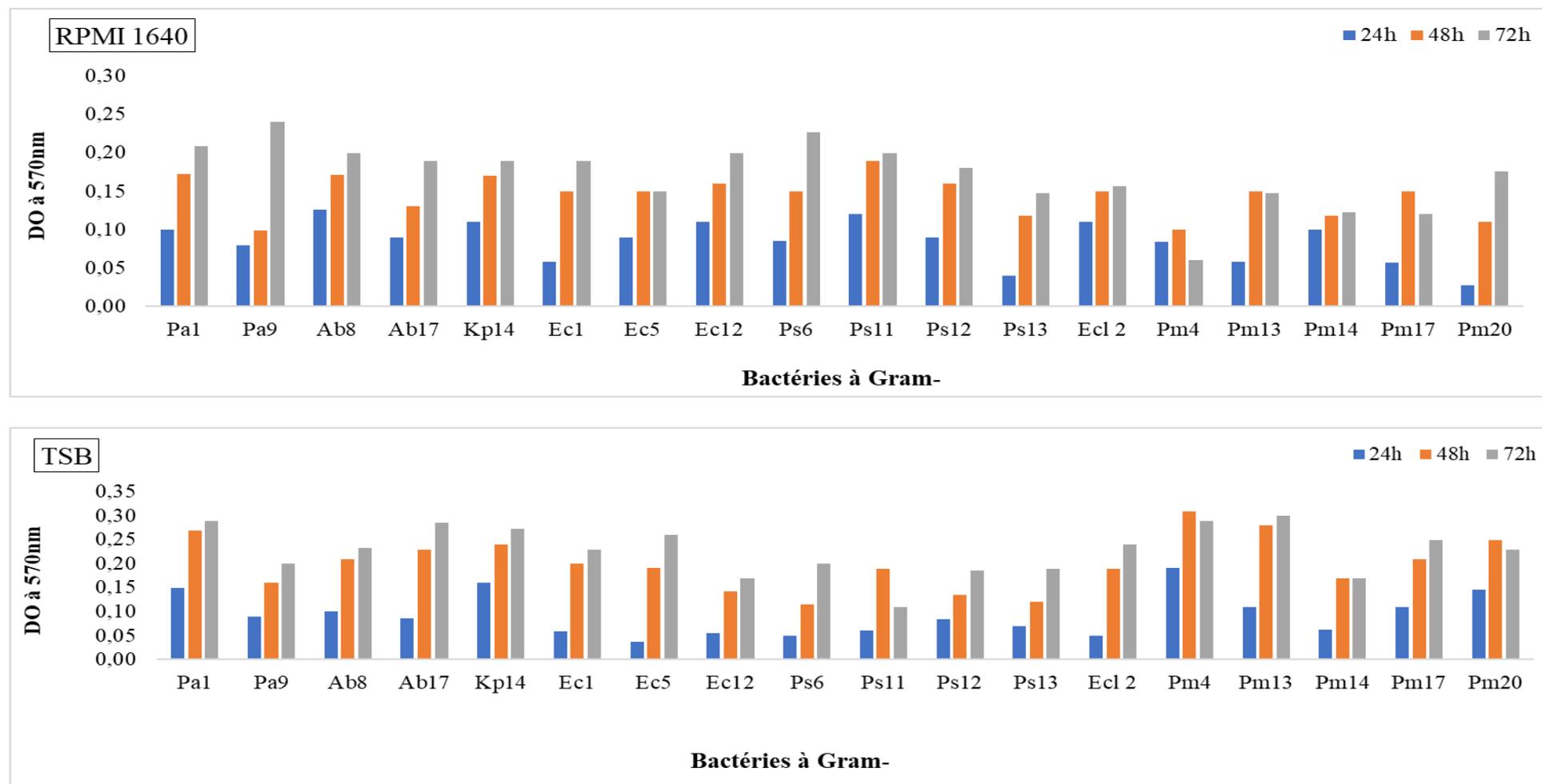
### 6.2.2 Effet du milieu de culture sur la formation de biofilm bactérien

D'après la figure 18, nous remarquons que les densités optiques des biofilms bactériens à gram- varient entre 0,03 et 0,13 sur RPMI 1640 et entre 0,04 et 0,19 sur TSB après 24h d'incubation. Après 48h d'incubation, les DO varient entre (0,1- 0,19) et (0,11-0,28) sur les mêmes milieux de cultures, pour atteindre des valeurs maximales après 72h d'incubation allant de 0.12 à 0.24 sur RPMI 1640 et de 0.11 à 0.3 sur TSB. Il ressort de ces résultats que les souches de *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et *Klebsiella pneumoniae* sont les meilleures formatrices de biofilm dans cette série. L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les biofilms bactériens mono-espèces à gram- formés sur TSB et ceux formés sur RPMI et une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les biofilms à 24h, 48h et 72h.

Sur la figure 19, nous remarquons que les densités optiques bactériennes à gram+ varient entre 0,06 et 0,14 sur RPMI 1640 et entre 0,07 et 0,19 sur TSB après 24h d'incubation. Après 48h d'incubation, les DO varient entre (0,11- 0,17) et (0,1-0,32) sur les mêmes milieux de cultures. Il apparaît qu'au bout de 72h d'incubation, les biomasses des biofilms des bactéries à gram+ marquent des valeurs maximales qui varient entre (0,14- 0,24) et (0,16-0,27) sur le RPMI 1640 et TSB respectivement. Il ressort de ces résultats que la capacité à former des biofilms par les espèces de *Staphylococcus aureus* est plus importante en comparant avec les souches de *Staphylococcus epidermidis* sur les deux milieux de cultures. De même, la biomasse de la souche *S. aureus* N°5 est plus importante sur le milieu TSB après 48h d'incubation où le biofilm atteint le seuil maximal de maturité avec une densité optique égale à 0,32. L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les biofilms bactériens mono-espèces à gram+ formés sur le TSB et ceux formés sur RPMI 1640 et une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les biofilms à 24h, 48h et 72h.

Concernant les 25 bactéries co-isolées avec les levures *Candida non albicans*, 16 d'entre elles sont formatrices de biofilms (figure 18-19). Nous remarquons également que la biomasse du biofilm formé est plus importante sur le milieu TSB que sur RPMI 1640 (tableau 15) et ce quel que soit la souche bactérienne. De même, c'est au bout de 48 heures d'incubation que nous obtenons des biofilms matures et plus denses (figure 20). L'analyse statistique montre une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les biofilms bactériens mono-espèces formés sur le TSB et ceux formés sur RPMI et une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les biofilms à 24h, 48h et 72h.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure 18 :** Effet du milieu de culture sur la biomasse des biofilms mono- espèces des bactéries à gram négatif. **Pa:** *Pseudomonas aeruginosa*; **Ab:** *Acinetobacter baumannii*; **Kp:** *Klebsiella pneumoniae*; **Ec:** *Escherichia coli* **Ps:** *Providencia Stuartii* ; **Ecl:** *Enterbacter cloacea*; **Pm:** *Proteus mirabilis*.

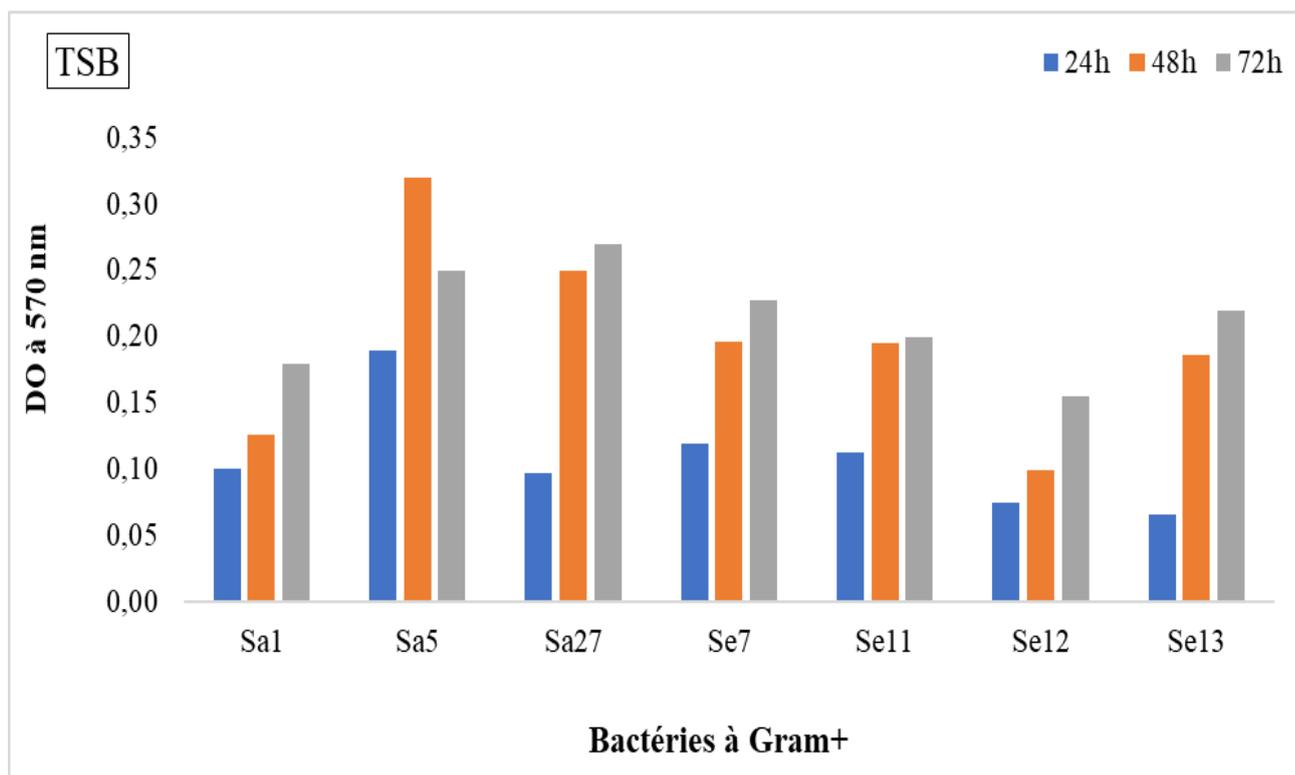
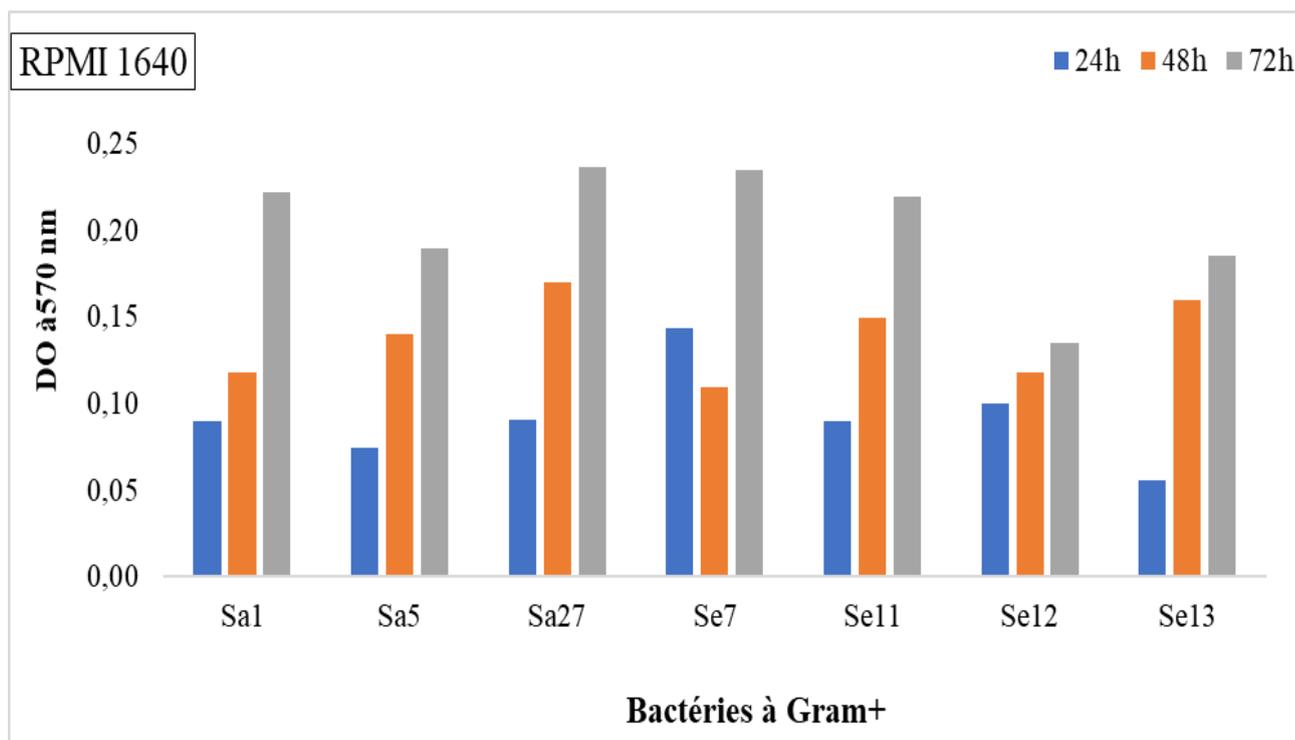
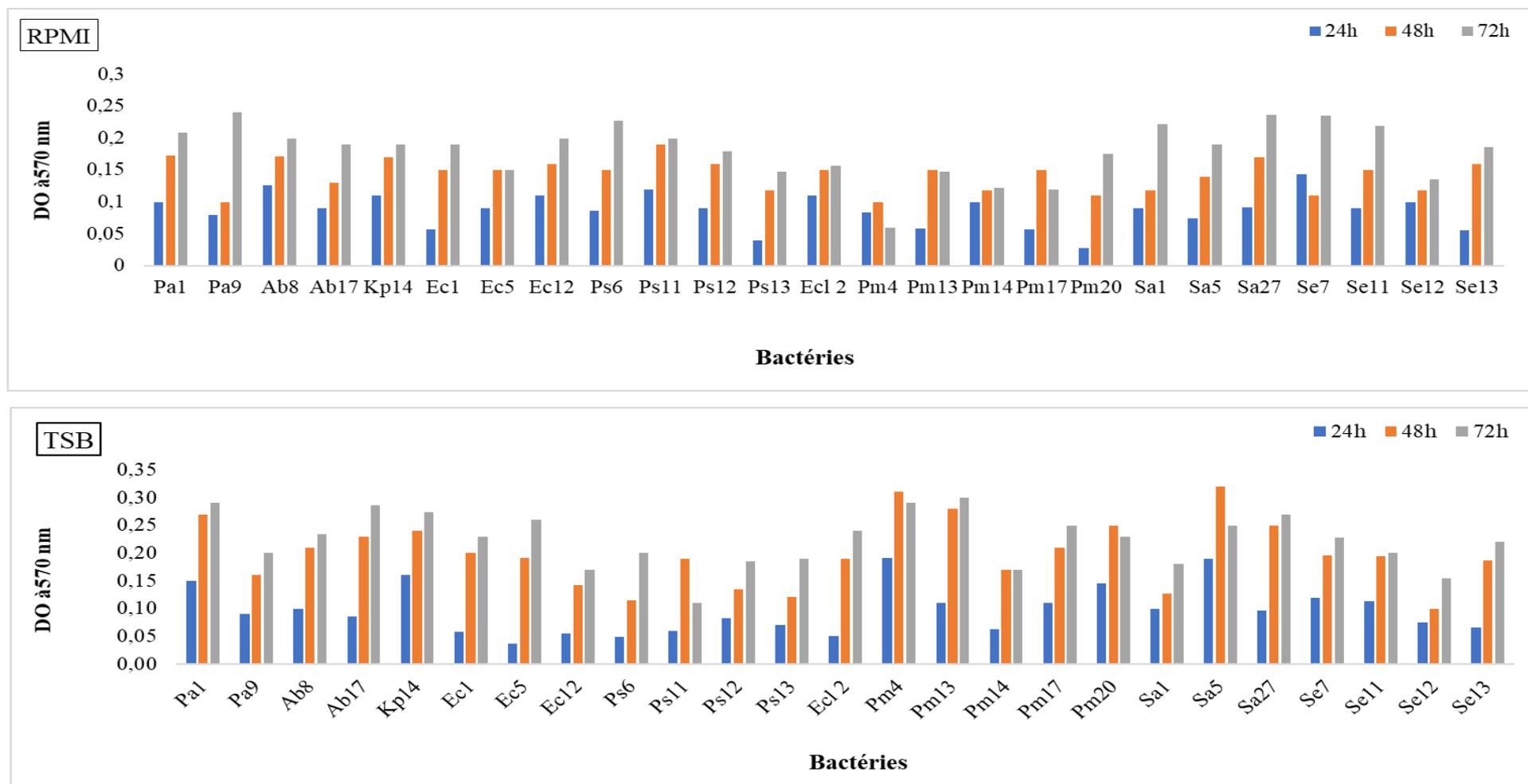


Figure 19 : Effet du milieu de culture sur la biomasse des biofilms mono- espèces des bactéries à gram positif. Sa : *Staphylococcus aureus* ; Se : *Staphylococcus epidermidis*

## RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Figure 20 : Effet du milieu de culture sur la biomasse des biofilms bactériens mono-espèces. Pa : *Pseudomonas aeruginosa*; Ab: *Acinetobacter baumannii*; Kp: *Klebsiella pneumoniae*; Ec: *Escherichia coli* Ps: *Providencia Stuartii*; Ecl : *Enterbacter cloacea* ; Sa: *Staphylococcus aureus* ; Se: *Staphylococcus epidermedis* ; Pm: *Proteus mirabilis*.**

**Tableau 15: Classifications des espèces bactériennes co-isolées avec les levures *Candida non albicans* selon leurs capacités à former des biofilms sur le RPMI 1640 et le bouillon Tryptone Soja :**

Catégorie	Milieu de culture	
	PRMI 1640	TSB
<b>Bactéries productrices de biofilm</b>	2 souches de <i>P. aeruginosa</i> 1 souche de <i>K. pneumoniae</i> 2 souches de <i>E. coli</i> 1 souche de <i>P. stuartii</i> 3 souches de <i>P. mirabilis</i> 2 souches de <i>A. baumannii</i> 2 souches de <i>S. aureus</i> 3 souches de <i>S. epidermidis</i>	2 souches de <i>P. aeruginosa</i> 1 souche de <i>K. pneumoniae</i> 3 souches de <i>E. coli</i> 2 souches de <i>P. mirabilis</i> 2 souches de <i>A. baumannii</i> 2 souches de <i>S. aureus</i> 3 souches de <i>S. epidermidis</i>
<b>Bactéries non productrices de biofilm</b>	1 souche de <i>E. coli</i> 3 souches de <i>P. stuartii</i> 2 souches de <i>P. mirabilis</i> 1 souche de <i>S. aureus</i> 1 souche de <i>S. epidermidis</i> 1 souche de <i>E. cloacae</i>	4 souches de <i>P. stuartii</i> 3 souches de <i>P. mirabilis</i> 1 souche de <i>S. aureus</i> 1 souche de <i>S. epidermidis</i> 1 souche de <i>E. cloacae</i>

**7. Evaluation du potentiel à former des biofilms mixtes**

Dans cette partie de l'étude, nous avons évalué le potentiel des levures *Candida non albicans* et des bactéries co-isolées d'un même dispositif médical à former des biofilms mixtes. Le ratio (Levure/ bactéries) 50/50 est fixé pour cette série expérimentale. Les associations retenues pour cette partie sont groupées sur le tableau 16.

**Tableau 16: Les différentes associations de biofilm mixte *Candida non albicans*/ bactéries isolées des dispositifs médicaux au CHU de Tlemcen.**

Association N°	<i>Candida non albicans</i>	Bactéries co-isolées
01	<i>C. tropicalis</i> (T1)	<i>E. coli</i> (Ec1) + <i>S. aureus</i> (Sa1)
02	<i>C. tropicalis</i> (T2)	<i>E. coli</i> (Ec12)
03	<i>C. tropicalis</i> (T3)	<i>P. stuartii</i> (Ps5)
04	<i>C. tropicalis</i> (T4)	<i>P. mirabilis</i> (Pm17)
05	<i>C. tropicalis</i> (T5)	<i>P. mirabilis</i> (Pm20)
06	<i>C. tropicalis</i> (T6)	<i>A. baumannii</i> (Ab17) + <i>E. cloacea</i> (Ec1 2)
07	<i>C. tropicalis</i> (T7)	<i>P. stuartii</i> (Ps11) + <i>P. aeruginosa</i> (Pa9)
08	<i>C. tropicalis</i> (T8)	<i>P. stuartii</i> (Ps12)
09	<i>C. glabrata</i> (G1)	<i>S. epidermidis</i> (Se7)
10	<i>C. glabrata</i> (G2)	<i>P. mirabilis</i> (Pm13)
11	<i>C. glabrata</i> (G3)	<i>P. stuartii</i> (Ps 12) + <i>S. aureus</i> (Sa27)
12	<i>C. parapsilosis</i> (P1)	<i>P. mirabilis</i> (Pm4) + <i>S. epidermidis</i> (Se11)
13	<i>C. parapsilosis</i> (P2)	<i>A. baumannii</i> (Ab9) + <i>S. epidermidis</i> (Se12)
14	<i>C. famata</i> (F1)	<i>E. coli</i> (Ec5) + <i>P. aeruginosa</i> (Pa1) + <i>S. aureus</i> (Sa5)
15	<i>C. famata</i> (F2)	<i>S. epidermidis</i> (Se13)
16	<i>C. famata</i> (F3)	<i>K. pneumoniae</i> (Kp14) + <i>P. mirabilis</i> (Pm14)

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

Le potentiel des levures *C. tropicalis* à former des biofilms mixtes avec les bactéries co-isolées du même dispositif médical est décrit sur la figure 21. Nous remarquons qu'après 48h d'incubation, la biomasse de biofilms mixtes de *C. tropicalis* est plus importante par rapport à celle de biofilm mono-espèce. L'intensité varie en fonction des espèces bactériennes associées à cette levure et du milieu de culture utilisé. A l'exception de l'association de *C. tropicalis* (T7) avec *P. stuarttii* et *P. aeruginosa*, ou l'intensité de biofilm mixte est moins importante cela peut être due à la concentration faible de la levure dans le biofilm formé (33% de chaque espèce) en comparant avec celle du biofilm mono-espèce (100% levures).

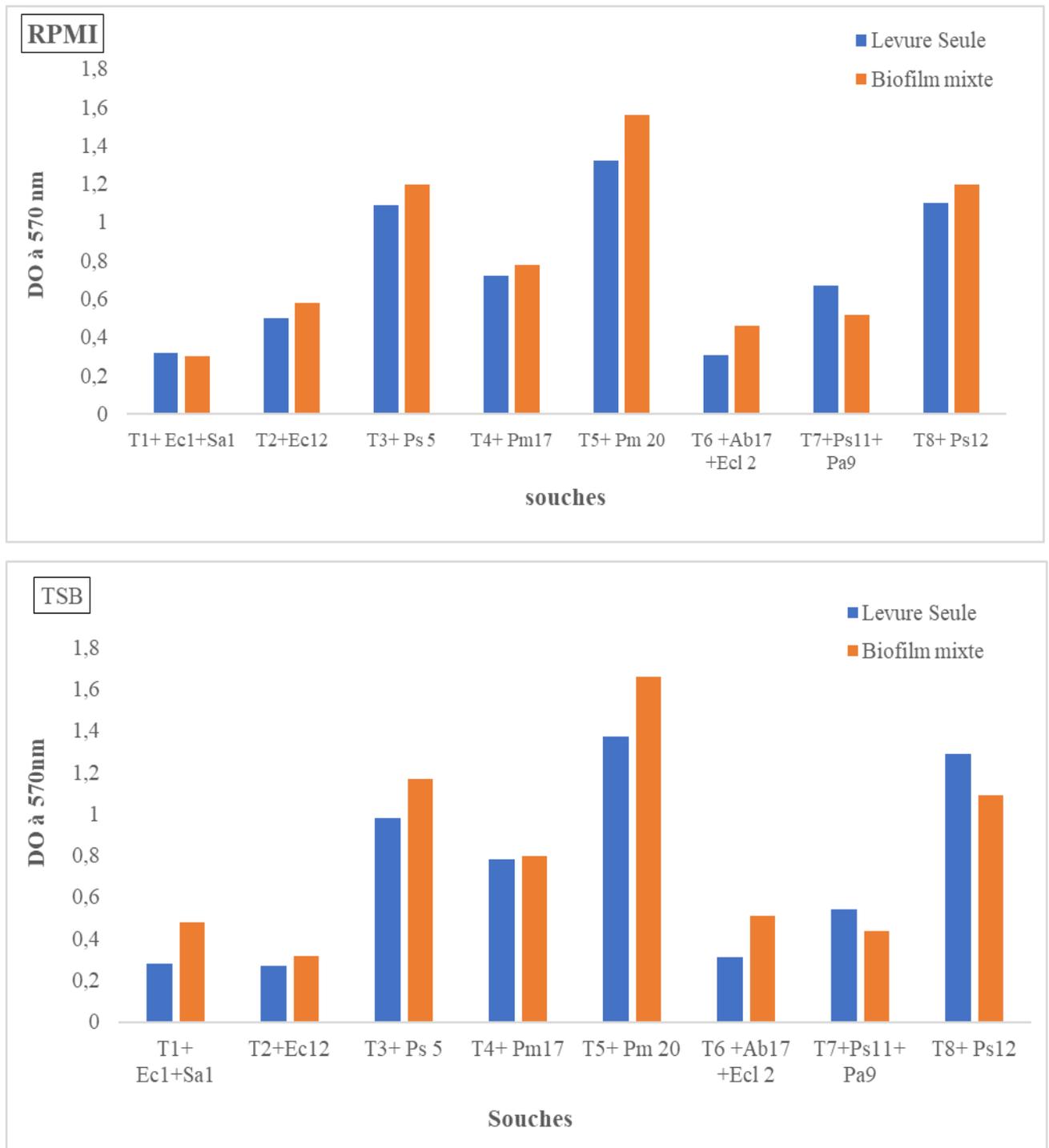
D'après la figure 22, les biofilms multi-espèces donnent des biomasses plus importantes que celle des biofilms mono-espèce formés par la même levure aussi bien sur le TSB que sur RPMI 1640, à l'exception du biofilm mixte *C. glabrata* (G1) + *staphylococcus epidermidis* qui donne une biomasse moins importante que celle du biofilm mono-espèce.

Pour ce qui est de *C. parapsilosis* (figure23), nous remarquons que la biomasse du biofilm polymicrobien est plus importante que celle du biofilm mono-espèce aussi bien sur le TSB que sur RPMI 1640. De même pour *C. famata* (figure24).

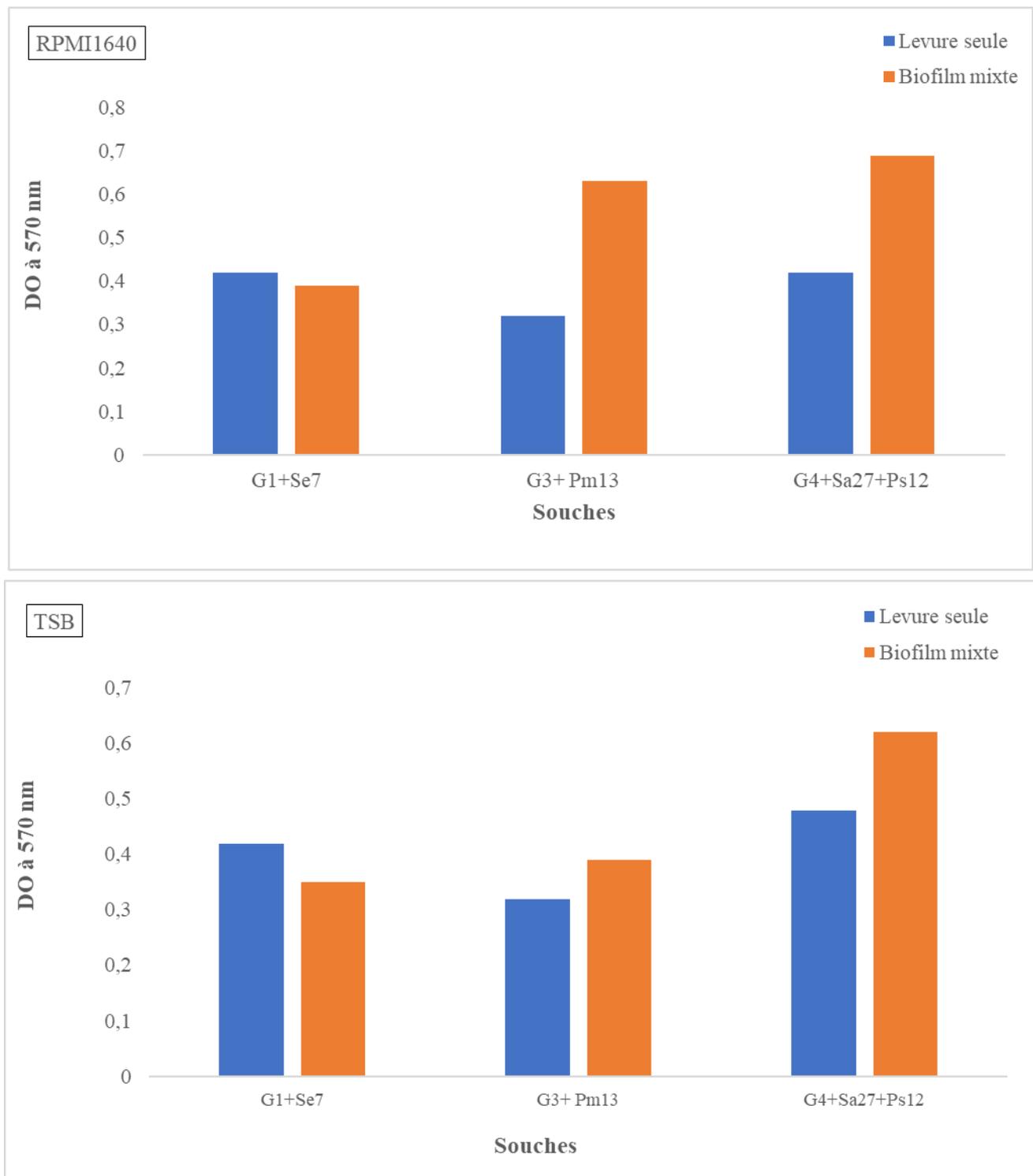
Nous remarquons que la nature du milieu réactionnel et la durée d'incubation, influent sur la biomasse des biofilms mixtes. De même l'intensité de cette biomasse dépend des espèces bactériennes associées aux levures *Candida non albicans*. En effet, nos résultats montrent que les biofilms mixtes de *C. tropicalis*/bactéries et *C. glabrata*/bactéries ont donné des biomasses plus importantes sur le milieu TSB. Alors que les associations mixtes de *C. famata* /bactéries et *C. parapsilosis*/bactéries ont donné des biomasses plus importantes dans le milieu RPMI 1640.

Nous remarquons également que la biomasse du biofilm mixte *Candida famata*/ *E. coli*/ *P.aeruginosa*/ *S. aureus* est deux fois plus grande que celle de la levure seule dans les deux milieux utilisés. De plus, la biomasse du biofilm mixte *C. tropicalis* / *P. mirabilis* est plus importante sur milieu RPMI 1640 que sur le TSB, alors que la même espèce levurienne *C. tropicalis* en association avec la souche bactérienne *P. stuarttii* donne un biofilm plus dense sur le milieu TSB.

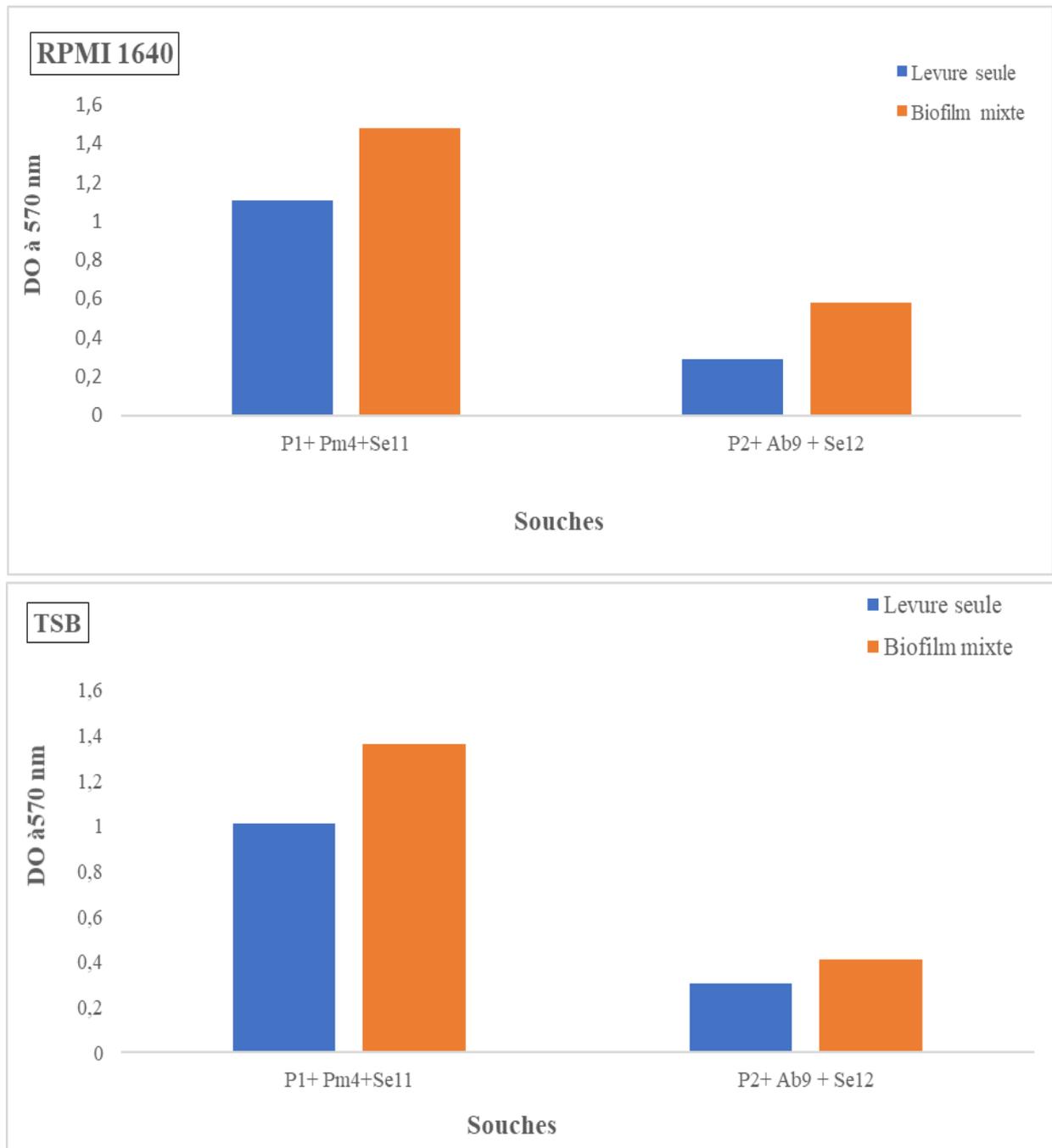
## RESULTATS ET DISCUSSIONS



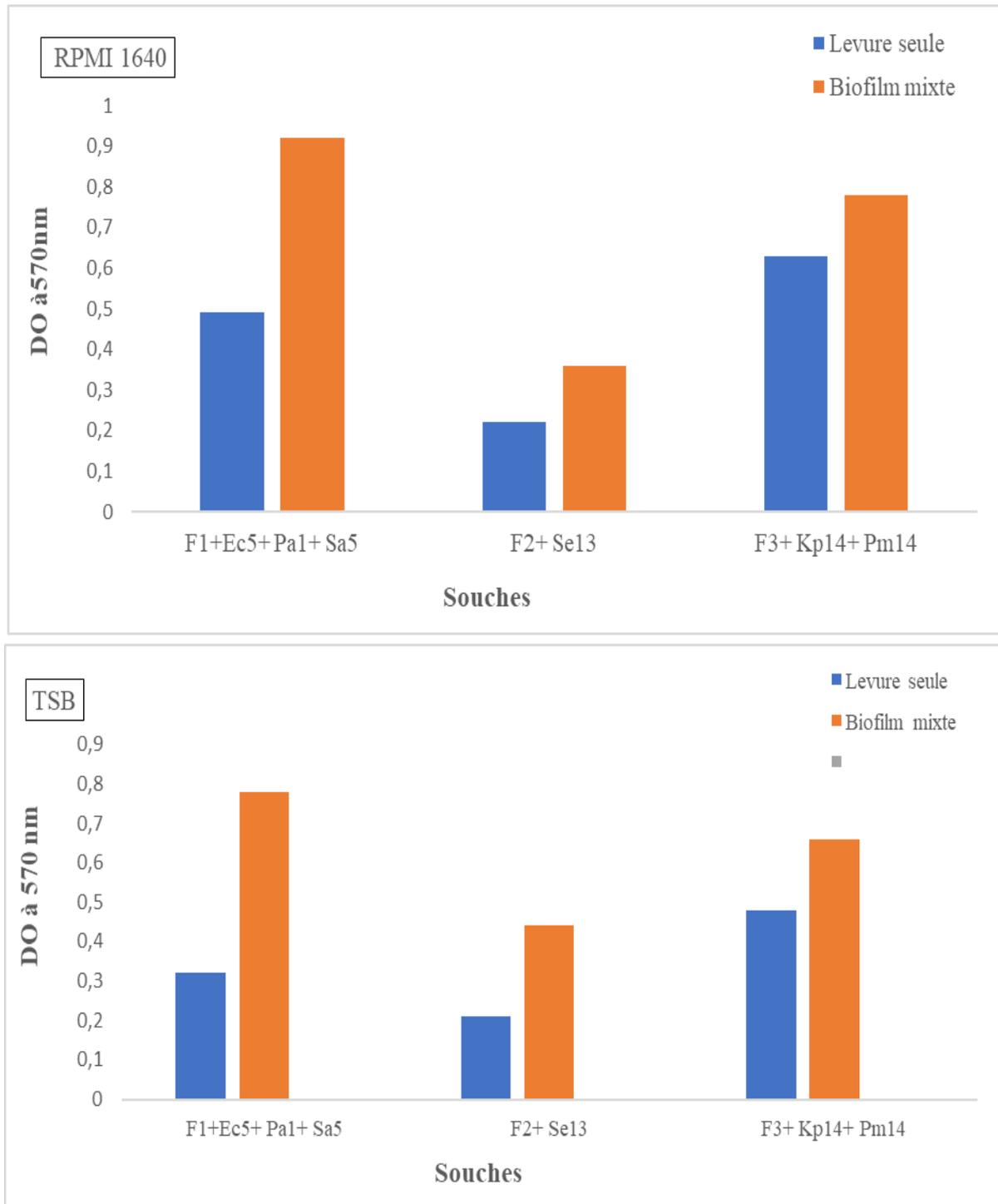
**Figure 21 : Biomasse des biofilms mixtes *Candida tropicalis*/ bactéries co-isolées en fonction du milieu de culture. T1 à T8 : *Candida tropicalis*, Ec: *Escherichia coli*, Ecl: *Enterbacter cloacea*, Ps: *Providencia Stuartii*, Pa: *Pseudomonas aeruginosa*, Ab: *Acinetobacter baumannii*,Pm: *Proteus mirabilis*, Sa: *Staphylococcus aureus*.**



**Figure 22 : Biomasse des biofilms mixtes *Candida glabrata*/ bactéries co-isolées en fonction du milieu de culture. G1 à G4 : *Candida glabrata* ; Ps : *Providencia stuartii*, Pm: *Proteus mirabilis*, Sa: *Staphylococcus aureus*, Se: *Staphylococcus epidermidis*.**



**Figure 23 : Biomasse des biofilms mixtes *Candida parapsilosis*/ bactéries co-isolées en fonction du milieu de culture. P1 à P2 : *Candida parapsilosis* ; Ab : *Acinetobacter baumannii*, Pm : *Proteus mirabilis*, Se : *Staphylococcus epidermidis***



**Figure 24 : Biomasse des biofilms mixtes *Candida famata*/ bactéries co-isolées en fonction du milieu de culture. F1 à F3 : *Candida famata* ; Pa : *Pseudomonas aeruginosa*, Kp : *Klebsiella pneumoniae*, Ec : *Escherichia coli*, Pm : *Proteus mirabilis*, Sa : *Staphylococcus aureus*, Se : *Staphylococcus epidermidis*.**

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

Ensuite nous avons mesuré la biomasse des biofilms mixtes en fonction des proportions fongiques et bactériennes qui le compose. Les résultats sont regroupés sur le tableau 17.

Nous remarquons que pour le ratio levure/bactéries (90/10), la biomasse des biofilms mixtes est supérieure à celles des biofilms mono-espèce à l'exception de deux associations de l'espèce *C. tropicalis* avec *P. mirabilis* et *P. stuartii*.

Pour le ratio levure/bactéries (50/50), les densités optiques des biofilms mixtes de *C. glabrata* sont supérieures à celles des biofilms fongiques. Tandis que pour les autres espèces, la biomasse de biofilm mixte est inférieure à celle de l'espèce fongique citons les associations : (*C. famata* / *K. pneumoniae* / *P. mirabilis*), (*C. parapsilosis* / *P. mirabilis* / *S. epidermidis*) et (*C. tropicalis* + *P. mirabilis*). Cela peut être expliqué par l'effet antagoniste des souches bactériennes.

Concernant la proportion 10/90 (levure/bactéries), la biomasse de biofilm mixte est inférieure à celle du biofilm fongique mono-espèce quelle que soit l'association testée. Cela peut être expliqué par la faible concentration fongique dans le mélange.

L'association *C. tropicalis* / *E. coli* présente le potentiel de formation de biofilm le plus élevé pour l'ensemble des biofilms mixtes formés pour le ratio levure /bactéries de 50/50. Alors que pour les deux autres proportions, c'est l'association *C. parapsilosis* / *P.mirabilis* / *S. epidermidis* qui donne le biofilm mixte le plus dense.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

**Tableau 17: Densités optiques des biofilms multi-espèces formés par *Candida non albicans* /bactéries à différentes proportions après 48h d'incubation.**

Ratio (Levure /bactéries) Association	90 : 10		50 : 50		10 : 90		Biofilm fongique mono espèce	
	RPMI	TSB	RPMI	TSB	RPMI	TSB	RPMI	TSB
<i>C. tropicalis</i> / <i>S. aureus</i> / <i>E. coli</i>	0.39	0.32	0.27	0.36	0.18	0.26	0.32	0.28
<i>C. tropicalis</i> / <i>E. coli</i>	0.72	0.69	1.29	1.63	0.11	0.13	0.5	0.27
<i>C. tropicalis</i> / <i>P. stuartii</i>	1.11	1.07	0.98	0.96	0.21	0.26	1.09	0.98
<i>C. tropicalis</i> / <i>P. mirabilis</i>	1.05	0.98	1.03	1.05	0.18	0.23	0.72	0.78
<i>C. tropicalis</i> / <i>P. mirabilis</i>	1.12	1.07	0.9	0.82	0.23	0.28	1.32	1.37
<i>C. tropicalis</i> / <i>E. cloacea</i> / <i>A. baumannii</i>	0.62	0.57	0.38	0.47	0.29	0.38	0.24	0.31
<i>C. tropicalis</i> / <i>P. stuartii</i> / <i>P. aeruginosa</i>	0.67	0.62	0.38	0.45	0.32	0.37	0.67	0.54
<i>C. tropicalis</i> / <i>P. stuartii</i>	0.97	0.91	0.79	0.55	0.26	0.22	1.1	1.29
<i>C. glabrata</i> / <i>S. epidermidis</i>	0.48	0.42	0.36	0.32	0.18	0.27	0.3	0.42

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

<i>C. glabrata</i> / <i>P. mirabilis</i>	0.67	0.59	0.47	0.39	0.21	0.14	0.26	0.32
<i>C. glabrata</i> / <i>P. stuartii</i> / <i>S. aureus</i>	0.62	0.85	0.47	0.51	0.32	0.37	0.42	0.48
<i>C. parapsilosis</i> / <i>P. mirabilis</i> / <i>S. epidermidis</i>	1.53	1.14	0.85	0.93	0.36	0.48	1.11	1.01
<i>C. parapsilosis</i> / <i>A. baumannii</i> / <i>S. epidermidis</i>	0.63	0.67	0.27	0.43	0.19	0.27	0.29	0.3
<i>C. famata</i> / <i>E. coli</i> / <i>P. aeruginosa</i> / <i>S. aureus</i>	0.79	0.87	0.68	0.87	0.24	0.31	0.49	0.32
<i>C. famata</i> / <i>S. epidermidis</i>	0.32	0.37	0.31	0.29	0.12	0.17	0.22	0.21
<i>C. famata</i> / <i>K. pneumoniae</i> / <i>P. mirabilis</i>	0.71	0.75	0.59	0.65	0.27	0.34	0.63	0.48

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

En se référant aux travaux de **Guinea J.** et ses collaborateurs (2014) et de **Villar-Vidal et coll. (2011)**, les souches de *Candida sp.* sont considérées comme productrices de biofilms lorsque la densité optique mesurée à 490nm est supérieure ou égale à 0,2. Le potentiel des souches *Candida sp* à former les biofilms ainsi que l'activité métabolique des cellules adhérentes montre que les souches isolées sont formatrices de biofilms à différentes densités. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Tumbarello M. et coll. (2012)**, qui montrent que les isolats cliniques de *Candida sp* forment des biofilms mono espèces avec des DO comprises entre 0,125 et 1,35. De même **Jin J. et coll. (2003)** ont mis en évidence l'existence d'une grande variabilité dans la capacité des souches cliniques à produire un biofilm. Cette capacité varie en fonction du genre microbien et aussi entre les espèces d'un même genre (**Kuhn D. et coll., 2002**). Beaucoup de travaux comme ceux de **Cuéllar M. et coll. (2012)** montrent que tous les isolats cliniques de *Candida sp.* forment des biofilms sur tous les dispositifs médicaux implantés chez l'homme.

Nos résultats montrent que *C. tropicalis* est l'espèce la plus productrice de biofilms ce qui est confirmé dans les travaux de **Shin J. et coll. (2002)**.

De plus, le programme mondial de surveillance antifongique **ARTEMIS** a montré que *C. tropicalis* et *C. parapsilosis* sont à l'origine de 6 % et 5 % des infections fongiques invasives (**Pfaller M. et coll., 2007**), ces deux espèces étant classées respectivement comme les deuxièmes et troisièmes espèces de *Candida* les plus courantes (**Minces L. et coll., 2009**) ; (**Trofa D. et coll., 2008**).

Nos résultats ont montré également que les associations mixtes (*C. tropicalis/ E.coli*) et (*C. parapsilosis/ P. mirabilis/ S. epidermidis*) présentent les biofilms mixtes les plus denses dans notre étude. *E.coli*, *P. mirabilis* et *S. epidermidis* que nous avons isolées avec les levures *Candida non albicans* pourraient provenir de la flore cutanée du patient, de la micro-flore exogène du personnel hospitalier, ou encore de l'environnement contaminé. Ces bactéries sont souvent incriminées dans les infections hospitalières. En effet selon **Espinasse F. et coll. (2010)** 60% des infections urinaires associées aux sondes vésicales sont causées par les Entérobactéries de la flore digestive du patient ayant accès à la vessie par la voie extra luminale avec prédominance d'*Escherichia coli*. Ces dernières années, d'autre espèces ont été

incriminées dans ces infections hospitalières comprenant *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *Enterococcus faecalis* et *Klebsiella pneumoniae* [(Bellifa S. et coll., 2016) ; (Lagha N. et coll., 2015)]. Les staphylocoques quant à eux comptent parmi les agents pathogènes les plus souvent isolés dans les infections nosocomiales et communautaires grâce à leur capacité à adhérer aux implants médicaux temporaires ou permanents [(Kurlenda J., Grinholc M., 2012) ; (Otto M., 2012)]. De même les travaux de Charbonneau et Wolff (2013) et de Mermel et coll. (2009) révèlent que pour les cathéters à émergence cutanée, les microorganismes les plus fréquemment impliqués dans les bactériémies associées sont principalement ceux de la flore cutanée, essentiellement les *Staphylococcus epidermidis*.

Par ailleurs, la mesure de l'activité métabolique des biofilms mixtes formés par les souches que nous avons isolées, est supérieure à celle des biofilms mono espèce quelle que soit la proportion des espèces *Candida non albicans* et de bactéries dans le mélange à l'exception de biofilm mixte de *C. tropicalis*/*P. aeruginosa*/*P. stuartii* où la biomasse est inférieure à celle de l'espèce fongique seule. Ce résultat va dans le même sens que ceux de Tati S. et coll., (2016) qui ont montré que la biomasse du biofilm jeune formé par plusieurs espèces de *Candida* est plus importante que celle du biofilm formé par ces espèces séparées. De même, Ruan F. et Carolina H. (2019) ont étudié l'interaction antagoniste par les différentes levures pathogènes opportunistes appartenant au genre *Candida* et la bactérie omniprésente *Pseudomonas aeruginosa in vitro* et *in vivo* et soulignent la complexité de l'interaction avec divers facteurs influençant les deux pathogènes.

D'après, Bandara et coll. (2010), il existe une interaction mutuellement suppressive entre *P. aeruginosa* et cinq espèces de *Candida non albicans*, à savoir *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. dubliniensis* et *C. krusei* dans un modèle de biofilm *in vitro* à deux espèces. Ils ont observé des variations d'inhibition des biofilms de *Candida* spécifiques aux espèces, avec une inhibition presque complète des biofilms de *C. albicans*, *C. glabrata* et *C. tropicalis* après 48 heures.

Concernant l'influence du milieu de culture sur l'intensité des biofilms mixtes (levures/bactéries), nos résultats montrent que la quantité de biofilms mixtes formés dans différents milieux de culture est variable, avec une prédominance dans le bouillon de trypticase Soja (TSB) par rapport au milieu PRMI1640, pour la plupart des espèces de *C. tropicalis* et *C. glabrata* et même pour quelques espèces de *C. parapsilosis* et *C. famata*. Ceci suggère que la composition et le pH du milieu affecte la formation du biofilm.

### **8. Evaluation de l'activité antimicrobienne des solutions verrous sur la formation de biofilm mixte (*Candida non albicans*- bactéries)**

La capacité à former des biofilms est considérée comme un facteur de virulence important pour les microorganismes pathogènes qui le composent. Le potentiel de servir de réservoir infectieux pour une variété de bactéries et de levures rend les biofilms difficiles à diagnostiquer et à traiter, nécessitant des stratégies complexes de traitement poly- chimiothérapique (**Dos Santos A. et coll., 2018**). L'une des stratégies thérapeutiques visant à inhiber ou éradiquer ces structures complexes sur les dispositifs médicaux est l'utilisation de solutions de verrouillage [(**Petraitiene R. et coll., 2024**) ; (**Blanco-Di M. et coll., 2023**)]. Cette technique est recommandée par les directives actuelles dans le cadre de la gestion des infections liées aux cathéters (**Signorino C. et coll., 2023**). Elle consiste à instiller de fortes concentrations d'une solution antimicrobienne dans la lumière du cathéter pendant une période appropriée afin d'éradiquer les germes incrustés dans le biofilm microbien intra- luminal du cathéter (**Buonsenso D. et coll., 2022**). Vu que les résultats que nous avons obtenus montrent une capacité des levures *C. non albicans* que nous avons isolé à former des biofilms mixtes avec les bactéries co-isolées du même dispositif médical, nous avons entrepris d'évaluer l'efficacité antimicrobienne de quelques solutions verrous sur ces biofilms mixtes.

#### **8.1. Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mature de 5jours**

Pour cette partie de l'étude, toutes les associations de biofilms mixtes (*Candida non albicans*/bactéries co-isolées ont été retenu (tableau16).

##### **8.1.1. Effet antimicrobien de la solution verrou sur les biofilms mixtes *Candida tropicalis*/ bactéries**

###### **a. Biofilm mixte *C. tropicalis*/ *E. coli***

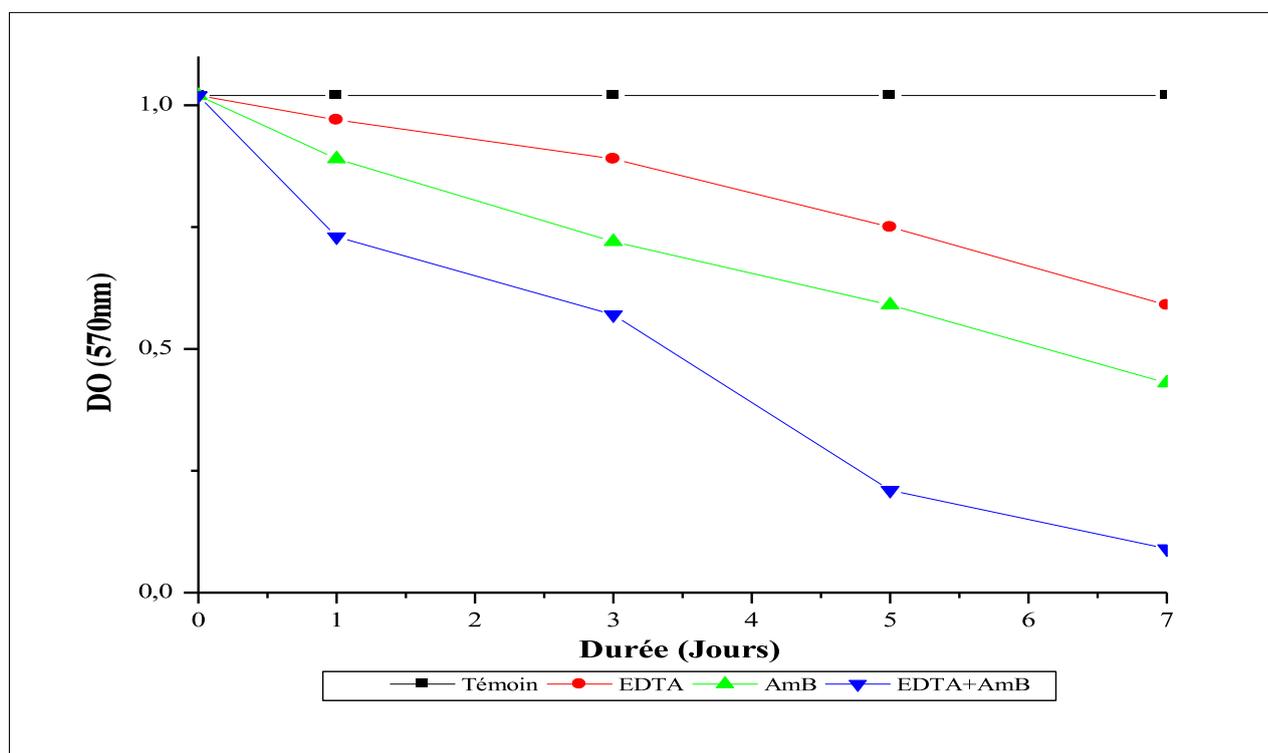
La figure 25 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *C. tropicalis*/ *E. coli*. La densité optique du biofilm de 5jours est égale à 1,02.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,97 au premier jour de verrouillage, et jusqu'à 0,59 au 7ème jour ce qui correspond à une inhibition de 42,2% de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 1,02 à 0,89 après 1 jour de traitement

jusqu'à une diminution de moitié au 7<sup>ème</sup> jour de traitement avec une DO de 0,43 ce qui correspond à une réduction de 57,8 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 1,02 à 0,73 après 1 jour de traitement et à 0,09 après 7 jours de traitement ce qui correspond à une réduction de 91,2 % de la biomasse initiale de biofilm mixte. L'analyse statistique montre une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence significative entre les jours de traitement J0 et J7.



**Figure 25 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5 jours *C. tropicalis/ E. coli*.**

### **b. Biofilm mixte *C. tropicalis/ P. stuartii* (souche n° 1)**

La figure 26 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *C. tropicalis/ P. stuartii*. La densité optique du biofilm de 5 jours est égale à 0,75.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,71 au premier jour de verrouillage jusqu'à

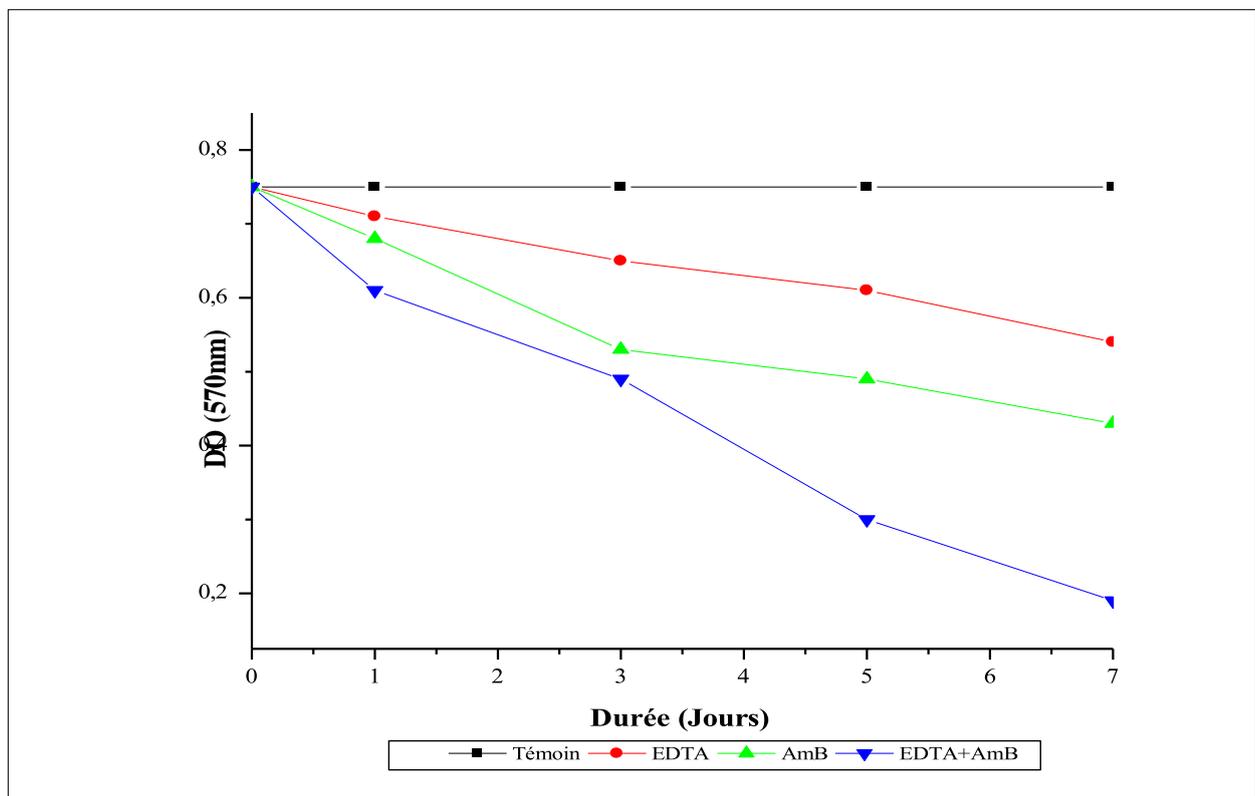
## RESULTATS ET DISCUSSIONS

0,59 au 7<sup>ème</sup> jour ce qui correspond à une inhibition de 28 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 0,75 à 0,68 après 1 jour de traitement jusqu'à 0,43 au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 42,7 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,75 à 0,61 après 1 jour de traitement et à 0,19 après 7 jours de traitement ce qui correspond à une réduction de 74,7 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les solutions verrous EDTA et EDTA+ amphotéricine B et une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 26 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5 jours de *C. tropicalis*/ *P. stuartii* (souche n°1).**

### c. Biofilm mixte *C. tropicalis*/ *P. stuartii* (souche n°2)

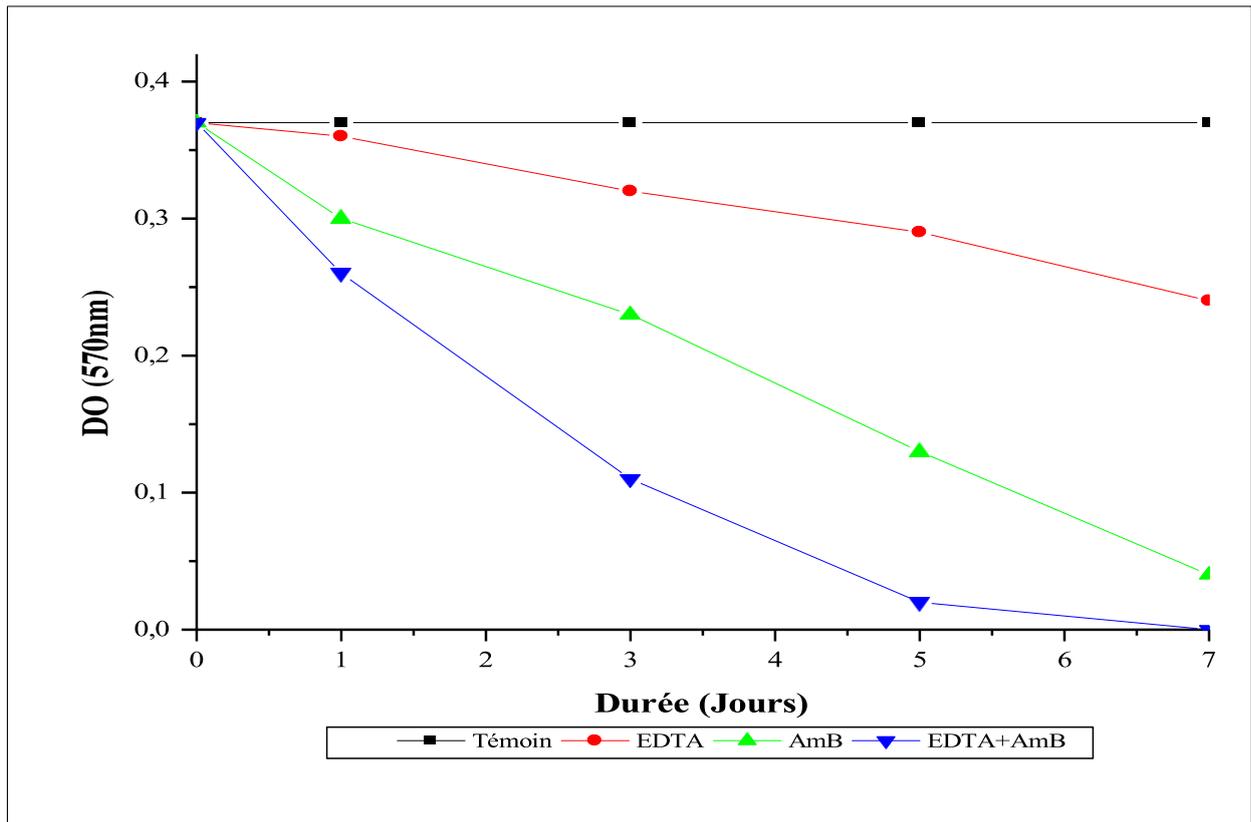
La figure 27 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida tropicalis*/ *P. stuartii* (souche n°2). La densité optique du biofilm de 5 jours est égale à 0,37.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,36 au premier jour de verrouillage jusqu'à 0,24 au 7<sup>ème</sup> jour ce qui correspond à une inhibition de 35,2% de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 0,37 à 0,3 après 1 jour de traitement jusqu'à 0,04 au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 89,2% de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,37 à 0,26 après 1 jour de traitement jusqu'à la disparition complète du biofilm au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 100 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les solutions verrous amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 27 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de *Candida tropicalis*/ *P. stuartii* (souche n°2).**

**d. Biofilm mixte *C. tropicalis*/ *P. mirabilis* (souche n°1)**

La figure 28 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *C. tropicalis*/*P. mirabilis* (souche n°1). La densité optique du biofilm de 5jours est égale à 0,89.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,83 au premier jour de verrouillage jusqu'à 0,5 au 7ème jour ce qui correspond à une inhibition de 43,8% de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

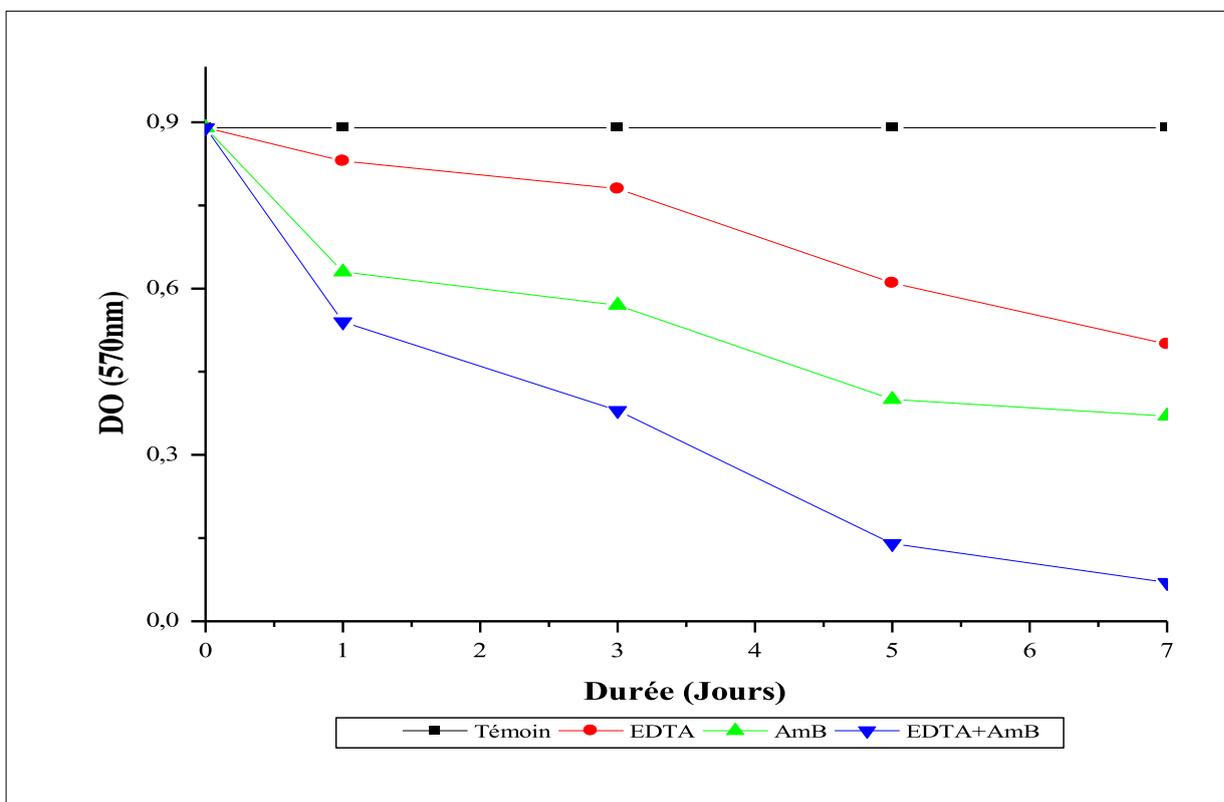
Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage jusqu'à 0,63 après 1 jour de traitement puis à 0,37 au 7ème jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 58,4 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,89 à 0,54 après

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

1 jour de traitement et à 0,07 au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 92,2 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous EDTA et amphotéricine B et une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 28 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5 jours de *Candida tropicalis*/ *P. mirabilis* (souche n°1).**

### **e. Biofilm mixte *C. tropicalis*/ *P. mirabilis* (souche n°2)**

La figure 29 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida tropicalis*/ *P. mirabilis* (souche n°2). La densité optique du biofilm de 5 jours est égale à 0,73.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,7 au premier jour de verrouillage jusqu'à 0,46 au 7<sup>ème</sup> jour ce qui correspond à une inhibition de 37 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

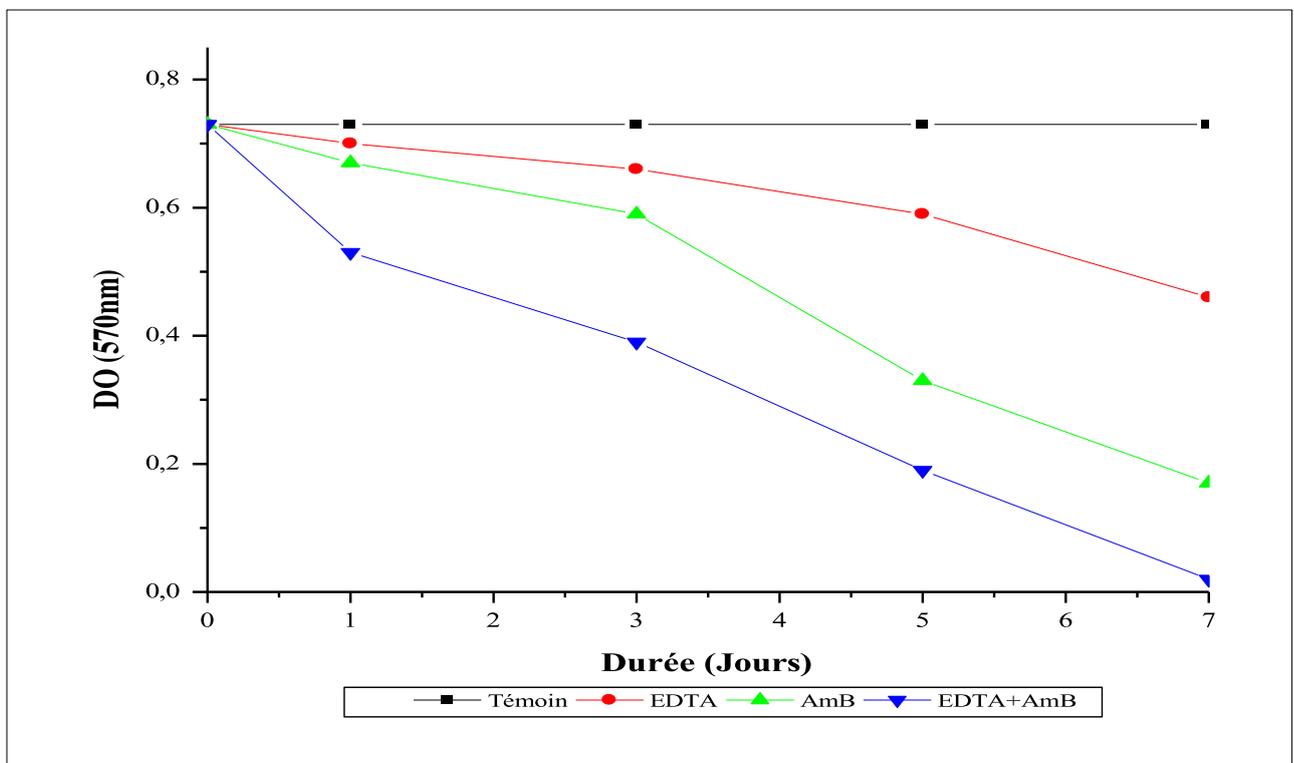
Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 0,73 à 0,67 après 1 jour de traitement

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

jusqu'à 0,17 au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 76,7 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,73 à 0,53 après 1 jour de traitement et à 0,02 après 7 jours de traitement ce qui correspond à une réduction de 97,3 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 29 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5 jours de *Candida tropicalis*/ *P. mirabilis* (souche n°2).**

### f. Biofilm mixte *C. tropicalis*/ *E. coli* / *S. aureus*

La figure 30 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida tropicalis*/ *E. coli*/ *S. aureus*. La densité optique du biofilm de 5 jours est égale à 0,25.

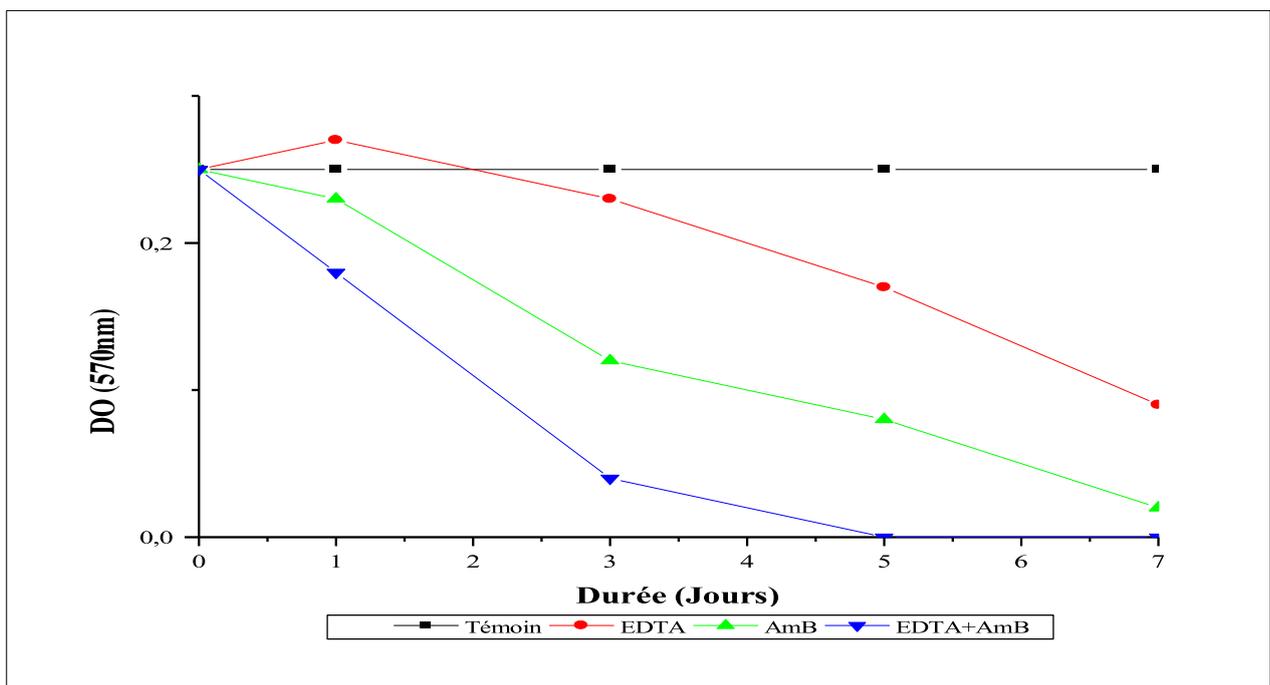
## RESULTATS ET DISCUSSIONS

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,23 au premier jour de verrouillage jusqu'à 0,09 au 7ème jour ce qui correspond à une inhibition de 64 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage jusqu'à 0,02 au 7ème jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 92 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,25 à 0,18 après 1 jour de traitement et à une disparition complète du biofilm au 7 jours de traitement ce qui correspond à une réduction de 100 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 30 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5 jours de *C. tropicalis*/ *E. coli*/ *S. aureus*.**

**g. Biofilm mixte *C. tropicalis*/ *A. baumannii*/ *E. cloacae***

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

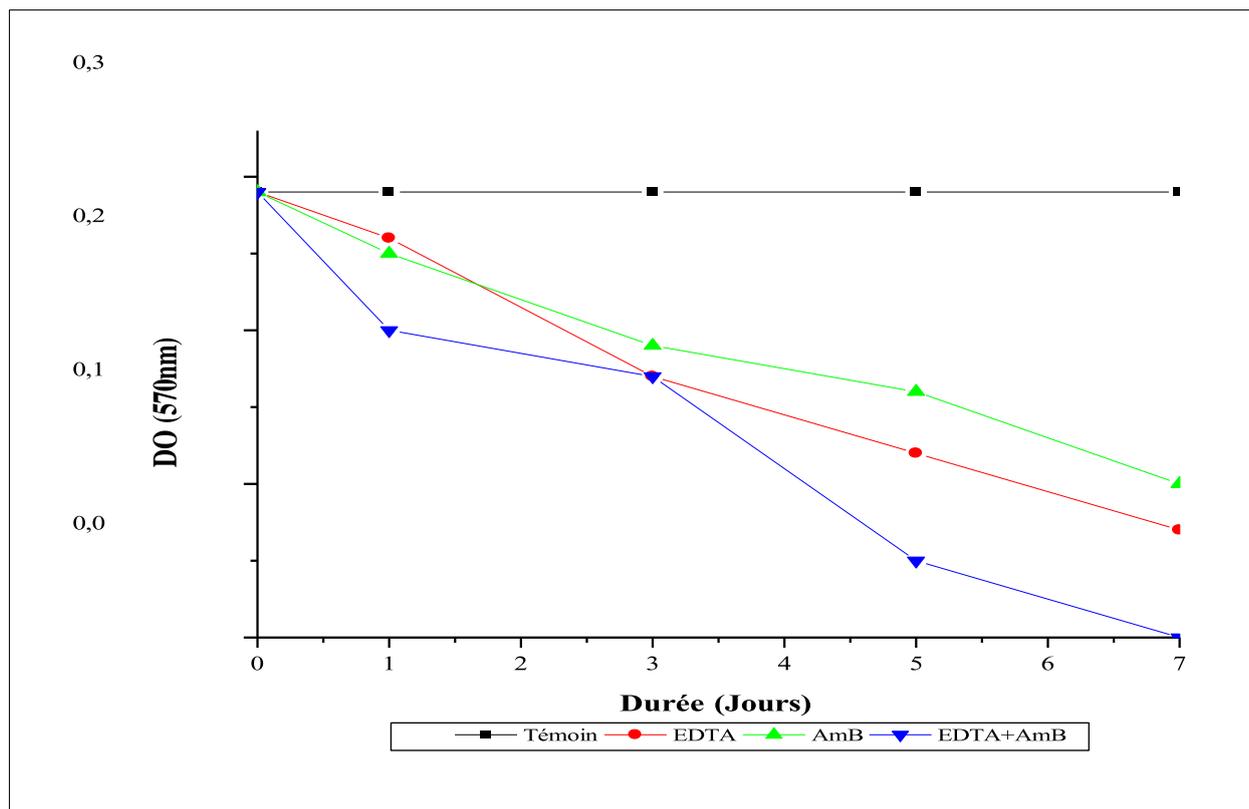
La figure 31 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *C. tropicalis*/*A. baumannii*/*E. cloacae*. La densité optique du biofilm de 5 jours est égale à 0,29.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,26 au premier jour de verrouillage jusqu'à 0,07 au 7ème jour ce qui correspond à une inhibition de 75,9 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage jusqu'à 0,25 après 1 jour de traitement puis à 0,1 au 7ème jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 65,5 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,29 à 0,2 après 1 jour de traitement jusqu'à une disparition complète après 7 jours de traitement ce qui correspond à une réduction de 100 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 31 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de *Candida tropicalis*/ *A. baumannii*/ *E. cloacae*.**

**h. Biofilm mixte *C. tropicalis*/ *P. stuartii*/ *P. aeruginosa***

La figure 32 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida tropicalis*/ *P. stuartii* / *P. aeruginosa*. La densité optique du biofilm de 5jours est égale à 0,31.

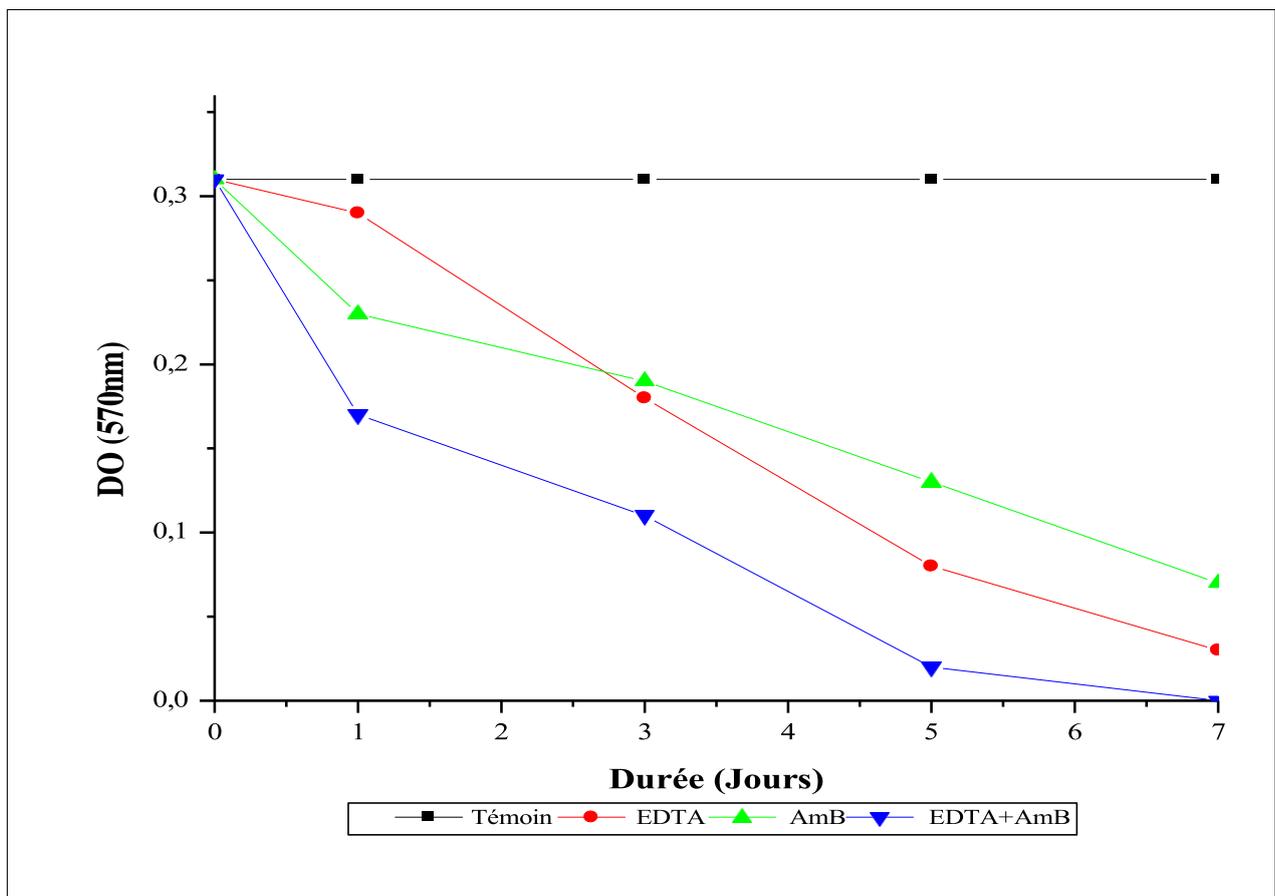
Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,29 au premier jour de verrouillage jusqu'à 0,03 au 7ème jour ce qui correspond à une inhibition de 90,3 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 0,31 à 0,23 après 1 jour de traitement jusqu'à 0,07 au 7ème jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 77,4 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,31 à 0,17 après 1 jour de traitement jusqu'à une disparition complète du biofilm au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 100 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 32 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5 jours de *C. tropicalis*/*P. stuartii* / *P. aeruginosa***

Nous remarquons que, l'efficacité des solutions verrou dépend de la biomasse du biofilm mixte à *Candida tropicalis* de départ et des bactéries coassociées. D'autre part, quel que soit le biofilm mixte *Candida tropicalis*/ bactéries, l'efficacité de la solution verrou Amphotéricine B+ EDTA est supérieure à celle de l'amphotéricine B seul ou l'EDTA seul.

L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les différents biofilms *C. tropicalis*/ bactéries. De même, une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et entre les jours de traitement.

### **8.1.2. Effet antimicrobien de la solution verrou sur les biofilms mixtes *Candida glabrata*/ bactéries**

#### **a. Biofilm mixte *C. glabrata*/ *S. epidermidis***

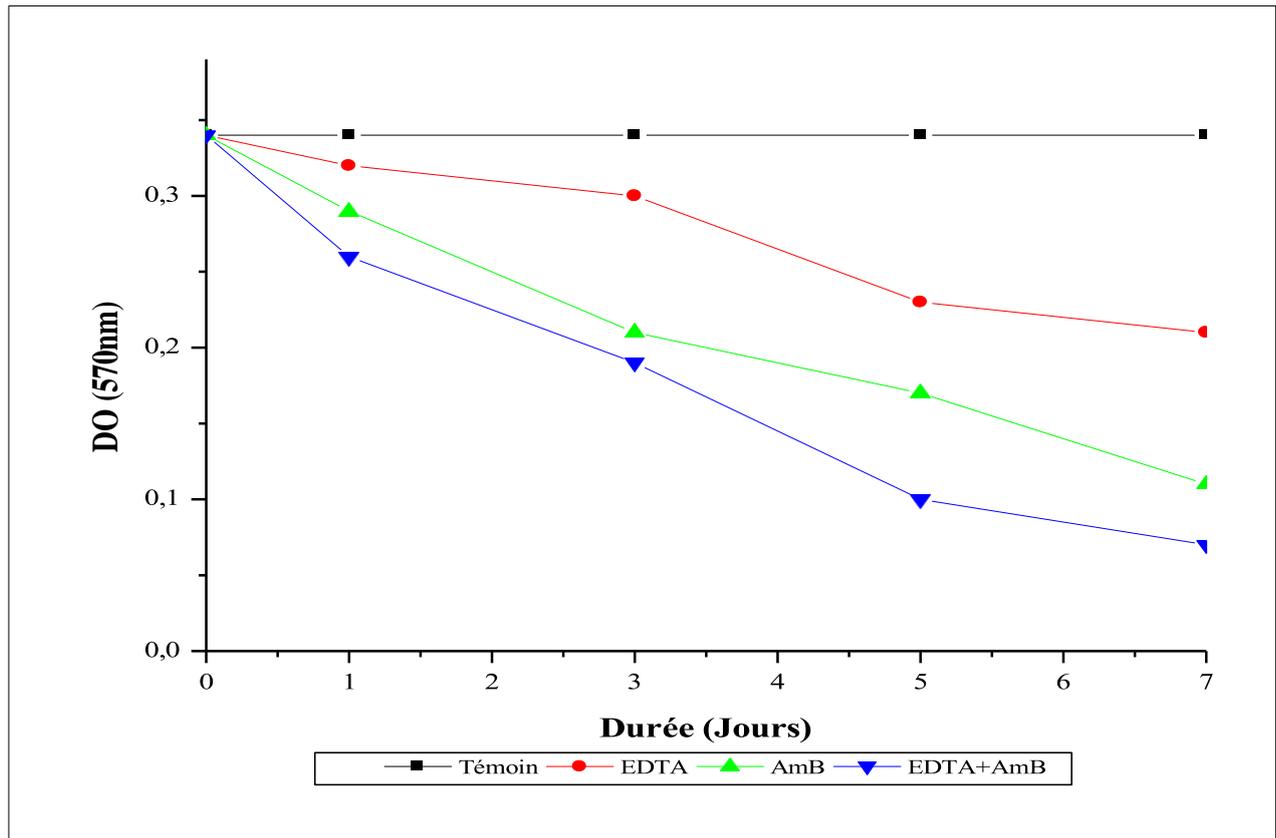
La figure 33 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida glabrata*/ *P. epidermidis*. La densité optique du biofilm de 5 jours est égale à 0,34.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,23 au 3<sup>ème</sup> jour de verrouillage puis à 0,21 au 7<sup>ème</sup> jour ce qui correspond à une inhibition de 38,2 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 0,34 à 0,29 après 1 jour de traitement jusqu'à 0,17 au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 67,6 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,34 à 0,26 après 1 jour de traitement et à 0,07 au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 97,4% de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 33 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de *C. glabrata/ S. epidermidis*.**

**b. Biofilm mixte *C. glabrata/ P. mirabilis***

La figure N° 34 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida glabrata/ P. mirabilis*. La densité optique du biofilm de 5jours est égale à 0,23.

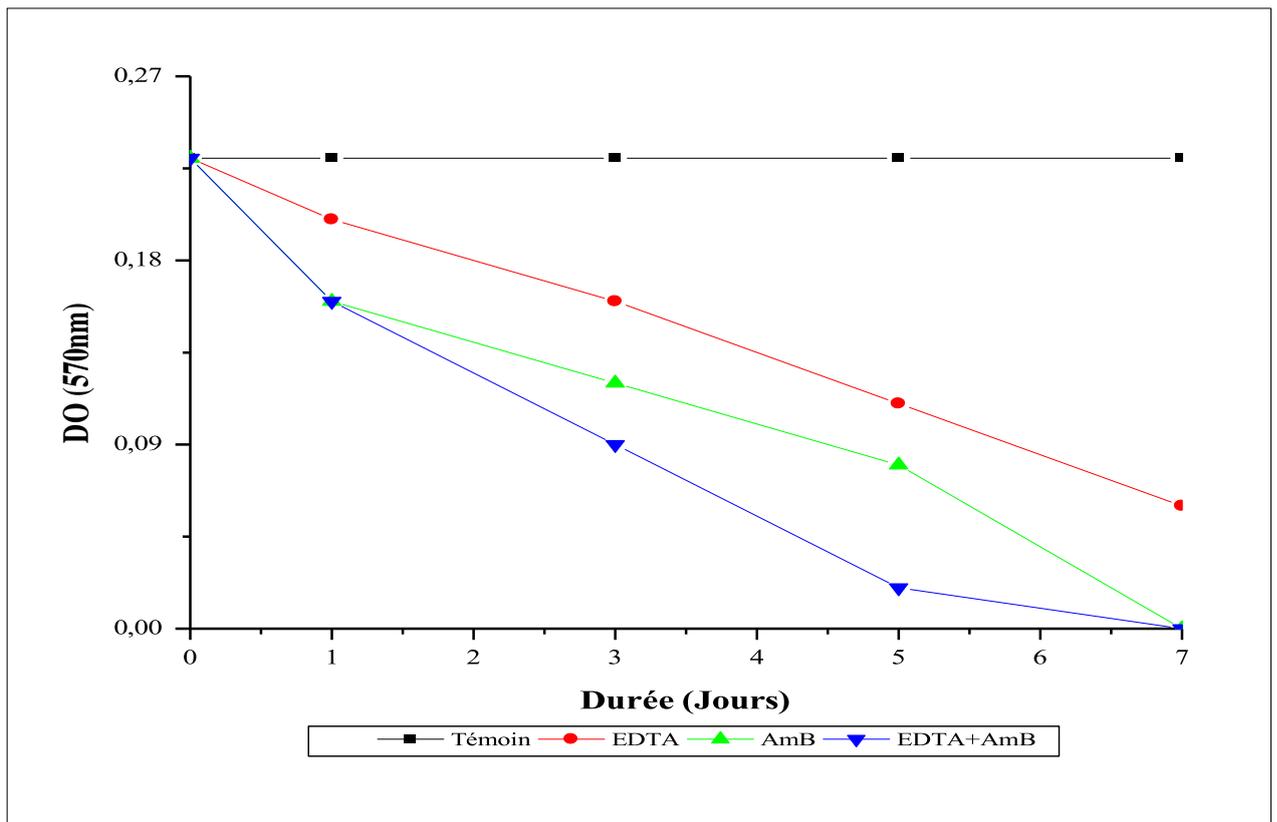
Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,16 au 5<sup>ème</sup> jour de verrouillage jusqu'à 0,06 au 7<sup>ème</sup> jour ce qui correspond à une inhibition de 73,9 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 0,23 à 0,16 après 1 jour de traitement jusqu'à une disparition complète du biofilm au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 100 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,23 à 0,16 après 1 jour de traitement et à une réduction totale de la biomasse du biofilm au 7<sup>ème</sup> jour de traitement (100%).

L'analyse statistique montre une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 34 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5 jours de *C. glabrata/ P. mirabilis*.**

### c. Biofilm mixte *C. glabrata/ P. stuartii/ S. aureus*

La figure 35 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida glabrata/ P. stuartii/ S. aureus*. La densité optique du biofilm de 5 jours est égale à 0,43.

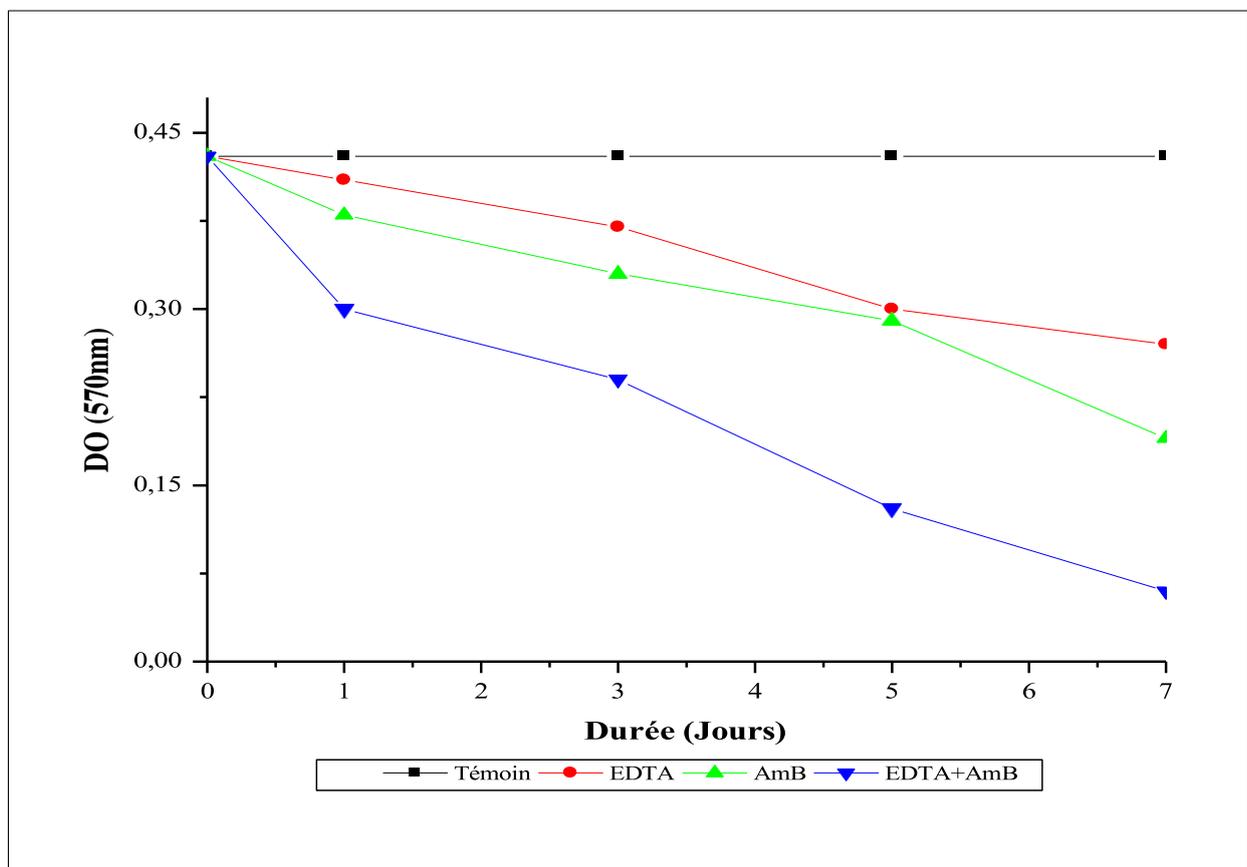
Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,27 au 7<sup>ème</sup> jour ce qui correspond à une inhibition de 37,2 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 0,43 à 0,38 après 1 jour de traitement jusqu'à 0,19 au 7ème jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 55,8 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,43 à 0,3 après 1 jour de traitement et à 0,06 après 7 jours de traitement ce qui correspond à une réduction de 86,1 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 35 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de *C. glabrata*/ *P. stuartii*/ *S. aureus*.**

Nous remarquons que, l'efficacité des solutions verrou dépend de la biomasse du biofilm mixte à *Candida glabrata* de départ et des bactéries coassociées. D'autre part, quel que soit le biofilm mixte *C. glabrata*/ bactéries, l'efficacité de la solution verrou Amphotéricine B+ EDTA est supérieure à celle de l'amphotéricine B seul ou l'EDTA seul.

L'analyse statistique montre une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les différents biofilms *C. glabrata*/ bactéries. De même, une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et entre les jours de traitement.

### **8.1.3. Effet antimicrobien de la solution verrou sur les biofilms mixtes *C. parapsilosis*/ bactéries**

#### **a. Biofilm mixte *C. parapsilosis*/ *P. mirabilis*/ *S. epidermidis***

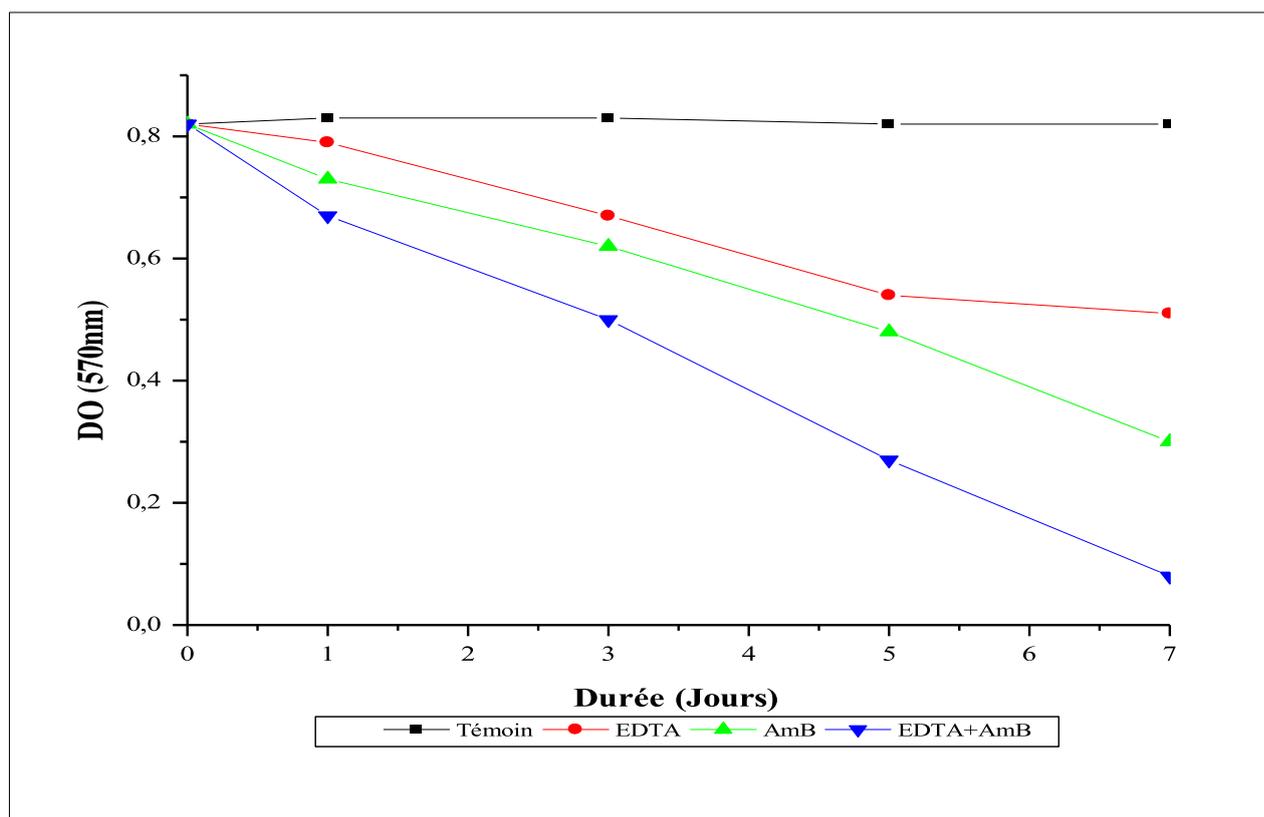
La figure 36 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *C. parapsilosis* / *P. mirabilis*/ *S. epidermidis*. La densité optique du biofilm de 5 jours est égale à 0,82.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,79 au premier jour de verrouillage jusqu'à 0,51 au 7ème jour ce qui correspond à une inhibition de 37,8 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 0,82 à 0,73 après 1 jour de traitement jusqu'à 0,3 au 7ème jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 63,4 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue à 0,67 après 1 jour de traitement puis à 0,08 après 7 jours de traitement ce qui correspond à une réduction de 90,2 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 36 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de *C. parapsilosis*/ *P. mirabilis*/ *S. epidermidis*.**

**b. Biofilm mixte *C. parapsilosis*/ *A. baumannii*/ *S. epidermidis***

La figure 37 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *C. parapsilosis*/ *A. baumannii*/ *S. epidermidis*. La densité optique du biofilm de 5jours est égale à 0,35.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,29 au premier jour de verrouillage jusqu'à 0,07 au 7ème jour ce qui correspond à une inhibition de 80 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

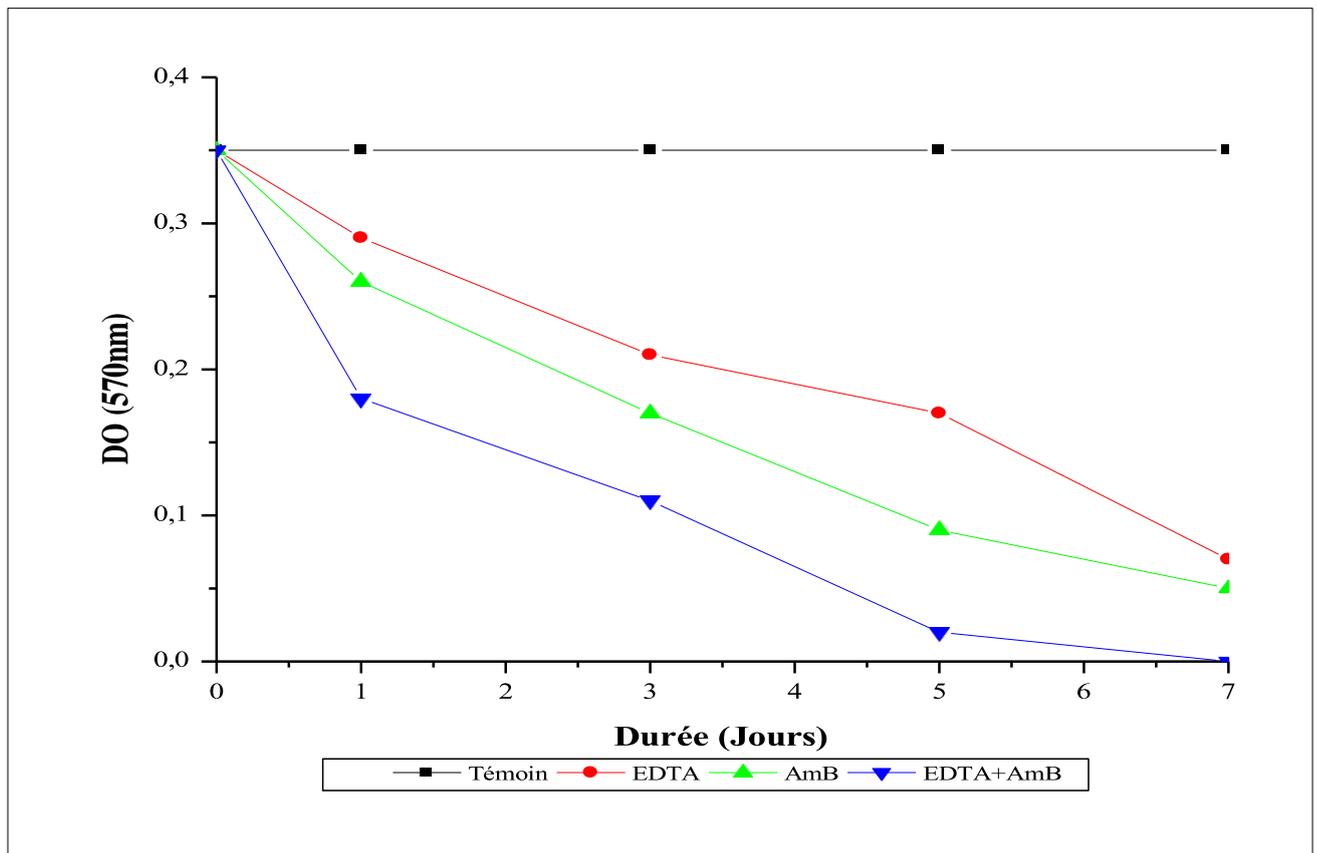
Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage à 0,26 après 1 jour de traitement jusqu'à 0,05 au 7ème jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 85,7 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,35 à 0,18 après

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

1 jour de traitement puis à une disparition complète du biofilm au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 100% de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 37 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5 jours de *C. parapsilosis*/ *A. baumannii*/ *S. epidermidis*.**

Nous remarquons que, l'efficacité des solutions verrou dépend de la biomasse du biofilm mixte à *C. parapsilosis* de départ et des bactéries coassociées. D'autre part, quel que soit le biofilm mixte *C. parapsilosis* / bactéries, l'efficacité de la solution verrou Amphotéricine B+ EDTA est supérieure à celle de l'amphotéricine B seul ou l'EDTA seul.

L'analyse statistique montre une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les différents biofilms mixtes *C. parapsilosis*/bactéries. De même, une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et entre les jours de traitement.

### 8.1.4. Effet antimicrobien de la solution verrou sur les biofilms mixtes *C. famata*/bactéries

#### a. Biofilm mixte *C. famata*/ *S. epidermidis*

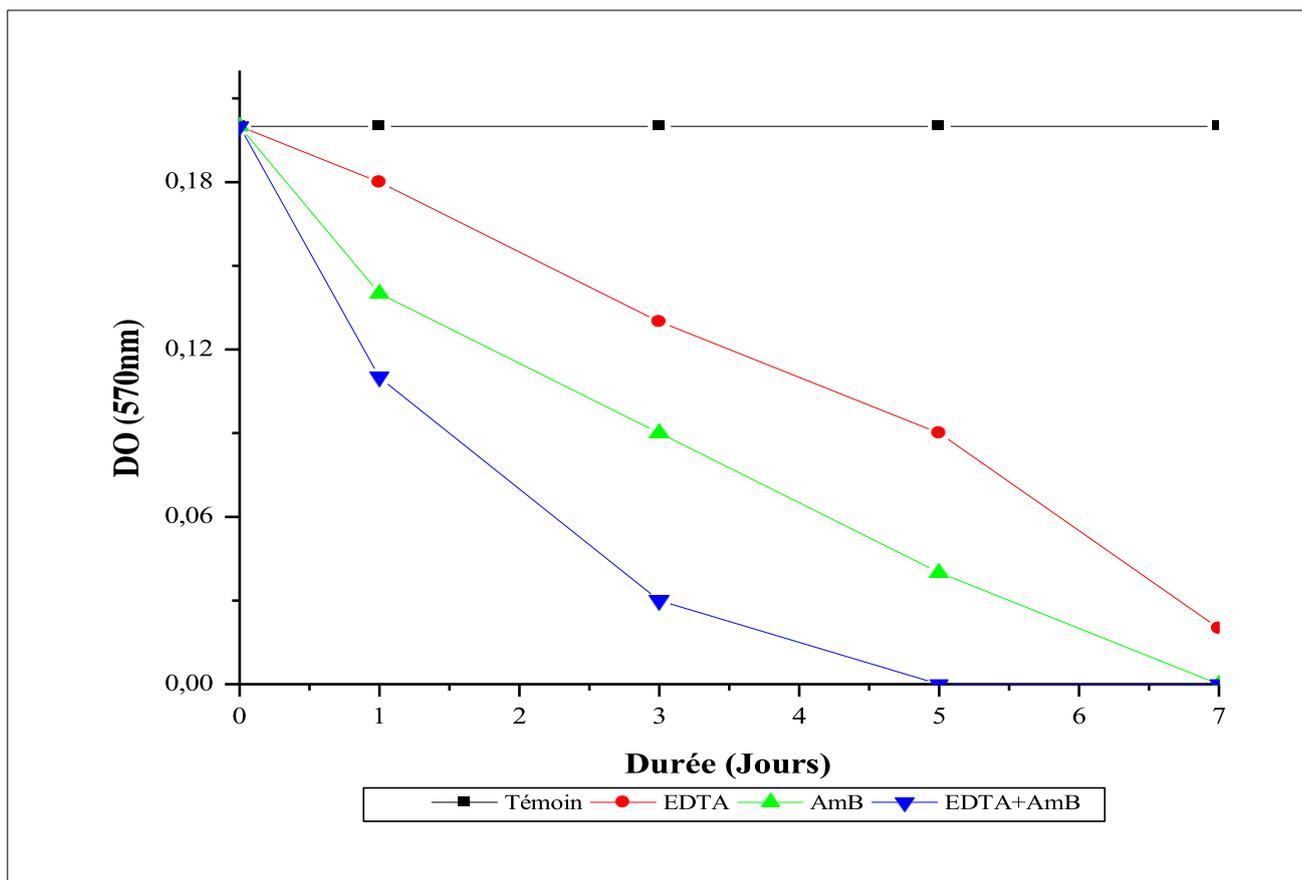
La figure 38 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida famata*/ *S. epidermidis*. La densité optique du biofilm de 5 jours est égale à 0,2.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,02 au 7<sup>ème</sup> jour ce qui correspond à une inhibition de 90 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 0,2 à 0,14 après 1 jour de traitement jusqu'à une disparition complète du biofilm au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 100 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue de 0,2 à 0,11 après 1 jour de traitement jusqu'à une réduction totale de la biomasse de biofilm mixte (100%) au 7<sup>ème</sup> jour de traitement.

L'analyse statistique montre une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et entre les jours de traitement.



**Figure 38 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de *C. famata/ S. epidermidis*.**

**b. Biofilm mixte *C. famata/ K. pneumoniae/ P. mirabilis***

La figure 39 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida famata/ K. pneumoniae/ P. mirabilis*. La densité optique du biofilm de 5jours est égale à 0,53.

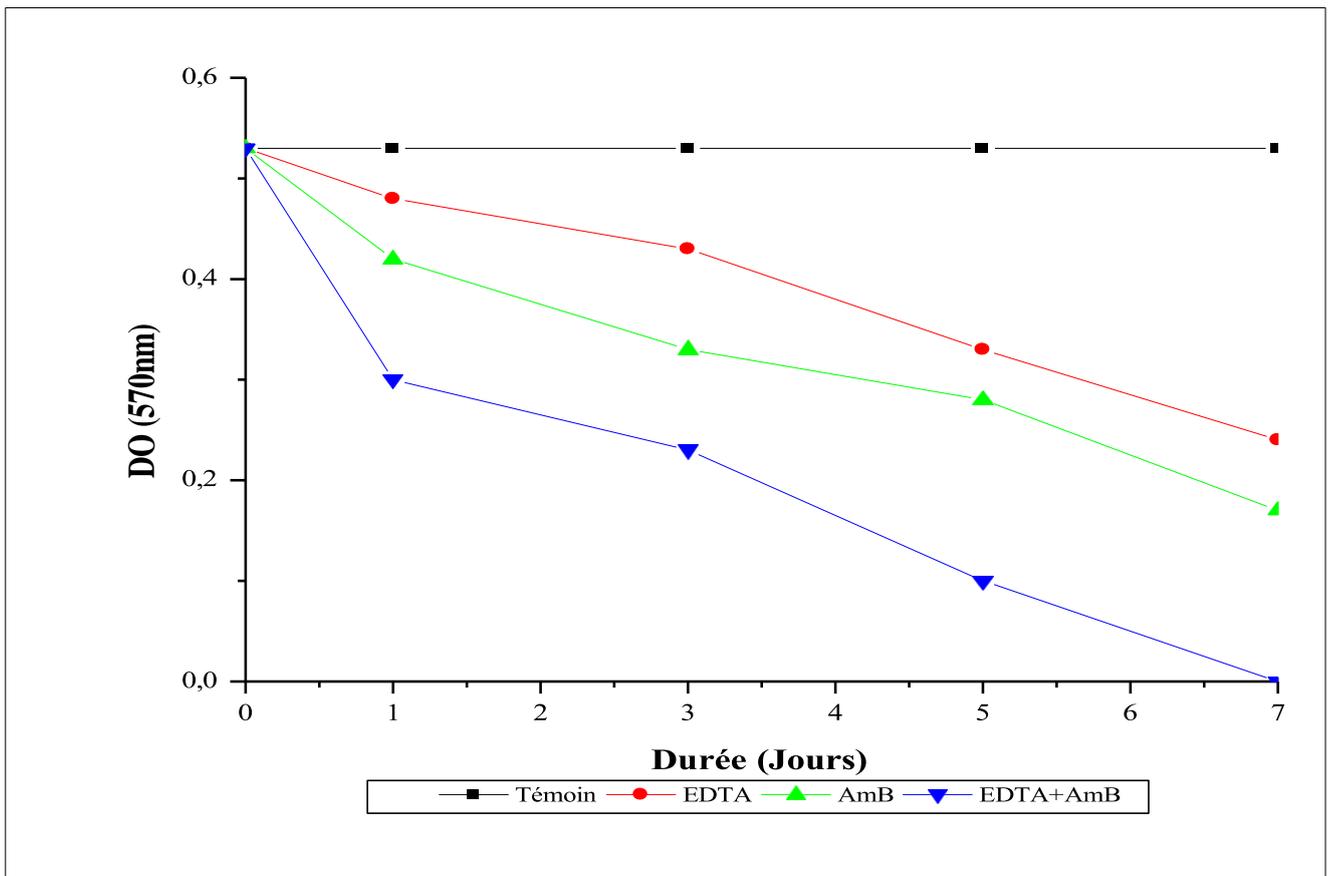
Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,48 au premier jour de verrouillage jusqu'à 0,24 au 7ème jour ce qui correspond à une inhibition de 57,7% de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 0,53 à 0,42 après 1 jour de traitement jusqu'à 0,17 au 7ème jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 67,9 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue à 0,3 après 1 jour de traitement puis à une disparition complète du biofilm au 7<sup>ème</sup> jour de traitement (réduction de 100% de la biomasse initiale de biofilm mixte).

L'analyse statistique montre une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les solutions verrous EDTA et EDTA+ amphotéricine B et une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 39 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5 jours de *C. famata*/ *K. pneumoniae*/ *P. mirabilis*.**

### c. Biofilm mixte *C. famata*/ *E. coli*/ *P. aeruginosa*/ *S. aureus*

La figure 40 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida famata*/ *E. coli*/ *P. aeruginosa*/ *S. aureus*. La densité optique du biofilm de 5 jours est égale à 0,81.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,75 au premier jour de verrouillage jusqu'à

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

0,37 au 7<sup>ème</sup> jour ce qui correspond à une inhibition de 54,3 % de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage, elle passe de 0,81 à 0,78 après 1 jour de traitement jusqu'à 0,35 au 7<sup>ème</sup> jour de traitement ce qui correspond à une réduction de 56,8 % de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue à 0,69 après 1 jour de traitement jusqu'à une disparition complète du biofilm au 7<sup>ème</sup> jour ce qui correspond à une réduction de 100 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence très hautement significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les jours de traitement.

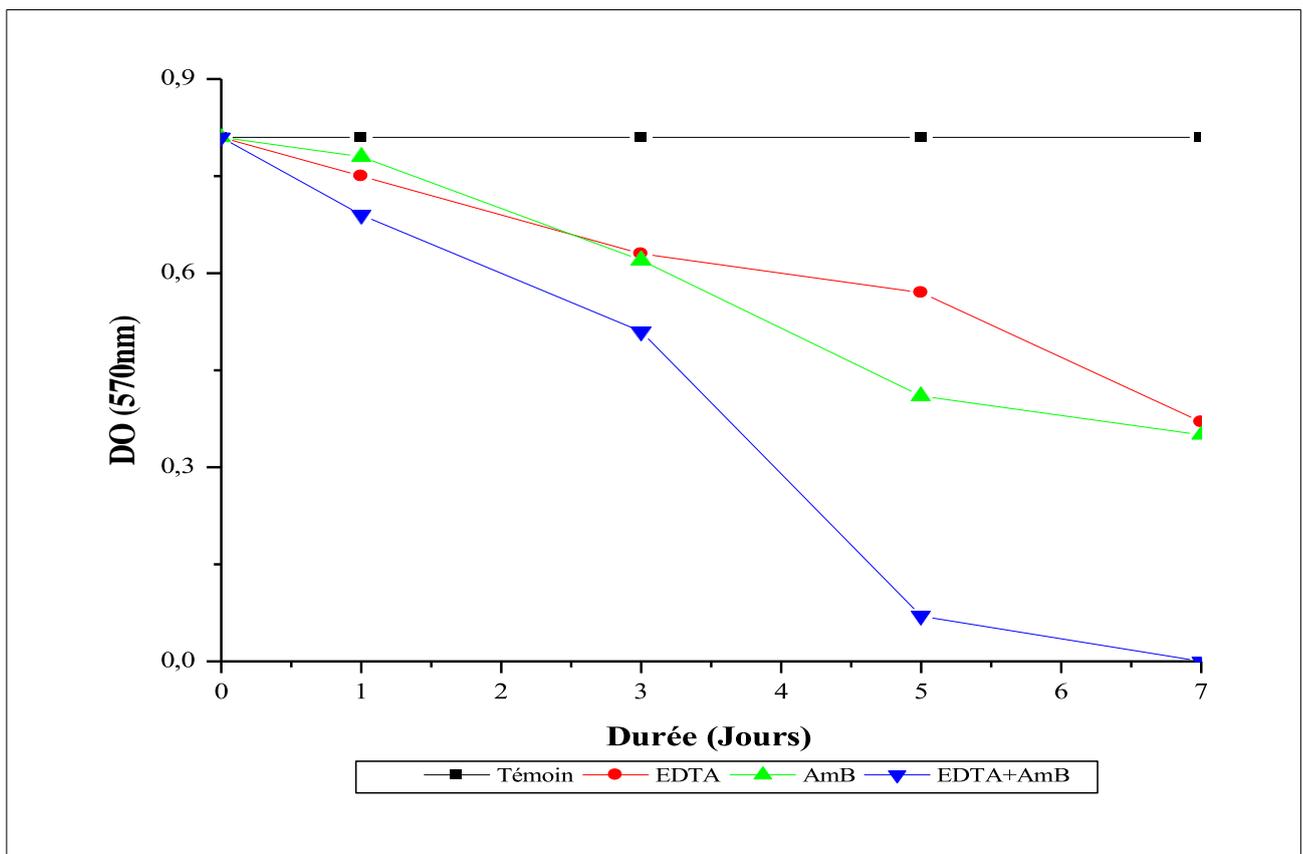


Figure 40 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 5jours de *C. famata*/ *E. coli*/ *P. aeruginosa*/ *S. aureus*.

Nous remarquons que, l'efficacité des solutions verrou dépend de la biomasse du biofilm mixte à *Candida famata* de départ et des bactéries co- associées. D'autre part, quel que soit le biofilm mixte *C. famata*/ bactéries, l'efficacité de la solution verrou Amphotéricine B+ EDTA est supérieure à celle de l'amphotéricine B seul ou l'EDTA seul.

L'analyse statistique montre une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les différents biofilms *C. famata*/ bactéries. De même, une différence très significative ( $p < 0,01$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les jours de traitement.

### 8.2. Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mature de 24- 48h

#### 8.2.1 Effet de la solution verrou de l'Acide Ethylène Diamine Tetra-acétique (EDTA) et l'Amphotéricine B sur les biofilms mixtes (*Candida non albicans*/ bactéries) de 24h

Pour cette partie d'étude nous avons choisi seulement un biofilm mixte par espèce de levure. Le choix est basé sur les levures hautement formatrices de biofilms et les bactéries co-isolées à partir des mêmes dispositifs médicaux. Il s'agit des associations :

*Candida tropicalis*/ *P. mirabilis*

*C. glabrata*/ *P. stuartii*/ *S. aureus*

*C. parapsilosis*/ *P. mirabilis*/ *S. epidermidis*

*C. famata*/ *E. coli*/ *P. aeruginosa*/ *S. aureus*

##### a. Biofilm mixte *Candida tropicalis*/ *P. mirabilis* :

La figure 41 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida tropicalis*/ *P. mirabilis*. La densité optique du biofilm de 24 h est égale à 0,21.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,19 après 6h de traitement puis à 0,16 après 8h ce qui correspond à une inhibition de 23,8% de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

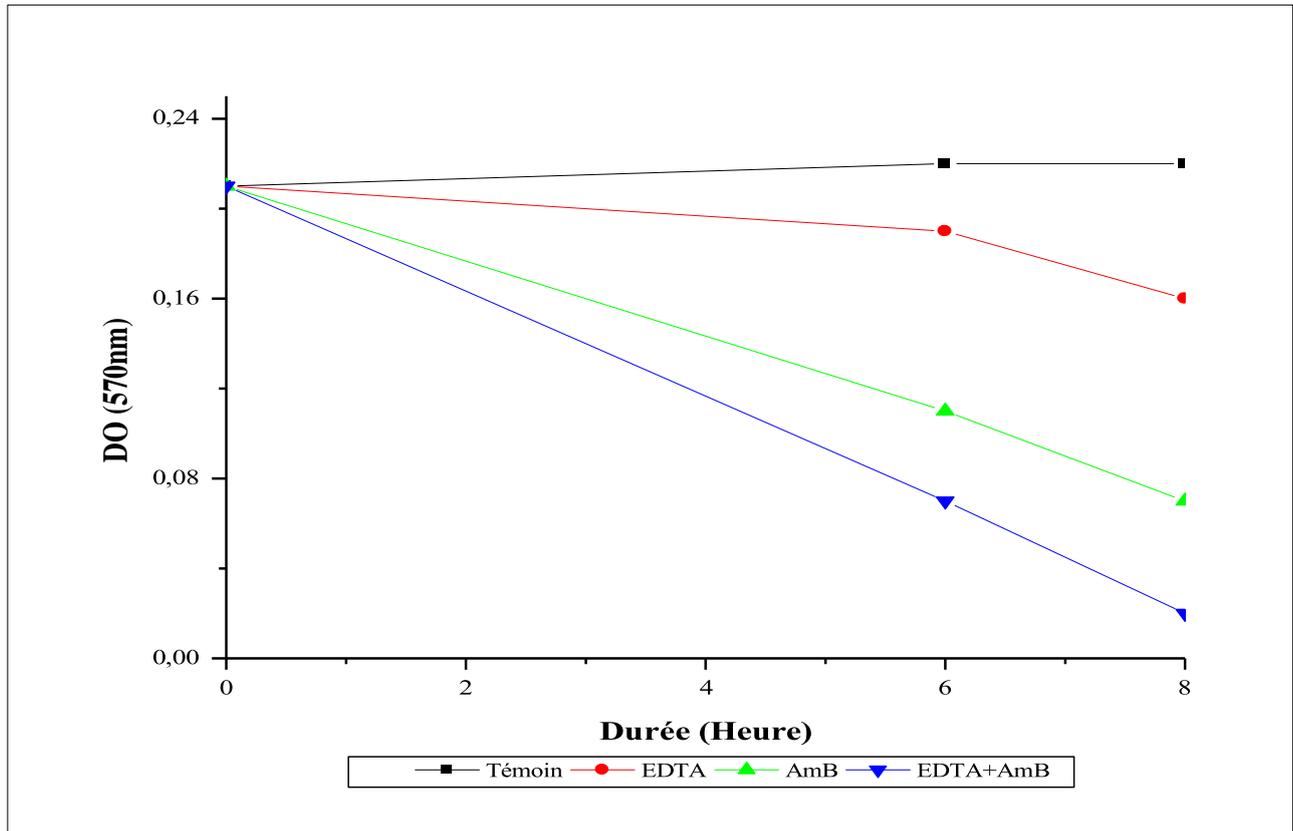
Avec la solution verrou d'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage à 0,11 après 6h de traitement puis à 0,07 après 8h ce qui correspond à une réduction de 66,7% de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue à 0,07 après 6h de

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

traitement puis à 0,02 après 8h ce qui correspond à une réduction de 90,5 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence non significative pour les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B.



**Figure 41 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 24h de *Candida tropicalis*/ *P. mirabilis*.**

### **b. Biofilm mixte *C. glabrata* / *P. stuartii*/ *S. aureus***

La figure 42 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *C. glabrata* / *P. stuartii*/ *S. aureus*. La densité optique du biofilm de 24 h est égale à 0,12.

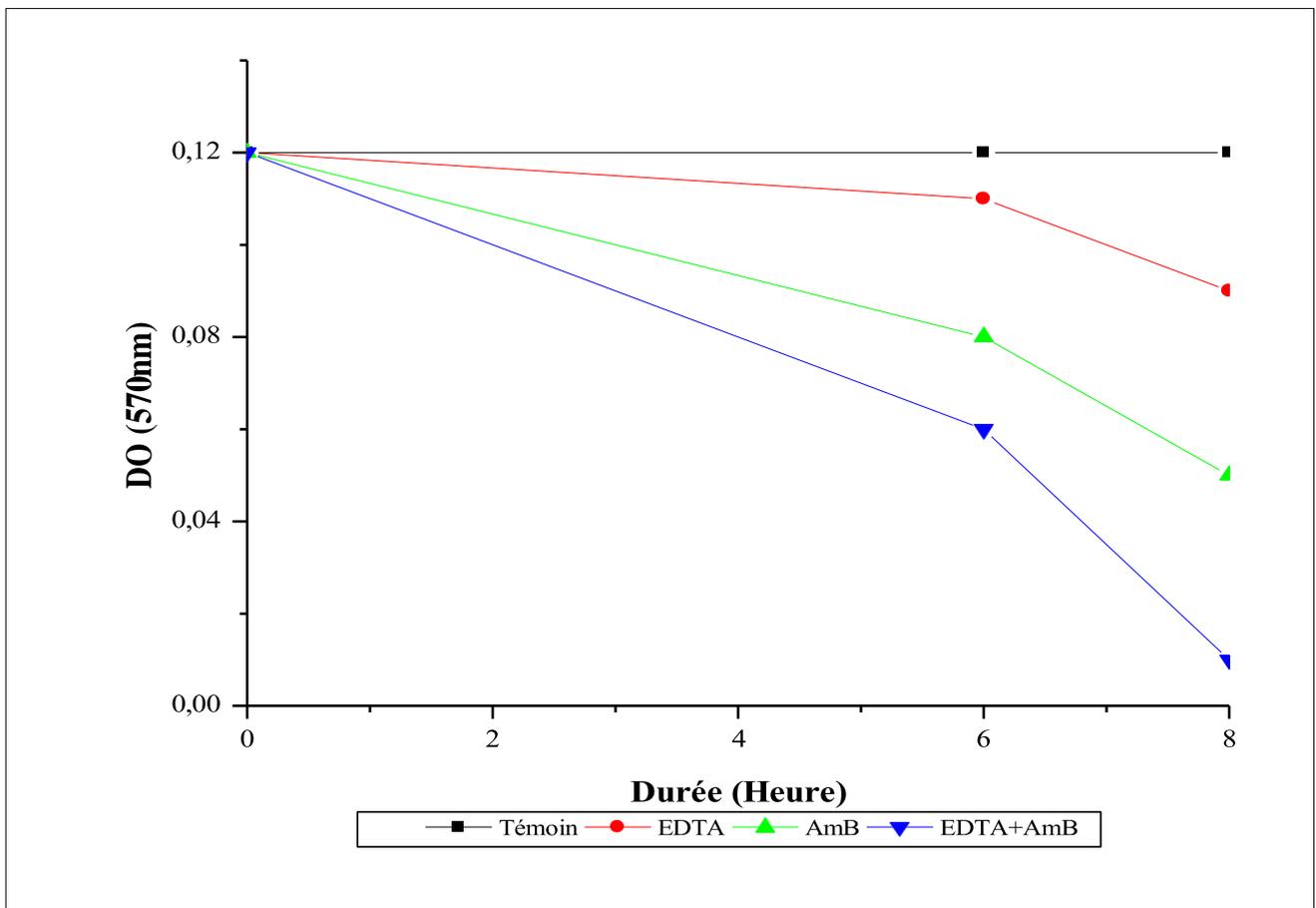
Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,11 après 6h de traitement puis à 0,09 après 8h ce qui correspond à une inhibition de 25% de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage à 0,08 après 6h de traitement puis à 0,05 après 8h ce qui correspond à une réduction de 58,3% de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue à 0,06 après 6h de traitement puis à 0,01 après 8h ce qui correspond à une réduction de 91,7 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et entre les jours de traitement.



**Figure 42 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 24h de *Candida glabrata* / *P. stuartii*/ *S. aureus*.**

### c. Biofilm mixte *C. parapsilosis* / *P. mirabilis*/ *S. epidermidis*

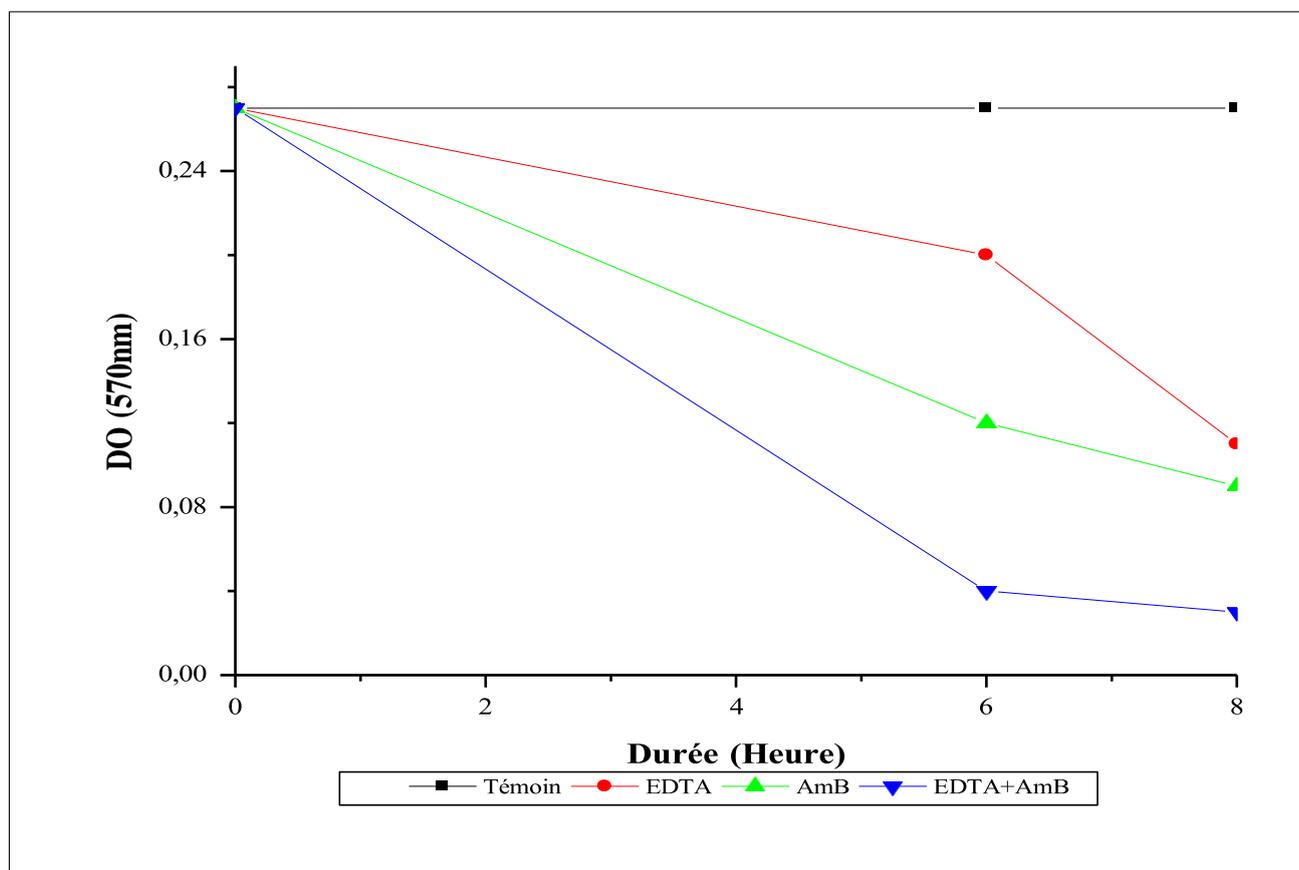
La figure 43 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida parapsilosis* / *P.mirabilis*/ *S. epidermidis*. La densité optique du biofilm de 24 heures est égale à 0,27.

Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,2 après 6h de traitement puis à 0,11 après 8h ce qui correspond à une inhibition de 59,3% de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage à 0,12 après 6h de traitement puis à 0,09 après 8h ce qui correspond à une réduction de 66,7% de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue à 0,04 après 6h de traitement puis à 0,03 après 8h ce qui correspond à une réduction de 88,9 % de la biomasse initiale de biofilm mixte.

L'analyse statistique montre une différence significative ( $p<0,05$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et une différence significative ( $p<0,05$ ) entre les jours de traitement.



**Figure 43 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 24h de *C. parapsilosis* / *P. mirabilis*/ *S. epidermidis*.**

**d. Biofilm mixte *C. famata* / *E. coli*/ *P. aeruginosa*/ *S. aureus***

La figure 44 représente l'effet des solutions verrous sur le biofilm mixte *Candida famata* / *E. coli*/ *P. aeruginosa*/ *S. aureus*. La densité optique du biofilm de 24 heures est égale à 0,21.

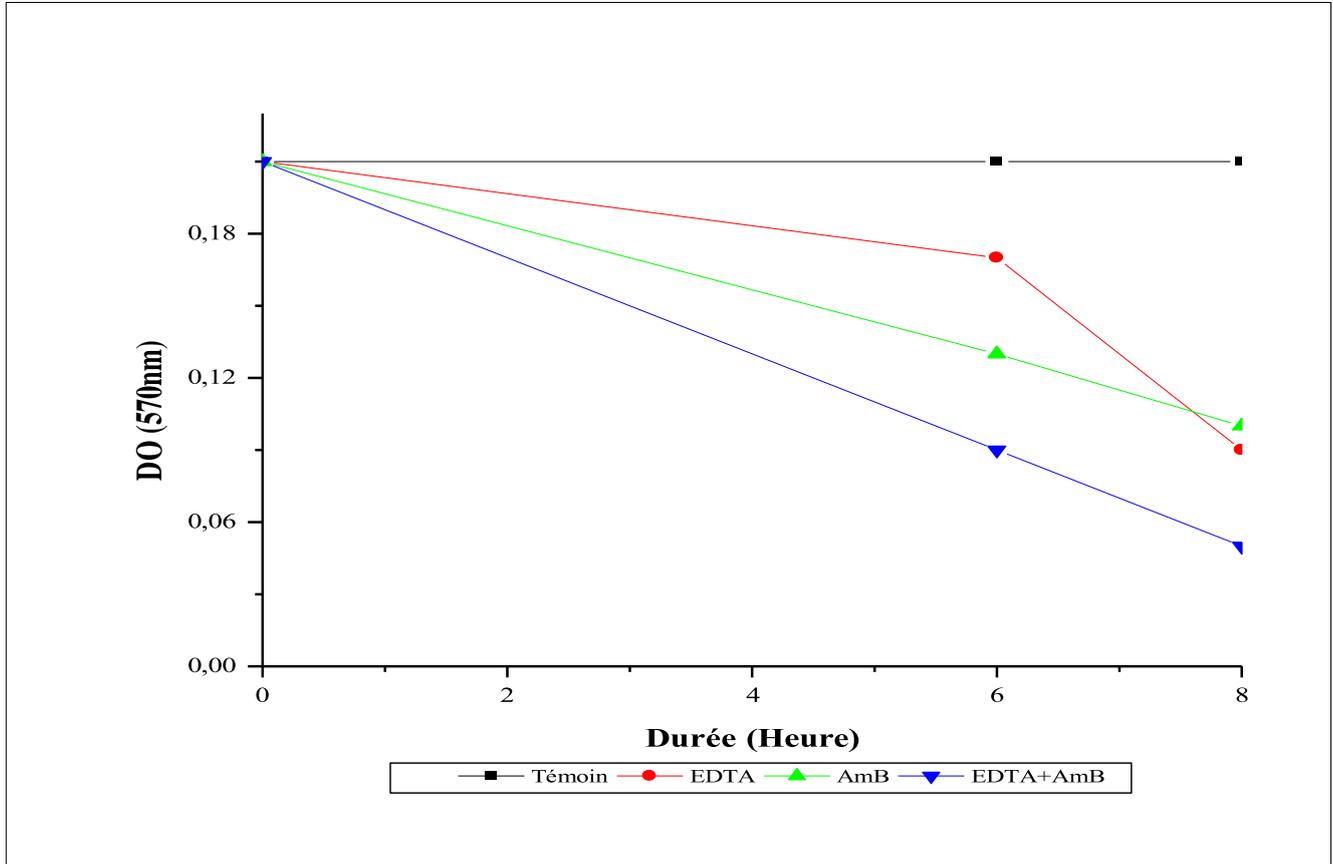
Avec la solution verrou à 30mg/mL de l'EDTA, nous remarquons une diminution de la biomasse du biofilm mixte jusqu'à une DO égale 0,17 après 6h de traitement puis à 0,09 après 8h ce qui correspond à une inhibition de 57,2% de la biomasse de biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la solution verrou de l'amphotéricine B à 1mg/mL, nous remarquons que la DO du biofilm mixte diminue au cours du verrouillage à 0,13 après 6h de traitement puis à 0,1 après 8h ce qui correspond à une réduction de 52,4% de la biomasse du biofilm mixte par rapport au témoin.

Avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur le biofilm mixte, nous remarquons que la biomasse du biofilm diminue à 0,09 après 6h de traitement puis à 0,05 après 8h ce qui correspond à une réduction de 76,2 % de la biomasse

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

initiale de biofilm mixte. L'analyse statistique montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les solutions verrous EDTA, amphotéricine B et EDTA+ amphotéricine B et entre les jours de traitement.



**Figure 44 : Effet antimicrobien de la solution verrou sur un biofilm mixte mature de 24h de *C. famata* / *E. coli*/ *P. aeruginosa*/ *S. aureus*.**

La capacité à former des biofilms sur les dispositifs médicaux est considérée comme un facteur de virulence important pour les micro-organismes pathogènes [(Serra D. et coll., 2015) ; (Lebeaux D. et coll., 2014)]. Le retrait du cathéter est le moyen le plus efficace pour les infections liées aux cathéters, en particulier chez les patients atteints de sepsis sévère. Cependant, le cathéter peut être conservé chez les patients dont l'état est stable afin d'éviter le remplacement du cathéter (Ko K. et coll., 2010). En tant que stratégie conservatrice, le traitement avec des solutions de verrouillage est recommandé comme option alternative pour les infections liées aux cathéters (Frasca V. et coll., 2020).

Dans la présente étude, les résultats que nous avons obtenus montrent que l'utilisation de la solution d'amphotéricine B à 1mg/mL réduit les biofilms mixtes de *Candida non albicans*/bactérie de 40 à 70% selon les espèces, alors que la solution verrouillée d'EDTA

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

(30mg/mL) n'induit qu'une réduction partielle (entre 25 et 55%) des biofilms mixtes (*Candida non albicans*/ Bactéries) après 7 jours de verrouillage. En revanche, le traitement des biofilms mixtes (*Candida non albicans*/ bactéries) avec la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) + EDTA (30 mg/mL) a entraîné une réduction de plus de 60% de la biomasse du biofilm après cinq jours.

D'autre part, la réduction complète de la plupart des biofilms mixtes a été observée au 7<sup>ème</sup> jour de traitement. Ceci est en accord avec l'étude de **Ko K.** et ses *coll.* (2010) qui ont montré qu'une durée limitée de la solution verrouillée (moins de cinq jours) utilisant l'amphotéricine B est suffisante pour traiter les cathéters colonisés par des champignons, ce qui diminuera le risque de résistance ainsi que le coût dans la pratique clinique.

De même, la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur les biofilms mixtes (*Candida non albicans* / bactéries) de 24h aboutit à une réduction de 75% à 90% de la biomasse initiale de biofilm mixte après 8h d'incubation.

Nous constatons également que l'efficacité de la solution de blocage dépend de la souche fongique et de l'espèce bactérienne coassociées.

D'autre part, l'augmentation observée de l'efficacité du traitement des biofilms mixtes avec la solution verrou combinant l'amphotéricine B et l'EDTA suggère que l'EDTA fonctionne comme un perturbateur du biofilm, potentialisant et renforçant l'activité antifongique de l'amphotéricine B contre les espèces de *Candida non albicans* présentes dans le biofilm. Selon **Sen B. et coll.** (2000), l'EDTA inhibe l'exportation des mannoprotéines nécessaires à la formation de la paroi cellulaire. Il a également été démontré que l'EDTA inhibe la formation de biofilms de *C. albicans* en inhibant la filamentation (**Ramage G. et coll., 2007**). En outre, l'EDTA perturbe le biofilm microbien en chélatant le calcium, le magnésium et le fer, qui sont des composants essentiels de la matrice du biofilm [(**Raad I. et coll., 2007**) ; (**Shanks R. et coll., 2006**)].

### 8.2.2 Effet la solution verrou de l'Acide acétylsalicylique (aspirine) sur les biofilms mixtes (*Candida non albicans*/ bactéries) de 48h.

Pour cette partie de l'étude, nous avons sélectionné les levures hautement formatrices de biofilms associées aux bactéries co-isolées du même dispositif médical. Il s'agit des associations :

*Candida tropicalis*/ *P. mirabilis*

*C. glabrata*/ *P. stuartii*/ *S. aureus*

*C. parapsilosis*/ *P. mirabilis*/ *S. epidermidis*

*C. famata*/ *E. coli*/ *P. aeruginosa*/ *S. aureus*

La figure 45 regroupe les résultats relatifs à l'efficacité de l'acide acétylsalicylique (40mg/mL) en solution verrou sur les biofilms mixtes *Candida non albicans* / bactéries.

De la figure 45(a), nous remarquons que la densité optique du biofilm mixte *C. tropicalis*/ *P. mirabilis* de 48h est de 0,87. La solution d'acide acétylsalicylique induit une diminution de la biomasse du biofilm mixte après 4h de verrouillage (la DO n'est que de 0,7) jusqu'à une disparition complète du biofilm au bout de 24h de verrouillage.

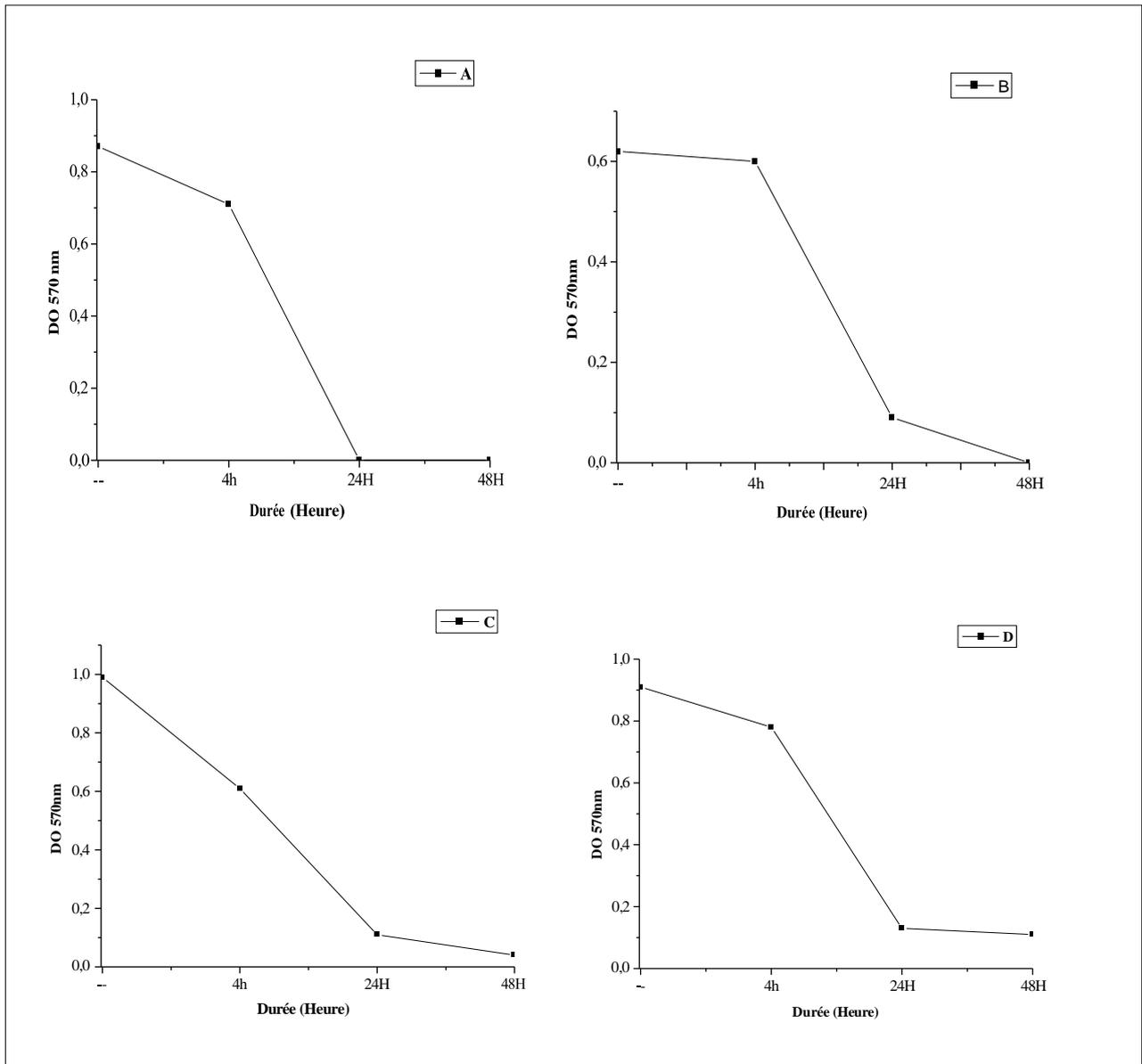
Pour le biofilm mixte *Candida glabrata*/ *P. stuartii*/ *S. aureus* (figure 45b) la densité optique du biofilm de 48h est de 0,62. La solution d'acide acétylsalicylique induit une diminution de la biomasse au bout de 24h du verrouillage, la DO n'est que de 0,09 jusqu'à une disparition complète du biofilm au bout de 48h.

Concernant le biofilm mixte *Candida parapsilosis*/ *P. mirabilis*/ *S. epidermidis* (figure 45c), la densité optique du biofilm de 48h est égale à 0,99. Nous observons une nette diminution de la biomasse du biofilm mixte au cours du verrouillage par l'acide acétylsalicylique, en effet la DO passe de 0,99 à 0,61 après 4h de traitement, puis à 0,11 après 24h de traitement jusqu'à une DO égale à 0,04 au bout de 48h.

La figure 45(d), nous remarquons la densité optique du biofilm mixte *C. famata*/ *E. coli*/ *P. aeruginosa*/ *S. aureus* 48h est égale à 0,91. La solution d'acide acétylsalicylique induit une diminution de la biomasse du biofilm mixte après 4h de verrouillage, la DO n'est que de 0,78. Cette dernière est de 0,13 après 24h de traitement jusqu'à 0,11 au bout 48h.

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

L'analyse statistique montre une différence très hautement significative ( $p < 0,001$ ) entre les espèces fongiques et bactériennes des biofilms mixtes *Candida non albicans*/ bactéries et une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les heures de traitement.



**Figure 45 : Effet de la solution verrou de l'acide acétylsalicylique sur les biofilms mixtes *Candida non albicans* /bactéries. (a) : biofilms mixtes *C. tropicalis*/ *P. mirabilis* ; (b) : *C. glabrata*/ *P. stuartii*/ *S. aureus* ; (c) : *C. parapsilosis*/ *P. mirabilis*/ *S. epidermidis* (d) : *C. famata*/ *E. coli*/ *P. aeruginosa*/ *S. aureus*.**

## RESULTATS ET DISCUSSIONS

---

Les résultats que nous avons obtenus montrent qu'à une concentration de 40mg/mL l'acide acétylsalicylique inhibe les biofilms mixtes testés au bout de 24 ou de 48h en fonction des souches impliquées dans la composition du biofilm mixte. Ces résultats sont en accord avec ceux de **Chan et coll. (2021)** qui mettent en évidence que la technique du verrouillage du cathéter pendant 24heures avec l'acide acétylsalicylique (40mg/mL) comme agent antimicrobien peut être utilisée pour traiter les biofilms à *Candida* responsables d'infections liées aux cathéters.

Notons que, plusieurs études *in-vitro* sur des cultures planctoniques ont démontré l'activité antifongique antibactérienne et antivirale de l'aspirine [(**Almeida F. et coll., 2018**) ; (**Abdelmegeed E. et Shaaban M., 2013**) ; (**Mazur I. et coll., 2007**) ; (**Alem M. et Douglas J., 2004**) ; (**Keren I. et coll., 2004**) ; (**Wang W. et coll., 2003**)].

Selon **Alem et coll. (2004)**, l'aspirine diminue significativement la formation de biofilms de *C. albicans* et réduit la viabilité des cellules de biofilms à des concentrations qui pourraient être atteintes chez l'homme à des doses thérapeutiques.

De même, l'acide acétylsalicylique inhibe la formation d'hyphes et d'autres structures filamenteuses de *Candida albicans* [(**Almeida F. et coll., 2018**) ; (**Deva R. et coll., 2001**)], de *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. glabrata*, et *C. parapsilosis* (**Stepanovic S., 2004**) et diminue la production de biofilms à staphylocoques (**Muller E., et coll. 1998**).

### 9. Observation des biofilms multi-espèces au Microscope Electronique à Balayage (MEB) avant et après l'addition de la solution verrouillée

*Candida tropicalis* est l'espèce fongique dominante à partir de nos isolats prélevés des dispositifs médicaux. Les associations *C. tropicalis*/ *P. mirabilis* et *C. parapsilosis*/ *A. baumannii*/ *S. epidermidis* forment les biofilms mixtes les plus denses dans nos isolats ce qui justifie le choix de ces deux associations pour l'effet de la solution verrouillée sur la formation de biofilm mixte *in-vitro*.

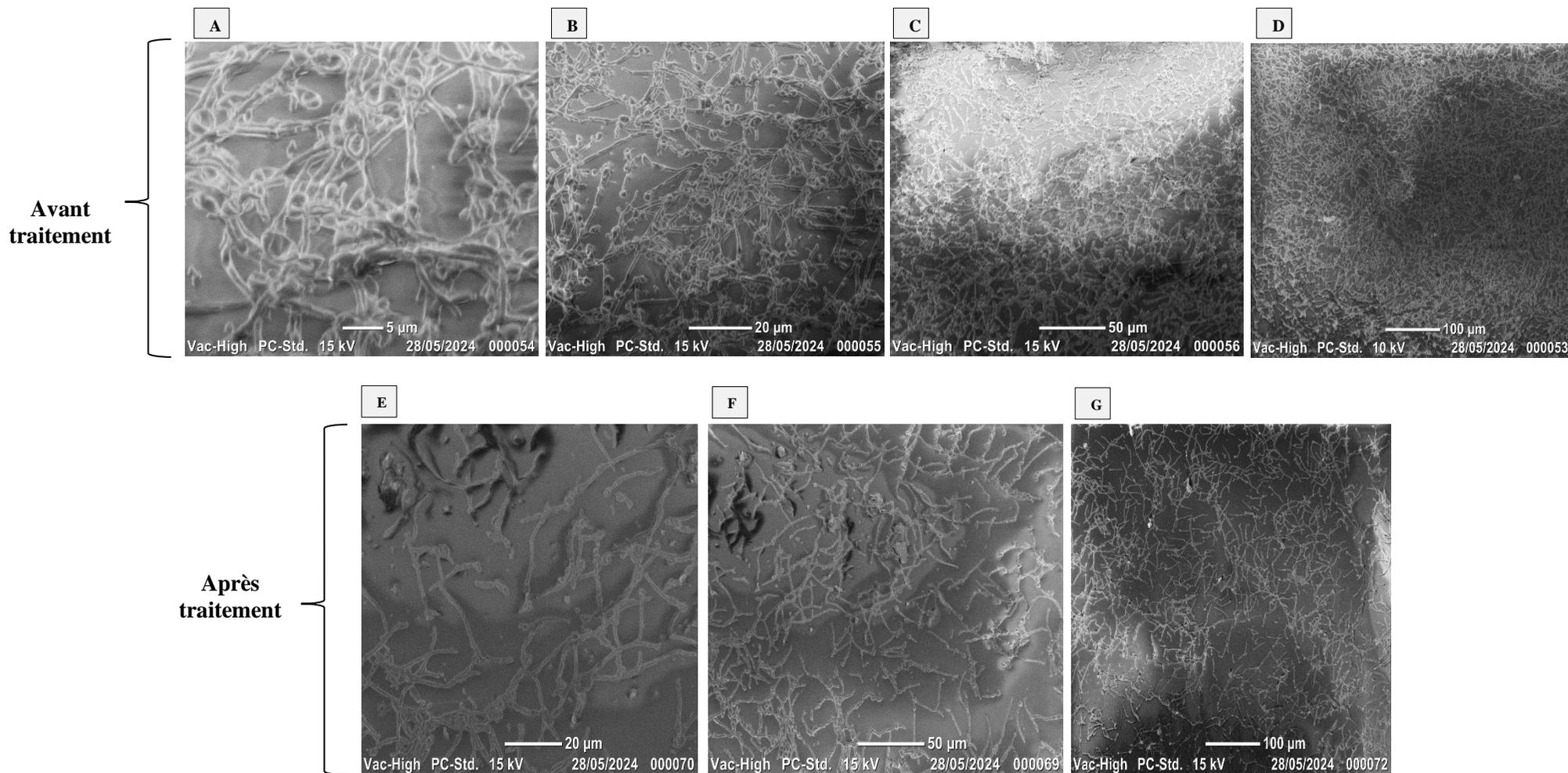
La solution verrou sélectionnée pour les photos microscopiques est l'amphotéricine B (1mg/mL) + EDTA (30mg/ mL). Les biofilms mixtes formés *in vitro* sont observés au microscope électronique à balayage au Centre de Recherche et de Développement de Boumerdes (Algérie).

La **photo N°1** représente les microphotographies de la microscopie électronique à balayage de biofilm mixte *C. tropicalis*/ *P. mirabilis* formés sur cathéter veineux périphérique dans le milieu de culture Trypticase de soja avant et après l'addition de la solution verrouillée.

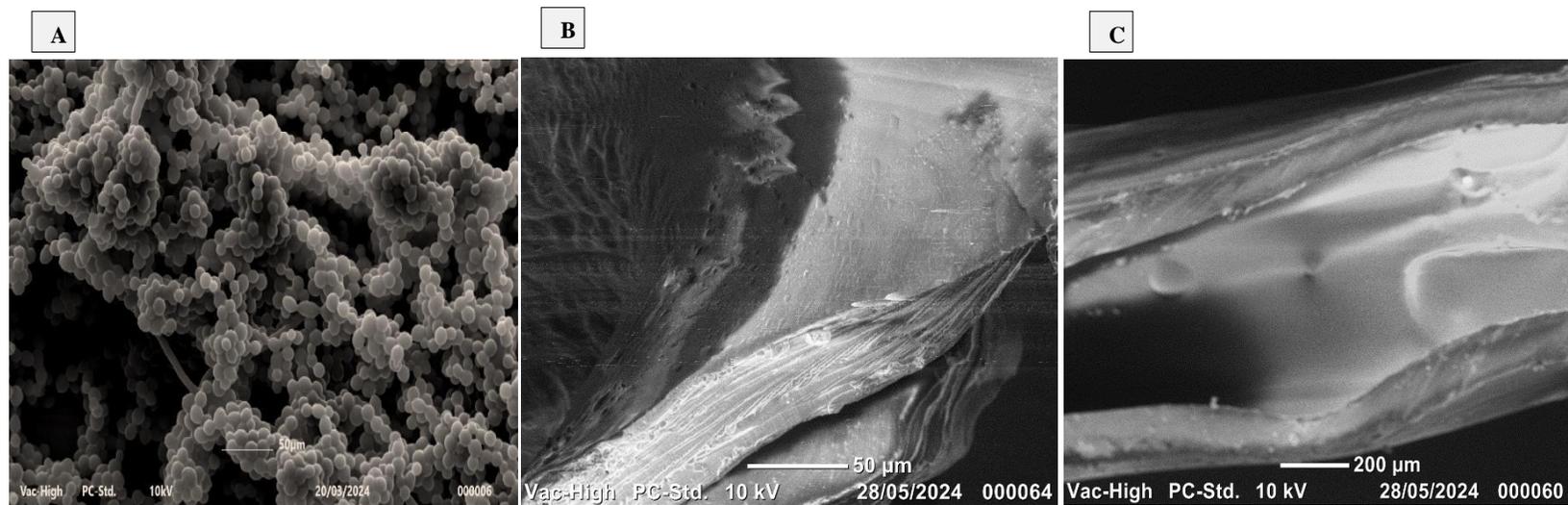
La **photo N°1(A)** [x5], **(B)** [x20], **(C)** [x50] et **(D)** [x100] révèle un biofilm formé d'un réseau d'hyphes de *Candida tropicalis*. Les bactéries attachées aux hyphes de la levure ne sont pas clairement visibles avec ces grossissements. Après l'addition de la solution verrouillée (amphotéricine B (1mg/mL) + EDTA (30mg/ mL), une diminution remarquable de la densité d'hyphes de *Candida tropicalis* sur cathéter est observée (**photo N°1 (E)** [x20], **(F)** [x50] et **(G)** [x100]).

La **photo N°2 (A)** [x50] représente les images de microscopie électronique à balayage de biofilm mixte formé sur cathéter veineux périphérique par *C. parapsilosis*/ *A. baumannii* / *S. epidermidis* sur milieu TSB avant le traitement par l'amphotéricine B (1mg/mL) + EDTA (30mg/ mL). Les photos microscopiques des cathéters (**photo N°2 (B)** [x50] et **(C)** [x200]) devenues nettes après le traitement par la solution verrouillée l'amphotéricine B (1mg/mL) + EDTA (30mg/ mL) ce qui confirme l'effet inhibiteur de cette combinaison sur cette association

## RESULTATS ET DISCUSSIONS



**Photo N°1 : Observations au Microscope Electronique à Balayage des biofilms mixtes formés sur cathéter veineux périphérique par *C. tropicalis*/ *P. mirabilis* sur milieu TSB avant et après traitement par la solution verrou amphotéricine B (1mg/mL) + EDTA (30mg/ mL).**



**Photo N°2 : Observations au Microscope Electronique à Balayage des biofilms mixtes formés sur cathéter veineux périphérique par *C. parapsilosis*/ *A. baumannii*/ *S. epidermidis* sur milieu TSB avant (A) et après le traitement (B, C) par la solution verrouillée l'amphotéricine B (1mg/mL) + EDTA (30mg/ mL).**

---

---

# Conclusion générale

---

---

## CONCLUSION GENERALE

---

Le cathétérisme vasculaire et urinaire sont des actes routiniers dans les centres hospitaliers ce qui expose les patients au risque infectieux dont la physiopathologie est étroitement liée à la présence des microorganismes sur ces implants. De même, les levures et les bactéries sont souvent co-isolées. Cette association levures-bactéries est d'autant plus virulente ce qui augmente le risque infectieux et la difficulté de la prise en charge médicale

En raison de l'hétérogénéité des microorganismes présents dans la flore humaine, les biofilms qui peuvent être générés sont le plus souvent polymicrobiens, impliquant soit des espèces du même genre, soit des espèces de différents règnes. En effet, la diversité, la complexité et les différents pathogènes associés aux biofilms polymicrobiens peuvent contribuer de manière significative à des complications cliniques graves. Le traitement des maladies infectieuses causées par les biofilms mixtes de *Candida* et d'espèces bactériennes s'avère difficile en raison de leur résistance accrue aux médicaments antimicrobiens.

Partant de ces données, nous avons réalisé cette étude qui avait pour objectif d'isoler dans un premier temps les levures *Candida non albicans* et les bactéries co-existantes à partir des différents dispositifs médicaux implantés chez les patients hospitalisés aux services de neurologie médicale, d'anesthésie-réanimation et de chirurgie ortho-traumatologie du centre hospitalo-universitaire (CHU) de Tlemcen et déterminer les différents types d'infectivités fongiques, bactériennes et mixtes (levures-bactéries). Dans un second temps, tester la sensibilité des souches fongiques et bactériennes isolées vis-à-vis des agents antimicrobiens sélectionnés puis évaluer leurs potentiels à former des biofilms mono et multi espèces. Enfin déterminer l'efficacité des solutions de verrouillages sur la formation de ces communautés polymicrobiennes dont l'architecture a été mise en évidence par microscopie électronique à balayage avant et après le traitement.

Il ressort de notre étude que :

Sur les 340 prélèvements effectués, 128 sont de culture positive dont 46,9% sont d'origine bactérienne, 14% d'origine levurienne et 39% de dispositifs sont altérés par les deux groupes microbiens à la fois.

19 souches de *Candida non albicans* sont isolées et identifiées dont *C. tropicalis* (47%), *C. glabrata* (21%), *C. parapsilosis* (16%) et *C. famata* (16%). En parallèle, 25 bactéries ont été co-isolées avec les levures à partir des mêmes dispositifs médicaux dont 72% des germes sont des bacilles à Gram négatif et 28% des bactéries à Gram positif.

## CONCLUSION GENERALE

---

Trois types d'infectivités microbiennes ont été recensés dans les trois services étudiés au CHU de Tlemcen. L'infection représente plus de la moitié des cultures positives (61,7%), elle touche essentiellement les sondes vésicales avec un taux de 92%. Le service d'Anesthésie-Réanimation occupe la première place avec un taux de 50% d'infection.

L'évaluation de l'infectivité des dispositifs médicaux par l'ensemble mixte (*Candida non-albicans*/ bactéries) a montré que ce sont les colonisations qui arrivent en première position (88%) suivies des infections (87%). Les espèces de *Candida tropicalis* et *Candida parapsilosis* sont impliquées dans les trois types d'infectivité (contamination, colonisation et infection).

Les tests de sensibilité aux antimicrobiens montrent une sensibilité à l'amphotéricine B de la plupart des souches fongiques isolées. Une résistance importante des espèces bactériennes isolées est observée vis-à-vis les différents antibiotiques testés.

L'évaluation du potentiel des souches isolées à former les biofilms révèle que la majorité des levures (16/19) et des bactéries (16/25) isolées sont productrices de biofilms. L'intensité de la biomasse de ces biofilms dépend de plusieurs paramètres à savoir l'espèce fongique isolée et la nature du milieu réactionnel ainsi que la durée d'incubation. Les espèces de *Candida tropicalis*, *C. glabrata* et la plupart des espèces bactériennes forment un biofilm plus dense sur milieu TSB que sur le RPMI 1640. L'association *C. tropicalis* / *E. coli* présente le potentiel de formation de biofilm le plus élevé pour l'ensemble des biofilms mixtes formés pour le ratio levure /bactéries de 50/50.

Enfin, l'utilisation de la solution verrou d'EDTA à 30mg/mL ou d'amphotéricine B à 1mg/mL induit une réduction partielle du biofilm mixte (*Candida non albicans*-Bactéries) alors que l'utilisation d'une solution associant l'amphotéricine B à 1mg/mL et l'EDTA à 30 mg/mL induit une réduction de plus de 60% de la biomasse de biofilm au bout de 5jours jusqu'à une éradication complète (100%) de la plupart des biofilm mixtes au bout de 7jours.

De même, la combinaison amphotéricine B (1mg/mL) et l'EDTA (30mg/mL) en solutions verrous sur les biofilms mixtes (*Candida non albicans* / bactéries) de 48h aboutit à une réduction de 75% à 90% de la biomasse initiale de biofilm mixte après 8h d'incubation.

D'autre part, quel que soit le biofilm mixte *Candida non albicans* / bactéries, l'efficacité de la solution verrou Amphotéricine B+ EDTA est supérieure à celle de l'amphotéricine B seul ou l'EDTA seul. L'EDTA améliore l'activité antifongique de l'amphotéricine B contre les espèces de *Candida non albicans* présentes dans le biofilm.

## CONCLUSION GENERALE

---

Nous remarquons également que l'utilisation de l'acide acétylsalicylique à 40mg/mL inhibe les biofilms mixtes testés.

Les observations faites au microscope électronique à balayage ont confirmé d'une part l'attachement du biofilm polymicrobien sur les cathéters veineux périphériques. D'autres part, ces images ont montrés clairement la diminution de la biomasse des biofilms mixtes (*Candida non albicans*/ bactéries) après le traitement par les solutions de verrouillage testées dont la biomasse la plus faible est obtenue après un verrouillage par la solution Amphotéricine B+ EDTA.

Pour conclure, les solutions verrous que nous avons testées peuvent être proposées comme des solutions faciles d'accès et peu onéreuses dans l'inhibition et le traitement les biofilms mixtes *Candida non albicans*/bactéries.

Pour continuer dans cette étude, il serait intéressant :

- D'étudier les interactions qui régissent la formation des biofilms mixtes (*Candida non albicans*/ bactéries), notamment le quorum-sensing.
- De réaliser une identification moléculaire des souches fongiques et bactériennes isolées afin de rechercher les gènes responsables de la résistance et de la formation de biofilm.
- De proposer d'autres agents antimicrobiens comme solutions de verrouillages et d'évaluer leurs efficacités sur la formation des biofilms mixtes (*Candida non albicans*/ bactéries).
- Enfin, proposer une étude supplémentaire pour déterminer l'efficacité des solutions verrous à long terme afin de prévenir la récurrence du biofilm.

---

---

# **Références bibliographiques**

---

---

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

1. Abdelmegeed, E. & Shaaban, M.I. (2013). Cyclooxygenase inhibitors reduce biofilm formation and yeast-hypha conversion of fluconazole resistant *Candida albicans*. *J Microbiol.* 51(5) :598–604. Doi:10.1007/s12275-013-3052-621.
2. Abebe, G.M. (2020). The role of bacterial biofilm in antibiotic resistance and food contamination. *Int. J. Microbiol.* 1705814.
3. Akbari, F. & Kjellerup, B.V. (2015). Elimination of Bloodstream Infections Associated with *Candida albicans* Biofilm in Intravascular Catheters. *Pathogens.* 4, 457-469. <https://doi.org/10.3390/pathogens4030457>.
4. Akbarzadeh, I., Rezaei, N., Bazzazan, S., Naderi- Mezajin, M., Mansouri, A., Karbalaieheidari, H., Ashkezari, S., Salehi-Moghaddam, Z., Asghari Lalami, Z. & Mostafavi, E. (2023). *In silico* and *in vitro* studies of GENT-EDTA encapsulated niosomes: A novel approach to enhance the antibacterial activity and biofilm inhibition in drug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Biomaterials Advances.* Vol 149, 213384, ISSN 2772-9508. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213384>
5. Al Mohajer, M. & Darouiche, O.R. (2013). Prevention and Treatment of Urinary Catheter-Associated Infections. *Current Infectious Disease Reports.* 15 (2): 116–123.
6. Alem, M.A. & Douglas, L.J. (2004). Effects of aspirin and other nonsteroidal anti-inflammatory drugs on biofilms and planktonic cells of *Candida albicans*. *Antimicrob Agents Chemother.* 48(1) :41-47. Doi:10.1128/AAC.48.1.41-47.2004
7. Almeida, F. A., Vargas, E. L. G., Carneiro, D. G., Pinto, U. M., & Vanetti, M. C. D. (2018). Virtual screening of plant compounds and nonsteroidal anti-inflammatory drugs for inhibition of quorum sensing and biofilm formation in salmonella. *Microb. Pathog.* 121: 369–388. Doi: 10.1016/j.micpath.2018.05.014
8. Alonso, B., Fernández-Cruz, A., Díaz, M., Sánchez-Carrillo, C., Martín-Rabadán, P., Bouza, E., Muñoz, P. & Guembe, M. (2020). Can vancomycin lock therapy extend the retention time of infected long-term catheters? **APMIS** 128 : 433–439.
9. Araújo, D., Martins, J.P., Ferreira, S.L., Mota, S.M., Ferreira, P.L. & Pimenta, R. (2024) A meta-analysis on the role of sonication in the diagnosis of cardiac implantable electronic device-related infections. *Front. Microbiol.* 15:1361626. Doi: 10.3389/fmicb.2024.1361626.
10. Babushkina, I.V., Bondarenko, A.S., Ulyanov, V.Y. & Mamonova, I.A. (2020). Biofilm formation by gram-negative bacteria during implant-associated infection. *Bull. Exp. Biol.*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Med.* 169: 365–368.
11. Baddour, L.M., Epstein, A.E. & Erickson, C.C. (2010). Update on cardiovascular implantable electronic device infections and their management: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 121: 458-77.
  12. Baddour, L.M., Wilson, W.R., Bayer, A.S., Fowler, V.G., Tleyjeh, I.M., Rybak, M.J... & Levison, M.E. (2015). Infective Endocarditis in Adults: Diagnosis, Antimicrobial Therapy, and Management of Complications: A Scientific Statement for Healthcare Professionals from the American Heart Association. *Circulation*, 132: 1435–1486.
  13. Bakhsh, N. F., and Namvar, A. E. (2016). Detection of genes involved in biofilm formation in *Staphylococcus aureus* isolates. *GMS Hyg Infect. Control* 11, Doc07. Doi: 10.3205/dgkh000267.
  14. Bandara, H.M.H.N., Yau, J.Y.Y., Watt, R.M., Jin L.J. & Samaranayake, L.P. (2010). *Pseudomonas aeruginosa* inhibits *in-vitro* *Candida* biofilm development. *BMC Microbiology*. 10 :125.
  15. Baptista, P.V., McCusker, M.P., Carvalho, A., Ferreira, D.A., Mohan, N.M., Martins, M. & Fernandes A.R. (2018). Nano-strategies to fight multidrug resistant bacteria “A Battle of the Titans”. *Front Microbiol.* 9 p. 1441.
  16. Barros, J., Monteiro, F.J. & Ferraz, M.P. (2022). Bioengineering approaches to fight against orthopedic biomaterials related-infections. *Int. J. Mol. Sci.*, 23: 11658.
  17. Baudin M. (2017). Couplage de rapporteurs génétiques et d’une molécule active pour l’étude de la dispersion de biofilms. Thèse de doctorat : Biologie. France : Université Paris-Saclay, 158p.
  18. Bauters, T.G.M., Moerman, M., Vermeersch, H. & Nelis, H.J. (2002). Colonization of Voice Prostheses by *Albicans* and *Non Albicans Candida* Species. *Laryngoscope*. 112 (4) : 708-712.
  19. Bekkal brikci benhabib, O., Boucherit-otmani, Z., Boucherit, K., Djediat, C. (2020). Interaction in a dual-species biofilm of *Candida albicans* and *Candida glabrata* isolated from intravascular catheter. *Microbial Pathogenesis*, 152.
  20. Bellifa S., Hassaine H., Kara Terki I., Didi W., M’hamedi I., Lachachi M., Benamar I., Morghad T. & Gaouar S. (2016) Study of Biofilm Production and Antimicrobial Resistance Pattern of *Klebsiella Pneumoniae* Isolated from Urinary Catheter at the University Hospital of Tlemcen. *American Journal of Microbiology and Biotechnology*. 3(2): 13-17.
  21. Blair, N., Patil, P., Nguyen, D., Paudyal-Nepal, B. & Lorember, F. (2024). Antibiotic lock

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- solutions as adjunct therapy for catheter-related blood stream infections in pediatric hemodialysis patients. *Front. Pediatr. Sec. Pediatric Nephrology*, Vol 12.
22. Blanco-Di Matteo, A., Garcia-Fernandez, N., Aguinaga-Pérez, A., Carmona-Torre, F., Oteiza, A.C., Leiva, J. & Del-Pozo, J.L. (2023). *In Vivo* Effectiveness of Several Antimicrobial Locks to Eradicate Intravascular Catheter Coagulase-Negative *Staphylococci* Biofilms. *Antimicrob Agents Chemother.* 67: e01264-22.
23. Bojsen, R., Regenber, B. & Folkesson, A. (2014). *Saccharomyces cerevisiae* biofilm tolerance towards systemic antifungals depends on growth phase. *BMC microbiology.* 14(1): 305.
24. Boucherit-Atmani, Z., Seddiki, S.M.L., Boucherit, K., Sari-Belkharoubi, L., Kunkel, D. (2011). *Candida albicans* biofilms formed into catheters and probes and their resistance to amphotericin B. *Journal de Mycologie Médicale*, Vol21, Issue 3: 182-187.
25. Brun-buisson, C. (1994). Analyse critique des méthodes diagnostiques d'infection liée au cathéter sur matériel enlèvent. *Réan. Urg.* 3 (3 bis) : 343-346.
26. Brun-Buisson, C., Abrouk, F., Legrand, P., Huet, Y., Larabi, S. & Rapin, M. (1987) Diagnosis of central venous catheter related sepsis: critical level of quantitative tip cultures. *Archives of internal medicine.* 147(5): 873-877.
27. Budzyńska, A., Różalska, S., Sadowska, B. & Różalska, B. (2017). *Candida albicans*/*Staphylococcus aureus* Dual-Species Biofilm as a Target for the Combination of Essential Oils and Fluconazole or Mupirocin. *Mycopathologia.* 182: 989–995.
28. Buonsenso, D., Salerno, G., Sodero, G., Mariani, F., Pisapia, L., Gelormini C... & Biasucci, D.G. (2022). Catheter salvage strategies in children with central venous catheter-related or -associated bloodstream infections: A systematic review and meta-analysis. *J. Hosp. Infect.* 125, 1–20.
29. Burmølle, M., Ren, D., Bjarnsholt, T. & Sørensen, S.J. (2014). Interactions in multispecies biofilms: do they actually matter. *Trends Microbiol.* 22: 84-91.
30. Carniello, V., Peterson, B. W., van der Mei, H. C., and Busscher, H. J. (2018). Physico-chemistry from initial bacterial adhesion to surface-programmed biofilm growth. *Adv. Colloid Interface Sci.* 261: 1–14. Doi: 10.1016/j.cis.2018.10.005.
31. Cascioferro, S., Carbone, D., Parrino, B., Pecoraro, C., Giovannetti, E., Cirrincione, G., Diana, P. (2021). Therapeutic strategies to counteract antibiotic resistance in MRSA

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- biofilm-associated infections. *Chem. Med. Chem.* 16, 65–80.
32. Cascioferro, S., Totsika, M. & Schillaci, D. (2014). Sortase A: an ideal target for anti-virulence drug development. *Microb. Pathog.* 77: 105-112.
33. CASFM. (2015) Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
34. CCLIN Paris-Nord. (2001). Le cathétérisme veineux, guide de bonnes pratiques recommandations pour l'élaboration de protocoles de soins sur les voies veineuses. 2ème version ; Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales de l'Inter région Paris – Nord.
35. Centers for Disease Control and Prevention. (2021). Catheter-Associated Urinary Tract Infections (CAUTI), CDC: Atlanta, GA, USA. [https://www.cdc.gov/hai/ca\\_uti/uti.html](https://www.cdc.gov/hai/ca_uti/uti.html)
36. Chan, A. K. Y., Tsang, Y. C., Chu, C. H., & Tsang, C. S. P. (2021). Aspirin as an Antifungal-Lock Agent in Inhibition of Candidal Biofilm Formation in Surgical Catheters. *Infection and Drug Resistance.* 14 : 1427–1433. <https://doi.org/10.2147/IDR.S308262>.
37. Chandra, J., Long, L., Isham, N., Mukherjee, P.K., DiSciullo, G., Appelt, G. & Ghannoum, M.A. (2018). *In Vitro* and *In-vivo* activity of a novel catheter lock solution against bacterial and fungal biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.* 62 :10.1128/aac.00722-18. <https://doi.org/10.1128/aac.00722-18>.
38. Charbonneau, P. & Wolff, M. (2013). Infectiologie en réanimation. *Springer Science & Business Media.*
39. Chaves, F., Garnacho-Montero, J., Del Pozo, J. (2018). Diagnosis and treatment of catheter-related bloodstream infection: clinical guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology and (SEIMC) and the Spanish Society of Spanish Society of Intensive and Critical Care Medicine and Coronary Units (SEMICYUC). *Med Intensiva.* 42 (1): 5-36. Doi: 10.1016/j. medin.2017.09.012.
40. Chen, H., Fujita, M., Feng, Q., Clardy, J., Fink, G.R. (2004) Tyrosol is a quorum sensing molecule in *Candida albicans*. *Proceedings of the National academy of Sciences of the United States of America*, 101(14): 5048-5052.
41. Chen, M., Yu, Q. & Sun, H. (2013). Novel strategies for the prevention and treatment of biofilm related infections. *Int. J. Mol. Sci.* 14: 18488–18501.
42. Christensen, G., Simpson, W., Younger, J., Baddour, L., Barrett, F., Melton, D. & Beachey, E. (1985). Adherence of coagulase-negative *staphylococci* to plastic tissue culture plates: a

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- quantitative model for the adherence of *staphylococci* to medical devices. *Journal of clinical microbiology*, 22(6), 996-1006. doi: 10.1128/jcm.22.6.996-1006.1985.
43. Ciofu, O., Rojo-Molinero, E., Macià, M.D. & Oliver, A. (2017). Antibiotic treatment of biofilm infections. *Apmis*.125: 304–319.
44. CLSI. (2008) Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: informational supplement, M27-S3. *Clinical and Laboratory Standards Institute*.
45. Coenye T., Ahonen M., Anderson S., Cámara M., Chundi P...& Fields M. (2024). Global challenges and microbial biofilms: identification of priority questions in biofilm research, innovation and policy. *Biofilm*, 100210. <https://doi.org/10.1016/j.biofilm.2024.100210>.
46. Colombari, B., Alfano, G., Gamberini, C., Cappelli, G. & Blasi, E. (2021). EDTA and Taurolidine Affect *Pseudomonas aeruginosa* virulence *in-vitro*—Impairment of Secretory
47. Cruse, P.J.E & Foor, d R. (1980). The epidemiology of wound infection. A10 years prospective study of 62939 wounds. *Surg.clin.North Amer.* 60: 27-40.
48. Cuéllar-Cruz, M., Vega-González, A., Mendoza-Novelo, B., López-Romero, E., Ruiz-Baca, E., Ruiz-Baca, E., Quintanar-Escorza, M.A. & Villagómez-Castro, J.C. (2012). The effect of biomaterials and antifungals on biofilm formation by *Candida* species: a review. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 31(10): 2513-27.
49. Dadi, N.C.T., Radochová, B., Vargová, J. & Bujdáková, H. (2021). Impact of Healthcare-Associated Infections Connected to Medical Devices—An Update. *Microorganisms*. 9, 2332.
50. Dalleau, S., Cateau, E., Bergès, T., Berjeaud, J.M., Imbert, C. (2008). *In-vitro* activity of terpenes against *Candida* biofilms, *International Journal of Antimicrobial Agents*. 31(6): 572-576.
51. Davies, D.G. & Marques, C.N. (2009). A fatty acid messenger is responsible for inducing dispersion in microbial biofilms. *J. Bacteriol.*191: 1393-403.
52. Davies, D.G., Flemming, H.C., Wingender, J. & Szewzyk, U. (2011). Biofilm Dispersion, in: *Biofilm Highlights*. Springer Berlin Heidelberg, 1–28.
53. De Paula, S. B., Bartelli, T. F. & Di Raimo, V. (2014). Effect of eugenol on cell surface hydrophobicity, adhesion, and biofilm of *Candida tropicalis* and *Candida dubliniensis* isolated from oral cavity of HIV-infected patients. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, Article ID 505204, 8 pages. doi: 10.1155/2014/505204.
54. De Silva, L. & Heo, G.J. (2022). Biofilm formation of pathogenic bacteria isolated from

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- aquatic animals. *Arch. Microbiol.* 205, 36.
55. Dehbanipour, R. & Ghalavand, Z. (2022) Anti-virulence therapeutic strategies against bacterial infections: recent advances. *Germes.* 12 (2): 262.
56. Deorukhkar S. C., Saini S., and Mathew S. (2014) Virulence factors contributing to pathogenicity of *Candida tropicalis* and its antifungal susceptibility profile, *International Journal of Microbiology*, 6 pages.
57. Deva, R., Ciccoli, R., Kock, L. & Nigam, S. (2001). Involvement of aspirin-sensitive oxylipins in vulvovaginal candidiasis. *FEMS. Microbiol. Lett.* 198(1) :37–43. Doi:10.1111/j.1574-6968.2001.tb10616.x
58. Di Domenico, E.G., Oliva, A. & Guembe, M. (2022). The Current Knowledge on the Pathogenesis of Tissue and Medical Device-Related Biofilm Infections. *Microorganisms*, **10**, 1259.
59. Donlan, R.M. (2002). Biofilms: microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.* P. 8: 881-90.
60. Donlan, R.M. (2008). Biofilms on Central Venous Catheters: Is Eradication Possible.
61. Dos Santos, A.L., Galdino, A.C.M., De Mello, T.P., De Ramos, L.S., Branquinha, M.H., Bolognese, A.M., Columbano, N.J. & Roudbary, M. (2018). What are the advantages of living in a community? A microbial biofilm perspective! *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.*, 113: e180212. doi: 10.1590/0074-02760180212 .
62. Ebrey, R., Hamilton, S., Cairns, G. & Lappin-Scott, H. (2004). Biofilms and hospital-acquired infections. In: Ghannoum M, O’Toole GA, editors. *Microbial biofilms. Washington DC: ASM Press.* P. 294-313.
63. Ernst, E.J. & Rogers, P.D. (2005). Antifungal agents: methods and protocols. Totowa, New Jersey : *Humana. Press. Inc.*
64. Espinasse, F., Page, B. & Cottard-Boulle, B. (2010). Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires.* (426) : 51-63.
65. Fergus, W., Marcus, S., Alicja, Z., Rui, C., Lauren, F. & Percival, L. (2023). Chapter 7 - Aspects of biofilms on medical devices. *Understanding Microbial Biofilms. Fundamentals to Applications.* P. 91-105.
66. Fki H., Yaich S., Jdidi J., Karray A., Kassis M. & Damak J. (2008). Epidémiologie des infections nosocomiales dans les hopitaux universitaires de Sfax : résultats de la première enquête nationale de prévalence de l’infection nosocomiale. *Rev. Tun. Infectiol.* 2: 22-31.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

67. Fleming, D. & Rumbaugh, K.P. (2017). Approaches to dispersing medical biofilms. *Microorganisms*. 5: 15.
68. Flemming, H.C. & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nat. Rev. Microbiol.* 8: 623-33.
69. Flemming, H.C. & Wuertz S. (2019). Bacteria and archaea on Earth and their abundance in biofilms. *Nature reviews. Microbiology*, 17 (4): 247-260.
70. Floyd, K.A., Eberly, A.R., Hadjifrangiskou, M. (2017). 3 - Adhesion of bacteria to surfaces and biofilm formation on medical devices. *Biofilms and Implantable Medical Devices*, P. 47-95, ISBN 9780081003824.
71. Fracchia, L., Cavallo, M., Allegrone, G. & Martinotti, M.G. (2010). A lactobacillus-derived biosurfactant inhibits biofilm formation of human pathogenic *Candida albicans* biofilm producers. *Appl Microbiol Biotechnol.*, 2: 827-37.
72. Frasca, D., Dahyot-Fizelier, C. & Mimos, O. (2008) La colistine en réanimation.
73. Fu, H., Wang, J., Liu, Q., Ding, L. & Ren, H. (2022). The role of immobilized quorum sensing strain in promoting biofilm formation of Moving Bed Biofilm Reactor during long-term stable operation. *Environ. Res.* 215, 114159.
74. Gallien, S., Sordet, F. & Enache-Angoulvant, A. (2007). Traitement des candidémies chez un patient porteur d'un cathéter vasculaire. *Journal de Mycologie Médicale.* 17 : 42-49.
75. García-Figueroa, B., Arazia-Santibàñez, J., Basurto-Kuba, E. & Bonifaz-Trujillo, A. (2009) *Candida glabrata* : an emergent opportunist in vulvovaginitis. *Cirugia y Cirujanos.* 77(6) :423-427.
76. Gaston, J.R., Andersen, M.J., Johnson, A.O., Bair, K.L., Sullivan, C.M., Guterman, White, L.B., ... & Flores-Mireles, A.L. (2020). *Enterococcus faecalis* polymicrobial interactions facilitate biofilm formation, antibiotic recalcitrance, and persistent colonization of the catheterized urinary tract. *Pathogens*, 9: 835-855.
77. Gaurav, A., Bakht, P., Saini, M., Pandey, S. & Pathania, R. (2023). Role of bacterial efflux pumps in antibiotic resistance, virulence, and strategies to discover novel efflux pump inhibitors. *Microbiology.* 169, 001333.
78. Ghai, I. & Ghai, S. (2018) Understanding antibiotic resistance via outer membrane permeability. *Infect Drug Resist*, 11: 523–530.
79. Gominet, M., Compain, F., Beloin, C. & Lebeaux, D. (2017). Central venous catheters and biofilms: Where do we stand in 2017? *Apmis.* 125. 365–375.
80. Gompelman, M., Paus, C., Bond, A., Akkermans, R.P., Bleeker-Rovers, C.P., Lal, S., &

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Wanten, G.J. (2021). Comparing success rates in central venous catheter salvage for catheter-related bloodstream infections in adult patients on home parenteral nutrition: A systematic review and meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* 114: 1173–1188.
81. Gourari-Bouzouina, K., Boucherit-Otmani, Z., Seghir, A., Baba Ahmed-Kazi Tani, Z.Z., Bendoukha, I., Benahmed, A., Aissaoui, M., Boucherit, K. (2024). Evaluation of mixed biofilm production by *Candida spp.* and *Staphylococcus aureus* strains co-isolated from cystic fibrosis patients in northwest Algeria, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 109(3): 116321, ISSN 0732-8893.
82. Govaert, M., Smet, C., Vergauwen, L., Ećimović, B., Walsh, J., Baka, M. (2019). Influence of plasma characteristics on the efficacy of cold atmospheric plasma (CAP) for inactivation of *listeria monocytogenes* and *salmonella typhimurium* biofilms. *Innov. Food Sci. Emerg.* 52: 376–386. Doi: 10.1016/j.ifset.2019.01.013
83. Guinan, J., Wang, S., Hazbun, T.R., Yadav, H. & Thangamani, S. (2019). Antibiotic-induced decreases in the levels of microbial-derived short-chain fatty acids correlate with increased gastrointestinal colonization of *Candida albicans*, *Sci. Rep.* 9 (1): 8872.
84. Guinea, J., Marcos-Zambrano, L.J., Escribano, P. & Bouza, E. (2014). Production of biofilm by *Candida* and non-*Candida spp.* isolates causing fungemia: Comparison of biomass
85. Gunardi, W.D., Karuniawati, A., Umbas, R., Bardosono, S., Lydia, A., Soebandrio, A. & Safari, D. (2021). Biofilm-Producing Bacteria and Risk Factors (Gender and Duration of Catheterization) Characterized as Catheter-Associated Biofilm Formation. *Int. J. Microbiol.* 8869275.
86. Güneş, B. & Akçelik, N. (2022). The role of eDNA in biofilm structure of *Enterococcus faecalis* and investigation of the efficiency of enzyme and antibiotic application in biofilm eradication. *Mikrobiyol. Bul.* 56: 606–619.
87. Gupta, P., Sarkar, S., Das, B., Bhattacharjee, S. & Tribedi, P. (2016). Biofilm, pathogenesis and prevention—A journey to break the wall: A review. *Arch. Microbiol.*, 198: 1–15.
88. Gürcüoğlu, E., Ener, B., Akalin, H., Sinirtaş, M., Evci, C., Akçağlar, S. & Heper, Y. (2010) Epidemiology of nosocomial candidaemia in a university hospital: a 12-year study. *Epidemiology and Infection*, 138(09), 1328–1335.
89. Haley, R.W., Cushion, N.B., Tenover, F.C., Bannerman, T.L., Dryer, D. & Ross, J. (1995). Eradication of endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections from a neonatal intensive care unit. *J. Infect. Dis.* 171: 614-24.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

90. Harriot, M. & Noverr, M.C. (2011). Importance of *Candida*-bacterial polymicrobial biofilms in disease. *Trends in microbiology*.19(11) : 557-563.
91. Hassaine, H., (2008), Ecologie et lutte contre l'infection hospitalière : thèse Doctorat d'état en Biologie Moléculaire et Cellulaire option Microbiologie. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 160p.
92. Hetrick, E.M. & Schoenfisch, M.H. (2006). Reducing implant-related infections: active release strategies. *Chem. Soc. Rev.* 35: 780-9.
93. Heyland, D. K., Cook, D. J., Griffith, L., Keenan, S.P. & Brun-Buisson, C. (1999). The Canadian Critical Care Trials Group The attributable morbidity and mortality of ventilator-associated pneumonia in the critically ill patient. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 159: 1249-56.
94. Holmes, A.R., Van der Wieien, P., Cannon, R.D., Ruske, D., Dawes, P. (2006). *Candida albicans* binds to saliva proteins selectively adsorbed to silicone. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*,102: 488–494.
95. Hot, A., Mittaine, B. & Dupont, B. (2007). Infections fongiques invasives du grand prématuré. *J. Mycol. Med.* 17: 33-41.<https://doi.org/10.3390/bioengineering11070636>  
<https://doi.org/10.1128/AEM.68.12.6172-6181.2002>
96. Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M.A., Hussain, T., Ali, M., Rafiq, M. & Kamil, M.A. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *J. Chin. Med. Assoc.*81: 7–11.
97. Jin, Y.Y.H.K., Yip, H.K., Samaranayake, Y.H., Yau, J.Y., Samaranayake, L.P. (2003). Biofilm-forming ability of *Candida albicans* is unlikely to contribute to high levels of oral yeast carriage in cases of human immunodeficiency virus infection. *Journal of clinical microbiology*. 41(7): 2961-2967.
98. Joana, P., Martins, E. T., Silva, A., & Costa de Oliveira, S. (2024). Three-Dimensional Melted Electrowriting Drug Coating Fibers for the Prevention of Device Associated Infections: A Pilot Study. *Bioengineering*. 11(7): 636.
99. Kaitwatcharachai, C. (2002). *Candida parapsilosis* peritonitis in patients on CAPD.
100. Kaur M.C., Griffin, L., Garren, M., Tharp, E., Nguyen, G., Brisbois, E.J. (2023). Antimicrobial efficacy of a nitric oxide-releasing ampicillin conjugate catheter lock solution on clinically-isolated antibiotic-resistant bacteria. *Biomater. Sci.*11: 6561-6572.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

101. Keren, I., Kaldalu, N., Spoering, A., Wang, Y.P. & Lewis, K. (2004). Persister cells and tolerance to antimicrobials. *FEMS Microbiol Lett.* 230: 13–8.
102. Kerr, J.R., Taylor, G.W., Rutman, A., Hoiby, N., Cole, P.J. & Wilson, R. (1999). *Pseudomonas aeruginosa* pyocyanin and 1-hydroxyphenazine inhibit fungal growth. *Journal of clinical pathology.* 52(5): 385-387.
103. Khatoon, Z., McTiernan, C.D., Suuronen, E.J., Mah, T.F. & Alarcon, E.I. (2018). Bacterial biofilm formation on implantable devices and approaches to its treatment and prevention. *Heliyon.* 4: e01067.
104. Khosravi, Rad, K., Falahati, M., Roudbary, M., Farahyar, S. & Nami, S. (2016). Overexpression of *MDR-1* and *CDR-2* genes in fluconazole resistance of *Candida albicans* isolated from patients with vulvovaginal candidiasis. *Curr. Med. Mycol.* 2(4): 24-29. doi: 10.18869/acadpub.cmm.2.4.24.
105. Ko, K.S., Lee, J.Y., Song, J.H. & Peck, K.R. (2010). *In-vitro* Evaluation of Antibiotic Loc Technique for the Treatment of *Candida albicans*, *C. glabrata*, and *C. tropicalis* Biofilms. *Infectious Diseases, Microbiology & Parasitology, J. Korean. Med. Sci.* 25: 1722-1726.
106. Korea, C.G., Ghigo, J.M. & Beloin, C. (2011). The sweet connection: solving the riddle of multiple sugar-binding fimbrial adhesins in *Escherichia coli*. Multiple *E. coli* fimbriae form a versatile arsenal of sugar-binding lectins potentially involved in surface-colonisation and tissue tropism. *Bioessays*, 33 : 300-11.
107. Kranjec, C., Morales Angeles, D., Torrissen Mårli, M., Fernández, L., García, P., Kjos, M., et al. (2021). Staphylococcal biofilms: Challenges and novel therapeutic perspectives. *Antibiotics* (Basel) 10 (2): 131. Doi: 10.3390/antibiotics10020131
108. Kuhn, D.M., Chandra, J., Mukherjee, P.K. & Ghannoum, M.A. (2002). Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces. *Infection and immunity.* 70(2): 878-888.
109. Kumar, B., Sharma, D., Sharma, P., Katoch, V. M., Venkatesan, K., and Bisht, D. (2013). Proteomic analysis of mycobacterium tuberculosis isolates resistant to kanamycin and amikacin. *J. Proteomics.* 94: 68–77. Doi: 10.1016/j.jprot.2013.08.025
110. Kurlenda, J. & Grinholc, M. (2012). Alternative therapies in *Staphylococcus aureus* diseases. *The Journal of the Polish Biochemical Society and of the Committee of Biochemistry and Biophysics Polish Academy of Sciences.* 59: 2.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

111. Lagha, N., Abdelouahid, D.E., Hassaine, H., Bakour, H. & Iabadene, H. (2015). Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de doctorat en biologie. Université de Tlemcen.
112. Landini, P., Antoniani, D., Burgess, J.G. & Nijland, R. (2010). Molecular mechanisms of compounds affecting bacterial biofilm formation and dispersal. *Appl. Microbiol. Biotechnol*, 86: 813-23.
113. Larpent, J. & Larpent, M. (1990). Mémento technique de microbiologie. *Second Ed technique et documentaire Lavoisier*. 417-420.
114. Laupland, K. B., Church, D. L., Mucenski, M., Sutherland, L. R. & Davies, D. (2003). Population-Based Study of the Epidemiology of and the Risk Factors for Invasive *Staphylococcus aureus* Infections, *The Journal of Infectious Diseases*. 187(9): 1452–1459.
115. Lebeaux, D., Ghigo, J.M. & Beloin, C. (2014). Biofilm-Related Infections: Bridging the Gap between Clinical Management and Fundamental Aspects of Recalcitrance toward Antibiotics. *Microb. Mol. Biol. Rev.*, 78: 3–9.
116. Levison, M.E. & Pitsakis, P.G. (1999). Susceptibility to experimental *Candida albicans* urinary tract infection in the rat. *Journal of Infectious Diseases*, 155(5), 841-846.
117. Leyral, G. & Joffin, J.N. (1998) Microbiologie technique : 2 « Documentation technique ». 2ème édition, Bordeaux : CRDP d'Aquitaine, 299p.
118. Li, X., Yan, Z. & Xu, J. (2003). Quantitative variation of biofilms among strains in natural populations of *Candida albicans*. *Microbiology*. 149(2): 353-362.
119. Lima, R., Shams, W., Kalra, S. & Borthwick, T. (2010). *Candida glabrata* liver abscess and fungemia complicating severe calculus cholecystitis in an immunocompetent nondiabetic host. *Southern Medical Journal*. 103(3) :245-247.
120. Lolom, I., Deblangy C., Capelle A., Guerinot W., Bouvet E. & Barry B. (2009) Effect of a long-term quality improvement program on the risk of infection related to peripheral venous catheters. *Presse medicale (Paris, France: 1983)*, 38(1): 34-42.
121. Lown, L., Peters, B.M., Walraven, C.J., Noverr, M.C. & Lee, S.A. (2016). An Optimized Lock Solution Containing Micafungin, Ethanol and Doxycycline Inhibits *Candida albicans* and Mixed *C. albicans*—*Staphylococcus aureus* Biofilms. *PLoS ONE*. 11, e0159225.
122. Lu, X., Naidis, G., Laroussi, M., Reuter, S., Graves, D., and Ostrikov, K. (2016).

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Reactive species in non-equilibrium atmospheric-pressure plasmas: Generation, transport, and biological effects. *Phys. Rep.* 630: 1–84. Doi: 10.1016/j.physrep.2016.03.003.
123. Lundstrom, T. & Sobel J.D. (2001). Management of candiduria. *Management of candiduria.* 2 (4): 321-325.
124. Maki, D.G., Kluger, D.M. & Crnich, C.J. (2006). The risk of bloodstream infection in adults with different intravascular devices: a systematic review of 200 published prospective studies. *In Mayo Clin. Proc.* 81(9): 1159-1171.
125. Malinovská, Z., Čonková, E. & Váczi, P. (2023). Biofilm Formation in Medically Important *Candida* Species. *J. Fungi*, 9(10), 955.
126. Martinez, L.R., Mihu, M.R., Tar, M., Cordero, R.J., Han, G., Friedman, A.J., Friedman, J.M. Nosanchuk, J.D. (2010). Demonstration of antibiofilm and antifungal efficacy of chitosan against *Candidal*. biofilms, using an *in vivo* central venous catheter model. *J. Infect. Dis.*, 201, 1436–1440.
127. Mazur, I., Wurzer, W.J., Ehrhardt, C., Pleschka, S., Puthavathana, P., Silberzahn, T., Wolff, T. & Planz, O. (2007). Acetylsalicylic acid (ASA) blocks influenza virus propagation via its NF-kappaB-inhibiting activity. *Cell. Microbiol.* 9: 1683–1694.
128. McDougald, D., Rice, S.A., Barraud, N., Steinberg, P.D. & Kjelleberg, S. (2012). Should we stay or 170 should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal. *Nat. Rev. Microbiol.* 10 : 39–50.
129. Melo, A.S., Bizerra, F.C., Freymuller, E., Arthington-Skaggs, B.A. & Colombo, A.L. (2011). Biofilm production and evaluation of antifungal susceptibility amongst clinical *Candida spp.* isolates, including strains of the *Candida parapsilosis* complex”. *Medical Mycology.* 49 (3): 253–262.
130. Mermel, L.A., Allon, M., Bouza, E., Craven, D.E., Flynn, P., O'Grady, N., Raad, I.I., Rijnders, B., Sherertz, R.J. & Warren, D. (2009). Clinical Practice - Guidelines for the Diagnosis and Management of Intravascular Catheter-Related Infection. *Clinical Infectious Diseases.* 49 :1-45.
131. Merzougui, L., Ben Helel, K., Hanachi, H., Metjaouel, H., Brini, H., Barkallah, M., Ben Rejeb, M. & Said-Latiric, H. (2018). Facteurs de risque de l'infection nosocomiale Bactérienne au niveau d'un centre de néonatalogie du Centre Tunisien. « Étude cas-témoin » : à propos de 184 cas. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture.* 31(1) : 18-26.
132. Mimos, O., Rayeh, F., Debaene, B. (2001). Infections liées aux cathéters veineux en

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- réanimation. Physiopathologie, diagnostic, traitement et prévention. *Ann. Fr. Anesth. Réa.* 20(6) : 520-536.
133. Minces, L., Ho, K., Veldkamp, P. & Clancy, C. (2009). *Candida rugosa*: a distinctive emerging cause of candidaemia. A case report and review of the literature. *Scand. J. Infect. Dis.* 41: 892-97. Doi: 10.3109/00365540903161531.
134. Mishra, S., Gupta, A., Upadhye, V., Singh, S.C., Sinha, R.P. & Häder, D.P. (2023). Therapeutic strategies against biofilm infections. *Life.* 13: 172.
135. Mitchell, K.F., Zarnowski, R., Sanchez, H., Edward, J.A., Reinicke, E.L., Nett, J.E., Mitchell, A.P. & Andes, D.R. (2015). Community participation in biofilm matrix assembly and function. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112: 4092–4097.
136. Mohamad, F., Alzahrani, R. R., Alsaadi, A., Alrfaei, B. M., Yassin, A. E. B., Alkhulaifi, M. M., & Halwani, M. (2023). An Explorative Review on Advanced Approaches to Overcome Bacterial Resistance by Curbing Bacterial Biofilm Formation. *Infection and Drug Resistance*, 16, 19–49. <https://doi.org/10.2147/IDR.S380883>.
137. Mohamed, H.M.A., Alnasser, S.M., Abd-Elhafeez, H.H., Alotaibi, M., Batiha, G.E. & Younis, W. (2022). Detection of  $\beta$ -Lactamase resistance and biofilm genes in *Pseudomonas* species isolated from chickens. *Microorganisms.* 10: 1975.
138. Molin, S., Tolker-Nielsen, T., Hansen, S.K., Ghannoum, M. & O'Toole, G.A. (2004) Microbial interactions in mixed-species biofilms. *Microbial biofilms.* 206-221.
139. Monds R.D., O'Toole G.A. (2008) The developmental model of microbial bifilms: ten years of a paradigm up for review. *Trends in Microbiology.* 17(2): 73 - 87. *MRS Bull*, 36 : 347–355.
140. Muller, E., Al-Attar, J., Wolff, A.G. & Farber, B.F. (1998). Mechanism of salicylate-mediated inhibition of biofilm in *Staphylococcus epidermidis*. *J. Infect. Dis.* 177: 501-3.
141. Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., Tenover, R.H. (2003). Manual of Clinical Microbiology, *eighth ed.* ASM Press, Washington DC. Vol.2: 2322.
142. Nett, J., Lincoln, L., Marchillo, K., Massey, R., Holoyda, K., Hoff, B., VanHandel, M. & Andes, D. (2009). Putative role of  $\beta$ -1,3 glucans in *Candida albicans* biofilm resistance. *Antimicrob. Agents Chemother.* 51: 510–520.
143. Nicolle, L. E. (2014). Catheter associated urinary tract infections. *Antimicrobial resistance and infection control.* 3(1): 1.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

144. Nieminen, M.T., Novak-Frazer, L. & Rautemaa, V. (2014). A novel antifungal is active against *Candida albicans* biofilms and inhibits mutagenic acetaldehyde production *in-vitro*". *PLoS ONE.*, vol. 9, no. 5, Article ID e97864. Doi: 10.1371/journal.pone.0101859.
145. O'Grady, N.P., Alexander, M. & Burns, L.A. (2011). the Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guidelines for the prevention of intravascular catheter related infections, *Clin. Infect. Dis.* 52: e162-93.
146. O'Grady, N.P., Alexander, M. & Dellinger E. (2002). Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR. Recomm. Rep.* 51(10): 1-29.
147. Odds, C.F. & Bernaerts, R. (1994). CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *Journal of clinical microbiology.* 32 (8) : 1923-1929
148. Oie, Y., Nozaki, T., Takayanagi, H., Hara, S., Hayashi, R., Takeda, S., Mori, K...&Nishida, K. (2014). Development of a Cell Sheet Transportation Technique for Regenerative Medicine. *Tissue Engineering Part C: Methods.* Vol. 20: 5. Doi: 10.1089/ten.tec.2013.0266
149. Oncu, S. (2011). *In-vitro* effectiveness of antifungal lock solutions on catheters infected with *Candida* species. *J Infect Chemother*, 17: 634.–639.
150. Otto, M. (2012). Molecular basis of *Staphylococcus epidermidis* infections. *Seminars in Immunopathology.* 34(2): 201-214.
151. Oubihi, B. (2015). Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation. *Thèse de Doctorat.* Université Cadi Ayyad-Marrakech.
- Overcome Bacterial Resistance by Curbing Bacterial Biofilm Formation. *Infection and*
152. Öztürk, F.Y., Darcan, C. & Kariptaş, E. (2023). The determination, monitoring, molecular mechanisms and formation of biofilm in *E. coli*. *Braz. J. Microbiol.* 54: 259–277.
153. Patange, A., Lu, P., Boehm, D., Cullen, P. J., and Bourke, P. (2019). Efficacy of cold plasma functionalised water for improving microbiological safety of fresh produce and wash water recycling. *Food Microbiol.* 84: 103226. Doi: 10.1016/j.fm.2019.05.010
154. Pathak, A.K., Sharma, S. & Shrivastva, P. (2012). Multi-species biofilm of *Candida albicans* and non-*Candida albicans* *Candida* species on acrylic substrate. *J. Appl. Oral Sci.* 20: 70–75.
155. Petraitiene, R., Petraitis, V., Zaw, M.H. Hussain, K.; Ricart Arbona, R.J.; Roilides, E.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- & Walsh, T.J. (2024). Combination of Systemic and Lock-Therapies with Micafungin Eradicate Catheter-Based Biofilms and Infections Caused by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* in Neutropenic Rabbit Models. *J. Fungi*. 10: 293. <https://doi.org/10.3390/jof10040293>
156. Pfaller, M., Diekema, D. & Gibbs, D. (2007). Results from the ARTEMIS DISK global antifungal surveillance study, 1997 to 2005: an 8.5-year analysis of susceptibilities of *Candida* species and other yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. *J. Clin. Microbiol.* 45: 1735-45. Doi: 10.1128/JCM.00409-07.
157. Pfaller, M.A., Houston, A. & Coffmann, S. (1996). Application of CHROMagar *Candida* for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida (Torulopsis) glabrata*. *J. Clin. Microbiol.* 34. <https://doi.org/10.1128/jcm.34.1.58-61.1996>.
158. Pierce, C.G., Uppuluri, P., Tristan, A.R., Wormley Jr., F.L., Mowat, E., Ramage, G. & Lopez-Ribot, J.L. (2008). A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nat. Protoc.*, 3, 1494–1500.
159. Pierrat, X., Wong, J.P.H., Al-Mayyah, Z. & Persat, A. (2021). The mammalian membrane microenvironment regulates the sequential attachment of bacteria to host cells. *mBio*. 12, e0139221.
160. Pietrocola, G., Campoccia, D., Motta, C., Montanaro, L., Arciola, C. R., and Speziale, P. (2022). Colonization and infection of indwelling medical devices by *Staphylococcus aureus* with an emphasis on orthopedic implants. *Int. J. Mol. Sci.* 23 (11), 5958. doi: 10.3390/ijms23115958.
161. Pittiruti, M., Bertoglio, S. & Scoppettuolo, G. (2016). Evidence-based criteria for the choice and the clinical use of the most appropriate lock solutions for central venous catheters (excluding dialysis catheters): a GAVeCeLT consensus. **J. Vasc. Access**, 17(6): 453–464.
162. Pitout, J.D. & Laupland, K.B. (2008). Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: An emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*, 8, p:159-66.
163. Pokharel, K., Dawadi, B.R. & Shrestha, L.B. (2022). Role of biofilm in bacterial infection and antimicrobial resistance. *JNMA J. Nepal. Med. Assoc.* 60: 836–840.
164. Poulain, D. (2013) *Candida albicans*, plasticité et pathogénie. *Revue Francophone des*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Laboratoires.* (450) : 37-46.
165. Prasad, R., Banerjee, A., Khandelwal, N.K. & Dhamgaye, S. (2015). The ABCs of *Candida albicans* multidrug transporter CDR1. *Eukaryot. Cell.* 14: 1154–1164.
166. Prescott, L. M., Harley, J.P. & Klein, D.A. (2002). Microbiology. 5th Edition. *McGraw-Hill.* London, P. 963-971.
167. Quinet, B. (2006). Abord veineux de longue durée : épidémiologie, diagnostic, prévention et traitement des complications infectieuses. *Archives de pédiatrie.* 13(6), 718-720.
168. Raad, I., Hachema, R.Y., Hannaa, H. A., Fanga, X., Jianga, Y., Dvoraka, T., Sherertz R. J., Kontoyiannis D. P. (2008). Role of ethylene diamine tetra-acetic acid (EDTA) in catheter lock solutions: EDTA enhances the antifungal activity of amphotericin B lipid complex against *Candida* embedded in biofilm. *International Journal of Antimicrobial Agents* 32 : 515–518.
169. Raad, I., Hanna, H., Dvorak, T., Chaiban, G. & Hachem, R. (2007). Optimal antimicrobial catheter lock solution, using different combinations of minocycline, EDTA, and 25- percent ethanol, rapidly eradicates organisms embedded in biofilm. *Antimicrob Agents Chemother.* 1: 78-83. Doi: 10.1128/AAC.00154-06.
170. Raad, I.I. & Bodey, G.P. (1992). Infectious complications of indwelling vascular catheters. *Clin. Infect. Dis.* P. 197-208.
171. Ramage, G., Walle, K.V., Wickes, B.L. & Lopez-Ribot, J.L. (2001). Characteristics of biofilm formation by *Candida albicans*. *Revista iberoamericana de micología.* 18(4): 163-170.
172. Ramage, G., Wickes, B. & Lopez-Ribot, J. (2007). Inhibition on *Candida albicans* biofilm formation using divalent cation chelators (EDTA). *Mycopathologia,* 164 :301-6.
173. Ramstedt, M. & Burmølle, M. (2022). Can multi-species biofilms defeat antimicrobial surfaces on medical device? *Current opinion in biomedical engineering,* Vol 22, 100370. *Réanimation.* 17 : 251-258.
174. Renner, L.D. & Weibel, D.B. (2011). Physicochemical regulation of biofilm formation. *MRS Bull,* 36 : 347–355.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

175. Ribeiro, S.M., Felício, M.R., Boas, E.V., Gonçalves, S., Costa, F.F., Samy, R.P., Santos, N.C. & Franco, O.L. (2016). New frontiers for anti-biofilm drug development. *Pharmacol. Ther.*, 160: 133-144. doi: 10.1016/j.pharmthera.2016.02.006.
176. Ricardo, S.I.C., Anjos, I.L., Monge, N., Faustino, M.C., Ribeiro I.A.C. (2020). A Glance at Antimicrobial Strategies to Prevent Catheter-Associated Medical Infections. *ACS Infectious Diseases*. 6 (12).
177. Rodrigues, M. E., Gomes, F. & Rodrigues, C. F. (2019). *Candida spp./Bacteria Mixed Biofilms*. *Journal of fungi*, 6(1): 5. doi: 10.3390/jof6010005.
178. Romano, J.D. & Kolter, R. (2005). *Pseudomonas–Saccharomyces* interactions: influence of fungal metabolism on bacterial physiology and survival. *Journal of Bacteriology*, 187: 940–948.
179. Ruan, F. & Pohl, H.C. (2019). Beyond Antagonism: The Interaction Between *Candida* Species and *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of fungi*. 5 (34) :18. <https://doi.org/10.3390/jof5020034>.
180. Rüdgel, D. O. T., Schlattmann, P., Pletz, M., Kurzai, O. & Bloos, F. (2022). Risk Factors for Invasive *Candida* Infection in Critically Ill Patients: A Systematic Review and Meta-analysis, *CHEST*. 161(2): 345-355.
181. Safdar, N., Kluger, D.M. & Maki, D.G. (2002). A review of risk factors for catheter-related bloodstream infection caused by percutaneously inserted, noncuffed central venous catheters: implications for preventive strategies. *Med*. 81(6): 466-479.
182. Sánchez-Vargas, L.O., Estrada-Barraza, D., Pozos-Guillen, A.J., Rivas-Caceres, R. (2013). Biofilm formation by oral clinical isolates of *Candida* species. *Archives of oral biology*. 58(10): 1318-1326.
183. Satish, S., James, M., Supriya, D.M., Schwartz, S.A., Bruggemann, L. & Ravikumar, A. (2023). Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. *Microorganisms*, 11(6):1614.
184. Sauer, K., Stoodley, P., Goeres, D. M., Hall-Stoodley, L., Burmølle, M., Stewart, P. S., & Bjarnsholt, T. (2022). The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. *Nature Reviews Microbiology*, 20(10), 608-620.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

185. Seabra, R. & Bhogal, N. (2009). Hospital infections, animal models and alternatives. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 28 : 561–568. <https://doi.org/10.1007/s10096-008-0680-6>.
186. Seddiki, S.M.L. (2014). Evaluation de la formation des biofilms de *Candida* sp. isolée des dispositifs médicaux au CHU de Sidi Bel Abes. Thèse de doctorat en biologie. Université de Tlemcen.
187. Seghir, A., Boucherit-Otmani, Z., Belkherroubi-Sari, L. & 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) : 179- e184.
188. Seghir, A., Boucherit-Otmani, Z., Belkherroubi-Sari, L. & Boucherit, K. (2017). Risque infectieux lié à la formation des biofilms multi-espèces (*Candida* – bactéries) sur cathéters vasculaires périphériques. *Journal of Medical Mycology*. 27(1) : 20-27.
189. Sen, B. H., Güniz, A. & Akin, A.D. (2000). The effect of ethylenediamine-tetraacetic acid on *Candida albicans*. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 90 (5): 651-655.
190. Seneviratne, C.J., Jin, L. & Samaranayake, L.P. (2008). Biofilm lifestyle of *Candida*: A mini review. *Oral Dis*. 14: 582–590.
191. Serra, D.O. & Klauck, G. (2015). Hengge Vertical stratification of matrix production is essential for physical integrity and architecture of macrocolony biofilms of *Escherichia coli*. *Environ. Microbiol.* 17: 5073-5088. Doi: 10.1111/1462-2920.12991
192. Serrano-Fujarte, I., López-Romero, E., Reyna-López, G.E., Martínez-Gámez, M. A., Vega-González, A. & Cuéllar-Cruz, M. (2015). Influence of Culture Media on Biofilm Formation by *Candida* Species and Response of Sessile Cells to Antifungals and Oxidative Stress. *BioMed Research International*. Doi: 10.1155/2015/783639.
193. Seukep, A.J., Mbuntcha, H.G., Kuete, V., Chu, Y., Fan, E. & Guo, M.Q. (2022). What approaches to thwart bacterial efflux pumps-mediated resistance? *Antibiotics*. 11, 1287.
194. Shanks, R., Sargent, J., Martinez, R., Graber, M. & O'Toole, G. (2006). Catheter lock solutions influence staphylococcal biofilm formation on abiotic surfaces. *Nephrol Dial Transpl.* 21: 2247–55.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

195. Shen, D., Langenheder, S., Jürgens, K. (2018). Dispersal modifies the diversity and composition of active bacterial communities in response to a salinity disturbance. *Front. Microbiol.* 9: 2188.
196. Sheng, Y., Chen, Z., Wu, W. & Lu, Y. (2023). Engineered organic nanoparticles to combat biofilms. *Drug Discov. Today.* 28: 103455.
197. Shin, J. H., Kee, S.J. & Shin, M.G. (2002). “Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources,” *Journal of Clinical Microbiology.* 40 (4): 1244–1248.
198. Shirliff, M.E., Peters, B.M. & Jabra-Rizk, M. A. (2009). Cross-kingdom interactions: *Candida albicans* and bacteria. *FEMS Microbiol Lett.*, 299: 1-8. doi: 10.1111/j.1574- 6968.2009.01668. x
199. Shoham, S. (2011). Invasive Candidiasis in Patients with Implants. *Current Fungal Infection Reports.* 5 (1): 12–17.
200. Shree, P., Kant, C., Kushne, S. Sodhi, K., Niranjane, J.S., & Singh, K.D. (2023). Biofilms: Understanding the structure and contribution towards bacterial resistance in antibiotics, *Medicine in Microecology.* Vol 16, 100084, ISSN 2590-0978.
201. Signorino, C., Fusco, E., Galli, L. & Chiappini, E. (2023). Effectiveness of Antimicrobial Lock Therapy for the Treatment of Catheter-Related and Central-Line- Associated Bloodstream Infections in Children: A Single Center Retrospective Study. *Antibiotics.* 12: 800. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12050800>.
202. Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D. & Azeredo, J. (2012). *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: Biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* 36: 288–305.
203. Silva, S., Rodrigues, C.F., Araújo, D., Rodrigues, M.E. & Henriques, M. (2017). Species Biofilms’ Antifungal Resistance. *Journal of fungi.* 3:8.
204. Singh, S., Datta, S., Narayanan, K.B. & Rajnish, K.N. (2021). Bacterial exopolysaccharides in biofilms: Role in antimicrobial resistance and treatments. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 19: 140.
205. Sodhi, K.K. & Singh, C.K. (2022). Recent development in the sustainable remediation of antibiotics. *Total Environment Research Themes*, vol 1000.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

206. Solano, C., Echeverz, M., & Lasa, I. (2014). Biofilm dispersion and quorum sensing.
207. Soliman, S.S.M., Semreen, M.H., El-Keblawy, A.A., Abdullah, A., Uppuluri, P. & Ibrahim, A.S. (2017). Assessment of herbal drugs for promising anti-*Candida* activity. *BMC Complement. Altern. Med.* 17: 257.
208. Stepanovic, S., Vukovic, D., Jesic, M. & Ranin, L. (2004). Influence of acetylsalicylic acid (aspirin) on biofilm production by *Candida* species. *J. Chemother.* 16(2) :134–138. doi:10.1179/joc.2004.16.2.134
209. Stephan, F., Bah, M.S., Desterke, C., Rezaiguia-Delclaux, S., Foulet, F., Duvaldestin, P. & Bretagne, S. (2002). Molecular diversity and routes of colonization of *Candida albicans* in a surgical intensive care unit, as studied using microsatellite markers. *Clinical Infectious Diseases.* 35: 1477–1483.
210. Stoica, P., Chifiriuc, M.C., Rapa, M. & Lazăr, V. (2017). Overview of biofilm-related problems in medical devices. In *Biofilms and Implantable Medical Devices*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands. P. 3–23.
211. Sutherland, I.W. (2001). The biofilm matrix—an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends in microbiology.* 9(5): 222-227.
212. Tan, Y., Leonhard, M., Moser, D., Ma, S. & Schneider-Stickler, B. (2016). Long-term antibiofilm activity of carboxymethyl chitosan on mixed biofilm on silicone. *Laryngoscope.* 126: E404–E408.
213. Tati, S., Davidow, P., McCall, A., Hwang-Wong, E., Rojas, I.G., Cormack, B. & Edgerton, M. (2016). *Candida glabrata* binding to *Candida albicans* Hyphae Enables Its Development in Oropharyngeal Candidiasis. *PLoS. Pathog.* 12(3): e1005522.
214. Tenke, P., Mezei, T., Böde, I. & Köves, B. (2017). Centers for Disease Control and Prevention, Catheter-Associated Urinary Tract Infections. *Eur. Urol. Suppl.* 16: 138–143.
215. Thakre, R., Bankar, N., Tiwade, Y. & Mishra, V. (2024). The battle against biofilms: understanding the impact on medical devices and patient health. *Reviews and Research in Medical Microbiology.* DOI:10.1097/MRM.0000000000000404.
216. Tian, C., Yuan, M., Tao, Q., Xu, T., Liu, J., Huang, Z., Wu, Q., Pan, Y., Zhao, Y. & Zhang, Z. (2023). Discovery of novel resistance mechanisms of *Vibrio*

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- parahaemolyticus biofilm against aminoglycoside antibiotics. *Antibiotics*. 12: 638.
217. Tiller, J.C., Liao, C.J., Lewis, K. & Klibanov, A.M. (2001). Designing surfaces that kill bacteria on contact. *Proc Natl Acad Sci*. 98: 5981-5.
218. Timsit, JF., Dubois, Y. & Minet, C. (2011). New materials and devices for preventing catheter-related infections. *Ann. Intensive Care*. 1: 34. <https://doi.org/10.1186/2110-5820-1-34>.
219. Timsit, S., Pannier, S., Glorion, C. & Chéron, G. (2005). Infections bactériennes ostéoarticulaires du nourrisson et de l'enfant : expérience sur un an. *Archives de Pédiatrie*, 12 (1) :16-22.
220. Tornero-Gutiérrez, F., Ortiz-Ramírez, J., López-Romero, E., Cuéllar-Cruz, M. (2023). Materials used to prevent adhesion, growth, and biofilm formation of *Candida* species, *Medical Mycology*, Volume 61, Issue 7.
221. Toubas, D. (2013) Epidémiologie des candidoses invasives. *Revue Francophone des Laboratoires*. (450) : 27-36.
222. Tournu, H. & Van Dijck, P. (2012). *Candida* Biofilms and the Host: Models and New Concepts for Eradication. *International Journal of Microbiology*. Doi: 10.1155/2012/845352.
223. Trofa, D., Gácsér, A. & Nosanchuk, J.D. (2008). *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.* 21: 606–625.
224. Tumbarello, M., Fiori, B., Treccarichi, E.M., Posteraro, P., Losito, A.R., De Luca, A... & Posteraro, B. (2012). Risk factors and outcomes of candidemia caused by biofilm-forming isolates in a tertiary care hospital. *PLoS One*. 7(3): e33705.
225. Valentín, A., Cantón, E., Pemán, J. & Quindós, G. (2007). *In-vitro* activity of amphotericin B and anidulafungin against *Candida spp.* biofilms. *Revista Iberoamericana de Micología*. 24(4): 272-277.
226. Vandana et Das, S. (2021). Structural and mechanical characterization of biofilm-associated bacterial polymer in the emulsification of petroleum hydrocarbon. *3 Biotech*. 11: 239. <https://doi.org/10.1007/s13205-021-02795-8>.
227. Varela, M.F., Ortiz-Alegria, A., Lekshmi, M., Stephen, J. & Kumar, S. (2023). Functional Roles of the Conserved Amino Acid Sequence Motif C, the Antiporter Motif, in Membrane Transporters of the Major Facilitator Superfamily. *Biology*. 12: 1336. <https://doi.org/10.3390/biology12101336>.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

228. Ventura, M., Jankovic, I., Walker, D.C., Pridmore, R.D. & Zink, R. (2002). Identification and Characterization of Novel Surface Proteins in *Lactobacillus johnsonii* and *Lactobacillus gasseri*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68.
229. Villar-Vidal, M., Marcos-Aria, C., Eraso, E. & Quindós, G. (2011). Variation in biofilm formation among blood and oral isolates of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 29(9) : 660-665.
230. Visek, J., Ryskova, L., Safranek, R., Lasticova, M. & Blaha, V. (2019). *In vitro* comparison of efficacy of catheter locks in the treatment of catheter related blood stream infection. *Clin. Nutr.* 30: 107–112.
231. Wang, A., Athan, E., Pappas, P.A., Fowler, V.G., Jr., Olaison, L., Pare, C., Almirante, B., Munoz, P., Rizzi, M. & Naber, C. (2007). Contemporary clinical profile and outcome of prosthetic valve endocarditis. *JAMA.* 297: 1354–1361.
232. Wang, D., Fletcher, G.C., On, S.L.W., Palmer, J.S., Gagic, D. & Flint, S.H. (2023). Biofilm formation, sodium hypochlorite susceptibility and genetic diversity of *Vibrio parahaemolyticus*. *Int. J. Food Microbiol.* 385: 110011.
233. Wang, W., Wong, W., Dailidience, D., Berg, D., Gu, Q., Lai, K., Lam, S. & Wong, B. (2003). Aspirin inhibits the growth of *Helicobacter pylori* and enhances its susceptibility to antimicrobial agents. *Gut.* 52: 490–495.
234. Wang, Y., Bian, Z. & Wang, Y. (2022). Biofilm formation and inhibition mediated by bacterial quorum sensing. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 106: 6365–6381.
235. Wenzel, R.P. & Gennings C. (2005). Bloodstream infections due to *Candida* species in the intensive care unit: identifying especially high-risk patients to determine prevention strategies. *Clin. infect. Dis.* 41(6): 389-393.
236. Wille, J. & Coenye, T. (2020). Biofilm dispersion: The key to biofilm eradication or opening Pandora’s box? *Biofilm.* 2: 100027.
237. Williams, P., Cámara, M. (2009) Quorum sensing and environmental adaptation in *Pseudomonas aeruginosa*: a tale of regulatory networks and multifunctional signal molecules. *Current opinion in microbiology.* 12(2): 182-191.
238. Wimpenny, J., Manz, W., Szewzyk, U. (2000). Heterogeneity in biofilms.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- FEMS Microbiology Reviews*. 24(5): 661-671. doi: 10.1111/j.1574- 6976. 2000. tb00565.x
239. Yan, J., Moreau, A., Khodaparast, S., Perazzo, A., Feng, J., Fei, C., Mao, S., Mukherjee, S., Košmrlj, A. & Wingreen, N.S. (2018). Bacterial biofilm material properties enable removal and transfer by capillary peeling. *Adv. Mater.* 30: e1804153.
240. Yang, L., Liu, Y. & Wu, H. (2011). Combating biofilms. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 46.
241. Zhao, A., Sun, J. & Liu, Y. (2023). Understanding bacterial biofilms: From definition to treatment strategies. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*13:1137947. Doi:10.3389/fcimb.2023.1137947
242. Zrelavs, N., Kurbatska, V., Rudevica, Z., Leonchiks, A. & Fridman, D. (2021). Sorting out the superbugs: potential of sortase A inhibitors among other antimicrobial strategies to tackle the problem of antibiotic. *Resistance Antibiotics.*10 (2):164.

---

---

# Annexes

---

---

**Annexe 1 :**

**Fiche de renseignement des patients**

---

**Informations personnelles**

---

Sexe :  Homme  Femme

Age : .....

Pathologie (s) : .....

Pathologie (s) sous-jacente : .....

Traitement (s) : .....

.....

Durée d'hospitalisation : .....

---

**Informations sur le prélèvement**

---

N° de prélèvement : .....

Date de prélèvement : .....

Service : .....

Type de dispositif médical : .....

Durée de Mise en place (DM) : .....

Signes locaux et généraux : .....

.....

**Annexe n°2 : Tableau récapitulatif des Fiches de renseignement des patients**

<b>Date de prélèvement</b>	<b>Service</b>	<b>N° Prélèvement</b>	<b>Type de Dispositif</b>	<b>Sexe, âge</b>	<b>Pathologie</b>	<b>Traitements</b>	<b>Signes Locaux et généraux</b>	<b>Mise en place</b>	<b>Durée d'hospitalisation</b>
25/11/14	Reanimation	01	SV	H, 31ans	Pneumopathie, myopathie, trachéoautomatisé, apyrétique	SATB	RAS	03jours	16 mois
30/11/14	Reanimation	02	SV	H, 15ans	Pancréatite chronique	SATB	RAS	07 jours	55 jours
30/11/14	Reanimation	03	SV	H, 03mois	Etat de mal convulsive.	Claforan+ Ampicilline	RAS	07 jours	10 jours
30/11/14	Reanimation	04	SV	H, 47ans	Traumatisme crânien (OTR)	SATB	RAS	07 jours	30 jours
30/11/14	Reanimation	05	SV	H, 72ans	Asthmatique	Vancomycine	RAS	07 jours	20 jours
30/11/14	Reanimation	06	SV	H, 55ans	Pneumopathie	SATB	RAS	07 jours	90jours
10/12/14	Neurologie médicale	07	KT	H, 72ans	Leucémie lymphoïde chronique, hypertendue	Endoxan, Oncovin,	RAS	03 jours	03 jours
14/12/14	Neurologie médicale	08	KT	F, 44ans	Accident vasculaire cérébral ischémique (AVCI)	SATB	Gonflement, Douleurs	03 jours	03jours

14/12/14	Neurologie médicale	09	KT	H, 55ans	AVCI	SATB	RAS	10 jours	10 jours
14/12/14	Neurologie médicale	10	KT	H, 81ans	Accident vasculaire cérébral hémorragique (AVCH)	Cefacidal	Gonflement, retour du sang	02jours	08jours
14/12/14	Neurologie médicale	11	KT	H, 55ans	AVCI	Céfacidal	douleur	03jours	08jours
14/12/14	Neurologie médicale	12	KT	F ,74ans	Polyglobuline Trombocytose Hyperleucocytose	Calforan	RAS	08jours	08jours
14/12/14	Reanimation	13	SV	H, 15ans	pancréatite chronique calcifiante (PCC)	SATB	RAS	10jours	70jours
14/12/14	Reanimation	14	SV	H, 47ans	OTR Cranien	SATB	RAS	15jours	43jours
14/12/14	Reanimation	15	SV	H, 30ans	OTR Cranien.	Ciprolon	RAS	12jours	12jours
15/12/14	Neurologie Médicale	16	SV	H, 81ans	AVCH	Céfacidal	Inflammation	03jours	10jours
15/12/14	Neurologie Médicale	17	KT	H, 74ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	04jours	08jours
15/12/14		17'	SV					08jours	
15/12/14	Reanimation	18	KT	F, 78ans	Arrêt cardiaque	Ciprolon	RAS	48h	3jours
15/12/14		18''	KT						
15/12/14	Reanimation	19	C.V.C	H, 55ans	Pneumopathie, problème neurologique,	Vancomycine	RAS	15jours	3mois

16/12/14	Neurologie Médicale	20	KT	H, 89ans	HTA ischémique récidivant (2 <sup>ème</sup> fois)	Ciprolon,	RAS	03jours	10jours
16/12/14	Neurologie Médicale	21	KT	F, 44ans	AVC	SATB	Gonflement Douleur Rougeur	2jours	05jours
21/12/14	Neurologie Médicale	22	KT	F, 28ans	AVC	Amoxicilline	Inflammation.	04jours	13jours
21/12/14	Reanimation	23	SV	H, 47ans	OTR Cranien,	SATB	RAS	07jours	50jours
21/12/14	Reanimation	24	SV	H, 15ans	PCC	SATB	RAS	07jours	05/10/14
21/12/14	Reanimation	25	SV	H, 30ans	OTR Cranien,	Ciprolon,	RAS	07jours	19jours
22/12/14	Neurologie Médicale	26	KT	H, 89ans	AVCI récidivante,	Ciprolon,	RAS	03jours	16jours
22/12/14	Neurologie Médicale	27	KT	F, 56ans	Myopathie	Amoxicilline	RAS	03jours	07jours
22/12/14	Chirurgie- ortho-traumatologie	28	KT	H, 50ans	Fracture du genou, cancéreux, porteur d'une prothèse fémorale	SATB	Inflammation	04jours	04jours
04/01/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	29	K. T	H, 28ans	Main traumatique (Présence d'une gangrène)	Céfacidal	Gonflement	04jours	(12jours)
04/01/15	Neurologie Médicale	30	K. T	H, 46ans	En cours de diagnostic	Céfacidal	Rougeur	05jours	05jours

04/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	31	KT	H, 78ans	Fracture du col fémoral gauche, portant une prothèse de moore	Claforan	Inflammation	07jours	08/12/14
04/01/15	Neurologie Médicale	32	KT	H, 55ans	Sclérose en plaque	SATB	RAS	10jours	24/12/14
04/01/15	Reanimation	33	SV	H, 72ans	Asthme.	Fortum Vancomycine	RAS	07jours	11/11/14
04/01/15	Reanimation	34	SV	H, 15ans	PCC	Gardenal, Aldonet	RAS	07 jours	05/01/14
04/01/15	Neurologie Médicale	35	KT	F, 56ans	Myopathie	Amoxicillin Zoloft	RAS	04jours	15/12/14
04/01/15	Neurologie Médicale	36	KT	F, 29ans	Thrombose veineuse profonde (TVC)	Amoxicilline	RAS	03jours	23/12/14
04/01/15	Neurologie Médicale	37	KT	H, 72ans	-	-	RAS	04jours	01/01/15
04/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	38	KT	H, 45ans	Pied traumatique.	Céfacidal, Claforan, Flagyl	RAS	03jours	28/12/14
04/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	39	KT	H, 54ans	Fracture d'humérus, présence du Glaucome.	Céfacidal	Inflammation	04jours	25/12/14
04/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	40	KT	H, 90ans	Fracture pertronchantérienne.	Céfacidal	RAS	06jours	15jours
04/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	41	SV	H, 39ans	Fracture fémorale	Claforan	RAS	15jours	15jours
06/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	42	KT	F, 82ans	Fracture de la jambe.	Claforan	RAS	03jours	30/12/14

06/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	43	KT	F, 80ans	Dermohypodermite bactérienne (DH)	Céfacidal	RAS	07jours	30/12/14
06/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	44	KT	F, 66ans	Fracture de pied	SATB	RAS	07jours	17jours
11/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	45	KT	F, 71ans	Fracture de la rotule	SATB	RAS	04jours	15jours
12/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	46	KT	H, 37ans	Fracture de radius	Céfacidal	RAS	03jours	09/01/15
12/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	47	KT	H, 24ans	Fracture de la diaphyse fémorale	Céfacidal	RAS	03jours	09/01/15
12/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	48	KT	H, 75ans	Fracture du col fémoral	SATB	RAS	03jours	20jours
12/01/15	Neurologie Médicale	49	KT	H, 73ans	AVC Hémorragique	Amoxicilline	RAS	04jours	08jours
12/01/15	Neurologie Médicale	50	KT	F, 83ans	AVC Ischémique	Amoxicilline	RAS	05jours	11jours
12/01/15	Neurologie Médicale	51	KT	F, 38ans	Myasthénie	Céfacidal	RAS	02jours	04jours
12/01/15	Neurologie Médicale	52	KT	H, 56ans	AVC Hémorragiqu	Amoxicilline	RAS	05jours	29/12/14
12/01/15	Reanimation	53	SV	H, 31ans	IMC, pneumopathie, myopathie	SATB	RAS	07jours	05/06/13
12/01/15	Reanimation	54	SV	H, 15ans	PCC	Gardenal Aldonet	RAS	07jours	05/01/14
18/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	55	KT	H, 28ans	Main traumatique (Gangrène)	Claforan	RAS	04jours	26jours
18/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	56	KT	H, 19ans	-	Céfacidal	RAS	03jours	15/01/15

18/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	57	KT	H, 50ans	Fracture de cheville	Céfacidal	RAS	03jours	07/01/15
18/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	58	KT	H, 26ans	Fracture de l'omoplate.	SATB	RAS	03jours	15/01/15
18/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	59	KT	H, 44ans	Plaque cassée, crises épileptiques.	Cefizox	RAS	04jours	08/01/15
18/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	60	KT	H, 51ans	Fracture du Calcaneum	Céfacidal	RAS	05jours	31/12/14
18/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	61	KT	H, 26ans	Fracture de l'humérus et de poignet.	Céfacidal	RAS	03jours	05/01/15
21/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	62	KT	H, 26ans	Fracture de cheville	Céfacidal	RAS	03jours	17/01/15
21/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	63	Vis	H, 60ans	Ablation de matériel orthopédique vis bimalléolaire de jambe.	SATB	RAS	10 ans	-
21/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	64	Prothèse de Moore	H, 58ans	Ablation de matériel orthopédique prothèse de Moore.	SATB	RAS	03 mois	-
21/01/15	Reanimation	65	SV	H, 23ans	OTR cranien	Ciprolon	RAS	10jours	11/01/15
21/01/15	Reanimation	65'	CVC	H, 23ans	OTR cranien	Ciprolon	RAS	10jours	11/01/15
21/01/15	Reanimation	66	SV	H, 47ans	OTR cranien	SATB	RAS	07jours	11/01/14
21/01/15	Reanimation	67	SV	H, 34ans	OTR cranien	Ciprolon Céfizox	RAS	06jours	15/01/15

21/01/15	Reanimation	68	SV	H, 60ans	(Infarctus du myocarde) IDM	Céfizox, Gentamicine Flagyl	RAS	06jours	15/01/15
25/01/15	Neurologie Médicale	69	KT	H, 67ans	AVCH	SATB	RAS	15jours	10/01/15
25/01/15	Neurologie Médicale	70	SV	H, 83ans	AVCH	Fungizon	Inflammation	20jours	05/01/15
25/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	71	KT	F, 44ans	Fracture de pied.	Ciprofloxacine	RAS	03jours	18/01/15
25/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	72	KT SV	H, 38ans	Fracture de la diaphyse radiale.	Céfacidal	RAS	03jours	22/01/15
25/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	73	Broches	F, 88ans	AMO (ablation de matériel d'ostéosynthèse)	SATB	RAS	02mois	-
25/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	74	KT	H, 45ans	Fracture du fémur	Cefizox Gentamicine	RAS	04jours	21/01/15
25/01/15	Neurologie Médicale	75	SV	H, 38ans	AVCH	Coversyl	RAS	20jours	05/01/15
25/01/15	Neurologie Médicale	76	SV	H, 48ans	AVCH	Coversyl	RAS	08jours	15/01/15
25/01/15	Neurologie Médicale	77	SV	H, 89ans	AVC	SATB	RAS	10jours	15/01/15
28/01/15	Neurologie Médicale	78	KT	H, 67ans	Perte de mémoire	Céfacidal	RAS	07jours	10/01/15
28/01/15	Neurologie Médicale	79	KT	F, 86ans	AVCH	Amoxicilline	RAS	02jours	23/01/15

28/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	80	KT	H, 70ans	Fracture fémorale	Céfacidal	RAS	02jours	23/01/15
28/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	81	KT	H, 66ans	Fracture de radius et hanche	Céfacidal	RAS	07jours	14/01/15
28/01/15	Reanimation	82	CVC	F, 19ans	Pneumopathie, crises épileptiques	Ciprolon Céfizox	RAS	72h	15/12/14
29/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	83	Broche	H, 51ans	AMO de broche	SATB	RAS	06 semaines	-
29/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	84	KT	H, 35ans	Fracture de cheville	Céfacidal	RAS	48h	10/01/15
29/01/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	85	KT	H, 36ans	Fracture de Tibia	Gentamicine Céfacidal	RAS	48h	25/01/15
01/02/15	Reanimation	86	SV	H, 66ans	Cardiopathie, bronchopneumopathie	Céfizox Ciprolon	RAS	07jours	15/01/15
01/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	87	KT	H, 21ans	Fracture de poignet	Gentamicine Céfacidal	RAS	48h	26/01/15
01/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	88	KT	H, 22ans	Plaie de la main (main traumatique)	Céfacidal	RAS	05jours	27/01/15
01/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	89	KT	H, 27ans	Fracture de Tibia	Céfacidal	RAS	14jours	17/01/15
01/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	90	KT	H, 40ans	Fracture de bras	Céfacidal	RAS	48h	29/01/15
01/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	91	KT	F, 58ans	Hernie discale	SATB	RAS	03jours	29/01/15
08/02/15	Neurologie Medicale	92	KT	F, 58ans	Sclérose en plaqu	SATB	Inflammation	48h	18jours

09/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	93	CVC	H, 20ans	Tumeur osseuse de cuisse	Céfacidal Gentamicine	RAS	05jours	15jours
09/02/15	Neurologie Medicale	94	KT	F, 56ans	Sclérose latérale amyotrophique chronique	Clamoxicilline	RAS	48h	04/02/15
09/02/15	Neurologie Medicale	95	KT	F, 58ans	Parkinson	Céfacidal	Douleur	03jours	02/02/15
09/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	96	KT	H, 25ans	Ablation de broches au niveau de coude	Céfizox	RAS	04jours	04/02/15
09/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	97	KT	F, 58ans	Fracture pertronchantérienne,	Céfacidal	RAS	04jours	05/02/15
10/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	98	SV	F, 70ans	Fracture fémorale	Céfacidal	Douleur	03jours	06/02/15
10/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	99	KT	F, 70ans	Fracture fémorale	Céfacidal	RAS	04jours	06/02/15
10/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	100	KT	H, 37ans	Fracture de pilon tibial et tête radiale	Céfacidal Gentamicine	RAS	03jours	03/02/15
11/02/15	Neurologie médicale	101	KT	F, 50ans	Sclérose en plaque	Amoxicilline	RAS	07jours	14jours
11/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	102	SV	F, 47ans	Fracture de la jambe	Céfacidal	RAS	05jours	05/02/15
11/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	103	SV	F, 62ans	Fracture de bassin	Céfacidal	RAS	03jours	09jours
11/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	104	KT	F, 72ans	Fracture de tibia	Céfacidal	Inflammation	03jours	05/02/15

11/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	105	KT	H, 40ans	Fracture de tibia	Céfacidal	RAS	03jours	07/02/15
11/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	106	Clou	F, 36ans	AMO clou jambe	SATB	RAS	04 mois	-
11/02/15	Reanimation	107	CVC	H,51ans	OTR cranien	Céfizox Ciproton	RAS	23jours	-
11/02/15	Reanimation	108	CVC	H, 34ans	OTR cranien	Céfizox Ciproton	RAS	21jours	15/01/15
15/02/15	Neurologie médicale	109	KT	H, 42ans	AVCH	Kepra Dépakin	Gonflement Inflammation	04jours	25/01/15
15/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	110	KT	H, 27ans	Fracture de doigts de la main	SATB	RAS	05jours	10/02/15
15/02/15	Neurologie médicale	111	KT	F, 26ans	AVCH	SATB	RAS	04jours	25/01/15
15/02/15	Neurologie médicale	112	SV	H, 68ans	AVCH	SATB	RAS	16jours	31/01/15
16/02/15	Neurologie médicale	113	KT	F, 56ans	ACVH	Amoxicilline	Inflammation	03jours	09/02/15
16/02/15	Neurologie médicale	114	KT	F, 50ans	SEP (sclérose en plaque)	Amoxicilline	RAS	04jours	29/01/15
16/02/15	Neurologie médicale	115	KT	H, 42ans	AVCI	SATB	Inflammation	03jours	13/02/15
17/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	116	KT	H, 20ans	Fracture de doigts de la main	Céfizox Gentamicine	RAS	04jours	13/02/15
17/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	117	KT	F, 22ans	Amputation de deux jambes (problème vasculaire)	Claforan	RAS	05jours	10/02/15
17/02/15	Neurologie médicale	118	KT	F, 15ans	Paralyse	Amoxicilline	RAS	04jours	10/02/15

17/02/15	Neurologie médicale	119	KT	F, 56ans	AVCH	Céfacidal	RAS	06jours	11/02/15
18/02/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	120	SV	F, 60ans	Fracture de la jambe	Bristopèn	RAS	48h	08/02/15
18/02/15	Neurologie médicale	121	KT	F, 60ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	48h	17/02/15
18/02/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	122	KT	H, 46ans	Fracture de la jambe	Céfacidal	RAS	03jours	15/02/15
18/02/15	Neurologie médicale	123	KT	H, 42ans	Problème abdominale	SATB	RAS	02jours	13/02/15
19/02/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	124	KT	F, 27ans	Fracture d'Humérus gauche avec paralysie radiale	SATB	RAS	03jours	10/02/15
19/02/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	125	KT	F, 60ans	Fracture de la jambe	SATB	RAS	02jours	08/02/15
19/02/15	Neurologie médicale	126	KT	F, 37ans	AVCH	Claforan	Inflammation	03jours	15/02/15
19/02/15	Neurologie médicale	127	KT	F, 58ans	Parkinson	Amoxicilline	RAS	04jours	10/02/15
19/02/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	128	KT	F, 20ans	Ablation de doigt de pied (doigt infecté)	Céfacidal	RAS	10jours	08/02/15
19/02/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	129	KT	F, 50ans	Fracture de bassin	Céfacidal	RAS	06jours	11/02/15
22/02/15	Neurologie médicale	130	KT	F, 60ans	AVCH	SATB	Inflammation	02jours	07/02/15
22/02/15	Neurologie médicale	131	KT	F, 15ans	AVCH	Kaltican Amoxicilline	RAS	06jours	10/02/15

22/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	132	KT	H, 90ans	Fracture pertronchantérienne gauche	Céfacidol	RAS	04jours	04/02/15
23/02/15	Neurologie médicale	133	KT	H, 80ans	AVCH	Céfacidol	RAS	03jours	34jours
24/02/15	Reanimation	134	SV	H, 60ans	Maladie neurologique.	Vancomycine Tienam	RAS	07jours	12/02/15
24/02/15	Traumatologie	135	KT	H, 23ans	Fracture du bras, poignet	Céfacidol	RAS	03jours	21/02/15
24/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	136	KT	H, 18ans	Fracture du condyle fémorale gauche	Céfacidol	RAS	03jours	12/02/15
24/02/15	Neurologie médicale	137	KT	F, 60ans	AVCI	Ciprofon, Céfizox Gentamicine	Inflammation	03jours	17/02/15
24/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	138	SV	H, 18ans	Fracture fémorale	Céfacidol	RAS	48h	19/02/15
25/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	139	KT	F, 56ans	Fracture pertronchantérienne, pérytlique	Céfacidol	RAS	02jours	11/02/15
25/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	140	KT	F, 81ans	Fracture pertronchantérienne	Céfacidol	RAS	02jours	18/02/15
25/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	141	SV	F, 81ans	Fracture pertronchantérienne,	Céfacidol	RAS	03jours	18/02/15
25/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	142	KT	H, 34ans	Fracture du bras	Céfacidol	RAS	48h	22/02/15
25/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	143	KT	H, 34ans	Luxation d'épaule	Céfacidol	RAS	03jours	20/02/15

25/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	144	vis	H, 55ans	AMO de vis de cheville	SATB	RAS	09 mois	19/05/14
25/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	145	Plaque	H, 55ans	AMO de plaque	SATB	RAS	09 mois	19/05/14
25/02/15	Neurologie Médicale	146	KT	H, 42ans	AVCI, hypertendue	Ciproflexine	RAS	06jours	26/01/15
25/02/15	Reanimation	147	SV	H, 60ans	IDM	Gentamicine Flagyl Céfizox	RAS	07jours	15/01/15
25/02/15	Neurologie Médicale	148	KT	F, 82ans	AVCI	Céfacidal	RAS	04jours	10jours
25/02/15	Neurologie Médicale	149	SV	H, 65ans	AVC	Ceftriaxone		04jours	11/02/15
25/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	150	KT	H, 43ans	Main traumatique	Céfacidal	RAS	03jours	26/02/15
25/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	151	KT	H, 30ans	Fracture du bras	Céfacidal	RAS	04jours	17jours
25/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	152	KT	F, 81ans	Fracture pertronchantérienne	Céfacidal	Gonflement	48h	18/02/15
25/02/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	153	KT	H, 79ans	Fracture du col fémoral	Céfacidal	RAS	04jours	25/02/15
25/02/15	Neurologie Médicale	154	KT	H, 48ans	AVCH	Amoxicilline	RAS	04jours	23/02/15
02/03/15	Neurologie Médicale	155	SV	H, 42ans	AVCI	Tienam Ciproflexine	RAS	05jours	25/01/15
02/03/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	156	KT	F, 38ans	Fracture du bassin	Céfacidal	RAS	03jours	19/02/15
02/03/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	157	KT	H, 80ans	Fracture fémorale	Céfacidal	RAS	03jours	13/02/15

02/03/15	Neurologie Médicale	158	KT	F, 44ans	AVCI	SATB	RAS	05jours	26/02/15
02/03/15	Neurologie Médicale	159	KT	F, 20ans	Hypertension intracrânienne (HIC)	SATB	RAS	06jours	24/02/15
02/03/15	Neurologie Médicale	160	KT	H, 85ans	AVC	Preterax	RAS	02jours	23/02/15
02/03/15	Neurologie Médicale	161	KT	F, 90ans	AVCI	Amoxicilline		02jours	23/02/15
02/03/15	Neurologie Médicale	162	KT	H, 53ans	AVCI	SATB	RAS	07jours	23/02/15
04/03/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	163	KT	H, 49ans	Fracature d'humérus	Céfacidal	RAS	48h	21/02/15
05/03/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	164	KT	H, 26ans	Luxation d'épaule	Céfacidal	RAS	48h	02/03/15
05/03/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	165	KT	F, 46ans	Fracture de tibia	Céfacidal	RAS	48h	13/02/15
05/03/15	Neurologie Médicale	166	KT	F, 25ans	Guillain Barré	SATB	RAS	03jours	02/03/15
05/03/15	Reanimation	167	SV	H, 31ans	Infirmité motrice cérébral, Pneumopathie, Myopathie.	SATB	RAS	07jours	05/06/13
08/03/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	168	KT	F, 56ans	Fracture pertronchantérienne	Céfacidal	RAS	04jours	11/02/15
08/03/15	Reanimation	169	CVC	F, 19ans	Etat de mal convulsive	Céfacidal Gentamicine	RAS	15jours	24/01/15

08/03/15	Reanimation	170	SV	F, 19ans	Etat de mal convulsive	Céfacidal Gentamicine	RAS	10jours	24/01/15
08/03/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	171	KT	H, 67ans	Fracture pathologique	Céfacidal	RAS	10jours	15jours
08/03/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	172	KT	H, 31ans	Fracture de la jambe	Céfacidal	RAS	03jours	05/03/15
08/03/15	Neurologie Médicale	173	KT	H, 68ans	Déficit moteur	SATB	RAS	03jours	04/03/15
08/03/15	Neurologie Médicale	174	SV	H, 76ans	AVCH	Amoxicilline	RAS	15jours	23/02/15
09/03/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	175	KT	H, 24ns	Plaie tendineuse	Céfacidal	RAS	04jours	04/03/15
09/03/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	176	KT	H, 20ans	Pied traumatique	Céfacidal	RAS	03jours	04/03/15
09/03/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	177	KT	H, 48ans	Résection tendineuse	Céfacidal	RAS	04jours	04/03/15
09/03/15	Neurologie Médicale	178	KT	F, 60ans	AVCI	SATB	RAS	03jours	05/03/15
09/03/15	Neurologie Médicale	179	KT	F, 20ans	HIC	SATB	RAS	04jours	24/02/15
09/03/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	180	AMO	F, 59ans	AMO haubanage rotule.	SATB	RAS	1mois	09/03/15
10/03/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	181	KT	H, 18ans	Pied traumatique	Céfacidal	RAS	03jours	07/03/15
10/03/15	Neurologie Médicale	182	KT	F, 57ans	AVCI	SATB	RAS	03jours	03/03/15
10/03/15	Reanimation	183	SV	H, 34ans	OTR crânien Polytraumatisme	SATB	RAS	07jours	15/01/15

10/03/15	Neurologie Médicale	184	KT	F, 33ans	Myasthénie	Claforan	Inflammation	07jours	02/03/15
10/03/15	Reanimation	185	SV	H, 31ans	IMC, pneumopathie, myopathie	SATB	RAS	06jours	05/06/13
10/03/15	Reanimation	186	CVC	F, 66ans	Bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO).	Piperacilline Amiklin	RAS	07jours	30/01/15
10/03/15	Neurologie Médicale	187	SV	F, 60ans	AVCI pneumopathie	SATB	RAS	06jours	17/02/15
10/03/15	Neurologie Médicale	188	KT	F, 25ans	Guillain Barré	SATB	RAS	02jours	02/03/15
10/03/15	Neurologie Médicale	189	KT	F, 60ans	AVCI pneumopathie	SATB	RAS	03jours	17/02/15
10/03/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	190	Plaque vissée de Fémur	H, 40ans	AMO de plaque vissée du Fémur	SATB	RAS	02mois	19/01/14
10/03/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	191	AMO	H, 27ans	Ablation haubanage membre inferieur	SATB	RAS	03mois	
12/03/15	Neurologie Médicale	192	KT	F, 80ans	AVCI	Amoxicilline	Inflammation	04jours	05/03/15
12/03/15	Neurologie Médicale	193	KT	H, 58ans	AVC	Amoxicilline	RAS	06jours	03/03/15
12/03/15	Neurologie Médicale	194	KT	H, 61ans	AVC	SATB	RAS	04jours	05/03/15
12/03/15	Reanimation	195	CVC	H, 61ans	Maladie neurologique	Vancomycine Tienam	RAS	10jours	12/02/15
12/04/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	196	KT	F, 47ans	Fracture de radius fémur et poignet	Claforan	RAS	04jours	13/03/15

						Céfizox Gentamicine			
12/04/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	197	KT	H, 37ans	Fracture radiale	Céfacidol	RAS	03jours	13jours
12/04/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	198	SV	H, 83ans	Hypertendue	Céfacidol	RAS	07jours	22jours
13/04/15	Reanimation	199	SV	H, 63ans	Polytraumatisé	Ciprofon, Tienam	RAS	07jours	30/03/15
13/04/15	Reanimation	200	SV	H, 21ans	Polytraumatisé	Claforan, Gentamicine	RAS	03jours	10/04/15
13/04/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	201	AMO	F, 58ans	AMO vis	SATB	RAS	01 mois	
20/04/15	Neurologie Médical	202	KT	H, 54ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	12jours	05/04/15
20/04/15	Neurologie Médical	203	KT	F, 64ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	03jours	14/04/15
20/04/15	Neurologie Médical	204	SV	F, 69ans	AVCH	SATB	Inflammation	15jours	02/04/15
20/04/15	Reanimation	205	SV	H, 43ans	Polytraumatisé	Claforan	RAS	05jours	23/04/15
20/04/15	Reanimation	206	SV	H, 21ans	Polytraumatisé	Fortum	RAS	16jours	10/04/15
20/04/15	Reanimation	207	SV	H, 32ans	Polytraumatisé	Tienam	RAS	08jours	21/04/15
20/04/15	Reanimation	208	SV	H, 18ans	Polytraumatisé	Fortum	RAS	10jours	13/04/15
20/04/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	209	AMO	H, 37ans	AMO plaque visée poignet	SATB	RAS	02 mois	

20/04/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	210	AMO	H, 49ans	Ablation bimaléolaire haubanage coude	SATB	RAS	04 mois	
03/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	211	KT	H, 24ans	Fracture diaphyse humérale.	Céfacidal	RAS	05jours	28/04/15
03/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	212	KT	H, 25ans	Fracture de la jambe	Céfacidal	RAS	04jours	28/04/15
03/05/15	Reanimation	213	CVC	H, 63ans	Polytraumatisé	SATB	RAS	10jours	30/03/15
03/05/15	Reanimation	214	CVC	F, 05ans	Détresse respiratoire	Fortum, Vancomycine	RAS	05jours	20/04/15
03/05/15	Reanimation	215	CVC	F, 79ans	Anoxie cérébral.	Vancomycine, Tiénam	RAS	16jours	25/03/15
04/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	216	KT	H, 36ans	Fracture de radius	Céfacidal	RAS	02jours	02/05/15
04/05/15	Neurologie- Médical	217	KT	F, 42ans	AVCI, Thrombose veineuse	Clamoxyl	RAS	02jours	22/04/15
04/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	218	KT	H, 22ans	Fracture de Tibia	Céfacidal	RAS	03jours	02/05/15
04/05/15	Neurologie Médical	219	KT	H, 70ans	Polyneuropathie motrice	Clamoxyl	RAS	09jours	26/04/15
04/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	220	AMO	H, 37ans	AMO plaque vis	SATB	RAS	02 mois	
04/05/15	Reanimation	221	SV	H, 31ans	Pneumopathie IMC	SATB	RAS	10jours	16/06/13
11/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	222	KT	H, 30ans	Fracture	Céfacidal	RAS	07jours	13jours

12/05/15	Neurologie Médical	223	KT	H, 70ans	Polyneuropathie motrice	Clamoxyl	RAS	03jours	26/04/15
12/05/15	Neurologie Médical	224	KT	H, 38ans	AVCH	Amoxicilline	Gonflement	03jours	25/04/15
12/05/15	Neurologie Médical	225	KT	H, 80ans	AVCH	Amoxicilline	RAS	07jours	09/05/15
19/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	226	KT	H, 56ans	Fracture du poignet	Céfacidal	RAS	02jours	17/05/15
19/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	227	KT	H, 36ans	Fracture du pied (cheville)	Céfacidal	RAS	03jours	28/04/15
19/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	228	KT	F, 38ans	Fracture bimalléolaire droite	Céfacidal	RAS	02jours	17/05/15
19/05/15	Reanimation	229	SV	H, 09ans	Etat de mal convulsif	Claforan, Vancomycine	RAS	08jours	12/05/15
19/05/15	Reanimation	230	SV	H, 25ans	Guillain Barrée	Fortum	RAS	10jours	06/05/15
19/05/15	Reanimation	231	SV	H, 21ans	Polytraumatisé	Ciproton	RAS	09jours	10/04/15
27/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	232	KT	H, 44ans	Main traumatique	Céfacidal	RAS	02jours	23/05/15
27/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	233	KT	H, 35ans	Main traumatique	Claforan Ciproton	RAS	03jours	05/05/15
27/05/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	234	KT	H, 60ans	Plaie de la jambe	Céfacidal	RAS	02jours	15/05/15
27/05/15	Reanimation	235	SV	H, 21ans	Polytraumatisé	Ciproton	RAS	07jours	10/04/15
27/05/15	Reanimation	236	SV	H, 63ans	Polytraumatisé	Fortum, Amiklin	RAS	06jours	30/03/15

01/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	237	KT	F, 38ans	AVCH	SATB	RAS	02jours	30/05/15
01/06/15	Reanimation	238	SV	H, 70ans	Poly neuropathie motrice	SATB	RAS	06jours	
01/06/15	Reanimation	239	SV	H, 32ans	IMC, pneumopathie.	Ciproton, Amiklin	RAS	04jours	05/06/13
01/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	240	Drain	H, 74ans	Fracture de la jambe	Céfacidal	RAS	04jours	12jours
02/06/15	Neurologie Médical	241	KT	F, 32ans	Sclérose en plaque	SATB	RAS	06jours	07/05/15
02/06/15	Neurologie Médical	242	KT	H, 58ans	AVC	Amoxicilline	Gonflement	04jours	20/05/15
04/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	243	AMO	H, 51ans	AMO vis	SATB	RAS	02mois	
04/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	244	AMO	H, 61ans	AMO broches	Céfacidal	RAS	02mois	
09/06/15	Reanimation	245	CVC	H, 21ans	Polytraumatisé	Ciproton	RAS	12jours	10/04/15
10/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	246	KT	H, 54ans	Fracture ouverte de la jambe	Céfacidal	RAS	02jours	01/06/15
10/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	247	KT	H, 48ans	Ablation du matériel d'ostéosynthèse	Céfacidal	RAS	02jours	07/06/15
10/06/15	Reanimation	248	SV	H, 63ans	Polytraumatisé	Fortum, Amiklin	RAS	14jours	30/03/15
10/06/15	Reanimation	249	SV	H, 32ans	IMC, pneumopathie	Ciproton, Amiklin	RAS	09jours	16/06/13
10/06/15	Reanimation	250	SV	H, 57ans	Postopératoire	SATB	RAS	07jours	12/05/15
10/06/15	Reanimation	251	SV	H, 70ans	Sclérose latérale	SATB	RAS	09jours	20/05/15

14/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	252	KT	H, 34ans	Fracture bimaléolaire	Céfacidal	RAS	04jours	09/06/15
14/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	253	KT	H, 37	Fracture toit de cotyle	Céfacidal	RAS	03jours	11/06/15
14/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	254	KT	H, 48ans	-	Céfacidal	RAS	04jours	10/06/15
14/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	255	KT	H, 39ans	Fracture pertronchantérienne	Céfacidal	RAS	03jours	-
14/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	256	SV	H, 39ans	Fracture pertronchantérienne	Céfacidal	RAS	03jours	-
14/06/15	Reanimation	257	CVC	H, 70ans	Sclérose latéral	Fortum	RAS	15jours	20/05/15
14/06/15	Reanimation	258	SV	H, 63ans	Polytraumatisé	Ciprolon	RAS	04jours	30/03/15
14/06/15	Reanimation	259	SV	H, 24ans	Polytraumatisé.	Céfacidal, Gentamicine	RAS	10jours	
14/06/15	Reanimation	260	SV	H, 45ans	Polytraumatisé. Claforan, Gentamicine.	Céfacidal Gentamicine	RAS	06jours	08/06/15
14/06/15	Reanimation	261	SV	H, 57ans	Postopératoire.	SATB	RAS	04jours	12/05/15
14/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	262	Drains	H, 30ans	AMO	Céfacidal Gentamicine	RAS	05jours	-
14/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	263	Drains	H, 30ans	AMO	Céfacidal Gentamicine	RAS	05jours	-
15/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	264	KT	H, 48ans	Pied traumatique	Céfacidal	Gonflement	05jours	01/06/15

16/06/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	265	KT	H, 49ans	Main traumatique	Céfacidal	RAS	04jours	05/06/15
20/09/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	266	KT	H, 65ans	AMO bimaléolaire	Céfacidal	RAS	03jours	17/09/15
20/09/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	267	KT	H, 60ans	Fracture du bassin	Céfacidal	RAS	03jours	04/09/15
20/09/15	Neurologie Médical	268	KT	F, 25ans	AVCI	Amoxicilline	Inflammation	03jours	06/09/15
20/09/15	Neurologie Médical	269	KT	H, 61ans	AVCI	Amoxicilline	Douleur	04jours	07/09/15
20/09/15	Reanimation	270	SV	H, 10ans	Polytraumatisé.	SATB	RAS	07jours	29/08/15
20/09/15	Reanimation	271	SV	H, 21ans	Polytraumatisé	SATB	RAS	07jours	10/04/15
21/09/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	272	KT	H, 75ans	Fracture de cheville	Céfacidal	Inflammation	24jours	27/08/15
21/09/15	Neurologie Médical	273	KT	H, 77ans	AVCH	SATB	RAS	04jours	07/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	274	KT	F, 61ans	AVCI	Ciprolon	RAS	04jours	05/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	275	KT	H, 65ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	04jours	08/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	276	KT	F, 32ans	AVCH	Amoxicilline	RAS	04jours	07/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	277	KT	F, 50ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	06jours	01/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	278	KT	F,48ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	06jours	07/09/15

21/09/15	Reanimation	279	C.V.C	H, 35ans	OTR cranien	Tiénam	RAS	13jours	15/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	280	KT	F, 59ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	02jours	26/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	281	KT	F, 60	AVCI	SATB	RAS	03jours	25/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	282	KT	H, 87ans	ACVI	SATB	RAS	06jours	28/09/15 Passation urgence.
21/09/15	Neurologie Médical	283	KT	F, 70ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	03jours	25/09/15
21/09/15	Reanimation	284	SV	H, 36ans	Suspicion d'embolie graisseuse	Tiénam	RAS	07jours	22/08/15
21/09/15	Reanimation	285	SV	H, 59ans	OTR cranien	SATB	RAS	07jours	05/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	286	KT	F, 27ans	Myasthénie	SATB	RAS	02jours	25/08/15
21/09/15	Neurologie Médical	287	KT	F, 70ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	02jours	25/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	288	KT	F, 72ans	AVCI	Céfacidal	RAS	04jours	26/09/15
21/09/15	Reanimation	289	SV	H, 04ans	HED	Claforan	RAS	07jours	25/09/15
21/09/15	Reanimation	290	SV	F, 07ans	Polytraumatisée	Claforan	RAS	02jours	28/09/15
21/09/15	Reanimation	291	C.V.C	F, 83ans	AVCI	SATB	RAS	04jours	14/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	292	KT	H, 40ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	04jours	02 mois

21/09/15	Neurologie Médical	293	KT	F, 27ans	Myasthénie	SATB	RAS	04jours	25/08/15
21/09/15	Neurologie Médical	294	KT	F, 40ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	06jours	28/09/15
21/09/15	Reanimation	295	SV	H, 21ans	Polytraumatisé.	SATB	RAS	07jours	10/04/15
21/09/15	Reanimation	296	SV	H, 36ans	Suspicion d'embolie graisseuse	Fortum	RAS	07jours	22/08/15
21/09/15	Reanimation	297	SV	H, 04ans	Hématome extra-dural (HED)	Claforan	RAS	05jours	25/09/15
21/09/15	Neurologie Médical	298	KT	H, 24ans	AVCI	SATB	Gonflement	04jours	25/09/15
21/09/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	299	KT	H, 37ans	Fracture fémorale	SATB	Gonflement, douleur	02jours	15/09/15
13/10/15	Neurologie Médical	300	KT	H, 39ans	Suspicion de polyneuropathie	SATB	RAS	04jours	06/10/15
13/10/15	Reanimation	301	SV	H, 10ans	Polytraumatisé	SATB	RAS	07jours	29/08/15
18/10/15	Neurologie Médical	302	KT	F, 43ans	AVCI	SATB	RAS	04jours	12/04/15
19/10/15	Neurologie Médical	303	KT	H, 58ans	AVCI	SATB	RAS	04jours	01/10/15
19/10/15	Reanimation	304	SV	H, 28ans	Traumatisme cranien	Ciproton, Amiklin	RAS	07jours	07/10/15
19/10/15	Reanimation	305	SV	H, 26ans	Polytraumatisé	Claforan	RAS	05jours	13/10/15
26/10/15	Chirurgie- ortho-traumatologie	306	AMO	H, 36ans	-	SATB	RAS	02mois	

26/10/15	Reanimation	307	SV	H, 53ans	Polytraumatisé	Claforan, Amiklin	RAS	07jours	07/10/15
26/10/15	Reanimation	308	SV	H, 35ans	Polytraumatisé	Flagyl, Claforan	RAS	07jours	18/10/15
29/10/15	Neurologie Médical	309	KT	F, 46ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	03jours	04/10/15
29/10/15	Neurologie Médical	310	KT	H, 62ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	04jours	12/10/15
29/10/15	Neurologie Médical	311	KT	H, 61ans	AVCI	Amoxicilline	RAS	03jours	30/09/15
29/10/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	312	AMO (Vis)	F, 42ans	AMO vis	SATB	RAS	1mois	-
29/10/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	313	AMO	H, 67ans	AMO Broches	SATB	RAS	1mois	-
29/10/15	Reanimation	314	CVC	H,34	Polytraumatisé	Ciprofon, Amiklin	RAS	23 jours	-
29/10/15	Reanimation	315	SV	H, 31ans	IMC pneumopathie	SATB	RAS	07jours	16/06/13
29/10/15	Reanimation	316	SV	H, 10ans	Polytraumatisé	SATB	RAS	07jours	29/08/15
29/10/15	Reanimation	317	SV	F, 58ans	Polytraumatisé	SATB	RAS	07jours	-
29/10/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	318	AMO (Vis)	H, 43ans	AMO vis	SATB	RAS	1mois	-
29/10/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	319	AMO (broches)	H, 57ans	AMO broches	SATB	RAS	1mois	-
29/10/15	Chirurgie- ortho- traumatologie	320	AMO (plaque)	H, 32ans	AMO plaque	SATB	RAS	3mois	-

01/12/15	Reanimation	321	CVC	H, 43ans	Hémorragie+œdème cérébral.	SATB	RAS	08jours	22/11/15
01/12/15	Reanimation	322	SV	H, 43ans	Hémorragie +œdème cérébral.	SATB	RAS	04jours	22/11/15
01/12/15	Reanimation	323	SV	H, 28ans	Polytraumatisé	SATB	RAS	07jours	03/11/15
01/12/15	Reanimation	324	SV	H, 33ans	Polytraumatisé	Amiklin, Ertapéneme	RAS	06jours	29/10/15
14/12/201 5	Reanimation	325	SV	H.43ans	Traumatisme cranien (TCE)	Tyenam, Amiclan	RAS	07jours	22/11/2015
14/12/201 5	Reanimation	326	SV	H.36ans	OTR cranien	Ciprolon	RAS	06jours	27/11/2015
14/12/201 5	Reanimation	327	SV	H, 33ans	Polytraumatisme	Fortum, Amiklin	RAS	08jours	29/10/2015
14/12/201 5	Reanimation	328	SV	H, 35ans	Polytraumatisme	SATB	RAS	07jours	18/10/2015
14/12/201 5	Reanimation	329	SV	H, 44ans	Etat de mal convulsif	Claforan, flagyl Vancomycine	RAS	08jours	06/12/2015
14/12/201 5	Reanimation	330	CVC	H, 35ans	Polytraumatisme	SATB	RAS	06jours	18/10/2015
20/12/15	Reanimation	331	SV	F, 34ans	Etat de choc hémorragique	Tiénam	RAS	07jours	29/11/2015
20/12/15	Reanimation	332	SV	H, 33ans	Pneumopathie IMC	SATB	RAS	07jours	16/06/2013
20/12/15	Reanimation	333	SV	H,52ans	Abcès Poste opératoire anévrisme veineux poplité (AVP)	Ciprolon	RAS	07	13/12/15

23/12/15	Reanimation	334	CVC	H, 52ans	Abcès Poste opératoire AVP	Ciprolon	RAS	09	10 jours
24/12/15	Reanimation	335	SV	F.32ans	Guillam bare	SATB	RAS	02 jours	20/11/2015
26/12/15	Reanimation	336	SV	H.28ans	Polytraumatisme	SATB	RAS	06jours	03/11/2015
26/12/15	Reanimation	337	SV	H, 53ans	Polytraumatisme	SATB	RAS	07jours	1mois
28/12/15	Reanimation	338	SV	H, 52ans	Abcès Poste opératoire AVP	Ciprolon	RAS	04jours	15jours
28/12/15	Reanimation	339	CVC	H, 52ans	Abcès Poste opératoire AVP,	Ciprolon	RAS	07jours	15jours
28/12/15	Reanimation	340	SV	F, 34	Etat de choc hémorragique	Tiénam	RAS	05jours	29jours

**KT : Cathéter veineux périphérique ; SV : Sonde vésicale ; CVC : Cathéter veineux central ; AMO : Ablation du matériel d'ostéosynthèse ; SATB : Sans antibiothérapie ; RAS : Rien à signaler.**

## Résumé :

Les levures *Candida non albicans* sont de plus en plus incriminées dans les mycoses systémiques en milieu hospitalier et sont souvent associées à des bactéries dans des biofilms multi-espèces. La prise en charge des infections liées aux biofilms mixtes est difficile et de nouvelles solutions thérapeutiques sont donc nécessaires. L'objectif de la présente étude est d'évaluer la capacité des levures *Candida non albicans* et des bactéries co-isolées d'un même dispositif médical mis en place chez des patients hospitalisés aux services de neurologie médicale, d'anesthésie-réanimation et de chirurgie ortho-traumatologie du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen à former des biofilms et de rechercher des moyens d'inhiber ces structures polymicrobiennes. Pour cela, nous avons dans un premier temps, rechercher des altérations multi-espèces *Candida non albicans*/bactéries sur les dispositifs médicaux, et tester leur sensibilité aux agents antimicrobiens. Ensuite nous avons évalué leur capacité à former des biofilms mono-espèces et mixtes levures/bactéries. Enfin, nous avons testé l'efficacité des solutions de verrouillages sur les biofilms mixtes. Les résultats obtenus ont montré que sur 340 prélèvements effectués, 19 levures *Candida non albicans* ont été identifiées dont *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* et *C. famata*. En parallèle, 25 bactéries ont été co-isolées avec les espèces de *Candida non albicans* dont 18 bacilles à Gram négatif et 7 bactéries à Gram positif. Les tests de sensibilité ont révélé une sensibilité des espèces fongiques à l'amphotéricine B et une résistance bactérienne importante à l'ensemble des agents antibactériens testés. Les levures isolées sont formatrices de biofilms mixtes avec les bactéries co-isolées. La quantité des biofilms produite varie en fonction des souches, des espèces et des milieux de culture utilisés. Les résultats relatifs à l'effet des solutions de verrouillages sur les biofilms mixtes révèlent une réduction de la biomasse de biofilm mixte (*Candida non albicans*-Bactéries) par la solution verrou d'EDTA (25 à 55%) ou d'amphotéricine B seule (40 à 70%). Cette efficacité est supérieure en associant l'amphotéricine B et l'EDTA. De même, l'utilisation de l'acide acétylsalicylique (40mg/mL) comme solution verrou, permet de réduire la biomasse des biofilms mixtes jusqu'à une réduction complète au bout de 24h ou de 48h en fonction des souches impliquées dans le biofilm mixte.

**Mots-clés :** Dispositifs médicaux, infectivité, *Candida non albicans*, bactéries, biofilms mixtes, effet anti-biofilm mixte, solution verrou

## ملخص:

تدخل خمائر *Candida non albicans* بشكل متزايد في الإصابة بداء الفطريات المستعصية على مستوى المستشفيات وغالباً ما ترتبط هذه الأخيرة بالبكتيريا في الأغشية الحيوية المختلطة. إن علاج التهابات المرتبطة بالأغشية الحيوية المختلطة أمر صعب مما يستدعي البحث عن حلول عاجية مناسبة. الهدف من هذه الدراسة هو تقييم قدرة خمائر *C non albicans* والبكتيريا المعزولة من نفس الجهاز الطبي المستخدم عند المرضى المقيمين بالمستشفى الجامعي بلمسان على تكوين الأغشية الحيوية الرقيقة وكذا البحث عن طرق من أجل تثبيط هذه الأغشية متعددة الميكروبات. للقيام بذلك، قمنا أولاً بعزل خمائر *Candida non albicans* و البكتيريا الموجودة على مستوى الأجهزة الطبية، واختبار حساسيتها للعوامل المضادة للميكروبات. بعد ذلك قمنا بتقييم قدرتها على تكوين الأغشية الحيوية الرقيقة المختلطة من نوع *Candida non albicans* بكتيريا. وأخيراً، قمنا باختبار فعالية المحاليل المغلفة على الأغشية الحيوية المختلطة.

أظهرت النتائج أنه من بين 340 عينة مأخوذة، تم تحديد 19 من خمائر *Candida non albicans* بما في ذلك *C. tropicalis* و *C. glabrata* و *C. parapsilosis* و *C. Famata*. في الوقت نفسه، تم عزل 25 نوعاً من البكتيريا مع خمائر *Candida non albicans*، منها 72% عصيات سالبة الجرام و28% بكتيريا موجبة الجرام. كما تكشف النتائج المتعلقة بتأثير محاليل القفل على الأغشية الحيوية المختلطة *Candida non albicans* / بكتيريا عن انخفاض جزئي في كتلة الأغشية المختلطة بعد استخدام المحلول المغفل EDTA (25-55%) أو amphotéricine B وحده (40-70%)، و تزداد هذه الفعالية بشكل واضح عند استخدام EDTA و amphotéricine B معاً. ويؤدي استخدام حمض الأسيتيل ساليسيليك كمحلول مغفل إلى تثبيط هذه الأغشية الحيوية المختلطة.

**الكلمات المفتاحية:** القسطرة، *Candida non albicans*، البكتيريا، الأغشية الحيوية المختلطة، التأثير المضاد للأغشية الحيوية المختلطة، المحلول المغفل.

## Abstract:

*Non-albicans Candida* yeasts are increasingly implicated in systemic mycoses in hospitals, and are often associated with bacteria in multi-species biofilms. Management of mixed biofilm infections is difficult, and new therapeutic solutions are needed. The aim of the present study was to assess the ability of *non-albicans Candida* yeasts and co-isolated bacteria to form biofilms on the same medical device used on patients hospitalized at the University Hospital of Tlemcen, and to find ways of inhibiting these polymicrobial structures. To do this, we first looked for multi-species *non albicans Candida* /bacteria alterations on medical devices, and tested their sensitivity to antimicrobial agents. Then we assessed their ability to form mono-species and mixed yeast/bacteria biofilms. Finally, we tested the effectiveness of lock solutions on mixed biofilms. The results showed that out of 340 samples taken, 19 *non-albicans Candida* yeasts were identified, including *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* and *C. famata*. At the same time, 25 bacteria were co-isolated with *non albicans Candida* species, 72% of which were Gram-negative bacilli and 28% Gram-positive bacteria. Susceptibility tests revealed that the fungal species were sensitive to amphotericin B and highly resistant to all the antibacterial agents tested. Isolated yeasts form mixed biofilms with co-isolated bacteria. The quantity of biofilms produced varies according to strain, species and culture medium composition. Results relating to the effect of lock solutions on mixed biofilms reveal a partial reduction in mixed biofilm biomass (*non-albicans Candida* -Bacteria) by the EDTA (25-55%) or amphotericin B lock solution alone (40-70%). The efficacy of amphotericin B in combination with EDTA is significantly higher. Similarly, the use of acetylsalicylic acid as (40mg/mL) a lock solution reduces the biomass of mixed biofilm until it is completely reduced after 24 or 48 hours, depending on the strains involved in the mixed biofilm.

**Keywords:** medical devices, infectivity, *non-albicans Candida*, bacteria, mixed biofilms, mixed anti-biofilm effect, lock solution.

