

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE DE TLEMCEN-ABOU BEKR BELKAID

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE SCIENCE DE LA
TERRE ET DE L'UNIVERS - DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE D'ANTIBIOTIQUES ANTIFONGIQUES : PHYSICO-CHIMIQUE,
SYNTHESE ET ACTIVITE BIOLOGIQUE

LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE APPLIQUEE A L'AGRO ALIMENTAIRE
AU BIOMEDICAL ET A L'ENVIRONNEMENT –LAMAABE-



Mémoire



Présenté pour obtenir le grade

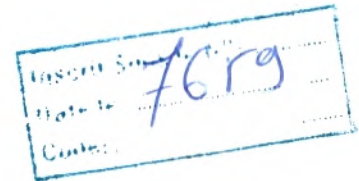
DE MASTER ACADEMIQUE EN CONTROLE DU DEVELOPPEMENT
MICROBIEN

Option : BIOCHIMIE APPLIQUEE

PAR

Chahrazed YAICHI

Soutenue le 29 Mai 2013



EVALUATION DES BACTERIMIES A STAPHYLOCOQUES LIEES AUX
CATHETERS VEINEUX CENTRAUX EN HEMODIALYSE –SERVICE DE
NEPHROLOGIE CHU TLEMCEN



Directeur du mémoire : Hafida HASSAINE Maître de conférence A

JURY

Sid Ahmed REBIAHI

Maître de conférence B .Université
Abou-Bekr Belkaid de Tlemcen

Présidente

Nadjib RAHMOUN

Maitre assistant chargé de cours

Examineur

Mustapha BENMANSOUR Professeur

Invité d'honneur

Année universitaire : 2012/2013

REMERCIEMENTS

*Je remercie **ALLAH, LE TOUT PUISSANT, LE SACHANT***

Cette étude a été réalisée au laboratoire « Laboratoire De Microbiologie Appliquée A L'agro Alimentaire Au Biomedical Et A L'environnement –LAMAABE-» de l'Université Abou Bekr Belkaid - Tlemcen-

*Je tiens à exprimer toute mes remerciements à mon prompteur Mme **HASSAINE H.** Maître de conférence A à l'université Abou Bekr Belkaid, qui m'a guidé et orienté tout au long de mon travail. Je la remerci pour son dévouement, son aide, son soutien moral, matériel et pour tous ses conseils qui m'ont beaucoup aidé dans ma formation scientifique.*

Je remerci également

***Mr REBLAHI Sid Ahmed** Maître de conférence B .Université Abou-Bekr Belkaid, qui a honoré ce travail en acceptant de présider le juré.*

***Mr RAHMONE Nadjib** pour avoir accepté de faire partie du juré et d'examiner ce travail.*

***Mme BOUCHERIT Zahia** et tout les membres de l'équipe de laboratoire Antibiotique Antifongique synthèse et activité physico-chimie*

Mes remerciements s'adressent également à

Le directeur et toute la dynamique équipe d'infirmiers du service de laboratoire d'hôpital d'ADRAR, pour leur aide et leur soutien.



DEDICACES

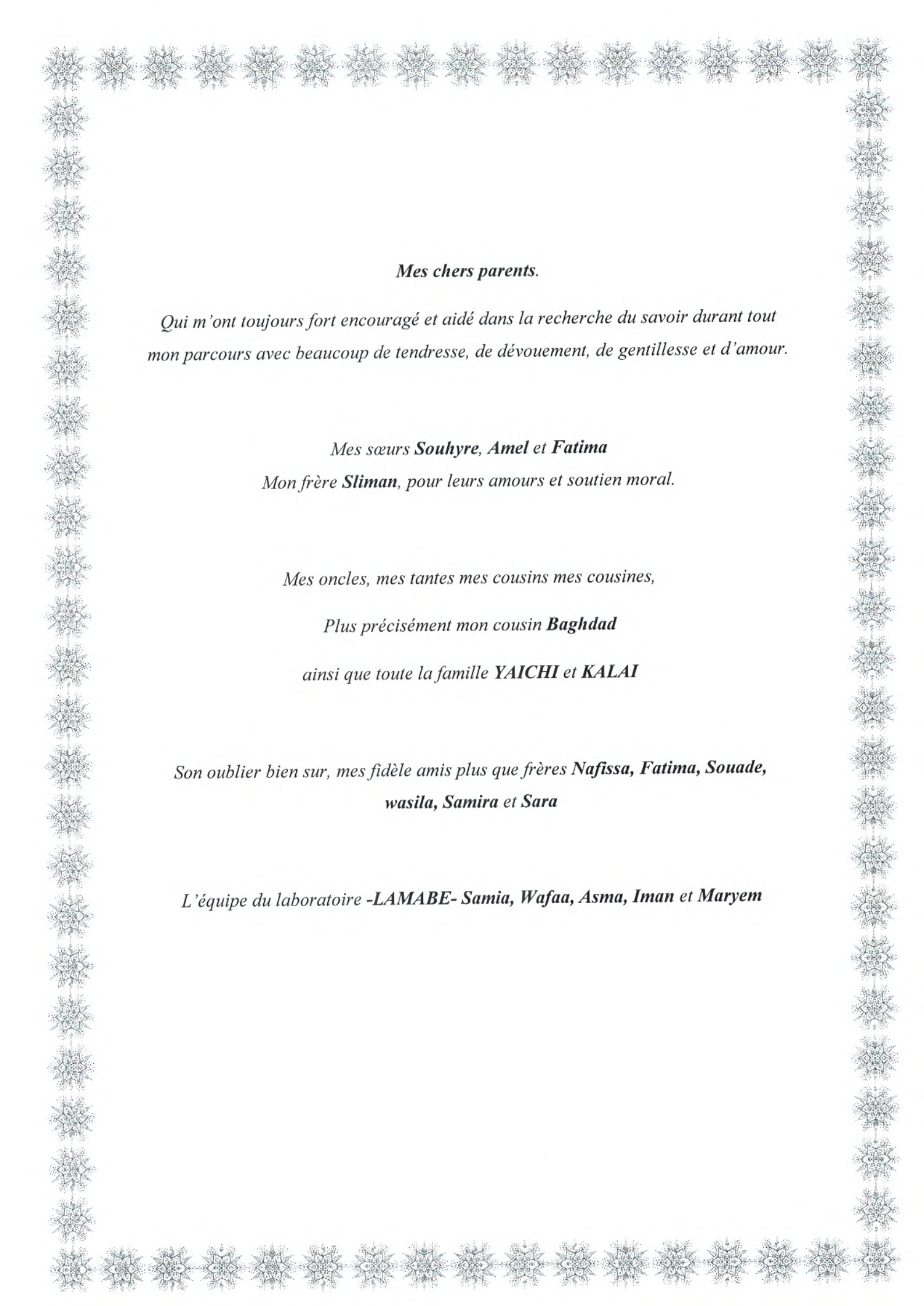
Je dédie ce travail

A

La mémoire de ma grande mère.

BENKHADA Khayra.

Qu'ALLAH, LE TOUT PUISSANT, puisse l'accueillir dans son vaste Paradis



Mes chers parents.

Qui m'ont toujours fort encouragé et aidé dans la recherche du savoir durant tout mon parcours avec beaucoup de tendresse, de dévouement, de gentillesse et d'amour.

*Mes sœurs **Souhyre, Amel et Fatima***

*Mon frère **Sliman**, pour leurs amours et soutien moral.*

Mes oncles, mes tantes mes cousins mes cousines,

*Plus précisément mon cousin **Baghdad***

*ainsi que toute la famille **YAICHI et KALAI***

*Son oublier bien sur, mes fidèle amis plus que frères **Nafissa, Fatima, Souade, wasila, Samira et Sara***

*L'équipe du laboratoire **-LAMABE- Samia, Wafaa, Asma, Iman et Maryem***

Liste d'abréviations :

CVC : Cathéters veineux centraux

KT : Cathéter

FAV : Fistule artérioveineuse

PLP : protéine liant les pénicillines

SCN : Staphylocoque à coagulase négatif

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

SARM : *Staphylococcus aureus* résistante à la méthicilline

ILC : Infection liée aux cathéters

Liste des Tableaux :

Tableau 1 : Principales études rapportant la prévalence des infections à *Staphylococcus aureus* en dialyse

Tableau 2 : Résultats des cultures de KTVC chez des patients hémodialysés –Service de néphrologie .CHU Tlemcen

Tableau 3 : résultat d'antibiogramme

Liste des figures

Figure 1 : différents types de cathéters centraux d'hémodialyse

Figure 2 : Fistule artérioveineuse native de Brescia Cimino (Albert, 2002)

Figure 3 : Fistule artérioveineuse par matériel prothétique (Albert, 2002)

Figure 4 : Répartition des souches à Gram négatif isolées des KTVC chez des patients hémodialysés –Service de néphrologie .CHU Tlemcen.

Figure 5 : Répartition des souches à Gram+ isolées des KTVC chez des patients hémodialysés –Service de néphrologie .CHU Tlemcen.

Un total de 16 souches de bactéries à Gram(+) et à Gram (-) ont été collectées à partir de KTCV du service de néphrologie du CHU de Tlemcen entre Juin 2012 et Mai 2013.

62 cathéters veineux centraux ont été insérés chez 57 patients. L'âge était de 17 à 87 ans, avec une prédominance masculine. La durée moyenne d'utilisation des CVC était de 3 à 230 jours. La principale complication observée était l'infection sur KT. Les microorganismes isolés étaient représentés par les *Staphylococcus aureus* avec 53,57% dont deux souches sont résistantes à la méthicilline et sont considérées comme des SARM, les entérobactéries sont retrouvés avec un taux de 35% suivit des Staphylocoques à coagulase négative (16,07%). Les principaux facteurs de risques d'infections liées aux cathéters dans cette étude étaient: le type, la durée du cathétérisme supérieur à 10 jours et l'existence des complications et des comorbidités chez les patients hémodialysés.

Un dépistage plus précoce des maladies rénales chroniques pourrait diminuer les indications de CVC, et le respect des recommandations devrait encore réduire l'incidence des complications.

Summary

A total of 16 strains of Gram (+) and Gram (-) bacteria were collected from KTCV of Nephrology from University Hospital of Tlemcen between June 2012 and May 2013.

62 central venous catheters were inserted in 57 patients. The average age was from 17 to 87 years, with a predominance of male sex. The average duration of implantation of the CVC was 3-230 days. The main complication observed was the infection of KT. The isolated microorganisms were represented by *Staphylococcus aureus* with 53.57%, two strains were resistant to methicillin and are considered MRSA, Enterobacteriaceae were present with a rate of 35% followed by the coagulase-negative staphylococci (16, 07%). The main risk factors for catheter-related infections in this study were: the type, implantation for more than 10 days and the existence of complications and comorbidities in patients undergoing hemodialysis.

Earlier detection of chronic kidney disease may reduce the signs of CVC, and compliance with recommendations should reduce the incidence of complications.

المخلص

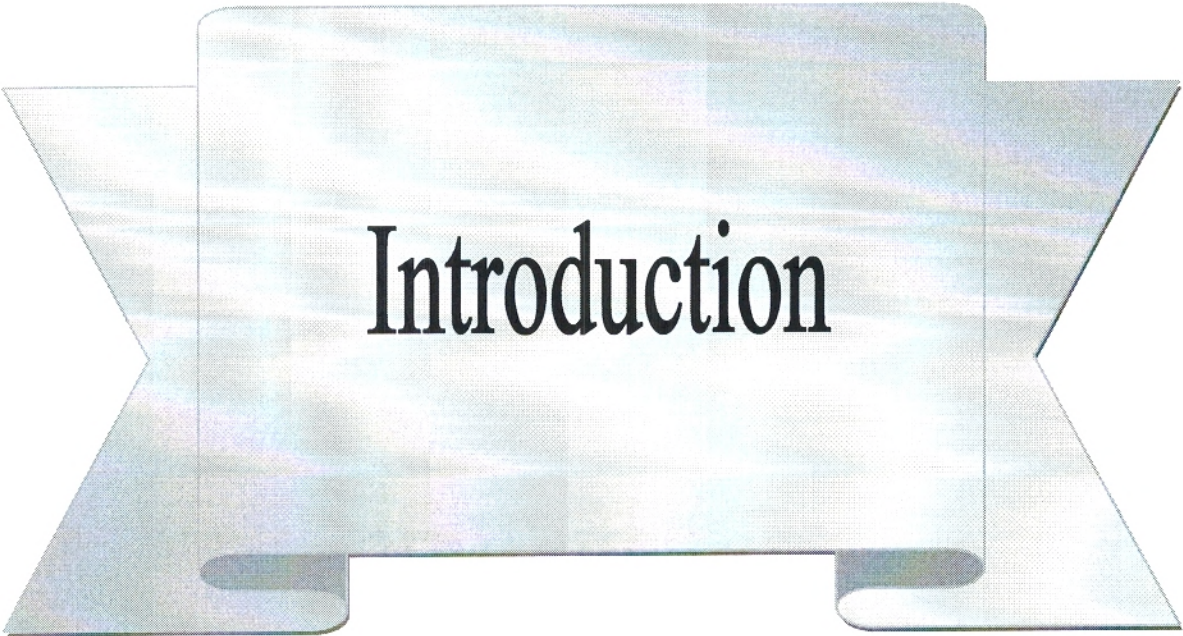
تم عزل مجموع 16 سلالة من غرام (+) و غرام (-) من KTCV من مستشفى أمراض الكلى بجامعة تلمسان في الفترة بين جوان 2012 و ماي 2013

تم إدراج 62 أنبوب قسطرة وريدية مركزية في 57 مريضا. كان السن متراوح بين 17-87 عاما، مع غلبة الذكور. كان متوسط فترة الخضوع للقسطرة الوريدية من 3-230 يوما. ولوحظ أن المشكل الرئيسي هو تلوث انابيب القسطرة الوريدية المركزية. ومثلت الكائنات الدقيقة المعزولة 53.57% من *Staphylococcus aureus* وكانت اثنين منها مقاومة للميثيسيلين، متبوعة ب *Enterobacteriaceae* بنسبة 35% أعقبها *Staphylococcus* السلبية التخثير (16.07%). وكانت عوامل الخطر الرئيسية للأمراض ذات الصلة بالقسطرة في هذه الدراسة: نوع ومدة القسطرة أكثر من 10 أيام، ووجود مضاعفات وأمراض أخرى متزامنة معه لدى المرضى الذين يخضعون لغسيل الكلى.

الكشف المبكر عن مرض الكلى المزمن قد يقلل من استعمال أنابيب القسطرة، والامتثال للتوصيات يحد من حدوث المضاعفات.

Sommaire :

| | | |
|------|--|----|
| I. | Introduction..... | 1 |
| II. | Synthèse bibliographique | |
| | 1. Généralités..... | 3 |
| | 1.1.Abords vasculaires pour hémodialyse | 3 |
| | 1.1.1. Cathéters veineux centraux..... | 3 |
| | 1.1.2. Fistule artérioveineuse..... | 6 |
| | 2. Les infections liées aux cathéters veineux centraux..... | 7 |
| | 2.1.Définitions..... | 7 |
| | 2.1.1. Infection nosocomiale..... | 7 |
| | 2.1.2. Définitions basées sur des critères cliniques..... | 7 |
| | 2.1.3. Définitions basées sur des critères microbiologiques..... | 8 |
| | 2.2.Physiopathologie des infections liées aux cathéters veineux centraux..... | 9 |
| | 2.2.1. Epidémiologie bactériologique..... | 9 |
| | 2.2.2. Les voies de contamination des cathéters veineux centraux..... | 10 |
| | 2.2.3. Mécanismes de colonisation et formation de biofilm..... | 11 |
| | 2.2.3. Facteurs de risque infectieux..... | 13 |
| III. | Matériel et méthodes | |
| | 1. Lieu d'étude..... | 16 |
| | 2. Prélèvement..... | 16 |
| | 3. Isolement et purification..... | 16 |
| | 4. Identification..... | 17 |
| | 5. Test de la résistance à la méthicilline | 19 |
| IV. | Résultats et discussion | |
| | 1. Patients..... | 23 |
| | 2. Epidémiologie..... | 23 |
| | 3. Test de la résistance à la méthicilline..... | 26 |
| V. | 4. Conclusion..... | 28 |
| V. | Références bibliographique | 30 |
| VI. | Annexe..... | 31 |



Introduction

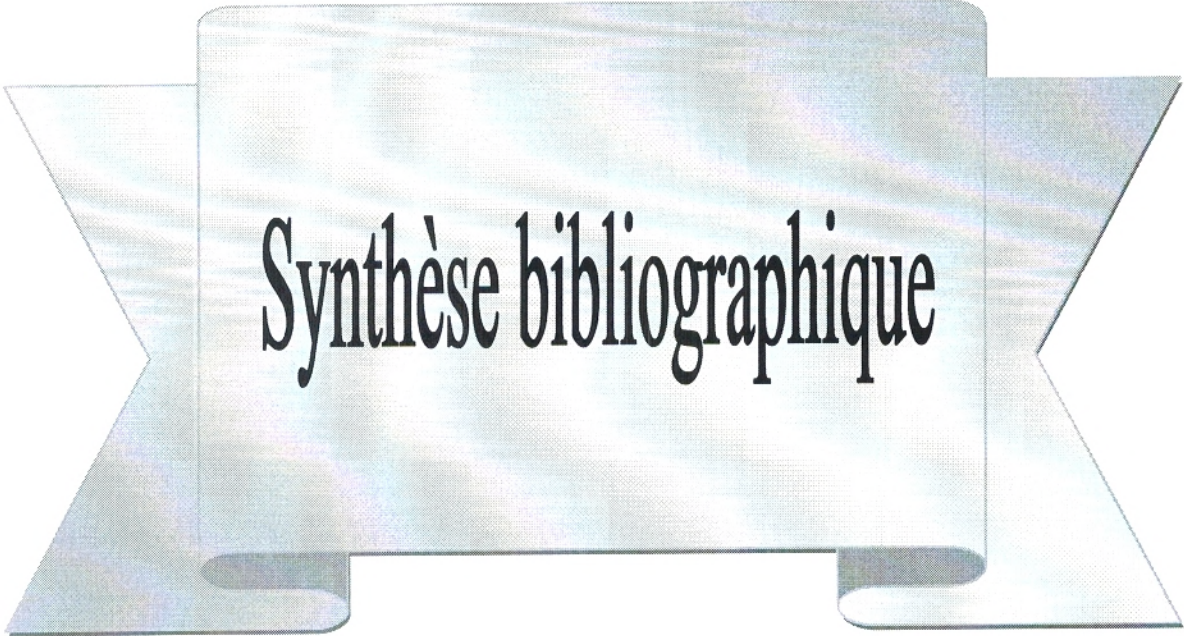
L'hémodialyse est un acte invasif et impose un accès vasculaire itératif, soit sur fistule artério-veineuse (FAV) native ou prothétique, soit sur cathéter veineux central (CVC) qui sont des outils incontournables en hémodialyse. Toute séance d'hémodialyse comporte le risque de transmission d'un micro-organisme pathogène à chaque niveau du processus d'épuration : eau de dialyse, solutions concentrées, générateur, lignes et accès vasculaires.

En hémodialyse, deux types d'infection sont d'importance prédominante en termes de morbidité et mortalité et font l'objet prioritairement de surveillance épidémiologique. Ce sont les infections sur accès vasculaires et les bactériémies (**Dialin ,2008**), notamment les patients hémodialysés sont caractérisés par une fréquence élevée de complications infectieuses et une mauvaise réponse à la vaccination et aux comorbidités nombreuses (diabète, cardiovasculaires, hémopathies, cancers...) à cause d'altération de leur fonctions immunitaires

L'infection chez l'hémodialysé est un risque permanent lié à l'utilisation de tout cathéter veineux d'hémodialyse elle représente 50 à 70% des motifs d'ablation des cathéters. Elle est probablement la complication la plus fréquente des cathéters en dehors des problèmes de débit, des thromboses et des sténoses des veines centrales. . Elle résulte de la présence d'un matériau étranger implanté dans une veine favorisant la fixation des germes dans l'environnement à l'émergence des cathéters. Il s'agit des infections nosocomiales les plus fréquentes d'hémodialysés (**Faissal et al., 2006**).

L'objectif de notre travail est :

- De détecter l'infection liée aux cathéters au service de néphrologie dans l'unité d'hémodialyse au niveau de CHU de Tlemcen
- D'évaluer la contamination des CVC chez les patients hémodialysés
- De tester la résistance à la méthicilline des souches de *Staphylococcus aureus* isolées des cathéters



Synthèse bibliographique

1. Généralités :

1.1. Abords vasculaires pour hémodialyse :

Un abord vasculaire est indispensable pour la prise en charge de l'insuffisance rénale aiguë. En général deux voies d'abord sont incontournables (**Couchoude *et al.*, 2008**):

- Les CVC 16,5%
- Les FAV 78,1%
- Autres abords 5,4 %

Les données récentes indiquent que 15 à 30 % des patients porteurs d'une insuffisance rénale chronique débutent l'hémodialyse chronique à partir d'un cathéter veineux central, comme premier accès vasculaire (**Canaud *et al.*, 2005**). La prévalence de son utilisation en dialyse est variable dans les pays occidentaux : 7% au Japon, 15% en France, 25% aux Etats-Unis et 39% au Canada (**Faissal *et al.*, 2006**).

1.1.1. Cathéters veineux centraux :

Un cathéter veineux central est un tube artificiel flexible qui est habituellement inséré dans une grosse veine de poitrine. Il arrive aussi que le cathéter soit inséré dans une veine du cou, de l'aîne ou du dos. Chaque cathéter veineux central comporte deux ouvertures appelées « port » ou « branche ». Une des ouvertures permet de faire sortir le sang de corps afin qu'il puisse être purifié par l'appareil de dialyse, tandis que l'autre ouverture permet de ramener le sang purifié dans l'organisme. L'endroit où s'insère le cathéter dans la peau se nomme le « point d'émergence ».

Les CVC d'hémodialyse sont de deux types :

- Les cathéters de courte durée (ou temporaires), utilisés en moyenne de 7 à 14 jours (**Canaud *et al.*, 2004**);

Ce sont des cathéters non tunnelisés utilisés temporairement, souvent en urgence, en attendant la création d'une fistule artério-veineuse native ou synthétique.

- Les cathéters de longue durée (ou permanents = tunnelisés), utilisés de quelques jours à plusieurs mois ou années.

Les cathéters tunnelisés, pourraient représenter une alternative intéressante en offrant l'avantage d'une utilisation plus prolongée avec un risque infectieux et thrombotique moindre (**Doukkali, 2012**).

a. Les cathéters tunnelisés :

Les cathéters chroniques tunnelisés partagent des caractéristiques communes :

Ils comportent deux branches d'une longueur voisine de 30 cm de long dont 10 cm est tunnelisés sous la peau ; ils sont faits de tubes en polymère synthétique dont la lumière interne est de gros diamètre ; ils comportent un système de fixation et d'amarrage sous-cutané ; ils ont des extrémités distales (mono- ou multiperforées) situées à la jonction veine cave supérieure-oreillette droite pour les cathéters thoraciques. La spécificité des cathéters tient essentiellement dans la nature du polymère utilisé, dans la stylisme et la géométrie proprement dite des cathéters (cathéters à double-lumière, double-cathéter, cathéter double-lumière séparable...) (**Figure 1**) dans le traitement de surface du matériau ou dans le système d'amarrage ou de connexion externe.

Selon la géométrie on distingue :

- Un cathéter monolumière avec un flux sanguin alternatif, de moins en moins utilisé en urgence;
- Un cathéter bilumière qui est le type habituellement utilisé en hémodialyse, possède deux lumières séparées, l'une pour prélever le sang dans l'organisme et l'autre pour l'y réintroduire après la dialyse.
- Deux cathéters monolumière insérés sur deux veines différentes ou sur la même veine avec des orifices d'aspiration et de restitution du sang éloignés d'au moins 2.5 cm sont abandonnés (**Doukkali, 2012**).

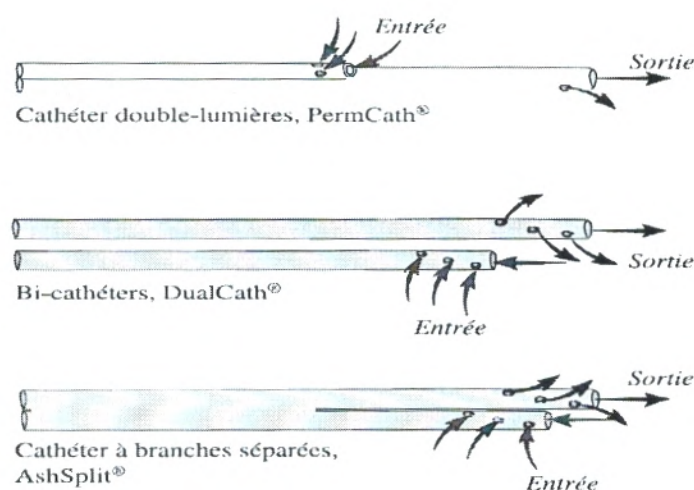


Fig 1: différents types de cathéters centraux d'hémodialyse

b. Sites d'implantation :

Les sites d'implantation des KTVC permanents sont les trois voies veineuses classiques. La voie jugulaire interne, surtout droite, est privilégiée par la majorité des auteurs et constitue la voie de première intention dans les recommandations américaine sur les KTVC (Aissata, 2007).

- **La voie jugulaire interne :**

Elle est largement utilisée depuis les années 80. Les KT souples (simple lumière, double lumière ou double KT) sont implantés par voie jugulaire basse (coté externe du triangle de Sédillot). La tunnellisation sous cutanée est la règle habituelle. Elle fait sortir le KT dans la région pré thoracique, permet plus de confort et de sécurité pour le patient, et réduit le risque infectieux. Elle est conseillée lorsque la durée d'utilisation dépasse 3 semaines (recommandation américaine) (Aissata, 2007). Par ailleurs, l'extrémité des KT doit être décalée de 2 à 3 cm, et positionnée dans l'oreillette droite. La voie jugulaire interne est conseillée lorsque l'indication d'hémodialyse est retenue pour une période supérieure à 10 jours.

- **La voie sous-clavière :**

Elle a été très utilisée avant les années 80, mais est maintenant presque abandonnée, aussi bien pour les KTVC d'urgence que pour les KTVC permanents, en raison du risque de sténose et de thrombose des veines sous-clavières (surtout décrit avec les KT semi rigides, peu hémocompatibles). L'implantation et la tunnellisation par voie sous-clavière sont plus difficiles, et présentent une morbidité plus élevée que par la voie jugulaire interne. La voie sous-clavière reste une voie de recours en cas d'impossibilité de cathétérisme des veines jugulaires (Aissata, 2007).

- **La voie fémorale :**

Elle conserve des indications larges en tant qu'accès vasculaire d'urgence. L'insertion d'un KT fémoral se fait sous anesthésie locale avec des conditions d'asepsie optimales. Elle est en générale facile, quelque soit l'état du patient, et permet de débiter l'hémodialyse en moins d'une demi-heure. Les KT fémoraux permanents sont peu utilisés et doivent être tunnelisés. Ils représentent 3% des KTVC permanents en France (Aissata, 2007). C'est une solution qui doit rester exceptionnelle et transitoire car le risque infectieux et thrombotique est important.

1.1.2. Fistule artério-veineuse :

La répétition indéfinie des séances d'hémodialyse impose de disposer d'un accès vasculaire permanent permettant la connexion du patient au circuit sanguin du dialyseur lors de chaque dialyse. C'est à Scribner que revient le mérite d'avoir conçu en 1960 le premier abord vasculaire pour le traitement de l'urémie chronique, sous forme d'un court circuit artério-veineux externe. Ultérieurement, la FAV interne proposée par Cimino et Brescia est devenue l'abord vasculaire le plus utilisé en raison de sa grande longévité.

La FAV est une anastomose d'une artère et d'une veine le plus souvent radiale ou humérale. L'intervention peut se faire sous anesthésie générale ou anesthésie locale (selon l'état général du patient)

- Le choix de la pose de la FAV se fait sur le bras non dominant
- La FAV est située à l'avant bras (le plus distal possible), afin de préserver au maximum le capital vasculaire du patient, au cas où une réfection ultérieure de la fistule serait nécessaire
- La FAV provoque une augmentation du réseau veineux, une augmentation de la pression et une augmentation du débit sanguin. Ainsi qu'un épaissement de la paroi qui permet les ponctions répétées de cette veine artérialisée.
- La cicatrisation de l'anastomose et la dilatation de la veine artérialisée nécessitent un certain délai de 3 à 4 semaines pouvant aller jusqu'à plusieurs mois. Il est donc important de créer la fistule suffisamment à l'avance par rapport à la date prévue de l'hémodialyse.

La fistule artério-veineuse peut être réalisée à l'aide d'une veine et d'une artère (fistule type Brescia-Cimino) ou par interposition d'une prothèse vasculaire synthétique (fistule prothétique-tube droit ou boucle) au niveau du bras ou de l'avant-bras (**Mouton, 2003**).



Fig 2: Fistule artérioveineuse native de Brescia Cimino (**Mouton, 2003**)



Fig 3 : Fistule artérioveineuse par matériel prothétique (**Mouton, 2003**)

La durée de vie d'une fistule n'est malheureusement pas infinie et cette dernière peut nécessiter des corrections, des changements, des prolongations, voire la confection d'une

nouvelle fistule. Cette intervention est prise en charge par l'assurance obligatoire des soins (Mouton, 2003).

2. Les infections liées aux cathéters veineux centraux :

2.1. Définitions :

2.1.1. Infection nosocomiale :

L'infection nosocomiale, également connue sous le nom d'infection acquise à l'hôpital ou infection associée aux soins de santé, est toute infection acquise à l'hôpital cliniquement et/ou microbiologiquement identifiable au cours d'une hospitalisation, d'une consultation ou de tout autre acte pratiqué à l'hôpital [(Auby, 1995) ; (Breathnach, 2009)].

En pratique, un délai de 48 heures et plus séparant l'entrée dans la structure de soins et la survenue de l'infection est nécessaire pour affirmer son caractère nosocomial (Carlet, 2002).

Les infections nosocomiales d'origine bactériennes exposent les patients à un grand problème de santé notamment les immunodéprimés comme le cas des hémodialysés.

2.1.2. Définitions basées sur des critères cliniques (Faissal *et al.* , 2006) :

- **Bactériémie liée au cathéter :**

Bactériémie ou fongémie chez un patient avec un cathéter IV qui a, au moins, une hémoculture positive effectuée dans une veine périphérique et des manifestations cliniques infectieuses (fièvre, frissons, et/ou hypotension) sans autre source d'infection apparente sauf le cathéter. Au moins un des signes suivants doit être présent:

- Une culture semi-quantitative positive (> 15 UFC/KT)
- Avec le même micro-organisme (espèce et antibiogramme) dans le cathéter et l'hémoculture.

- **Infection du site d'émergence / Colonisation cutanée:**

L'infection du site d'émergence est définie par la présence d'un érythème ou induration du site d'émergence, en l'absence d'une bactériémie concomitante. La colonisation cutanée est définie comme une croissance significative d'un micro-organisme (> 15 UFC/KT) révélé par un écouvillonnage cutané positif.

- **Infection tunnelaire (tunnelite) :**

Sensibilité, érythème ou induration > 2 cm à partir du site d'émergence, le long du trajet sous cutané d'un cathéter tunnelisés en l'absence d'une bactériémie concomitante.

2.1.3. Définitions basées sur des critères microbiologiques :

- **Infection liée aux cathéters (ILC) :**

Une ILC est définie par la présence de micro-organismes à la surface interne et/ou externe du cathéter, responsables d'une infection locale et/ou générale (**Carrière et Marchandin, 2001**). L'infection est liée au cathéter si l'on est en présence d'un syndrome septique et d'une culture significativement positive de l'extrémité distale du cathéter (culture semi-quantitative de Maki $>$ ou $=$ 15 UFC/KT) associés à l'une ou l'autre des situations suivantes (**Carrière et Marchandin, 2001**) :

- Des hémocultures périphériques positives avec le même germe que celui isolé sur le cathéter. On parle alors d'infection liée aux cathéters bactériémique.
- Des hémocultures périphériques négatives et disparition du syndrome infectieux dès le retrait du cathéter. On parle d'infection liée aux cathéters non bactériémique.

L'infection du cathéter est, souvent, associée à la formation de biofilm qui sont des communautés microbiennes structurées caractérisées par les cellules sessiles qui sont attachées aux surfaces naturelles ou abiotiques et incluses dans une matrice de substance de polymère extracellulaire, telle que des glycoprotéines et des polysaccharides, produites par ces cellules elles-mêmes [(**Ramage et al .,2002**) ; (**Ten Cate et al ., 2009**)].

- **Contamination du cathéter :**

Une contamination du cathéter est définie par la présence d'une culture bactérienne positive mais non significative de l'extrémité distale du cathéter, en l'absence de signes locaux ou généraux d'infection. La culture semi-quantitative de Maki est alors inférieure à 15 UFC/KT (**Carrière et Marchandin, 2001**).

- **Colonisation du cathéter :**

La colonisation se définit par une culture de l'extrémité distale du cathéter positive en quantité significative, en l'absence de signes locaux (pus ou cellulite) ou généraux d'infection attribuables au cathéter. Par conséquent, on retrouve dans ce cas plus de 15 UFC/KT par la méthode semi-quantitative de Maki. L'ablation du cathéter ne change en rien l'évolution du syndrome infectieux, la colonisation pouvant provenir d'un foyer septique situé à distance (**Carrière et Marchandin, 2001**).

2.2. Physiopathologie des infections liées aux cathéters veineux centraux :

2.2.1. Epidémiologie bactériologique :

L'épidémiologie des ILCVC fait l'objet d'une riche littérature, notamment motivée par le recours de plus en plus fréquent aux accès vasculaires à la fois dans un but diagnostique et thérapeutique.

Il est difficile de parler d'épidémiologie sans parler des germes les plus souvent responsables des infections de cathéters. Lorsque les données bactériologiques sont rapportées, ce qui n'est pas toujours le cas, le *Staphylococcus aureus* est le plus fréquemment cité (**tableau 1**). Dans plus de 75% des études il est responsable de la majorité des infections liées aux cathéters, ce qui représentent entre 35 à 80% des germes de bactériémie ou d'infection locale. Beaucoup plus rarement, le Staphylocoque non aureus est cité comme principal responsable mais arrive le plus souvent en deuxième position. Les bacilles gram négatif arrivent loin derrière en troisième position (**Faissal *et al.*, 2001**).

L'origine du germe reste fréquemment endogène. Les analyses microbiologiques montrent que le germe responsable de la bactériémie est identique au germe de colonisation cutanée dans 30 à 50% des cas. Cette colonisation est fréquente puisqu'elle concerne plus de 50% des patients selon les études. Une bactériémie due au même germe survient ensuite dans 50% des cas. Ceci a été rapporté pour des cathéters de dialyse non tunnelisés pour le court terme (**Faissal *et al.*, 2006**).

En hémodialyse, le portage nasal et la colonisation du site d'émergence du cathéter constituent de puissants facteurs de risque de bactériémies à *Staphylococcus aureus* (**Faissal *et al.*, 2006**).

Tableau 1 : Principales études rapportant la prévalence des infections à *Staphylococcus aureus* en dialyse

| Auteurs | Année | % d'ILC à SARM |
|------------|-------|----------------|
| Gibson | 1991 | 72% |
| Dryden | 1991 | 56% |
| Bambauer | 1994 | 50% |
| De Meester | 1994 | 80% |
| Hung | 1995 | 33% |
| Nielsen | 1998 | 59% |
| Taylor | 1998 | 53% |
| Karaitis | 1999 | 60% |
| Beathard | 1999 | 35% |
| Saad | 1999 | 50% |
| Faissal | 2005 | 33% |

- **Portage nasal :**

Le portage nasal de staphylocoque joue un rôle important dans l'épidémiologie et la pathogenèse des infections chez les malades hémodialysés. Le passage de la colonisation de staphylocoque de la muqueuse nasale vers la circulation sanguine est considéré comme la source potentielle d'invasion bactérienne chez ces patients qui nécessitent un abord vasculaire pour des périodes prolongées (**Kahn, 2005**).

2.2.2. Les voies de contamination du CVC :

L'infection liée aux cathéters constitue la principale complication des cathéters quel que soit le type du matériel, le lieu d'hospitalisation du patient ou la pathologie ayant nécessité sa mise en place (**Carrière et Marchandin, 2001**).

Sur le plan physiopathologique, l'infection liée aux cathéters est précédée par la colonisation de l'extrémité distale du cathéter. Il est classique de définir trois voies de contamination du cathéter (**Carrière et Marchandin, 2001**) :

- **Contamination de la face externe du cathéter :**

Elle peut survenir au moment de la pose du cathéter. Le plus souvent, on observe une colonisation sous-cutanée secondaire du cathéter. Dans les deux cas, la contamination se fait à partir de germes provenant du point d'entrée cutané du cathéter. Cette flore peut être la propre flore cutanée du patient ou une flore ayant colonisé son revêtement cutané (exemple mains du

personnel soignant). Cette voie de contamination dite extraluminale est la plus fréquemment rencontrée (**Carrière et Marchandin, 2001**).

- **Contamination de la lumière interne du cathéter :**

Elle survient lors des manipulations des raccords à l'occasion des divers branchements (voie du « hub»). Les dispositifs sont colonisés soit par la flore cutanée du patient par contiguïté, soit par le personnel soignant (**Carrière et Marchandin, 2001**). Cette voie de contamination dite endoluminale (ou intraluminale) est liée essentiellement aux cathéters centraux de longue durée, et en particulier, ceux pour nutrition parentérale, chimiothérapie et hémodialyse (**Carrière et Marchandin, 2001**).

- **Colonisation de la portion intravasculaire du cathéter :**

Elle survient à partir d'un foyer infectieux situé à distance, au cours d'une bactériémie ou d'une septicémie (**Brun-Buisson et al, 1987**).

L'étape initiale des infections sur cathéters intravasculaires correspond au dépôt d'un film protéique et plaquettaire à la surface du cathéter. Ce derniers favorise l'adhésion et l'accumulation secondaire de microorganismes, de protéines et de plaquettes (**Soufir et Brun-Buisson, 1998**).

Quand le cathéter vasculaire est colonisé, l'adhésion à cette surface représente la source initiale de l'infection. Celle-ci fait suite à une période de colonisation du matériel étranger à partir de la peau (**Gallien et al, 2007**).

La source extraluminale de l'infection prédomine dans des cathéters placés pour une courte durée, tandis que la source intraluminale prédomine pour une longue durée (**Safdar et Maki, 2004**).

En 2004 Safdar et Maki ont montré que sur 25 infections liées aux cathéters à courte durée, 15 sont d'une source extraluminale, 3 d'une source intraluminale, et 7 d'autres sources. En revanche, en 1993, Segura et ses collaborateurs, ont menés une étude de 24 infections liées aux cathéters à longue durée. Ils ont montré que 5 sont d'une source extraluminale, 16 d'une source intraluminale et 2 d'autres sources. Un cas provient de la voie hématogène du cathéter.

2.2.3. Les mécanismes de colonisation et formation de biofilm :

L'infection liée au CVC correspond à une bactériémie dont le point de départ est ce dispositif médical. Implanté dans l'organisme, ce matériel représente un corps étranger pour les défenses immunitaires et un support remarquable pour l'adhésion et la croissance d'un certain nombre de micro-organismes.

Les bactéries viennent coloniser le manchon fibrineux qui tapisse rapidement la portion intravasculaire du CVC sur sa lumière interne comme sur sa surface externe. Cette étape de colonisation implique une relation complexe entre le biomatériau, les protéines de l'hôte tapissant le biomatériau et les adhésines bactériennes responsables de la liaison des microorganismes au biomatériau. Le processus d'adhérence initial fait appel à des phénomènes électrostatiques non spécifiques et surtout à l'hydrophobicité commune à certaines souches d'agents infectieux et à la majorité des biomatériaux actuellement disponibles. Une corrélation linéaire directe a été montrée entre le degré d'hydrophobicité des SCN et leur adhésivité aux cathéters en téflon et polyuréthane (**Kahn, 2005**).

Secondairement, certaines adhésines et récepteurs spécifiques de la paroi bactérienne, tels que la fibronectine, la laminine, la fibrine, le collagène et des immunoglobulines, recouvrent l'extrémité du cathéter et, dans le cas des SCN réagissent avec le slime (ou glycocalix) produit par de nombreuses souches de cette espèce bactérienne. Ainsi est créé un microenvironnement susceptible d'altérer les défenses immunitaires de l'hôte à proximité du matériel étranger. Fler et al ont montré que survenait une diminution de l'activité opsonisante du plasma, une perte des propriétés chimiotactiques des polynucléaires ; ceci concourant à diminuer l'activité bactéricide des macrophages et des polynucléaires, prolongeant la présence d'un *inoculum* bactérien à croissance rapide et augmentant finalement le risque bactériémique lié au CVC (**Kahn, 2005**).

Le slime, complexe exopolysaccharidique, n'est que l'expression dans le milieu extracellulaire de la capsule bactérienne. Au contact du cathéter, il forme avec les adhésines spécifiques un biofilm, matériel amorphe hydrophile d'abord faiblement adhérent, qui rapidement fonctionne comme une adhésine complémentaire, encapsule les bactéries et provoque leur agrégation en micro-colonies. Le slime se comporte alors comme une barrière mécanique protectrice à l'égard de la phagocytose, de la flore compétitive et des antibiotiques.

Le rôle du matériau n'est pas négligeable. Les travaux de Rotrosen et al. et Asshkenazy et al. ont clairement démontré l'avantage théorique de l'élastomère de silicone et de polyuréthane sur le téflon et le PVC. En fait, l'interaction entre microorganisme et biomatériau dépend de multiples facteurs dont 2 méritent une attention particulière :

Les bactéries adhèrent préférentiellement au niveau des altérations de la surface interne ou externe des cathéters, comme l'ont montré les travaux en microscopie électronique à balayage de Peters et al. C'est pourquoi l'obtention par l'industrie de matériaux parfaitement lisses est actuellement l'objet d'intenses recherches (**Kahn, 2005**).

Des études ont démontré que l'adhérence bactérienne est accrue par certains composants

plasmatiques qui se comportent comme des adhésines, dont les plus importants semblent être le fibrinogène et la fibronectine (**Kahn, 2005**).

2.3. Facteurs de risque infectieux :

La littérature est très riche en publications étudiant les différents facteurs de risque d'infections des cathéters veineux centraux. Cependant, la mise en évidence d'un facteur de risque est dépendante du type d'étude réalisée, de la qualité de l'échantillon et de sa représentativité. Le risque infectieux varie largement en fonction du terrain des patients, du type de matériel utilisé, de la localisation des CVC, de la durée de cathétérisme, du mode et du lieu d'utilisation des CVC, des critères d'infections pris en compte.

2.3.1. Les facteurs de risque liés au patient :

- Ages extrêmes (< 1 an et > 60 ans).
- Sexe masculin (**Guidet, 2003**).
- Score de gravité en réanimation.
- Immunosuppression (acquise ou congénitale).
- Sévérité de la pathologie sous-jacente (**Letulzo et al., 1994**) .
 - Existence d'autres foyers infectieux ou d'un syndrome septique
 - Durée d'hospitalisation avant la pose du CVC (modification de la flore cutanée)
- Cancer (terrain)
- Intervention chirurgicale dans le mois précédent (**Guidet , 2003**).

2.3.2. Les facteurs de risque liés aux CVC :

- **Le matériau** : le polyuréthane est le matériau le moins thrombogène (**Guidet , 2003**), or il existe des arguments physiopathologiques forts pour penser que la thrombose favorise l'infection.

- **Le nombre de lumières** : les études sur le risque infectieux lié au nombre de lumière sont contradictoires. Les CVC multi-lumières semblent associés à un risque plus élevé. Deux études ont été menées en réanimation, l'une concluant que le risque était identique, l'autre concluant à un risque d'infection statistiquement plus importants pour les CVC triple-lumières (**Kahn, 2005**).

- **Les sites d'insertion** : ils représentent des risques infectieux différents.


La thrombogénicité des différents sites n'est pas équivalente. Le risque de thrombus est plus élevé au niveau des veines fémorales et superficielles qu'au niveau des veines profondes du territoire cave supérieur. Des études de facteurs de risque infectieux ont retrouvé de façon

constante un risque deux à trois fois plus élevé et significatif en cas d'insertion jugulaire et fémorale plutôt que sous-clavière (**Guidet, 2003**). D'autres études, descriptives, ont suggéré que le site fémoral exposait à un risque plus élevé que le site sous-clavier ou jugulaire. L'utilisation de la voie sous-clavière permet une réduction des infections et des thromboses par rapport à l'utilisation de la voie fémorale.

La colonisation cutanée est variable selon les sites. La colonisation bactérienne est plus élevée à l'aîne, qu'au cou et qu'à l'épaule. Les bactéries colonisantes étant d'ailleurs différentes suivant les sites : entérocoques, entérobactéries et *Pseudomonas* à l'aîne.

Clementi et coll. ont montré que parmi 18 facteurs de risque potentiels, le site jugulaire interne est associé à un risque d'ILCVC 10 fois plus élevé que pour le site sous-clavier, toutes les caractéristiques des CVC étant identiques par ailleurs (**Kahn, 2005**).

- **La durée de cathétérisme** : Le nombre d'infection augmente logiquement avec la durée de maintien du cathéter. Le risque infectieux est multiplié par 2 après 4 jours de maintien, par 4 après 7 jours et par 7 après 14 jours (**Letulzo et al., 1994**) Cependant le risque instantané semble stable au cours des deux premières semaines, alors qu'il augmente par la suite.



Matériel et méthodes

1. Lieu d'étude

Ce travail est réalisé au laboratoire de Microbiologie Appliquée l'Agro-alimentaire, Au biomédical et à l'Environnement (**LAMAABE**).

2. Prélèvements

De Juillet 2012 à Mai 2013, des prélèvements de cathéters ont été recueillis sur des patients hémodialysés portant un cathéter veineux central au service de néphrologies du CHU Tlemcen (Tidjani Damerdji).

Les prélèvements des cathéters étaient réalisés par **Dr Grari R.** médecin en néphrologie, les KTVC retirés des patients sont coupés à leurs extrémités distales (d'environ 3 à 5 cm de longueur) par un bistouri stérile et mis directement dans un tube stérile contenant 5 ml de bouillon nutritif.

3. Isolement et purification

Les différents prélèvements effectués sont acheminés tout de suite au laboratoire de microbiologie. Selon la méthode de Brun Buisson les tubes sont vortexés pendant une minute, puis ils sont marqués et incubés à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

La méthode de Brun-Buisson ou culture quantitative de Cléri simplifiée permet la culture des micro-organismes présents à la surface externe et dans la lumière du cathéter (**Espinasse et al, 2010**).

A partir des tubes présentant un trouble, 0.1ml est ensemencé sur des boîtes pétri contenant milieux sélectifs :

- **Milieu Macconkey :**

Pour l'isolement des Entérobactéries et des Pseudomonas, ce milieu permet l'inhibition de la flore à Gram négative grâce à leur constitution en sels biliaires et cristal violet, et la mise en évidence de caractère lactose (+) et (-) grâce à la présence d'un indicateur coloré (rouge neutre). L'incubation sera à 37°C pendant 18-24 h (**Prescott et al., 2008**).

- **Milieu Chapman :**

La gélose Chapman - Mannitol Salt Agar est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Il permet également de différencier les espèces fermentant le mannitol de celles qui ne le fermentent pas.

La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de chlorure de sodium qui inhibe la plupart des bactéries à Gram (+) et à Gram (-). La différenciation des Staphylocoques est

basée sur leur capacité à fermenter ou non le mannitol. S'il y a fermentation, cela induit une acidification qui entraîne une coloration jaune du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH) (Leyral et Vierling, 2007).

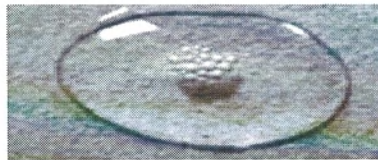
4. Identification,

Dans notre série l'identification a été basée sur le test de catalase, d'agglutination (Pastorex) pour l'identification des **S.A.**, la Galerie **API Staph** pour les souches isolées de milieu de Chapman, et par la Galerie **API 20 E** pour les souches isolées de milieu de Macconky.

4.1. Test de catalase

La catalase est une enzyme qui à la propriété de décomposer l'eau oxygénée (H_2O_2) avec dégagements d'oxygène.

Sur une lame stérile, on dissocie une anse de culture dans une goutte d'eau oxygénée à 10 volumes. La réaction positive se traduit par l'effervescence.



4.2. Test d'agglutination

4.2.1. Principe :

PASTOREX STAPH-PLUS est un test rapide d'agglutination sur lame pour la détection simultanée du facteur d'affinité pour le fibrinogène (Clumping factor), de la protéine A, et des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

La capacité de réactif PASTOREX STAPH-PLUS à reconnaître les polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*, lui permet d'identifier avec une très grande sensibilité aussi bien les souches de SARM qui sont de plus en plus responsables d'infection nosocomiale grave.

4.2.2. Ensemencement :

- Bien homogénéiser les réactifs Latex.
- Déposer une goutte de réactif latex test dans un des cercles de la carte d'agglutination.
- Déposer une goutte de réactif Latex témoin négatif

- Prélever une colonie de dimension moyenne avec une ôse et l'émulsionner dans la goutte de Latex pendant 10 secondes.
- Procéder de la même façon pour le Latex témoin négatif.
- Homogénéiser par rotation douce de la carte et observer durant 30 secondes en tenant la carte sous un éclairage normal, puis effectuer la lecture (**Annexe**).

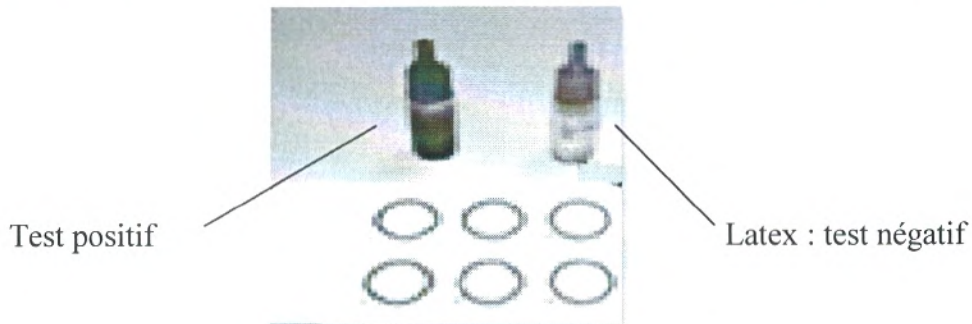


Fig 7 : Réactifs Latex



Fig 5 : Aspect négatif

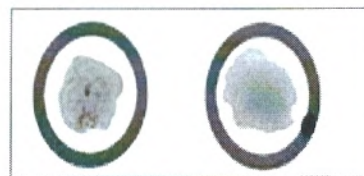


Fig 6 : Aspect positif

4.3. Galerie API

Est une galerie utilise plusieurs types de tests : étude de la fermentation de divers glucides, auxanogramme, recherche directe d'une enzyme.

4.3.1. Principe

Chaque tubule contient un substrat différent sur lequel le micro-organisme considéré va réagir. Ils sont remplis d'une suspension bactérienne calibrée (de densité différente selon la galerie). La galerie est lue conformément aux indications du fabricant et codée. Pour cela, les tests sont groupés par trois successivement de gauche à droite, les derniers triplets pouvant inclure des caractères bactériens comme la morphologie, le Gram, la mobilité, l'oxydase, la catalase, etc. qui ne sont étudiés dans la galerie mais qui sont indispensables à son interprétation. Les tests négatifs sont toujours codés 0 alors que le code affecté aux tests positifs varie selon la position du test dans le triplet : 1 pour le premier test, 2 pour le second, 4 pour le troisième. Les 3 résultats du triplet sont additionnés (il existe seulement huit possibilités pour la somme d'un triplet : 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7). Les sommes de chaque triplet lues de gauche à droite forment un code d'au moins 7 chiffres qui correspond au profil biochimique du micro-organisme étudié. La comparaison de ce code à ceux référencés dans les

normes universel permet en général d'identifier ce micro-organisme. Si le code numérique obtenu ne figure pas dans cette base de données, il peut s'agir d'un profil ou d'un micro-organisme non référencé, un problème technique (inoculum non respecté, paraffine oubliée, réactifs périmés, etc.) ou une mutation lors du développement bactérien. Les réactions produites pendant la période d'incubation (18h – 24-48 heure à 37 °C) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

4.3.2. Technique :

- **Préparation de l'inoculum**

A l'aide de pipette pasteur stérile, on prend une colonie isolée de milieu Mac Conkey et mettre dans un tube de 5 ml d'eau distillée stérile.

Pour l'identification des staphylocoques en préparant une suspension bactérienne dans l'ampoule API Staph Medium, avec une seule colonie prélevée sur milieu Chapman, Puis vortexer la suspension.

- **Préparation et inoculation de la galerie**

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau distillée stérile dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation à l'aide de pince stérile.
- A l'aide de pipette pasteur stérile remplir les tubules en ajoutant d'huile de paraffine dans les tubules soulignés, et remplissant les cupules des tubules encadrés afin de créer de l'anaérobiose.
- Incuber à 37°C pendant 24 h.

- **Lecture et interprétation**

Après incubation, la lecture de ces réactions est réalisée à l'aide du tableau de lecture. L'identification des souches est obtenue à l'aide du tableau d'identification du catalogue analytique.

5. Test de la résistance à la méthicilline

Toute souche S.A isolée soit des CVC ou des portages nasaux est testée par la méthode de diffusion des disques d'antibiotique sur la gélose MH.

Principe

La technique consiste à utiliser des disques de papier imprégnés des antibiotiques à tester qui seront déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de la bactérie à étudier. Chaque antibiotique diffuse à partir du disque au sein de gélose et y détermine un gradient de concentration. Les bactéries croissent sur toute la surface de la gélose sauf là où elle rencontre une concentration d'antibiotique suffisante qui inhibe leur croissance. L'observation autour des disques d'une zone circulaire indemne de colonies bactérienne, appelée zone d'inhibition, permet de classer la souche étudiée en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistante (R) en comparant le diamètre d'inhibition à des valeurs critiques établies expérimentalement et diffusées par le Comité Français de l'Antibiogramme de la Société française de Microbiologie.

Technique

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion sur milieu gélosé Muller-Hinton selon les normes du comité de l'antibiotique de la société française de microbiologie (CASFM, 2012).

- A partir d'une culture bactérienne de 18-24 heures sur milieu gélose, on réalise une suspension en ensemencement une colonie dans 5 ml de BHIB incubé 24 h à 37°C ;
- Calibrer la densité optique (DO) de la culture obtenue à une DO de 0,08-0,1 à une longueur d'onde de 625nm, qui correspond à 10^8 UFC/ml ;
- A partir de cette culture, on effectue une dilution au 1/10 ($\approx 10^7$ UFC/ml) dans de l'eau physiologique.

Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne ;
- L'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube, charger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas en stries serrées.
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Application des disques d'antibiotique.

Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince stérile pour s'assurer de son application.

Sensibilité à la méticilline a été étudiée en utilisant soit:

- un disque d'oxacilline (5 μ g) sur le milieu MH incubé pendant 24 à 48 h à 37°C, et considéré comme l'oxacilline sensible si le diamètre d'inhibition est supérieur ou égal à 20mm sans repousse.
- un disque de céfoxitine (30 μ g) qui est un meilleur substrat pour l'expression de la résistance à l'oxacilline. Observation a été réalisée 24 h d'incubation à 37°C sur milieu MH sans NaCl et considérées comme sensibles à l'oxacilline si le diamètre d'inhibition est supérieur ou égal à 27 mm. Les souches ont été classées comme sensibles (S) ou résistants (R) selon le Antibiogramme Microbiological Society française Comité (CA-SFM 2007).



Résultat et discussion

1. Patients :

Sur 57 patients ,62 prélèvements ont été effectués sur une période d'étude de 11 mois (Juin 2012- Mai 2013) au niveau de l'unité de dialyse du service de Néphrologie. CHU -Tlemcen.

Afin de connaître les facteurs de risque infectieux chez les hémodialysés les dossiers des patients dans notre étude sont regroupés selon :

- Sexe et âge des patients.
- Présence des complications ou comorbidités telque le diabète, cardiopathie, néoplasie, ...
- Développement des manifestations cliniques ou d'infection locale.
- Type et durée de cathétérisme.
- Cause d'ablation des cathéters.

La répartition des patients selon le sexe est de 39 hommes et 15 femmes dont le sexe ratio est de 2,6. Les hommes avaient des âges extrêmes de 17 à 87 ans, alors que l'âge des femmes était inclus entre 17 et 67 ans. 33 patients avaient des complications différentes, dont 2 sont diabétiques, 5 ont une cardiopathie, 1 patient a une néoplasie, 4 ont une néphropathie de reflux et 21 patients ont d'autres complications.

Les KT mis chez 56 patients étaient des KT doubles lumières et chez un autre patient était un KT simple lumière.

Sur l'ensemble des KT, 12 étaient insérés par voies jugulaire droit, 11 par voie fémorale. Chez 11 patients les KT sont mis en urgence.

Epidémiologie :

Durant la période d'étude, 40 prélèvements ont présentés des cultures positives, soit 15 des bactéries à Gram négatif et 35 des bactéries à Gram positif (Tableau 2).

Tableau 2 : Résultats des cultures de KTVC chez des patients hémodialysés –Service de néphrologie .CHU Tlemcen.

| Culture | Bactéries à Gram- | Bactéries à Gram+ |
|----------|-------------------|-------------------|
| Positive | 15 | 35 |
| Négative | 25 | 5 |
| Totale | 40 | 40 |

Sur les 40 prélèvements, 16 souches sont répertoriées. La plaque API 20 E a permis d'identifier 10 espèces à Gram-

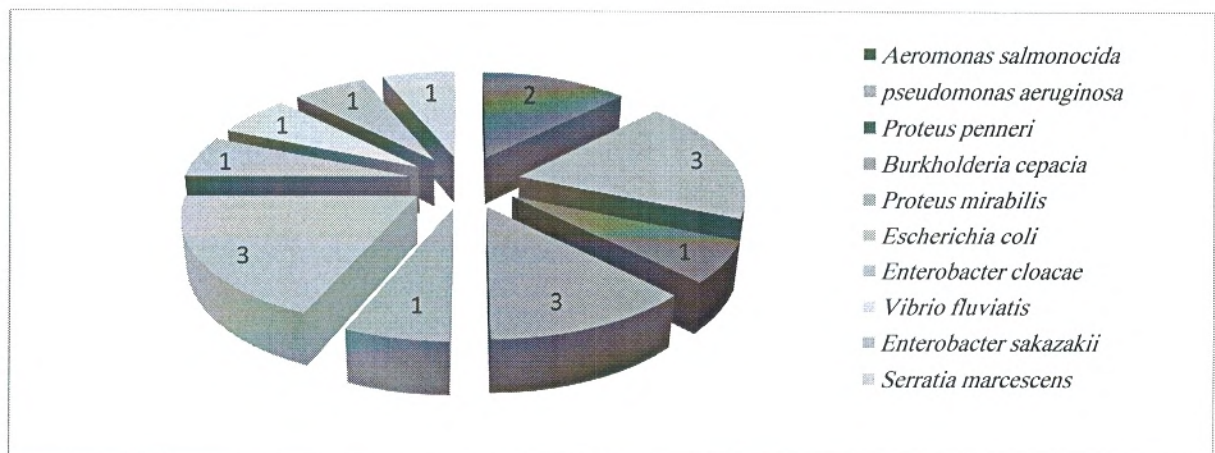


Figure 4: Répartition des souches à Gram négatif isolées des KTVC chez des patients hémodialysés –Service de néphrologie .CHU Tlemcen.

L'identification des bactéries à gram + par la galerie API Staph a donnée les espèces

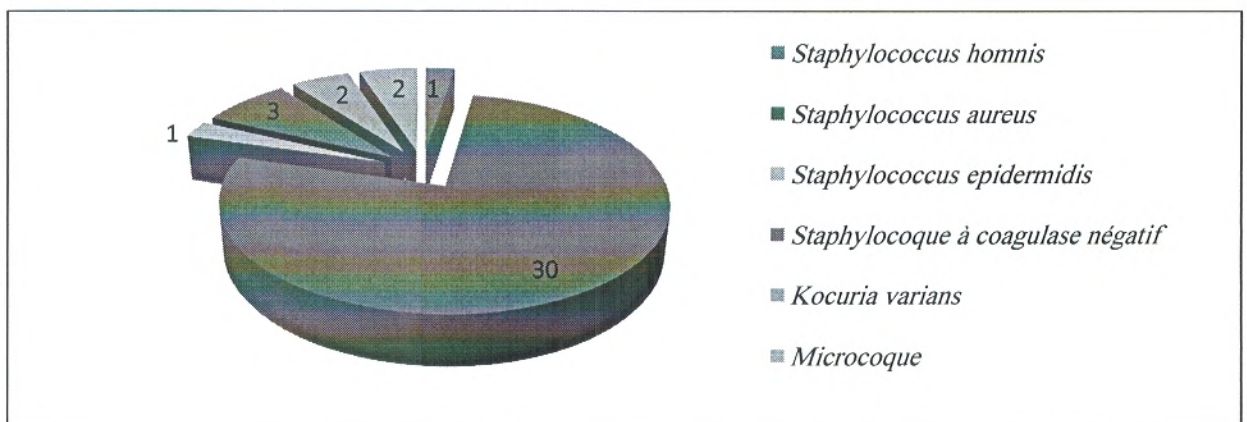


Figure 5: Répartition des souches à Gram+ isolées des KTVC chez des patients hémodialysés –Service de néphrologie .CHU Tlemcen.

- **Infection générale :**

Six infections générales ont été recensées (15%) dont les germes en cause étaient le *Staphylococcus aureus* chez 3 patients, *Enterobacter sakazakii*, chez un patient et *Escherichia coli* chez un autre. Ces résultats sont comparables aux ceux rapportés par Faissal et al en 2006 dans lesquels l'infection générale était due aux *Staphylococcus aureus* dans un cas, *Enterobacter cloacae* dans un deuxième cas et au *Candida albicans* dans un autre cas. Et parallèlement aux travaux de Doukali en 2012 où l'infection générale était dans 55,22% des cas due au *Staphylococcus aureus*, 7,90% à *Escherichia coli* et 7,90% à *Enterobacter faecalis*.

- **Infection locale**

Une infection d'orifice d'entrée avec des manifestations cliniques a été identifiée chez un patient dont le germe responsable était *Burkholderia cepacia*.

- **Colonisation du cathéter**

Trois cas de colonisation étaient identifiés dont les germes responsables sont des Staphylocoques à coagulase négative.

Les patients traités avec des cathéters sont ceux dont les comorbidités sont les plus importantes (57,89%). Pour presque toutes les pathologies considérées, la prévalence est plus importante chez les patients débutant l'hémodialyse avec un cathéter, qu'il s'agisse du diabète, des atteintes cardio-vasculaires, de la dénutrition ou des pathologies neurologique dégénératives.

Chez ces patients ayant d'importantes comorbidités, le fait d'être traités avec un cathéter représente un risque supplémentaire, à la fois au plan vital, infectieux, et pour le devenir des abords vasculaires définitifs (**Doukali, 2012**).

L'âge moyen des patients dialysés en situation d'urgence est très variable dans la littérature. Il se situe en général entre 40 et 80 ans chez les différents auteurs (**Doukali, 2012**). L'âge de nos patients se situe entre 17 et 87 ans.

La répartition selon le sexe a été caractérisée dans cette étude, par une nette prédominance masculine (68,42 %), ce qui a été rapporté dans plusieurs études. Et pourrait s'expliquer par une fréquence plus élevée des maladies rénales chez l'homme avec une progression plus rapide vers l'insuffisance rénale (**Doukali, 2012**).

Le NKF-K/DOQI (The National Kidney Foundation Kidney Diseases Outcomes Quality Initiative clinical practice guidelines) précise dans ses recommandations une utilisation de moins de 3 semaines pour les cathéters non tunnelisés : 5 jours au maximum en fémoral, 21 jours en jugulaire interne. Le dépassement des délais recommandés expose à plus de complications notamment infectieuses, et les infections étaient effectivement la complication la plus fréquemment observée dans notre étude. Ce qui n'est pas respecté pour la voie fémorale chez nos patients.

Notre étude montre que les recommandations de 2002 concernant les modalités de pose des CVC sont globalement connues et/ou appliquées. Sauf dans 11 cas d'urgence où le port des casaques, calot et/ou bavette n'est pas respecté. L'infection dans notre étude était la cause d'ablation des KT dans 10 cas, dont les autres cas d'ablation ont été dus soit aux décès, au transfert vers la dialyse péritonéal, pour la confection d'une FAV, soit pour d'autres raisons.

L'infection à *Staphylococcus aureus* est très dominante dans notre étude elle peut être due ou non à la flore commensale des patients, de même pour l'infection à *E.coli* notamment la voie d'insertion des KT dans les 3 cas identifiés chez nos patients était la voie fémorale.

2. Test de la résistance à la méthicilline :

La résistance à la méthicilline de 13 souches *Staphylococcus aureus* a été testée dont deux représentent une résistance totale (**tableau 3**).

Tableau 3 : résultat d'antibiogramme

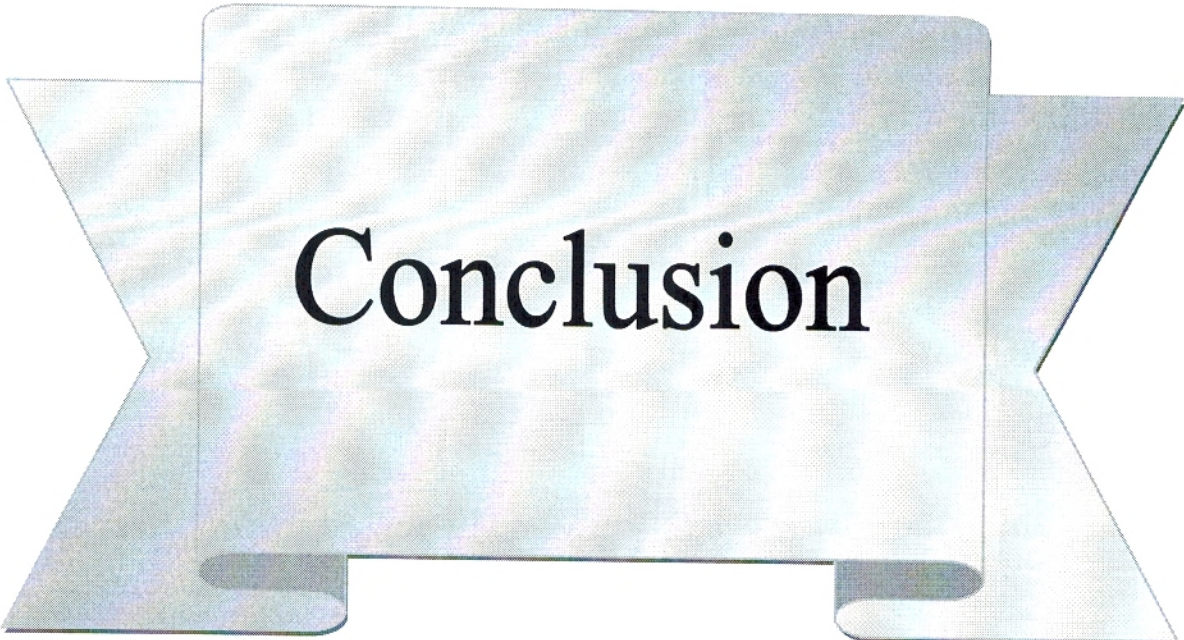
| Souches | Diamètres (mm) | résultats |
|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| S₁ | 33 | Sensible |
| S₂ | 7 | Résistante |
| S₃ | 7 | Résistante |
| S₄ | 32 | Sensible |
| S₅ | 29 | Sensible |
| S₆ | 41 | Sensible |
| S₇ | 31 | Sensible |
| S₈ | 36 | Sensible |
| S₉ | 39 | Sensible |
| S₁₀ | 31 | Sensible |
| S₁₁ | 31 | Sensible |
| S₁₂ | 33 | Sensible |
| S₁₃ | 33 | Sensible |

S : *Staphylococcus aureus*

Les *Staphylococcus aureus* peuvent développer différents types de résistance aux antistaphylococciques. Plus de 80 % des souches produisent une pénicillinase. L'oxacilline reste active contre ces souches, mais des staphylocoques hospitaliers et plus récemment communautaires ont développé une résistance croisée entre l'oxacilline et les autres bêta-lactamines par production d'une protéine liant les pénicillines (PLP) de faible affinité, la PLP2a. Cette dernière résistance est plus facilement décelée par le test de la céfoxitine. Trois enzymes sont responsables de l'inactivation des aminosides, chacune conférant un spectre spécifique de résistance. Les glycopeptides, vancomycine et teicoplanine, sont des alternatives à l'oxacilline en cas de résistance ou d'intolérance. Des souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides sont rapportées. Leur détection est difficile. La résistance aux macrolides est surtout liée à la production de méthylase qui modifie le ribosome, cible de ces antibiotiques. Deux phénotypes, inductible et constitutif, sont distingués par la méthode de diffusion en gélose. La résistance aux quinolones est liée à des mutations de la cible de ces antibiotiques, les topo-isomérases. Des résistances, encore rares, sont déjà rapportées. Les phénotypes associés de résistance se voient surtout chez

les *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM). Actuellement, la résistance à la méticilline est associée dans environ 90 % des cas de SARM hospitaliers à la résistance aux fluoroquinolones et au phénotype de résistance aux aminosides kanamycine-tobramycine. En revanche, les SARM communautaires ne sont résistants, outre à la méticilline, qu'à la kanamycine, à l'acide fusidique et souvent aux tétracyclines (**Claire et Roland, 2008**)

Ce caractère de multirésistance expose les patients à un grand risque notamment la capacité des *Staphylococcus aureus* de former un biofilm.



Conclusion

Les CVC d'hémodialyse sont indispensables à la bonne gestion d'un programme de suppléance de l'insuffisance rénale aiguë et chronique. Ils demeurent néanmoins une arme à double tranchant : d'un côté, ils permettent le traitement de suppléance des patients n'ayant pas d'accès vasculaire permanent ; de l'autre, ils représentent un facteur de risque indiscutable d'infection et de complications.

Le strict respect de règles d'asepsie lors de la mise en place et de la manipulation des CVC représentent les principaux éléments de prévention des complications infectieuses.

Leur utilisation doit être limitée en fréquence et en durée autant que possible. Pour diminuer les risques associés à leur usage en hémodialyse, il faudrait commencer par réduire l'incidence de l'utilisation des cathéters par un dépistage précoce des maladies rénales chroniques et une préparation de la FAV préalable à la mise en dialyse.

Notre étude représentait une première étape qui nous a permis d'avoir une idée sur l'épidémiologie des ILC dans le service de néphrologie de CHU de Tlemcen et de prendre conscience de l'ampleur du problème. L'étape suivante, après cette évaluation initiale, est une profonde réflexion de l'équipe soignante afin de proposer des solutions pratiques pour diminuer les infections nosocomiales. Les mesures d'hygiènes et notamment l'hygiène des mains (solution hydro-alcooliques) doivent être renforcées.

La formation continue du personnel paramédical doit être mise à jour. Des protocoles de prévention de ces infections nosocomiales adaptés à la réalité locale doivent être élaborés par l'ensemble de l'équipe. Enfin, l'étape suivante serait de réaliser une nouvelle évaluation des ILC après l'adoption de ces mesures et l'utilisation éventuelle des verrous antibiotiques et antiseptiques.

Enfin les infections liées aux CVC dans le service sont d'une fréquence mentionnée, pour cela nous nous adressons aux responsables de faire le point de connaissance sur la source de ces infections.



Références bibliographique

Références bibliographiques

1. **Auby J. M. (1995).** Les problèmes juridiques causés par les infections nosocomiales. *Hygiènes ; 8 : 42-48.*
2. **Bleichner G., Beaucaire G., Gottot S., Letulzo and al. (1994).** XIIe Conférence de consensus en réanimation et médecine d'urgence, 24 juin 1994: infections liées aux cathéters veineux centraux en réanimation. *Réan. Urg. ; 3: 321-30.*
3. **Breathnach A. S. (2009).** Nosocomial infections. *Elsevier. Medicine; 37: 10.*
4. **Brun-Buisson C., Abrouk F., Legrand P., Huet Y., and al. (1987).** Diagnosis of central venous catheter-related sepsis, critical level of quantitative tips cultures. *Arch. Intern. Med.; 147: 873-7.*
5. **Canaud B., Desmeules S., Klouche K., Leray-Moragues H., Beraud JJ. (2004).** Vascular access for dialysis in the intensive care unit. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol; 18(1): 159-174.*
6. **Carlet J. (2002).** Les infections liées aux soins médicaux. Chef du service de réanimation de polyvalente, Fondation hôpital Saint-Joseph, président du CTIN, Paris. *Adsp n° 38, 25-28.*
7. **Carrière C., Marchandin H. (2001).** Infections liées aux cathéters veineux centraux : diagnostic et définitions. *Néphrologie ; vol. 22 n° 8, pp. 433-437.*
8. **Carrière C., Marchandin H. (2001).** Infections liées aux cathéters veineux centraux: diagnostic et définitions. Laboratoire de bactériologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Montpellier. *Néphrologie Vol. 22 n° 8 2001, pp. 433-437.*
9. **Claire et Roland. (2008).** L'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*. *RFL- Revu Francophone des Laboratoires Vol 38 N°407 P 81-90.*
10. **Couchoud C., Lassalle M. Stengel B., Christian J., (2008).** Registre français des traitements de suppléance de l'insuffisance rénale chronique (Registre Epidémiologie Information Néphrologie). *Rapport annuel, N° 7. Agence de biomédecine. 176 p.*
11. **Dialin. (2008)** Rapport annuel du réseau de surveillance des infections en hémodialyse. *CCLIN Sud-Est, 2009, 46 p.*
12. **Doukkali B. (2012).** catheters veineux centraux temporaires pour hemodialyse. Thèse de Doctorat en médecine université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculte De Medecine Et De Pharmacie *Réanimation ; N°125/12.*
13. **Espinassea F., Pageb B., Cottard-Boullea B. (2010).** Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs *Revue Francophone Des Laboratoires - N°426.*

Références bibliographiques

14. **Faissal T., Khaled S., Jean Louis K. et al. (2006).** Hygiène des cathéters veineux centraux tunnelisés pour hémodialyse: pratique d'un service hospitalier. Service d'Hémodialyse, Hôpitaux Drôme Nord. *Romans sur Isère, France. PP : 293-294.*
15. **Gallien S., Sordet F., et Enache-Angoulvant A. (2007).** Traitement des candidémies chez un patient porteur d'un cathéter vasculaire, *Journal de Mycologie Médicale; 17 : 42-4.*
16. **Guidet B., Robert R., Wolff M., Leteurtre S. (2003) .** XII conférence de consensus en réanimation et médecine d'urgence. Paris. *Réanimation ; 12 : 258-265.*
17. **Kahn I. (2005).** Infection liées aux cathéters fémoraux en réanimation : comparaison de cathéters de dialyse et des cathéters veineux centraux. Thèse de Doctorat en médecine université Rene Descartes Paris. *Réanimation pp 10- 63.*
18. **Letulzo Y., Marty J., Bleichner G., Beaucaire G., Gottot S. (1994).** XII conférence de consensus en réanimation et médecine d'urgence. Paris. *Réan Urg ; 3(3 Bis) : 321-407.*
19. **Leyral G. et Vierling I. (2007).** Microbiologie et toxicologie des aliments : Hygiène et sécurité alimentaires. 4^{ème} édition. Rueil- Malmaison : Doin : Bordeaux : CRDP d'Aquitaine. *ISSN 1159- 1102 p 290.*
20. **Mouton A. (2003).** Les abords vasculaires pour hémodialyse. Association Française des Infirmier(e)s de Dialyse, Transplantation et Néphrologie et le Centre Hospitalier Régional d'Orléans. *AFIDTAN. N°67.*
21. **Prescott, Harley, Klein, Wiley, Sherwood, Woolverton. (2008).** Microbiologie. 3^{ème} édition. Bruxelles. *ISBN 978-2-8041-6012-8*
22. **Ramage G., Bachmann S., Patterson T. F., Wickes B. L., and al. (2002).** Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms. *J. Antimicrob. Chemother.; 49: 973-80.*
23. **Safdar N., and Maki D. G. (2004).** The pathogenesis of catheter-related bloodstream infection with noncuffed short-term central venous catheters. *Intensive Care Med.; 30: 62-7.*
24. **Soufir L., and Brun-Buisson C. (1998).** Infection des cathéters vasculaires. *La lettre de l'infectiologue; 13 : 244-52.*
25. **Ten Cate J. M., and al. (2009).** Molecular and cellular mechanisms that lead to *Candida* biofilm formation. *J. Dent. Res.; 88: 105-115.*

Références bibliographiques

26. **Traore A. C. O. (2007).** Les infections nosocomiales liées aux cathéters veineux centraux et périphériques dans le service de néphrologie et d'hémodialyse du chu du point g. *Réanimation* pp.26 - 43.


Pastorex[®] Staph-Plus - V2 - 28/10/04

PASTOREX[®] STAPH-PLUS

(Identification de *Staphylococcus aureus*)

355 6356

355 6353

DOMAINE D'APPLICATION

PASTOREX[®] STAPH-PLUS est un test rapide d'agglutination sur lame pour la détection simultanée du facteur d'affinité pour le fibrinogène (« Clumping factor »), de la protéine A, et des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

La capacité du réactif PASTOREX[®] STAPH-PLUS à reconnaître les polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*, lui permet d'identifier avec une très grande sensibilité aussi bien les souches de *Staphylococcus aureus* sensibles à la pénicilline, que les souches résistantes à la pénicilline qui sont de plus en plus souvent responsables d'infections nosocomiales graves.

PRINCIPE

Le réactif PASTOREX[®] STAPH-PLUS permet la recherche simultanée :

- Du facteur d'affinité pour le fibrinogène que l'on désigne sous le nom de coagulase liée ou « Clumping factor ».
- De la protéine A qui possède une affinité pour le « fragment cristallisable » (Fc) des immunoglobulines gamma (IgG).
- Des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.

Il est démontré que la présence de la protéine A et du facteur d'affinité pour le fibrinogène permettait l'identification de *Staphylococcus aureus* et pouvait être recherchée à l'aide de particules de latex sensibilisées par le fibrinogène et par des IgG.

Il a été cependant observé que certaines souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline n'étaient pas agglutinées par ces particules de latex. Or, une étude récente de ces souches a montré qu'elles possédaient toutes du polysaccharide capsulaire. Il est donc vraisemblable que la capsule polysaccharidique, qui recouvre toute la bactérie dans certaines conditions (isolement frais, conditions de culture, clone bactérien), masque la protéine A et le facteur d'affinité pour le fibrinogène, et empêche ainsi l'agglutination des particules de latex sensibilisées seulement par le fibrinogène et les IgG.

C'est à partir de ces constatations qu'a été conçu le réactif PASTOREX[®] STAPH-PLUS (brevet déposé). Ce réactif est constitué de particules de latex sensibilisées d'une part avec du fibrinogène et des IgG, et d'autre part avec des anticorps monoclonaux spécifiques des polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*. L'association, dans un même

réactif, de fibrinogène, d'IgG et d'anticorps anti-polysaccharides capsulaires permet de reconnaître aussi bien les souches de *Staphylococcus aureus* peu capsulées.

En effet, dans le premier cas (primocultures, souches résistantes à la pénicilline, souches déficientes en protéine A et/ou du facteur d'affinité pour le fibrinogène) ce sont surtout les anticorps anti-polysaccharides capsulaires qui agglutinent les bactéries. Au contraire, dans le second cas (souches sensibles à la pénicilline, ou souches ayant perdu leur capsule polysaccharidique après repiquage) les bactéries sont agglutinées par le fibrinogène et les IgG. Ainsi, en présence de souches de *Staphylococcus aureus* possédant un ou plusieurs des antigènes suivants : protéine A, facteur d'affinité pour le fibrinogène, et polysaccharides capsulaires, la suspension de PASTOREX[®] STAPH-PLUS s'agglutine fortement en moins de 40 secondes en présentant de gros agglutinats aisément lisibles à l'œil nu.

PRESENTATION

- Coffret de 50 tests code 355 6356
Contenant :

- 1 flacon compte-goutte de réactif test prêt à l'emploi (1 mL)
Particules de latex rouge sensibilisées par du fibrinogène, des IgG et des anticorps monoclonaux anti-polysaccharides capsulaires de *Staphylococcus aureus*.
Contient 0,02% de merthiolate de sodium et 0,1% d'azoture de sodium.

- 1 flacon compte-goutte de réactif témoin négatif prêt à l'emploi (1 mL).
Particules de latex sensibilisées par une solution d'albumine bovine.
Contient 0,02% de merthiolate de sodium et 0,1% d'azoture de sodium.

- 15 cartes jetables
- 1 notice

- Coffret de 5 × 50 tests code 355 6353
• 5 flacons compte-gouttes de réactif test prêt à l'emploi (1 mL)
• 5 flacons compte-gouttes de réactif témoin négatif prêt à l'emploi (1 mL)
• 60 cartes jetables
• 1 notice

Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré - 92430 MARNES-LA-COQUETTE FRANCE - Tél. : 01 47 95 60 00 - Fax : 01 47 41 91 33

<http://www.bio-rad.com>

imprimé en France