

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCCEN

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE DE LA TERRE ET DE
L'UNIVERS

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement
« LAMAABE »

THESE

Présentée par :

Mme M'Hamedi Imane ep Aboura

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Biologie
Option : Microbiologie

Evaluation de la formation de biofilms des souches d'*Acinetobacter baumannii* isolées de dispositifs médicaux au CHU de Tlemcen

Soutenu le .../.../...

Devant le jury

Président	Boucherit Otmani Z.	Professeur	U. de Tlemcen
Directrice de thèse	Hassaine H.	Professeur	U. de Tlemcen
Examineur	Abdelouhed D. E.	Professeur	U. de Tlemcen
Examineur	Djeribi R.	Professeur	U. d'Annaba
Examineur	Bellahcen M.	Professeur	C.U. d'Ain témouchent
Examineur	Badsy Amir S.	Docteur	CHU de Sidi bel Abbès

Année Universitaire : 2014-2015

Remerciements

Ce travail a été réalisé dans le laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédicale et à l'environnement (LAMAABE), université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen. Je tiens particulièrement à remercier son directeur le professeur Moussa-Boudjemaa Boumediène de m'y avoir accueilli.

J'exprime ma profonde gratitude à ma directrice de thèse, Madame le professeur Hassaine Hafida de l'université Abou Bekr Belkaid sans qui rien ne serait aujourd'hui, pour la confiance qu'elle m'a accordée en me proposant ce sujet et d'avoir contribué à sa réalisation dans les conditions les plus extrêmes sans jamais baisser les bras. Je lui suis reconnaissante pour sa disponibilité, son dévouement et la compréhension dont elle a fait preuve dans les moments difficiles. Veuillez trouver ici, cher professeur, l'expression de ma profonde estime.

Je suis très sensible à l'honneur que me fait Madame le professeur Boucherit-Otmani Zahia, de l'université Abou Bekr Belkaid de Tlemcen qui me fait le grand honneur de présider le jury. Je lui adresse mes sincères remerciements.

Je remercie Monsieur le professeur Abdelouahid Djamel Eddine de l'université Abou Bekr Belkaid Tlemcen de faire partie du jury de cette thèse. Je l'assure de ma profonde gratitude, ainsi que de ma sincère reconnaissance.

Je tiens à remercier Monsieur le professeur Djeribi Ryad de l'université Badji Mokhtar d'Annaba, non seulement pour avoir accepté de juger ce travail mais également pour m'avoir aidé à le réaliser. Je vous suis reconnaissante d'avoir accepté de m'accueillir dans votre laboratoire et de m'avoir permis de bénéficier de vos précieux conseils, votre savoir faire et votre rigueur. Je garderai pour toujours de vous la meilleure des impressions.

J'adresse mes plus vifs remerciements à Monsieur le professeur Belahcen Miloud du centre universitaire d'Ain Témouchent qui m'a fait l'honneur d'examiner cette thèse de doctorat.

Je tiens à exprimer ma sincère gratitude à Madame le docteur Badsî Amir Souad du CHU de Sidi bel Abbès, pour l'intérêt qu'elle a porté à ce travail en acceptant d'en être l'une des examinatrices.

Dédicaces

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

A toi Islem, mon cher frère qui vient de nous quitter, tu me manqueras comme si une partie de moi-même venait de m'abandonner. Ta tendresse, ton amour, ta gentillesse et ton sourire qui illuminait nos vies me manqueront à tout jamais. J'aurai tant voulu que tu puisses voir le fruit de tant d'années de travail pour être fier de ta petite sœur ; malheureusement je n'ai pas eu cette chance mais je sais que tu aurais été heureux pour moi car ton grand cœur ne saurait que l'être. À la fois, je me sens tellement triste en évoquant ta mémoire, à la fois, je relève la tête et je souris car désormais, attendre en espérant te rejoindre un jour dans le vaste paradis est la seule chose qui me fait tenir (je t'aime mon frère).

A mes parents,

A celle qui m'est la plus chère au monde, qui a su partager chaque moment de mon existence avec son intarissable tendresse, à celle à qui je dois le meilleur de moi même. C'est à toi maman, que je dédie aujourd'hui le fruit de ton dévouement, en espérant être à la hauteur de tes sacrifices.

A mon cher papa, nulle dédicace, aucun mot, ne saurait exprimer réellement, mon profond amour, mon respect et ma reconnaissance pour tous les sacrifices que tu as prodigué pour ma formation, ma réussite et mon bien être.

A celui qui partage ma vie dans le meilleur et dans le pire, mon époux Nacer, merci de m'avoir encouragé tous le long de ce travail, sans ta patience et ta compréhension ce travail n'aurait jamais vu le jour. Que dieu te garde pour moi.

A ma petite fille Lilia, mon rayon de soleil et ma raison d'être, merci d'illuminer ma vie dans les moments les plus difficile.

A ma sœur Téma, qui a su me soutenir dans les moments les plus difficiles de ma vie je te remercie d'être toujours là pour moi. Rien ne saurait exprimer tous les sentiments que je te porte. Que dieu te garde pour moi.

A ma belle sœur Djidja, mon neveu Yacine et mon beau frère Nadir, merci de faire partie de ma vie.

A ma belle famille pour leur compréhension et encouragement.

A toute ma famille, ma chère grand-mère, oncles, tantes, cousines, cousins et à tous ce qui ont rendu ma vie agréable.

A mes amies Meriem, Samia, Ibtissem, Nabila, Nassima, Asma et Wafaa, pour tous les bons moments ainsi que les moments de désespoir que nous avons partagé.

A tous les enseignants qui m'ont accompagné tous le long de mon parcours et qui m'ont appris tout ce que je sais aujourd'hui.

Table des matières

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction	01
Première partie : synthèse bibliographique	03
Chapitre 1 : Les caractéristiques du genre <i>Acinetobacter spp</i>	03
1. Taxonomie.....	03
2. Caractères bactériologiques.....	04
2.2.Caractères morphologiques.....	04
2.3.Caractères culturels.....	05
3. Caractères biochimiques.....	05
4. Habitat.....	05
5. Epidémiologie.....	06
6. <i>A. baumannii</i> et infections associées aux soins.....	06
6.1.Pneumopathies acquises sous ventilation.....	07
6.2.Les bactériémies associées aux cathéters.....	07
6.3.Les infections associées au sondage urinaire.....	08
6.4.Méningites.....	08
6.5.Infection de la peau.....	08
Chapitre 2 : Les facteurs de virulence chez <i>A. baumannii</i>	09
1. Le biofilm.....	09
1.1.Définition et étapes de formation du biofilm.....	10
1.2. Propriété du biofilm.....	12
1.2.1. Résistance aux antibiotiques.....	12
1.2.2. La résistance à l'immunité.....	13
1.2.3. Rapidité d'acquisition d'éléments génétiques.....	13
1.3. Les facteurs influençant la formation de biofilm d' <i>A. baumannii</i>	13
1.3.1. Les propriétés bactériennes.....	13
1.3.1.1. L'hydrophobicité.....	13
1.3.1.2. Le pili.....	13

1.3.1.3. La protéine Bap (biofilm-associated protein).....	14
1.3.1.4. Le poly- β -1,6-N-acétylglucosamine (PNAG).....	15
1.3.2. Les caractéristiques de la surface du dispositif médical.....	15
1.3.2.1. La nature du matériau.....	15
1.3.2.2. La charge de surface et le caractère hydrophobe des matériaux.....	16
1.3.2.4. La rugosité de la surface.....	16
1.3.2.5. Présence de films protéiques sur la surface.....	16
1.3.3. Les caractéristiques du milieu aqueux.....	17
1.4. Autres facteurs de virulence.....	17
1.4.1. La résistance aux antibiotiques.....	17
1.4.2. Les lipopolysaccharide (LPS).....	18
1.4.3. La protéine de membrane externe A (OmpA).....	18
1.4.4. Le quorum sensing.....	19
1.4.5. L'activité enzymatique.....	19
1.4.6. La régulation de fer.....	19
Deuxième partie : Matériel et méthodes.....	20
1. Prélèvements.....	20
2. Ensemencement.....	20
3. Identification.....	20
4. Sensibilité aux Antibiotiques.....	20
5. Etude de la formation de biofilm d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	21
5.1. La méthode tube (TM).....	21
5.2. La méthode de Plaque de culture de tissus (TCP).....	21
6. Etude de l'hydrophobicité de la paroi bactérienne d' <i>A. baumannii</i>	22
6.1. La méthode MATH (Microbial Adhesion to Hydrocarbure).....	22
6.2. Le test d'agglutination ou le Salt Aggregation Test (SAT).....	22
7. Etude de la formation de biofilm d' <i>A. baumannii</i> sous conditions de culture.....	23
8. Cinétique de la formation de biofilm d' <i>A. baumannii</i>	23
9. Etude de la formation de biofilm d' <i>A. baumannii</i> sur différents biomatériaux.....	23
9.1. Préparation des supports.....	23
9.2. Détermination de l'hydrophobicité de la surface des substrats solides.....	23
9.3. Adhésion d' <i>A. baumannii</i> sur le PVC, le silicone et le latex.....	24

9.4. Observation de l'adhésion par microscopie électronique environnemental à balayage (ESEM).....	25
Troisième partie : Résultats et discussion	26
1. Prélèvements.....	26
2. Identification de l'espèce <i>A. baumannii</i>	28
3. Antibiogramme.....	31
4. Evaluation de la formation de biofilm chez <i>A. baumannii</i>	32
5. Etude de l'hydrophobicité de la paroi bactérienne d' <i>A.baumannii</i>	36
6. Influence des conditions de culture sur la formation de biofilm d' <i>A. baumannii</i>	39
6.1. Influence de la température.....	39
6.2. Influence du Glucose et du NaCl.....	40
7. Cinétique de la formation de biofilm chez <i>A. baumannii</i>	43
8. Influence de la nature du dispositif médical sur la formation de biofilm par <i>A.baumannii</i>	45
Conclusion générale	49
Références bibliographiques	51
Annexes	

Liste des abréviations

A. baumannii : *Acinetobacter baumannii*

AK : Amikacine

CAZ : Ceftazidime

CIP : Ciprofloxacine

CL : Colistine

DDJ : Dose Déterminée Journalière

DO : Densité Optique

EDS : Eau Distillé Stérile

EPS : Exopolysaccharides

GN : Gentamycine

IMP : Imipenème

JH : Jour d'Hospitalisation

LB : Luria Bertani

LPS : Lipopolysaccharide

MATH : Microbial Adhesion to Hydrocarbure

MEB : Microscope Electronique à Balayage

PAVM : Pneumopathie Acquisée sous Ventilation Mécanique

PBS : Phosphate Buffered Saline

Pip : Pipéracilline

PVC : Poly chlorure de Vinyle

SAT : Salting Agrégation Test

SXT : Sulfaméthoxazole-triméthoprim

TCC : Ticarcilline- acide clavulanique

TCP : Méthode de Plaque de Culture de Tissus

TE : Tétracycline

TIC : Ticarcilline

TM : Tobramycine

TM : Méthode en Tube

UFC : Unité(s) Formant Colonie(s)

Liste des figures

Figure 1: Visualisation d' <i>A.baumannii</i> sous microscope électronique à balayage.....	05
Figure 2 : Microscopie électronique à balayage du biofilm d' <i>A. baumannii</i> . A : sur le verre B : sur sonde urinaire.....	10
Figure 3 : Représentation schématique des différentes étapes du développement d'un biofilm bactérien.....	11
Figure 4 : Formation de biofilm par <i>A. baumannii</i> . A : Déficient en Bap. B : expriment la protéine Bap.....	14
Figure 5: Représentation de l'angle de contact (θ) d'une goutte liquide déposée à la surface.....	24
Figure 6 : Appareil de mesure de l'angle de contact (GBX, France).....	24
Figure 7 : Microscope électronique à balayage Hitachi TM1000.....	25
Figure 8 : Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x 100).....	28
Figure 9 : Taux de résistance aux antibiotiques des isolats d' <i>A.baumannii</i>	32
Figure 10: Quantification de la formation de biofilm par <i>A. baumannii</i> en microplaques à 37°C.....	33
Figure 11 : Dépistage de la production du biofilm par la méthode TM et TCP.....	34
Figure 12 : Pourcentage d'affinité des souches d' <i>A. baumannii</i> a l'héxadecane.....	37
Figure 13 : Quantification de la formation de biofilm par <i>A. baumannii</i> en fonction de	40
Figure 14: Influence du glucose sur la formation de biofilm par <i>A. baumannii</i>	41
Figure 15 : Influence du NaCl sur la formation de biofilm par <i>A. baumannii</i>	42
Figure 16 : Cinétique de la formation de biofilms chez <i>A. baumannii</i>	45
Figure 17 : Adhésion des souches d' <i>A. baumannii</i> sur le latex, le silicone et le PVC (UFC/mL) après 24h d'incubation.....	47
Figure 18: Observation au MEB d'un biofilm D' <i>A. baumannii</i> . (A-B) sur le PVC, (C-D) sur le silicone, (E-F) sur le latex.....	47

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les espèces appartenant au genre <i>Acinetobacter sp.</i>	04
Tableau 2 : Résultats de la colonisation des dispositifs médicaux isolés.....	26
Tableau 3 : Répartition des souches d' <i>A.baumannii</i> selon l'âge.....	29
Tableau 4 : Répartition des souches d' <i>A.baumannii</i> selon le sexe.....	29
Tableau 5 : Répartition des souches d' <i>A.baumannii</i> selon le site d'isolement.....	30
Tableau 6 : Résultats de la formation du biofilm par la technique TM et TCP.....	33
Tableau 7 : Caractérisation des souches isolées de dispositifs médicaux infectés.....	35
Tableau 8 : Résultats du test SAT.....	37
Tableau 9 : Angle de contact des trois supports par rapport à l'eau.....	46

Les dispositifs médicaux implantables sont de plus en plus utilisés dans le traitement des déficits fonctionnels dans de nombreux domaines médicaux (Abd El-Baky, 2012). Cependant, malgré le succès considérable obtenu, ces surfaces abiotiques restent sensibles à la colonisation bactérienne ce qui crée un véritable problème de santé publique (Treter et Macedo, 2011). L'OMS estime qu'entre 5 et 12 % des patients hospitalisés dans le monde développent une infection associée aux soins dont plus de 60 % sont associées à l'implantation d'un dispositif médical (Espinasse *et al.*, 2010). Ces infections peuvent mener à l'enlèvement de celui-ci et constituer par conséquent une menace pour la vie du patient. Dans une telle situation, la gestion de ces dispositifs peut être une affaire difficile et coûteuse (Singh *et al.*, 2011).

Le biofilm a été directement associé aux infections liées aux dispositifs médicaux puisque ce mode de vie assure la survie des bactéries pathogènes dans l'environnement hospitalier en lui procurant une protection contre l'action des agents antimicrobiens ainsi que les défenses immunitaires du patient (Marti *et al.*, 2011).

Certains facteurs spécifiques déterminent la susceptibilité d'un dispositif médical à la colonisation bactérienne et à la formation de biofilm tel que la durée d'utilisation, la présence d'un film de conditionnement, le débit et la composition du milieu à l'intérieur ou à la surface du dispositif et le matériau de constitution de ce dernier (Donlan, 2001). La structure, l'hydrophobicité de la surface du dispositif ainsi que les espèces bactériennes impliquées constituent les facteurs les plus importants (Von Eiff *et al.*, 2005). En effet, les biofilms présents à la surface des dispositifs médicaux implantables peuvent être composés de bactéries Gram positives ou Gram négatives (Linski *et al.*, 2009). Ces bactéries peuvent provenir de la peau ou des muqueuses du patient pendant l'implantation ou parfois même, à partir des mains de l'équipe médicale (Kokare *et al.*, 2009).

Acinetobacter baumannii est l'une des bactéries associées à la formation de biofilm à la surface des dispositifs médicaux. Autrefois sensible à la quasi-totalité des antibiotiques, elle est aujourd'hui responsable d'infections nosocomiales survenant par épidémies et impliquant des souches de plus en plus multirésistantes. Sa remarquable résistance à différents antibiotiques et sa capacité d'adaptation face à un environnement hostile constituent un véritable défi dans la prévention et le traitement des infections causées par ce pathogène opportuniste.

Dans ce contexte et en tenant compte du pouvoir pathogène d'*A. baumannii*, cette présente étude vise dans un premier temps à montrer l'implication de ce germe dans les infections associées aux dispositifs médicaux au service de réanimation du CHU de Tlemcen

et à évaluer sa capacité à former un biofilm. Dans un deuxième temps, nous tenterons d'étudier les facteurs qui peuvent influencer ce processus tels que l'hydrophobicité de la surface cellulaire (CSH), la température d'incubation ainsi que la présence du glucose et du chlorure de sodium (NaCl) dans le milieu de culture. La durée d'implantation du dispositif médical et la nature de la surface de celui-ci sont également étudiées.

Chapitre 1 : Les caractéristiques du genre *Acinetobacter* spp.

1. Taxonomie

La systématique des espèces actuellement placées dans le genre *Acinetobacter* est complexe car ces bactéries ubiquistes ont été isolées indépendamment par de nombreux auteurs et ont été placées dans divers genres (Euzéby, 2003).

L'histoire du genre *Acinetobacter* débute XXème siècle avec la description par un microbiologiste néerlandais d'un microorganisme dénommé *Micrococcus calcoaceticus* isolé à partir de prélèvement de sol (Beijerinck, 1911). En 1954, Brisou et Prévost proposent la désignation du genre *Acinetobacter* (du grec akinetos : « incapable de bouger » pour regrouper une collection hétérogène de bactéries immobiles, à coloration de Gram négative et à réaction d'oxydase positive ou négative. En 1968, Baumann *et al.*, ont restreint le genre *Acinetobacter* aux seules souches oxydase négative et ont reconnu une espèce unique qu'ils ont proposé de dénommer *Acinetobacter calcoaceticus*. Trois ans plus tard cette proposition sera entérinée par le "*Subcommittee on Moraxella and Allied Bacteria*".

En 1986 grâce aux techniques d'hybridation ADN/ADN, Bouvet et Grimont sont parvenus à distinguer 12 espèces génomiques, certaines sont clairement dénommées comme *A.baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. haemolyticus*, *A. johnsonii*, *A. junii* et *A. lwoffii* (Bouvet et Grimont, 1987). En 1988, Nishimura *et al.*, décrivent sous le nom de *A. radioresistens* des souches initialement isolées d'échantillons de coton et de sol.

Plus récemment, d'autres espèces bactériennes ont été décrites chez l'homme comme *A.parvus*, *A. schindleri* et *A. ursingii* (Nemec *et al.*, 2001 et 2003) ou dans l'environnement (bassins de décontamination) comme *A. baylyi*, *A. bouvetii*, *A. grimontii*, *A. tjernbergiae*, *A.towneri*, *A. tandoii* et *A.gernerii* (Carr *et al.*, 2003).

A ce jour, 33 espèces bactériennes d'*Acinetobacter* ont été décrites, dont 18 ont un nom d'espèce propre (Tableau 1).

Le genre *Acinetobacter* est actuellement inclus dans :

- Le domaine des *Bacteria*
- Le phylum des *Proteobacteria*
- La classe des *Gammaproteobacteria*
- L'ordre des *Pseudomonadales*
- La famille des *Moraxellaceae*

Tableau 1 : Les espèces appartenant au genre *Acinetobacter sp* (Marti, 2008).

Espèce	Souche de référence	Lieu d'identification
<i>A. calcoaceticus</i>	ATCC 23055	Environnement
<i>A. baumannii</i>	ATCC 19606	environnement / homme
<i>A. baylyi</i>	DSM 14961	Environnement
<i>A. bouvetii</i>	DSM 14964	Environnement
<i>A. lowffi</i>	ACTC15309	Homme
<i>A. gernerii</i>	DSM 14967	Environnement
<i>A. grimontii</i>	DSM 14968	Environnement
<i>A. haemolyticus</i>	ATCC 17906	environnement / homme
<i>A. johnsonii</i>	ATCC 17909	environnement / homme
<i>A. junii</i>	ATCC 17908	Homme
<i>A. parvus</i>	NIPH384	homme / chien
<i>A. radioresistens</i>	IAM 13186	environnement / homme
<i>A. schindleri</i>	NIPH1034	Homme
<i>A. tandoii</i>	DSM 14970	Environnement
<i>A. tjernbergiae</i>	DSM 14971	Environnement
<i>A. towneri</i>	DSM 14962	Environnement
<i>A. ursingii</i>	NIPH137	Homme
<i>A. venetianus</i>	ATCC31012	Eau

2. Caractères bactériologiques

2.1. Caractères morphologiques

Les souches d'*Acinetobacter* se présentent comme des bacilles ou des coccobacilles à gram négatif souvent associés par deux (Joly-Guillou *et al.*, 2002) (figure1). Leur diamètre varie de 0,9 à 1,6 nm et leur longueur de 1,5 à 2,5 µm. Ils deviennent coccoïdes en phase stationnaire de croissance. Immobiles et sans flagelle, ils peuvent cependant se déplacer grâce à des structures polaires ressemblant à des fimbriaes de 5 nm de diamètre et de 10 à 15 nm de long (Fechkeur et Thibault, 1998).

Les cellules se présentent en paire, ou parfois en chaînes de longueurs variables. Parfois entourées d'une capsule, non sporulées. Dans les cultures âgées, de formes sphériques ou filamenteuses peuvent être observées [(Joly-Guillou *et al.*, 2002) ; (Towner, 2006)].

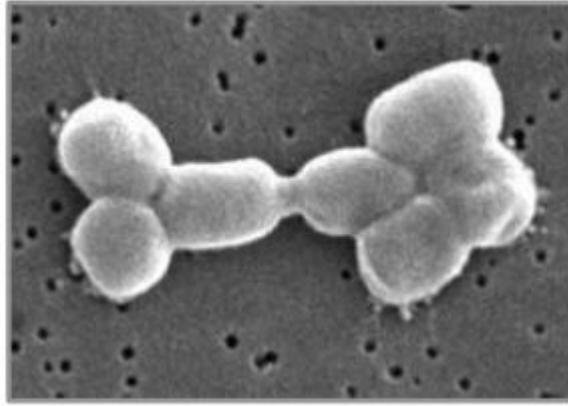


Figure 1: Visualisation d'*A.baumannii* sous microscope électronique à balayage (Marti, 2008).

2.2.Caractères cultureux

Les *Acinetobacter* forment des colonies lisses, parfois mucoides sur milieu solide, leurs couleur peut aller du jaune pâle au blanc grisonnant, translucides ou légèrement opaques (Bergogne-Berezin et Towner, 1996).

Les membres du genre d'*Acinetobacter* peuvent croître à une température comprise entre 20 et 30°C. Cependant, les isolats cliniques se développent normalement à 37 °C (Towner, 2006). *Acinetobacter baumannii* est la seule espèce capable de croître à 44°C. Ce test simple permet ainsi d'identifier le principal *Acinetobacter* responsable d'infections nosocomiales (Berche et Gaollard, 1988).

3. Caractères biochimiques

Tous les membres de ce genre sont des aérobies stricts, oxydase négative, catalase positive, à métabolisme respiratoire strict et non fermentaire (Bergogne-Berezin et Towner, 1996). La réaction négative de l'oxydase permet de différencier le genre *Acinetobacter* d'autres genres non fermentaires apparentés. Ces derniers sont non exigeants et peuvent croître dans un milieu minéral simple contenant une seule source de carbone et d'énergie (Towner, 2006).

4. Habitat

les *Acinetobacter* sp sont considérées comme des bactéries ubiquistes, aérobies, gram négatives (Elouanness *et al.*, 2001) ayant pour principal habitat le sol, les eaux usées, ainsi que des sources de nourriture qui sont conservées dans des conditions réfrigérées (Tomaras *et al.*, 2003). Elles font aussi partie de la flore commensale de la peau chez l'homme et sont fréquemment isolées à partir de la gorge, des voies respiratoires et intestinales (Towner,

2006). Elles sont également fréquentes dans l'environnement hospitalier (cathéters, lavabos, air, etc...). Leur résistance habituelle à de nombreux antibiotiques leur assure une place de choix comme agents de surinfection (Ferron, 1984).

5. Epidémiologie

L'apparition endémique et épidémique de souches multirésistantes d'*A. baumannii* est l'une des principales caractéristiques de cette espèce. Le motif déclencheur de ces épidémies varie selon les conditions hospitalières et les caractéristiques de la souche puisque certaines souches ont plus tendance à être épidémiques (Dijkshoorn *et al.*, 2007).

Les patients colonisés et infectés constituent un véritable réservoir pour ces souches, les transmettant ainsi à d'autres patients et à l'environnement (Cisneros et Rodriguez-bano, 2002). La propagation et la transmission peuvent se faire à travers l'air et les gouttelettes d'eau. Cependant, le manuportage à travers le personnel hospitalier demeure le principal mode de transmission (Dijkshoorn *et al.*, 2007).

L'infection à *A. baumannii* peut causer d'important dégâts pouvant être fatal, la sévérité dépend du site d'infection et de la vulnérabilité des patients (Joly-Guillou, 2005).

Les infections communautaires dues à *A. baumannii* sont le plus souvent des pneumonies survenant dans les régions tropicales d'Asie et d'Australie (Peleg *et al.*, 2008). La source de l'infection peut être due au portage de la gorge survenant chez les patients ayant une maladie sous-jacente grave, comme la maladie pulmonaire chronique obstructive, le diabète sucré, une consommation excessive d'alcool et le tabagisme (Anstey *et al.*, 2002).

6. *A. baumannii* et infections associées aux soins

A. baumannii a émergé ces dernières décennies comme un agent pathogène opportuniste responsable d'un large spectre d'infections associées aux soins tel que les septicémies, les méningites et les infections pulmonaires spécialement chez les sujets hospitalisés en soins intensifs (Marti *et al.*, 2011). Cette bactérie est capable de survivre plusieurs jours dans l'environnement hospitalier sur les surfaces abiotiques, les équipements hospitaliers, et sur les dispositifs médicaux (Tomaras *et al.*, 2003). Cette persistance peut être expliquée non seulement par son grand pouvoir d'adaptation mais aussi par son antibiorésistance (Gaddy et Actis, 2009). Les facteurs de risque prédictifs d'acquisition de ces infections sont : une sélection exercée par les antibiotiques, un score de sévérité élevé à l'admission, une augmentation de la durée de séjour et essentiellement l'utilisation de la ventilation mécanique (Garrouste-Orgeas *et al.*, 1996).

6.1. Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique

Une pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) correspond à « toute pneumonie associée aux soins, survenant chez un malade dont la respiration est assistée par une machine, soit de manière invasive par l'intermédiaire d'un tube endotrachéal ou d'une trachéotomie, soit de manière non invasive par l'intermédiaire d'un masque facial ou d'un autre procédé, dans les 48 heures précédant la survenue de l'infection » (Espinasse *et al.*, 2010).

A.baumannii est responsable de 15 à 24% des pneumopathies chez les patients à ventilation mécanique (Gomez *et al.*, 1999). A ce jour, cette infection demeure la plus courante des infections causées par ce pathogène (Joly-Guillou, 2005).

6.2. Les bactériémies associées aux cathéters vasculaires

Les cathéters veineux centraux sont les implants médicaux les plus à risque par rapport au développement d'une infection nosocomiale (Klevins, 2005). En France, elle représente la quatrième cause d'infections nosocomiales (15%) (Pebret, 2003). Ceci pose de graves problèmes de santé publique puisque les traitements systémiques de routine des patients atteints d'infections de ce type se révèlent le plus souvent inefficaces (Donlan, 2008). Elles sont surtout responsables d'une mortalité d'environ 6% pouvant atteindre près de 20% dans les services de réanimation (Pebret, 2003).

Il est difficile de déterminer la vraie mortalité et morbidité attribuée aux *A. baumannii* dans les bactériémies puisque les espèces peuvent être trouvées comme un seul pathogène ou comme une partie d'une bactériémie polymicrobienne (Cisneros et Rodriguez-bano, 2002).

L'infection liée à un cathéter débute habituellement par la colonisation de ce dernier (Lacroix *et al.*, 2012). Il existe quatre modes de colonisation du cathéter, la première est dite externe lorsque la rupture de la barrière naturelle provoque la migration des germes de la flore cutanée du patient le long de la surface externe du cathéter à partir de son émergence cutanée. Lors d'une colonisation du thrombus situé à l'extrémité distale du cathéter, au cours d'un épisode bactériémique dont l'origine est située à distance de celui-ci (infection urinaire, péritonite...), on parle de colonisation hématogène ; ce mode de colonisation serait à l'origine de 15% des infections liées au cathéter en réanimation.

La principale voie de colonisation est dite endoluminal, elle se produit à partir d'une contamination puis d'une pullulation microbienne au niveau des raccords et des connexions verrouillées du cathéter. Enfin le dernier mode de colonisation qui reste rare se produit lors de perfusion de solutés contaminés (Hygis, 1998).

6.3. Les infections associées au sondage urinaire

A. baumannii est occasionnellement responsable d'infections urinaires (Gaynes et Edwards, 2005) ; cependant, elle a pu être isolée de sonde urinaire et de tractus urinaire [(Pour *et al.*, 2011) ; (Djeribi *et al.*, 2012)].

L'infection urinaire nosocomiale reste la plus fréquente des infections nosocomiales en dépit des efforts de prévention. Elle est heureusement une infection bénigne dans la majorité des cas (Butreau-Lemaire et Botto, 1997). Elles regroupent un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants de l'arbre urinaire ou de ses annexes. Leur point commun est la présence de bactéries dans le tractus urinaire (Elkharrat *et al.*, 2007). Le principal facteur de risque de l'infection urinaire nosocomiale est la pose de sonde urinaire, ce qui perturbe les défenses de l'hôte contre les micro-organismes et rend l'infection ainsi possible (Léone *et al.*, 2000). La durée de sondage urinaire, la durée d'hospitalisation, le sexe féminin, une antibiothérapie préalable à large spectre et le score de sévérité sont également des facteurs de risques (Zenkri, 2006).

6.4. Méningites

Les cas de méningites à *A. baumannii* surviennent, pratiquement exclusivement, sous une forme secondaire après un traumatisme crânio-cérébral ou après intervention neurochirurgicale (Metan *et al.*, 2007). L'infection est souvent associée à la présence de shunts ventriculaires et notamment de dérivation externe du liquide céphalo-rachidien.

6.5. Infection de la peau

A. baumannii peut également provoquer des infections de la peau et des tissus mous, notamment chez les grands brûlés et au niveau des plaies chez les blessés de guerre (Johnson *et al.*, 2007).

Chapitre 2 : Les facteurs de virulence chez *A. baumannii*

Plusieurs facteurs de virulence bactériennes sont nécessaires pour la pathogénèse des infections causées par *A. baumannii*. Ces facteurs permettent aux micro-organismes de coloniser ou d'infecter l'hôte efficacement (Roca *et al.*, 2012). Néanmoins, les mécanismes impliqués dans la création et la progression des infections à *A. baumannii* ne sont pas claires, puisque ce micro-organisme n'est pas connu pour produire des toxines ou cytolysines diffusibles, et que seulement peu de facteurs de virulence ont été identifiés (Gordona et Warehama, 2010).

1. Le biofilm

Il s'agit d'une caractéristique importante de nombreuses bactéries pathogènes, ce qui facilite la colonisation des dispositifs médicaux et contribue à la résistance aux médicaments et à l'évasion du système immunitaire de l'hôte *in vivo* (Gordona et Warehama, 2010).

A. baumannii peut survivre plusieurs jours à la surface des mains et des objets inanimés tels que le verre, le plastique et autres surfaces de l'environnement, en dépit des conditions défavorables [(Tomaras *et al.*, 2003) ; (Espinal *et al.*, 2012) ; (Roca *et al.*, 2012)] (Figure 2). Depuis que cette espèce est apte à former des biofilms, son phénotype de résistance est directement associé à celui-ci.

En effet, il devient de plus en plus évident que la capacité de formation de biofilm est l'un des principaux facteurs de virulence commun à un grand nombre d'isolats cliniques d'*A. baumannii* [(Rodriguez-Baño *et al.*, 2008) ; (King *et al.*, 2009) ; (Longo *et al.*, 2014)]. Plusieurs études ont montré que les souches d'*A. baumannii* peuvent adhérer aux cellules humaines et former un biofilm sur les surfaces abiotiques [(Vidal *et al.*, 1996); (Tomaras *et al.*, 2003) ; (Rodriguez-Baño *et al.*, 2008) ; (Wroblewska *et al.*, 2008)] conduisant à la colonisation de la surface des équipements hospitaliers et des dispositifs médicaux implantables, tel que les sondes urinaires, les cathéters veineux centraux (CVC) et les tubes endotrachéaux [(Donlan, 2001) ; (Trautner et Darouiche, 2004) ; (Djeribi *et al.*, 2012)].

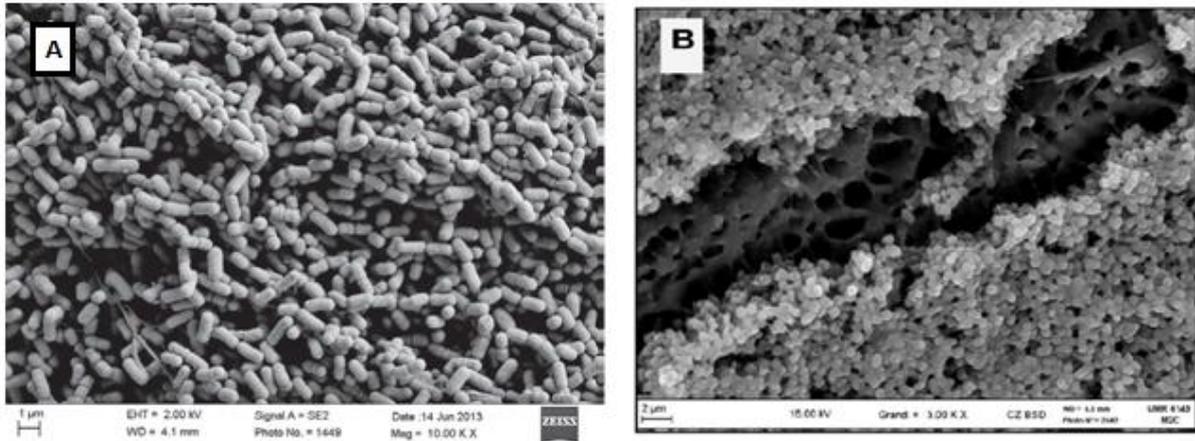


Figure 2 : Microscopie électronique à balayage du biofilm d'*A. baumannii*.

A : sur le verre (Longo *et al.*, 2014). B : sur sonde urinaire (Djeribi *et al.*, 2012).

1.1. Définition et étapes de formation du biofilm

Les bactéries peuvent adopter deux modes de vie différents : elles sont soit libres et isolées dans un milieu (état planctonique), soit attachées à une surface ou elles vivent en communauté au sein d'un biofilm (état sessile). Claude E. Zobell a été l'un des premiers chercheurs à observer des biofilms en 1943, mais ce n'est que vers 1978 que les biofilms sont reconnus comme mode d'existence constituant un élément majeur de la biomasse bactérienne dans différents environnements et est défini pour la première fois par J. W Costerton.

Le biofilm est une population bactérienne adhérente à une surface et enrobée de matrice d'exopolysaccharides (EPS) [(Donlan, 2002) ; (Filloux et Vallet, 2003) ; (Perrin, 2005)]. L'organisation, la forme et la densité de ces assemblages ne sont pas liées au hasard, cette construction est une réponse aux variations des conditions écologiques (Melchior *et al.*, 2006). Ce mode de vie est d'un grand intérêt pour la bactérie puisqu'il lui confère une résistance à différentes sources de stress (Costerton *et al.*, 1999).

La formation d'un biofilm sur une surface est le résultat d'un ensemble de processus physiques, chimiques et biologiques (Busscher, 1995). La constitution d'un biofilm mature nécessite cinq grandes étapes (figure 3).

- Une étape de transport ou transfert des bactéries vers le support, grâce à des propriétés dynamiques du milieu ainsi qu'aux propriétés physicochimiques de la surface du support [(Donlan, 2002) ; (Haras, 2006)]. Différents appendices bactériens tels que les flagelles et les cils sont également nécessaires [(O'Toole et Kolter, 1998a) ; (Gavin *et al.*, 2003)].
- L'adhésion initiale aux surfaces mettant en jeu un certain nombre de mécanismes physicochimiques et biologiques complexes. Elle est généralement dévisée en deux

phases (Baillif *et al.*, 2010). Une adhésion réversible indépendante du temps régie par un nombre de variables physico-chimiques qui définissent l'interaction entre la surface cellulaire et la surface à coloniser (interactions hydrophobes, liaisons de Van der Waals, forces hydrodynamiques et interactions répulsives électrostatiques) [(Knobloch *et al.*, 2001) ; (Dunne, 2002)]. Une adhésion irréversible, dépendante du temps et faisant appel à la sécrétion d'exopolymères par les bactéries permettant de consolider leur fixation au support (Vallet *et al.*, 2001).

- Une étape de prolifération aboutissant à la formation de microcolonies
- Une étape de maturation du biofilm mettant en jeu deux phénomènes concomitants, la division cellulaire et l'adhésion de nouvelles bactéries (Roques, 2000). Cette étape est corrélée à la production d'EPS (Costerton *et al.*, 1999) et caractérisée par la formation d'un film hétérogène tridimensionnel comportant des canaux aqueux qui forment un réseau de circulation permettant d'acheminer l'oxygène et les nutriments dans les régions enfouies du biofilm et d'évacuer les déchets [(Costerton *et al.*, 1995) ; (Sauer *et al.*, 2002)].
- L'étape de dispersion du biofilm permettant aux bactéries de coloniser de nouvelles surfaces. Celle-ci intervient lorsque les conditions environnementales deviennent défavorables : limitation de la disponibilité en oxygène dans les biofilms épais, apparition de forces de cisaillement dues aux conditions hydrodynamiques, diminution de la concentration ou modification de la nature des nutriments disponibles [(Sauer *et al.*, 2002) ; (Sauer *et al.*, 2004)].

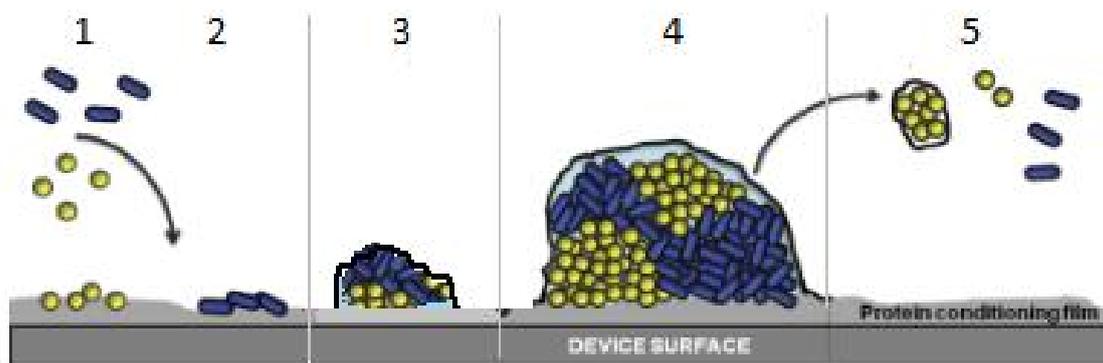


Figure 3 : Représentation schématique des différentes étapes du développement d'un biofilm bactérien (Francolini et Donelli, 2010).

1.2. Propriété du biofilm

1.2.1. Résistance aux antibiotiques

De nombreux problèmes associés au développement des biofilms en milieu médical, ont pour origine leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens (antibiotiques et désinfectants) (Roux et Ghigo, 2006). En effet, les doses thérapeutiques conventionnelles sont efficaces sur les bactéries planctoniques mais celles dans le biofilm ne sont pas éradiquées entraînant une persistance de l'infection (Heinzelmann *et al.*, 1997). La diminution de sensibilité aux antibiotiques induite par la formation de biofilm est probablement multifactorielle et dépendante du type de bactérie et de l'antibiotique.

Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer cette forte réduction de l'activité des antibiotiques (100 à 1000 fois).

- La matrice d'exopolysaccharide agit comme une barrière empêchant la diffusion de l'antibiotique (König *et al.*, 2001). En effet, les exopolysaccharides sont chargés négativement et fonctionnent comme une résine d'échange ionique pouvant séquestrer des antibiotiques hydrophobes et chargés positivement, comme les aminoglycosides. Ce mécanisme de limitation de la pénétration des agents anti-microbiens au sein d'un biofilm explique les antibiorésistances observées lors d'administration unique d'antibiotiques mais n'est pas valable pour les antibiothérapies de longue durée (Gilbert, 2001).
- Dans le biofilm, le métabolisme de la bactérie se stabilise à un niveau bas limitant ainsi l'action des antibiotiques nécessitant une division cellulaire et un métabolisme actif (Cramton *et al.*, 2001). Du fait d'un appauvrissement environnemental en nutriments, les bactéries ont un métabolisme ralenti. Or les antibiotiques agissent en phase de croissance bactérienne (Sotto et Lavigne, 2007).
- Les bactéries subissent des adaptations phénotypiques pouvant mener à une augmentation de la résistance aux agents antimicrobiens. Ces modifications résultent de l'expression de gènes spécifiques en réponse aux conditions environnementales (Del pozo et Patel, 2007) et se traduisent par des variations phénotypiques profondes de l'activité enzymatique et de la composition de la paroi cellulaire (Schwank *et al.*, 1998). Certaines bactéries par exemple peuvent augmenter leur capacité d'expression de leur β -lactamase chromosomique suite à une exposition prolongée au β -lactamines ou changer les proportions relatives de leurs porines ou exprimer des PLPs différentes entraînant une réduction de la sensibilité bactérienne vis à vis de certaines β -lactamines [(Souli et Giamarellou, 1998) ; (Del pozo et patel, 2007)].

1.2.2. La résistance à l'immunité

En plus de leur résistance aux antibiotiques, les biofilms sont protégés vis-à-vis du système immunitaire des hôtes infectés. La taille des biofilms est tout d'abord un frein important au processus de phagocytose. Les cellules phagocytaires libèrent des enzymes qui ont très peu d'effet sur le biofilm et qui peuvent endommager les tissus (Khoury *et al.*, 1992). La matrice extracellulaire est également une barrière au système immunitaire de l'hôte car elle empêche la reconnaissance des antigènes bactériens par les anticorps (Roux et Ghigo, 2006).

1.2.3. Rapidité d'acquisition d'éléments génétiques

La proximité de différentes souches bactériennes dans le biofilm favorise cet échange (Donlan et Costerton, 2002). La vitesse de conjugaison est très rapide, ce qui suggère que l'évolution par transfert horizontal de matériel génétique se produit fréquemment rendant le milieu parfait pour l'acquisition de résistance aux antibiotiques ou de facteurs de virulence (Watnick et Kolter, 2000).

1.3. Les facteurs influençant la formation de biofilm d'*A. baumannii*

Le développement d'un biofilm est un processus séquentiel complexe qui fait intervenir de nombreux mécanismes physico-chimiques et biologiques.

1.3.1. Les propriétés bactériennes

1.3.1.1. L'hydrophobicité

L'hydrophobicité de la surface cellulaire est importante dans l'adhésion parce que les interactions hydrophobes ont tendance à s'amplifier avec l'augmentation de la nature non polaire de l'un ou des deux surfaces impliquées (la surface cellulaire et la surface du substrat) (Donlan, 2002). Elle varie non seulement en fonction des espèces bactériennes mais aussi selon les souches d'une même espèce, et est influencée par le milieu environnant, l'âge de la bactérie, ainsi que par sa structure. Habituellement les bactéries hydrophobes préfèrent les surfaces hydrophobes et les bactéries hydrophiles préfèrent les surfaces hydrophiles. cependant, les bactéries hydrophobes paraissent avoir une capacité d'adhésion supérieure par rapport aux bactéries hydrophiles (Baillif *et al.*, 2010).

1.3.1.2. Le pili

Les pili sont des structures protéiques de nature homo- ou hétéropolymérique présentes à la surface des bactéries ; la sous-unité structurale étant la piline (Balestrino, 2006). Les pili

jouent également un rôle primordial dans l'adhésion et/ou l'autoaggrégation des micro-organismes [(Gohl *et al.*, 2006) ; (Ishii *et al.*, 2006)], les bactéries n'ayant pas de pili adhèrent moins facilement que les autres (Ishii *et al.*, 2006). Tomaras *et al.*, (2003) ont montré que l'élaboration de pili produit final de l'opéron CsuA/BABCDE est essentielle pour la formation de biofilm chez *A. baumannii*. L'inactivation du gène *csuE*, composant de ce même opéron provoque à la fois une suppression de la production du pili et de la formation de biofilm, suggérant que celui-ci joue un rôle dans l'adhésion initial aux surfaces abiotiques [(Tomaras *et al.*, 2003) ; (Gaddy et Actis, 2009) ; (Roca *et al.*, 2012) ; (Longo *et al.*, 2014)]. De plus, en 2009, Breij *et al* ont constaté que la souche *A. baumannii* ATCC19606T produit un court et mince pili indépendant de l'opéron CsuA/BABCDE qui peut être impliqué dans l'adhésion aux surfaces biotiques tel que cellules respiratoires humaines.

1.3.1.3. La protéine Bap (biofilm-associated protein)

La protéine Bap exprimée à la surface d'*A. baumannii* homologue de la protéine Bap de *S.aureus* semble être impliquée dans l'adhésion intercellulaire mais aussi dans la maturation du biofilm. La délétion de cette protéine dans le génome de la bactérie par insertion d'un transposon entraîne une chute drastique de sa capacité à former un biofilm épais sur une surface de polystyrène [(Loehfelm *et al.*, 2008) ; (Longo *et al.*, 2014)]. En effet, Brossard et Campagnari, (2012) ont montré que les bactéries exprimant la protéine Bap à leurs surfaces forment un biofilm avec une architecture classique constituée de tours multidimensionnelles séparées par des canaux d'eau, relativement stables. En revanche, les cellules déficientes en Bap restent principalement en une seule couche, constituant quelques rares zones d'agrégats cellulaires (Figure 4).

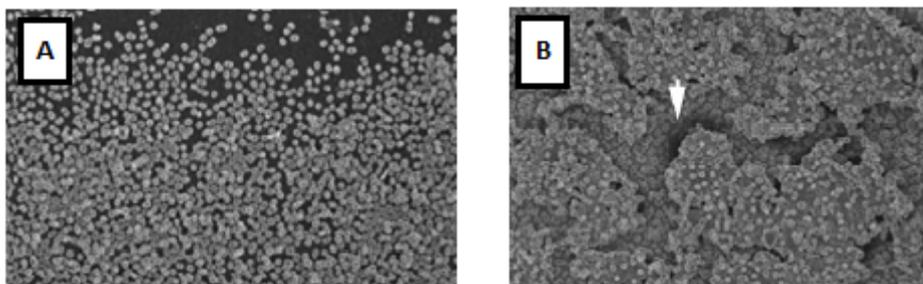


Figure 4 : Formation de biofilm par *A. baumannii*.

A : Déficient en Bap. B : exprimant la protéine Bap (Brossard et Campagnari, 2012).

1.3.1.4. Le poly- β -1,6-N-acétylglucosamine (PNAG)

Le poly- β -1,6-N-acétylglucosamine (PNAG) joue un rôle dans la maturation du biofilm d'*A. baumannii* (Longo *et al.*, 2014). Celui-ci est composant majoritaire de la matrice exopolysaccharidique et est codé par un groupe de quatre gènes (pgaABCD).

1.3.2. Les caractéristiques de la surface du dispositif médical

La rugosité, les propriétés chimiques d'une surface et la présence préalable de films protéiques sur celle-ci influencent l'attachement des bactéries à cette surface et la formation d'un biofilm.

1.3.2.1. La nature du matériau

Tous les matériaux utilisés dans la fabrication de dispositifs médicaux implantables sont décrits en tant que biomatériaux. Des centaines de polymères sont actuellement utilisés séparément ou combinés dans la fabrication de celui-ci.

- Les cathéters en latex sont peu coûteux et ont une bonne élasticité, mais ont tendance à être plus enclins à l'adhérence des bactéries et peuvent présenter un grand risque d'allergie comparé à d'autres matériaux. Ils conviennent pour une utilisation à court terme seulement et sont souvent recouverts de polymères supplémentaires (Gorman et Jones, 2005).
- Le silicone est la norme par rapport à laquelle les autres matériaux doivent être comparés en terme de biocompatibilité. Il est doux, non irritant et cliniquement stable, ce qui est idéal pour une utilisation à long terme (Gorman et Jones, 2005). Il présente de bonnes propriétés de surface, qui permettent une insertion et un retrait plus facile. Cependant, bien qu'il semble y avoir une légère diminution dans la formation de dépôts incrustés, le silicone est toujours très sensible à la formation de biofilm (Gilmore et Gorman, 2013).
- Les polyuréthanes sont des polymères contenant la liaison uréthane $-OC(O)NH-$. Le terme polyuréthane se réfère à une large variété d'élastomères qui sont généralement formés par l'addition d'un polyglycol à un isocyanate. En changeant les composants chimiques, il peut être aisément adapté à de nombreuses applications. Les polyuréthanes ont de bonnes propriétés mécaniques, sont relativement peu coûteux, et sont couramment utilisés dans la pratique clinique (Gorman et Jones, 2005).
- Le polychlorure de vinyle (PVC) est largement utilisé dans la fabrication des cathéters intermittents car il est mécaniquement solide, peu coûteux et a une surface lubrifiée

relativement lisse. La rigidité de la matière est surmontée dans la pratique par l'ajout de plastifiants pour obtenir un produit suffisamment souple qui peut être utilisé cliniquement. En comparaison avec le latex, les dispositifs peuvent avoir des parois plus minces et donc une lumière plus grande, mais même en le plastifiant le matériau n'est pas suffisamment élastique pour lui permettre d'être confortablement utilisé dans la fabrication des dispositifs implantables (Gilmore et Gorman, 2013).

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

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

1.3.2.3. La rugosité de la surface

Plus une surface est rugueuse, plus sa colonisation par des microcolonies est importante (Characklis et Marchall, 1990). La rugosité est un paramètre qui traduit l'importance de la surface de contact (Van Loostrecht *et al.*, 1990). De plus, les irrégularités du matériau constituent des sites d'implantation bactérienne plus favorables car moins soumis aux facteurs exogènes tels que les courants de surface (Baillif *et al.*, 2010).

1.3.2.4. Présence de films protéiques sur la surface.

La présence de polymères sur un matériau modifie les propriétés physicochimiques de surface (tension de surface, polarité, mouillabilité) qui peuvent stimuler l'adhésion bactérienne (Branger *et al.*, 2007). En effet, la présence préalable sur un biomatériau d'un film protéique comme le sang, les larmes, l'urine, la salive, le liquide intersitiel et les sécrétions respiratoires influence l'attachement de bactéries à sa surface, et favorise la formation de biofilm (Mittelman, 1996).

1.3.3. Les caractéristiques du milieu aqueux

Le mode de culture est une caractéristique importante qui peut modifier fortement l'adhésion des organismes. Le pH, l'osmolarité, la concentration en fer et l'oxygène sont importants à considérer dans le processus de formation des biofilms (O'Toole *et al.*, 2000).

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

La température de croissance est aussi un facteur important d'accumulation du biofilm, elle affecte non seulement l'activité métabolique et enzymatique des bactéries, mais aussi certains paramètres physico-chimiques (pH, activité ionique, agitation thermique et solubilité des gaz) (Briandet *et al.*, 1999). Cappello *et al.*, (2006) ont montré qu'une élévation de la température de culture provoque une augmentation de la capacité d'adhésion de *P. aeruginosa* au polystyrène de par l'augmentation de l'hydrophobicité de sa surface.

Les conditions nutritives rencontrées dans le milieu affectent le devenir et le mode de vie d'une population bactérienne (Balestrino, 2006). En effet, dans un milieu statique, la concentration en nutriments doit être élevée pour qu'il puisse y avoir formation d'un biofilm ; ce n'est pas le cas pour un milieu hydrodynamique (Spormann, 2008).

Certaines sources de carbone et de cations (sodium Na^+ , Calcium Ca^{2+} , ion ferrique Fe^{3+}) influencent également la formation d'un biofilm [(Donlan, 2002) ; (Martinez, 2007)].

1.4. Autres facteurs de virulence

1.4.1. La résistance aux antibiotiques

A. baumannii a une capacité exceptionnelle à accumuler différents mécanismes de résistance aux antibiotiques qui, combiné avec sa résistance innée à la dessiccation, contribuent à sa survie et à sa persistance sous la pression sélective de l'environnement, ce qui fait de ce micro-organisme un pathogène nosocomial phénoménal (Roca *et al.*, 2012).

Les souches d'*A. baumannii* sont naturellement résistantes à la pénicilline G, à l'amoxicilline et aux céphalosporines de première et deuxième génération. En effet, les souches sauvages de *A. baumannii* produisent une β -lactamase de type céphalosporinase (ou AmpC), désignée également « *Acinetobacter*-derived cephalosporinases » (ADCs). La présence de ces enzymes ADCs représente le mécanisme de résistance aux β -lactamines le plus fréquent chez *A.*

baumannii. Cette enzyme est capable d'hydrolyser les aminopénicillines et les céphalosporines de première et de deuxième génération (Bou *et al.*, 2000).

L'imipénème est resté l'antibiotique le plus actif sur les souches d'*Acinetobacter* spp, malheureusement des souches cliniques d'*A. baumannii* isolées dans plusieurs hôpitaux à travers le monde montre une fréquence de résistance généralement supérieure à 25% (Marti, 2008). En effet, un grand nombre d'enzymes de type oxacellinase de classe D ayant une activité contre les carbapénèmes ont été caractérisées. Certaines souches d'*Acinetobacter* expriment des métallo- β -lactamases (MBLs) de type IMP, VIM, SIM ou NDM, qui hydrolysent un large éventail d'agents antimicrobiens, y compris les carbapénèmes (Eliopoulos *et al.*, 2008). En dépit de sa toxicité, la colistine reste un antibiotique de choix dans le traitement des infections causées par *A. baumannii*. Cependant l'utilisation abusive des polymyxines a entraîné l'émergence de souches cliniques résistantes à la colistine avec un taux de 5% à 28% (Landman *et al.*, 2008).

La multirésistance pose de nombreuses difficultés de traitement lors d'infections associées aux soins. Outre une élévation du taux de mortalité, elle provoque des surcoûts résultant d'une augmentation des durées d'hospitalisation, d'une augmentation des frais thérapeutiques, de la réalisation de nombreuses analyses bactériologiques, d'une éventuelle fermeture de lits voire de services entiers et des frais liés au nettoyage et à la désinfection (Euzéby, 2003).

1.4.2. Les lipopolysaccharide (LPS)

Le lipopolysaccharide produit par *Acinetobacter* présente une toxicité létale chez la souris et cette endotoxine est détectée lors de bactériémies liées à ce genre. Celui-ci altère également l'action bactéricide du complément dans le sérum humain en agissant de façon synergique avec la capsule polysaccharidique (Joly-Guillou, 2005).

1.4.3. La protéine de membrane externe A (OmpA)

Les Protéines de la membrane externe (OMP) des bactéries Gram-négatives ont été associées à la résistance aux antibiotiques, l'adaptation et à la pathogénicité au niveau des cellules hôtes. Certains OMP de la famille OmpA ont été caractérisés chez les souches d'*Acinetobacter* et représentent l'un des principaux OMP dans le genre (Roca *et al.*, 2012). Les ompA d'*A. baumannii* (AbOmpA) constituent un véritable facteur de virulence puisqu'elles sont impliquées dans l'adhésion et l'invasion des cellules épithéliales. Ces protéines provoquent l'apoptose de celles-ci en ciblant les mitochondries, ce qui conduit à la propagation de la bactérie à travers les muqueuses ainsi perturbées et conduit

systématiquement à l'infection [(Choi *et al.*, 2005) ; (Roca *et al.*, 2012) ; (Lango *et al.*, 2014)].

1.4.4. Le quorum-sensing

Le Quorum Sensing est un mécanisme régulateur très répandu parmi les bactéries à Gram négatif. Il contrôle la sécrétion de facteurs de pathogénicité, la formation de biofilm, le mécanisme de conjugaison et la bioluminescence (Miller et Bassler, 2001). Chez les souches cliniques d'*Acinetobacter* quatre différentes molécules signales du quorum sensing ont été trouvées, celles-ci peuvent être un mécanisme central pour l'auto-induction de multiples facteurs de virulence (Joly-Guillou, 2005).

1.4.5. L'activité enzymatique

L'activité enzymatique de certaines enzymes comme les estérases, les aminopeptidases, les uréases et les phosphatases acides, pourraient aussi jouer un rôle dans la virulence chez *Acinetobacter spp.* (Bergogne-Berezin *et al.*, 2008). Les phospholipases D jouent un rôle dans la résistance au système immunitaire de l'homme, l'invasion des cellules épithéliales et la diffusion systémique de bactéries pathogènes chez les animaux infectés. Les phospholipases C constituent quand a elles, un facteur important dans l'endommagement des cellules. (Roca *et al.*, 2012).

1.4.6. La régulation de fer

Chez l'espèce *A. baumannii*, le pouvoir d'obtenir et d'utiliser le fer est un facteur important dans sa capacité à survivre à la fois au niveau de l'hôte et dans l'environnement, constituant ainsi un déterminant important de sa virulence (Joly-Guillou, 2008) ; celle-ci sécrète une variété de molécules impliquées dans l'acquisition du fer, tel que : le sidérophore, l'acinetobactin, et un système d'utilisation de l'hémine (Gordona et Warehama, 2010).

1. Prélèvements

Sur une période de 7 mois allant de décembre 2011 à juin 2012, un ensemble de 150 dispositifs médicaux (sondes urinaires, sondes d'intubation et cathéters veineux centraux) est prélevé, chez 57 patients hospitalisés plus de 48h au service de réanimation du C.H.U de Tlemcen (Algérie).

Les dispositifs médicaux sont collectés de façon aseptique et placés individuellement dans des tubes en verre stériles puis acheminés vers le laboratoire pour une analyse immédiate.

2. Ensemencement

L'ensemencement est effectué selon la méthode de Brun buisson *et al.*, (1987). L'extrémité distale de chaque dispositif médical est coupée puis placée dans 1 mL d'eau physiologique stérile puis agité au vortex durant 1 minute. Un volume de 20 µL est ensemencé sur gélose nutritive puis incubé à 37°C pendant 24h. Parallèlement, un milieu Mac Conkey est utilisé pour l'isolement des *A. baumannii*.

3. Identification

L'identification bactérienne est réalisée par les méthodes conventionnelles de microbiologie :

- examen macroscopique suivi de l'examen microscopique des cultures sélectionnées après coloration différentielle de Gram,
- recherche de l'oxydase et de la catalase,
- identification des caractères biochimiques à l'aide des galeries API 20 E et API 20 NE (Biomérieux, France).
- Capacité à croître à une température de 44°C.

4. Sensibilité aux Antibiotiques

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton (Courvalin et Soussy, 1996). L'interprétation des résultats est effectuée selon les normes et les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, 2010). Les disques antibiotiques testés (Bioanalyse) sont les suivants : Ticarcilline 75µg (Tic), Ticarcilline-acide clavulanique 75/10µg (TCC), Pipéracilline 75µg (Pip), Cefotaxime 30µg (Caz), Imipénème 10µg (IMP), Amikacine 30µg (AMK), Gentamicine 15µg (Gen), Tobramycine 10µg (TM),

Tetracycline 30 μ g (TE), Ciprofloxacine 5 μ g (Cip), Sulfaméthoxazole-triméthoprime 23,75/1,25 μ g (SXT) et Colistine 50 μ g (CL).

5. Etude de la formation de biofilm d'*Acinetobacter baumannii*

L'évaluation de la formation de biofilm est réalisée par coloration au cristal violet suivant deux techniques la méthode tube (TM) et la méthode de Plaque de culture de tissus (TCP).

5.1. La méthode tube (TM)

C'est une technique qui permet une évaluation qualitative de la formation du biofilm décrite par Christensen *et al.*, (1982).

A partir d'une boîte de culture de 24h, une suspension bactérienne d'*A. baumannii* ajustée une DO₆₀₀ de 0,01 dans le milieu Luria-Bertani (LB) est réparti dans des tubes en polystyrène de 5mL puis incubé à 37°C pendant 24h. Les tubes sont ensuite lavés avec de l'EDS (eau distillée stérile) puis séchés. Chaque tube est ensuite coloré par le cristal violet (0,5%) pendant 20 minutes. L'excès de colorant a été supprimé et les tubes ont été lavés avec de l'eau distillée, puis séchés en position renversée. La formation du biofilm est considérée comme positive quand un film visible double et recouvre le mur et le bas du tube.

5.2. La méthode de Plaque de culture de tissus (TCP)

L'étude de la formation de biofilms est réalisée par coloration au cristal violet. Cette technique permet une évaluation quantitative de la formation de biofilms puisque la coloration adsorbée est directement corrélée à la densité du biofilm formé (Musk *et al.*, 2005).

La formation du biofilm a été réalisée dans des microplaques de 96 puits selon le protocole d'O'Toole et Kolter (1998a).

Une suspension bactérienne d'*A. baumannii* ajustée à une DO₆₀₀ de 0,01 dans le milieu Luria-Bertani (LB) est déposée dans les puits d'une microplaque de 96 puits, puis incubé à 37°C pendant 24 h sans agitation. Deux puits sont non inoculés et utilisés comme témoins négatifs. Une fois que le contenu de chaque puits soit enlevé délicatement en tapotant la plaque, les puits sont lavés successivement à l'EDS afin d'éliminer les bactéries libres flottantes (planctoniques). Le biofilm formé est ensuite coloré avec du cristal violet à 0,5% (w/v) pendant 20 min à température ambiante. La formation du biofilm est finalement quantifiée à 570 nm après solubilisation avec de l'éthanol à 95%. L'expérience a été réalisée trois fois pour chaque souche.

6. Etude de l'hydrophobicité de la paroi bactérienne d'*A. baumannii*

6.1. La méthode MATH (Microbial Adhesion To Hydrocarbon)

L'hydrophobicité de la paroi est estimée selon le protocole MATH (Rosenberg, 1984) en utilisant l'héxadécane comme solvant. Les souches d'*A. baumannii* sont cultivées dans 50mL de LB et incubé pendant 18h à 37°C. Les cellules sont récupérées après centrifugation (5000 tours/min) pendant 15 minutes. Le culot obtenu est ensuite lavé après 2 centrifugations successives à l'aide du tampon PBS (phosphat befferd saline pH 7.1) et mis en suspension dans le même tampon à une densité optique initial (DO_i) comprise entre 0,8 et 1 à 600nm. Un volume de 0,3mL de chaque solvant est additionné à 1,8mL de suspension bactérienne puis l'ensemble est agité au vortex pendant 2min. Après 20min de décantation la DO (DO_f) de la phase aqueuse est mesurée à 600nm et le pourcentage d'adhésion au solvant est alors calculé par la relation suivante : $CSH_{\%} = [(DO_i - DO_f) / DO_i] \times 100$

Lorsque la $CSH_{(\%)}$ < 20% hydrophile

$CSH_{(\%)}$ > 40% hydrophobe

20% < $CSH_{(\%)}$ < 40% moyennement hydrophobe

L'expérience est réalisée trois fois pour chaque souche.

6.2. Le test d'agglutination ou le Salt Aggregation Test (SAT)

L'hydrophobicité de la paroi bactérienne est aussi évaluée par le test d'agrégation avec le sulfate d'ammonium (SAT) décrit par Lindahl *et al.*, (1981). Cette méthode est basée sur la détermination de la plus faible concentration de sulfate d'ammonium qui induit une agrégation de cellules bactériennes.

Deux à trois colonies provenant d'une gélose Mac Conkey sont repiquées dans le bouillon LB et incubées pendant 24 h à 37°C. Les cellules bactériennes collectées après centrifugation pendant 10 min à 5000 tours/min sont lavées 2 fois avec du PBS (pH 6,8) et mises en suspension dans le même tampon et ajustées à une DO_{600 nm} de 2. Un mL de cette suspension a été mélangé avec 1 mL de solutions de concentrations croissantes de sulfate d'ammonium (pH 6,8) allant de 0,5 à 4 M (préparées à partir d'une solution mère de sulfate d'ammonium 8M, pH 6,8). L'agrégation est observée par une inspection visuelle du tube. La plus faible concentration de sulfate d'ammonium provoquant cette agrégation est considérée comme indice d'hydrophobicité. Le test est considéré comme positif si la valeur du SAT est inférieure à 2 M. Si la valeur du SAT est inférieure à 1 M, la souche est considéré comme très

hydrophobe. Lorsque cette valeur est comprise entre 1 et 2 M, la souche est hydrophobe, et la souche est hydrophile si la valeur du SAT est supérieure à 2 M (Krepsky *et al.*, 2003).

7. Etude de la formation de biofilm d'*A. baumannii* sous conditions de culture

L'effet de la température, de la concentration en sel et en glucose sur la formation de biofilm sont testés sur microplaque de 96 puits (technique décrite précédemment) en utilisant le milieu LB additionné de différentes concentrations de NaCl (0,5%, 1%, 2%, 3%, 4%, pH 7,2) et de glucose (0,2%, 0,5%, 1%, 2%, pH7,2). L'intensité de la formation de biofilm est également évaluée à des températures de 30°C et 37°C.

8. Cinétique de la formation de biofilm d'*A. baumannii*

La cinétique de la formation des biofilm d'*A. baumannii* est réalisée à l'aide de la méthode standard de coloration au Cristal Violet (CV).

Une suspension bactérienne est préparée dans le milieu Luria-Bertani (LB) à partir d'une culture jeune d'*A. baumannii*. La densité optique de la suspension est ajustée jusqu'à l'obtention d'une valeur DO_{600} de 0,01 puis la suspension est répartie dans des tubes de 5 mL en polystyrène à raison de 3 mL par tube. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant une période allant jusqu'à 6 jours.

A l'issue de chaque période d'incubation, chaque tube correspondant est soigneusement vidé de la culture bactérienne puis coloré avec du cristal violet à 0,5% (w/v) pendant 20 min. La formation du biofilm est quantifiée à 570 nm après solubilisation avec de l'éthanol à 95%.

La technique est réalisée trois fois pour chaque souche, en tube et non pas sur microplaque de 96 puits afin d'éviter les problèmes d'évaporation vu la durée d'incubation.

9. Etude de la formation de biofilm d'*A. baumannii* sur différents biomatériaux.

9.1. Préparation des supports

Les surfaces solides sélectionnées pour cette étude sont le silicone, le latex et le polyvinylchloride. Avant chaque expérience, le substrat est trempé pendant 15 min dans l'éthanol, rincé six fois avec de l'eau distillée puis stérilisé par autoclavage pendant 15 min à 120°C (Hamadi *et al.*, 2009).

9.2. Détermination de l'hydrophobicité de la surface des substrats solides.

L'hydrophobicité des surfaces solides (latex, silicone et PVC) est déterminée par des mesures de l'angle de contact (GBX, France) (Figure 6) par la méthode de la goutte posée

(Figure 5). La méthode de mesure de l'angle de contact a été décrite pour la première fois par Busscher *et al.*, (1984). Une goutte d'eau distillée est déposée à la surface des supports préalablement préparés. L'angle formé entre la goutte d'eau et les supports respectifs a été calculé.

Cette technique a été réalisée au laboratoire de Valorisation et Sécurité des Produits Alimentaires, Béni Mellal, Maroc.

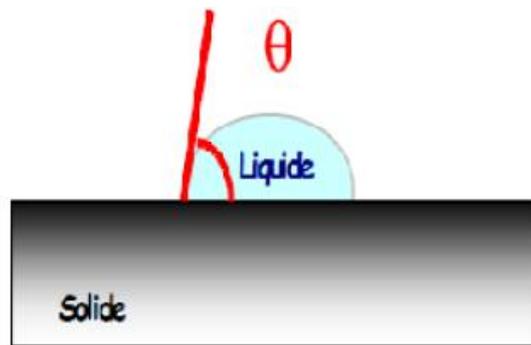


Figure 5: Représentation de l'angle de contact (θ) d'une goutte liquide déposée à la surface.



Figure 6 : Appareil de mesure de l'angle de contact (GBX, France).

9.3. Adhésion d'*A. baumannii* sur PVC, silicone et latex

Des coupes de 1cm^2 de chacun des supports choisis sont introduites dans des tubes contenant 5mL d'une suspension bactérienne d'*A. baumannii* ajustée à une DO_{600} de 0,1 puis incubés à 37°C pendant 24h. Les supports sont récupérés, lavés abondamment à l'eau distillée stérile puis placés dans 5 mL de PBS (pH 7,1). La sonication est effectuée 3 fois à l'aide de l'ultrason model WiseClean WUC-D06H pendant 5min intercalée par un passage de 20sec au vortex. Une série de dilutions au 1/10 jusqu'au 1/100000 est effectuée pour chaque

échantillon, puis ensemencée sur gélose nutritive. Le dénombrement des colonies est réalisé après 24h d'incubation à 37°C. L'expérience est réalisée 3 fois pour chaque échantillon.

9.4.Observation de l'adhésion par environnemental microscopie électronique à balayage (ESEM)

L'adhésion d'*A. baumannii* sur le PVC, le silicone et le latex est appréciée sous microscope électronique à balayage. Les échantillons de PVC, de latex et de silicone mis en contact avec une suspension bactérienne d'*A. baumannii* ajustée à une DO_{600} de 0,1 et incubés à 37°C pendant 24h sont séchés à température ambiante, placés sur les supports adaptés puis observés au microscope électronique à balayage du type Hitachi TM1000 sans aucun traitement préalable.



Figure 7 : Microscope électronique à balayage Hitachi TM1000.

1. Prélèvements

Plus de 82% des infections associées aux soins sont dues à la présence d'implants médicaux contaminés posant ainsi un véritable problème de santé publique pour les personnes nécessitant ces implants (Archibald et Gaynes, 1997).

Dans cette étude, le diagnostic d'infections liées aux dispositifs médicaux a été réalisé pour l'ensemble des 150 dispositifs prélevés chez 57 patients hospitalisés plus de 48h au service de réanimation du CHU de Tlemcen. L'âge des patients est compris entre 17 et 78 ans et la durée d'implantation des dispositifs est rangée entre 4 et 21 jours.

Ces prélèvements incluent 42 sondes d'intubation, 61 sondes urinaires et 47 cathéters veineux centraux. Le dispositif est considéré comme colonisé si la numération des bactéries est supérieure ou égal à 10^3 UFC/mL. Celui-ci est considéré comme infecté si cette numération est accompagnée de symptômes cliniques (Brun Buisson *et al.*, 1987).

Un total de 89 (59%) dispositifs médicaux prélevés présente une numération supérieure ou égal à 10^3 UFC/mL contre 61 (41%) dispositifs exhibant une numération inférieure à ce seuil. Ces 89 dispositifs médicaux englobent 53 (35%) dispositifs infectés et 36 (24%) colonisés (Tableau 2). En effet l'implantation temporaire d'un cathéter vasculaire, d'une sonde vésicale ou d'une sonde endotrachéale est associée à un risque infectieux non négligeable puisqu'on estime que 60 % des infections associées aux soins auraient pour origine un dispositif invasif [(Lichter *et al.*, 2009) ; (Espinasse *et al.*, 2010) ; (Treter et Macedo, 2011)].

Tableau 2: Diagnostic des infections liées aux dispositifs médicaux prélevés au service de réanimation du CHU de Tlemcen

Dispositifs Médicaux	Numération $\geq 10^3$		
	Infection (%)	Colonisation(%)	Numération $<10^3$ (%)
Sonde d'intubation (n=42)	11 (26)	20 (48)	11 (26)
Sonde urinaire (n=61)	32 (52)	4 (7)	25 (41)
Cathéter veineux central (n=47)	10 (21)	12 (26)	25 (53)
Total	53 (35)	36 (24)	61 (41)

Selon un rapport de l'OMS datant de 2011, celui-ci a montré que les infections associées aux dispositifs médicaux dans les pays en voie de développement étaient essentiellement des PAVM avec un taux 23,9%, suivis des septicémies liées aux cathéters veineux centraux

(12,2%) et les infections urinaires sur sonde (8,8%). Une enquête menée par Hassaine, (2008) au CHU de Tlemcen a montré que 16,85% des patients avaient une infection associée aux soins et que 31% d'entre eux étaient porteurs de dispositifs invasifs. Les sites d'infections les plus retrouvés étaient les sondes urinaires (42,37%), suivi de l'infection du site opératoire (39%) et enfin en 3ème position les infections sur cathéters avec 8,47%.

Dans notre étude, la colonisation est essentiellement détectée sur les sondes d'intubation avec un taux de 48% (20/42). En effet, la sonde d'intubation est considérée comme un élément déterminant, véritable voie finale commune de la colonisation précédant l'infection du poumon profond (Shehata *et al.*, 2012). Ce résultat est en accord avec celui de Gil-Perotin *et al.*, (2012) qui ont montré que malgré la colonisation de 87% des sondes d'intubation des patients ventilés seuls 19% d'entre eux ont développé une pneumopathie acquise sous ventilation mécanique. De même, Feldman *et al.*, (1999) ont montré que la sonde d'intubation commençait à être colonisée à partir de la 60ème heure qui suit la colonisation des voies inférieures et qu'il existe une atteinte prédominante de l'extrémité distale de celle-ci (Berra *et al.*, 2006). La présence d'une sonde endotrachéale perturbe le réflexe de toux, favorise l'accumulation de sécrétions et du mucus trachéo-bronchique, fournissant un conduit direct aux micro-organismes pathogènes pour atteindre les voies respiratoires inférieures, ce qui augmente le risque d'infection. De manière significative, le tube endotrachéal peut également agir comme un réservoir pour les agents pathogènes en leur fournissant une surface à laquelle elles peuvent adhérer et former des biofilms (Shehata *et al.*, 2012).

Nos résultats montrent clairement que les sondes urinaires sont les plus incriminées dans l'infection que dans la colonisation avec un taux de 52% (32/61). En effet, selon Hatt, (2008) la pose d'une sonde urinaire est le premier facteur responsable du développement d'une infection urinaire puisque celle-ci altère les mécanismes physiologiques de défense et facilite la colonisation microbienne, première étape du développement d'une infection urinaire sur sonde (Espinasse *et al.*, 2010).

Les infections urinaires liées au sondage vésical représentent 80% des infections urinaires nosocomiales (Jacobsen *et al.*, 2008). L'incidence d'acquisition d'une infection urinaire sur sonde varie de 3 à 10% par jour de sondage, avec un risque cumulé de 100% après 30 jours (Trautner et Darouiche, 2004). En effet, les sondages urinaires de longue durée entraînent une colonisation quasi-permanente de l'urine, avec formation de biofilm à la surface interne et externe de la sonde conduisant dans tous les cas à une infection du tractus urinaire (Donlan, 2002). L'infection peut créer des troubles urinaires tel que la dysurie, la

strangurie, l'hématurie, la distension vésicale, l'oligo-anurie ainsi que d'autres conséquences plus sévères comme les pyélonéphrites et choc septique [(Tenke *et al.*, 2006) ; (Hatt, 2008)].

Quand aux cathéters veineux centraux, ils occupent la 2^{ème} place que ce soit dans la colonisation ou l'infection. En effet, les cathéters veineux centraux sont impliqués dans 90% des bactériémies contrairement aux cathéters veineux périphériques qui en donnent rarement. Une enquête nationale de prévalence de l'infection nosocomiale menée par Fki *et al.*, (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 sont des facteurs de risque certains 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.

2. Identification de l'espèce *A. baumannii*

Sur l'ensemble des dispositifs médicaux colonisés et infectés, un total de 240 bactéries Gram négatives est isolé. L'examen microscopique après coloration de Gram des colonies bactériennes a permis l'observation de petits coccobacilles à gram négatif regroupés par deux ou bien en courtes chainettes (Figure 8). Les tests enzymatiques effectués ont révélé, une réaction négative de l'oxydase (oxydase -) et une présence de l'enzyme catalase chez l'espèce isolée (catalase +).

L'identification biochimique par galerie API 20E et API 20 NE ainsi que la capacité à croître à 44°C a permis de mettre en évidence et de confirmer la présence de l'espèce *A.baumannii*.

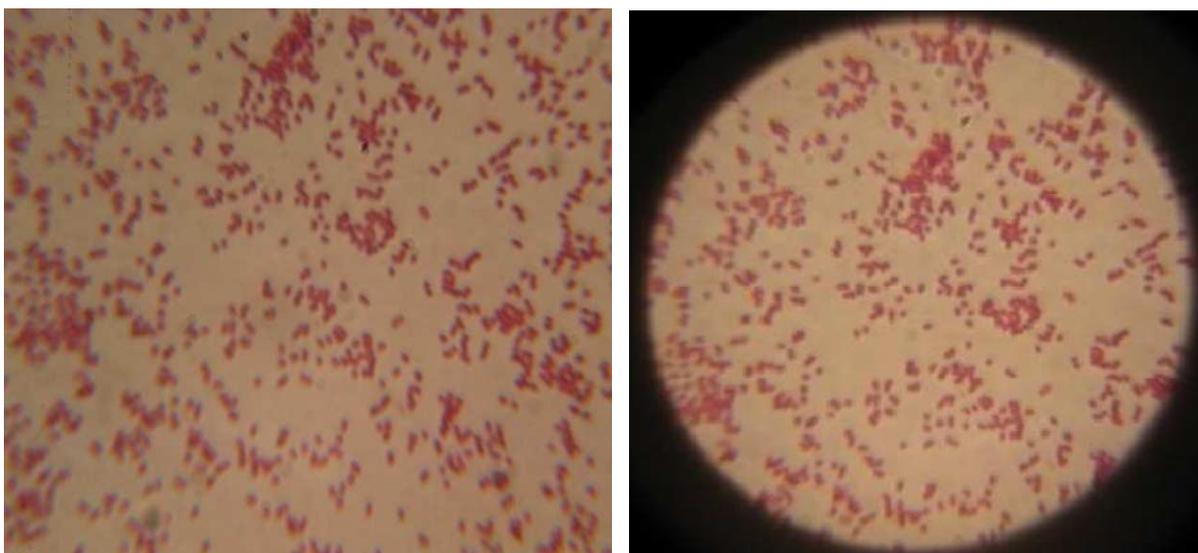


Figure 8 : Observation microscopique après coloration de Gram (Grossissement x 100)

Parmi les 57 patients inclus dans cette étude, un total de 70 souches d'*A. baumannii* sont isolées à partir des dispositifs médicaux placés chez 47 patients d'entre eux. L'âge moyen des patients est de 49,7 ans. Le taux le plus élevé d'*A. baumannii* est observé dans la tranche d'âge comprise entre 37 et 56 ans (Tableau 3) et chez les malades de sexe masculin (Tableau 4). Une étude de Sghaier *et al.*, (2010) qui a porté sur 48 PAVM à *A. baumannii* dans l'unité de soins intensifs de l'hôpital Charles Nicole de Tunis, (Tunisie), a révélé un âge moyen de 64 ans. Une étude marocaine menée par Motaouakkil *et al.*, (2006) au sein du service de réanimation de l'hôpital Ibn Rochd et une étude américaine de Magnotti *et al.*, (2010) ont montré respectivement un âge moyen de 48 et 44 ans et une prédominance du sexe masculin avec un taux de 61,5% et 75 %.

Tableau 3 : Répartition des souches d'*A.baumannii* selon l'âge.

Age	Nombre de souche isolée	Pourcentage
17-36	18	26
37-56	33	47
57-78	19	27
Total	70	100

Tableau 4 : Répartition des souches d'*A.baumannii* selon le sexe.

Sexe	Nombre de souche isolée	Pourcentage
Masculin	45	64
Féminin	25	36
Total	70	100

La durée moyenne d'hospitalisation en réanimation de nos 47 patients est de 10,6 jours. L'espèce *A. baumannii* est considérée comme un pathogène le plus fréquemment responsable d'infections associées aux soins chez les patients de réanimation (Chatellier *et al.*, 2007). Effectivement, les principaux facteurs de risque dans ces services reconnus dans la littérature sont la ventilation assistée, l'antibiothérapie à large spectre, la sévérité de la pathologie sous-jacente, le cathétérisme artériel et la durée de séjour prolongée (Lahsoun *et al.*, 2007).

Une étude menée par Mesli, (2014) dans trois centres hôpitalo-universitaires de l'ouest Algérien (Tlemcen, Oran, Sidi Bel abbès) réalisée entre 2009 et 2012 a montré une fréquence d'isolement plus élevée du genre *Acinetobacter* par rapport aux autres bactéries Gram négatives isolées, avec une prédominance dans le service de réanimation.

L'étude marocaine de Nejari *et al.*, (2003) et l'étude tunisienne de Saïdani *et al.*, (2006) ont trouvé qu' *A. baumannii* était le germe le plus responsable d'infections associées aux soins avec des taux respectifs de 47,3% et 24%. Elouennass *et al.*, (2008) ont également trouvé une prédominance d'*A. baumannii* avec un taux de 13,64% au cours d'une enquête épidémiologique menée au service de réanimation de hôpital militaire d'instruction Mohammed-V, Rabat, (Maroc). De même, l'étude de Lahsoune *et al.*, (2007) menée au CHU Ibno Rochd à Casablanca portant sur 754 souches non répétitives d'*A. baumannii* a montré que plus de la moitié des souches 50,53 % provenait du service de réanimation.

La fréquence d'*A. baumannii* est liée au caractère nosocomial fréquent des bactériémies en réanimation, elle suggère une transmission manuportée et un problème de maîtrise de l'environnement hospitalier. En effet, cette espèce est une bactérie nosocomiale par excellence, avec un réservoir essentiellement environnemental hospitalier, une capacité d'acquérir et de cumuler facilement plusieurs mécanismes de résistance (Elouennass *et al.*, 2008). La principale caractéristique des infections nosocomiales observée en réanimation est d'être directement ou indirectement associée aux techniques de suppléance invasives utilisées pour pallier une défaillance vitale, qui nécessitent le plus souvent la mise en place de corps étrangers (ou "dispositifs invasifs" tels que cathéters, sondes, etc..) et ont pour conséquence de court-circuiter les moyens de défense de première ligne que sont la peau, les muqueuses et les sphincters (Brun buisson *et al.*, 1987).

La majorité des souches isolées dans notre étude proviennent de sondes d'intubation suivies de sondes urinaires et enfin de cathéters veineux centraux (Tableau 5).

Tableau 5 : Répartition des souches d'*A.baumannii* selon le site d'isolement.

Dispositif médical	Nombre de souches isolées	Pourcentage
Sonde d'intubation	29	41
Sonde urinaire	23	23
Cathéter veineux central	18	26
Total	70	100

Nos résultats sont en accord avec les études de Villers *et al.*, (1998), Suri *et al.*, (2000) ainsi qu'Elouennass *et al.*, (2002), qui ont montré la prédominance d' *A. baumannii* dans le tractus respiratoire et les sites broncho-trachéals. De même, Gil-Perotin *et al.*, (2012) ont trouvé qu'*A. baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* étaient les deux espèces le plus fréquemment

isolées de sécrétions respiratoires et de sondes d'intubation. En effet, *A. baumannii* est un commensal de l'homme et faisant partie de la flore cutanée, de la gorge, des voies respiratoires et de l'intestin (Zohoun *et al.*, 2012).

3. Antibiogramme

L'intérêt porté à *A. baumannii* a connu une croissance rapide suite à l'émergence de souches multirésistantes (Rao *et al.*, 2008). Depuis une trentaine d'années, la résistance de cette bactérie aux antibiotiques n'a cessé d'augmenter et des épidémies intrahospitalières dues à des souches multirésistantes sont régulièrement rapportées (Mansour *et al.*, 2005).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées au niveau de notre structure hospitalière montre un taux de résistance important (100%) vis à vis de la ticarciline, l'association ticarcilline+acide clavulanique, la pipéraciline et s'étend même aux céphalosporines de 3^{ème} génération (Figure 9). *A. baumannii* possède naturellement une β -lactamase de type céphalosporinase : AmpC et une β -lactamase de classe D ou oxacillinase qui a une action sur quelques β -lactamines y compris l'imipénème et le méropénème dans une moindre mesure [(Corvec *et al.*, 2003) ; (Mansour *et al.*, 2005)].

Soixante pourcent des souches d'*A. baumannii* isolées présentent une résistance à l'imipénème. L'étude de Mesli, 2014 a montré des taux de résistance de 50,6%, 54% et 49,4% durant les années 2009, 2010 et 2011 à l'ouest Algérien (Tlemcen, Oran, Sidi bel Abbès). En effet, la résistance de cette espèce aux carbapénèmes a augmenté de manière alarmante ces dernières décennies et plusieurs mécanismes responsables de celle-ci ont été décrit : la production de carbapénemase, la réduction de la perméabilité membranaire et l'altération des protéines liant pénicilline (PLP) [(Vila, 1998) ; (Poirel et Nordmann, 2006) ; (Ruiz *et al.*, 2007)]. L'usage abusif de cette classe d'antibiotiques dans les services hospitaliers y a également contribué (Stickler, 1996). En effet, une étude menée par Hassaine *et al.*, (2009) sur la consommation des antibiotiques au CHU de Tlemcen a montré que le service de réanimation était le service le plus consommateur de l'imipénème avec 183 Dose définie journalière /1000jours d'hospitalisation en 2007 et 165DDJ/1000JH en 2008.

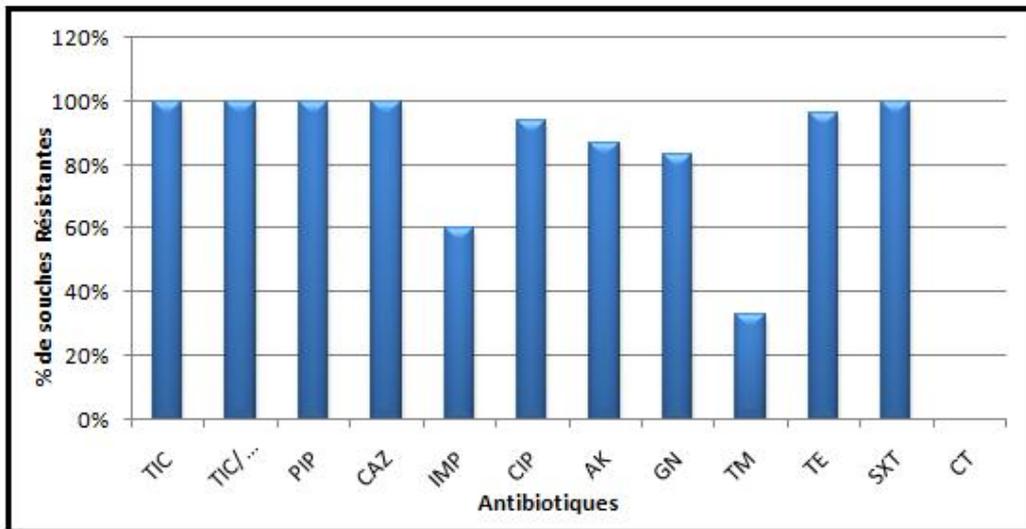


Figure 9 : Taux de résistance aux antibiotiques des isolats d'*A.baumannii*

La résistance de nos souches vis-à-vis de l'amikacine et la gentamycine reste élevée avec des taux respectifs de 87% et 83%. Cependant, la tobramycine reste plus ou moins active avec un taux de résistance de 33%. En effet, la résistance d'*A. baumannii* aux aminosides, a connu depuis 1980, une évolution très brutale. Cette évolution est probablement liée à la prescription empirique et non contrôlée de cette molécule (Elouennass *et al.*, 2002). En 2008 le service de réanimation du CHU de Tlemcen est devenu le premier consommateur des aminosides avec 133DDJ/1000JH, alors qu'il occupait la 2^{ème} place en 2007 (Hassaine *et al.*, 2008).

La résistance à la triméthoprim-sulfaméthoxazole, aux tetracyclines et à la ciprofloxacine reste élevée avec respectivement des taux de 100%, 96% et 94%. Aucune souche d'*A. baumannii* isolée au sein du service de réanimation du CHU de Tlemcen ne présente de résistance à la colistine. Ces résultats semblent être en accord avec plusieurs études qui ont montré l'efficacité de l'utilisation de la colistine en monothérapie. En effet, au cours d'une méningite à *A. baumannii*, la colistine par voie veineuse a été utilisée avec succès par Jiminez *et al.*, (2000). Cependant, l'émergence de souches résistantes à cette molécule est actuellement documentée avec plus de 3,2% de souches résistantes (Peleg *et al.*, 2008).

4. Evaluation de la formation de biofilm chez *A. baumannii*

Suite à tous nos résultats, aux différents facteurs étudiés, essentiellement la durée du séjour des patients au service de réanimation et le nombre important de dispositifs médicaux infectés, nous avons jugé nécessaire d'expliquer l'installation de cette infection par la connaissance d'autres mécanismes responsables de celle-ci, entre autre la formation de

biofilm et les différents facteurs susceptibles d’influencer ce processus. Dans ce contexte, seules les 30 souches isolées des dispositifs infectés feront l’objet de la suite de notre étude.

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

Selon la méthode TM, 26/30 souches d’*A. baumannii* sont des productrices de biofilm. (Tableau 6). Cependant, la totalité des souches forme un biofilm selon la méthode TCP avec des valeurs de OD_{570} (moyenne, écartype) qui varient entre $0,18 \pm 0,06$ et $1,23 \pm 0,09$ (Figure 10).

Tableau 6 : Résultats de la formation du biofilm par la technique TM et TCP.

Test	Formation de biofilm			
	Négatif	Faible	Modérée	Fort
TM	4	3	18	5
TCP	0	5	19	6

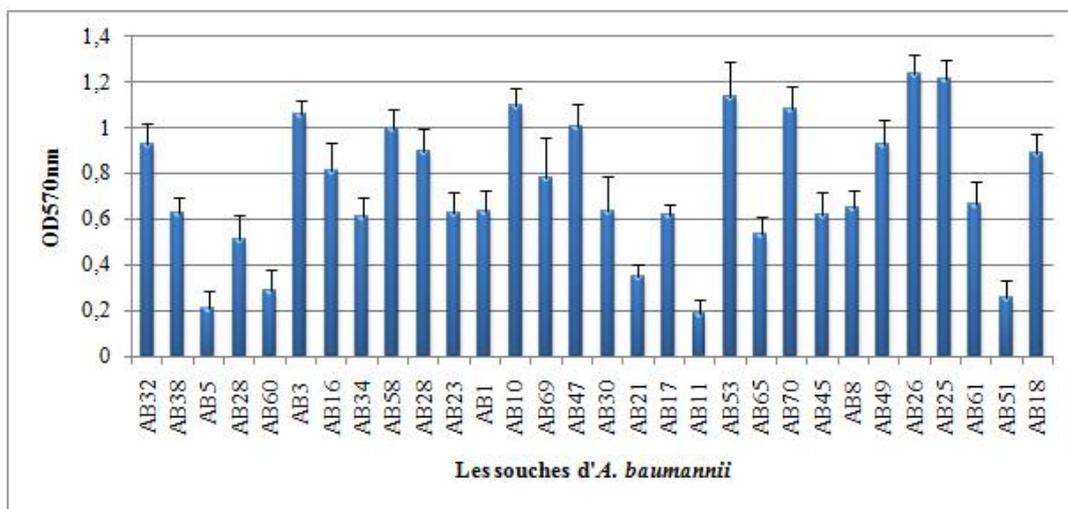


Figure 10 : Quantification de la formation de biofilm par *A. baumannii* en microplaques à 37°C.

Les souches considérées comme non productrices de biofilm par la méthode TM (AB60, AB5, AB11, AB51) forment un biofilm de faible intensité selon la méthode TCP. Une différence dans les résultats obtenus par les deux méthodes a également été observée par Bellifa (2014) et par Kara-Terki (2014) chez des souches de *Klebsiella pneumoniae* et de *Staphylococcus* isolées des mêmes dispositifs médicaux prélevés.

Malgré la facilité de la technique TM, la lecture des résultats obtenus par celle-ci peut-être difficile surtout si l’observateur n’est pas familiarisé avec cette technique. Cette différence se

situé particulièrement dans l'interprétation des réactions faibles ou absentes (Stepanovic *et al.*, 2000). Par conséquent, et en accord avec des études précédentes, la méthode TM ne peut pas être recommandée pour la détection de la formation de biofilms [(Christensen *et al.*, 1982) ; (Mathur *et al.*, 2006)] contrairement à la méthode TCP qui constitue un procédé précis et reproductible pour une détermination quantitative fiable de la formation de biofilm (Mathur *et al.*, 2006).

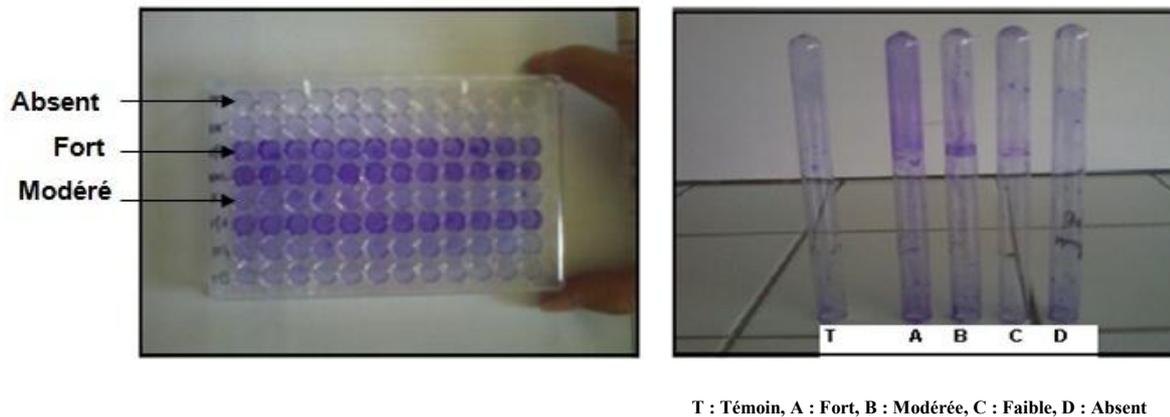


Figure 11 : Dépistage de la production du biofilm par la méthode TM et TCP.

Dans cette étude, toutes les souches d'*A. baumannii* isolées forment un biofilm, cette capacité est modérée chez la plus grande partie d'entre elles. Les fortes productrices sont en nombre de 6 dont 3 isolées de sondes d'intubation à 10, 15 et 20 jours d'implantation ; 2 de sondes urinaires à 6 et 7 jours d'implantation et enfin une seule des cathéters veineux centraux à 13 jours d'implantation (Tableau 7).

La capacité d'isolats cliniques d'*A. baumannii* à former des biofilms facilite les infections associées aux dispositifs médicaux implantables (Wroblewska *et al.*, 2008). Plusieurs études ont rapporté que les souches d'*A. baumannii* formaient des biofilms sur les surfaces en verre (Vidal *et al.*, 1996, 1997) et en plastique (Tomaras *et al.*, 2003), ce dernier processus exige la production et l'assemblage de pili présent à la surface bactérienne. Plus récemment encore, un homologue de la protéine associée à la formation de biofilm chez les Staphylocoques (Bap) a été identifié comme un composant de surface d'*A. baumannii* et qui est également impliqué dans le développement de biofilm sur des surfaces abiotiques (Loehfelm *et al.*, 2008).

La capacité d'*A. baumannii* à former un biofilm est également associée à sa capacité de survivre plusieurs jours dans l'environnement hospitalier (Tomaras *et al.*, 2003). En effet, Espinal *et al.*, (2012) ont montré l'existence d'une relation entre la formation du biofilm et la survie des souches d'*A. baumannii* en prouvant que les isolats qui produisent des biofilms survivent plus longtemps que les isolats ne formant pas de biofilm sur des surfaces abiotiques.

Tableau 7 : Caractérisation des souches isolées de dispositifs médicaux infectés.

Dispositif médical	Souche	Durée d'insertion	Formation de biofilm	Résistance aux antibiotiques
Sonde d'intubation n=11	AB10	10 jours	Fort	TIC TCC CAZ IMP GN AK SXT CIP TE
	AB53	15 Jours	Fort	TIC TCC CAZ IMP GN AK SXT CIP TE
	AB26	20 Jours	Fort	TIC TCC CAZ GN AK SXT CIP TE
	AB23	21 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ IMP AK SXT CIP TE
	AB30	19 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ GN AK TM SXT CIP TE
	AB18	18 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ IMP AK SXT CIP TE
	AB47	17 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ IMP GN AK SXT CIP TE
	AB69	17 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ IMP AK SXT CIP TE
	AB61	12 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ IMP GN AK SXT CIP TE
	AB38	7 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ IMP GN AK TM SXT CIP TE
AB21	10 Jours	Faible	TIC TCC CAZ IMP GN AK TM SXT CIP TE	
Sonde urinaire n=11	AB3	6 Jours	Fort	TIC TCC CAZ GN AK TM SXT CIP TE
	AB25	7 Jours	Fort	TIC TCC CAZ GN SXT TE
	AB8	4 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ IMP GN AK SXT CIP TE
	AB29	4 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ SXT CIP TE
	AB32	5 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ GN SXT TE
	AB17	6 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ AK SXT TE
	AB45	6 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ IMP GN AK SXT CIP TE
	AB49	6 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ GN AK TM SXT CIP TE
	AB28	9 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ IMP AK SXT CIP TE
	AB16	11 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ GN AK TM SXT CIP TE
AB11	5 Jours	Faible	TIC TCC CAZ IMP GN AK SXT CIP TE	
Cathéter veineux central n=8	AB70	13 Jours	Fort	TIC TCC CAZ IMP AK SXT CIP TM TE
	AB34	8 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ IMP GN AK SXT CIP TE
	AB1	10 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ AK TM SXT CIP TE
	AB65	12 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ GN AK TM SXT CIP TE
	AB58	15 Jours	Modérée	TIC TCC CAZ AK GN TM SXT CIP TE
	AB5	10 Jours	Faible	TIC TCC CAZ GN AK SXT CIP TE
	AB51	10 Jours	Faible	TIC TCC CAZ GN AK SXT CIP TE
	AB60	8 Jours	Faible	TIC TCC CAZ AK TM SXT CIP TE

Le profil de résistance chez les souches d'*A. baumannii* isolées durant notre étude révèle une remarquable résistance vis-à-vis de la plupart des antibiotiques testés (généralement 7 antibiotiques) avec une sensibilité à la colistine qu'elle soit de forte ou faiblement formatrice de biofilm (Tableau 7). Plusieurs études ont montré une forte proportion chez les isolats cliniques d'*A. baumannii* à former des biofilms et une association significative entre la formation de biofilm, la multi-résistance aux antibiotiques et les infections associées aux dispositifs médicaux [(Sechi *et al.*, 2004) ; (Rao *et al.*, 2008) ; (Rodríguez-Baño *et al.*, 2008)]. En effet, il a été observé que l'adhésion cellulaire et la formation de biofilm sur le plastique est plus élevée chez les souches portant le gène *blaPER-1* que chez celles qui ne possèdent pas ce trait génétique et que le niveau d'expression de celui-ci est positivement

corrélé avec l'intensité du biofilm formé sur le plastique ainsi qu'avec l'adhésion des bactéries aux cellules épithéliales humaines (Lee *et al.*, 2008). Des résultats similaires ont été rapportés par Rao *et al.*, (2008) où une association significative entre la multirésistance et la formation de biofilm a été trouvée, mais ils estiment que la présence du gène *blaPER-1* est plus critique pour l'adhésion bactérienne que pour la formation de biofilm sur les surfaces abiotiques.

Au contraire, Rodríguez-Baño *et al.*, (2008) ainsi qu'Espinal *et al.*, (2012) ont trouvé que les souches d'*A. baumannii* productrices de biofilm étaient plus sensibles à l'imipénème et à la ciprofloxacine que les souches non productrices de biofilm.

La capacité des souches d'*A. baumannii* à former des biofilms peut être due à sa résistance aux antibiotiques, ou inversement, *A. baumannii* pourrait acquérir une résistance à plusieurs antibiotiques lorsque celle-ci se trouve en état sessile. Dans les deux cas, la grande capacité de colonisation d'*A. baumannii* combinée à sa multirésistance aux antibiotiques, contribue à la survie du micro-organisme et à sa diffusion dans le milieu hospitalier.

5. Etude de l'hydrophobicité de la paroi bactérienne d'*A. baumannii*

L'hydrophobicité de la surface bactérienne des souches d'*A. baumannii* est connue pour être associée à sa pathogénicité, à son adhésion bactérienne et à sa capacité à former le biofilm [(Costa *et al.*, 2006) ; (Pour *et al.*, 2011)]. Dans ce travail, l'hydrophobicité des souches cliniques d'*A. baumannii* a été évaluée dans un premier temps par la méthode MATH en utilisant l'héxadécane comme solvant.

Les résultats obtenus par la méthode MATH indiquent que sur les 17/30 (57%) souches sont hydrophiles avec un pourcentage qui varie entre 1,25% et 15%. Les souches moyennement hydrophobes sont en nombre de 9 (30%) avec un pourcentage compris entre 21,4% et 33,76% et enfin seules 4 (13%) souches sont hydrophobes avec un pourcentage allant de 56, 53% et 90,13% (Figure 12).

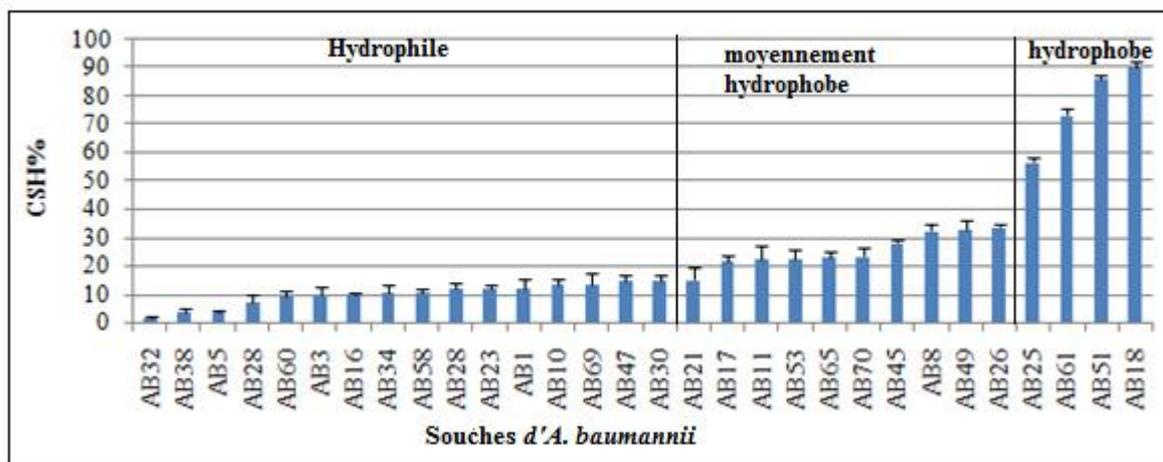


Figure 12 : Pourcentage d’affinité des souches d’*A. baumannii* à l’héxadecane

Dans un deuxième temps, l’hydrophobicité des souches a été évaluée en déterminant la plus faible concentration de sulfate d’ammonium capable d’induire une agrégation des cellules bactériennes (SAT test).

Tableau 8 : Résultats du test SAT.

(NH ₄) ₂ SO ₄	Nombre de souches précipitées	Souches
0,25M	0	-
0,5M	7	AB10, AB51, AB18, AB61, AB25, AB26, AB30
1M	3	AB45, AB49, AB70
2M	4	AB53, AB8, AB11, AB65
4M	16	AB1, AB60, AB3, AB34, AB5, AB47, AB32, AB69, AB16, AB17, AB29, AB21, AB58, AB23, AB38, AB28.

Les résultats du tableau 8 montrent que la majorité des souches (16) ont agrégé avec une concentration en sel de 4M présentant ainsi un caractère hydrophile. Les souches hydrophobes et moyennement hydrophobes sont en nombre de 7 et ont agrégé respectivement à une concentration en sel de 0,5M et, 1M-2M, selon les critères définis par Krepsky *et al.*, (2003). Les résultats obtenus par le test SAT montrent une divergence de l’hydrophobicité des souches AB 10 et AB 30 par rapport aux résultats obtenus par la méthode MATH. En effet, la concentration en sulfate d’ammonium provoquant une agrégation de ces deux souches est de

0,5M, les classant ainsi comme souches hydrophobes. Cependant, leur pourcentage d'affinité pour l'héxadecane est respectivement de 13% et 14.46% les classant comme souches hydrophiles. La différence des résultats obtenus par les tests SAT et MATH n'est pas sans rappeler les résultats publiés par (Vanhaecke *et al.*, 1990) ou ces auteurs ont rapporté que l'évaluation de l'hydrophobicité membranaire n'était pas aussi aisée et dépendait de la méthode d'évaluation de celle-ci.

Plusieurs travaux ont montré une différence dans l'hydrophobicité de la surface des souches d'*A. baumannii* isolées. En effet, une étude menée par Costa *et al.*, (2006) sur 5 souches d'*A. baumannii* isolées à partir de cathéters a révélé, une seule souche hydrophile, deux souches hydrophobes et deux souches moyennement hydrophobe. De même, l'étude de l'hydrophobicité menée par McQueary et Actis, (2011) sur la souche sauvage d'*A. baumannii* (ATCC 19606) et sur 8 autres isolats cliniques a révélé que la souche sauvage d'*A. baumannii* (ATCC 19606) était hydrophile et que sur les 8 isolats cliniques, trois étaient hydrophile, trois hydrophobes et les deux restant ont exhibé une hydrophobicité modérée. Contrairement, l'étude de Pour *et al.*, (2011) sur 50 souches d'*A. baumannii* isolées à partir de sondes urinaires et de tractus urinaire, n'a montré aucune souche hydrophile, 9 souches moyennement hydrophobes et enfin 41 souches hydrophobes avec des indices d'hydrophobicité assez élevée allant de 41 à 70%.

Certains auteurs considèrent que l'hydrophobicité de la surface bactérienne est le paramètre clé qui gouverne l'adhésion bactérienne aux supports inertes [(Jana *et al.*, 2000) ; (Cappello *et al.*, 2006)]. Nos résultats montrent que la majorité des souches d'*A. baumannii* isolées à partir des surfaces des dispositifs médicaux (PVC, silicone et latex) supposés être hydrophobes présentent un caractère hydrophile. Djeribi *et al.*, (2013) ont trouvé un résultat similaire chez une souche d'*A. baumannii* isolées de sonde urinaire en silicone hydrophobe. De la même façon, des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de nos mêmes dispositifs médicaux par Bellifa, (2014) étaient hydrophiles. Ces observations contredisent plusieurs études qui ont admis que les cellules hydrophobes ont tendance à adhérer à un substrat hydrophobe et que les cellules hydrophiles ont tendance à adhérer à un substrat hydrophile (Costa *et al.*, 2006).

Il a été suggéré qu'il existe une corrélation positive entre le degré d'hydrophobicité bactérienne et l'adhérence sur les surfaces abiotiques [(Costa *et al.*, 2006) ; (Pour *et al.*, 2011)]. En effet, Bayouhd *et al.*, (2006) ont observé que *Pseudomonas stutzeri* (hydrophobe) adhère mieux que *Staphylococcus epidermis* (hydrophile) quelque soit l'hydrophobicité du support. Ceci a également été retrouvé chez les levures tel *Candida parapsilosis* où Gallardo-

Moreno *et al.*, (2002) ont observé que pour deux souches isolées du sang, l'adhésion était proportionnelle au caractère hydrophobe de la souche et qu'un changement de température qui contribue à augmenter ce caractère hydrophobe favorise encore l'adhésion.

Toutefois, dans notre étude, aucune relation apparente n'est détectée entre hydrophobicité et la formation de biofilm, puisque la souche la plus hydrophile (AB32) forme un biofilm semblable à celui de la souche la plus hydrophobe (AB18) (Figure 10 et 12). Selon McQueary et Actis, (2011), l'hydrophobicité des cellules n'est pas un bon prédicateur dans la formation de biofilm par *A. baumannii*, contrairement à d'autres bactéries pathogènes comme *Neisseria meningitidis* et *Stenotrophomonas maltophilia*, qui affichent à la fois une corrélation directe entre l'hydrophobicité de surface et la formation de biofilm sur le verre et sur le plastique, respectivement [(Yi *et al.*, 2004) ; (Di Bonaventura *et al.*, 2008) ; (McQueary et Actis, 2011)].

6. Influence des conditions de culture sur la formation de biofilm d'*A. baumannii*

Plusieurs travaux ont montré que la température, les nutriments et autres composants présent dans le milieu de culture affectent la fixation des microorganismes à la surface de divers matériaux [(Hood et Zottola, 1997) ; (Iversen *et al.*, 2004)].

La formation de biofilm de six isolats cliniques d'*A. baumannii* classés comme fort producteur de biofilm (AB3, AB53, AB10, AB25, AB26, AB70) isolés de différents dispositifs médicaux a été analysée sous différentes conditions (températures, concentrations de glucose et de NaCl).

6.1. Influence de la température

La formation de biofilm chez les six souches d'*A. baumannii* est jugée plus importante à 30°C qu'à 37°C avec des valeurs de DO₅₇₀ (moyenne, écartype) qui varient entre 1,27±0,14 et 1,51 ± 0,04 (Figure 13).

Ces résultats sont conformes à ceux trouvés par Tomaras *et al.*, (2003) qui a montré que la souche sauvage d'*A. baumannii* (ATCC 19606) était capable de produire plus de biofilm à une température de 30°C qu'à 37°C. Pour *et al.*, (2011) ont également obtenu ces mêmes résultats sur des souches cliniques d'*A. baumannii* isolées à partir de sondes urinaires et de tractus urinaire. Ce fait pourrait donc expliquer la persistance observée des membres de cette espèce dans le milieu hospitalier inanimé (Martí *et al.*, 2011).

Ce phénomène est aussi observé chez d'autres espèces bactériennes tell *Hafnia alvei*, un pathogène opportuniste de l'homme et de l'animal est considérablement accéléré à 25°C qu'a

37°C (Vivas *et al.*, 2008). Di bonaventura *et al.*, (2007) ont aussi montré que la formation de biofilm par *Stenotrophomonas maltophilia* était plus élevée à basse température. De même, l'expression des gènes impliqués dans la formation de biofilm chez *E.coli K12* est positivement régulée à une température de 23°C (White- Ziegler *et al.*, 2008).

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

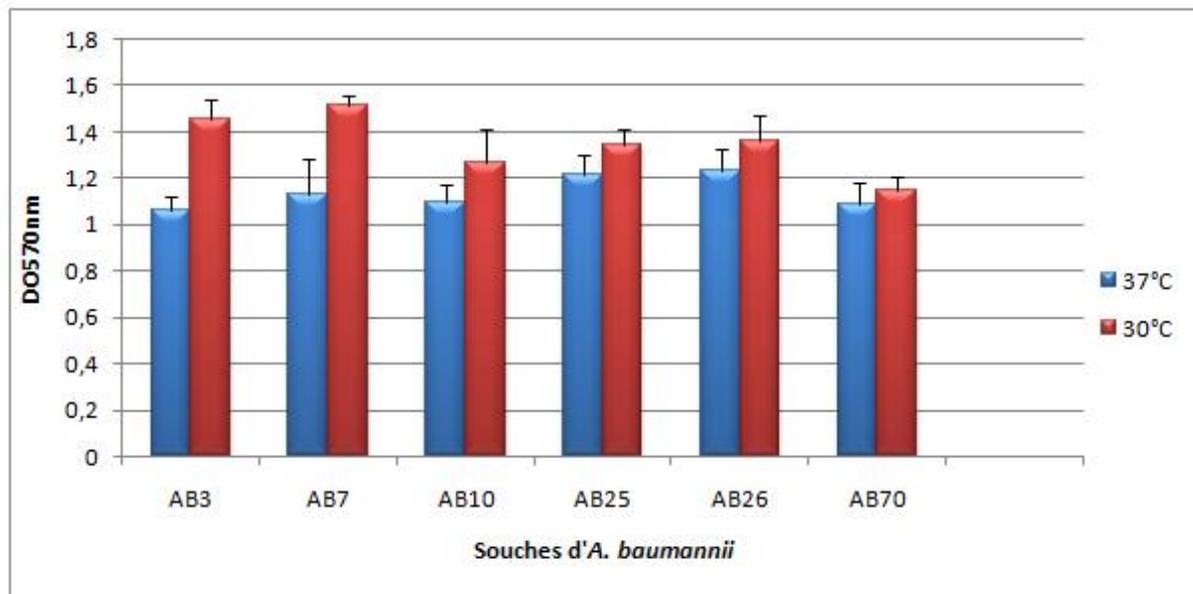


Figure 13 : Quantification de la formation de biofilm par *A. baumannii* en fonction de la température.

6.2. Influence du Glucose et du NaCl

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

Les résultats obtenus dans la figure 14 montrent que la formation de biofilm chez les six isolats augmente en fonction de la concentration du glucose présente dans le milieu.

Arrivé à une concentration finale de 2%, la formation de biofilm est deux fois plus importante chez les souches AB3, AB53, AB10, AB25, AB70 et 3 fois plus importante chez la souche AB26. Nucleo *et al.*, (2009) ont également montré que le milieu LB est suffisant pour stimuler la formation de biofilm qui est cependant plus accrue lorsque celui-ci est additionné de glucose, suggérant ainsi que pour une évaluation complète de la capacité des isolats cliniques d'*A. baumannii* à former un biofilm, l'analyse doit se faire non seulement dans un milieu LB mais dans un milieu contenant du glucose.

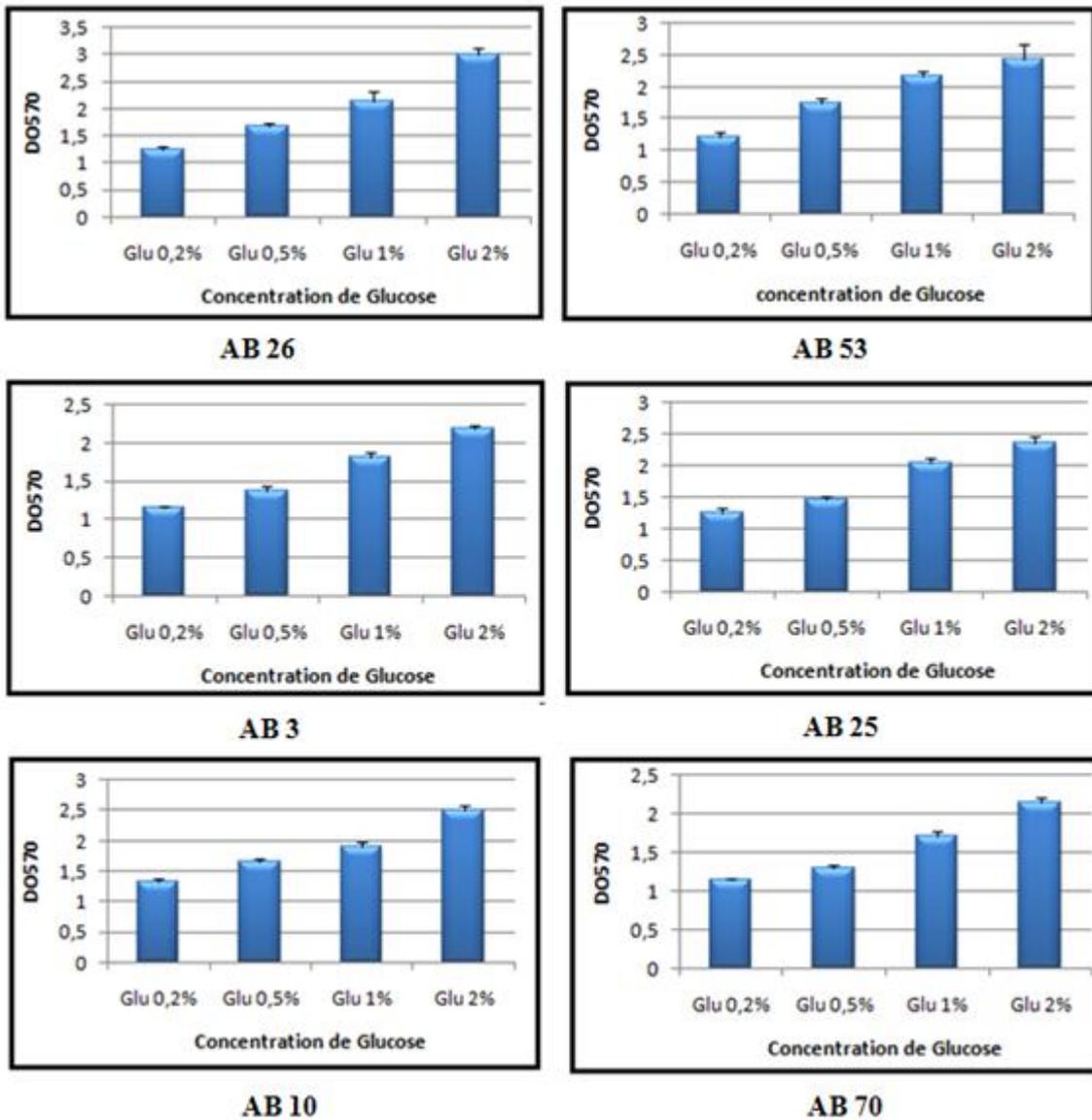


Figure 14 : Influence du glucose sur la formation de biofilm par *A. baumannii*

Nos résultats sont également en accord avec l'étude de Kara-Terki (2014) qui a montré que la formation de biofilm par des souches de staphylocoques isolées des mêmes sondes urinaires étudiées augmente de 30% à 49,5% après l'ajout de 1% de glucose ou de 2% de saccharose. D'autres études ont aussi démontré que l'enrichissement du milieu TSB avec du glucose augmente la capacité des staphylocoques à former des biofilms [(Stepanovic *et al.*, 2003) ; (Mathur *et al.*, 2006)], tandis que Knobloch *et al.*, (2002) a recommandé l'utilisation des deux médias pour confirmer qu'un isolat est positif pour la formation de biofilm.

De façon général les bactéries ont tendance à adhérer et former un biofilm mature sur des surfaces dont l'environnement procure suffisamment de nutriments plutôt que des surfaces pauvres en nutriments (Dawei *et al.*, 2012). La concentration en nutriments influence aussi bien la population du biofilm que sa morphologie. En effet, l'épaisseur de biofilm en présence

de concentrations croissantes de glucose (40-400 mg/L), augmente de 30 à 130 μ au bout de 17h de culture sous flux turbulent (Stoodley *et al.*, 1999).

La figure 15 nous montre que l'effet obtenu en additionnant du NaCl au milieu est contraire à celui du glucose. En effet, lorsque la concentration du NaCl augmente, la formation de biofilm diminue.

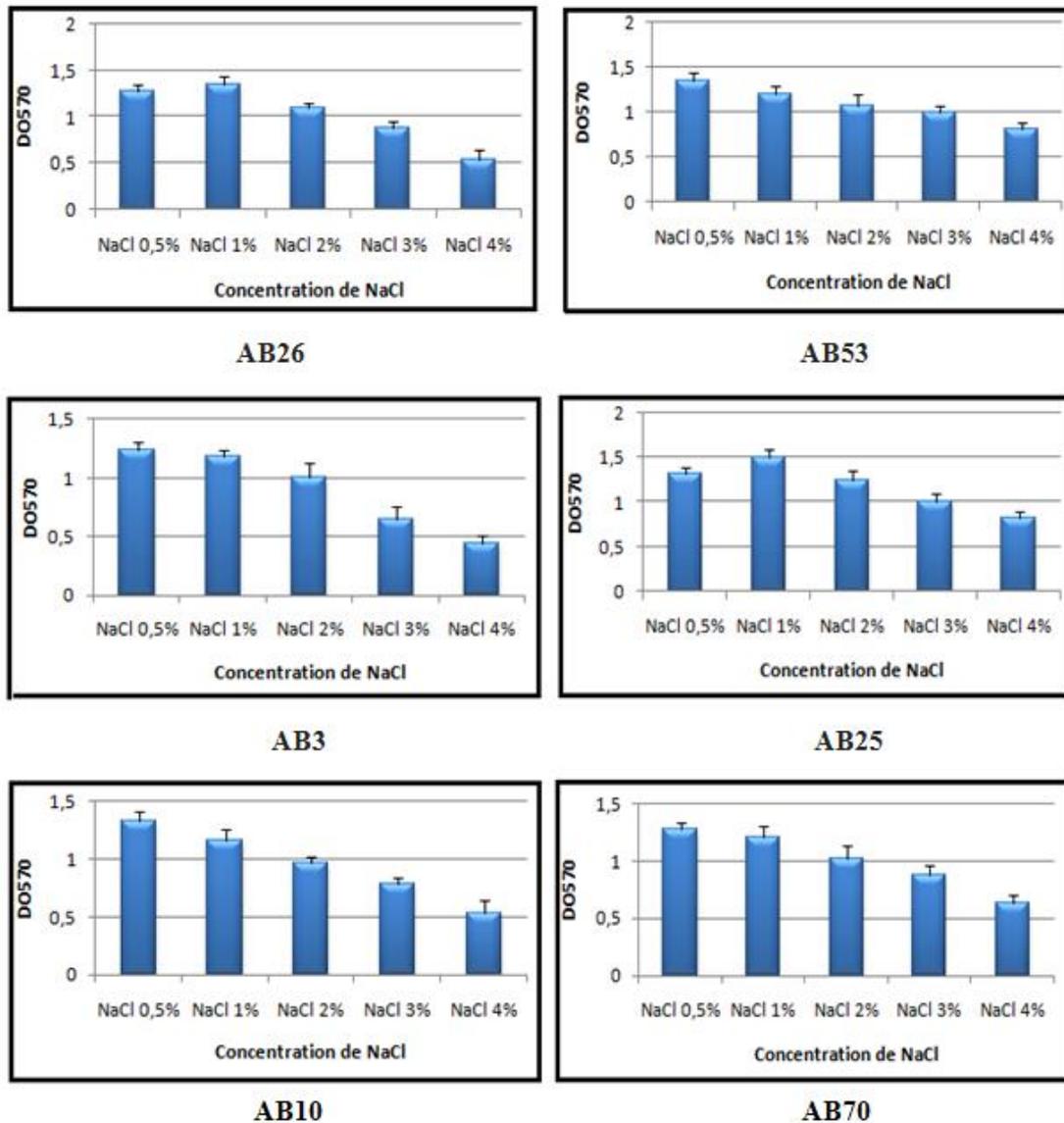


Figure 15 : Influence du NaCl sur la formation de biofilm par *A. baumannii*

Les résultats obtenus chez les six isolats étudiés montrent que la formation de biofilm atteint son maximum à une concentration de 0,5% chez les isolats AB53, AB10, AB26, AB70 et à une concentration de 1% chez les isolats AB3 et AB25. Ces résultats sont en conformité avec ceux obtenus par Pour *et al.*, (2011) qui ont montré que la formation de biofilm par des souches cliniques d'*A. baumannii* sous différentes concentrations de NaCl atteint sont

maximum à une concentration de 5g/L (0,5%). Des résultats similaires ont également été observés avec des espèces de *Staphylococcus* (Lim *et al.*, 2004).

Une réduction de la formation de biofilm est cependant notée chez l'ensemble des isolats à partir d'une concentration de 2% pour atteindre une réelle diminution à une concentration final de 4% (Figure 15). Plusieurs études ont montré que de fortes concentrations de NaCl peuvent inhiber la formation de biofilm, tel est le cas de *Pseudomonas fluorescens* (O'Toole et Kolter, 1998b). De même, la croissance de *Salmonella typhimurium* dans un milieu contenant des concentrations élevées de NaCl inhibe la transcription de CsgD, un gène régulateur de la formation de biofilm et de la production de curli (Romling *et al.*, 1998). Havasi *et al.*, (2008) a montré qu'il existe un effet inhibiteur du NaCl sur la croissance et la mobilité de *Pseudomonas aeruginosa* à une concentration de 2%, 4% et 7%.

L'effet du NaCl sur la formation de biofilm par *A. baumannii* peut également être prometteur, puisque l'effet antimicrobien est associé à une concentration donnée. La concentration de sel présente dans les larmes par exemple a été montré pour être un agent antimicrobien efficace contre les organismes qui peuvent infecter l'œil [(Cowell *et al.*, 1999) ; (Kwong *et al.*, 2007)]. En ce basant sur cette hypothèse Kwong *et al.*, (2007) ont testé *in vivo* l'effet antimicrobien de larmes humaines contre *P. aeruginosa* et ont démontré par translocation que les larmes de volontaires humains sains ont pu protéger les cellules épithéliales de la cornée contre la colonisation de *P. aeruginosa*.

Certaines bactéries sont au contraire capables de produire un biofilm sous forte concentration de sel tel que *Vibrio Cholerae* (Kapfhammer *et al.*, 2005) et *Escherichia coli* ou 200 mM de NaCl active la transcription du gène PGA qui code pour les protéines nécessaires à la synthèse de poly-Nacetylglucosamine, un polymère essentiel dans la formation de biofilm (Goller *et al.*, 2006). Toutes ces observations peuvent être expliquées par des différences spécifiques aux espèces dans la régulation des gènes impliqués dans la production de biofilm.

7. Cinétique de la formation de biofilm chez *A. baumannii*

La durée d'implantation du dispositif est également un facteur qui influe de manière significative la formation de biofilm (Domka *et al.*, 2007).

Les résultats de la cinétique de la formation de biofilm établis dans notre étude montrent qu'une valeur maximale de DO₅₇₀ est atteinte après 72 h d'incubation chez les souches AB3 AB10 AB53 et AB70. Cependant, une diminution de la densité du biofilm est notée après 96 h d'incubation. Chez les souches AB25 et AB26, une DO₅₇₀ maximale est atteinte après 48h d'incubation pour ensuite diminuer après une période de 72h (Figure 16). Cette première

période correspond à la formation de biofilm et la seconde à la dispersion du biofilm, avec une libération de cellules bactériennes dans le milieu de culture (Djeribi *et al.*, 2012).

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

Lors d'une étude menée sur la formation de biofilm à la surface de sondes endotracheales, Shehata *et al.*, (2012) ont trouvé qu'il existe une corrélation entre la durée d'intubation et l'âge du biofilm en montrant que la formation de biofilm est de stade III au bout de 3 à 9 jours d'intubation, de stade II au bout de 3 à 6 jours et de stade I au bout de 2 à 3 jours. De même, en utilisant la microscopie électronique à balayage Chen *et al.*, (2007) ont montré qu'aucune colonie bactérienne n'a été détectée à la surface de 5/20 sondes endotracheales prélevées chez les nouveaux nés après 1 jour d'utilisation. Cependant une colonisation bactérienne qui évolue en un vrai biofilm a été détectée chez 4/20 et chez 7/20 sondes endotrachéales au bout de 2 et de 3 jours respectivement.

D'autres études ont montré également que 10 à 50% des patients porteurs d'une sonde urinaire pendant une courte durée (7 jours) ont une infection urinaire, et 100% des patients sont infectés lorsque la durée du sondage est supérieure à 28 jours (Stickler *et al.*, 1996). Ces observations suggèrent que la durée de l'implantation du dispositif médical doit être réduite alors que nous avons constaté qu'elle a atteint dans certains cas les 21 jours dans notre unité de soins intensifs, comme indiqué dans le tableau 7. En effet, le risque d'infections liées au dispositif médical est principalement lié à la durée pendant laquelle celui-ci reste inséré. On estime que le risque augmente de 5% chaque jour (Mańczyńska *et al.*, 2010).

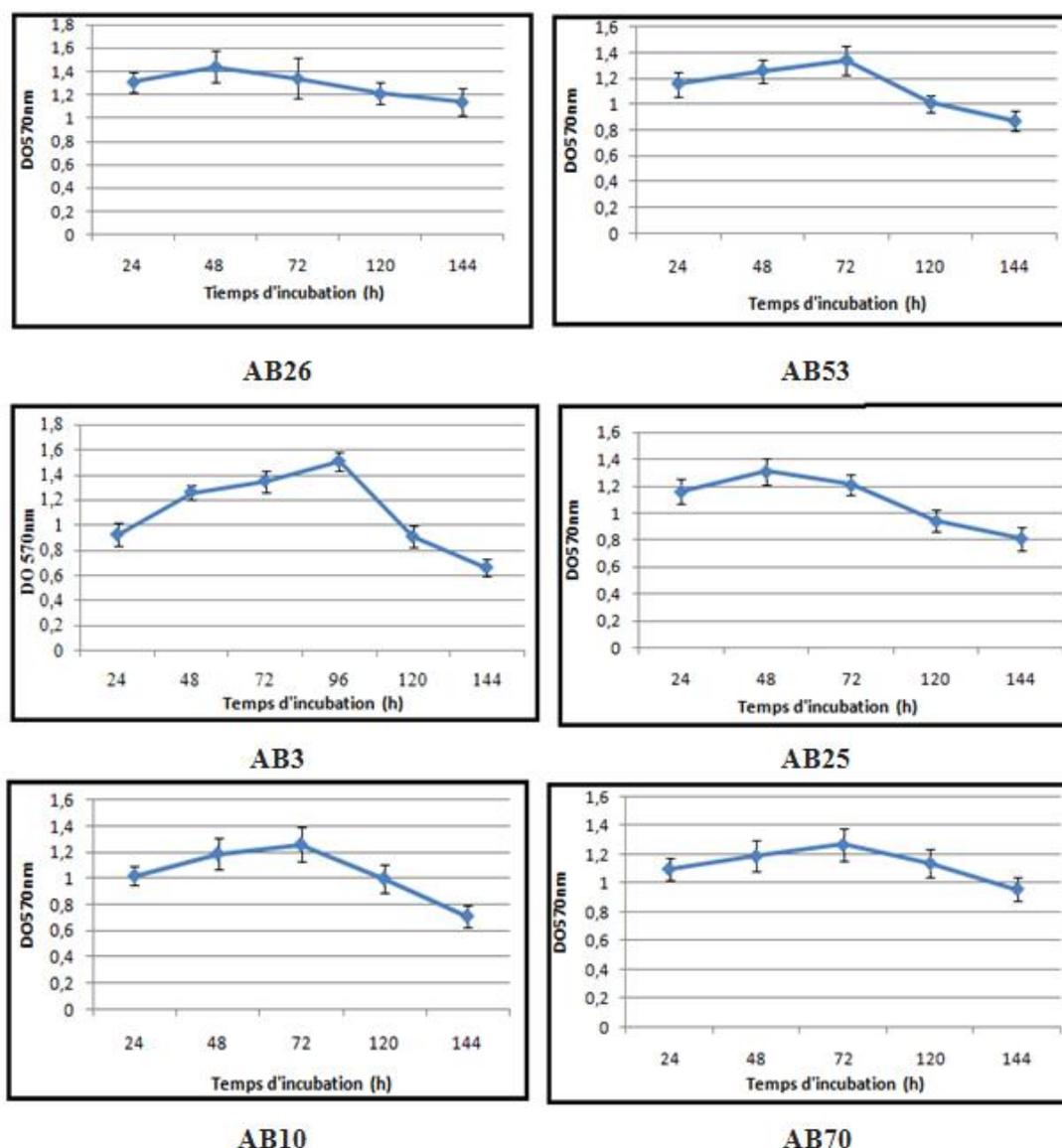


Figure 16: Cinétique de la formation de biofilm chez *A. baumannii*

8. Influence de la nature du dispositif médical sur la formation de biofilm par *A.baumannii*

Un autre facteur important pouvant influencer la formation de biofilm est le type de dispositif médical ainsi que la composition chimique du biomatériau dont il est fait [(Mańczyńska *et al.*, 2010) ; (Espinal *et al.*, 2012)]. Dans cette étude, les tests d'adhésion au latex, au silicone et au PVC ont été réalisés puisque ces biomatériaux sont utilisés dans la fabrication des dispositifs médicaux implantables.

A cet effet, seules les souches AB25, AB3 et AB70 ont été sélectionnées pour leur grande capacité à former un biofilm ainsi que leur différent caractère d'hydrophobicité.

Les résultats présentés dans le tableau 9 montrent que les trois surfaces sont relativement hydrophobes, en effet le PVC présente l'angle de contact le plus grand ($\theta_w = 139,3 \pm 1,36$) faisant de lui le biomatériau le plus hydrophobe suivi du latex ($\theta_w = 108,2 \pm 0,52$) et du silicone ($\theta_w = 102,5 \pm 2,71$).

Tableau 9 : Angle de contact des trois supports par rapport à l'eau

Biomateriaux	Θ_{water}
Silicone	102,5 ($\pm 2,71$)
Latex	108,2 ($\pm 0,52$)
PVC	139,3 ($\pm 1,36$)

Les résultats de l'adhésion des souches sur les trois différentes surfaces indiquent que les souches avaient le même comportement, montrant une adhésion plus importante sur le silicone qui vient en première position suivi de près par le latex. Le PVC vient en dernier avec une adhésion beaucoup plus inférieure que sur les deux autres surfaces (Figure 17).

La microscopie électronique à balayage réalisée confirme ces résultats et nous montre la présence du biofilm sur les trois surface étudiées indiquant une différence entre l'architecture de ce dernier sur le PVC et sur le silicone et le latex. Selon la figure 18, le biofilm formé par *A. baumannii* sur le silicone (C et D) et le latex (E et F) nous semble être un biofilm mature, dominé par la présence de la matrice exopolysaccharique qui enrobe les cellules bactériennes et ne permettant pas de les distinguer, lui conférant ainsi une forme de champignons. Quand au PVC (Figure 18A-B), le biofilm formé semble dans un stade de développement moins avancé. Les structures bactériennes sont distinctes et regroupées en un amas de cellule ce qui correspond probablement à l'étape d'adhésion irréversible.

Ces résultats sont en accord avec d'autres études réalisées par de nombreux laboratoires où il a été rapporté que l'adhésion microbienne aux biomatériaux se produit dans l'ordre suivant : latex > silicone > PVC > Téflon > polyuréthane > acier inoxydable > titane (Abd El-Baky, 2012). Dworniczek *et al.*, (2003) ont trouvé qu'*Enterococcus faecalis* adhère fortement au silicone et au latex siliconisé qu'au PVC. Cependant, Maczynska *et al.*, (2010) ont démontré que le PVC est le biomatériau qui a été le mieux colonisé par des souches de *Klebsiella spp*. Ces contradictions peuvent être expliquées par le fait que les différentes espèces bactériennes préfèrent probablement une certaine composition chimique du biomatériau à laquelle leur adhérence est la plus forte (Maćzyńska *et al.*, 2010).

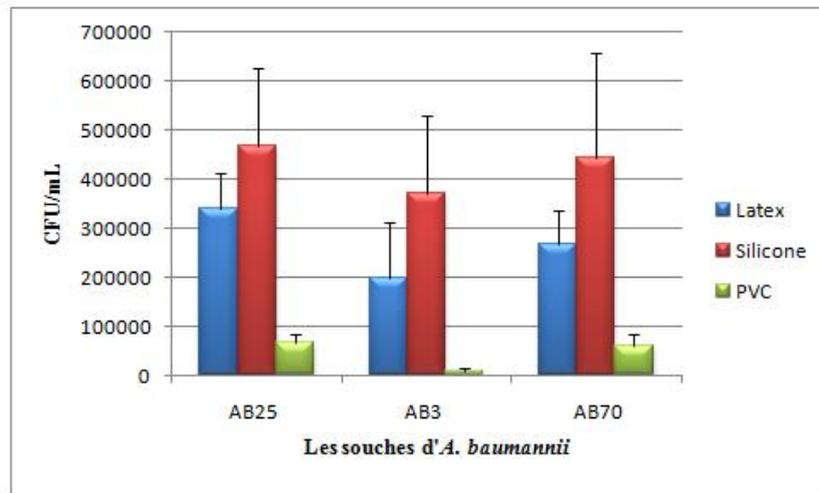


Figure 17 : Adhésion des souches d'*A. baumannii* sur latex, silicone et PVC (UFC/mL) après 24h d'incubation

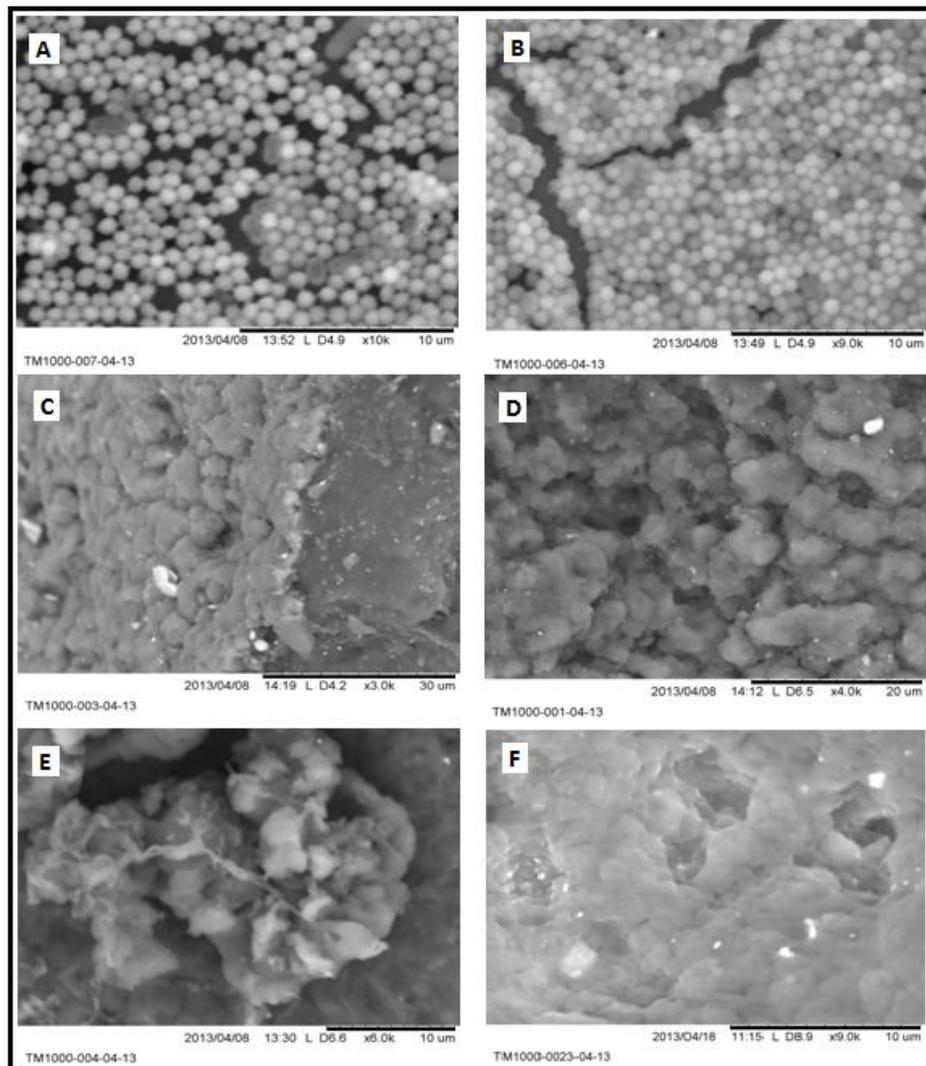


Figure 18 : Observation au MEB d'un biofilm d'*A. baumannii*. (A-B) sur PVC, (C-D) sur silicone, (E-F) sur latex.

Rappelons qu'il est admis que les bactéries à caractère hydrophobe préfèrent adhérer aux surfaces hydrophobes et que les bactéries à caractère hydrophileréfèrent adhérer aux surfaces hydrophiles [(Katsikogianni et Missirlis, 2004) ; (Costa *et al.*, 2006) ; (Hamadi *et al.*, 2009) ; (Treter et Macedo, 2011)]. Cette approche peut expliquer la capacité des souches AB25 (hydrophobe) et AB70 (moyennement hydrophobe) à adhérer sur les 3 surfaces hydrophobes. Cependant, les résultats concernant l'adhésion de la souche AB3 sur l'ensemble des surfaces ne reflètent pas cette hypothèse puisque nous avons montré dans cette étude que la souche AB3 (hydrophile) possède un pouvoir d'adhésion sur les 3 surfaces hydrophobes. Hamadi *et al.*, (2009) ont également trouvé que *S. aureus* (hydrophile) ont été capable d'adhérer sur le verre (hydrophile) et sur le teflon (hydrophobe). De même, Bellifa, 2014 a montré que *Klebsiella pneumoniae* à caractère hydrophile adhère sur le verre (hydrophile) et sur le PVC (hydrophobe).

Il a été observé que l'hydrophobicité du support joue un rôle plus important dans l'adhésion bactérienne que l'hydrophobicité de la surface des bactéries [(Pavithra et Doble, 2008) ; (Treter et Macedo, 2011)]. L'adhésion de *Staphylococcus epidermidis* au biomatériau le moins hydrophobe tel que l'acrylique est moindre par rapport à l'adhésion sur le silicone plus hydrophobe. Une autre étude de Singh *et al.*, (2011) a montré que la formation de biofilm par *Candida albicans* diminue avec l'angle de contact du biomatériau utilisé.

Encore une fois, nos résultats n'appuient pas les résultats des travaux précités, puisque l'adhésion de l'ensemble des souches sur le PVC, (le biomatériau le plus hydrophobe) est beaucoup moins importante que sur le silicone et le latex (les biomatériaux les moins hydrophobes). Des travaux précédents [(McEldowney et Fletcher, 1986) ; (Partt-terpstra *et al.*, 1988 ; Sjollema *et al.*, 1990)] ont rapporté que l'hydrophobicité ne peut pas expliquer systématiquement les résultats de l'adhésion microbienne sur un support et que les interactions acides–bases jouent un rôle très important dans le phénomène d'adhésion (Hamadi *et al.*, 2009). En effet, on ne peut pas tenir compte uniquement de l'hydrophobicité de la surface du matériau car d'autres caractéristiques jouent un rôle important dans l'adhésion bactérienne. Ces caractéristiques comprennent l'énergie libre de la surface et la charge (Katsikogianni et Missirlis, 2004). La rugosité du matériau joue également un rôle très important dans l'adhésion bactérienne. En effet, il a été observé que les surfaces irrégulières favorisent l'adhésion bactérienne et la formation de biofilm et que le taux d'infection est plus élevé sur des matériaux à constitution poreuse que sur des matériaux denses, ce qui indique que les bactéries adhèrent préférentiellement au niveau des pores (Darouiche, 2001).

La capacité d'une souche à former du biofilm est reconnue comme étant un important facteur de virulence chez de nombreuses espèces bactériennes, dont *A. baumannii*. Le rôle pathogène des biofilms est maintenant bien établi dans les infections chroniques ainsi que celle associées aux dispositifs médicaux.

Au cours de ce présent travail, notre rôle était dans un premier temps de fournir les éléments nécessaires pour établir la colonisation du dispositif médical et d'aider à déterminer son imputabilité éventuelle dans le processus infectieux.

Sur l'ensemble des dispositifs médicaux récoltés, 35% présentaient une infection et 24% une colonisation avec un total de 70 souches d'*A. baumannii* isolées. Ces résultats nous ont permis de refléter l'ampleur et l'implication majeure des souches d'*A. baumannii* dans la colonisation des dispositifs médicaux au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen, ainsi que l'impasse thérapeutique rencontrée suite à la résistance étendue de ce germe aux antibiotiques. Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés au mécanisme de virulence le plus redoutable de ce pathogène qui est la formation de biofilm, ainsi que les paramètres qui peuvent gouverner ce processus. Dans ce contexte, nous avons pu montrer et confirmé une fois de plus la grande aptitude d'*A. baumannii* à former un biofilm. L'intensité de ce dernier semble être différente sur le PVC, le silicone et le latex, trois biomatériaux utilisés dans la fabrication des dispositifs médicaux, avec une nette préférence pour le silicone et le latex, démontrant ainsi l'influence de la composition chimique du support sur la formation de biofilm.

L'étude de l'hydrophobicité de la surface bactérienne d'*A. baumannii* et la surface du biomatériau conduite par le biais de la méthode MATH et CAM n'a révélé aucune relation apparente entre la formation de biofilm et l'hydrophobicité, et a même permis de contredire la théorie qui suggère que les bactéries hydrophobes adhèrent aux surfaces hydrophobes et que les bactéries hydrophiles adhèrent aux surfaces hydrophiles.

La formation de biofilm par *A. baumannii* semble être affectée par le changement de température, puisque ce processus est jugé plus important à 30°C qu'à 37°C, ce qui peut expliquer la persistance de cette bactérie dans le milieu hospitalier.

La présence du glucose et du NaCl est également un facteur d'influence puisque la formation de biofilm augmente lorsque la concentration du glucose augmente, et qu'au contraire, l'augmentation de la concentration du NaCl provoque une diminution de celui-ci.

Compte tenu de nos résultats, des précautions visant à maîtriser la dissémination et la formation de biofilm chez les souches d'*A. baumannii* doivent être entreprises par le service de réanimation de notre structure hospitalière. Ces précautions incluent un respect strict des

règles d'hygiène des mains, une application infaillible de procédures de désinfection des équipements hospitaliers, la prescription réfléchie des antibiotiques, ainsi que la surveillance continue de la résistance de ces souches aux antibiotiques afin d'optimiser le traitement des infections dûes à cette bactérie.

La réduction de la durée d'implantation du dispositif médical implantable, ainsi que le sondage et le cathétérisme inutiles constituent les étapes clés dans la maîtrise de la formation de biofilm et par conséquent les infections qui lui sont liées.

Enfin, de notre côté une meilleure connaissance de la formation de biofilm par *A. baumannii* s'impose afin de fournir de nouvelles stratégies, permettant de réduire au maximum la susceptibilité de la surface du dispositif à la colonisation par ce pathogène opportuniste. L'étude des facteurs déjà élucidés dans ce travail en flux continu s'impose afin d'essayer de reproduire la formation de biofilm dans les conditions les plus proches de ceux retrouvées en milieu hospitalier.

Compte tenu des différents travaux entrepris par notre équipe sur les infections dues à la formation de biofilm sur dispositifs médicaux et aux différentes espèces responsables de celle-ci, l'étude des biofilms mixtes fera potentiellement l'objet de nos prochains travaux.

- Abd El-Baky R.M. (2012).** Application of Scanning Electron Microscopy for the Morphological Study of Biofilm in Medical Devices. In Viacheslav Kazmiruk *ed.* Scanning Electron Microscopy. *InTech*, pp 591-616
- Anstey, N.M., Currie B.J., Hassell M., Palmer D., Dwyer B., Seifert H. (2002).** Community-acquired bacteremic *Acinetobacter* pneumonia in tropical Australia is caused by diverse strains of *Acinetobacter baumannii*, with carriage in the throat in atrisk groups. *J Clin Microbiol.* 40: 685–686.
- Archibald L. K., Gaynes R.P. (1997).** Hospital acquired infections in the United States: The importance of interhospital comparisons. *Nosocomial Inf.* 11: 245-255.
- Baillif S., Hartmann D., Freney J., Kodjikian L. (2010).** Implant intraoculaire et adhésion bactérienne : influence des conditions environnementales, des propriétés bactériennes et des caractéristiques du matériau. *Journal français d'ophtalmologie.* 33 : 210-221.
- Balestrino D. (2006).** Formation de biofilm par *Klebsiella pneumoniae* : facteurs impliqués et rôle du quorum-sensing. Thèse doctorat. Université Blaise Pascal. 183 pages
- Bayoudh S., Othmane A., Bettaieb F., Bakhrouf A., Ben Ouada H., Ponsonnet L. (2006).** Quantification of the adhesion free energy between bacteria and hydrophobic and hydrophilic substrata. *Materials Science and Engineering.* 26:300-305.
- Beijerinck M. (1911).** Pigmenten als oxydatieproducten gevormd door bacterien. *Vers Koninlijke Akad Wet Ams.* 19:1092–1103.
- Bellifa S. (2014).** Evaluation de la formation de biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU de Tlemcen. Thèse de doctorat Université de Tlemcen. 92 pages
- Berche P., Gaillard J.L. (1988).** *Acinetobacter* et autres bacilles à Gram négatif. In : Berche P, Gaillard J.L et Simonet M, eds. Bactériologie : les bactéries des infections humaines. Paris : Flammarion. 221- 9.
- Bergogne-Berezin E., Fiedman H., Bendinelli M. (2008).** *Acinetobacter* Biology and pathogenesis. In Springer (ed.), Infectious Agents and Pathogenesis.
- Bergogne-Berezin E., Towner K. J. (1996).** *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. *Clin Microbiol Rev.* 9:148- 65
- Berra L., Curto F., Li Bassi G. (2006).** Antibacterial-coated tracheal tubes cleaned with the Mucus Shaver: a novel method to retain long-term bactericidal activity of coated tracheal tubes. *Intensive Care Medicine.* 32: 888–93.
- Bou G., Cervero G., Dominguez M.A., Quereda C., Martinez-Beltran J. (2000).** Characterization of a nosocomial outbreak caused by a multiresistant *Acinetobacter*

baumannii strain with a carbapenem-hydrolyzing enzyme: high-level carbapenem resistance in *A. baumannii* is not due solely to the presence of beta-lactamases. *J Clin Microbiol* 38:3299- 305.

Bouvet P.J., Grimont P.A. (1987). Identification and biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann Inst Pasteur Microbiol.* 138:569-78.

Branger A., Richer M., Roustel S. (2007). Microbiochimie et alimentation. Edition Educagri : 133-39.

Briandet R., Meylheuc T., Maher C., Bellon-Fontaine M. N. (1999). *Listeria monocytogenes* Scott A: cell surface charge, hydrophobicity, and electron donor and acceptor characteristics under different environmental growth conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 12: 5328.

Brisou, J., Prevot A. R. (1954). Studies on bacterial taxonomy. X. The revision of species under *Acromobacter* group. *Ann Inst Pasteur (Paris)* 86: 722-8.

Brossard K.A., Campagnari A.A. (2012). The *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein plays a role in adherence to human epithelial cells. *Infection and immunity.* 80(1) : 228-233.

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. *Arch Intern Med* 147: 873-7

Busscher H.J., Bos R., Van der Mei H.C. (1995). Initial microbial adhesion is a determinant for the strength of biofilm adhesion. *FEMS Microbiol Lett.* 128: 229-234.

Butreau-Lemaire M., Botto H. (1997). Infections urinaires nosocomiales. *Progrès en Urologie.* 7: 674-682.

Cappello S., Guglielmino P. P. (2006). Effects of growth temperature on polystyrene adhesion of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853. *Brazilian Journal of Microbiology.* 37: 205-207.

Carr E.L., Kampfer P., Patel B.K., Gurtler V., Seviour R.J. (2003). Seven novel species of *Acinetobacter* isolated from activated sludge. *Int J Syst Evol Microbiol.* 53: 953-63.

Characklis W.G., Marchall K.C. (1990). Biofilms : a basis for an interdisciplinary approach in Biofilms. Characklis W.G and Marchall K.C edition. Wiley-intersciences, New York.

Chatellier D., Burucoa C., Pinsard M., Frat J.P., Robert R. (2007). Prévalence un jour donné du portage d'*Acinetobacter baumannii* chez les patients de 53 réanimations françaises. *Med. Mal. Infect.* 37: 112-117.

- Chen B.M., Yu J.L., Liu G.X., Hu L.Y., Li L.Q., Li F., Yang H. (2007).** Electron microscopic analysis of biofilm on tracheal tubes removed from intubated neonates and the relationship between biofilm and lower respiratory infection. *Zhonghua Er Ke Za Zhi.* 45: 655-60
- Choi C.H., Lee E.Y., Lee Y.C., Park T.I., Kim H.J., Hyun S.H., Kim S.A., Lee S.K., Lee J.C. (2005).** Outer membrane protein 38 of *Acinetobacter baumannii* localizes to the mitochondria and induces apoptosis of epithelial cells. *Cell Microbiol.* 7: 1127-38.
- Christensen G.D., Simpson W.A., Bisno A.L., Beachey E.H. (1982).** Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* to smooth surfaces. *Infect Immun.* 37: 318–26.
- Cisneros J.M., Rodriguez-bano J. (2002).** Nosocomial bacteremia due to *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, clinical features and treatment. *Clin. Microbiol.Infect.* 8: 687-693.
- Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.** Communiqué 2010.<http://www.sfm.asso.fr/2005>.
- Corvec S., Caroff N., Espaze E., Giraudeau C., Drugeon H., Reynaud A. (2003).** AmpC cephalosporinase hyperproduction in *Acinetobacter baumannii* clinical strains. *J Antimicrob Chemother.* 52: 629–35.
- Costa G.F.D.M., Tognim M.C.B., Cardoso C.L., Carrara-Marrone F.E., Garcia L.B. (2006).** Preliminary evaluation of adherence on abiotic and cellular surfaces of *Acinetobacter baumannii* strains isolated from catheter tips. *Brazilian Journal of Infectious Diseases.* 10: 346-351.
- Costerton J.W., Geesey G.G., Cheng K.J. (1978).** How bacteria stick. *Sci Am.* 238: 86–95
- Costerton J.W., Lewandowski Z., Caldwell D.E., Korber D.R., Lappin-Scott H.M. (1995).** Microbial biofilms. *Annu. Rev. Microbiol.* 49: 711-745.
- Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. (1999).** Bacterial biofilms: a common cause of persistent. *Science.* 284: 1318-22
- Courvalin P., Soussy C.J. (1996).** Technical recommendations of in vitro susceptibility testing. *Clint. Microbiol. Infect.* 2: 511-522.
- Cowell B.A., Willcox M.D.P., Herbert B., Schneider R.P. (1999).** Effect on nutrient limitation on adhesion characteristics of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Microbiology.* 86: 944-954.
- Cramton S.E., Gerke C., Götz F. (2001).** In vitro methods to study staphylococcal biofilm formation. *Methods Enzymol.* 336: 239-255.

- Darouiche R.O. (2001).** Device-associated infections: a macroproblem that starts with microadherence. *Clinical Infectious Diseases*. 33:1567-1572.
- Dawei, G., Liping, W., Chengping, L. (2012).** In vitro biofilm forming potential of *Streptococcus suis* isolated from human and swine in China. *Brazilian Journal of Microbiology*. 43 : 993-1004.
- Del Pozo J.L., Patel R., (2007).** The challenge of treating biofilm-associated bacterial infections. *Clin Pharmacol Ther*. 82 : 204-209.
- Di Bonaventura G., Piccolomini R., Paludi D., D’Orio V., Vergara A., Conter M., Ianieri A. (2008).** Influence of temperature on biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on various food-contact surfaces: Relationship with motility and cell surface hydrophobicity. *J. Appl. Microbiol*. 104: 1552-1561.
- Di Bonaventura G., Stepanović S., Picciani C., Pompilio A., Piccolomini R. (2007).** Effects of environmental factors on biofilm formation by clinical *Stenotrophomonas maltophilia* isolates. *Folia Microbiol.*, 52, 86–90.
- Dijkshoorn L., Nemeč A., Seifert H. (2007).** An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat. Rev. Microbiol*. 5, 939-951.
- Djeribi R., Bouchloukh W., Jouenne T., Mena B. (2012).** Characterization of bacterial biofilms formed on urinary catheters. *American journal of infection control*. 40: 854-859.
- Djeribi R., Boucherit Z., Bouchloukh W., Zouaoui W., Latrache H., Hamadi F., Mena B. (2013).** A study of pH effects on the bacterial surface physicochemical properties of *Acinetobacter baumannii*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 102 : 540-545.
- Domka J., Lee J., Bansal T., Wood T.K. (2007).** Temporal gene-expression in *Escherichia coli* K-12 biofilms. *Environmental microbiology*. 9: 332-346.
- Donlan R.M. (2001).** Biofilm formation: A clinically relevant microbiological process. *Clin. Infect. Dis*. 33: 1387-1392.
- Donlan R.M. (2001).** Biofilms and device-associated infections. *Emerging infectious diseases*. 7: 277.
- Donlan R.M., Costerton J. W. (2002).** Biofilms : Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev*. 15 :167-193.
- Donlan RM . (2008).** Biofilms on central venous catheters: is eradication possible? *Curr. Top. Microbiol. Immunol*. 322: 133-16.
- Dunne W.M. Jr. (2002).** Bacterial adhesion : seen any good biofilms lately. *Clin. Microbiol. Rev*. 15 (2): 155-166.

- Dworniczek E., Kuzko K., Mróz E., Adamski R., Sobieszcańska B., Seniuk A. (2003).** Virulence factors and in vitro adherence of *Enterococcus* strains to urinary catheters. *Folia microbiologica*. 48: 671-678.
- Eliopoulos G.M., Maragakis L.L., Perl T.M. (2008).** *Acinetobacter baumannii*: epidemiology, antimicrobial resistance, and treatment options. *Clinical infectious diseases*, 46(8): 1254-1263.
- Elkharrat D., Arrouy L., Benhamou F., Dray A., Grenet J., Le Corre A. (2007).** Epidémiologie de l'infection urinaire communautaire de l'adulte en France. In : *Les infections urinaires*. Springer Paris, 2007. p. 1-20.
- Elouennass M., Bajou T., Lemnouer AH., Foissaud V., Hervé V., Baaj A.J. (2002).** *Acinetobacter baumannii* : étude de la sensibilité des souches isolées à l'hôpital militaire d'instruction Mohamed V, Rabat, Maroc. *Med. Mal. Infect.* 33: 361-364.
- Elouennass M., Sahnoun I., Zrara A., Bajjou T., Elhamzaoui S. (2008).** Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture dans un service de réanimation (2002–2005) *Med. Mal. Infect.* 38 : 18-24.
- Espinal P., Marti S., Vila J. (2012).** Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *Journal of Hospital Infection*. 80: 56-60.
- Espinasse F., Pageb B., Cottard-Boullea B. (2010).** Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires*. 426: 51-63.
- Euzeby J.P. (2003).** *Acinetobacter*. *Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire*.
- Fechkeur Y., Thibault M. (1998).** *Acinetobacter* : aspect bactériologique, habitat, pouvoir pathogène et sensibilité aux antibiotiques. *Feuillets de Biologie*. 39(222) :39-45.
- Feldman C., Kassel M., Cantrell J., Kaka S., Morar R., Goolam Mahomed A., Philips J.I. (1999).** The presence and sequence of endotracheal tube colonization in patients undergoing mechanical ventilation. *European Respiratory Journal*. 13:546–551.
- Francolini I., Donelli G. (2010).** Prevention and control of biofilm-based medical-device-related infections. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 59(3) : 227-238.
- Ferron A. (1984).** Bactériologie médicale à l'usage des étudiants en médecine. La Madeleine : C et R : 376p.
- Filloux A., Vallet I. (2003).** Biofilm: mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Medecine/ Sciences*. 19 : 77– 83.

- 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.
- Gaddy J.A., Actis L.A. (2009).** Regulation of *Acinetobacter baumannii* biofilm formation. *Future microbiology.* 4: 273-278.
- Gallardo-Moreno A.M., Gonzalez-Martin M.L., Pérez-Giraldo C., Garduno E., Bruque J.M., Gomez-Garcia A.C. (2002).** Thermodynamic Analysis of Growth Temperature Dependence in the Adhesion of *Candida parapsilosis* to Polystyrene. *Applied and Environmental microbiology.* 68: 2610-2613.
- Garrouste-Orgeas M, Marie O, Rouveau M., Villiers S., Arlet G., Schlemmer B. (1996).** Secondary carriage with multiresistant *Acinetobacter baumannii* and *klebsiella* in adult ICU population: relationship with nosocomial infections and mortality. *J Hosp Infect.*34 (4): 279-89.
- Gavin R., Merino S., Altarriba M., Canals R., Shaw J. G., Tomás J. M. (2003).** Lateral flagella are required for increased cell adherence, invasion and biofilm formation by *Aeromonas* spp. *FEMS Microbiol. Lett.* 224: 77-83.
- Gaynes R., Edwards J.R. (2005).** Overview of nosocomial infections caused by gram negative bacilli. *Clin Infect Dis.* 41: 848-54.
- Gil-Perotin S., Ramirez P., Marti V., Sahuquillo J.M., Gonzalez E., Calleja I., Menendez R., Bonastre J. (2012).** Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: a state of concept. *Critical Care.* 16(3) : R93.
- Gilbert P, McBain A J . (2001).** Biocide usage in the domestic setting and concern about antibacterial and antibiotic resistance. *J. Infect.* 43: 85-91
- Gilmore B.F., Gorman S.P. (2013).** Antimicrobial devices. *Russell, Hugo & Ayliffe's: Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*, 5th Edition, 500-513.
- Gohl O., Friedrich A., Hoppert M., Averbhoff B. (2006).** The thin pili of *Acinetobacter* SP; strain BD413 mediate adhesion to biotic and abiotic surfaces. *Applied and Environmental Microbiology.* 72(2): 1394-1401.
- Goller C., Wang X., Itoh Y., Romeo T. (2006).** The cation-responsive protein NhaR of *Escherichia coli* activates pgaABCD transcription, required for production of the biofilm adhesin poly-beta-1,6-N-acetyl-D-glucosamine. *J Bacteriol.* 188: 8022-32.
- Gomez J., Simarro E., Banos V., Requena L, Ruiz J., Garcia F. Canteras M., Valdés M. (1999).** Six-year prospective study of risk and prognostic factors in patients with

nosocomial sepsis caused by *Acinetobacter baumannii*. *Eur. J.Clin. Microbiol. Infec. Dis.* 18: 358-361.

Gordona N.C., Warehama D.W. (2010). Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents.* 35: 219–226.

Gorman P.S., Jones D.S. (2005). Medical device composition and biological secretion influence on biofilm formation in biofilm, infection and antimicrobial therapy. Pace J.L., Rupp M.E., Finch R.G. CRC Press. p: 51-60

Hamadi F., Latrache H., Mliji E., Mallouki B., Mabrouki M., Ellouali M. (2009). Adhésion de *staphylococcus aureus* au verre et au téflon *Rev. Microbiol. Ind. San et Environn.* 3: 1-16.

Harass D. (2005). Biofilm et altération des matériaux de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. *Matériaux et technique.* 93 : 27-41..

Hassaine H. (2008). Écologie bactérienne et lutte contre l'infection nosocomiale. Thèse de Doctorat Université de Tlemcen, Algérie.

Hassaine H. (2009). Essai de l'évaluation de la consommation d'antibiotiques au CHU de Tlemcen. Mémoire de fin d'étude. Univesrité de Tlemcen, Algérie.

Hatt J.K, Rather P.N. (2008). Role of bacterial biofilms in urinary tract infections. *Curr Top Microbiol Immunol*, 322: 163- 192.

Heinzelmann M., Herzig D.O., Swain B., Mercer-Jones M.A., Bergamini T.M., Polk C.P. Jr. (1997). Phagocytosis and oxidative-burst response of planctonic *Staphylococcus epidermidis* RP62A and its non-slime-producing variant in human neutrophils. *Clin. Diag. Labo. Immunol.* 4: 705-710

Hood S.K., Zottola E.A. (1997). Growth media and surface conditioning influence the adherence of *Pseudomonas fragi*, *Salmonella* Typhimurium, and *Listeria monocytogenes* cells to stainless steel. *J. Food Protect.* 60 : 1034–1037.

Hygis N. (1998). *Hygiène hospitalière.* Presses Universitaires Lyon. p: 75-76.

Ishii S., Unno H., Miyata S., Hori K. (2006). Effect of cell appendages on the adhesion properties of highly adhesive bacterium, *Acinetobacter sp.* tol 5. *Biosci Biotechnol. Biochem.* 70 (11): 2635-2640.

Iversen C., Lane M., Forsythe S.J. (2004). The growth profile, thermo-tolerance and biofilm formation of *Enterobacter sakazakii* grown in infant formula milk. *Lett. Appl. Microbiol.* 38 : 378–382

- Jacobsen S.M, Stickler D.J, Mobley H.L.T., Shirliff M. E. (2008).** Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clin. Microbiol. Rev.* 21(1): 26-59
- Jana T.K., Srivastava A.K., Csery K., Arora D.K. (2000).** Influence of growth and environmental conditions on cell surface hydrophobicity of *Pseudomonas fluorescens* in nonspecific adhesion. *Can. J. Microbiol.* 46: 28–37
- Jimenez-Mejias M.E., Becerril B., Marquez-Rivas F.J., Piquardo C., Cuberos L., Pachon J. (2000).** Successful treatment of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* meningitis with intravenous colistin sulfomethate sodium. *Euro. J. clin.microbiol. Infec. Dis.* 9(12) : 970-971.
- Johnson E.N., Burns T.C., Hayda R.A., Hospenhal D.R., Murray C.K. (2007).** Infectious complications of open type III tibial fractures among combat casualties. *Clin Infect Dis.* 45: 409-15.
- Joly-Guillou J et al. (2002).** *Acinetobacter* et infections nosocomiales. *Presse Med* ; 31 : 651-6.
- Joly-Guillou M.L. (2005).** Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clin Microbiol Infect.* 11: 868-73.
- Kapfhammer D., Karatan E., Pflughoeft K.J., Watnick P.I. (2005).** Role for glycine betaine transport in *Vibrio cholerae* osmoadaptation and biofilm formation within microbial communities. *Appl Environ Microbiol.* 71: 3840-7.
- Kara-Terki I. (2014).** Caractérisation et évaluation de la formation de biofilm des souches de staphylocoques isolées de sondes urinaires chez des patients hospitalisés au CHU Tlemcen. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen 98 page.
- Katsikogianni M., Missirlis Y.F. (2004).** Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur Cell Mater.* 8: 37-57.
- Katsikogianni M., Missirlis Y.F. (2004).** Concise review of mechanisms of bacterial adhesion to biomaterials and of techniques used in estimating bacteria-material interactions. *Eur Cell Mater.* 8: 37-57.
- Khoury A.E., Lam K., Ellis B., Costerton J.W. (1992).** Prevention and control of bacterial infections associated with medical devices. *Asaio J.* 38: 174-8.
- King L.B., Swiatlo E., Swiatlo A., McDaniel L.S. (2009).** Serum resistance and biofilm formation in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 55: 414-421

- Klevins R.M., Tokars J.I., Andrus M. (2005).** Electronic reporting of infections associated with hemodialysis. *Nephrol. News Issues* 19: 37- 38,43
- Knobloch J.K., Horstkotte M.A., Rohde H., Mack D. (2002).** Evaluation of different detection methods of biofilm formation in *Staphylococcus aureus*. *J. Med. Microbiol. Immunol.* 191: 101–106.
- Knobloch J.K. , Bartscht K. , Sabottke A. , Rohde H. , Feucht H.H. , Mack D. (2001).** Biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* depends on functional RsbU, an activator of the sigB operon: differential activation mechanisms due to ethanol and salt stress. *Journal of Bacteriology.* 183: 2624-2633.
- König C., Schwank S., Blaser J. (2001).** Factors compromising antibiotic activity against biofilms of *Staphylococcus epidermidis*. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 20: 20-26.
- Krepesky N., Rocha Ferreira R. B., Ferreira Nunes A. P., Casado Lins U. G., Costa e Silva Filho F., De Mattos-Guaraldi A. L., Netto-dosSantos K. R. (2003).** Cell surface hydrophobicity and slime production of *Staphylococcus epidermidis* Brazilian isolates. *Curr Microbiol.* 46 : 280-6.
- Kwong M. S. F., Evans D. J., Ni M., Cowell B. A., Fleiszig S. M. J. (2007).** Human tear fluid protects against *Pseudomonas aeruginosa* keratitis in a murine experimental model. *Infection and Immunity.* 75: 2325-2332.
- Lacroix J., Gauthier M., Gaudreault P., Hubert P., Leclerc F. (2012).** Urgence et soins intensifs pédiatriques 2^{ème} éd. CHU Sainte Justine: Masson : 590.
- Lahsoune M., Boutayeb H., Zerouali K., Belabbes H., El Mdaghri N. (2007).** Prévalence et état de sensibilité aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii* dans un CHU marocain. *Med. Mal. Infect.* 37: 828-831.
- Landman D., Georgescu C., Martin D., Quale J. (2008).** Polymyxins revisited. *Clin. Microbiol. Rev.* 21: 449-465.
- Lee H.W., Koh Y.M., Kim J., Lee J.C., Lee,Y.C., Seol S.Y., Cho D.T. (2008).** Capacity of multidrug-resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* to form biofilm and adhere to epithelial cell surfaces. *Clin Microbiol Infect.* 14: 49– 54
- Lichter J.A., Van Vliet K.J., Rubner M.F. (2009).** Design of antibacterial surfaces and interfaces: polyelectrolyte multilayers as a multifunctional platform. *Macromolecules.* 42: 8573-8586.
- Lim Y., Jana M., Luong T.T., Lee C.Y. (2004).** Control of glucose-and NaCl-induced biofilm formation by rbf in *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacteriology.* 186 : 722-729.

- Lindhal M., Faris A., Wadström T., Hjertén S. (1981).** A new test based on ‘salting out’ to measure relative surface hydrophobicity of bacterial cells. *Biochim. Biophys. Acta* 677: 471-476.
- Loehfelm T.W., Luke N.R., Campagnari A.A. (2008).** Identification and characterization of an *Acinetobacter baumannii* biofilm-associated protein. *J Bacteriol.* 190 : 1036–1044.
- Longo F., Vuotto C., Donelli G. (2014).** Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*. *New Microbiologica.* 37 : 119-127.
- Mączyńska B., Smutnicka D., Przondo-Mordarska A., Bartoszewicz M., Junka A., Janczura A., Nowicka J. (2010).** Biofilm formation by clinical *Klebsiella* strains expressing various types of adhesins on catheters made of different materials. *Adv Clin Exp Med.* 19:443–453.
- Magnotti L.J., Croce M.A., Zarzaur B.L., Swanson J.M., Wood G.C., Weinberg J.A., Fabian T.C. (2011).** Causative pathogen dictates optimal duration of antimicrobial therapy for ventilator associated pneumonia in trauma patients. *Journal of the American Collège of Surgeons.* 212 (4): 476-84
- Mansour W., Bouallegue O., Dahmen S., Boujaafar N. (2008).** Caractérisation des mécanismes enzymatiques de résistance aux b-lactamines chez des souches de *Acinetobacter baumannii* isolées à l’hôpital universitaire Sahloul, Sousse en Tunisie (2005). *Pathol. Biol.* 56: 116-120.
- Marti S. (2008).** Molecular bases of antimicrobial resistance in *Acinetobacter spp* clinical isolates. Doctorat thesis. University of bareclona. 281 pages.
- Marti S., Nait Chabane Y., Alexandre S., Laurent Coquet L., Vila J, Jouenne T., Dé E. (2011).** Growth of *Acinetobacter baumannii* in Pellicle Enhanced the Expression of Potential Virulence Factors. *PLoS ONE.* 6: e26030.
- Martí S., Rodríguez-Baño J., Catel-Ferreira M., Jouenne T., Vila J., Seifert H., Dé E. (2011).** Biofilm formation at the solid-liquid and air-liquid interfaces by *Acinetobacter species*. *BMC research notes.* 4: 5.
- Martinez L.R., Casadevall A. (2007).** *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on surface support and carbone source and reduces fungal cells susceptibility to heat, cold, and UV light. *Appl Environ Microbiol.* 73(14): 4592-601
- Mathur T., Singhal S., Khan S., Upadhyay D.J., Fatma T., Rattan A. (2006).** Detection of biofilm formation among clinical isolates of *Staphylococci* : an avaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology.* 24: 25-9.

- McEldowney S, Fletcher M. (1986).** Variability of the influence of physicochemical factors affecting bacterial adhesion to polystyrene substrata. *Appl. Environ. Microbiol.* 52: 460–465
- McQueary C.N., Actis L.A. (2011).** *Acinetobacter baumannii* biofilms: variations among strains and correlations with other cell properties. *The Journal of Microbiology.* 49: 243-250.
- Mesli E. (2014).** Etude multicentrique de la résistance aux antibiotiques chez *Acinetobacter baumannii*. Thèse doctorat. Université de Tlemcen. 105 pages.
- Metan G., Alp E., Aygen B., Sumerkan B. (2007).** *Acinetobacter baumannii* meningitis in post-neurosurgical patients: clinical outcome and impact of carbapenem resistance. *J Antimicrob Chemother.* 60: 197-9.
- Miller M.B., Bassler B.L. (2001).** Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 55:165-99.
- Mittelman M.W. (1996).** Adhesion to biomaterials. *Bacterial Adhesion: molecular and ecological diversity.* New York: Wiley-Liss, Inc. 89-127.
- Motaouakkil S., Charra B., Hachimi A., Benslama A. (2006).** Pneumonies nosocomiales à *Acinetobacter baumannii* multirésistant traitées par colistine et rifampicine. *Ann Fr Anesth Réa.* 25 (5): 543-4.
- Musk D.J., Banko D.A., Hergenrother P.J. (2005).** Iron Salts Perturb Biofilm Formation and Disrupt Existing Biofilms of *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemistry & Biology;* 12: 789–796.
- Nath N., Hyun J., Ma H., Chilkoti, A. (2004).** Surface engineering strategies for control of protein and cell interactions. *Surf. Sci.* 570: 98-110.
- Nejjari N., Zerhouni F., Bouharrou A., Habzi A., Najdi T., Lahbabi M., Ben Omar S. (2003).** Infections nosocomiales à *Acinetobacter* : expérience du service de néonatalogie de Casablanca. *Tunisie Med.* 81(2): 121-125.
- Nemec A., Dijkshoorn L., Cleenwerck I., De Baere T., Janssens D., Van Der Reijden T. J., Jezek P., Vaneechoutte M.. (2003).** *Acinetobacter parvus* sp. nov., a smallcolony-forming species isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol.* 53: 1563-7.
- Nemec, A., De Baere T., Tjernberg I., Vaneechoutte M., J. Van der Reijden T., Dijkshoorn L. (2001).** *Acinetobacter ursingii* sp. nov. and *Acinetobacter schindleri* sp. nov., isolated from human clinical specimens. *Int J Syst Evol Microbiol.* 51: 1891-9.
- Nucleo E., Steffanoni L., Fugazza, G., Migliavacca, R., Giacobone, E., Navarra, A., Pagani L., Landini, P. (2009).** Growth in glucose-based medium and exposure to

subinhibitory concentrations of imipenem induce biofilm formation in a multidrug-resistant clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *BMC microbiology*, 9. 270.

O'Toole G.A., Kolter R. (1998a). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol Microbiol.* 30: 295-304.

O'Toole G.A., Kolter R. (1998b). Initiation of biofilm formation in *pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signaling pathways: a genetic analysis, *Mol. Microbiol.* 28: 449- 61.

O'Toole G., Kaplan H.B., Kolter R. (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annu Rev Microbiol.* 54 : 49-79.a

Okajima Y., Kobayakawa S., Tsuji A., Tochikubo T. (2006). Biofilm formation by *Staphylococcus epidermidis* on intraocular lens material. *Invest Ophth and Vis Sci.* 47: 2971–2975

Pamula E., De Cupere V., Dufrene Y.F., Rouxhet P.G. (2004). Nanoscale organization of adsorbed collagen: Influence of substrate hydrophobicity and adsorption time. *J. Colloid Interf. Sci.* 271: 80.

Partt-Terpstra I.H., Weerkamp A.H., Busscher H.J. (1988). On a relation between interfacial free energy dependent and non – interfacial free energy dependent adherence of oral streptococci to solid substrata. *Curr. Microbiol.* 16: 311 – 313.

Pavithra D, Doble M. (2008). Biofilm formation, bacterial adhesion and host response on polymeric implants – issues and prevention. *Biomed Mater.* 3: 034003.

Pebret F. (2003). Maladies infectieuses: toutes les pathologies des programmes officiels des études médicales ou paramédicales. *Edition heures de France* : 150.

Peleg A., Seifert H., Paterson D. (2008). *Acinetobacter baumannii*: Emergence of a successful pathogen. *Clin. Microbiol.Rev.* 21: 538-582.

Perrin D. (2005). Biologie appliquée à la chirurgie bucco-dentaire. Edition Elsevier SAS : 246

Poirel L., Nordmann P. (2006). Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. *Clin Microbiol Infect.* 12: 826–36.

Pour N.K., Dusane D.H., Dhakephalkar P.K., Zamin F.R., Zinjarde S.S., Chopade B.A. (2011). Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii* strains isolated from urinary tract infection and urinary catheters. *FEMS Immunology & Medical Microbiology.* 62: 328-338

Rao R.S., Karthika R.U., Singh S.P., Shashikala P., Kanungo R., Jayachandran S., Prashanth K. (2008). Correlation between biofilm production and multiple drug resistance in

imipenem resistant clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 26: 333-337.

Roca I., Espinal P., Vila-Farrés X., Vila J. (2012). The *Acinetobacter baumannii* oxymoron: commensal hospital dweller turned pan-drug-resistant menace. *Frontiers in microbiology*, 3

Rodríguez-Baño J., Martí S., Soto S., Fernández-Cuenca F., Cisneros JM., Pachón J., Pascual A., Martínez-Martínez L., McQueary C., Actis L.A., Vila J. (2008). Biofilm formation in *Acinetobacter baumannii*: associated features and clinical implications. *Clin. Microbiol. Infect.*14: 276-278

Romling U., Sierralta W.D., Eriksson K., Normark S. (1998). Multicellular and aggregative behaviour of *Salmonella typhimurium* strains is controlled by mutations in the *agfD* promoter. *Mol Microbiol*; 28: 249-64.

Roques C. (2000). Biofilms bactériens. In Précis de Bactériologie Clinique. Freney J., Renaud F., Hansen W. et Ballet C. Edition ESKA, 391-405.

Rosenberg M. (1984). Bacterial adherence to polystyrene: a replica method of screening for bacterial hydrophobicity. *Applied and Environmental Microbiology*. 42: 375-377.

Roux A et Ghigo J. M. (2006). Les biofilms bactériens. Bull. Acad. Vét. France — 2006 - Tome 159 - N°3.

Ruiz M., Martí S., Fernandez-cuenca F., Pascual A., Vila J. (2007). Prevalence of ISabI in epidemiologically unrelated *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *FEMS Microbiol Lett*. 274: 63-66.

Saïdani M., Boutiba I., Ghozzi R., Kammoun A., Ben Redjeb S. (2006). Profil bactériologique des bactériémies à germes multi résistants à l'hôpital Charles Nicolle de Tunis. *Med Mal Infect*. 36 : 163-166.

Sauer K., Camper A.K., Eherlich G.D., Costerton J.W., Davies D.G. (2002). *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J. Bacteriol*. 184, 1140-1154.

Sauer K., Cullen M.C., Rickard A.H., Zeef L.A.H., Davies D.G., Gilbert P. (2004). Characterization of nutrient-induced dispersion in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 Biofilm. *J Bacteriol*. 186: 7312–7326.

Schwank S., Rajacic Z., Zimmerli W., Blaser J. (1998). Impact of bacterial biofilm formation on *in vitro* and *in vivo* activities of antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemoth*. 42(4) : 895-898.

- Sechi L.A., Karadenizli A., Deriu A., Zanetti S., Kolayli F., Balikci E., Vahaboglu H. (2004).** PER-1 type beta-lactamase production in *Acinetobacter baumannii* is related to cell adhesion. *Med Sci Monit.* 10: 180-184.
- Sghaier W., Saïdani M., Boutiba I., Ghozzi R., Kammoun A., Slim A. (2010).** Profil bactériologique des prélèvements respiratoires dans les unités de soins intensifs de l'hôpital CharlesNicolle de Tunis. *Revue Tunisienne d'Infectiologie.* 4 (1) : 31-2.
- Shehata I., Shabban M., Ibrahim R., Shoukry Y. (2012).** Endotracheal Tube Biofilm and its Relationship to Ventilator Associated Pneumonia in a Neonatal ICU. *Nature and Science.* 10: 133-141.
- Singh N., Agrawal V., Pemmaraju S.C., Panwar R., Pruthi V. (2011).** Impact of infectious *Candida albicans* biofilm on biomaterials. *Indian Journal of Biotechnology.* 10: 417-422.
- Sjollema J., Van der Mei H.C., Wugen H.M. et Busscher H.J. (1990)** The influence of collector and bacterial cell surface properties on the deposition of oral streptococci in a parallel plate flow cell. *J. Adhesion. Sci. Technol.,* 4, 765- 777.
- Sotto A. et Lavigne J.P. (2007).** Le biofilm. *Forum du Comité d'Infectiologie de l'AFU.* Association française d'urologie.
- Souli M., Giamarellou H. (1998).** Effects of slime produced by clinical isolates of coagulase-negative staphylococci on activities of various antimicrobial agents. *Antimicrob. Agents Chemoth.* 42 (4): 939-941.
- Spormann A.M. (2008).** Physiology of microbes in biofilms. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 322: 17- 36.
- Stepanovic S., Vukovic D., Dakic I., Savic B.; Vlahovic M S. (2000).** A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *Journal of Microbiological Methods.* 40: 175–179.
- Stickler D. J. (1996).** Bacterial biofilms and the encrustation of urethral catheters. *Biofouling.* 94: 293-305.
- Stoodley, P., Lewandowski, Z., Boyle, J. D. & Lappin-Scott, H. M. (1999b).** Structural deformation of bacterial biofilms caused by short-term fluctuations in fluid shear: an in situ investigation of biofilm rheology. *Biotechnol Bioeng.* 65 : 83-92.
- Suri A., Mahapatra A.K., Kapil A. (2000).** *Acinetobacter* infection in neurosurgical intensive care patients. *Natl Med J India;* 13:296
- Tenke P., Kovacs B., Jackel M., Nagy E.(2006).** The role of biofilm infection in urology. *World J.Urol.* 24: 13-20.

- Tomaras A.P., Dorsey C.W., Edelman R.E., Actis, L.A. (2003).** Attachment to and biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. *Microbiology*. 149: 3473-3484.
- Towner K. (2006).** The Genus *Acinetobacter*. In : The prokaryotes. Springer New York 6 : 746-758.
- Trautner B. W., Darouiche R. O. (2004).** Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection. *Am J Infect Control*. 32 : 177-183.
- Treter J., Macedo A.J. Catheters (2011).** A suitable surface for biofilm formation. In Méndez-Vilas A. ed. Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. Spain: Formatex Research Center, pp 835-842.
- Vallet I., Olson J.W., Lory S., Lazdunski A., Filoux A. (2001).** The chaperone/usher pathway of *Pseudomonas aeruginosa*: Identification of fimbrial gene clusters (cup) and their involvement in biofilm formation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 98: 6911-6916.
- Van Loosdrecht M.C., Lyklema J., Norde W., Zehnder A.J. (1990).** Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiol Rev*. 54 :75 – 87.
- Vanhaecke E., Remon J.P., Moors M., Raes F., De Rudder D., Van Peteghem A. (1990).** Kinetics of *Pseudomonas aeruginosa* adhesion to 304 and 316-L stainless steel: role of cell surface hydrophobicity. *Appl. Environ. Microbiol*. 56: 788-795.
- Vidal R., Dominguez M., Urrutia H., Bello H., Gonzalez G., Garcia A., Zemelman R. (1996).** Biofilm formation by *Acinetobacter baumannii*. *Microbios*. 86 : 49-58.
- Vidal, R., Dominguez, M., Urrutia, H., Bello, H., Garcia, A., Gonzalez, G., Zemelman, R. (1997).** Effect of imipenem and sulbactam on sessile cells of *Acinetobacter baumannii* growing in biofilm. *Microbios* 91: 79-87.
- Vila J. (1998).** Mechanisms of antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Rev Med Microbiol*. 9: 87-97.
- Villers D., Espase E., Coste-Burel M., Giauffret F., Ninin E., Nicolas F., Richet H. (1998).** Nosocomial *Acinetobacter baumannii* infections: Microbiological and clinical epidemiology. *Ann Intern Med*; 129:182-189.
- Vivas J., Padilla D., Real F., Bravo J., Grasso V., Acosta F. (2008).** Influence of environmental conditions on biofilm formation by *Hafnia alvei* strains. *Vet Microbiol*. 129: 150-5.
- Watnick P., Kolter R. (2000).** Biofilm: City of microbes. *J. Bacteriol*. 182 (10): 2675-2679.

White-Ziegler C.A., Um S., Perez N.M., Berns A.L, Malhowski A.J, Young S. (2008). Low temperature (23°C) increases expression of biofilm-, cold-shock- and RpoS-dependent genes in *Escherichia* *Microbiology*. 154: 148-66.

Wroblewska M.M., Sawicka-Grzelak A., Marchel H., Luczak M., Sivan A. (2008). Biofilm production by clinical strains of *Acinetobacter baumannii* isolated from patients hospitalized in two tertiary care hospitals. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*. 53: 140-144.

Yi K., Rasmussen A.W., Gudlavalleti S.K., Stephens D.S., Stojiljkovic I. (2004). *Biofilm formation by Neisseria meningitidis*. *Infect. Immun.* 72: 6132-6138.

Zenkri F. (2006). Dispositifs invasifs en unité de réanimation pédiatrique : étude prospective sur 12 mois, de la pose à l'ablation. *Thèse pour le Doctorat en médecine diplôme d'état*. Paris

Zobell C.E. (1943). The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *J Bacteriol.* 46(1):39–56.

Zohoun A., Dao I., Karfo R., Essayagh T., Sekhsokh Y., Bousta M., El Hamzaoui S. (2012). Méningite nosocomiale postopératoire à *Acinetobacter baumannii* multirésistant en neurochirurgie: à propos d'un cas. *Pathol. Biol.* 60: 6-8.

Annexe 1 : Caractéristiques des patients inclus dans l'étude.

Patients			Dispositif médical	Isolement D'AB	Numération $\geq 10^3$		Numération < 10^3
Sexe et âge	T°C	DH			Colonisation	infection	
H, 48	> 38	17j	SI	X	X		
			SU	X		X	
F, 53	> 38	4j	SU	X		X	
			SU		X		
H, 54	<38	5j	SI	X	X		
			CVC	X	X		
H, 56	> 38	18j	SI	X		X	
			SU	X		X	
			SU	X		X	
F, 45	<38	8j	SI				X
			SU				X
			SU				X
			SU				X
			CVC				X
			CVC				X
H, 54	> 38	21j	SI	X		X	
			SU	X		X	
			CVC	X	X		
F, 56	<38	15j	SI	X	X		
F, 48	> 38	13j	SI	X	X		
			SU	X		X	
F, 47	> 38	12j	CVC	X		X	
			SU			X	
F, 41	<38	V	SI				X
			SU				X
			SU				X
			CVC				X
			CVC				X
H,49	<38	11j	SI	X	X		
H, 40	> 38	7j	SU	X		X	
F, 39	> 38	15j	SI	X		X	
			CVC	X		X	
H, 52	> 38	8j	CVC	X		X	
			CVC	X		X	
H, 39	> 38	4j	SU	X		X	
			CVC		X		
H, 42	> 38	6j	SU	X		X	
H, 37	> 38	5j	SI	X	X		
			SU	X		X	
			CVC	X	X		
H,41	> 38	17j	SI	X		X	
			CVC		X		
H, 55	> 38	5j	SI		X		

			SU	X		X	
F, 38	> 38	10j	SU	X		X	
			SU			X	
H,51	> 38	8J	SI	X	X		
			SU	X		X	
H,39	> 38	9j	CVC	X		X	
			SI	X		X	
H , 31	> 38	18j	SI	X		X	
			SU	X		X	
			SU		X		
F, 17	> 38	20	SI	X		X	
			SU	X		X	
			CVC	X		X	
H, 38	<38	V	SI				X
			SU				X
			SU				X
			CVC				X
			CVC				X
			CVC				X
H, 30	> 38	19j	SI	X	X		
			SU	X		X	
			SU		X		
F, 33	<38	V	SI				X
			SU				X
			SU				X
			CVC				X
			CVC				X
			CVC				X
F, 28	<38	9j	SI	X	X		
F, 20	> 38	5J	SU	X		X	
			SU			X	
F, 35	<38	9J	SI	X	X		
			CVC		X		
H , 21	<38	11j	SI				X
			SU				X
			SU				X
			CVC				X
			CVC				X
F, 23	<38	19J	SI				X
			SU				X
			SU				X
			SU				X
			CVC				X
			CVC				X
H, 24	> 38	12j	SI	X		X	
			SU	X		X	
			CVC	X		X	

H, 33		10j	SI	X	X	
			CVC	X	X	
F, 35	> 38	10j	SI	X		X
			SU	X		X
			SU			X
F, 28	<38	V	SI			X
			SI			X
			SU			X
			SU			X
			SU			X
			CVC			X
			CVC			X
			CVC			X
H, 30	<38	11J	SI	X	X	
F, 60	<38	7J	SI	X	X	
H, 62	<38	13j	CVC	X	X	
			SI		X	
F, 59	<38	8j	CVC	X	X	
			SU		X	
H, 70	<38	12j	SI	X	X	
			SU		X	
F, 62	<38	10j	SI	X	X	
H, 59	<38	V	SI			X
			SU			X
			SU			X
			SU			X
			CVC			X
			CVC			X
H, 67	<38	10j	SI			X
			SU			X
			SU			X
			SU			X
			CVC			X
			CVC			X
			CVC			X
F, 78	> 38	15j	CVC	X		X
			SU			X
H, 78	> 38	11j	SU	X		X
H, 76	<38	13j	SI	X	X	
H, 59	> 38	13j	SI	X		X
F, 58	> 38	10j	SU	X		X
			SI		X	
F, 66	<38	9j	SI	X	X	
			CVC		X	
H, 61	> 38	8j	CVC	X		X
			SU			X
F, 59	> 38	4j	SU	X		X
H, 59	> 38	10j	SU	X		X

			KT	X		X
H, 63	> 38	5j	SI	X		X
			SU			X
F, 59	<38	10j	SI			X
			SU			X
			SU			X
			CVC			X
			CVC			X
H, 72	> 38	4j	SU	X		X
			CVC	X		X
H, 77	<38	13j	CVC	X	X	

AB : *Acinetobacter baumannii*, **CVC** : Cathéter veineux central, **DH** : durée d'hospitalisation, **F** : femme, **H** : homme, **SI** : sonde d'intubation, **SU** : sonde urinaire, **T°C** : température des patients.

AB49	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S
AB50	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
AB51	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S
AB52	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
AB53	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
AB54	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	S
AB55	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
AB56	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S
AB57	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
AB58	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S
AB59	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
AB60	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S
AB61	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
AB62	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S
AB63	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S
AB64	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S
AB65	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S
AB66	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S
AB67	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S
AB68	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S
AB69	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S
AB70	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S

AB : *Acinetobacter baumannii*, **TIC** : Ticarcilline, **TCC** : Ticarcilline-acide clavulanique ,
Pip : Pipéracilline, **CAZ** : Ceftazidime, **IMP** : Imipenème, **AK** : Amikacine, **GN** :
Gentamicine, **TM** : Tobramycine, **TE** : Tetracycline, **CIP** : Ciprofloxacine, **SXT** :
Sulfaméthoxazole-triméthoprimine, **CL** : Colistine.

Luria Bertani liquide (LB)

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

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

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

ملخص

Acinetobacter baumannii هي الممرضة الانتهازية المسؤولة عن عدوى المستشفيات بسبب تشكيل شريط حيوي على سطح الأجهزة الطبية القابلة للزرع. قد تم اختبار قدرة ثلاثون سلالة من *Acinetobacter baumannii* على تكوين شريط حيوي. العوامل التي يمكنها التأثير على هذه العملية قد تم درسها أيضا مثل درجة الحرارة، وجود الجلوكوز و كلوريد الصوديوم في وسط الزرع، للا مائية , مدة زرع و طبيعة الجهاز الطبي.

كل السلالات كانت قادرة على تكوين شريط حيوي ولكن هذه العملية كانت أكثر عند 30°م من 37°م وبلغت الحد الأقصى بعد 96 ساعة من الحضارة. تشكيل الشريط الحيوي ازداد في وجود الجلوكوز وانخفض في وجود كلوريد الصوديوم. السلالات تظهر تمسك أكثر علا السيليكون و المطاط بالمقارنة مع بوليفينيل كلوريد ولم يتم اكتشاف أي علاقة واضحة بين للا مائية و تشكيل الشريط الحيوي. الكلمات الرئيسية :

Acinetobacter baumannii, الشريط الحيوي, الجهاز الطبي .

Résumé

Acinetobacter baumannii est un pathogène opportuniste responsable d'infections nosocomiales du a la formation de biofilm à la surface des dispositifs médicaux implantables. Trente souches d'*A.baumannii* isolées à partir de dispositifs médicaux ont été testés pour leur capacité a formé un biofilm. Les facteurs qui peuvent influencer ce processus tel que : l'hydrophobicité de la paroi bactériennes, la température, la présence du glucose et du NaCl dans le milieu de culture, la durée d'implantation et la nature du dispositif médical ont été également recherché. Les souches avait la capacité de former un biofilm, cependant ce processus été plus important à 30°C qu'a 37°C et maximal à 96h d'incubation. La formation de biofilms a augmenté en présence de glucose et a diminué en présence de NaCl. Les souches semblent mieux adhérees au silicone et au latex qu'au polyvinylchloride (PVC) et aucune relation apparente n'a été détectée entre hydrophobicité et formation de biofilm.

Mot clés : *Acinetobacter baumannii*, biofilm, dispositif médical.

Abstract

Acinetobacter baumannii is an opportunistic pathogen responsible for nosocomial infections due to biofilm formation on the surface of implantable medical devices. Thirty strains of *A. Baumannii* were isolated from medical devices and tested for their ability to form a biofilm. The factors that may influence this process, such as the hydrophobicity of the bacterial wall, temperature, duration of implantation and the nature of the medical device, were also investigated. Strains were able to form a biofilm; however this process was more substantial at 30 °C than at 37 °C and was maximal after 96 hours of incubation. The formation of biofilms in the presence of glucose increased and decreased in the presence of NaCl. Strains seem to adhere better to silicone and latex than to polyvinylchloride (PVC) and no apparent relationship was found between hydrophobicity and biofilm formation.

Keys words: *Acinetobacter baumannii*, biofilm, medical devices.