

UNIVERSITE MOHAMMED V-RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE : 2016

THESE N : 56

**BIOFILMS BACTÉRIENS ET LEUR
IMPLICATION EN PATHOLOGIE HUMAINE**

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le :

PAR

Mlle BEZOUÏ MOUNA

Née le 07 Juillet 1991 à Casablanca

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Biofilms bactériens ; Résistance ; infections chronique ; Implant médicaux ;
anti-biofilms

MEMBRES DE JURY

Pr. M. ZOUHDI

Professeur de Microbiologie

Pr. M. CHADLI

Professeur de Microbiologie

Pr. S. EL HAMZAOUÏ

Professeur de Microbiologie

Pr. S. TELLAL

Professeur de Biochimie

Pr. Y. SEKHSOKH

Professeur de Microbiologie

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا
إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ

سورة البقرة: الآية: 32

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ



UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI

ADMINISTRATION : a

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

**1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS
ET PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Mai et Octobre 1981

Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire
Pr. TAOBANE Hamid* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

Pr. BENOSMAN Abdellatif Chirurgie Thoracique

Novembre 1983

Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI Rhumatologie

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz Médecine Interne – *Clinique Royale*
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi Anesthésie -Réanimation
Pr. SETTAF Abdellatif pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENJELLOUN Halima Cardiologie
Pr. BENSALIM Younes Pathologie Chirurgicale
Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa Neurologie

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. AJANA Ali	Radiologie
Pr. CHAHED OUZZANI Houria	Gastro-Entérologie
Pr. EL YAACOUBI Moradh	Traumatologie Orthopédie
Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah	Gastro-Entérologie
Pr. LACHKAR Hassan	Médecine Interne
Pr. YAHYAOUI Mohamed	Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib	Chirurgie Pédiatrique
Pr. DAFIRI Rachida	Radiologie
Pr. HERMAS Mohamed	Traumatologie Orthopédie

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed	Médecine Interne – <i>Doyen de la FMPR</i>
Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali*	Cardiologie
Pr. CHAD Bouziane	Pathologie Chirurgicale
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda	Neurologie

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid	Pathologie Chirurgicale
Pr. HACHIM Mohammed*	Médecine-Interne
Pr. KHARBACH Aïcha	Gynécologie -Obstétrique
Pr. MANSOURI Fatima	Anatomie-Pathologique
Pr. TAZI Saoud Anas	Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia	Anatomie-Pathologique
Pr. AZZOUZI Abderrahim	Anesthésie Réanimation – <i>Doyen de la FMPO</i>
Pr. BAYAHIA Rabéa	Néphrologie
Pr. BELKOUCHI Abdelkader	Chirurgie Générale
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif	Chirurgie Générale
Pr. BENSOUDA Yahia	Pharmacie galénique
Pr. BERRAHO Amina	Ophtalmologie
Pr. BEZZAD Rachid	Gynécologie Obstétrique
Pr. CHABRAOUI Layachi	Biochimie et Chimie
Pr. CHERRAH Yahia	Pharmacologie
Pr. CHOKAIRI Omar	Histologie Embryologie
Pr. KHATTAB Mohamed	Pédiatrie
Pr. SOULAYMANI Rachida	Pharmacologie – <i>Dir. du Centre National PV</i>
Pr. TAOUFIK Jamal	Chimie thérapeutique

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed	Chirurgie Générale
Pr. BENSOUDA Adil	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib	Radiologie

Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DAOUDI Rajae
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Nouredine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid
Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. EL AOUAD Rajae
Pr. EL BARDOUNI Ahmed
Pr. EL HASSANI My Rachid
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. HADRI Larbi*
Pr. HASSAM Badredine
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. JELTHI Ahmed
Pr. MAHFOUD Mustapha
Pr. MOUDENE Ahmed*
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Gynécologie Obstétrique
Immunologie
Traumato-Orthopédie
Radiologie
Chirurgie Générale- *Directeur CHIS*
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Médecine Interne
Dermatologie
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique
Traumatologie – Orthopédie
Traumatologie- Orthopédie
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
Pr. ABDELHAK M'barek
Pr. BELAIDI Halima
Pr. BRAHMI Rida Slimane
Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHAMI Ilham
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. EL ABBADI Najia
Pr. HANINE Ahmed*

Urologie
Chirurgie Pédiatrique
Neurologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Gynécologie Obstétrique
Traumatologie – Orthopédie
Radiologie
Ophtalmologie
Neurochirurgie
Radiologie

Pr. JALIL Abdelouahed
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. CHAARI Jilali*
Pr. DIMOU M'barek*
Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
Pr. EL MESNAOUI Abbas
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. HDA Abdelhamid*
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Cardiologie - *Dir. HMIMV*
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOVAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. MAHFOUDI M'barek*
Pr. MOHAMMADI Mohamed
Pr. OUADGHIRI Mohamed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Radiologie
Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Traumatologie-Orthopédie
Néphrologie
Cardiologie

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. CHAOUIR Souad*
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. OUAHABI Hamid*

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neurologie

Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. EZZAITOUNI Fatima
Pr. LAZRAK Khalid *
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*
Pr. LABRAIMI Ahmed*

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Néphrologie
Traumatologie Orthopédie
Hématologie
Cardiologie
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-ptisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie
Anesthésie-Réanimation **inspecteur SS**
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AIT OURHROUI Mohamed
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. HSSAIDA Rachid*
Pr. LAHLOU Abdou
Pr. MAFTAH Mohamed*
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. NASSIH Mohamed*
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anesthésie-Réanimation
Traumatologie Orthopédie
Neurochirurgie
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. ABABOU Adil
Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBAH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-ptisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques

Pr. BENZEKRI Laila
 Pr. BENZZOUBEIR Nadia
 Pr. BERNOUSSI Zakiya
 Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
 Pr. CHOHO Abdelkrim *
 Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 Pr. EL HAOURI Mohamed *
 Pr. EL MANSARI Omar*
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia
 Pr. IKEN Ali
 Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. LAGHMARI Mina
 Pr. MABROUK Hfid*
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*
 Pr. NAITLHO Abdelhamid*
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RACHID Khalid *
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 Pr. RHOU Hakima
 Pr. SIAH Samir *
 Pr. THIMOU Amal
 Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
 Pr. AMRANI Mariam
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 Pr. BENKIRANE Ahmed*
 Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 Pr. BOULAADAS Malik
 Pr. BOURAZZA Ahmed*
 Pr. CHAGAR Belkacem*
 Pr. CHERRADI Nadia
 Pr. EL FENNI Jamal*
 Pr. EL HANCHI ZAKI
 Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 Pr. HACHI Hafid
 Pr. JABOUIRIK Fatima
 Pr. KHABOUZE Samira

Dermatologie
 Gastro-Entérologie
 Anatomie Pathologique
 Psychiatrie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Médecine Interne
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Gynécologie Obstétrique

Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. LEZREK Mohammed*
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Traumatologie Orthopédie
Urologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALAOUI Ahmed Essaid
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. AZIZ Noureddine*
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENHALIMA Hanane
Pr. BENYASS Aatif
Pr. BERNOUSSI Abdelghani
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. EL HAMZAOUI Sakina*
Pr. HAJJI Leila
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. NIAMANE Radouane*
Pr. RAGALA Abdelhak
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

Chirurgie Réparatrice et Plastique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Rhumatologie
Ophtalmologie
Radiologie
Rhumatologie
Pédiatrie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
Cardiologie
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Biophysique
Microbiologie
Cardiologie (*mise en disponibilité*)
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Rhumatologie
Gynécologie Obstétrique
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

Décembre 2005

Pr. CHANI Mohamed

Anesthésie Réanimation

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. AKJOUJ Said*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BIYI Abdelhamid*
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*
Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal

Rhumatologie
Radiologie
Hématologie
O.R.L
Biophysique
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie

Pr. ESSAMRI Wafaa
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. GHADOUANE Mohammed*
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laila
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SEKKAT Fatima Zahra
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saïda*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leila
Pr. ACHOUR Abdessamad*
Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AMMAR Haddou*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nourdine
Pr. CHARKAOUI Naoual*
Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
Pr. ELABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GANA Rachid
Pr. GHARIB Nouredine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb

Gastro-entérologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Urologie
Médecine Interne
Anesthésie Réanimation
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Psychiatrie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Chirurgie générale
Chirurgie cardio vasculaire
Traumatologie orthopédie
ORL
Parasitologie
Anesthésie réanimation **directeur ERSSM**
Biochimie-chimie
Pharmacie clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie générale
Chirurgie générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Neuro chirurgie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie médicale
Dermatologie
Radiothérapie

Pr. LALAOUI SALIM Jaafar*
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MAHI Mohamed*
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. MOUTAJ Redouane *
Pr. MRABET Mustapha*
Pr. MRANI Saad*
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. RABHI Monsef*
Pr. RADOUANE Bouchaib*
Pr. SEFFAR Myriame
Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TABERKANET Mustafa*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGDR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMAHZOUNE Brahim*
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir
Pr. AZENDOUR Hicham*
Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*

Anesthésie réanimation
Microbiologie
Réanimation médicale
Radiologie
Pneumo phtisiologie
Hématologie biologique
Parasitologie
Médecine préventive santé publique et hygiène
Virologie
Biochimie-chimie
Médecine interne
Radiologie
Microbiologie
Microbiologie
Radiothérapie
Chirurgie vasculaire périphérique
Ophtalmologie
Chirurgie générale
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale

Médecine interne
Pédiatre
Chirurgie Générale
Neurologie
Neuro-chirurgie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Rhumatologie
Neuro-chirurgie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale

Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHAKOUR Mohammed *
Pr. CHTATA Hassan Toufik*
Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna *
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. L'KASSIMI Hachemi*
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADE Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MESSAOUDI Nezha *
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *
Pr. ZOUHAIR Said*

PROFESSEURS AGREGES :
Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. BOUAITY Brahim*
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DARBI Abdellatif*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar
Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. LEZREK Mounir
Pr. MALIH Mohamed*
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. NAZIH Mona*

Traumatologie orthopédique
Hématologie biologique
Chirurgie vasculaire périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Microbiologie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Hématologie biologique
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-ptisiologie
Microbiologie

Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
ORL
Microbiologie
Médecine aéronautique
Biochimie chimie
Radiologie
Chirurgie pédiatrique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie plastique et réparatrice
Urologie
Gastro entérologie
Anatomie pathologique
Ophtalmologie
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie générale
Hématologie Biologique

Pr. ZOUAIDIA Fouad

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BELAIZI Mohamed*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir
Pr. JAHID Ahmed
Pr. MEHSSANI Jamal*
Pr. RAISSOUNI Maha*

Anatomie pathologique

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Psychiatrie
Traumatologie Orthopédique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Médecine Interne
Pneumophtisiologie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie pathologique
Psychiatrie
Cardiologie

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCHI Laila
Pr. AMOUR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENNANA Ahmed*
Pr. BENSEFFAJ Nadia
Pr. BENSghir Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjoub
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI Nizare
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHLOUFI Samir
Pr. EL KORAIKHI Alae

Pharmacologie – Chimie
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie Réanimation
Anesthésie Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie biologique
Informatique Pharmaceutique
Immunologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique
Traumatologie Orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-Chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologie
Anatomie
Anesthésie Réanimation

Pr. EN-NOUALI Hassane*
Pr. ERRGUIG Laila
Pr. FIKRI Meryim
Pr. GHANIMI Zineb
Pr. GHFIR Imade
Pr. IMANE Zineb
Pr. IRAQI Hind
Pr. KABBAJ Hakima
Pr. KADIRI Mohamed*
Pr. LATIB Rachida
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
Pr. MEDDAH Bouchra
Pr. MELHAOUI Adyl
Pr. MRABTI Hind
Pr. NEJJARI Rachid
Pr. OUBEJJA Houida
Pr. OUKABLI Mohamed*
Pr. RAHALI Younes
Pr. RATBI Ilham
Pr. RAHMANI Mounia
Pr. REDA Karim*
Pr. REGRAGUI Wafa
Pr. RKAIN Hanan
Pr. ROSTOM Samira
Pr. ROUAS Lamiaa
Pr. ROUIBAA Fedoua*
Pr. SALIHOUN Mouna
Pr. SAYAH Rochde
Pr. SEDDIK Hassan*
Pr. ZERHOUNI Hicham
Pr. ZINE Ali*

Radiologie
Physiologie
Radiologie
Pédiatrie
Médecine Nucléaire
Pédiatrie
Endocrinologie et maladies métaboliques
Microbiologie
Psychiatrie
Radiologie
Médecine Interne
Pharmacologie
Neuro-chirurgie
Oncologie Médicale
Pharmacognosie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Pharmacie Galénique
Génétique
Neurologie
Ophtalmologie
Neurologie
Physiologie
Rhumatologie
Anatomie Pathologique
Gastro-Entérologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
Pr. GHOUNDALE Omar*
Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
Urologie
Médecine Interne

**Enseignants Militaires*

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie – chimie
Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
Pr. BARKYOU Malika	Histologie-Embryologie
Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie – chimie
Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootchnie
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
Pr. HAMZAOUI Laila	Biophysique
Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
Pr. IBRAHIMI Azeddine	Biologie moléculaire
Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
Pr. REDHA Ahlam	Chimie
Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

*Mise à jour le 09/01/2015 par le
Service des Ressources Humaines*

- 9 JAN 2015



Dédicaces



Je dédie cette thèse à...



A Allah

Tout puissant Qui m'a inspiré Qui m'a guidé dans le bon chemin .Je vous dois ce que je suis devenue Louanges et remerciements Pour votre clémence et miséricorde



A ma très chère mère

Ce travail est le fruit de tes efforts, de ton amour, de tes prières et de tes encouragements. Tu as consacré le meilleur de toi même à notre éducation et à notre réussite. Puisse le Grand DIEU me permettre de te le rendre au centuple. Tes peines, tes privations, tes sacrifices n'ont pas de mesure à mes yeux. Je t'admire car tu as eu maintes fois des occasions de t'effondrer mais avec ta force de caractère, tu as toujours su te relever. Ni le Larousse, ni le Robert ne me suffisent pour exprimer à sa juste valeur ce que je ressens pour toi. Aujourd'hui j'aimerais t'offrir la récompense de tes efforts en te disant toute la fierté et le bonheur que j'ai de t'avoir comme maman chérie... Sois rassurée chère maman de mon indéfectible attachement. Que DIEU t'accorde longue vie auprès de nous.



A mon très cher Père

Permetts-moi de couler une larme de bonheur pour te dire merci papa. Ton souci majeur est et demeure le bonheur et la réussite de tes enfants. Ton docteur est enfin là. Tes prières, tes conseils nuit et jour, ta rigueur dans notre éducation, ton amour du travail bien fait, ton honnêteté, ta discrétion, et tous les sacrifices consentis pour notre éducation m'ont guidé chaque jour de ma vie. Tu nous as enseigné la droiture mais aussi à éviter les solutions de facilité. Ton souci pour ma soutenance depuis tant d'années est devenu réalité. Merci pour ce que tu as fait et tous ce que tu feras encore pour moi. Que Dieu t'accorde santé et longévité et qu'il m'aide à ce que je puisse accomplir pleinement mes devoirs envers toi. Si toutes les fois je n'ai pas toujours su m'exprimer en ces termes, aujourd'hui j'ai envie de te dire... je t'aime papa. merci de m'avoir donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance Merci d'avoir toujours été là pour moi.



A mes sœurs Lamyaa, Nouhailaet Imane

Merci, adorables sœurs, d'avoir montré tant de complaisance et de serviabilité à mon égard. Puisse Allah, le Très-Haut, vous accorder une vie heureuse et un avenir prospère, je vous aime mes sœurs chéries que notre fraternité se prolonge à l'éternité...



A mes meilleures amies Sara et said

Vous êtes plus que des amies pour moi, merci pour toutes ces fois où j'ai pu compter sur vous; pour tous les bons moments de folie et de joie qu'on a passés ensemble durant toute ses années d'études. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

Après ma famille, vous êtes les personnes qui comblent mon quotidien et dont j'apprends énormément.



A mes très chers amis

*Hamza, faycal , mehdi, khadija, salma
, amina, hanane, saida, hafssa, nawal , hasnaa, abdossamad , ilyas,
mouad , sara , soukaina , mohsin...*

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer
mon affection et mes pensées. Vous êtes pour moi des frères, des
sœurs et des amis sur qui je peux compter.*

*En témoignage de la forte amitié qui nous unit, de
l'attachement, des souvenirs de ces années pendant lesquelles
nous avons partagé joies et difficultés, des préparations passées
ensemble et de nos disputes parfois, je vous dédie, chers amis, ce
travail signe de l'affection que j'ai pour vous avec tous mes
meilleurs vœux de bonheur, de santé et de réussite. Ensemble,
nous avons bâti notre avenir.*



*À tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation
de ce travail.*

*À tous ceux qui m'ont transmis leur savoir depuis la maternelle
jusqu'à ce jour.*

*À tous ceux connus ou inconnus qui vont feuilleter un jour ce
travail. À tous ceux qui ont pour mission cette pénible tâche de
soulager l'être humain, d'essayer de lui procurer le bien physique,
psychique et social.*

*À toutes les personnes malades et qui souffrent, que dieu nous
aide à apaiser vos souffrances, que dieu vous garde et vous
accorde des jours meilleurs.*

À tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

Remerciements





A notre Maître et Président de Jury, Mimoun ZOUHDI Professeur de microbiologie à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat et Chef de service de Microbiologie au CHU Ibn SINA de Rabat.

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant la présidence de notre Jury de thèse. Vous nous avez accueillis avec beaucoup de gentillesse et d'égard. Votre compétence, vos qualités humaines et surtout la clarté et la simplicité de votre enseignement ont suscité en nous une profonde admiration.

Veillez accepter, cher maître, l'assurance de notre estime et de notre profond respect.

MERCI



*A notre Maître et Rapporteur de thèse Mme.
Mariama CHADLI, Professeur de Microbiologie à la
Faculté de Médecine*

*Mes sincères remerciements Mme. Mariama CHADLI, vous qui
m'avez permis de réaliser à bien cette thèse.*

*Vos conseils et votre gentillesse m'ont été considérablement
précieux. Vous m'avez toujours réservé un bon accueil malgré
vos obligations professionnelles. Je suis très heureux de pouvoir
exprimer ma profonde gratitude pour tous les efforts que vous
avez déployés afin que ce travail puisse aboutir.*

MERCI



*A notre Maître et Membre du jury, Mme. SAIDA
TELLAL Professeur de Biochimie à la Faculté de
Médecine de Pharmacie de Rabat,*

*Votre assistance parmi les membres du jury de thèse nous honore
beaucoup*

*Votre sympathie et votre gentillesse nous encouragent et nous
incite d'avantage à vouloir puiser de votre savoir.*

*Permettez- nous chère professeur de vous exprimer nos
remerciements les plus sincères.*

MERCI



*A notre Maître et Membre du jury, Mme. SAKINA
EL HAMZAOUI Professeur de Microbiologie à la
Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat,*

*C'est pour nous un honneur et un grand privilège de vous avoir
dans notre jury de thèse.*

*Merci pour la simplicité que vous avez témoigné en acceptant de
siéger parmi notre jury de thèse. Veuillez trouver dans ce travail,
l'expression de notre gratitude et de notre grande estime.*

Merci !



*À notre Maître et Membre du jury, Mr Yassine
SEKHSOUKH Professeur de microbiologie à la
Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat,*

*Vous nous avez reçus avec beaucoup d'amabilité, nous en avons
été touchés. C'est pour nous un grand honneur de vous avoir
dans notre Jury pour juger notre travail.*

*Veillez recevoir l'expression de ma reconnaissance et de mon
respect.*

Merci !



LISTE DES FIGURES

- **Figure 1** : Stromatolithes en forme de biofilm.
- **Figure 2** : Augmentation des nombre de publications sur les biofilms par année.
- **Figure3**:Cycle de développement simplifié d'un biofilm.
- **Figure 4** : présentation schématique des forces et interactions pouvant être mise en jeu lors de la formation d'un biofilm.
- **Figure 5** : Micro-colonie d'un biofilm de staphylococcus sciuri après croissance à la surface d'un tapis.
- **Figure 6** : Détachement superficiel du biofilm.
- **Figure 7** : Formules de molécules de communication.
- **Figure 8** : Voie de synthèse des AHL et AI-2 à partir de SAM.
- **Figure 9** : schéma représentant le changement de mode de vie de la bactérien en fonction de la concentration intracellulaire en c-di-GMP.
- **Figure 10** : Mécanismes de résistance des biofilms aux défenses de l'hôte.
- **Figure 11** : Résistance des biofilms aux antibiotiques. A. Un biofilm est traité durant 24 heures avec des concentrations croissantes d'antibiotiques bactéricides X.B. Hypothèses expliquant le phénomène de resistance du biofilm vis-à-vis des antibiotiques.
- **Figure12** : Schéma représente l'hétérogénéité d'un biofilms : Microenvironnement.
- **Figure13** : Principales infections associées à la présence de biofilms.
- **Figure 14** : schéma représente les physiopathologies de légionellose.
- **Figure 15** : Répartition du taux d'incidence de la légionellose par classe d'âge et par sexe des cas survenus en France en 2005.
- **Figure16** : Principales étapes de formation du biofilm de Staphylococcus epidermidis sur un implant transcutané.
- **Figure17** : Principale voies d'acquisition des micro-organismes lors d'un sondage vésical.
- **Figure 18** : la voie de colonisation bactérienne pouvant conduire au développement d'une pneumonie nosocomiale.

- **Figure 19** : les étapes de la sonication utilisée dans les laboratoires de bactériologie.
- **Figure 20**: Augmentation significative de la sensibilité des cultures après sonication.
- **Figure 21** : Courbes de mesures du flux de chaleur avec la calorimétrie du liquide de sonication des implants récupérés.
- **Figure 22** : Principe des techniques de quantification des biofilms en microplaque.
- **Figure 23** : Principe de mesure de la biomasse par la méthode au Crystal Violet.
- **Figure 24** : Toxicité du Crystal Violet (EMD, 2009).
- **Figure 25** : Images obtenues par microscopie électronique de cellules de *S. aureus* adhérentes et formant des biofilms chez l'hôte sur une valve cardiaque (à gauche) et un tube endotrachéal (à droite).
- **Figure 26** : Principe de l'étude du biofilm par MCBL. Le biofilm est scanné verticalement en tranches et chacune est composée des points focaux. L'ensemble forme une image 3D.
- **Figure 27**: Equipement commercial de microscope confocal in vivo en ophtalmologie et en dermatologie
- **Figure 28**: schéma simplifié des mécanismes d'action des revêtements biocompatibles auto-défensifs
- **Figure 29**:Schéma représentant la traversée d'un biofilm par un bactériophage
- **Figure 30** : l'efficacité d'un hydrogel chargé en phages pour éviter l'établissement de biofilms de *P. aeruginosa* sur des cathéters.

LISTE DES TABLEAUX

- **Tableau 1** : principaux constituants de la matrice du biofilm.
- **Tableau 2**: Facteurs influençant l'attachement de cellules et la formation d'un biofilm D'après (Donlan, 2002).
- **Tableau 3** : Fréquence relative des microorganismes isolés dans les bactériémies nosocomiales à porte d'entrée potentiellement associée à un dispositif invasif.
- **Tableaux 4** : principales bactéries impliquées dans le développement des infections chroniques liées aux biofilms chez l'homme.
- **Tableau 5** : Facteurs favorisant parmi les cas de légionelloses survenus en France entre 2002 et 2005.
- **Tableau 6** : Fréquence des infections urinaires selon le type d'agents pathogènes rencontrés.
- **Tableau 7**: Liste de micro-organismes isolés à partir de biofilms formés sur des cathéters veineux centraux D'après (Donlan, 2008).
- **Tableau 8** : Verrous antibiotiques curatifs étudiés en clinique.
- **Tableau 9** : Liste non exhaustive des moyens de lutte spécifiquement actifs contre les biofilms.

LISTE DES ABREVIATIONS

- **ADN** : Acide désoxy-ribonucléique
- **AHL** : Acylhomosérines lactones
- **AFM** : Atomic Force Microscopy
- **ARN** : Acide ribonucléique
- **BPCO** : Bronchopneumopathie chronique obstructive
- **CAUTIs** : Catheter-Associated Urinary Tract Infections
- **CCI** : Cathéter à chambre implantable
- **CLSM** : Confocal Laser Scanning Microscopy
- **CMEB** : Concentration Minimale d'Eradication du Biofilm
- **CMI** : Concentration critique
- **CMIB** : Concentration Minimale Inhibitrice du Biofilm
- **CNRS** : Centre national de la recherche scientifique
- **CRP** : Protéine-C réactive
- **CV** : Crystal Violet
- **CVC** : Central venous catheter
- **CVP** : Central venous pressure
- **DMMB** : dimethyl methylene blue
- **EDTA** : Acide Ethylène Diamine Tétracétique
- **EPS** : Extracellular polymeric substances
- **ERO** : Espèces réactives d'oxygène
- **FDA** : Fluorescéine diacétate
- **IAS** : Infection associée aux soins
- **IMC** : Microcalorimétrie isotherme
- **INSERM** : Institut national de la santé et de la recherche médicale
- **IOAM** : Infections ostéo-articulaires sur matériel
- **IU** : Infections urinaires
- **IUSV** : Infection Urinaire sur Sonde Vésicale

- **LPS** : Lipopolysaccharide
- **MCBL** : Microscope confocal à balayage laser
- **MEB** : Microscopie électronique à balayage
- **MFA** : Microscopie à Force Atomique
- **NCCLS** : National Committee for Clinical Laboratory Standards
- **OMS** : Organisation mondiale de la santé
- **PAVM** : Pneumopathie acquise sous ventilation mécanique
- **PCT** : Procalcitonine
- **SAM** : S-Adenosyl Methionine
- **SFAR** : Société française d'anesthésie et de réanimation
- **SRLF** : Société de Réanimation de Langue Française
- **SSR** : Soins de Suite et de Réadaptation
- **STAMPs** : Specifically targeted antimicrobial peptides

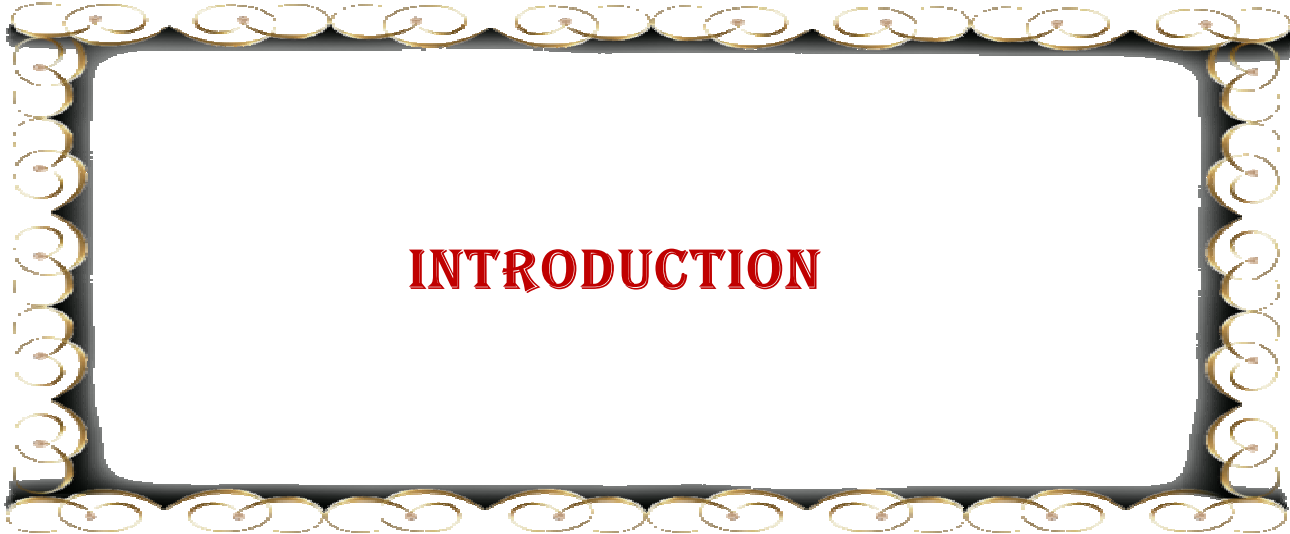


SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
I- HISTORIQUE ET DECOUVERTE DES BIOFILMS	4
II-QU'EST-CE QU'UN BIOFILM ET POURQUOI S'Y INTERESSER?	6
III-STRUCTURE DES BIOFILMS.....	7
1. Une grande diversité de biofilms :.....	8
2. Une organisation structurale commune.....	10
3-Une organisation stratifiée.....	10
4. Les principaux constituants du biofilm	11
IX-LE CYCLE DE VIE D'UN BIOFILM ET SA REGULATION	12
1-Les étapes de formation des biofilms :.....	13
a-Mise en place d'un film conditionnant	14
b-Transfert des cellules bactériennes vers la surface	14
c-Adhésion réversible et irréversible	15
d- Maturation :.....	17
e- Dispersion et détachement cellulaire	19
2-Facteurs favorisant la formation d'un biofilm :	21
a-Caractéristiques de la surface	21
b-Caractéristiques du milieu	21
c- Propriétés des cellules.....	21
3- les mécanismes régulateurs de la formation de biofilms	23
a- Le quorum sensing :	23
b-Régulation génétique par les cellules fixées	26

c- Les autres mécanismes régulateurs de la formation de biofilms comme les polysaccharides, le GMP-c et par l'acétyl phosphate et l'alarmone	26
4-Avantage confères par le mode de vie en biofilm	28
a-Avantage métabolique.....	28
b- Protection vis-à-vis des agressions de l'environnement	28
c-Transfert d'information génétique au sein du biofilm.....	29
V-BIOFILMS, CAUSE D'INFECTIONS CHRONIQUES	31
1-Interaction entre biofilms et le système immunitaire.....	31
2-Le biofilm face aux antibiotiques	32
3-Biofilms bactériens et risque infectieux : bactéries en cause, les virus aussi	38
VI-INFECTIONS ASSOCIES A DES BIOFILMS	43
1-Infections chroniques liées à la présence de biofilms. Etude de quelques exemples :.....	44
La mucoviscidose :.....	44
Biofilms et Infections associées aux plaies chroniques :	45
Biofilms de la plaque dentaire et caries dentaires :.....	46
Légionellose :.....	48
2- Biofilms et implants médicaux :	51
Biofilms et infections du tractus urinaire :	53
Biofilms associés aux cathéters vasculaires.....	57
Biofilms et valves cardiaques artificielles.....	60
Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique	60
Biofilms et les infections ostéo-articulaires sur matériel (IOAM).....	63
Biofilms et prothèses oculaires	65

VII-DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION A BIOFILM	67
1-Diagnostic indirect d'infection à biofilm, signes cliniques :	67
2-Les outils utilisés en laboratoire pour diagnostiquer les infections liées aux biofilms :	67
a-Procédures diagnostiques conventionnelles	68
b-Nouvelles méthodes de diagnostic :	70
3-Les méthodes d'études des biofilms :.....	73
a- Techniques destructives :	74
b-Techniques non destructives	79
VIII-STRATEGIE THERAPEUTIQUE POUR LUTTER CONTRE LES BIOFILMS.....	85
1- Les mesures préventives qui empêchent la formation des biofilms :85	
2- Traitements curatifs pour l'élimination des biofilms déjà formés :..88	
3-Les nouvelles approches antibiofilms : les apports de recherche actuels.....	91
CONCLUSION.....	104
RESUMES	107
BIBLIOGRAPHIE	111



«L'union fait la force», cette maxime bien connue pourrait résumer la stratégie communautaire de survie de nombreuses populations animales (fourmis, abeilles pour ne citer que deux exemples). Elle est également vraie dans le cas des microorganismes.

Les microorganismes ont été la première forme de vie sur notre planète. Ils rassemblent les bactéries (procaryotes) les levures, les algues, les champignons et les protozoaires. Ces êtres vivants sont ubiquitaires, colonisant sols, eaux douces et marines et atmosphère, et sont associés les uns aux autres par des relations adaptées à leurs besoins biologiques. Ils sont indispensables à l'homme et à l'environnement en contribuant aux grands cycles de la matière et en jouant un rôle essentiel dans presque tous les écosystèmes, naturels et humains. Dès qu'une surface est immergée dans un fluide, elle peut être colonisée par des microorganismes et être recouverte d'un biofilm.

Depuis plusieurs années, les biofilms sont la cible d'importantes recherches montrant que leurs propriétés biologiques sont aussi diverses que les organismes qui les constituent et qu'il existe une multitude d'environnements dans lesquels ils peuvent se développer. Ils peuvent se développer sur n'importe quel type de surface naturelle ou artificielle, qu'elle soit minérale (roche, interfaces air-liquide...), organique (peau, tube digestif des animaux, racines et feuilles des plantes), industrielle (canalisations, coques des navires) ou médicale (prothèses, cathéters, sondes urinaires...). Ce système, appelé « biofilm », s'avère une structure complexe formée grâce à l'agglomération des microorganismes, facilitée par les matières polymériques qu'ils excrètent. Au sein des biofilms, les micro-organismes sessiles développent des caractéristiques très différentes de celles des micro-organismes libres, planctoniques : mise en œuvre d'expressions génétiques spécifiques caractérisées par un changement radical de phénotype et par l'acquisition de propriétés spécifiques aux biofilms, notamment l'antibiorésistance et l'expression de facteurs de résistance à de nombreux stress environnementaux, utilisation de systèmes de communication chimique, modifications structurales, production d'exopolymères, etc. Ces modifications échappent aux méthodes d'investigation de la microbiologie traditionnelle en suspension.

Le mode de vie en biofilms offre de nombreux avantages pour la survie et la multiplication de l'écosystème bactérien mais pose de gros problèmes pour l'homme et ses activités industrielles. A titre d'exemple tous les secteurs de l'agroalimentaire peuvent être

touchés : laiteries, industries de transformation de la viande, brasseries, sucreries, etc...Car tout équipement non stérilisé abrite des micro-organismes pouvant démarrer un processus de colonisation notamment dans des zones peu accessibles au nettoyage et à la désinfection. Un biofilm peut se mettre en place en quelques heures, et permettre ainsi aux bactéries qui s'y trouvent de devenir résistantes aux agents extérieurs engendrant d'éventuelles contaminations (biofilms composés de bactéries pathogènes comme *Listeria* ou *Salmonella*).

L'ensemble des secteurs industriels est également confronté à la biodétérioration des matériaux sur lesquels s'installent les biofilms. Ce phénomène touche notamment les métaux (on parle alors de corrosion microbienne ou biocorrosion) les polymères ou les ciments. Il entraîne des pertes économiques importantes et des problèmes écologiques de par les traitements anti-biofilms appliqués.

En médecine, les biofilms ont une importance particulière car ils sont associés à des problèmes majeur de santé publique et impliqués dans un large éventail d'infections chez l'homme. Environ 65 % des infections sont dues à des biofilms dans les pays dits développés. Les biofilms sont aussi impliqués dans 60 % des infections nosocomiales et dans toutes les infections prothétiques [1]. Ces derniers peuvent se former à la surface ou à l'intérieur des dispositifs médicaux implantés dans l'organisme (lentilles de contact, cathéter veineux central, sonde endotrachéale, dispositifs intra-utérins, valves cardiaques artificielles, pacemakers, cathéters de dialyse péritonéale, sondes urinaires, prothèses vocales...) ou encore les muqueuses du corps humain.

Les infections à biofilms sont résistantes aux traitements antibiotiques, et posent de sérieux problèmes en matière de santé publique. Certaines maladies peuvent même favoriser la formation de biofilms, comme nous le verrons avec l'exemple de la mucoviscidose.

Etudier la complexité des biofilms exige un travail transversal utilisant des compétences liées à de nombreux domaines complémentaires : microbiologie, biologie, chimie des solutions, physico-chimie des surfaces, géologie, hydrologie, sciences des matériaux, etc.

Au préalable, on présentera la physiologie des biofilms ainsi que les exemples de biofilms les plus fréquemment rencontrés dans le milieu médicale, puis on étudiera les

méthodes de diagnostic et d'analyse des biofilms. Enfin la dernière partie sera réservée aux principales stratégies thérapeutiques utilisées pour lutter contre ces biofilms.

I- HISTORIQUE ET DECOUVERTE DES BIOFILMS

D'après les recherches les plus récentes, les bactéries seraient apparues sur Terre il y a environ 3,6 milliards d'années, soit bien avant l'apparition de l'homme lui-même, il y a environ 100 000 années. L'homme ne se doutait pas de l'existence même des micro-organismes jusqu'au 17^{ème} siècle, lorsqu'Antonie van Leeuwenhoek (1632-1723) a développé le premier microscope. Il a visualisé et illustré graphiquement des «animalcules» (bactéries) trouvées dans sa propre plaque dentaire [2].

En 1884, Robert Koch a décrit une méthode pour identifier un micro-organisme en tant que cause de maladie [3]. Les micro-organismes ont été beaucoup étudiés en suspension dans un liquide homogène ou par culture sur un milieu de culture solide (en boîte de Pétri), ce qui offre une vue très partielle de la vie microbienne dans la nature.

Claude E. Zobell (1904-1989), considéré comme le père de la microbiologie marine, démontra vers 1936 que les surfaces solides sont bénéfiques au développement des bactéries lors de leur conservation dans un milieu nutritif dilué. En 1943, il montra que de très faibles quantités de nutriments organiques s'adsorbent sur le verre et que cette concentration de matière organique favorise la formation de communautés bactériennes fixées sur les surfaces [4].

Plus récemment, des observations microscopiques quantitatives démontrent que plus de 99,9% des micro-organismes se développent sous forme de communautés agrégées "sessiles", c'est-à-dire, attachées à une surface, plutôt que comme "planctoniques" ou flottant dans le milieu [5]. Les micro-organismes se fixent sur des surfaces (vivantes ou non vivantes), forment des « tapis » qui conduisent à la colonisation totale de la surface. Ces tapis bactériens constituent des « biofilms ».

Cette notion a été proposée en 1976 par William Costerton, directeur du « Center for Biofilm Engineering » de l'Université d'État du Montana. Depuis ces premières études, la définition du terme biofilm a constamment évolué selon l'avancement des différents travaux réalisés.

En 1989, Characklis définit les biofilms comme étant une association de micro-organismes inclus dans une matrice composée d'exopolymères et généralement attachés à la surface de divers matériaux (plastiques, métaux, particules, tissus vivants, etc.). En 1995, Bourion décrivait les biofilms comme une communauté microbienne protégée par une matrice fibreuse de polymères extracellulaires et immobilisée sur une surface.

Plus tard, en 2003, Bosgiraud définit les biofilms comme des structures organisées permettant de nombreuses communications intercellulaires, afin d'assurer un équilibre et un mode de vie coopératif entre les micro-organismes composant les biofilms.

Aujourd'hui les biofilms sont décrits comme un ensemble de micro-organismes, adhérant entre eux ou à une interface solide-liquide, liquide-gaz et entourés d'une matrice hautement hydratée contenant en majorité des sucres, lipides, protéines, acides nucléiques extracellulaires et des matières minérales comme des sels .

En 2006, Allwood et al, ont annoncé dans le journal « Nature » que les stromatolithes, qui résultent de l'activité biologique de cyanobactéries, sont une forme de biofilm composés de micro-organismes, et qu'ils ont été à l'origine de la création de structures de pierre depuis des milliards d'années. Ces « pierres vivantes » étaient, à cette époque, la source unique d'oxygène dans l'atmosphère et donc source de vie sur notre planète (Figure 1) [6].



Figure 1 : Stromatolithes en forme de biofilm [6].

II-QU'EST-CE QU'UN BIOFILM ET POURQUOI S'Y INTERESSER?

Il est maintenant communément admis que le biofilm est la forme de développement la plus répandue dans l'environnement pour l'ensemble des micro-organismes. La forme planctonique ne serait qu'une étape transitoire avant la colonisation de nouvelles surfaces. Ce qui donne que le biofilm est le mode de vie normal et majoritaire des microorganismes contrairement aux idées reçues. Alors les recherches sur les bactéries devraient donc s'intéresser à ce type de structure plutôt que les formes planctoniques. Une simple recherche de publications avec le mot clé « biofilms » montre que les recherches sur les biofilms ont vraiment débuté à exploser qu'à partir des années 2000, avec la réalisation des premières images CLSM (Confocal Laser Scanning Microscopy) de biofilms vivants par Lawrence et al. Une augmentation de plus de 12 % par an (avec 3246 publications en 2010)[7].

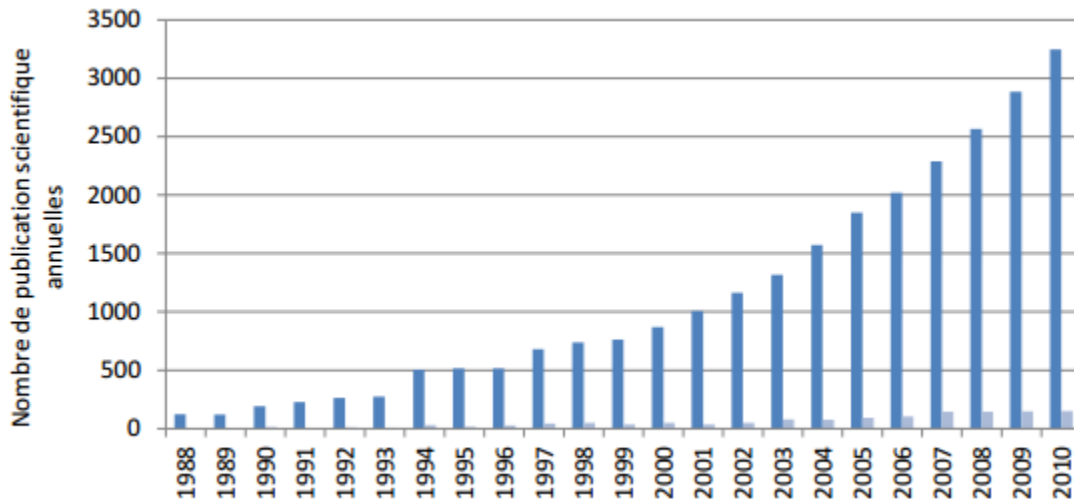


Figure 2: Nombre annuel de publication scientifique sur la thématique biofilms entre 1988 et 2010[8].

Depuis les premières études, la définition du terme biofilm a constamment évolué selon l'avancement des différents travaux réalisés. Actuellement, une définition communément admise pour les biofilms est celle établie en 2002 par Donlan et Costerton[9] : « Un biofilm est une communauté microbienne sessile caractérisée par des cellules adhérentes de manière irréversible à un substrat, une interface ou entre elles, enrobées d'une matrice de substances polymériques extracellulaires (EPS pour « extracellular polymeric substances ») auto-sécrétées et qui présentent un phénotype particulier en terme de taux de croissance et de transcription de gènes. »

III-STRUCTURE DES BIOFILMS

Dans les conditions naturelles, les bactéries existent sous deux formes :

- Forme végétative (métaboliquement active)
- Forme sporulée (métaboliquement inactive)

La forme végétative peut se diviser en deux :

- Phénotype panctonique (dans un laboratoire) in vitro, libre :
Seulement 1% du mode de vie dans la nature

- Sensible au nettoyage, aux antibiotiques, aux antiseptiques
- Sensible au système de défense immunitaire non spécifique et spécifique
- Phénotype biofilms (dans la nature) in vivo ; sessile :
 - 99% du mode de vie dans la nature
 - Résistant au nettoyage, aux antibiotiques, aux antiseptiques
 - Résistant au système de défense immunitaire non spécifique et spécifique

Le passage d'un mode de vie libre à sessile est un processus dynamique et complexe. Ce mode de vie en biofilm permet à des colonies de bactéries de persister à un endroit donné, sans proliférer. Il confère à la communauté bactérienne une véritable protection contre un certain nombre de stress environnementaux comme la dessiccation ou encore l'action d'agents antimicrobiens. Un biofilm a la capacité de devenir résistant aux réponses immunitaires innée et acquise de l'hôte. Les traitements antimicrobiens à des concentrations classiques d'utilisation ne permettent pas l'éradication des biofilms. L'étude de la structure des biofilms et des mécanismes de leur dynamique de formation a donc un intérêt dans la recherche concernant les moyens de lutte contre les biofilms [10].

1. Une grande diversité de biofilms :

Le terme de biofilm pourrait laisser entendre qu'il s'agit d'une simple couche de micro-organismes déposée sur une surface. Les biofilms sont très hétérogènes, dans le temps et dans l'espace. Ils sont constamment remodelés, suite à l'influence permanente de facteurs endogènes et exogènes. Ils présentent une grande diversité aussi bien au niveau structural (une ou plusieurs espèces de micro-organismes au sein du biofilm, épaisseurs diverses) qu'au niveau des supports colonisés [11].

Un biofilm peut être constitué d'une ou de plusieurs espèces de micro-organismes : on parle respectivement de biofilms homogènes ou de biofilms hétérogènes. La plupart des biofilms rencontrés sont hétérogènes. La présence d'une espèce de micro-organisme ou d'une autre au sein du biofilm dépend des conditions environnementales. Par exemple, les biofilms éclairés par la lumière du soleil sont composés majoritairement d'organismes phototrophes, comme les algues ou les cyanobactéries, réalisant la photosynthèse et produisant leur

biomasse à partir de carbone minéral. Les biofilms formés en absence de lumière sont constitués principalement de bactéries hétérotrophes (dégradation de la matière organique) et chimiotrophe (transformation de substances minérales) [12].

Les biofilms peuvent se former sur des surfaces, biologiques ou inertes, d'une grande diversité : tissus vivants, appareillage médical (sonde, cathéter, broches...), système de canalisation industriel ou d'eau potable, surfaces immergées... Les propriétés physiques et chimiques de la surface jouent un rôle dans les mécanismes de formation du biofilm.

Selon le type de support sur lequel se forme le biofilm, l'organisation structurale de ce dernier sera différente. Un biofilm fixé dans la lumière d'une canalisation a une structure très complexe, et contient divers composants : produits issus de réactions de corrosion, boue, algues unicellulaires et bactéries filamenteuses. Un biofilm formé à la surface d'un cathéter a une organisation plus simple : on distingue des micro-colonies de coques associées à une matrice d'exopolymères [13].

Tous les biofilms n'ont pas la même épaisseur. Les biofilms des eaux naturelles oligotrophes sont plus fins que ceux des milieux aqueux riches comme la plaque dentaire ou les cathéters. Les biofilms récemment formés sont souvent monocouches, à l'inverse des biofilms plus anciens qui sont stratifiés.

L'architecture du biofilm dépend des conditions nutritives, ce qui suggère une facilité de remodelage des biofilms. De bonnes conditions nutritives sont nécessaires aux étapes de formation du biofilm, alors que les phases de développement tardif sont possibles dans des conditions nutritives moins bonnes [14].

Alors l'hétérogénéité des biofilms se décline à plusieurs niveaux :

- Hétérogénéité géométrique : épaisseur, rugosité de la surface et porosité du biofilm, surface du substratum recouverte par le biofilm microbien.

- Hétérogénéité chimique : diversité des solutés chimiques (nutriments, produit métaboliques, inhibiteurs...), variations de pH, diversité de réactions (aérobies/anaérobies, etc.).

- Hétérogénéité biologique : diversité des espèces microbiennes et de leurs

Distributions spatiales, différences d'activité (croissance cellulaire, production de substances polymériques extracellulaires, mort cellulaire, etc.).

- Hétérogénéité physique : densité du biofilm, perméabilité, viscoélasticité, viscosité, propriétés des substances polymériques extracellulaires, force du biofilm, concentration en solutés, diffusivité des solutés, présence de solides abiotiques.

2. Une organisation structurale commune

Les biofilms sont hétérogènes d'un point de vue structural. Ils se forment sur des supports variés, ont des épaisseurs différentes et sont formés par des espèces variées de microorganismes. De cette diversité on peut néanmoins dégager certaines caractéristiques structurales communes à tous les biofilms. Un biofilm est constituée d'une fine monocouche de cellules à sa base (fixées à la surface du substrat), surmontée de plusieurs couches épaisses de cellules enfermées dans une matrice et reliées par des canaux aqueux. Il s'agit d'une organisation spatiale stratifiée, permettant des échanges (informations, nutriments...) et une coopération entre micro-organismes [14,11].

3-Une organisation stratifiée

La couche la plus profonde du biofilm est constituée par les cellules qui se sont fixées en premier. Ces cellules sont petites, leur métabolisme est anaérobie et leur croissance est lente. La couche superficielle du biofilm est constituée de grandes cellules en aérobiose et à croissance rapide. Entre ces deux couches de cellules, on trouve des cellules en microaérobiose. L'organisation stratifiée des biofilms s'explique par l'existence de gradients de nutriments, d'ions... Les nutriments présents dans le milieu extérieur diffusent en plus grande quantité dans les couches superficielles du biofilm. Plus on avance vers les couches profondes du biofilm, moins la diffusion est efficace et plus les concentrations en éléments nutritifs sont basses. Ces gradients permettent d'expliquer la présence de zones de croissance différentes des micro-organismes [15].

Des simulations tridimensionnelles réalisées par informatique ont permis de montrer que les zones de croissance rapide du biofilm sont caractérisées par la présence de larges structures en colonnes contrairement aux zones de croissance réduite où l'on trouve un réseau étroit de structures entraînant ainsi une réduction des communications intercellulaires et de la croissance du biofilm [10].

Au sein du biofilm, les micro-organismes morts ou lysés sont réutilisés comme nutriments : on parle de « cannibalisme ». L'ADN libéré lors de la mort programmée de certains micro-organismes du biofilm aurait un rôle structural dans la stabilité des biofilms [15].

4. Les principaux constituants du biofilm

Les constituants essentiels d'un biofilm sont les micro-organismes agglomérés et la matrice qu'ils synthétisent. Les micro-organismes représentent 2 à 15 % du matériel du biofilm alors que la matrice extracellulaire représente 50 à 90 % de la masse organique carbonée d'un biofilm. [16].L'organisation d'un réseau de canaux aqueux au sein du biofilm permet l'acheminement de l'oxygène et des nutriments entre les microcolonies et vers les régions les plus enfouies, ainsi que l'évacuation des déchets. Toutefois, un gradient de nutriments et d'oxygène existe depuis la surface vers la profondeur du biofilm, où l'environnement devient plus propice aux organismes évoluant en anaérobiose. Ainsi, l'état métabolique d'une bactérie au sein du biofilm peut être directement dépendant de sa localisation à l'intérieur de la structure [10,17].

Le rapport C/N (carbone /azote) d'un biofilm est cinq fois plus élevé que pour une suspension de bactéries planctoniques, ceci étant dû à la prédominance de la matrice .Cette matrice est fortement hydratée et est formée essentiellement des exopolysaccharides (EPS).L'expression « substances polymériques extracellulaires » regroupe différentes classes de macromolécules présentes à l'intérieur des biofilms : des polysaccharides, des protéines, des acides nucléiques, des lipides et d'autres macromolécules dites substances humiques (ce sont essentiellement les sécrétions de haut poids moléculaire) ainsi que les produits des lyses cellulaires et de l'hydrolyse de macromolécules. Des composants inorganiques ont été également trouvés dans la matrice extracellulaire (Tableaux 1).

La composition des EPS est très différente d'un biofilm à l'autre. Elle dépend de la nature des microorganismes présents dans le biofilm, de l'âge du biofilm et des différents facteurs environnementaux comme les forces hydrodynamiques, la température et la disponibilité de nutriments et leur nature [15].

Tableau 1 : principaux constituant de la matrice du biofilm [16].

Component	% of matrix 2001)
Water	up to 97%
Microbial cells	2-5% (Many species)
Polysaccharides (homo- and heteropolysaccharides)	1-2% (Neutral and polyanionic)
Proteins (extracellular and resulting from lysis)	<1-2% (Many, including enzymes)
DNA and RNA	<1-2% (From lysed cells)
Ions	? (Bound and free)

La matrice d'exopolysaccharides joue un rôle structural important, ces propriétés physico-chimiques sont variables d'un biofilm à l'autre. Sa très forte teneur en eau, due à sa capacité à fixer un grand nombre de molécules d'eau par des liaisons hydrogène, permet à certains biofilms de lutter contre la dessiccation dans le milieu naturel, les substances bactéricides mais aussi contre les bactériophages, il joue aussi un rôle majeur dans les propriétés de résistance aux biocides des biofilms, en se liant directement aux agents antimicrobiens et en les empêchant de pénétrer au sein du biofilm [9,13].

IX-LE CYCLE DE VIE D'UN BIOFILM ET SA REGULATION

Le cycle de mise en place d'un biofilm peut être considéré comme un équilibre dynamique entre les phénomènes qui tendent à en augmenter l'épaisseur (multiplication des cellules qui le composent ou agrégation de nouveaux organismes planctoniques, en suspension) et les phénomènes qui tendent à en réduire l'épaisseur (mécanismes de détachement) [18].

L'étude de ce phénomène est complexe et relève de l'interdisciplinarité : microbiologie, génétique, physico-chimie de surface... L'approche par la génétique et la biologie moléculaire a permis un grand progrès dans la compréhension des mécanismes de formation et de développement des biofilms [19,20].

Ce mécanisme est caractérisé par une modification de l'expression génétique et par un changement de phénotype des micro-organismes concernés. L'activation de nombreux groupes de gènes (10^3) en quelques minutes régule cette permutation de mode de vie [21].

Trois critères influencent la formation d'un biofilm :

- Le phénotype et le métabolisme bactérien
- Le type et l'état de surface
- L'environnement physico-chimique et biologique [22].

1-Les étapes de formation des biofilms :

Les différentes études montrent que les biofilms se forment de la même manière quel que soit l'environnement qu'ils colonisent. La formation du biofilm est composée de cinq étapes; qui sont les suivantes [23, 24,25] :

- a. Mise en place d'un film conditionnant
- b. Transfert des cellules bactériennes vers la surface
- c. L'adhésion réversible et irréversible des microorganismes sur la surface conditionnée.
- d. La croissance, la colonisation et la maturation sur la surface.
- e. Dispersion, détachement cellulaire

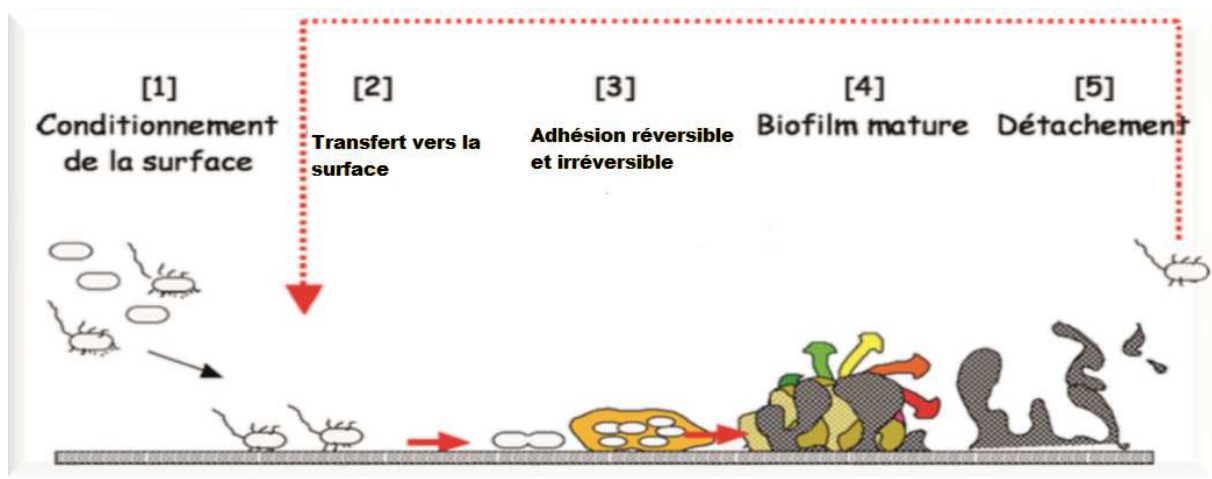


Figure 3: Cycle de développement simplifié d'un biofilm d'après Ghigo 2003[26]

a-Mise en place d'un film conditionnant

Cette étape est rapide, elle a lieu quelques minutes après l'exposition d'une surface propre à un fluide contenant des micro-organismes. Avant qu'une surface ne soit exposée dans un milieu liquide, elle est chargée soit négativement ou positivement. Après l'exposition au milieu, la surface acquiert des molécules de charges différentes. Elle adsorbe également des molécules de faible poids moléculaire, des molécules hydrophobes, des polysaccharides complexes, des glycoprotéines, des lipides, des composés humiques pouvant être utilisés par les bactéries. Ce film est qualifié de conditionnant car il peut modifier les propriétés de surface initiales du matériau ce qui a pour conséquence soit de prévenir l'approche des bactéries soit au contraire de créer un micro-environnement favorable à l'adhésion stable des bactéries [18].

b-Transfert des cellules bactériennes vers la surface

Le transfert des bactéries vers la surface est le résultat des phénomènes de nature physicochimique et biologique.

Plusieurs facteurs physiques peuvent expliquer ce transfert :

- les mouvements browniens ou transport diffusif
- la sédimentation, qui est liée à la différence de gravité entre la cellule bactérienne et le fluide dans lequel elle se trouve
- le transport convectif, dû aux caractéristiques hydrodynamiques du fluide environnant (régime statique, turbulent ou laminaire). Ce type de transport semble être particulièrement important pour l'attachement des cellules. Un régime d'écoulement turbulent favoriserait l'adhésion en augmentant la probabilité de la rencontre entre une cellule bactérienne et une surface [18].

Le facteur biologique prédominant dans la phase de transfert est la chimiotaxie. Le chimiotactisme est l'ensemble des mouvements flagellaires d'une cellule dépendant d'un gradient de concentration d'une molécule donnée cette concentration détectée au niveau de récepteurs chimiotactiques va jouer sur le sens de rotation du moteur du flagelle. La mobilité flagellaire joue par ailleurs un rôle essentiel dans l'initiation de la plupart des biofilms permettant entre autre de surmonter les forces de répulsion existant entre la cellule et la

surface à coloniser ,et peut aussi contribuer à l'adhésion cellulaire en augmentant la probabilité de contact entre la cellule et la surface [27,28 ,29].

La transition entre l'état planctonique et sessile nécessite aussi des changements physiologiques. Le Cyclique (5-3) monophosphate -diguanosine (c-di-GMP) est un message intracellulaire qui joue un rôle clé dans la transition. En effet, il fonctionne comme un messager secondaire en réponse à des signaux extracellulaire et régule les comportements multicellulaires, la mobilité et la virulence de nombreuses espèces bactériennes .La forte concentration en C-d-iGMD coïncide avec une augmentation de l'adhésion, liée à une induction de la synthèse des fimbriae et de la capsule, et une réduction de la mobilité par diminution de synthèse et de la rotation des flagelles [27,30].

Il faut cependant savoir que les bactéries utilisent différentes approches pour former les biofilms. Certaines bactéries formant des biofilms ne possèdent pas de flagelles comme *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*.

L'absence de flagelles est compensée par l'existence d'autres molécules adhésives, comme les curli, permettant l'attachement de la bactérie à la surface. Certaines bactéries sont capables d'établir un contact avec une surface par des mécanismes de signalisation et d'exprimer par la suite des adhésines à leur surface. Ce mécanisme est appelé « **Quorum sensing** » [31].

c-Adhésion réversible et irréversible

Une fois que les microorganismes sont installés, le processus d'adhésion microbienne aux surfaces est conditionné par un certain nombre de facteurs, y compris les espèces de bactéries, la composition de la surface des cellules, la nature des surfaces, la disponibilité des éléments nutritifs, les conditions hydrodynamiques, la communication Quorum Sensing. Il y a plusieurs hypothèses proposées pour décrire le mécanisme d'adhésion et qui ont le même axe d'interprétation [32, 33,34].

Zobell montre que l'adhésion est composée de deux étapes alternatives: l'adhésion réversible fait intervenir un processus physicochimique et constitue une étape non spécifique, et l'adhésion irréversible fait intervenir un phénomène biologique et constitue une étape spécifique [35].

Lorsque les microorganismes arrivent à faible distance de la surface (de nanomètres à quelque dizaine de mètres) l'adhésion fait intervenir différentes types d'interactions que l'on pourrait classer en interaction électrostatique et non électrostatique qui sont des interactions faibles entre la surface et les bactéries (interactions de type van der Waals et acido basique ; liaison covalentFigure 4). A ce stade, la bactérie peut désorber de la surface et retrouver son état planctonique. La théorie DVLO (Dejarguin et Landau 1941, Verwey et Overbeek 1948) prend en compte la variation d'énergie entre l'énergie d'attraction due aux interactions dipolaires intermoléculaires et l'énergie de répulsion générée par la double couche d'ions chargés formée en surface en fonction de la distance entre deux particules . La somme des deux énergies donne l'énergie totale d'interaction [34].

L'adhésion irréversible, quant à elle, correspond à une fixation active et spécifique des micro-organismes sur une surface. Grace aux structures d'adhésion qui varient selon les types de micro-organismes concernés. Pour les bactéries à Gram-négatif, il s'agit des pili, des curli, des capsules et du glycocalix. Pour les bactéries à Gram-positif, ce sont les acides teichoïques, l'acide mycolique, la capsule et le glycocalix. Ces molécules d'adhésion permettent d'établir des liens cellule-surface et des contacts cellule-cellule [36].Et aussi grâce à la sécrétion d'exopolymères par les bactéries permettant de consolider leur fixation sur la surface. Ces liens nécessitent une action mécanique ou chimique pour être brisés La synthèse des EPS, qui débute dès les premières étapes d'adhésion, se poursuit pendant la maturation du biofilm et la matrice peut alors occuper jusqu'à 75-95 % du volume d'un biofilm mature [37].

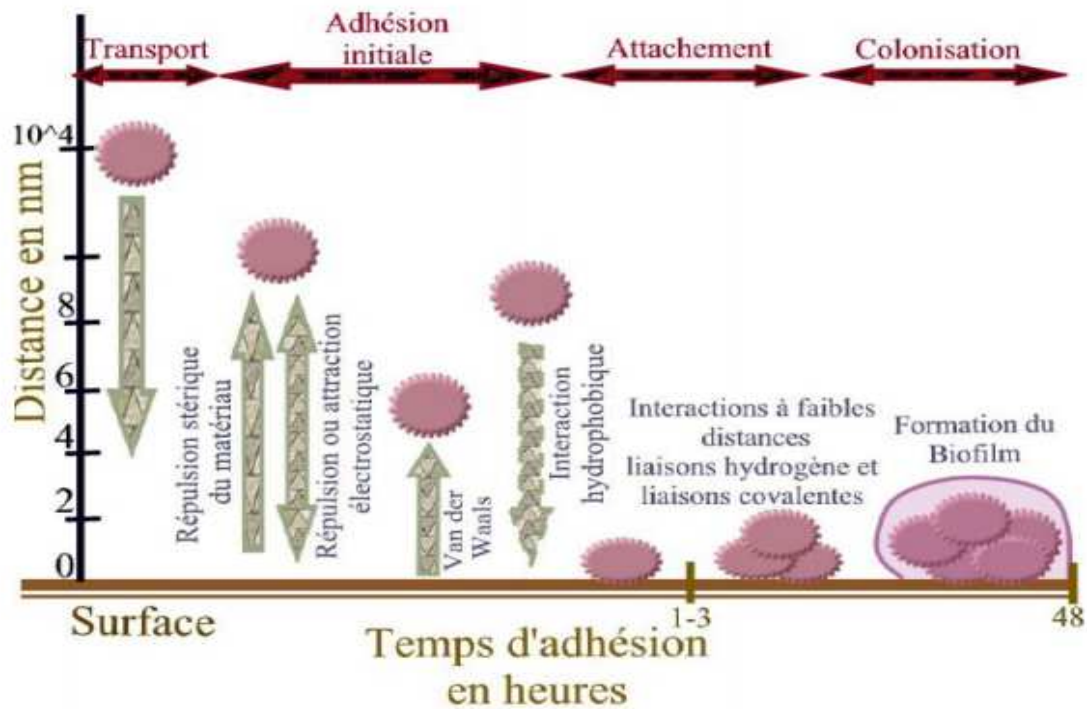


Figure 4 : présentation schématique des forces et interactions pouvant être mise en jeu lors de la formation d'un biofilm (D'après L.Ploux r2007) [38]

d- Maturation :

Dès que l'attachement au substrat devient irréversible, le biofilm entame des phases de croissance et de maturation, sa multiplication conduit à la formation de colonies qui vont recouvrir toute ou une partie de la surface selon les propriétés de surface des bactéries et des matériaux. La structure du biofilm dépend des conditions environnementales telles que la source de carbone ou le régime hydrodynamique [39].

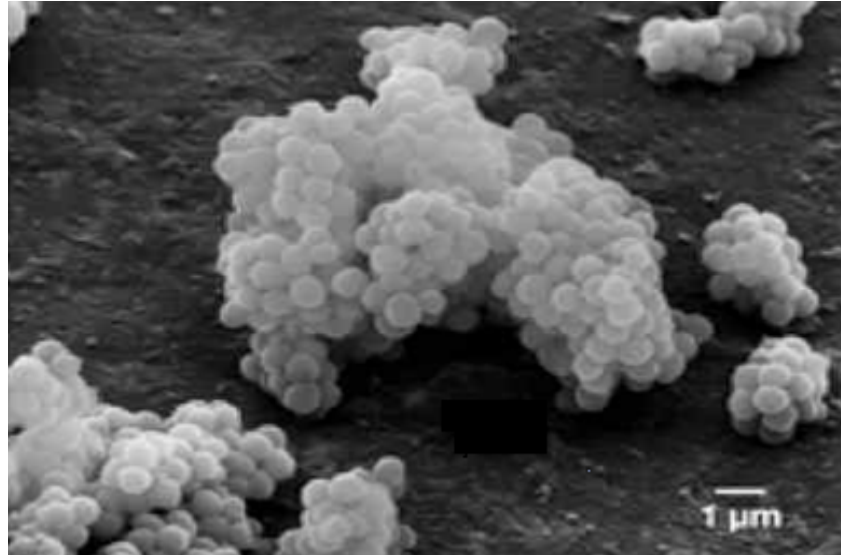


Figure 5 : Micro-colonie d'un biofilm de *staphylococcus sciuri* après croissance à la surface d'un tapis.

De nombreuses molécules d'eau sont associées aux exopolymères rendant la matrice du biofilm hautement hydratée, visqueuse et élastique, Seuls 1 à 2 % de matières organiques sont nécessaires pour lier 98 à 99 % d'eau et former un gel stable [9].

La maturation du biofilm est divisée en deux phases. La première phase est marquée par des régulations de gènes engendrant un changement marqué de phénotype par rapport aux formes planctoniques. Elle concerne essentiellement des gènes codant pour des protéines impliquées dans des métabolismes anaérobies, cela suggère la faible présence d'oxygène, surtout dans les zones les plus proches du support, Soixante-dix gènes subiraient des modifications au cours de la maturation d'un biofilm. La seconde phase de maturation du biofilm est marquée par des synthèses polymériques/protéiniques importantes. Durant cette phase le biofilm a une croissance exponentielle se traduisant par une augmentation importante de son épaisseur jusqu'à former un film hétérogène tridimensionnel [10,40].

Cette architecture complexe du biofilm se met en place avec la formation de canaux aqueux et des pores entre les micro-colonies permettant l'acheminement d'oxygène et de

nutriments nécessaires à la croissance de micro-organismes, ainsi l'évacuation des produits issus du métabolisme bactérien [20,41].

Toutes ces transformations sont coordonnées grâce à un système de communication entre les bactéries au sein du biofilms appelé le **quorum sensing**.

Lors de la maturation du biofilm les évènements de mort et de lyses cellulaires localisées sont fréquents. Ils apportent des nutriments au reste de la population mais aussi à l'ADN, qui est un composant structurel essentiel du biofilms. Ces évènements participent aussi au développement et à la dispersion du biofilm [40,41].

e- Dispersion et détachement cellulaire

Malgré les nombreux bénéfices apportés aux cellules bactériennes par l'état biofilm, le détachement s'avère nécessaire. Lorsque l'épaisseur maximale du biofilm est atteinte, le biofilm subit des phénomènes de dispersion. Lors de cette phase, des formes planctoniques sont relarguées dans le milieu extérieur. Cette libération permet de promouvoir une diversité génétique et de favoriser la colonisation de nouvelles niches écologiques engendrant la formation d'autres biofilms [42,10].

La dispersion peut s'effectuer passivement via l'action de stress hydrodynamique ou activement. Le détachement passif d'un groupe de cellules se fait par l'action de flux ou de forces de cisaillement selon trois modes : soit érosion (détachement continu de cellules individuelles ou de petits agrégats), relargage (détachement massif et rapide de quantités importantes de bactéries), ou par abrasion (détachement par collision de particules).



Figure 6 : Détachement superficiel du biofilm [140]

La libération active de cellules d'un biofilm se fait en réponse à certains signaux environnementaux comme l'accumulation de déchets métaboliques toxiques ou la carence en carbone, azote ; oxygène ainsi que l'appauvrissement du milieu en nutriments [43]. Le détachement actif des cellules d'un biofilm est réalisé par différents mécanismes affectant soit l'intégrité de la matrice extracellulaire via la libération d'enzymes extracellulaires ou autres molécules, soit la physiologie de cellules elle-même par modification de leurs propriétés de surface ou par réactivation de leur fonction de mobilité comme les flagelles. Ceci ne peut se faire que par détachement actif du à des remaniements de l'expression de certains gènes spécifiques [44].

Les formes planctoniques ainsi libérées peuvent conserver des caractéristiques des bactéries du biofilm, comme l'antibiorésistance. En effet, les bactéries planctoniques essaimant d'un biofilm sont capables de résister aux défenses immunitaires d'un hôte et être à l'origine d'une infection [9].

La formation d'un biofilm est un phénomène complexe, sous l'influence de nombreux facteurs ; caractéristiques du substrat sur lequel les bactéries vont se fixer, caractéristiques du milieu et propriétés de la surface des cellules. Les propriétés physico-chimiques des deux surfaces en présence (la bactérie et le support solide) sont particulièrement déterminantes dans le processus d'adhésion microbienne.

2-Facteurs favorisant la formation d'un biofilm :

a-Caractéristiques de la surface

Plus une surface est rugueuse, plus la colonisation de cette surface par des micro-colonies est importante. Les surfaces rugueuses sont colonisées de façon préférentielle car les forces répulsives sont moindres et la surface de fixation est augmentée. Néanmoins, certaines souches sauvages de bactéries colonisent aussi des surfaces lisses [9,13].

Les propriétés physico-chimiques de la surface peuvent exercer une influence sur le taux d'attachement et sur son ampleur : d'une part l'hydrophobicité, les micro-organismes se fixent plus facilement à des surfaces hydrophobes et non polarisées que sur des matériaux hydrophiles comme le verre ou les métaux et, d'autre part la présence d'un film protéique. En effet, la présence préalable sur un biomatériau d'un film protéique comme le sang, les larmes, l'urine, la salive, le liquide interstitiel et les sécrétions respiratoires influence l'attachement de bactéries à sa surface, et favorise la formation de biofilms. Alors ce film organique masque en partie ou totalement les propriétés initiales de la surface et augmente l'adhésion ou au contraire la diminue [45,46].

b-Caractéristiques du milieu

La formation et la dispersion d'un biofilm nécessitent des équipements enzymatiques précis et des entités structurales particulières, dont l'activation dépend de facteurs environnementaux clés. On peut citer les facteurs suivants [47,48] : température, pH (conditions optimales de formation de biofilms en situation de neutralité), concentration en oxygène, concentration en fer, osmolarité, présence d'ions spécifiques, sources de carbone disponibles, concentrations en nutriments : dans un milieu statique, La concentration en nutriments doit être élevée pour qu'il puisse y avoir formation d'un biofilm ; ce n'est pas le cas pour un milieu hydrodynamique [49].

c- Propriétés des cellules

L'hydrophobicité de la surface de la cellule, la présence de fimbriae et de flagelles, et la production d'exopolysaccharides influencent l'attachement des bactéries sur une surface. L'hydrophobicité de la surface bactérienne joue un rôle important dans la formation des

biofilms. L'hydrophobicité est une propriété inter-faciale directement liée à l'énergie de surface de Gibbs, qui est la somme nette des interactions attractives de van der Waals et des interactions électrostatiques [50]. Une augmentation de l'hydrophobicité de la surface cellulaire créera une diminution équivalente dans l'excès de l'énergie de surface de Gibbs. Cela favorise l'interaction cellule-cellule qui constitue par la suite une force motrice pour l'agrégation bactérienne hors de la phase aqueuse [51].

Plusieurs éléments structuraux des bactéries interviennent dans leur attachement à une surface : flagelles, fimbriae, polysaccharides... Il peut y avoir des compétitions ou des coopérations entre cellules lorsque plusieurs espèces de bactéries sont concernées. Les polymères apolaires situés à la surface des cellules comme les fimbriae, certaines protéines, et les acides mycoliques (composants de certaines bactéries Gram positifs) semblent s'attacher de façon prédominante à des surfaces hydrophobes. Les exopolysaccharides et les lipopolysaccharides sont plus importants dans les mécanismes d'attachement à des surfaces hydrophiles [13].

La synthèse de fimbriae de type I par des bactéries est un processus complexe gouverné par les statuts nutritionnels des cellules (il y a stimulation de la synthèse s'il y a un déficit carboné ou en acides aminés chez les souches uropathogènes *d'Escherichia coli*) et par les conditions environnementales (il n'y a pas de synthèse si pH bas, température basse ou forte osmolarité) [52].

L'expression des curli est sous le contrôle de cascades de phosphorylation. Les conditions environnementales répriment ou stimulent l'expression de gènes codant pour des caractères de motilité. La synthèse de curli est stimulée dans les conditions environnementales suivantes: faible osmolarité, basse température, faible disponibilité du milieu en azote, phosphate et fer; microaérophilie et croissance ralentie [52].

Tableau 2: Facteurs influençant l'attachement de cellules et la formation d'un biofilm D'après (Donlan, 2002) [13] :

Propriétés du substrat	Propriétés du milieu aqueux environnant	Propriétés des cellules
Texture, rugosité, présence d'aspérités	Vitesse du flux, présence d'un flux laminaire ou non	Hydrophobicité de la surface des cellules
Hydrophobicité	pH	Présence de fimbriae
Présence préalable d'un film protéique recouvrant la surface	Température	Présence de flagelles
	*Cations (Ca ²⁺ , Na ²⁺ , Fe ³⁺ ...) *[Fer], [nutriments] *Sources de carbone disponibles *Disponibilité du milieu en oxygène	Rôle des structures polymériques extracellulaires d'exopolysaccharides
	Présence d'agents anti-microbiens	

3- les mécanismes régulateurs de la formation de biofilms

Au sein d'un biofilm, les micro-organismes communiquent entre eux par des signaux de cellules à cellules. Ces derniers, appelés « quorum sensing », jouent un rôle important dans le développement et la régulation de la formation des biofilms.

a- Le quorum sensing :

La formation d'un biofilm est contrôlée par des mécanismes de quorum sensing. Il s'agit de mécanismes de contrôle ayant lieu au sein des cellules, optimisés par des signaux de cellules à cellules, et dépendant de leurs quantités: on parle de mécanismes de perception du quorum. Ces mécanismes sont basés sur le principe de masse critique [53]. Une fois que les signaux atteignent une valeur seuil (valeur critique), des régulateurs transcriptionnels sont activés et exercent un contrôle sur des gènes spécifiques [54]. Ces mutations de gènes

impliqués dans les mécanismes de quorum sensing entraînent des répercussions sur les stades tardifs de formation des biofilms. Ces gènes exercent un contrôle sur une grande partie de l'expression du transcriptome et du protéome, avec un contrôle de l'expression de facteurs de virulence comme les protéases par exemple [53].

➤ **Les molécules impliquées dans le quorum sensing**

Il existe plusieurs classes de molécules du quorum sensing comparées très souvent dans leur action aux hormones, qui se différencient selon les types de bactéries. En général, on trouve des acylhomosérines lactones (AHL) chez la plupart des bactéries Gram-négatives.

La majorité des bactéries Gram-positives utilisent des peptides auto-inducteurs, dont la taille est très variable (de 5 à 87 acides aminés). Un dernier type de molécules a été mis en évidence par Bassler et al. (1994), mais sa structure n'a été connue qu'en 2001 il s'agit d'une furanone (ou AI-2) qui permettrait une communication inter-espèces, contrairement aux deux autres qui se limitent à l'intra-espèce [54,55].

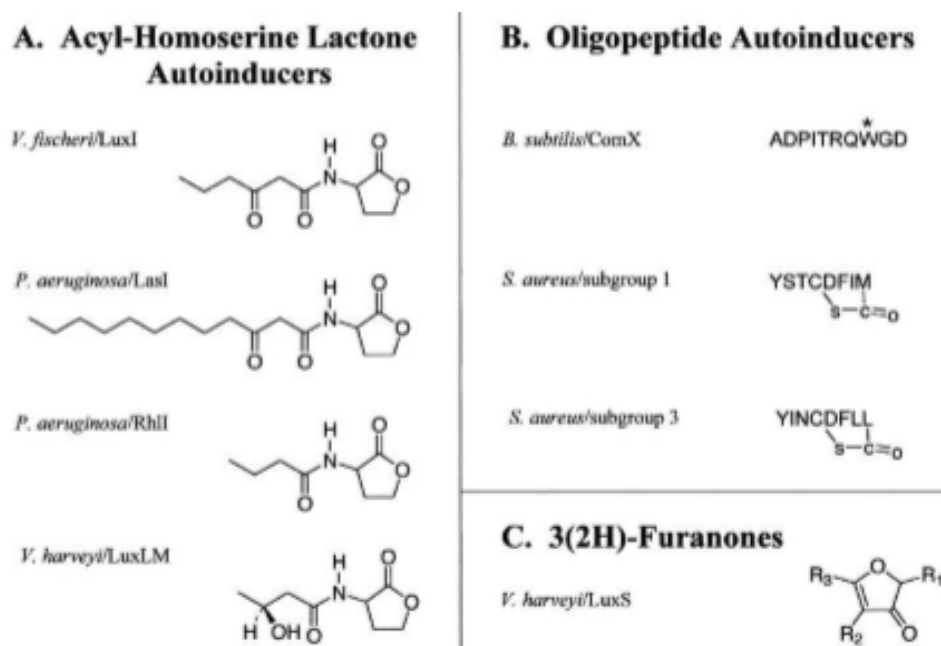


Figure 7 : Formules de molécules de communication [55]

Les molécules du quorum sensing sont dégradées par des enzymes : AHL-lactonases et AHL-acylases. L'origine métabolique des AHLs et AI-2 est bien connue, puisqu'elles

proviennent toutes les deux du même précurseur : la S-Adenosyl Methionine (SAM) (figure 8).

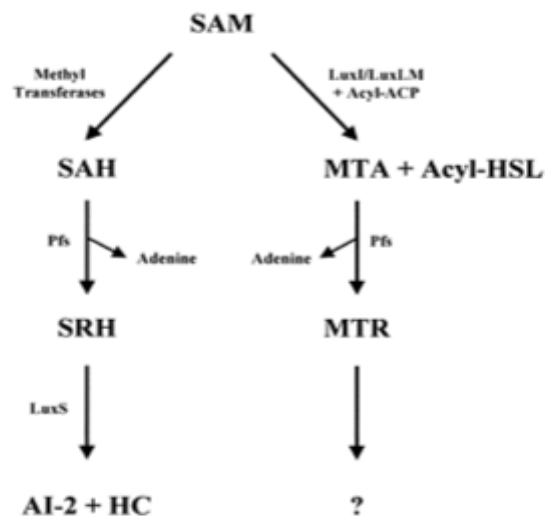


Figure 8 : Voie de synthèse des AHL et AI-2 à partir de SAM [55]

➤ Rôle du quorum sensing

Le quorum sensing régule la physiologie du biofilm en modulant la taille de la population du biofilm. Il initie les phénomènes de dispersion des bactéries planctoniques à partir du biofilm. Le quorum sensing aurait aussi un rôle dans la détermination de l'épaisseur du biofilm. Il peut réprimer ou stimuler l'expression de certains caractères, comme par exemple la motilité ou certains facteurs de virulence extracellulaires, comme les protéases. Le quorum sensing jouerait un rôle dans l'établissement d'antibiorésistances, mais cette hypothèse reste controversée. Les molécules du quorum sensing jouent aussi un rôle dans la lutte contre l'attaque d'autres organismes vivants, comme les protozoaires. Les biofilms composés de plusieurs communautés de bactéries d'espèces différentes ont de fortes concentrations en molécules du quorum sensing, compte-tenu de la densité élevée de cellules présentes [54,56].

b-Régulation génétique par les cellules fixées

Après fixation sur un substrat, l'expression d'un certain nombre de gènes est régulée par les cellules fixées. Cette régulation peut être de type inhibiteur ou stimulateur. Elle va entraîner une modification phénotypique des bactéries et avoir pour conséquence la formation d'un biofilm. Au cours de la formation d'un biofilm, 22% des gènes sont stimulés et l'expression de 16% des gènes est inhibée. Lors de la formation de biofilms de *Staphylococcus aureus*, des gènes codant pour des enzymes intervenant dans la fermentation et la glycolyse (phosphoglycérate mutase, triosephosphate isomérase et alcool déshydrogénase) sont stimulés. Ceci peut être relié au fait que la concentration d'oxygène dans le biofilm diminue au fur et à mesure de son développement [13,57].

c- Les autres mécanismes régulateurs de la formation de biofilms comme les polysaccharides, le GMP-c et par l'acétyl phosphate et l'alarmone

Les polysaccharides présents à la surface des cellules jouent un rôle important dans les interactions entre bactéries et leur environnement immédiat. Par exemple, on trouve à la surface d'*Escherichia Coli* l'antigène du lipopolysaccharide O (LPS) et l'antigène polysaccharidique de capsule K. Les lipopolysaccharides, appelés aussi endotoxines, font partie de la paroi des bactéries Gram-négatifs. Ils peuvent inhiber ou stimuler la formation de biofilms selon les cas. Les polysaccharides des capsules sont des facteurs de virulence; ils protègent les bactéries des défenses immunitaires de l'hôte (phagocytose et activation du complément). Trois polymères synthétisés par *Escherichia coli* et faisant partie de la matrice ont un rôle important dans la formation d'un biofilm et dans l'expression de facteurs de virulence; il s'agit de la cellulose, de l'acide colanique (polymère chargé composé de glucose, galactose, furctose et acide glucuronique) et du PGA (β -1,6-N-acétyl-D-glucosamine). La synthèse d'acide colanique peut être induite par des concentrations d'antibiotiques de la famille des β -lactamines, proches des concentrations létales ; l'acide colanique forme une capsule. Il en résulte une exacerbation de la formation et de la persistance d'un biofilm face à des agents anti-microbiens [58 ,15].

Le c-di-GMP, est un régulateur central du mode de vie sous forme de biofilms et de l'expression de facteurs de virulence. Le c-di-GMP est un second messager, intervenant dans

des cascades de phosphorylation et modulant l'expression de certains gènes des bactéries du biofilm, impliqués dans les mécanismes de formation du biofilm et dans l'expression de la virulence. La transformation du GTP en GMP-c par la diguanylate cyclase est activée par des signaux extracellulaires, différents selon les bactéries concernées. Lorsque la quantité de GMP-c augmente au sein de la cellule, la quantité de protéines jouant un rôle de facteurs de virulence augmente [59].

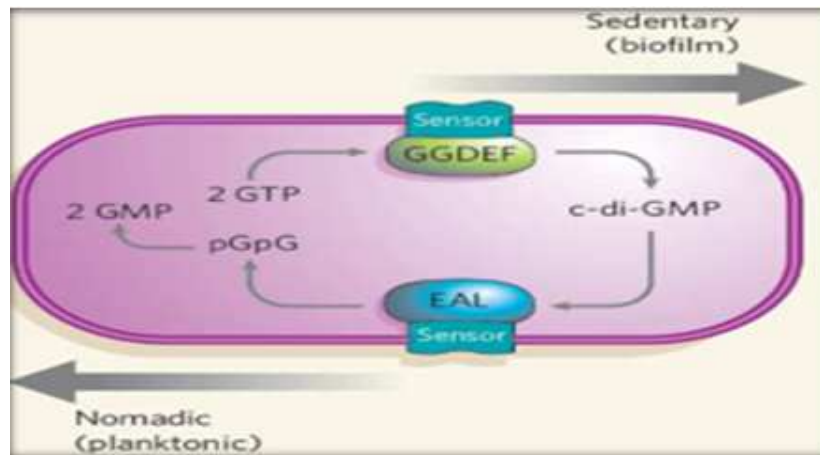


Figure 9 : schéma représentant le changement de mode de vie de la bactérien en fonction de la concentration intracellulaire en c-di-GMP [60].

Une concentration intracellulaire élevée en c-di-GMP favorise une existence sédentaire tandis que de faibles concentrations favorisent un mode de vie planctonique. Ces protéines pourraient constituer de nouvelles cibles pour des molécules antimicrobiennes.

Récemment, de petites molécules intervenant dans la régulation de la formation d'un biofilm selon les conditions nutritionnelles du milieu ont été identifiées. Il s'agit de **l'acétyl phosphate et de l'alarmone**. L'acétyl phosphate s'accumule dans le milieu intracellulaire lorsque la concentration en source carbonée augmente et/ou lorsque la concentration en oxygène est basse. L'alarmone est une molécule signal intracellulaire qui s'accumule lorsque les concentrations en nutriments sont très basses : elle induit une cascade enzymatique aboutissant à la régulation de l'expression de gènes, notamment de gènes codant pour des

fimbriae de type I. L'action de cette molécule va permettre d'augmenter la probabilité de survie des bactéries dans des milieux stressants. Le mode de vie sous forme de biofilms protège les micro-organismes qui le constituent et leur confère de nombreux avantages [61].

4-Avantage confères par le mode de vie en biofilm

Le mode de vie sous forme de biofilm protège les micro-organismes qui le constituent et leur confère de nombreux avantages : coopération dans certains systèmes cataboliques, synergies entre micro-organismes, expressions phénotypiques de facteurs de résistance lors de situations de stress. Ces changements permettent d'expliquer l'adaptation des biofilms à des conditions environnementales stressantes et l'acquisition d'avantages évolutifs [62].

a-Avantage métabolique

La croissance bactérienne en biofilm permet l'acquisition d'avantages métaboliques par l'action synergique des différentes espèces bactériennes. L'organisation structurée en communauté des biofilms permet l'optimisation des mécanismes de capture des nutriments et ainsi la réalisation d'économies énergétiques. Ainsi l'organisation architecturale complexe des biofilms permet aux micro-organismes de coopérer pour dégrader certains nutriments complexes. Un nutriment donné peut avoir des effets directs ou des effets indirects sur l'environnement du biofilm. Il peut constituer une source d'énergie, une source d'azote ou une source de carbone pour un ou plusieurs micro-organismes dans le milieu. Les métabolites de certains micro-organismes peuvent également être utilisés par d'autres micro-organismes comme nutriments [16,63]. Hétérogénéité métabolique de la population bactérienne due à l'accumulation de multiples microniches, participe sans doute largement aux propriétés de récalcitrance et de persistance. [53]

b- Protection vis-à-vis des agressions de l'environnement

Les bactéries du biofilm résistent mieux que leurs équivalents planctoniques à diverses agressions extérieures comme les UV, les changements de pH et d'osmolarité, forces de cisaillement, dessiccation) Le mode de vie en biofilm est accompagné de la sécrétion d'une matrice exopolymérique constituant une gangue stabilisatrice et protectrice, par

exemple la couche la plus externe de cette matrice se déshydratant afin de former une interface sèche et d'empêcher une dessiccation plus marquée. Il a été proposé que la matrice agisse comme barrière de diffusion à la pénétration de certaines molécules toxiques. La matrice assure aussi une protection mécanique des micro-organismes contre l'entrée dans le biofilm d'antiseptiques, de détergents et d'antibiotiques [16].

La présence de zones peu ou pas oxygénées dans les couches profondes du biofilm peut également contribuer à la résistance à certains biocides qui peuvent être inactivés dans ces conditions ou qui sont peu efficaces sur les bactéries métaboliquement peu actives. Enfin, de plus en plus d'arguments expérimentaux suggèrent l'existence d'une résistance liée à l'expression de mécanismes génétiques particuliers.

Des études menées sur des biofilms d'*Escherichia coli*, de *Vibrio cholerae* et de *Pseudomonas aeruginosa* ont permis de montrer l'importance du rôle d'un facteur, le facteur σ RpoS, dans la réponse des communautés microbiennes organisées en biofilms dans des situations de stress (Stress oxydatif, irradiation UV, hautes températures, hyper-osmolarité, baisse importante du pH, manque de source carbonée...) ces situations entraînent des modifications de l'expression du génome. Il y a activation du facteur σ RpoS, qui va stimuler la réponse au stress par un ensemble de modifications du métabolisme des cellules. Le facteur RpoS va ainsi engendrer des modifications phénotypiques importantes du biofilm, comme l'acquisition d'une antibiorésistance [49].

c-Transfert d'information génétique au sein du biofilm

Les transferts horizontaux d'informations génétiques jouent un rôle important dans l'évolution et la diversité génétique des communautés microbiennes. L'un des principaux mécanismes de transfert génétique est celui de la conjugaison qui permet l'échange direct d'ADN par contact physique entre deux cellules via un pilus de conjugaison. Les biofilms, en favorisant le contact des bactéries entre elles, offrent un environnement idéal pour le transfert de gènes par ce mécanisme, et de nombreuses études ont montré que la fréquence de transferts génétiques par conjugaison augmentait lorsque les bactéries se développaient sous forme de biofilm [64]. La mise en évidence de la relation entre conjugaison et capacité à former un biofilm a de profondes conséquences écologiques. Elle suggère en particulier que

les plasmides conjugatifs, en exprimant des fonctions d'adhésion, favorisent l'accès de leurs bactéries hôtes aux biofilms, micro-environnements très favorables à la transmission horizontale de matériel génétique, un mécanisme essentiel d'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques. Ainsi, l'utilisation des antibiotiques en médecine humaine ou vétérinaire, en favorisant la sélection de souches porteuses de plasmides vecteurs de résistance aux antibiotiques, pourrait également favoriser la formation de biofilms dont l'élimination pose un grave problème de santé publique [64].

Alors l'association organisée de bactéries au sein d'une matrice d'exopolymères leur confère de nombreux avantages :

- Création de leur propre micro-niche, ce qui leur offre une protection contre des conditions environnementales potentiellement défavorables,
 - Protection contre la dessiccation,
 - Plus grand accès aux nutriments circulant entre les bactéries,
 - Concentration des nutriments,
 - Communications et échanges (chaîne nutritionnelle) inter-espèces,
 - Transferts d'éléments génétiques mobiles,
 - Résistance aux bactériophages,
 - Résistance aux agents antibactériens : biocides et antibiotiques en établissant une barrière de diffusion et en concentrant dans la matrice les enzymes sécrétées (types lactamases, protéases...) [65].

L'ensemble de ces caractéristiques suggère que le biofilm constitue un mode de vie favorable pour les bactéries, au point de constituer, pour certaines espèces bactériennes, un mode de vie par défaut. Cette capacité exprimée par les biofilms rend leur élimination difficile. Ceci a un impact considérable compte-tenu de l'importance médicale et industrielle des biofilms.

V-BIOFILMS, CAUSE D'INFECTIONS CHRONIQUES

1-Interaction entre biofilms et le système immunitaire

Les bactéries planctoniques qui pénètrent dans l'organisme vont stimuler la réponse immunitaire de l'hôte. Les phagocytes et les anticorps produits vont pouvoir les éliminer et contrôler l'infection aiguë (étape a). Les bactéries ayant formé un biofilm stimulent également la réponse immunitaire mais son efficacité est limitée par défaut de pénétration des phagocytes et des anticorps dans la matrice du biofilm (étape b). Les phagocytes vont libérer leurs enzymes phagocytaires sur place (étape c).

Cette interaction active entre les microbes en biofilms et le système inflammatoire induit un état hyper inflammatoire persistant avec accumulation de neutrophiles, cytokines, augmentation d'enzyme type protéase et elastase qui endommage les tissus environnants (étape d).

Cet état permet aux microbes en biofilms d'augmenter leur apport en nutriment tout en maintenant le système immunitaire inefficace pour éradiquer les microbes .L'infection devient chronique ou persistante et empêche la guérison. Ces biofilms deviennent aussi une source de réinfection aigue causé par la libération périodique de microbes planctoniques.

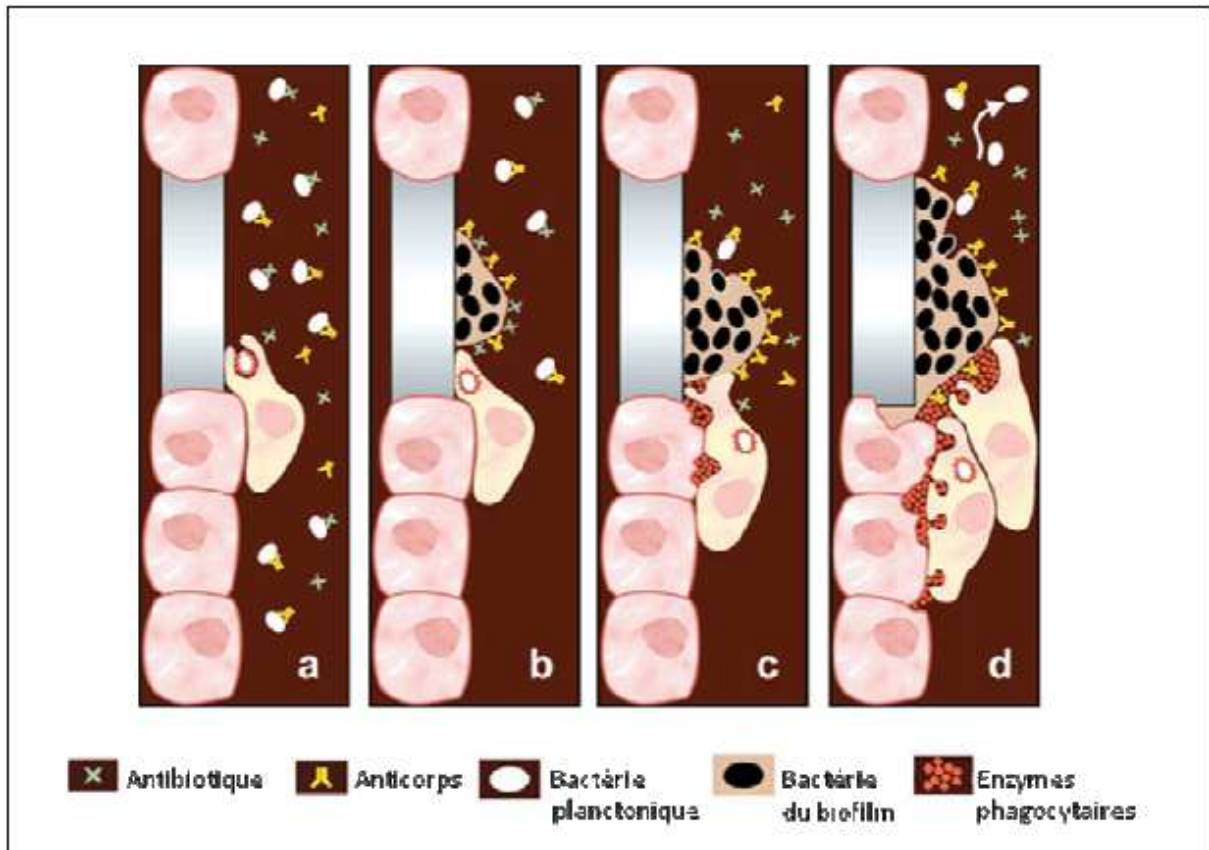


Figure 10 : Mécanismes de résistance des biofilms aux défenses de l'hôte. (Figure reproduite et adaptée avec la permission de l'éditeur « Springer » : The Biofilm Primer [66])

2-Le biofilm face aux antibiotiques

Les bactéries vivant au sein du biofilm sont moins sensibles aux antibiotiques et désinfectants que leurs homologues planctoniques [67]. Les concentrations d'antibiotiques nécessaires pour inhiber les bactéries au sein d'un biofilm peuvent être 10 à 1000 fois plus élevées que celles utilisées pour inhiber les mêmes bactéries à l'état planctonique [68]. Ainsi, le traitement antibiotique est généralement efficace contre les bactéries planctoniques libérées du biofilm mais ne permet pas l'élimination complète du biofilm. Ce phénomène est un élément clé de la persistance des infections chroniques liées aux biofilms, créant un sérieux problème de santé publique. Cette persistance peut être due à l'émergence de phénomènes de résistance bactérienne [69].

La notion de «résistance» des biofilms aux antibiotiques mérite d'être clarifiée. En effet, une souche bactérienne est définie comme étant résistante si sa croissance n'est pas inhibée à une concentration critique (CMI) d'antibiotiques généralement observée pour la majorité des souches de l'espèce considérée. Les cellules d'un biofilm sont quant à elles décrites comme résistantes par comparaison avec leurs homologues planctoniques. Par ailleurs, il est parfois plus exact de parler de tolérance plutôt que d'une véritable «résistance» lorsque le mécanisme impliqué est de nature phénotypique (adaptation des cellules à la vie en biofilm) et donc réversible (les bactéries revenues à l'état planctonique retrouvent leur sensibilité initiale). Le terme de résistance devrait être restreint à des mécanismes génétiquement transmissibles. Cependant, il est rarement possible d'identifier la nature de l'insensibilité aux antibiotiques des bactéries incluses en biofilms; c'est la raison pour laquelle on privilégie le terme générique de « résistance des biofilms ». Il est aujourd'hui bien établi que la résistance des biofilms à l'action des agents antimicrobiens est multifactorielle [70].

Plusieurs mécanismes sont impliqués :

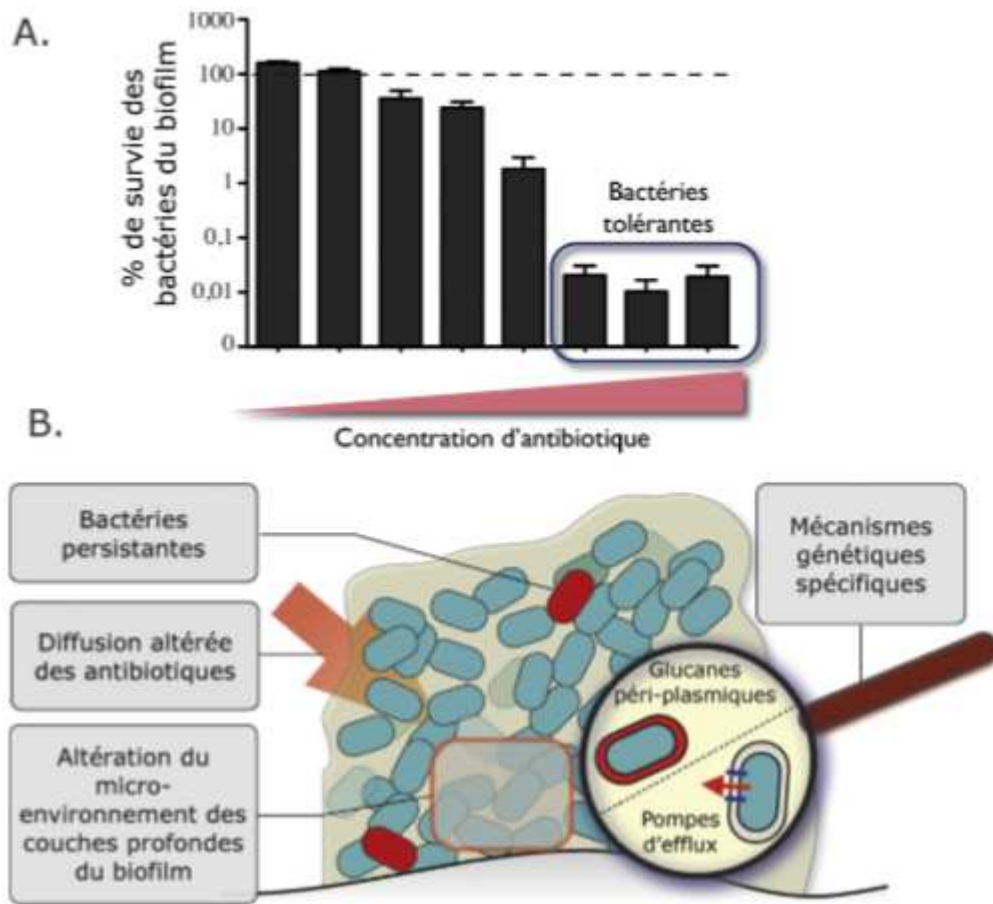


Figure 11 : Résistance des biofilms aux antibiotiques. A. Un biofilm est traité durant 24 heures avec des concentrations croissantes d'antibiotique bactéricide X. À partir d'une certaine concentration, le nombre de bactéries survivantes ne diminue plus. Il s'agit de bactéries tolérantes du biofilm. B. Hypothèses expliquant le phénomène de résistance du biofilm vis-à-vis des antibiotiques [71].

➤ **Limitation de la diffusion de l'antibiotique**

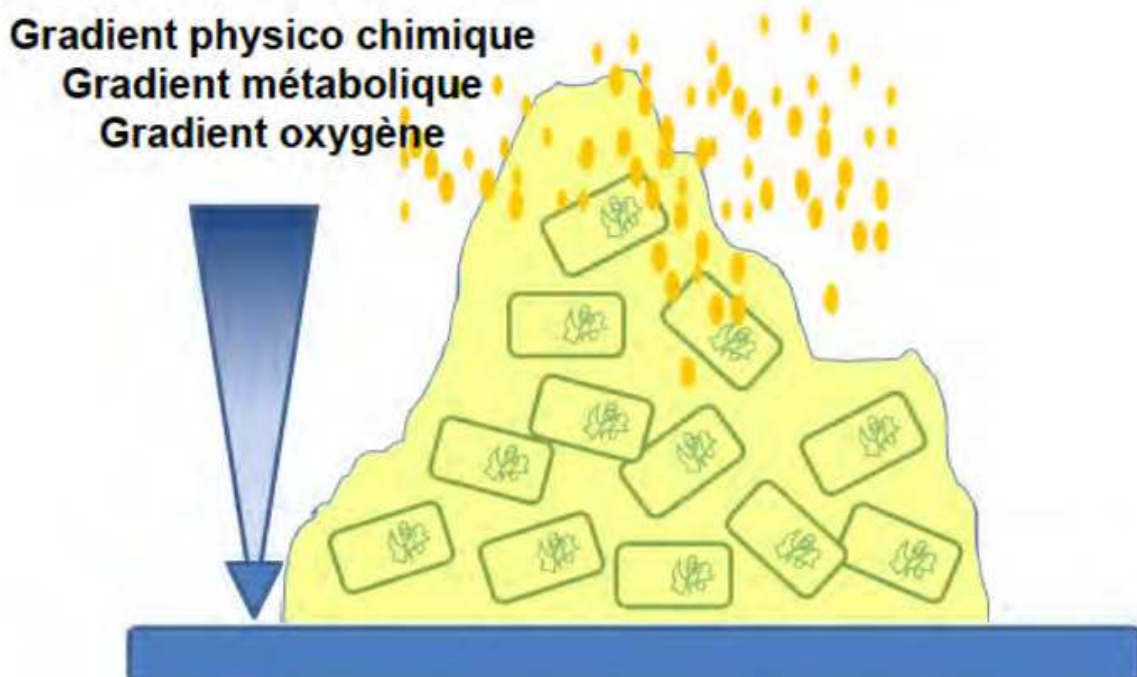
Le premier mécanisme de résistance est lié au défaut de pénétration des agents antimicrobiens dans les profondeurs du biofilm. Les multiples couches de cellules et les exopolysaccharides constituent une structure complexe et compacte que les antibiotiques et désinfectants ont du mal à traverser. Dans le cas des petites molécules, cette barrière permet uniquement de ralentir le passage. Pour les molécules chargées positivement comme les aminosides, la diffusion pourrait être limitée par leur liaison aux exopolysaccharides de la matrice qui est chargés négativement [67].

De plus, le retard de pénétration des molécules peut aussi favoriser l'activité inhibitrice des enzymes produites par les bactéries comme les β -lactamases. Une diminution significative de la pénétration de β -lactamines, des glycopeptides et des aminosides a été rapportée mais de tels résultats n'ont pas été toujours retrouvés. Car cette hypothèse est contredite par la bonne pénétration de certains antibiotiques (fluoroquinolones, rifampicine, les tétracyclines, la fosfomycine ampicilline) au sein de biofilms néanmoins tolérants à ces molécules. Ainsi, d'autres mécanismes de résistance doivent intervenir [72].

➤ **Altération du microenvironnement et adaptation phénotypique des cellules incluses dans un biofilm**

Il existe un gradient de sensibilité aux antibiotiques de haut en bas du biofilm. En effet, les bactéries au sein du biofilm ont un métabolisme hétérogène, celles en surface ont un meilleur accès à l'oxygène et aux nutriments, elles synthétisent plus de protéines et ont une croissance plus active que les bactéries situées en profondeur du biofilm qui se caractérise par une carence en oxygène et en nutriment, une accumulation de déchets et un pH acide [67]. Ces conditions locales d'environnement permettent la formation de multiples gradients de concentration (figure 12), gouvernent l'hétérogénéité physiologique des cellules du biofilm, facteur très fréquemment invoqué pour expliquer la résistance aux antimicrobiens.

Il a ainsi été montré une stratification de l'activité métabolique dans des biofilms de *Staphylococcus epidermidis*, les cellules les plus actives se trouvant principalement à l'interface entre le biofilm et le fluide externe. Le faible métabolisme des cellules des couches les plus profondes (« slow growth cells ») est par exemple proposé pour expliquer l'insensibilité des biofilms aux antibiotiques de la famille des β -lactamines (qui agissent sur les cellules en division). De plus, les variations de pH et l'hypoxie locale sont défavorables à l'action des aminosides. [70,71].



**Figure12 : Schéma présente l'hétérogénéité d'un biofilm
Microenvironnement [73]**

➤ **La réponse des bactéries à un stress : mécanisme génétique spécifique**

Dans un biofilm, les bactéries subissent des adaptations génétiques pouvant mener à une augmentation de la résistance aux agents antimicrobiens. Ces modifications résultent de l'expression des gènes spécifiques en réponse aux conditions environnementales.

Par exemple, les bactéries au sein d'un biofilm peuvent augmenter leur capacité d'expression de leur β -lactamase chromosomique suite à une exposition prolongée aux β -lactamines [71]. Un autre exemple concerne *les entérobactéries* synthétisant un facteur sigma RpoS, sous la dépendance du régulateur RpoS, en réponse à différents stress. Ce facteur a un rôle régulateur clé dans la survie bactérienne et dans la résistance généralisée à différents stress. Par ailleurs, l'induction de l'expression de gènes codant pour les pompes d'efflux, systèmes permettant aux bactéries d'éliminer des molécules toxiques, pourrait être un autre mécanisme expliquant la résistance aux agents antimicrobiens mais leur impact n'a pas encore été clairement défini [67].

Un lien entre l'apparition, des cellules mutantes (ou variantes) qui émergent durant le développement d'un biofilm et le développement d'infections chroniques persistantes aux antibiotiques a pu être établi. Ces cellules mutées forment des colonies sur boîte de Pétri (petites colonies variantes (SCVs), colonies rugueuses, etc..) qui peuvent se distinguer du reste de la population. Ces colonies qui peuvent être isolées soit à partir de biofilms de *Staphylococcus aureus* provenant de sécrétions des patients atteints de mucoviscidose, prélèvements des malades atteints d'ostéomyélite chronique ou de prothèses orthopédiques contaminées, ont été isolées et sont résistantes à plusieurs antibiotiques par comparaison aux souches de *Staphylococcus aureus* originelles [74,75].

➤ **Bactéries persistantes**

Bien que les mécanismes décrits plus haut jouent un rôle certain dans la résistance des biofilms aux antibiotiques, ils n'expliquent pas l'ensemble des phénotypes observés. L'effet des fluoroquinolones sur les biofilms illustre parfaitement ce propos : malgré leur bonne diffusion et leur action contre les bactéries pour qu'il ne se multiplient pas, elles ne sont pas capables d'éradiquer 100 % des bactéries d'un biofilm. La principale hypothèse avancée pour expliquer ce phénomène correspond à la présence d'une sous-population bactérienne minoritaire appelée « bactéries persistantes » (ou *persisters* en anglais). Ces « persisters » représentent une sous-population très minoritaire de bactéries hyper-résistantes dont la proportion dépend de l'état physiologique des cellules mais dont la physiologie reste encore mal définie [76].

Ces bactéries ont été découvertes il y a environ 70 ans dans des cultures liquides (ou planctoniques) lorsque Joseph Bigger n'arrivait pas à totalement stériliser un inoculum de *Staphylococcus aureus* avec de la pénicilline. De manière reproductible, quelques dizaines de bactéries survivaient, et ce, malgré l'augmentation de la concentration d'antibiotique ou de la durée de traitement. Il a ensuite démontré que ces bactéries, à l'inverse de mutants résistants, ne pouvaient croître en présence d'un antibiotique. Après avoir repris une multiplication au contact d'un milieu riche, les bactéries présentaient une sensibilité normale aux antibiotiques.

Le modèle actuellement proposé pour expliquer la résistance des biofilms aux antibiotiques repose dans une large mesure sur l'existence de ces bactéries persistantes [71].

Ainsi la résistance d'un biofilm est un processus multifactoriel basé sur des mécanismes de défenses innés, liés à la structure et la physiologie du biofilm (limitation de la diffusion, hétérogénéité de l'environnement), et des mécanismes acquis, résultant de l'action du stress (induction de la réponse au stress etc....) [77].

La résistance des biofilms aux antibiotiques est responsable d'une grande partie des difficultés rencontrées au cours du traitement des infections associées aux biofilms.

3-Biofilms bactériens et risque infectieux : bactéries en cause, les virus aussi

Parmi les microorganismes capables de former des biofilms, on peut citer les bactéries, les champignons, les algues, les protozoaires et les virus. Les biofilms peuvent être constitués d'une seule espèce mais généralement on retrouve des biofilms mixtes dans la nature.

Les principaux micro-organismes d'intérêt médical sont :

- ***Pseudomonas aeruginosa* :**

Pseudomonas aeruginosa est une bactérie ubiquitaire que l'on retrouve dans le sol, l'eau ou la végétation. Cette bactérie est à l'origine d'infections opportunistes chez des patients le plus souvent immunodéprimés ou fragiles (sujets âgés, patients atteints de mucoviscidose, brûlés, ...). Les infections les plus courantes sont les infections pulmonaires, du tractus urinaire, des plaies ou les bactériémies. Les infections chroniques se caractérisent par la formation d'un biofilm bactérien puisque cette bactérie a une grande capacité à coloniser les surfaces et à former des biofilms [78].

- ***Staphylocoques* :**

Les *staphylocoques* sont responsables de la grande majorité des infections causées par des biofilms. *Staphylococcus epidermidis* et *staphylococcus aureus* sont les agents les plus fréquemment responsables d'infections nosocomiales et d'infections sur les dispositifs médicaux, qui impliquent la formation de biofilm. *Staphylococcus epidermidis*, espèce dominante de la flore résidente de la peau, a été considérée pendant de longues années comme une bactérie non pathogène car l'émergence d'infections nosocomiales à *Staphylococcus*

epidermidis sur des dispositifs médicaux a été récemment rapportée. Par comparaison avec *S. aureus*, cette espèce exprime moins de facteurs de virulence tels que la sécrétion de toxines ou la résistance au système immunitaire, mais sa capacité à former des biofilms très mucoïdes lui permet de devenir un pathogène opportuniste [79].

- ***Escherichiacoli***

Escherichia coli est une bactérie commensale de l'intestin de l'homme et des animaux. C'est l'espèce aérobie la plus importante de la flore digestive. C'est aussi le premier germe responsable d'infections communautaires et nosocomiales. Les infections à *Escherichia coli* sont de deux types : les infections intestinales et les infections extra-intestinales (infections urinaires, bactériémies et méningites). Parmi les nombreux facteurs de virulence décrits chez *Escherichia coli*, un certain nombre sont connus pour être impliqués à des degrés divers dans la formation de biofilms. On peut citer les flagelles et les fimbriae (ou pili), plutôt impliqués dans les étapes d'adhérence aux surfaces et de développement précoce du biofilm, ainsi que l'antigène 43, le PGA (Poly- β -1,6-N-acétylglucosamine), la cellulose ou l'acide colanique qui ont un rôle dans la maturation du biofilm [80].

Tableau 3 : Fréquence relative des microorganismes isolés dans les bactériémies nosocomiales à porte d'entrée potentiellement associée à un dispositif invasif, RAISIN 2004 [81]

Porte d'entrée (nombre)	<i>Staphylococcus aureus</i>	Staphylocoque à coagulase négative	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella, Enterobacter, Serratia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Autres
Urinaire (n = 1009)	7	3	52	15	6	17
Cathéter central (n = 549)	27	40	3	9	5	17
Cathéter veineux périphérique (n = 249)	37	33	4	12	4	10
Chambre à cathéter implantable (n = 229)	17	38	5	11	7	22
Pleuro-pulmonaire (n = 477)	22	9	9	18	14	28

✓ Origine fongique :

Au cours de cette dernière décennie. Au côté d'infections bactériennes, en remarque un nombre en constante augmentation d'infections systémiques d'origine fongique, principalement causées par les levures du genre *Candida*. Ces levures, plus particulièrement *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* et *Candida tropicalis*, sont considérées comme la troisième ou quatrième cause des septicémies acquises à l'hôpital [82].

Candida albicans est l'espèce fongique la plus souvent associée à la formation des biofilms. Cette levure est capable de développer des biofilms sur presque tous les implants médicaux, les cathéters vasculaires et pacemakers les prothèses dentaires et lentilles de contact. Dans 1 à 60% des infections hospitalière il y a

développement d'une infection après l'introduction d'un dispositif médical et les espèces de *Candida* sont responsables d'environ 20% de ces infections. De plus, *Candida albicans* peut coloniser aussi différents tissus de l'hôte, comme par exemple l'endothélium des valves cardiaques ou la muqueuse vaginale, conduisant ainsi au développement des endocardites ou des vaginites [83].

Les données cliniques ainsi que les études menées sur des biofilms formés in vitro par différentes espèces de *Candida* montrent que ces biofilms, au même titre que ceux formés par les bactéries, présentent une résistance intrinsèque à la plupart des antifongiques utilisés en clinique, expliquant, par là même, l'impact de la colonisation des implants sur les candidémies. Par ailleurs, il a été montré que les biofilms à *Candida* réduisent considérablement leur sensibilité aux différents antifongiques, ce qui rend leur traitement difficile à réaliser et présente un important problème de santé publique. Cette résistance est un phénomène multifactoriel car ces biofilms échappent à la réponse immunitaire de l'hôte et réduisent significativement la thérapie antifongique [84].

✓ Origine virale :

En 2010, et pour la première fois des chercheurs de l'Institut Pasteur et du CNRS Centre national de la recherche scientifique à Paris montrent que certains virus peuvent constituer des structures complexes similaires aux biofilms bactériens. Ces formations, qui

assureraient une protection des virus face au système immunitaire, permettent une dissémination efficace de cellule à cellule.

Selon l'étude publiée, les biofilms viraux seraient le mode de propagation majeur de certains virus et pourraient constituer de nouvelles cibles thérapeutiques en infectiologie. Le modèle d'étude des chercheurs français est le rétrovirus HTLV-1.

Il s'agit d'agrégats de virus et de matrice extracellulaire riche en sucres, sécrétée par la cellule, et dont la synthèse que code le génome du viral intégré au génome cellulaire.

Les scientifiques cherchent à présent à caractériser les mécanismes de production des biofilms viraux et à déterminer si d'autres types viraux forment de telles structures. Pour les virus formant des biofilms, il serait intéressant de redessiner des stratégies thérapeutiques antivirales nouvelles, avec pour cibles le virus et le biofilm [85].

Tableaux4 : principales bactéries impliquées dans le développement des infections chroniques liées aux biofilms chez l'homme [86]

Infection or disease	Common bacterial species involved
Dental caries	Acidogenic Gram-positive cocci (<i>Streptococcus sp.</i>)
Periodontitis	Gram-negative anaerobic oral bacteria
Otitis media	Nontypeable <i>Haemophilus influenzae</i>
Chronic tonsillitis	Various species
Cystic fibrosis pneumonia	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i>
Endocarditis	Viridans group streptococci, staphylococci
Necrotizing fasciitis	Group A streptococci
Musculoskeletal infections	Gram-positive cocci
Osteomyelitis	Various species
Biliary tract infection	Enteric bacteria
Infectious kidney stones	Gram-negative rods
Bacterial prostatitis	<i>Escherichia coli</i> and other Gram-negative bacteria
<i>Infections associated with foreign body material</i>	
Contact lens	<i>P. aeruginosa</i> , Gram-positive cocci
Sutures	Staphylococci
Ventilation-associated pneumonia	Gram-negative rods
Mechanical heart valves	Staphylococci
Vascular grafts	Gram-positive cocci
Arteriovenous shunts	Staphylococci
Endovascular catheter infections	Staphylococci
Peritoneal dialysis (CAPD) peritonitis	Various species
Urinary catheter infections	<i>E. coli</i> , Gram-negative rods
IUDs	<i>Actinomyces israelii</i> and others
Penile prostheses	Staphylococci
Orthopedic prosthesis	Staphylococci

VI-INFECTIIONS ASSOCIES A DES BIOFILMS

Sur le plan médical, la formation des biofilms est reconnue comme responsable du développement ou de l'exacerbation de nombreuses infections chroniques. Telles que les parodontites, les infections sur matériel médical, les pneumonies chez les patients atteints de mucoviscidose, les infections chroniques du tractus urinaire (UTI), les otites moyennes chroniques, les prostatites chroniques ... [9].

La croissance des biofilms est lente et les premiers signes clinique sont souvent longs à apparaitre mais ils sont persistants .L'immunodépression et la présence d' un dispositif médical sont deux facteur de risque de développement d'infection impliquant un biofilm .Les agents bactériens les plus souvent rencontrés appartiennent à la flore commensale de l'individu comme *staphylococcus aureus*, *pseudomonas aeroginosa*,*Escherichiacoli*....

Certaines maladies peuvent même favoriser l'invasion des bactéries et la formation de biofilms, c'est le cas, entre autres, de la mucoviscidose, qui est une affection héréditaire de l'appareil respiratoire profond caractérisée par la présence dans les poumons d'un mucus très visqueux.

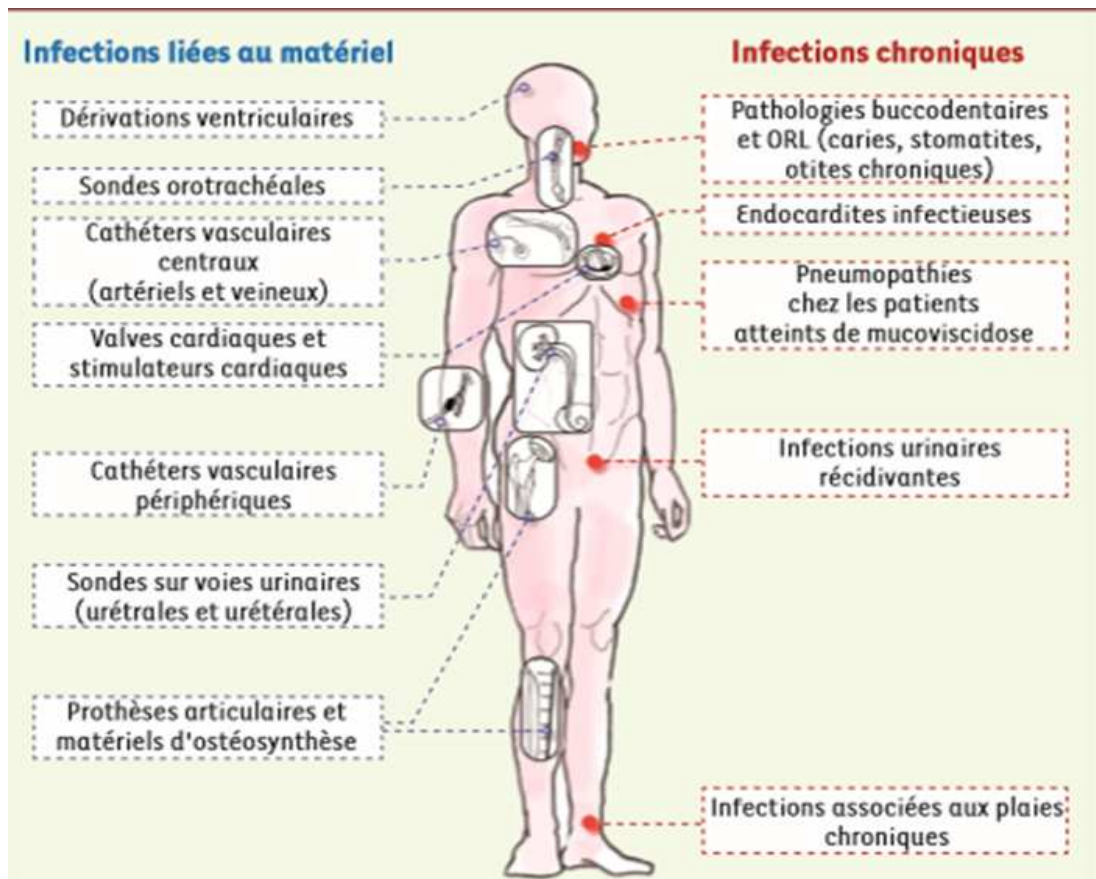


Figure13 : Principales infections associées à la présence de biofilms. [87]

1-Infections chroniques liées à la présence de biofilms. Etude de quelques exemples :

➤ La mucoviscidose :

C'est une maladie génétique autosomique récessive touchant environ 35 000 enfants et jeunes adultes en Europe, causé par la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* qui est capable d'infecter de manière durable leurs poumons en se montrant extrêmement résistant aux antibiotiques les plus puissants. De plus, le système immunitaire de ces individus, en répondant de façon excessive à cette infection, endommage le tissu pulmonaire. Ce haut degré de résistance associé à la nocivité de la réponse immunitaire sont caractéristiques des biofilms bactériens. Les biofilms sont des réseaux de communautés bactériennes enveloppées de sécrétions visqueuses. Les bactéries produisent des signaux chimiques qui vont leur permettre

de communiquer entre elles. A une densité critique, ces signaux vont s'accumuler et déclencher l'expression d'un ensemble de gènes spécifiques, avec comme conséquence la formation de biofilm.

Les études ont montré que *Pseudomonas aeruginosa*, isolé des poumons de sujets atteints de mucoviscidose, communiquait de cette façon et s'organisait à la manière d'un biofilm. Les auteurs ont démontré que cette bactérie produit deux molécules signal, une à petit poids moléculaire (PM) et une à grand poids moléculaire (GM), et qu'elle utilise une des deux pour initier la formation de biofilms. Ainsi l'infection par cette bactérie représente la principale cause de mortalité chez les patients atteints de mucoviscidose [88].

➤ **Biofilms et Infections associées aux plaies chroniques :**

On estime que 1 à 2 % de la population des pays développés souffrent de plaies chroniques comme les ulcères des membres inférieurs ou les complications cutanées liées au diabète. Soixante pour cent d'entre elles (contre 6 % des plaies aiguës) sont colonisées par des bactéries ou des champignons sous forme de biofilms polymicrobiens tolérants aux antibiotiques qui ralentissent ou empêchent la cicatrisation en favorisant un état d'inflammation chronique. Puisqu'il a été rapporté que les biofilms constituaient un facteur majeur contribuant à de multiples maladies inflammatoires chroniques, il est probable que la quasi-totalité des plaies chroniques présente des communautés de biofilms sur au moins une partie du lit de la plaie [89,91].

De quelle façon les biofilms retardent-ils la cicatrisation des plaies ? Les biofilms stimulent une réponse inflammatoire chronique dans une tentative de débarrasser la plaie du biofilm. Cette réponse entraîne une production importante de polynucléaires neutrophiles et de macrophages qui encerclent les biofilms. Ces cellules inflammatoires sécrètent des taux élevés d'espèces réactives d'oxygène (ERO) et de protéases (métalloprotéinases de la matrice (MMP) et élastases). Ces protéases peuvent contribuer à briser les liens entre les biofilms et le tissu, détachant ainsi les biofilms de la plaie. Toutefois les ERO et les protéases altèrent également les tissus normaux et le tissu de cicatrisation, les protéines et les cellules immunitaires, entraînant ainsi des effets « hors cible » qui entravent la cicatrisation.

La réponse inflammatoire chronique ne permet pas toujours de retirer le biofilm et l'on a avancé l'hypothèse que la réponse se ferait dans l'intérêt du biofilm. En induisant une réponse inflammatoire inefficace, le biofilm protège les micro-organismes qu'il contient et augmente la production d'exsudat, ce qui offre une source de nutrition et contribue à perpétuer le biofilm.

Est-il possible de distinguer les biofilms de la nécrose humide ? La nécrose humide des plaies a été décrite comme une couche visqueuse, jaune et relativement opaque sur les lits des plaies, alors que le biofilm retrouvé dans les plaies serait plus d'une consistance semblable au gel et brillante. Néanmoins, il se peut qu'il existe un lien entre les biofilms et les tissus nécrotiques humides. Les biofilms stimulent l'inflammation ce qui augmente la perméabilité vasculaire et la production d'exsudat de la plaie et le développement de tissu fibrineux. Il se peut par conséquent que la présence de nécrose humide indique la présence de biofilm dans une plaie. Toutefois, un tel lien entre nécrose humide et biofilms dans des plaies chroniques n'a pas encore été pleinement défini.

Actuellement, la méthode la plus fiable pour confirmer la présence d'un biofilm microbien est la microscopie spécialisée, par exemple la microscopie confocale à balayage laser [90].

➤ **Biofilms de la plaque dentaire et caries dentaires :**

La cavité buccale est un écosystème dynamique et complexe à équilibre fragile. Elle est colonisée par des bactéries qui adhèrent sur les dents et forment la plaque dentaire (amas bactérien, sans organisation particulière). L'utilisation récente de techniques de microscopie confocale à balayage laser a pu montrer que la plaque a une architecture similaire à celle des biofilms provenant d'autres sites. Cette plaque prend le nom aujourd'hui de biofilm (accumulation structurée et ordonnée de bactéries). Dans la cavité buccale, les surfaces dentaires et gingivales baignent en permanence respectivement dans la salive et le fluide gingival qui représentent donc un milieu humide et chaud, permettant la croissance d'une remarquable collection de microorganismes, à l'origine de la formation du biofilm [92].

A l'occasion de modifications des conditions environnementales ou d'une augmentation de la sensibilité de l'hôte, il y a rupture de cet écosystème. L'altération des conditions locales va

permettre la croissance et le développement d'espèces pathogènes qui est à l'origine du déclenchement de la maladie parodontale.

Les maladies parodontales représentent 30 à 40 % des causes d'extraction dentaire. Leurs fortes prévalences, leurs conséquences cliniques et les coûts importants liés à leurs traitements ou à ceux de leurs séquelles en font un problème sérieux de santé publique.

La parodontite et les caries sont des maladies infectieuses de la cavité buccale dans lesquelles les biofilms buccaux jouent un rôle causal [93].

La formation d'une carie dentaire résulte du déséquilibre écologique entre la matière minérale dentaire et les biofilms présents dans la cavité buccale. En effet les bactéries présentes dans le biofilm formant la plaque dentaire interviennent dans des réactions de fermentation de sucres ingérés par l'individu. La fermentation de ces sucres produit des composés acides qui vont attaquer l'émail et la dentine. La dent va se déminéraliser, et une cavité va se creuser dans la dent. Alors Une carie dentaire correspond à une destruction localisée de l'émail dentaire par des composés acides issus de la fermentation bactérienne de composés organiques. Ainsi la parodontie et la gingivite résultent de l'attaque permanente de polynucléaires neutrophiles dirigés contre les micro-organismes du biofilm formant la plaque dentaire entraîne une réaction inflammatoire chronique. Les médiateurs de l'inflammation, dont des cytokines, sont surexprimés et stimulent la résorption de l'alvéole dentaire ainsi que la destruction du collagène, qui est à l'origine d'une gingivite et d'une périodontie [94].

Différentes études mettent en évidence une relation entre les germes retrouvés au niveau des biofilms endodontiques et au niveau des infections tardives de prothèses de hanche dans un pourcentage de cas non négligeable. Il serait opportun qu'avant toute pose de prothèse interne, les foyers infectieux dentaires soient recherchés et éliminés lors d'un checkup buccal, qu'ils soient parodontaux, carieux ou endodontiques. Après la pose d'une endoprothèse articulaire, les patients devraient être invités à maintenir une hygiène bucco-dentaire rigoureuse, avec un suivi professionnel régulier, conservant la sphère buccale exempte de foyers infectieux, sources possibles de bactériémies [95].

L'utilisation des antimicrobiens pour l'élimination du biofilm dentaire, responsable des maladies parodontales, était limitée. D'autres approches de traitement sont alors apparues, en exploitant d'autres cibles. L'étude du quorum sensing aboutit aujourd'hui au développement

de futurs traitements, ayant pour cible les systèmes AI-2(Autoinducer-2) et CSP (Competence stimulating peptide), et ceci afin d'affaiblir la virulence bactérienne en interférant avec la communication de cellule à cellule. Une nouvelle classe de peptides antimicrobiens spécifiquement ciblés STAMPS (selectively targeted antimicrobial peptides) a récemment été mise au point. Les STAMPS ont une structure à deux faces. La construction des STAMPS est basée sur la fusion d'un domaine peptidique cible espèce spécifique avec un domaine peptidique antimicrobien à large spectre. Le premier domaine permet l'adhérence spécifique du STAMPS sur une bactérie et le second est un peptide antibactérien non spécifique qui est lié chimiquement à la séquence et tue la bactérie ciblée après fixation [96].

➤ **Légionellose :**

La légionellose est une infection provoquée par les bactéries *Legionella*. Il s'agit d'un bacille présent dans les milieux aquatiques. Il a été démontré que l'espèce *Legionella pneumophila* peut être présente, tant dans l'eau potable circulant dans le réseau de distribution que dans le biofilm qui se forme sur les parois internes des canalisations et dans les systèmes de climatisation. Une des caractéristiques des légionelles est qu'elles vivent et se reproduisent dans d'autres micro-organismes tels que les amibes. C'est pourquoi, les biofilms qui sont présents dans toutes les canalisations et les réservoirs d'eau offrent à une certaine température des conditions de vie optimales aux légionelles.

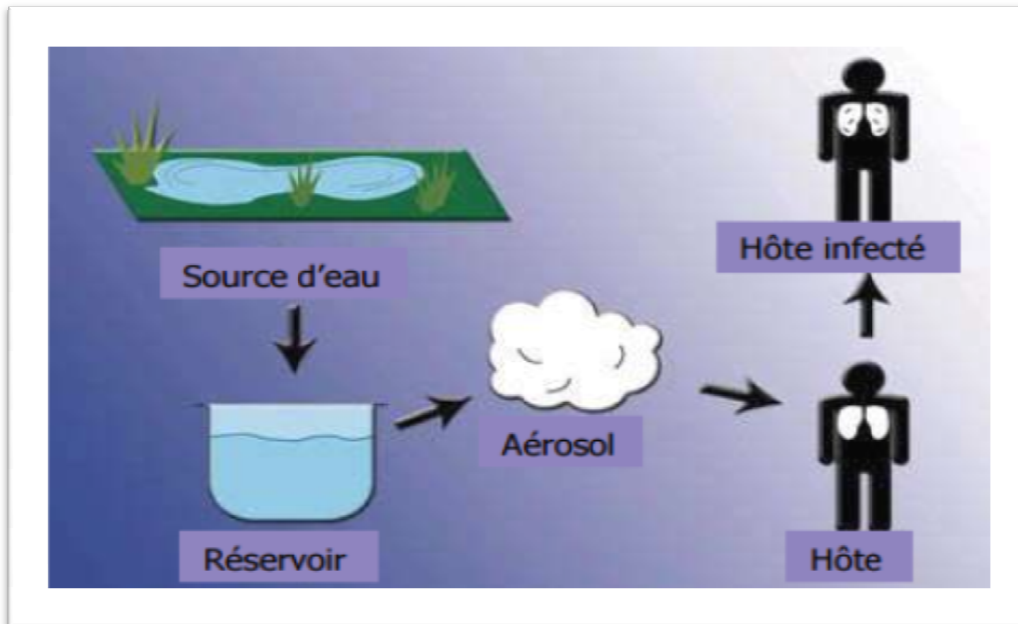


Figure 14 : schéma représentant les modes de contamination de la légionellose [97]

La contamination par *Legionella pneumophila* survient principalement suite à l'inhalation de particules d'aérosols de moins de 5 micromètres, lesquelles peuvent être formées par les tours aérorefrigérantes, les bains tourbillons, les humidificateurs, les pommeaux de douche et les appareils de thérapie respiratoire. Plusieurs facteurs favorisent la prolifération de ces bactéries : une température de 25 à 45°C, la présence de dépôts organiques et de sédiments, la stagnation de l'eau, la nature des matériaux et l'absence de biocide résiduel circulant [97].

La prolifération des *légionelles* dans les réseaux intérieurs de distribution d'eau des établissements publics (hôtels et surtout établissements de santé) et des immeubles d'habitation, représente un risque sanitaire, en particulier pour les personnes les plus fragiles. La légionellose est une infection pulmonaire bilatérale. La forme bénigne ou fièvre de Pontiac s'apparente à une grippe et guérit sans traitement en 2 à 5 jours, souvent sans que le diagnostic de la présence de légionelles n'ait été effectué.

La forme grave, appelée "Maladie des légionnaires", touche surtout des personnes fragilisées (tabagiques, malades pulmonaires chroniques, sujets âgés,...). La durée

d'incubation est de 2 à 18 jours. Les premiers symptômes ressemblent à une grippe, puis la fièvre augmente (39,5°C);le malade éprouve des malaises et des douleurs abdominales (nausées, vomissements). Deux complications peuvent être fatales : une insuffisance respiratoire majeure et une insuffisance rénale aiguë. Dans plus de 10% des cas, la maladie des légionnaires est mortelle; dans les autres cas, les malades présentent parfois des séquelles de la maladie 5 ans après l'avoir contractée [78].

Les personnes immunodéprimées sont reconnues pour constituer un groupe particulièrement à risque, notamment celles vivant dans certaines institutions (résidences communautaires ou institutions hospitalières par exemple).

En effet, selon le Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire sur les légionelloses survenues en France en 2005, un ou plusieurs facteurs favorisant la légionellose ont été retrouvés dans 1 084 cas (71%) : 9% présentaient un cancer ou une hémopathie, 8% étaient sous corticoïdes ou autres traitements immunosuppresseurs, 14% étaient diabétiques et 44% étaient des fumeurs. Le tabagisme était rapporté comme seul facteur favorisant pour 444 cas (29%) [99].

Tableau 5 : Facteurs favorisants parmi les cas de légionelloses survenus en France entre 2002 et 2005 : [99]

Facteurs favorisants parmi les cas de légionellose survenus en France, 2002-2005

	2002		2003		2004		2005	
	N	%	N	%	N	%	N	%
Total	1 021		1 044		1 202		1 527	
Facteurs favorisants*								
Cancer/hémopathie	114	11	101	10	112	9	145	9
Corticoïdes/immunosup.	112	11	96	9	113	9	119	8
Diabète	118	11	117	11	157	13	207	14
Tabagisme	422	41	439	42	556	46	674	44
Autres**	210	21	225	22	209	17	309	20
Au moins un facteur	720	71	723	71	868	72	1 084	71

* non mutuellement exclusif
 ** respiratoire - cardiaque - éthyliste - VIH

L'âge médian des cas était de 61 ans (extrêmes 5-100 ans). Le sexe ratio H/F était de 3,0. L'incidence la plus élevée était retrouvée chez les hommes de plus de 80 ans (11,9.105) (Figure 15).

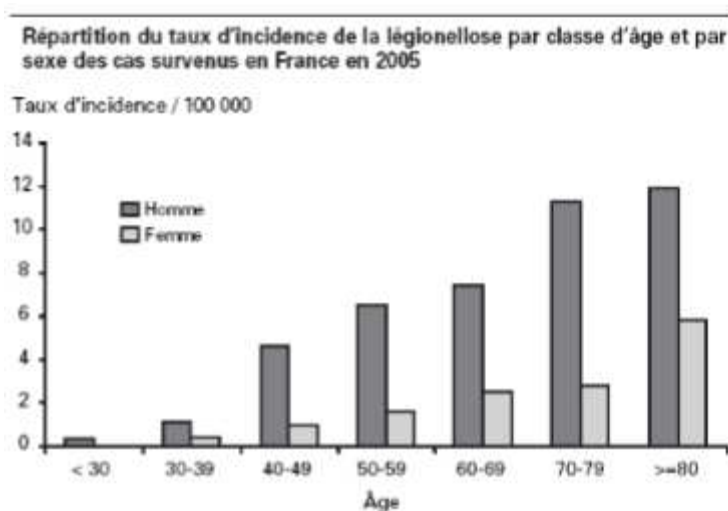


Figure 15. Répartition du taux d'incidence de la légionellose par classe d'âge et par sexe des cas survenus en France en 2005 [100]

De récents travaux ont permis de démontrer que les canalisations en cuivre limitent le développement de *Legionella pneumophila*.

2- Biofilms et implants médicaux :

En 2006, parmi les 180 000 patients hospitalisés en court séjour dans les établissements de santé français et inclus dans l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, 43,5 % étaient porteurs d'au moins un dispositif invasif (cathéter vasculaire, sonde vésicale, sonde endotrachéale ou trachéotomie). Ce pourcentage de patients exposés atteignait 75 % dans les centres de lutte contre le cancer et 90 % dans les services de réanimation. Ces dispositifs invasifs sont donc incontournables, au moins à titre provisoire, dans la prise en charge d'un patient mais leur présence s'accompagne d'événements indésirables parmi lesquels les complications infectieuses occupent une place prépondérante chez les patients les plus fragiles [101].

L'OMS estime qu'entre 5 et 12 % des patients hospitalisés dans le monde développent une infection associée aux soins (IAS) dont plus de 60 % sont associées à l'implantation d'un

dispositif médical ou chirurgical. Tout dispositif, implanté à titre provisoire ou permanent, peut devenir le site d'une éventuelle infection (sonde urinaire, canule d'intubation, valve cardiaque, prothèse vasculaire ou orthopédique, dispositif intra-utérin, etc.). Des biofilms peuvent se former à la surface ou à l'intérieur de ces dispositifs médicaux implantés dans l'organisme. Ceci pose un véritable problème de santé publique pour les personnes nécessitant ces implants [102].

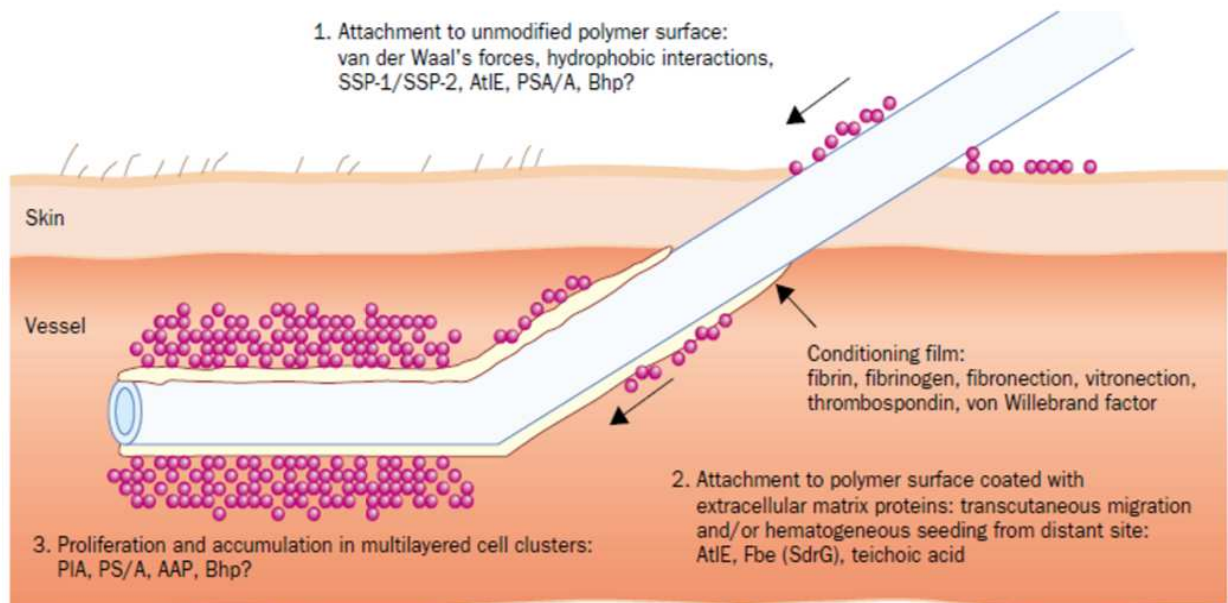


Figure16 : Principales étapes de formation du biofilm de *Staphylococcus epidermidis* sur un implant transcutané. [103]

Les microorganismes responsables proviennent de la flore cutanée du patient, de l'environnement ou de la micro-flore exogène transitoire véhiculée par le personnel hospitalier. Les biofilms peuvent être composés d'une ou plusieurs espèces de micro-organismes, selon le type de dispositif implanté et la durée d'implantation dans l'organisme du patient. La formation de biofilms dépend de plusieurs facteurs : nombre de cellules présentes, vitesse du flux du liquide dans lequel se trouve le dispositif, propriétés physico-chimiques de la surface [104].

Nous allons traiter différents exemples d'implants médicaux sur lesquels se forment des biofilms, et envisager les conséquences médicales encourues par le patient et comment les

prévenir. Nous allons tout d'abord s'intéresser aux biofilms se formant sur les sondes urinaires.

➤ **Biofilms et infections du tractus urinaire :**

Trente pour cent des infections associées aux soins contractées dans un établissement de santé sont des infections urinaires (IU) (soit 1,63 % des patients hospitalisés). Leur fréquence relative varie de 12 % (en réanimation) à 40 % (en SSR Soins de Suite et de Réadaptation) selon le type de séjour et on estime qu'environ 80 % à 85 % des infections urinaires sont associées à la réalisation d'un acte de soin thérapeutique ou diagnostique sur la sphère urogénitale. La pose de sonde urinaire est le premier facteur responsable du développement d'une infection urinaire [102].

Les sondes urinaires sont des dispositifs médicaux utilisés pour :

- permettre l'évacuation des urines en cas de rétention aigue
- le drainage permanent en cas rétention chronique ou inconsciente
- un but thérapeutique (lavage, instillation) [105]

Les microorganismes les plus fréquemment à l'origine des IUSV (Infection Urinaire sur Sonde Vésicale) restent dans 60 % des cas les entérobactéries de la flore digestive ou la région anale du patient, natives ou modifiées par l'exposition à une antibiothérapie, ou par transmission croisée, avec prédominance d'*Escherichia coli* (25%). Dans les services de réanimation, après les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* (16 %), *Candida* (15 %) et les entérobactéries (12%) occupent une place non négligeable. Ces agents pathogènes vont former un biofilm sur sonde urinaire et être à l'origine d'une infection. Ces microorganismes proviennent aussi des micro-flores transitoires portées par le personnel hospitalier.

Tableau 6 : Fréquence des infections urinaires selon le type d'agents pathogènes rencontrés D'après RAISIN 2004 [106]

Micro-organisme rencontrés	Pourcentage d'infection
<i>Escherichia coli</i>	25
<i>Entérocoques spp</i>	18
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16
<i>Candida albicans</i>	15
<i>Enterobacter spp</i>	12
<i>Klebsiellia pneumoniae</i>	8

Le mécanisme de formation de biofilms sur une sonde urinaire est simple .Une fois la sonde posée, un film protéique va se déposer à sa surface et favoriser la fixation de micro-organismes, et par conséquent entraîner la formation d'un biofilm. Une fois que les bactéries ont colonisé la sonde et l'uro-épithélium, elles doivent s'adapter à l'environnement formé par le tractus urinaire et se procurer des nutriments.

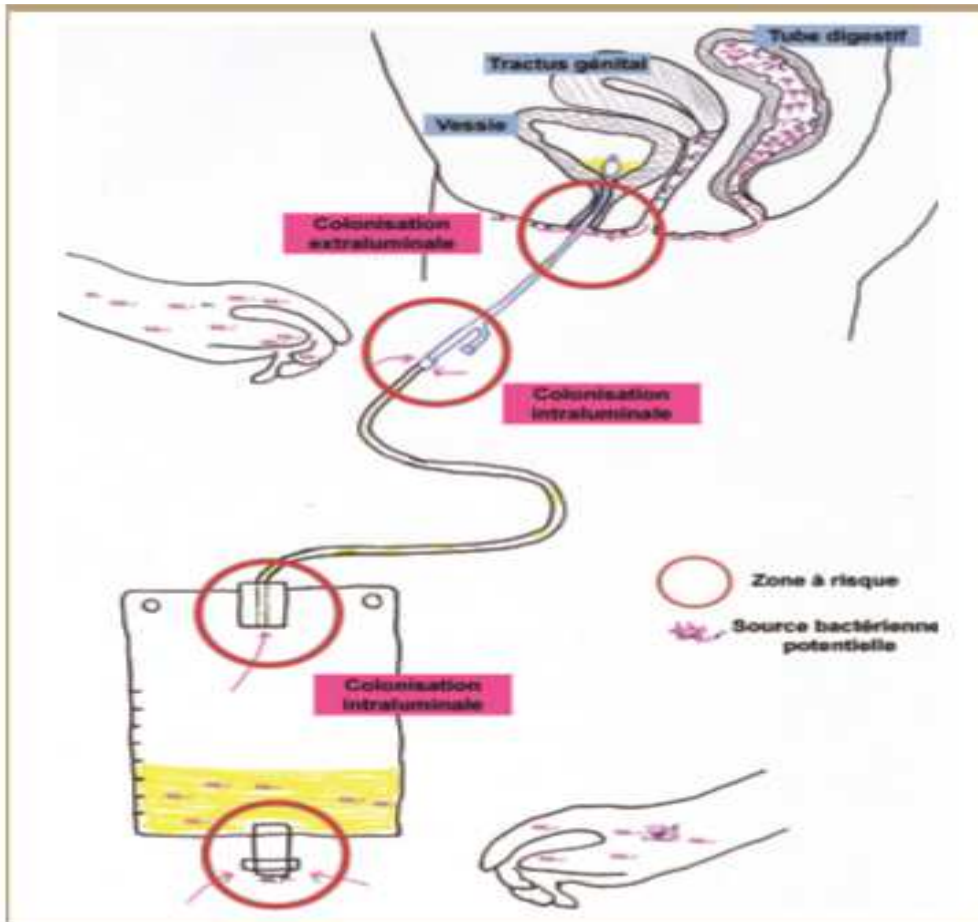


Figure 17 : Principale voies d’acquisition des micro-organismes lors d’un sondage vésical [102]

Lors de l’insertion de la sonde, la muqueuse urétrale peut être endommagée et son effet protecteur vis-à-vis des micro-organismes est alors altéré. Les zones altérées de la muqueuse uro-épithéliale suite à la pose de la sonde sont de nouveaux sites de fixation potentiels pour les bactéries. La pose d’une sonde dans de mauvaises conditions d’hygiène peut favoriser la pénétration de germes dans le tractus urinaire.

Les complications les plus fréquentes après la pose d’une sonde urinaire sont les infections nosocomiales du tractus urinaires, ou CAUTIs 10 à 50% des patients porteurs d’une sonde urinaire pendant une courte durée (7 jours) ont une infection urinaire due au

développement de biofilms sur la sonde, et 100% des patients sont infectés lorsqu'ils gardent la sonde pendant une durée supérieure à 28 jours.

Les CAUTIs (Catheter-Associated Urinary Tract Infections) sont asymptomatiques dans 90% des cas. Mais peuvent devenir symptomatiques (bactériurie, pyurie...). Le patient va développer dans ce cas une cystite, une urétrite, une hyperthermie mais il peut aussi présenter des signes cliniques plus sévères : pyélonéphrite aiguë, calculs, bactériémie et lésions rénales. [107].

La persistance des infections au sein du tractus urinaire s'explique par le fait que les bactéries du biofilm résistent aux mécanismes de défense immunitaire de l'hôte, via la production de capsules, de protéases dirigées contre le complément et les peptides antimicrobiens et de lipopolysaccharides. Etant moins sensibles aux antibiotiques, elle cause le risque de récurrence de l'infection [107].

Il faut retirer la sonde urinaire ou la changer lorsque le drainage est indispensable. En effet la colonisation urinaire n'est pas une indication au traitement systémique par un antibiotique car son utilisation dans ce contexte ne permet pas de diminuer le risque de survenue d'épisodes symptomatiques mais le risque de promouvoir l'apparition de résistance bactérienne [107].

La formation en cours d'emploi pour le personnel et l'éducation aux patients constituent les bases susceptibles de mener à une réduction des risques d'infections urinaires. Pour le personnel il doit éviter le sondage vésical abusif, les indications et la durée du sondage doivent être limitées aux strictes nécessaires ; des études ont indiqué que 21 à 38% des sondages étaient non justifiés. Il est également recommandé de procéder à la pose d'une sonde de manière à minimiser l'introduction de bactéries et à réduire les traumatismes physiques qui y sont associés. Entre autres, l'utilisation d'un cathéter de composition et de taille optimale pour le patient, l'emploi des principes d'insertion stériles, le recours à des systèmes de drainage clos, l'entretien rigoureux de la sonde et son changement opportun réduiraient les risques d'infections. Parmi les pratiques actuelles, il faudrait surveiller l'utilisation de produits antibiotiques en prophylaxie et les anti-cholinergiques en raison des effets secondaires reconnus [107].

➤ **Biofilms associés aux cathéters vasculaires**

Disposer d'un abord vasculaire est essentiel pour la prise en charge des patients relevant de la réanimation, la cancérologie, ou de l'hémodialyse...L'implantation d'un cathéter vasculaire permet la réalisation rapide d'une expansion volumique, l'administration de médicaments, de nutrition parentérale ou de produits sanguins, ainsi que la surveillance cardio-vasculaire et le maintien d'une voie d'accès veineux en situation d'urgence.

Les cathéters vasculaires sont, à égalité avec le site urinaire, les premières causes des bactériémies nosocomiales. Ils sont à l'origine d'1 bactériémie sur 5, dont la moitié liée aux cathéters veineux centraux [102].

Les micro-organismes en cause proviennent de la flore cutanée du patient, de la microflore exogène du personnel hospitalier, ou encore d'environnements contaminés. . Les micro-organismes les plus fréquemment isolés sont (Tableau 7): *staphylocoques à coagulase négative* (38 %) puis les *Staphylococcus aureus* (27 %), *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, et les *enterobactérie*. En réanimation, après les *cocci à Gram positif* (49 %), *entérobactéries* (28 %) et *Pseudomonas aeruginosa* (13 %) occupent une place non négligeable parmi les microorganismes responsables des colonisations des CVC (Central venous catheter) [104,108].

Tableau 7: Liste de micro-organismes isolés à partir de biofilms formés sur des cathéters veineux centraux, D'après Donlan 2008[108]

Bactéries Gram- positives	Bactéries Gram- négatives	Autres micro- organismes
<i>Corynebacterium spp</i>	<i>Acinetobacter spp</i>	<i>Candida spp</i>
<i>Enterococcus spp</i>	<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Acinetobacter anitratus</i>	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Mycobacterium chelonae</i>
<i>Staphylococcus spp</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Eschrichia coli</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Staphylocoques coagulase négatifs	<i>Klebsiella oxytoca</i>	
<i>Streptococcus spp α- hémolytiques</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Streptococcus spp</i> (viridans streptococci)	<i>Proteus spp</i>	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Providencia spp</i>	
	<i>Serratia marcescens</i>	

Comme pour tout dispositif implanté, dans les 24 heures suivant l'insertion du cathéter dans l'organisme, débute la constitution du biofilm à l'origine d'infections locales et/ou systémiques. Schématiquement, trois voies d'acquisition des microorganismes sont décrites dont les deux premières se succèdent pour un cathéter de longue durée.

La colonisation par voie extraluminale du cathéter est le mécanisme le plus fréquemment évoqué pour les cathéters à émergence cutanée. Dans les premiers jours suivant la pose. Les bactéries des flores du patient, cutanée surtout ou oropharyngée, du professionnel, ou provenant d'un antiseptique contaminé migrent via le site d'insertion, suivant la surface externe du cathéter, le long du trajet sous-cutané. Cette contamination peut aussi survenir secondairement lors de la réalisation des pansements du site d'insertion. En ce

qui concerne les CCI (Cathéter à chambre implantable), ce mécanisme est secondaire à cause de leur implantation chirurgicale dans une loge hermétique sous-cutanée.

- La colonisation intraluminaire du cathéter a pour origine l'introduction de microorganismes dans la lumière du cathéter à partir du connecteur lors de la manipulation des raccords sur la ligne veineuse (injection, déconnexion) ou par une préparation injectable contaminée. Elle devient prépondérante pour les cathéters maintenus au-delà de 4 jours (CVP) (Central venous pressure) ou de 7-10 jours (CVC). C'est le mécanisme le plus fréquent pour les chambres à cathéters implantables en raison des injections itératives dans le réservoir après passage à travers la barrière cutanée [102].

- La colonisation de la portion intravasculaire du cathéter peut également se faire par voie hématogène secondairement à un ou des épisodes bactériémiques occasionnés par la présence d'un foyer infectieux à distance (urinaire, pulmonaire, chirurgicale, digestif ou autre). Elle est considérée comme rare (< 10 %) [108].

Au contact du flux sanguin, la surface du cathéter se recouvre d'un film protéique (plaquettes, plasma, fibronectine, laminine, ou fibrine). La présence de ce dernier va modifier les propriétés physico-chimiques de la surface du cathéter et favoriser la formation de biofilms, et ce dès 3 jours après la pose du cathéter [108].

La localisation et l'extension du biofilm sur le cathéter dépend de la durée de la cathétérisation. Les cathéters de courte durée (inférieure à 10 jours) ont des biofilms au niveau de la partie externe du cathéter alors que les cathéters de longue durée (30 jours) ont des biofilms plutôt au niveau de la lumière du cathéter.

Le risque infectieux varie selon le site d'insertion, l'immunocompétence du patient, la durée de pose et le type de cathéter. Alors que le diagnostic d'infection liée à un cathéter se fera à l'aide de prélèvements d'hémocultures différentielles et ou de prélèvements de pus au niveau de sites d'insertions et / ou de la culture du cathéter.

Pour prévenir les infections liées aux dispositifs intravasculaires, il faut tout d'abord limiter les facteurs de risques. A côté des facteurs de risque liés au malade qui sont difficilement contrôlables, tels que les âges extrêmes ou l'immunodépression, d'autres facteurs ont été identifiés : les conditions de pose du cathéter et l'expérience de l'opérateur, le site d'insertion, le matériau du cathéter et son utilisation (durée de pose, fréquence et

condition de manipulation de la ligne veineuse, type de soluté perfusé selon sa composition, son pH, son osmolarité).

Une étude a évalué l'efficacité d'antibiotiques (vancomycine et gentamicine) dans le traitement de la bactériémie liée à la présence d'un cathéter chez des patients hémodialysés. Le traitement antibiotique a été efficace dans seulement 32% des cas, ce qui suggère que les traitements systémiques anti-microbiens ne sont pas un moyen efficace de juguler la formation de biofilms sur les cathéters [109]. Mais l'éradication des biofilms reste possible. Celle-ci dépend de la nature des micro-organismes composants le biofilm, de l'âge du biofilm, de l'agent anti-microbien utilisé et de la durée du traitement. Des stratégies autres que les traitements systémiques de routine ont été mises en place. On peut citer parmi elles la thérapie anti-microbienne de verrouillage. Brièvement, cette thérapie consiste en l'instillation de fortes concentrations d'agents anti-microbiens directement dans le cathéter colonisé par les biofilms, pendant une durée suffisante, afin d'éradiquer le biofilm. Il faut cependant faire très attention à l'apparition d'éventuelles résistances. Pour l'instant, le meilleur moyen de lutter contre les biofilms réside dans la rigueur des conditions d'hygiène dans le milieu hospitalier [108].

➤ **Biofilms et valves cardiaques artificielles**

Des biofilms peuvent se former sur des prothèses de valves cardiaques. Les principaux micro-organismes responsables sont : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus sppet* *Candida albicans*. Ces micro-organismes proviennent de la peau, d'implants médicaux comme les cathéters veineux centraux ou ont une origine dentaire. Le geste chirurgical permettant l'implantation d'une valve cardiaque artificielle induit des lésions tissulaires. Des plaquettes et de la fibrine ont tendance à s'accumuler au niveau de la zone d'implantation de la valve. Les biofilms rencontrés se forment plutôt au niveau des tissus avoisinants la prothèse ou des sutures que sur la valve en elle-même, aboutit à la formation d'endocardite infectieuse [102,110].

➤ **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 » [102].

Les pneumopathies associées aux soins représentent environ 15 % des infections nosocomiales et occupent, avec les infections du site opératoire, le deuxième rang des sites infectés. Leur incidence varie entre 0,5 à 1 cas pour 100 admissions, et augmente de 6 à 20 fois chez les patients, adultes ou enfants, sous ventilation mécanique. Ce qui place les pneumopathies acquises sous ventilation au 1er rang des infections nosocomiales en réanimation. Les patients atteints de ces pneumopathies nécessitent une ventilation mécanique et un séjour prolongés ainsi que des antibiothérapies souvent lourdes, responsables d'un surcoût non négligeable. La mortalité attribuable aux PAVM pourrait excéder 10 %.

La pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) pourrait aussi bien être nommée pneumopathie liée à la sonde d'intubation. Cette dernière favorise les deux principaux mécanismes reconnus comme à l'origine de la PAVM. Le biofilm bactérien qui se dépose dans la sonde d'intubation est un des mécanismes de développement des pneumonies acquises sous ventilation mécanique. Ce biofilm peut se détacher spontanément sous l'effet de la ventilation par un effet d'aérosolisation (jusqu'à 60 cm du Réanimation) ou détachement induit par le passage de la sonde d'aspiration endotrachéale du les trachées vers le poumon qui mobilise alors un agrégat de biofilm [102].

Contrairement à d'autres matériels biomédicaux placés dans des zones stériles (pacemaker et cavités cardiaques, prothèses et articulations, etc.), la sonde d'intubation est placée à travers la cavité oro-pharyngée jusque dans la trachée où se trouvent de nombreuses bactéries résidentes. D'autres bactéries peuvent les rejoindre en migrant de la sphère oropharyngée en suivant soit la surface externe de la sonde, via le ballonnet, soit la surface interne lors des aspirations.

Le mécanisme d'acquisition principal est la micro-inhalation de sécrétions contenant des microorganismes pathogènes, endogènes ou exogènes (transmission croisée à partir d'un autre patient ou de l'environnement), colonisant les voies aériennes supérieures et digestives.

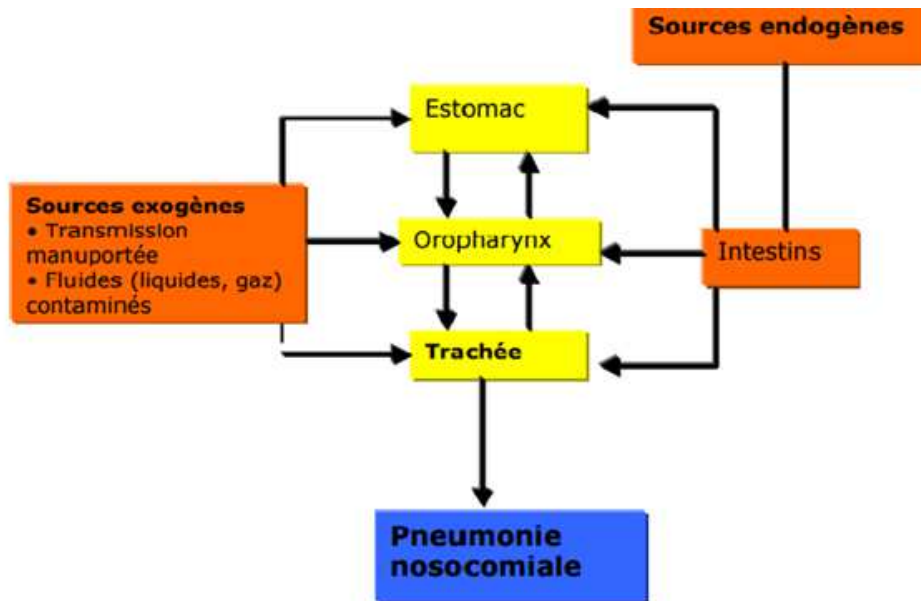


Figure 18 : les voies de la colonisation bactérienne pouvant conduire au développement d’une pneumonie nosocomiale [111]

Les microorganismes en cause varient en fonction du délai de survenue de la PAVM par rapport à l’intubation. Dans les PAVM survenant précocement (< 5 jours de ventilation), les espèces bactériennes habituellement responsables (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, *staphylocoque doré sensible à la méticilline...*) sont souvent présentes dans la flore oropharyngée commensale. Elles sont due à une inhalation lors de l’incubation et sont généralement moins sévères que les PAVM tardives (plus que 5 jours) dans lesquelles on trouve une flore modifiées avec *P.aeruginosa*, *Acétobacters baumani*, *desenterobacteries* dont la sensibilité peut être modifiée par une antibiothérapie préalable à large spectre [112].

Les facteurs de risques prédisposant au développement d’une pneumonie chez un patient ventilé mécaniquement sont nombreux. Certains sont liés au patient lui-même comme l’âge, la présence d’une BPCO (Broncho Pneumopathie Chronique Obstructive) ou d’une diminution de l’état de conscience. D’autres facteurs sont « modifiables » comme le décubitus dorsal, la nutrition parentérale, une prophylaxie des ulcères de stress, le changement

fréquent des circuits du ventilateur, la prévention des auto-extubations, une pression basse dans le ballonnet de la sonde d'intubation et une antibiothérapie large spectre préalable. La reconnaissance de ces facteurs de risque et de la physiopathologie de la PAVM a permis de développer une série de méthodes préventives

Les efforts de prévention peuvent être dirigés selon 3 axes majeurs :

- limiter l'exposition au risque en privilégiant la ventilation non invasive, en réduisant la durée de ventilation mécanique par des protocoles de sevrage et en évitant extubations non programmées et/ou réintubations.

- limiter la colonisation bactérienne des voies aériennes supérieures et digestives en antiseptiques, en réservant la prophylaxie antiulcéreuse aux patients à haut risque d'ulcère de stress.

- prévenir l'inhalation en installant le patient en position demi-assise (30°), en vérifiant régulièrement la pression du ballonnet de la sonde endotrachéale, en aspirant les sécrétions sous-glottiques [112].

Différentes techniques ont été proposées pour la réduction du biofilm bactérien comme imprégnation de la sonde d'intubation par l'argent qui a des propriétés antibactériennes C'est la technique actuellement la plus développée. Cette technique a été très critiquée et ne permet pas de retenir actuellement la sonde imprégnée d'argent comme technique de routine pour prévenir la PAVM car une baisse significative de la colonisation pulmonaire n'a été montrée que sur des modèles animaux. D'autres techniques consistant à aspirer, à brosser ou à détruire le mucus par photosensibilisation sont en cours d'évaluation et n'ont pour l'instant démontré leur efficacité que sur la diminution du biofilm [113].

➤ **Biofilms et les infections ostéo-articulaires sur matériel (IOAM)**

Les infections ostéo-articulaire sur matériel constituent l'une des complications les plus redoutées en chirurgie. Elles sont estimées entre 2000 et 2500 cas par an en France 2005[114].

Ces infections peuvent avoir des conséquences fonctionnelles importantes pour le patient, voire mettre en jeu le pronostic vital. Leur prise en charge doit faire l'objet de

concertations pluridisciplinaires entre chirurgiens, infectiologues, microbiologistes, radiologues, anesthésistes et rééducateurs fonctionnels.

Le matériel utilisé en chirurgie orthopédique peut être :

- du matériel d'ostéosynthèse, comprenant le matériel interne apposé à l'os ou situé en position centromédullaire (plaques, clous, vis, greffons, ligaments artificiels, ...) et les fixateurs externes ;

- des prothèses, considérées comme définitives. Leurs ablations ne peuvent être envisagées qu'au prix d'une dégradation fonctionnelle importante ;

- des substituts osseux et allogreffes.

Les implants se recouvrent de protéines de l'hôte rapidement après leur pose, favorisant l'attachement des bactéries puis la formation de biofilm, à l'origine d'infections ostéo-articulaires sur matériel. Un inoculum bactérien inférieur à 1 000 unités formant colonies est considéré comme suffisant pour déclencher le processus infectieux. Le biofilm s'étend en quelques heures à quelques jours à toute la surface du matériel, expliquant qu'un lavage chirurgical tardif au-delà de 15 jours soit inefficace. Ces constatations physiopathologiques expliquent la nécessité de l'ablation du matériel le plus souvent, surtout lorsque l'infection est ancienne, l'implant descellé ou l'état immun du patient défavorable [115,116].

Les bactéries peuvent provenir :

- d'une contamination directe de l'extérieur :

- lors d'un geste invasif : il s'agit d'infection sur site opératoire ou d'infection après un geste thérapeutique ou diagnostique ;

- post-traumatique : l'os et son matériel peuvent être exposés à l'air lors d'effraction cutanée provoquée par un agent vulnérant ou par une fracture ouverte, des escarres, des vascularites, des artérites, ... ;

- d'une contamination par contiguïté : l'infection des parties molles peut se propager aux structures ostéo-articulaires à proximité en suivant préférentiellement des territoires de drainage lymphatique ;

- d'une contamination par voie hématogène.

Les staphylocoques sont les bactéries le plus souvent isolées dans les infections sur matériel orthopédique. La fréquence des souches de *staphylocoque à coagulase négative*

(particulièrement *Staphylococcus epidermidis*) rejoint celle de *Staphylococcus aureus*. Les infections sont le plus souvent mono-microbiennes (90 %). Parmi les autres bactéries isolées, les streptocoques (βhémolytiques ou non hémolytiques), entérocoques, *Pseudomonas aeruginosa*, les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*) et les anaérobies (*Propionibacterium acnes*) sont à retenir.

Il faut cependant souligner qu'en présence de matériel, n'importe quelle espèce bactérienne peut être impliquée, y compris *Brucella*, *Pasteurella*, *Listeria*, *Haemophilus*, *Campylobacter*, ... [115].

Les mesures générales de prévention des infections en chirurgie orthopédique et traumatologique sont :

- la préparation cutanée (asepsie et la préparation antiseptique des mains et du site opératoire en préopératoire),
- l'antibioprophylaxie par voie systémique,
- l'antibiothérapie locale à visée prophylactique sous forme de ciments imprégnés d'antibiotiques, qui est recommandée dans le cadre d'arthroplastie de première intention.

La mise en place de mesures préventives a réduit le risque d'infection per-opératoire à moins de 1 % pour les prothèses de hanche et à moins de 2 % pour les prothèses de genou [114,117].

➤ **Biofilms et prothèses oculaires**

Les études concernant le rôle des biofilms dans les infections oculaires sont récentes et incomplètes, et beaucoup sont uniquement descriptives. Un grand nombre d'hypothèses sont proposées mais elles n'ont pas encore été vérifiées. Les biofilms bactériens joueraient un rôle non négligeable dans les infections bactériennes oculaires. Ils peuvent être présents sur des matériaux placés sur l'œil ou dans l'œil, comme les lentilles de contact, les lentilles intraoculaires et les fils de suture.

Aux Etats-Unis, 56% des ulcères cornéens diagnostiqués sont associés au port de lentilles de contact. L'incidence des kératites bactériennes est plus élevée chez les porteurs de lentille de contact que dans la population générale. La contamination bactérienne ne dépend pas du type de lentilles utilisées (dures ou souples) ou du type de produit de décontamination utilisé, mais le port de lentilles de contact favorise le développement d'infections cornéennes

en induisant une hypoxie cornéenne, une hypercapnie et des lésions de l'épithélium cornéen. Les lentilles de contact offrent aussi une surface sur laquelle les bactéries peuvent se fixer et former des biofilms [119].

L'une des complications les plus sérieuses faisant suite à la pose d'une lentille intraoculaire lors de chirurgie correctrice de cataracte est l'endophtalmie. La formation de biofilms sur la lentille intraoculaire placée lors de la chirurgie pourrait jouer un rôle dans cette pathogénèse de l'endophtalmie. Elle constitue en effet une surface abiotique sur laquelle des biofilms peuvent se fixer. Par le biais de cette fixation, les bactéries échappent aux mécanismes d'élimination des bactéries ayant lieu dans la chambre antérieure de l'œil. Cette complication post-opératoire est très rarement rencontrée : entre 0,1 et 0,3%. Aux Etats-Unis, *Staphylococcus epidermidis* est retrouvé dans 70% des cas d'endophtalmie aiguë en complication post-opératoire de chirurgie de cataracte. [120]

Aussi les biofilms sont responsables d'autres complications comme la kératopathie infectieuse cristalline, appelée aussi IDK17. C'est une forme rare de kératite microbienne caractérisée par la présence de structures cornéennes en forme de cristaux, associée à la présence d'un œdème cornéen. Des biofilms bactériens ont été mis en évidence dans des biopsies de cornées réalisées chez des patients atteints d'IDK : la matrice d'exopolysaccharides est colorée par le rouge Ruthénium. L'antibiothérapie est peu efficace dans le traitement de cette infection. Comprendre le rôle des biofilms bactériens dans les infections oculaires pourrait guider les recherches et le développement de nouvelles stratégies antimicrobiennes spécifiques à l'ophtalmologie [119].

Alors ces infections liées aux dispositifs médicaux peuvent être considérées comme une conséquence du progrès médical dans la mesure où elles n'existaient pas avant l'introduction de ces mesures thérapeutiques. L'existence de ces complications n'obère pas le bénéfice clinique qu'ils apportent mais impose que tout soit mis en œuvre pour les prévenir et que patients, médecins traitants et infirmières de ville soient informés de leur existence et des moyens disponibles pour les prévenir. Bien qu'une intense recherche fondamentale soit en cours pour améliorer l'arsenal des mesures préventives, le trépied associant réduction de l'indication et de la durée des dispositifs-asepsie et hygiène-formation du patient et du personnel soignant reste le pivot de la prévention [121].

VII-DIAGNOSTIC D'UNE INFECTION A BIOFILM

1-Diagnostic indirect d'infection à biofilm, signes cliniques :

Plusieurs critères ont été proposés afin de définir si une infection est associée, ou non, à un biofilm :

- les bactéries doivent être associées à une surface ou dépendantes d'un substrat ;
- les bactéries doivent être organisées en agrégats cellulaires ou communautés enchâssés dans une matrice composée d'éléments bactériens ou de l'hôte ;
- l'infection initiale doit être confinée à un site de l'organisme ;
- l'infection doit résister à l'antibiothérapie, bien que les bactéries testées en phase planctonique y soient sensibles...

Parmi les complications médicales liées aux biofilms, peuvent être distinguées les infections liées à un matériel implanté et les infections chroniques. Les signes cliniques relatifs à l'infection surviennent dans les jours ou les semaines, voire les mois ou années qui suivent l'intervention [91].

En fonction du micro-organisme responsable, de nombreux critères cliniques sont souvent utilisés pour le diagnostic indirect d'une infection associés aux biofilms par exemple :

- Présence d'une infection plus de 30 jours,
- Présence d'une infection subaiguë,
- Réinfection à l'arrêt du traitement,
- Présence d'une infection intermittente (exacerbation),
- Présence d'un séquestre, de nécrose ou de corps étranger synthétique,
- Réponse aux stéroïdes ou inhibiteurs TNF-alpha,
- Présence d'un biofilm visible [122].

2-Les outils utilisés en laboratoire pour diagnostiquer les infections liées aux biofilms :

Le diagnostic des infections à biofilm est difficile. Il est souvent faussement négatif, probablement parce que les micro-organismes persistante adhérer à une surface, mais pas sous forme planctonique .Les Fragments de biofilm individuels avec des centaines de cellules

slime-clos peuvent donner une seule colonie sur la gélose, ou peuvent ne pas se développer tout à cause de l'état de dormance de la bactérie embarquée.

Les infections avec des biofilms sur les dispositifs implantés peuvent être divisées en deux groupes: infections de faible grade (indolente et succinique) et celle qui est associée à des manifestations cliniques. La différence est liée en partie aux espèces bactériennes impliquées.

Les microorganismes très virulents (par exemple, *Staphylococcus aureus* et les *Bacilles à Gram négatif*) sont généralement impliqués dans les infections caractérisées par l'apparition précoce de symptômes liés à la production de toxines et de facteurs de virulence et à la propagation de l'infection à distance de la porte d'entrée au moyen de la métastase septique. Les patients atteints des infections de haute qualité impliquant prothèse orthopédique par exemple éprouvent généralement des fièvres, une douleur persistante, un érythème, de l'œdème, d'hématomes massifs locaux et des perturbations du processus de réparation des plaies. La douleur est souvent grave lorsque ces infections sont provoquées par *Pseudomonas aeruginosa*, et cela peut être un reflet du grand frappant nombre de protéases, leukocidines, et d'autres facteurs de virulence codés dans ce pathogène de extensif génome. Infections liées au dispositif de cette catégorie sont généralement suspectées précocement et traitées rapidement.

D'autres bactéries qui sont moins virulentes (par exemple, *staphylocoques à coagulase négative*) sont généralement la cause de bas grade. Ces infections peuvent rester cliniquement en silence pendant des années tandis que les bactéries accumulent lentement sur l'appareil. Cellules planctoniques se détachent de surface lorsque le biofilm arrive à maturité et se répandront dans tout le corps, induisant une complète réaction inflammatoire liée à une septicémie. Le retard d'apparition de l'infection (arbitrairement définis comme ceux apparaissant six mois ou plus après dispositif implantation) [123].

a-Procédures diagnostiques conventionnelles

- Les tests sanguins non spécifiques :

Plusieurs tests de laboratoire sont utilisés pour détecter l'inflammation et l'infection bactérienne possible par un agent pathogène. Ces essais, cependant, ne sont pas spécifiques

pour la présence de bactéries et peuvent être trompeurs lorsqu'elles sont interprétées de manière incorrecte.

Le nombre de globules blancs et leur répartition cellulaire dans le sang ne sont pas assez discriminatifs pour affirmer ou infirmer une infection.

En Europe, la vitesse de sédimentation ne s'utilise habituellement plus comme moyen de diagnostic d'une infection.

La protéine-C réactive dans le sérum (CRP) est élevée après chaque geste chirurgical et se normalise en l'espace de quelques semaines. C'est pour cette raison que des contrôles à répétition donnent de meilleures informations qu'une valeur unique en postopératoire. Une augmentation de la CRP après une diminution initiale postchirurgicale parle en faveur d'une infection.

La mesure des leucocytes dans le liquide synovial et la répartition représentent un test simple, rapide et précis pour différencier une infection de prothèse d'un descellement aseptique.

Dans une étude récente, la valeur de la procalcitonine (PCT) après une chirurgie orthopédique peut être utilisée [124].

- **Microbiologie conventionnelle :**

L'utilisation de plusieurs cultures de sang. Présente plusieurs inconvénients, des faux négatifs peuvent émerger quand un traitement antibiotique a été administré avant l'échantillonnage du sang. Cependant, le problème principal est que les espèces bactériennes les plus fréquemment responsables d'infections par biofilm sur les implants médicaux ne sont pas les réels agents pathogènes, mais font partie de la flore commensale de l'hôte [123].

La coloration de Gram du liquide synovial et du tissu périprothétique montre une spécificité élevée (97%) mais généralement une sensibilité basse (26%). Les cultures de plaies superficielles ou de fistules sont fréquemment positives à cause de la colonisation microbienne du tissu périlésionnel mais ne correspondent souvent pas aux germes qui se trouvent vraiment en profondeur.

Ces examens devraient donc être évités. Il est primordial si possible d'arrêter toute antibiothérapie deux semaines avant d'effectuer des prélèvements tissulaires pour les cultures microbiologiques, et la sensibilité de ces cultures peut ainsi aller de 65% à 90%.

Lors de prélèvements d'échantillons en préopératoire, il faudrait prélever au moins trois spécimens afin d'augmenter les chances de trouver un germe.

Il ne faut cependant pas oublier que des cultures peuvent être négatives à cause, d'un nombre très bas de germes, d'un moyen de culture et de transport inapproprié, d'organismes très fragiles ou d'un temps de transport trop important entre la salle d'opération et le suivi microbiologie[124,125].

- **Etude histopathologique :**

L'analyse histologique des prélèvements peropératoires est rarement réalisée en routine. Pourtant elle permettrait de faire un diagnostic d'infection avec une sensibilité de plus de 80 % et une spécificité de plus de 90 % mais elle existe cependant d'importantes variations inter-observateurs et chez un même malade en fonction des sites prélevés. Cette variation dépend de façon très importante du pathologue [124 ,125].

b-Nouvelles méthodes de diagnostic :

-Sonication des implants :

Au cours de ces dernières années, les outils de diagnostic ont été améliorés par la mise en œuvre de nouvelles méthodes diagnostiques comme la sonication. L'utilisation de la sonication pour des implants explantés provoque un décollement des micro-organismes de la surface d'un implant et augmente de façon significative la sensibilité de la culture, surtout si le patient a été ou est encore sous traitement antibiotique [124].

Cette Méthode (traitement aux ultrasons) permet le détacher, en douceur, des biofilms de la surface. À cet effet, l'implant est plongé dans un liquide (solution de Ringer stérile) au laboratoire de microbiologie, afin que les ultrasons agissent sur l'ensemble de la surface. Dans un bain à ultrasons spécialement conçu pour cette méthode, les implants sont brièvement soumis à des ultrasons de basse fréquence et de faible intensité. Le biofilm se détache alors de l'implant sous l'effet de micro-courants, de forces de cisaillement et d'oscillation de micro-

bulles, sans que les structures cellulaires ne soient détruites. Les microbes sortent de leur matrice et redeviennent planctoniques [126].

Les microorganismes ainsi, recueillis dans le liquide de sonication sont ensuite mis en culture et, au besoin, identifiés par PCR.

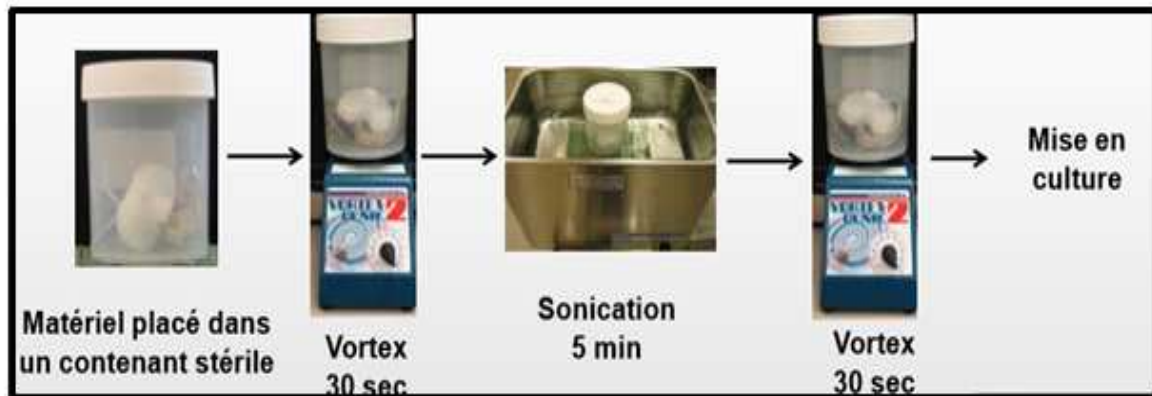


Figure 19 : les étapes de la sonication utilisée dans les laboratoires de bactériologie [127]

Les indications de la sonication est pour l'ensemble des infections associées à des implants :

- implants orthopédiques (prothèses articulaires, ostéosynthèses).
- stimulateurs cardiaques, défibrillateurs automatiques implantables, valves cardiaques.
- prothèses mammaires.
- implants analogues pouvant être retirés de l'organisme dans des conditions d'asepsie

Les fragments osseux et les tissus mous ne peuvent pas être analysés par cette technique de sonication.

La sonication d'implants s'est révélée spécialement utile chez des patients qui avaient reçu des antibiotiques au préalable. De plus, les cultures après sonication ont pu aider à identifier des infections mixtes, contrairement aux analyses de tissus périprothétiques habituelles. Une étude a montré que la sonication de 331 prothèses de hanches et de genoux a été testée dans des containers solides, la sensibilité des cultures du liquide de sonication était plus élevée que lors de l'examen de tissu périprothétique avec une spécificité de 99% pour les

deux. Le prétraitement d'une prothèse par sonication augmente les résultats de la culture périarticulaire conventionnelle de 30% [124].

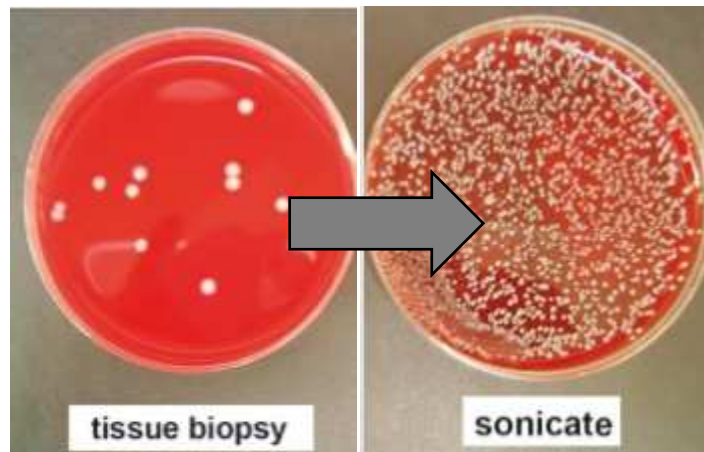


Figure 20: Augmentation significative de la sensibilité des cultures après sonication [127]

-Microcalorimétrie :

Les lacunes des méthodes de diagnostic actuelles sont que le diagnostic ne se fait pas en temps réel, qu'elles prennent du temps et que l'on ne peut pas prendre de bonne décision en salle d'opération. Par conséquent, le développement d'outils de diagnostic rapides et précis, permettant de détecter un large éventail de micro-organismes et leur résistance aux antimicrobiens, est toujours plus nécessaire.

Le microcalorimétrie isotherme (IMC) est une technique prometteuse et particulièrement adaptée à l'étude des échantillons microbiologiques dans des environnements complexes ou hétérogènes car elle ne nécessite pas la clarté optique de l'échantillon et est capable de détecter l'activité métabolique d'aussi peu que 10 cellules. Ce procédé présente l'avantage qu'il permette la détection de la biomasse bactérienne sans enlever le biofilm de la surface de l'échantillon [124].

La microcalorimétrie a été utilisé pour la détection rapide et précise des micro-organismes soit par exemple dans les liquides céphalorachidiens, des concentrés de plaquettes et pour des tests de sensibilité aux antibiotiques. Dans un travail récent, les

chercheurs ont étudié les courbes de mesures du flux de chaleur avec la calorimétrie du liquide de sonication des implants récupérés. Sept prothèses infectées sur un total de 34 ont montré une augmentation de la production de chaleur indiquant une répllication des micro-organismes, tandis que 27 prothèses non infectées n'ont produit aucune chaleur [125].

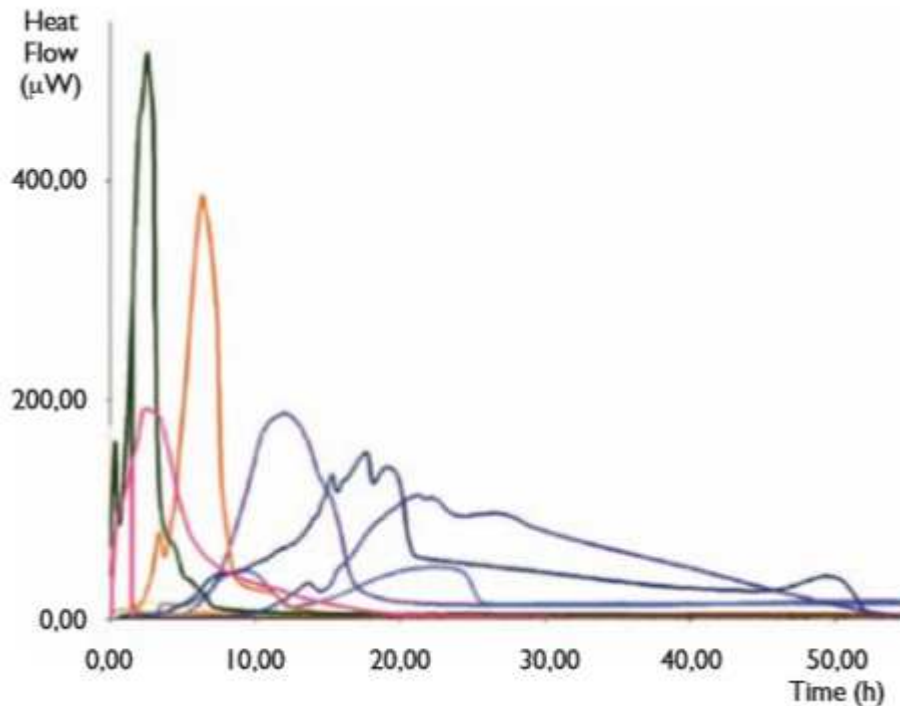


Figure 21 : Courbes de mesures du flux de chaleur avec la calorimétrie du liquide de sonication des implants récupérés [125].

3-Les méthodes d'études des biofilms :

Le rôle des laboratoires n'est pas limité au diagnostic mais il joue un rôle primordial dans l'étude et l'analyse de ce mode de vie en biofilm .Pour prévenir et lutter contre ces biofilms, une meilleure compréhension de leurs mécanismes de formation est nécessaire. De nombreuses méthodes d'étude de la formation et du développement des biofilms ont été utilisées au cours des dernières années .Ces méthodes sont groupées en techniques destructives avec lesquelles le biofilm est détruit après l'application de ces techniques et d'autres qui sont non destructives avec lesquelles le biofilm peut continuer son

développement après l'application de ces techniques. Nous présentons quelques méthodes de chaque groupe [128].

a- Techniques destructives :

- Le comptage direct

C'est la méthode classique, fondée sur la séparation des bactéries associées sur une surface, puis l'évaluation du nombre et le type de microorganismes présents. Pour cela, plusieurs méthodes ont été proposées :

- Sur une cellule de comptage sous un microscope avec ou sans coloration.
- La cellule de Malassez (Hématimètre) : Il s'agit d'une lame dont l'une des faces est creusée en carrés avec des dimensions connues. La suspension bactérienne est placée dans la cuvette puis recouverte d'une lamelle. Des volumes précis sont donc délimités au niveau des quadrillages dans lesquels les microorganismes sont comptés au microscope avec ou sans coloration. Le nombre compté est rapporté au volume délimité.
- L'ensemencement d'un volume défini d'échantillon sur milieu de culture gélosé (boîte de Pétri) permet, après incubation, de calculer la quantité de microorganismes viables cultivables présentes dans l'échantillon analysé. Le résultat est exprimé en Unités Formant Colonie par millilitre (UFC/ml). Plusieurs procédés peuvent être appliqués pour désagréger les microorganismes de leur biofilm comme la sonication et l'agitation avec des billes de verre [129].

- Etude in vitro en microplaques

Des modèles d'étude in vitro en microplaques ont été développés. Ces tests ont l'avantage d'être relativement rapides et peu coûteux. Ils permettent de réaliser de nombreux tests simultanément, notamment pour tester l'effet de plusieurs facteurs influençant la formation de biofilm, comparer la capacité de formation de biofilm de souches sauvages et de souches mutantes, ou encore tester la sensibilité des bactéries au sein du biofilm aux agents antimicrobiens.

Après 24 à 48h de culture, un biofilm peut se former au fond de la microplaque. Des étapes de lavage éliminent les bactéries n'ayant pas adhéré, puis on peut observer et

quantifier la formation de biofilm grâce à l'ajout d'un composé coloré ou fluorescent (figure 22). La détection du biofilm formé repose sur la mesure de la biomasse (quantification de la matrice et des bactéries vivantes ou non), de la viabilité (quantification des bactéries vivantes) ou de la matrice (quantification des composants spécifiques de la matrice) [130].

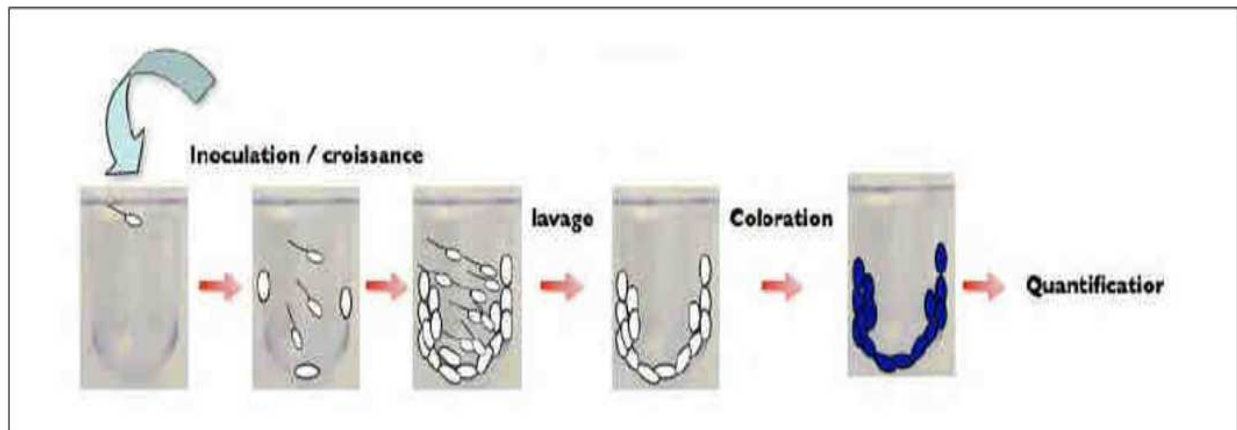


Figure 22 : Principe des techniques de quantification des biofilms en microplaque. [107]

- Mesure de la biomasse

La méthode de quantification de la formation de biofilm utilisant le Crystal Violet (CV) a été décrite la première fois par Christensen et al. en 1985 [131], puis modifiée pour augmenter sa précision et permettre la quantification de la biomasse totale par résolubilisation du colorant. Le CV est un colorant basique qui se lie aux molécules de surface chargées négativement et aux polysaccharides de la matrice extracellulaire. Les bactéries vivantes, les bactéries mortes et la matrice exopolysaccharidique sont donc colorées par le CV. Cependant, de nombreux facteurs physiques, chimiques et biologiques peuvent influencer cette fixation [107].

Chaque puits de la microplaque est inoculé avec une suspension bactérienne. Après incubation de la microplaque, des étapes de lavage, de mise en contact avec le CV, de nouvelles étapes de lavage et de redissolution du colorant sont nécessaires pour mettre en évidence la formation de biofilm par une coloration violette (figure 23). La densité optique, mesurée par spectrophotométrie à 560 nm dans un lecteur de microplaque, est proportionnelle à la quantité de biomasse dans le puits de la microplaque.

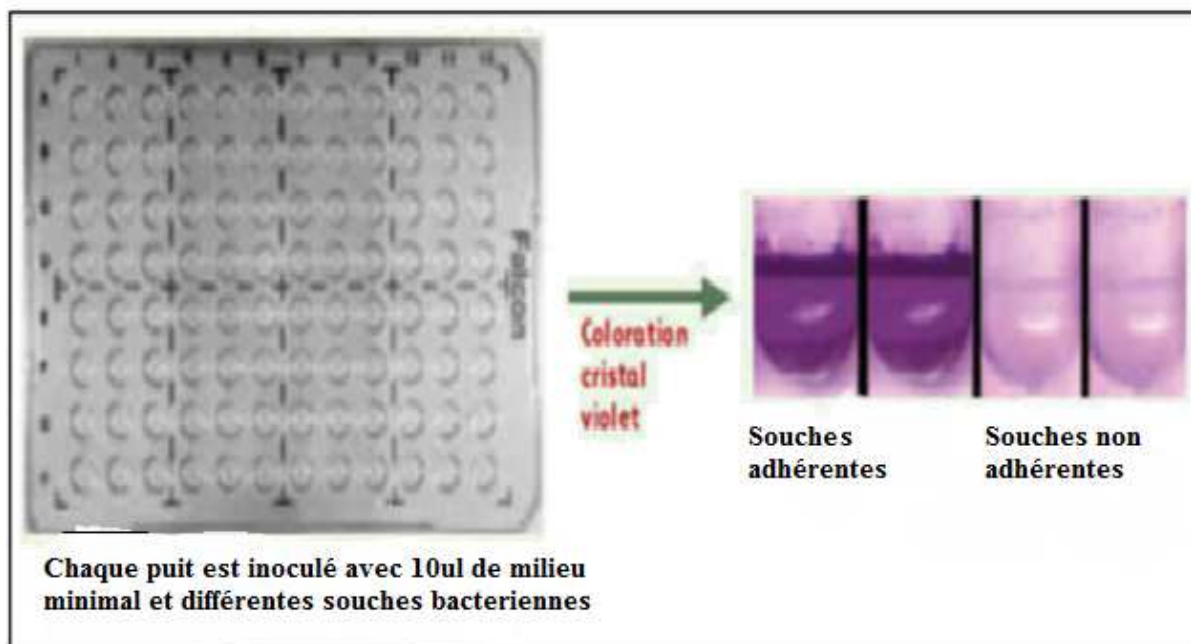


Figure 23 : Principe de mesure de la biomasse par la méthode au (CV) Crystal Violet. [20]

Ce colorant permet la quantification de la biomasse de biofilm de faible épaisseur (âgés de quelques heures ou quelques jours). Du fait de la difficulté de la pénétration du CV dans un biofilm épais (quelques semaines voire quelques mois), cette méthode doit être modifiée pour être adaptée aux biofilms épais

Le CV est un produit cancérigène, nocif en cas d'ingestion, d'inhalation ou de contact avec la peau et toxique pour l'environnement aquatique (figure 24).



Figure 24 : Toxicité du Crystal Violet (EMD, 2009) [132]

•Mesure de la viabilité cellulaire

Il peut être intéressant de différencier les bactéries vivantes des bactéries mortes, notamment lorsque l'on teste l'effet d'agents antimicrobiens sur les bactéries au sein du biofilm. Des techniques de quantification basées sur l'activité métabolique des bactéries vivantes ont été développées en utilisant différents composés :

Le XTT (sel de tétrazolium) est un composé jaune pouvant être réduit par les bactéries métaboliquement actives en formant, un colorant orange. Le formazan est soluble dans l'eau et peut être directement quantifié par spectrophotométrie. Le test au XTT a été largement utilisé pour la quantification de cellules viables dans les cultures de bactéries planctoniques, et a montré son intérêt dans l'étude de la formation de biofilm chez d'autres espèces fongiques et bactériennes. Certaines limites à l'utilisation de ce réactif ont été décrites. Par exemple, la modification des états métaboliques des bactéries au cours des différentes étapes de formation des biofilms peuvent entraîner des fluctuations dans leurs capacités à métaboliser le colorant, de plus des variabilités inter et intra-espèces ont été reportées [130 ,133].

Plus récemment, Une autre technique a été développée en utilisant la résazurine. Elle a été utilisée avec succès pour la quantification de la formation de biofilm en microplaque et pour évaluer l'efficacité d'agents antimicrobiens dans la lutte contre les biofilms chez différentes souches bactériennes et fongiques. La résazurine est un colorant non toxique de couleur bleue qui peut être réduit par les bactéries métaboliquement actives en résorufine, un composé rose fluorescent. La quantité de résorufine, mesurée par fluorimétrie, est directement proportionnelle au nombre de bactéries viables présentes dans le milieu. [134] [135]

Une étude a montré la supériorité du test au FDA (fluorescéine diacétate) pour la quantification des biofilms par rapport aux tests utilisant le XTT et la résazurine. Les estérases responsables du clivage du FDA forment un groupe d'enzymes dont l'activité semble plus stable malgré les changements phénotypiques. Le FDA est un composé non fluorescent hydrolysable en un composé jaune, absorbant à 490 nm et très fluorescent, par des estérases intra et extracellulaires non spécifiques produites par les bactéries et les champignons viables [136].

- Mesure de la matrice : le DMMB (1,9-dimethyl méthylènebleu)

La matrice extracellulaire est un élément essentiel à la formation et au maintien d'un biofilm mature. Le DMMB forme un complexe insoluble en présence des polysaccharides sulfatés de la matrice du biofilm. Le taux de colorant libéré après ajout d'une solution de décomplexation est mesuré par un spectrophotomètre : la densité optique est proportionnelle au taux de polysaccharides sulfatés présents dans la matrice. Le test au DMMB a été initialement développé pour la détection d'aminoglycanes, puis a été optimisé pour permettre la quantification des biofilms à *S. aureus*. Il a montré une bonne répétabilité pour différentes espèces bactériennes [137,138].

Ensemble de ces méthode d'étude en microplaques utiliser présente des inconvénient , la nécessiter des coloration et de lavages manuels à l'eau, ce qui les rendent difficilement reproductible des biofilms, D'où la nécessiter de développement d'un nouvelle technique Ring Test ; cette technique ne présente pas d'étape de lavage ni d'étape de coloration, ce qui limite les variations de résultats liées à l'opérateur et simplifie la technique.

- **BioFilm Ring Test®**

Ce Biofilm Ring Test est basé sur la capacité des bactéries adhérentes du biofilm à immobiliser des particules magnétisables. C'est un nouvel outil de travail en microbiologie, pratique et rapide, pour étudier le potentiel des micro-organismes à former des biofilms. Il permet aussi de trouver de nouvelles molécules capables d'inhiber ou de retarder la formation de ce biofilm.

L'analyse est très simple, réalisée grâce à des supports en plastiques standards de 96 puits. Chaque puits reçoit une solution bactérienne et des particules magnétisables. Un champ magnétique créé par un aimant va attirer les particules au centre du puits, ce qui va se traduire par un spot visible sur l'écran du lecteur. En cas de formation d'un biofilm, les bactéries ont adhéré au fond du puits, immobilisant ainsi les particules. Aucun spot n'est visible sur l'écran. Le test ne nécessite aucun lavage et dure quelques minutes. Hautement reproductible, cette technique est en cours d'automatisation. Elle devrait permettre de réaliser des milliers de tests par jour.

- Simple : Pas de lavages ni de coloration ;
- Rapide : 2 minutes d'analyse ;
- Performante : haut débit (1000 tests par jour), automatisable ;
- Pertinente : spécifique des « biofilms ».

De plus, le Ring Test® permettrait de détecter plus précocement la formation de biofilm, dès l'étape d'adhérence des bactéries à la surface de la microplaque [138,139].

- **Méthodes dynamiques : Les cuves à flux continu**

En parallèle des méthodes en microplaques, Des chercheurs ont développé d'autres modèles de biofilms artificiels, reproductibles d'un laboratoire à un autre. Les cuves à flux continu sont de petites chambres à parois transparentes dans lesquelles des biofilms submergés peuvent se former et sont continuellement approvisionnés en nutriments. Comme l'indique le nom de la technique, les biofilms sont dans un milieu aqueux, caractérisé par un flux de liquide, dont la vitesse est constante. Les biofilms formés dans ces cuves à flux continu peuvent être facilement observés avec les techniques de microscopie confocale à balayage laser, on obtient ainsi des images de biofilms à tous leurs stades de développement.[36]

b-Techniques non destructives

Les principales méthodes d'observation des biofilms sont (microscope à fluorescence, microscope confocal à balayage laser, microscope électronique à balayage). Ces techniques permettent d'obtenir des informations détaillées mais sont difficiles à réaliser.

- **Microscope optique**

Le microscope est un instrument permettant d'observer visuellement les petits objets généralement invisibles à l'œil nu. L'agrandissement angulaire et la résolution optique et numérique sont des propriétés qui influencent la performance du microscope. Le microscope a fourni une vaste gamme de méthodologies permettant de visualiser la morphologie de biofilm avec de nombreux objectifs. Sous le microscope il y a deux modes d'observations : la microscopie à fond clair permet d'observer des échantillons colorés. En microscopie à fond

noir, l'image est créée par la diffraction de la lumière. Le microscope optique en mode fond noir a été utilisé par en combinaison avec l'analyse d'image pour quantifier la cinétique de croissance, la mobilité et le comportement des micro-organismes sur les surfaces [140].

- **Microscopie à Force Atomique (MFA)**

C'est une forme de scanner utilisant une sonde fine (« pointe » de 10 nanomètres) pour suivre la topographie d'un échantillon et retranscrire les profils de la surface étudiée au niveau de l'atome. La pointe produit soit une attraction causée par la force de Van des Waals, soit une répulsion. Ces forces provoquent des déplacements de la pointe, entraînant des déviations du levier qui sont enregistrées et traitées par ordinateur pour donner le relief à la surface. Il n'est pas limité en résolution comme le microscope optique [140].

La microscopie à force atomique (AFM pour Atomic Force Microscopy) a récemment émergé parmi les techniques d'étude du monde bactérien. Elle permet, par le balayage de la surface par une sonde d'échelle nanométrique, d'obtenir des images topographiques de la surface de cellules bactériennes avec une résolution pouvant aller jusqu'à l'échelle atomique. L'AFM est également conçue comme outil d'investigations moléculaires grâce à la spectroscopie de force. Elle permet d'étudier les propriétés mécaniques et conformationnelles des polymères de surface. Ce type d'études permet d'avoir une meilleure vision des interactions, mettant en jeu les structures de surface, entre les cellules bactériennes et leur environnement [141,142].

L'étude des systèmes microbiologiques doit se faire préférentiellement dans un environnement aqueux pour se rapprocher des conditions physiologiques afin qu'ils soient dans leur état natif. Or, dans ces conditions, le contact entre les bactéries et le substrat est réduit à une faible surface et n'est assuré que par des faibles liaisons facilement perturbées par le balayage de la sonde AFM, ce qui peut entraîner le détachement des bactéries du substrat et la destruction de l'échantillon.

Dans le cas de bactéries planctoniques, il existe différentes méthodes d'immobilisation de bactéries. On distingue l'immobilisation électrostatique, chimique et mécanique. En revanche, dans le cas de biofilms bactériens, l'adhésion des bactéries au substrat fait intervenir des forces plus importantes que celles mises en jeu lors de l'adhésion de bactéries

planctoniques à un support ainsi que des interactions complexes entre les cellules bactériennes, les EPS et le substrat. Le détachement de cellules est donc moins problématique, et peut être minimisé en ajustant les paramètres expérimentaux d'enregistrement [140,142].

- **Microscopie électronique à balayage (MEB)**

La microscopie électronique à balayage est une technique de microscopie électronique basée sur le principe des interactions électrons-matière. Elle permet d'obtenir des images tridimensionnelles en haute résolution de la surface d'un échantillon. Le principe est d'envoyer un faisceau d'électrons sur la surface de l'échantillon à analyser qui, en réponse, réémet certaines particules. Ces particules sont analysées par différents détecteurs qui permettent de reconstruire une image en trois dimensions de la surface. Le premier microscope électronique fut commercialisé en 1965. Les microscopes électroniques à balayage les plus récents, dits « environnementaux » ne nécessitent pas de vide poussé [140].

La vision en relief du microscope électronique à balayage permet une bonne observation des micro-organismes grâce à sa profondeur de champ, nettement plus élevée que celle des microscopes optiques. Mais progressivement, la microscopie électronique à balayage a été supplantée par la microscopie confocale à balayage laser.

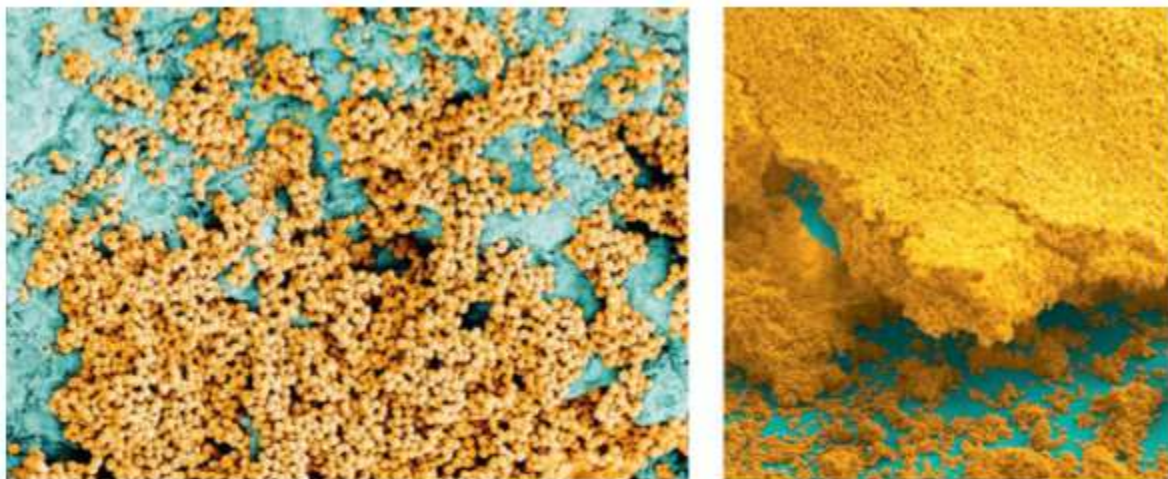


Figure 25 : Images obtenues par microscopie électronique de cellules de *S. aureus* adhérentes et formant des biofilms chez l'hôte sur une valve cardiaque (à gauche) et un tube endotrachéal (à droite). [70]

- **Microscope confocal à balayage laser (MCBL)**

Pour résoudre les défauts du microscope optique (notamment la difficulté de mise au point dans le cas d'objets épais), la surface est éclairée par un rayon laser qui balaye la surface en positionnant un diaphragme (« pinhole en anglais») devant le détecteur. Ici il n'y a pas une image complète de l'échantillon. A chaque instant donné un seul point de l'échantillon est observé et seuls les photons provenant du plan focal passent le diaphragme et participent à la formation de l'image, d'où le nom confocal (mono focal). La Figure 26 montre le principe du microscope confocal à balayage laser. A chaque niveau horizontal à travers l'épaisseur du biofilm, l'appareil prend les informations et les regroupe pour former une image. Le microscope confocal a une résolution un peu meilleure à l'horizontale qu'en vertical. Pratiquement, la meilleure résolution horizontale d'un microscope confocal est d'environ 0,2 microns, et la meilleure résolution verticale est d'environ 0,5 microns [140].

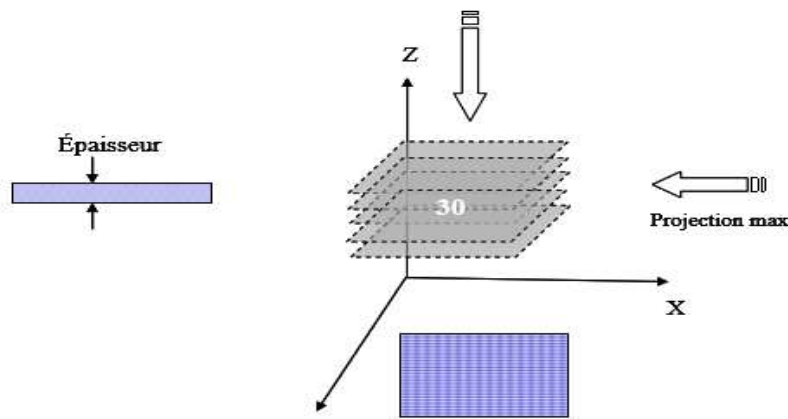


Figure 26 : Principe de l'étude du biofilm par MCBL. Le biofilm est scanné verticalement en tranches et chacune est composée des points focaux. L'ensemble forme une image 3D. [140]

Le microscope confocal à balayage laser offre plusieurs avantages par rapport aux microscopes optiques conventionnels. Il permet de :

- visualiser des structures complexes à fort grossissement.
- réaliser des coupes optiques à travers l'épaisseur de l'échantillon dans les cas où les applications de microscopie traditionnelle sont limitées, ce qui permet des reconstructions en trois dimensions.

- visualiser simultanément plusieurs marqueurs fluorescents.

Des produits fluorescents ont été adaptés à la visualisation des microorganismes des biofilms : l'acridine orange (AO), l'iodure de propidium, la rhodamine Rh 123 et le chlorure de 5-cyano-2',3'-ditoyl (CTC) sont souvent utilisés. Par exemple les couleurs de fluorescence obtenues avec l'AO sont un reflet de la viabilité des cellules. Lors de la croissance, la quantité d'ADN des microorganismes est supérieure à la quantité d'ARN et la fluorescence des cellules est verte. En revanche, les cellules mortes ont peu d'ADN et un haut contenu d'ARN ; la fluorescence est dans la partie jaune/orange de la gamme. L'ensemble des images permet de représenter la macrostructure du biofilm. Le traitement des images obtenues donne accès à la composition du biofilm en microorganismes et d'autres composants intéressants [143]

Il y a beaucoup d'applications du microscope confocal dans le domaine des biofilms ont montré que l'épaisseur du biofilm dans les réacteurs RBC dépend de la concentration du substrat. D'autres études sont orientées vers l'identification des microorganismes et leur activité biologique.

Cette technique permet de réaliser des études sur du matériel fixé, mais permet également d'étudier des phénomènes dynamiques, sur des cellules ou des tissus vivants, en particulier grâce à l'utilisation de molécules fluorescentes [144].

Actuellement le microscope confocal au laser est commercialisé pour diagnostiquer des infections à biofilms *in vivo*, technologie actuellement reconnue en ophtalmologie (pathologie de la cornée et de la paupière) et en dermatologie (pathologie oncologique) [122].



Figure 27: Equipement commercial de microscope confocal in vivo en ophtalmologie et en dermatologie [122]

Grace cette technique d'imagerie par fluorescence combinatoire qui permet de visualiser la structure en trois dimensions de la communauté microbienne. Des chercheurs ont constaté que les tumeurs du côlon ascendant (et non celles du côlon descendant) se caractérisaient par la présence d'un biofilm bactérien. Il s'agit d'un écosystème microbien, une sorte de matrice, composée de micro-organismes encastrés les uns dans les autres, qui se développe sur une surface (devenue substrat). D'après Jessica Mark Welch l'une des auteurs, qui travaille au Marine Biological Laboratory à Woods Hole (Massachusetts), « c'est la première fois que l'on montre que des biofilms sont associés avec le cancer du côlon ». La technique d'imagerie combinatoire pourrait donc être utilisée afin d'établir le diagnostic clinique de cancers et tumeurs précancéreuses dans le côlon ascendant [145].

Les méthodes d'étude des biofilms ont beaucoup évolué, en partie avec l'arrivée de la microscopie confocale et les outils du génie génétique. Leur standardisation a permis de réaliser des modèles d'infections associées à des biofilms, reproductibles d'un laboratoire à un autre. Ces méthodes connaissent un essor important depuis ces dix dernières années ce qui a aidé à mieux prévenir et lutter contre ces biofilms.

VIII-STRATEGIE THERAPEUTIQUE POUR LUTTER CONTRE LES BIOFILMS

Par les dommages qu'ils causent dans les milieux médical et industriel, les biofilms ont un impact économique important. Il est nécessaire de développer des moyens de lutte efficaces et pérennes contre la formation de biofilms.

De manière croissante ces dix dernières années, les recherches concernant les moyens de lutte contre les biofilms se multiplient. La lutte contre les biofilms peut se définir selon deux axes principaux : empêcher la formation de biofilms, et lorsqu'ils sont déjà présents, les détruire.

Il existe plusieurs moyens de lutter contre la formation de biofilms indésirables. On prendra l'exemple du milieu hospitalier, dans lequel les biofilms, à l'origine d'infections nosocomiales, posent de sérieux problèmes de santé publique.

1- Les mesures préventives qui empêchent la formation des biofilms :

Quelques principes fondamentaux sont indispensables à la prévention des infections sur matériel liées aux biofilms. Il faut limiter l'utilisation de ces dispositifs médicaux au strict nécessaire, les garder en place le moins longtemps possible, les poser dans des conditions strictes d'hygiène.

- Hygiène

La pose de l'implant doit se faire dans des conditions d'hygiène strictes, afin d'éviter au maximum toute contamination bactérienne. L'application de mesures d'hygiène maximale en contexte opératoire n'est pas spécifiquement une mesure antibiofilm. Néanmoins, la limitation des risques de contamination du site opératoire et l'application stricte des recommandations concernant la manipulation des dispositifs limitent le risque d'adhérence bactérienne initiale. Par exemple, lors de la pose de cathéters centraux, l'application de mesures d'asepsie chirurgicale a montré son efficacité pour réduire le risque infectieux associé à ces dispositifs [91].

Parmi les mesures de contrôle de la formation de biofilms sur les cathéters veineux centraux [109] :

- Préparation aseptique du site,
- Pose aseptique du cathéter,
- Durée de cathérisation minimale,
- Utilisation topique d'antibiotiques,
- Création d'une barrière mécanique en fixant le cathéter sur un implant fixé chirurgicalement,
- Recouvrement des parois de la lumière du cathéter par un agent antimicrobien.

Cependant ces règles ne sont pas suffisantes et de nombreuses recherches sont consacrées à la lutte contre la formation des biofilms. Les idées principales sont les suivantes :

- **Les dispositifs imprégnés de substances hydrophiles**

L'adhérence bactérienne dépend fortement des propriétés physicochimiques des matériaux constituant les dispositifs médicaux implantés, notamment leur hydrophobicité et les charges présentes à leur surface. Les dispositifs médicaux constitués de polymères hydrophiles à leur surface permettent de limiter l'adhérence des bactéries [146].

- **Les dispositifs imprégnés d'argent ou de substances antimicrobiennes**

L'utilisation de matériel imprégné d'antibactériens permet de libérer localement, au niveau du site à risque de colonisation, une concentration élevée d'agents antibactériens. Il existe aujourd'hui plusieurs types d'imprégnations : antiseptique (chlorhexidine- sulfadiazine argentique), antibiotique (rifampicine-minocycline, rifampicine- miconazole), héparine, ions argent. et plus récemment 5 fluorouracil. Près d'une cinquantaine d'études et de nombreuses méta analyse récentes suggèrent un bénéfice des imprégnations tant en terme de colonisation que de bactériémie liée aux cathéters. Des implants orthopédiques imprégnés sont également en cours d'évaluation. Le défaut principal de cette approche est sa durée d'action limitée qui restreint son intérêt aux dispositifs de courte durée ou à la prévention des colonisations peropératoires ou postopératoires précoces [91,147].

C'est pourquoi les recommandations actuelles françaises ne proposent pas l'utilisation systématique de ces dispositifs, mais seulement dans le cas, ou malgré une politique de

stratégie de prévention (éducation du personnel, précaution barrière stérile et chlorhexidine alcoolique lors de la pause le taux reste élevé [147].

L'argent a également montré son efficacité dans la prévention de la formation de biofilm pour les dispositifs intravasculaires mis en place moins de 10 jours. Il limiterait l'attachement et la croissance des bactéries [9].

- **Verrous d'antibiotiques ou d'éthanol préventifs**

Cette stratégie repose sur l'injection et le maintien, entre 12 et 24 h, d'un volume restreint d'antibiotiques très concentrés dans la lumière du cathéter. Actuellement, cette mesure est réservée aux patients porteurs d'un cathéter de longue durée ayant présenté, de multiples complications infectieuses, malgré la mise en place de mesures de prévention [91].

Le risque de recourir à cette stratégie de manière plus large et durable est de favoriser l'émergence de résistances bactériennes à l'antibiotique choisi. Parallèlement, certaines équipes ont développé l'utilisation de verrous « verrou antimicrobien » à base d'éthanol à visée préventive permettrait de limiter les infections liées à ces cathéters et des résultats prometteurs en nutrition parentérale pédiatrique ou en hémodialyse. La combinaison de 4 % de citrate de sodium et de 30 % d'éthanol préviendrait la formation de biofilm par des souches cliniques d'*E. Coli* pendant 72 heures [148].

- **Les verrous d'agents chélateurs**

Les cations métalliques (magnésium, calcium, fer) sont essentiels à la croissance bactérienne et peuvent être impliqués dans le développement et le maintien de la structure de la matrice du biofilm. Il a donc été proposé d'utiliser des verrous composés de chélateurs de ces métaux (**EDTA, citrate**) qui permettraient d'inhiber la croissance bactérienne, de prévenir l'adhérence initiale, voire de favoriser la destruction des biofilms. Les données in vitro sont encourageantes et les évaluations cliniques - portant principalement sur le citrate ou l'association de minocycline et d'EDTA à visée préventive - décrivent une réduction significative de l'incidence des complications infectieuses liées aux cathéters. De plus, ces chélateurs (l'EDTA, Ethylène Diamine Tétraacétique Acide) ou le citrate de sodium possèdent également une activité antimicrobienne

Des études ont été menées avec **la lactoferrine**, un agent chélateur du fer, joue un rôle dans les premières lignes de défense contre les organismes pathogènes invasifs, en les privants du fer nécessaire à leur croissance. La lactoferrine a été démontré bénéfique pour bloquer le développement des biofilms pathogènes .Mais plus de recherche est nécessaire pour démontrer l'efficacité de la lactoferrine dans le traitement des infections urinaires chronique [91,148].

2- Traitements curatifs pour l'élimination des biofilms déjà formés :

Une fois le biofilm formé, il est très difficile de l'éliminer. Dans le cadre des infections associées à un dispositif invasif, la réussite du traitement est très souvent conditionnée par l'ablation du dispositif. Cependant, l'antibiothérapie à long terme est nécessaire lorsque le dispositif ne peut être retiré.

- Élimination mécanique du biofilm

Le nettoyage mécanique reste l'un des moyens les plus efficaces pour lutter contre les biofilms. Il permet de les éliminer en détachant les micro-organismes de leur support, grâce aux forces de cisaillement importantes créées. Ceci est applicable pour les biofilms présents sur des supports variés : peau, implants médicaux et aussi les bâtiments et coques de bateaux ... En médecine équine, le premier traitement à mettre en place en cas de plaie cutanée importante est d'arroser la plaie au jet d'eau sous pression pendant au moins trente minutes afin de nettoyer cette dernière [12].

Le nettoyage qui précède la désinfection. Le but de cette dernière est de détruire les bactéries du biofilm, qui n'auraient pas été éliminées préalablement par le nettoyage. Toutes les molécules n'ont pas la même efficacité. L'usage de chlorexidine comme antiseptique n'est pas efficace pour réduire le nombre d'infections dues à des bactéries Gram-négatives et sélectionne des individus résistants à de nombreux agents anti- microbiens. La plupart des antiseptiques et désinfectants ont du mal à pénétrer au sein des biofilms, et les bactéries des biofilms sont résistantes à leur action. Cette méthode se révèle peu efficace [15].

- **Antibiothérapie**

Les biofilms sont caractérisés par des propriétés d'antibiorésistance élevée. De nombreuses recherches sont donc actuellement en cours afin de trouver le moyen de contrer cette antibiorésistance développée par les biofilms. Une hypothèse étant que l'on n'administre pas les antibiotiques à une dose suffisante pour éliminer le biofilm, c'est pour cette raison certains chercheurs cherchent à déterminer les concentrations d'antibiotiques qu'il faudrait pour éradiquer un biofilm [70].

La sensibilité aux antibiotiques n'est pas la même pour une bactérie donnée, il se diffère selon son mode de vie, planctonique ou en biofilm. Cette sensibilité est mesurée selon des techniques standardisées définies par le National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). La sensibilité des bactéries planctoniques relarguées par le biofilm, est évaluée par la Concentration Minimale Inhibitrice du Biofilm ou CMIB, de la même manière que la sensibilité aux antibiotiques de bactéries planctoniques qui est évaluée par la Concentration Minimale Inhibitrice ou CMI. La sensibilité aux antibiotiques des bactéries du biofilm est évaluée par la Concentration Minimale d'Eradication du Biofilm ou CMEB. La valeur de la CMEB renseigne sur la sensibilité des bactéries du biofilm à un antibiotique donné. Le but des recherches est de trouver des moyens pour lutter contre l'antibiorésistance des biofilms en déterminant leur CMEB [15,107].

Une antibiothérapie à long terme peut être efficace chez des patients atteints d'infections associées à la présence d'une prothèse intravasculaire. Ce traitement ne présente en aucun cas une alternative au traitement chirurgical (retrait de la prothèse) si ce dernier est possible ; mais c'est la meilleure solution pour les patients qui ne peuvent pas subir à nouveau une intervention chirurgicale (sénilité, maladies intercurrentes, risques per opératoires et post-opératoires, ou refus de la part du patient de subir l'intervention). Les agents anti-microbiens doivent être administrés par voie intraveineuse à la dose maximale tolérée par le patient, pendant une durée minimum initiale de 4 à 6 semaines. Lorsque la phase aiguë de l'infection est jugulée, on continue l'antibiothérapie par voie orale. On ne connaît pas la durée totale conseillée du traitement [149].

Les molécules qui pénètrent bien dans le biofilm telles que les fluoroquinolones et la rifampicine sont plus efficaces. Une étude a également montré que l'association amoxicilline-

acide clavulanique pénètre bien dans le biofilm (50 % de la concentration initiale après 1 heure d'incubation, 60 à 70 % après 6 heures), de même que la fosfomycine et la ciprofloxacine, de plus les macrolides ont montré leur efficacité dans la réduction des exopolysaccharides du biofilm : ils favorisent alors la pénétration des autres antibiotiques [148].

L'usage de c'est bithérapie pour cibler des bactéries dans des états métaboliques différents a également été suggéré chez *P. aeruginosa*. Une étude in vitro met en évidence la stérilisation d'un biofilm de *P. aeruginosa* par l'association de ciprofloxacine (une fluoroquinolone) et de colistine grâce à leur action différentielle en fonction de l'état métabolique de différentes niches bactériennes. En plus de l'intérêt prouvé ou potentiel des multithérapies,

Les verrous antibiotiques curatifs sont restreints aux cas d'infections liées à un cathéter de longue durée dues à certaines bactéries (principalement *staphylocoques à coagulase négatifs*) et en l'absence de complications. Dans ces cas, le taux global de succès avec conservation du cathéter en place est d'environ 80 %. L'éthanol, utilisé comme verrou à visée curative, constituerait également une option dans les infections de cathéter : elle est actuellement en cours d'évaluation clinique

Tableau 8 : Verrous antibiotiques curatifs étudiés en clinique [150]

Gram positifs	Gram négatifs	CG+ et BG-	Candida spp
Vancomycine	Amikacine	Vancomycine +ciprofloxacine	Amphotéricine B liposomale
Téicoplanine	Gentamicine	Vancomycine +ceftazidime	Ethanol 70%
Céfazoline	Ceftazidime	Ethanol 70%	
Daptomycine	Ciprofloxacine		
Ethanol 70%	Levofloxacine		
	Ethanol 70%		

Récemment, l'utilisation de nouveaux agents antibactériens permettrait de lutter contre l'infection chez les patients inopérables pendant une longue durée et de l'éradiquer. Ces nouveaux agents antibactériens et antifongiques ont une activité bactéricide rapide, et/ou un large spectre. On peut citer : la daptomycine, la caspofungine (activité bactéricide rapide), la tigecycline (large spectre) ou encore le ceftobiprole, une céphalosporine de 4ème génération, sont à l'étude. Cependant, les données concernant l'efficacité et l'innocuité de ces médicaments sont loin d'être complètes [149].

Cependant, l'antibiothérapie reste trop peu souvent efficace et ne doit pas remplacer le retrait du dispositif lorsque cela est possible [15].

- **L'ablation du dispositif**

En cas d'infection liée à un matériel implanté, l'ablation de ce dernier est souvent recommandée, car son maintien expose à un risque élevé d'échec thérapeutique. Cette décision peut être problématique pour certains dispositifs (stimulateur cardiaque, prothèse orthopédique) en raison des conséquences pour le patient et des coûts associés à l'immobilisation prolongée et à la pose d'un second matériel après antibiothérapie [91].

Malgré leurs intérêts respectifs, toutes ces approches présentent de multiples limites, et il est probable que le développement de traitements plus efficaces et plus ciblés passera par une meilleure compréhension des mécanismes à l'origine de ces limitations.

Compte-tenu de l'importance considérable des biofilms et des problèmes qu'ils posent, de nombreuses pistes de recherche sont consacrées à la lutte contre leurs formations. Ce sont souvent les nouvelles technologies qui sont utilisées.

3-Les nouvelles approches antibiofilms : les apports de recherche actuels

- **Revêtement biocompatible auto défensif destinés aux biomatériaux implantables**

La prévention de la colonisation des implants par des pathogènes responsables d'infections nosocomiales est une préoccupation médicale et économique majeure. L'immobilisation de molécules antimicrobiennes sur ces matériaux pourrait permettre d'empêcher leur contamination par des bactéries ou des levures. Dans ce contexte, des

chercheurs de l'institut Charles Sadron de Strasbourg (CNRS) viennent de mettre au point le premier revêtement biocompatible auto-défensif vis-à-vis à la fois des bactéries et des levures, destiné à recouvrir les implants médicaux.

Ce revêtement, obtenu par la technique couche-par-couche, est à base de polysaccharides, le chitosan (CHI) et l'acide hyaluronique (HA). Il contient également de la cateslytine (CTL), un peptide endogène antibactérien et antifongique qui a été greffé sur HA (HA-CTL).

La libération des peptides antimicrobiens (CTL) est obtenue par le pathogène lui-même qui produit l'enzyme responsable de la dégradation du revêtement. Il empêche donc la prolifération des bactéries de *Staphylococcus aureus* et des levures *Candida albicans* à son contact. Ces pathogènes, parmi les plus communs et virulents responsables des maladies nosocomiales, produisent de la hyaluronidase, une enzyme responsable de la dégradation du film et de la libération de CTL. La libération du CTL antimicrobien favorise ainsi l'élimination des pathogènes (Figure 28).

La biocompatibilité de ces films a également été testée vis-à-vis des cellules humaines. Les films de CHI/HA-CTL, sans être cytotoxiques c'est-à-dire sans nocivité pour les cellules, inhibent l'adhésion des fibroblastes humains (cellules du tissu conjonctif). Ces propriétés permettent d'envisager pour ces revêtements polymériques innovants des applications médicales particulièrement efficaces contre le développement d'infections microbiennes lors d'interventions chirurgicales ou après la pose de cathéters intravasculaires [151].

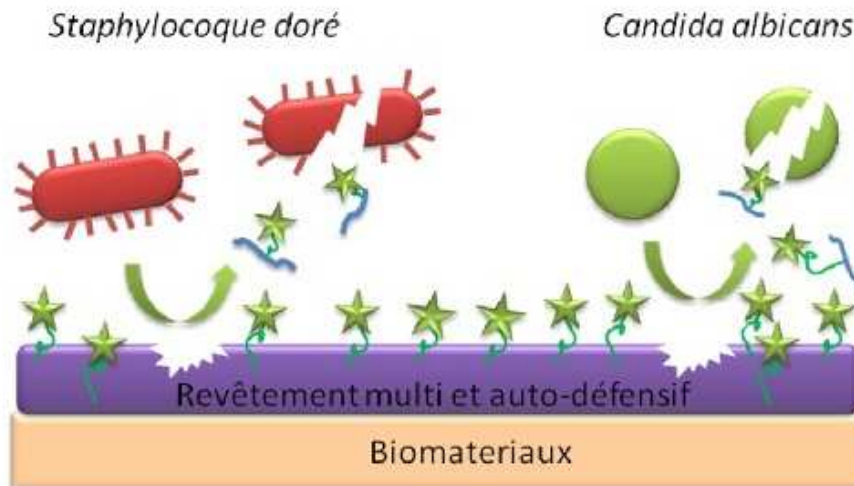


Figure 28: schéma simplifié des mécanismes d'action des revêtements biocompatible auto-défensifs [151]

D'autres revêtements retardent la fixation des micro-organismes par le jeu de forces de répulsion. Les antibiotiques ou le système immunitaire auraient alors le temps d'agir contre les micro-organismes non fixés. Cette technique de lutte contre les biofilms reste néanmoins peu efficace car la matrice extracellulaire qui se forme autour des prothèses peut elle-même être initiatrice de la formation de biofilms [15,108].

- Vers un vaccin antibiofilm

Pour inhiber l'adhésion des micro-organismes, on peut utiliser la vaccinologie. Des vaccins sont actuellement en cours de développement, comme par exemple les vaccins contre les caries, dirigés contre *Streptococcus* mutants. Le but de la vaccinologie est de former des IgA qui vont inhiber les phénomènes responsables de l'adhésion des micro-organismes. Certains vaccins ont été efficaces sur des modèles animaux, mais beaucoup restent encore à prouver. La finalité de cette vaccination est d'immuniser un individu contre certains antigènes bactériens exprimés lors de l'adhérence initiale (adhésines) ou dans le biofilm mature (polysaccharides de la matrice) afin d'empêcher le développement du biofilm [91 ,108].

Des travaux *in vitro* et *in vivo* ont montré que cette approche réduisait le risque par exemple de colonisation et d'infection des voies urinaires en ciblant des adhésines impliquées

chez des souches uropathogènes d'*Escherichia Coli*, et plusieurs vaccins ciblant *Staphylococcus aureus* ou *Staphylococcus epidermidis* sont en cours d'évaluation. Cette vaccination pourrait concerner des patients pour lesquels l'implantation d'un matériel tel que stimulateur cardiaque, valve cardiaque mécanique ou prothèse articulaire est programmée, ou encore chez les patients à risque d'infection chronique (mucoviscidose, infection urinaire) [107].

- **Brouiller les communications et limiter la maturation du biofilm**

Dans cette approche, il s'agit d'empêcher la maturation du biofilm en interférant avec les signaux de communication intra ou inter bactéries. Par exemple au niveau des molécules de signalisation du quorum sensing, afin de perturber l'architecture du biofilm et ses propriétés d'antibiorésistance, différentes approches ont été proposées

pour brouiller les communications de ce système, qui se diffèrent selon les bactéries en cause du biofilm [108]. Les biofilms formés par *Pseudomonas aeruginosa* reposent sur l'inhibition du quorum-sensing en utilisant des analogues structuraux des homosérines lactones, comme **les furanones**, qui réduisent le biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*, in vitro et in vivo. Les furanones sont donc des inhibiteurs potentiels du quorum sensing chez les bacilles à Gram négatifs. Ces inhibiteurs pourraient améliorer la sensibilité des bactéries au sein des biofilms à cet antibiotique [107,146].

Chez les *staphylocoques* une approche similaire a été proposée, le quorum sensing peut être inhibé par le peptide inhibant RNAlII (RIP). **RIP est un heptapeptide**, et en sa présence, les bactéries ne sont plus virulentes et ne causent pas de maladie. Des données in vivo dans un modèle de cathéter central chez le rat ou de plaie chronique chez la souris ont mis en évidence une réduction significative de la colonisation par certaines bactéries. Aussi l'utilisation de l'azithromycine, qui n'a qu'une activité faible contre *Pseudomonas aeruginosa*, altère les signaux de communication de la bactérie in vitro et in vivo et permet une amélioration de la fonction respiratoire et une réduction du nombre d'exacerbations chez les patients atteints de mucoviscidose. Néanmoins, il a été démontré que l'azithromycine pouvait avoir un effet immunologique direct chez l'homme dont les conséquences sont, pour l'instant, mal connues. [91].

Il y a quelques indications que les aliments qui contiennent des **furoscoumarins** inhibent la signalisation des auto-inducteurs, on peut le trouver par exemple dans le jus de pamplemousse ou la bergamote. Aussi certaines espèces d'algues sont à l'étude pour leur capacité à bloquer la signalisation des bactéries [152].

Une autre piste serait d'interférer avec la voie du di-GMPc qui est impliquée dans la régulation du mode de vie biofilm. L'inhibition de la biosynthèse de di-GMPc par le sulfathiazole ou le fluorouracile a été décrite. Bien qu'une étude clinique ait montré que l'utilisation de cathéters imprégnés de 5-fluorouracile permettait de réduire le risque de colonisation bactérienne, la toxicité chez l'homme du sulfathiazole ou du fluorouracile reste à évaluer. En plus de leur toxicité réelle ou potentielle, la limite de ces approches est que leur spectre d'action est étroit car elles ne ciblent qu'un nombre restreint d'espèces bactériennes. Il a également été démontré que certaines bactéries (comme *Pseudomonas aeruginosa*) étaient capables de déjouer cette approche en sélectionnant des clones plus virulents [91].

- Cibler la matrice exopolysaccharidique

La matrice exopolysaccharidique est essentielle pour la survie du biofilm. Les substances capables de dépolymériser, dissoudre ou d'empêcher la synthèse de cette matrice encore plus disperser le biofilm vont permettre l'exposition des micro-organismes du biofilm aux agents antimicrobiens. En règle générale, la matrice est composée de polysaccharides et de protéines associés à des lipides et des acides nucléiques, mais cette composition est variable, qualitativement et quantitativement, en fonction des souches et des conditions de croissance. Par exemple, la cellulose est un composant crucial dans la matrice extracellulaire d'*Escherichiacoli*, et le poly-N-acétylglucosamine est le composant majoritaire des biofilms à staphyloques [107].

En fonction de la composition des biofilms, différentes enzymes sont utilisables capables de dissocier les polymères composant la matrice extracellulaire du biofilm. Prenons l'exemple des biofilms de *Pseudomonas aeruginosa*. Ces derniers produisent un exopolysaccharide, l'alginate, aux propriétés intéressantes : il retarde la diffusion des aminosides au sein du biofilm et inhibe leur activité anti-microbienne. Si on ajoute au milieu une enzyme dégradant l'alginate, **l'alginate lyase**, on augmente le pouvoir de pénétration et

l'activité anti-microbienne de l'antibiotique (gentamicine, tobramicine) dans le biofilm [108]. **La dispersine B** est une enzyme bactérienne capable de dégrader le polymère de N-acétyl-glucosamine de la matrice du biofilm de plusieurs espèces bactériennes dont *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* et *Escherichiacoli*. **La DNase** quant à elle peut hydrolyser les acides désoxyribonucléiques contenus dans la matrice de certains biofilms les protéases, cellulases, polysaccharide dépolymérase [153].

Les biofilms étant souvent constitués de plusieurs espèces, des formulations contenant plusieurs enzymes semblent fondamentales pour une stratégie de contrôle efficace. Certains bactériophages peuvent aussi produire des enzymes comme le polysaccharide dépolymérase qui peuvent dégrader la matrice des biofilms [148].

-Utilisation de bactériophages.

En raison de l'émergence de nombreuses résistances aux antibiotiques, de nombreuses recherches sont actuellement menées afin de trouver des alternatives aux antibiotiques. Les bactériophages sont des prédateurs naturels des bactéries. Ils exercent sur elle un pouvoir bactéricide et c'est précisément ce pouvoir qui est recherché comme alternative aux antibiotiques. Une fois qu'une bactérie est infectée par un phage lytique, elle est complètement détruite. De plus, l'existence de résistances des bactéries face aux antibiotiques ne restreint en rien l'aptitude des phages à détruire ces bactéries, et c'est bien là l'intérêt principal de la phagothérapie visée actuellement.

Un bactériophage adopte soit un cycle de vie lysogénique (s'intégrant dans le chromosome de la bactérie hôte et étant répliqué en même temps que ce dernier) soit un cycle lytique au cours duquel de très nombreuses particules de virions seront formées, encapsidées et libérées de la cellule hôte dont la paroi sera détruite. La lysogénie du phage ne présente pas d'intérêt pour la thérapie et constitue même un risque de transmission de marqueurs acquis dans des bactéries résistantes aux antibiotiques [154].

Pour venir à bout d'un biofilm installé, il est intéressant de combiner des moyens physiques ou chimiques avec des antibiotiques, la combinaison d'un phage et d'un antibiotique permet à ce dernier d'atteindre sa cible. En effet, de nombreux phages codent

pour des glycanases qui s'attaquent à la matrice polysaccharidique, réduisent son épaisseur et permettent la progression à la fois du phage et de l'antibiotique vers l'intérieur du biofilm.

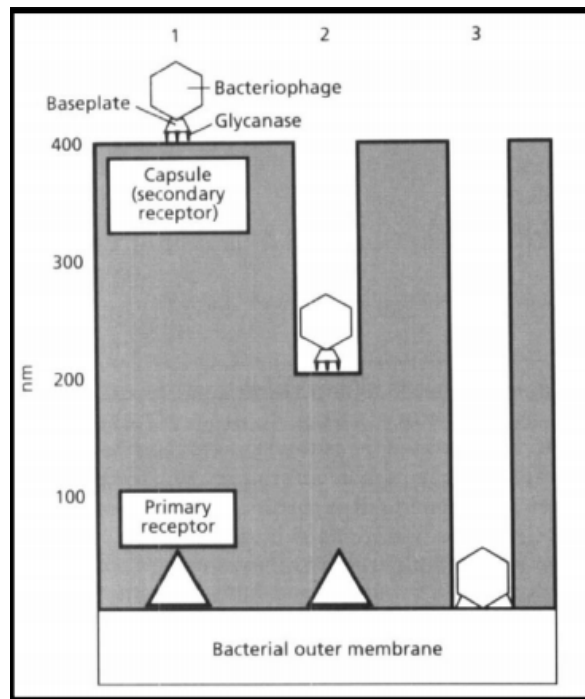


Figure 29:Schéma représentant la traversée d'un biofilm par un bactériophage. [156]

Ce schéma présente les trois étapes de pénétration d'un bactériophage au sein d'un biofilm. La première étape correspond à l'arrimage du phage au niveau d'une molécule de surface servant de « récepteur secondaire » (secondary receptor) et permettant au phage d'amorcer sa traversée de la capsule mucoïde du biofilm par dégradation de cette capsule grâce à une glycanase, comme exposé en étape 2. Cette traversée s'achève avec la fixation du phage à une molécule à la surface de la bactérie et servant de «récepteur primaire (primary receptor) [155].

Certains bactériophages possèdent une activité polysaccharide dépolymérase au niveau de leur plateau de fixation. Il a par exemple été montré que le bactériophage F116 de *P. aeruginosa* était capable de diffuser au travers d'un gel d'alginate et en diminuait la viscosité de plus de 40 %, et réduisait de 2-log le nombre de bactéries renfermées dans un biofilm

formé depuis 20 jours. Ces résultats ont également été confirmés pour d'autres bactériophages, NH-4 et MR299-2 [156].

Des bactériophages peuvent être instillés localement au niveau des cathéters. Par exemple l'activité de phages T4 réduit de façon notable les biofilms dans des modélisations in vitro. On n'observe pas de diminution de la sensibilité aux phages avec l'âge du biofilm. [108]

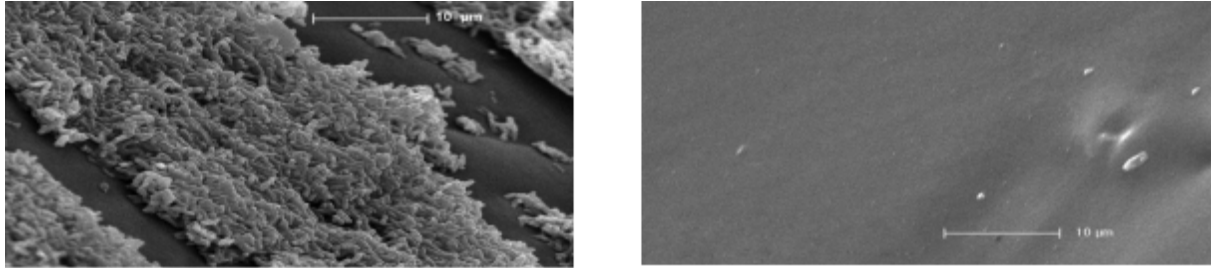


Figure 30 : l'efficacité d'un hydrogel chargé en phages pour éviter l'établissement de biofilms de *P. aeruginosa* sur des cathéters. [157]

- **Élimination ciblée d'une espèce microbienne au sein du biofilm.**

Cette méthode d'éradication des biofilms consiste à déstabiliser l'écosystème du biofilm en désorganisant totalement sa structure intime, par l'élimination ciblée d'une espèce bactérienne, que l'on aura choisi au préalable [15].

- **Potentialisation de l'action des antibiotiques.**

Il existe une synergie entre les antibiotiques (comme par exemple la gentamicine) et ultrasons qui permettent d'éliminer des bactéries planctoniques ou sous forme de biofilms. On parle d'effet bio-acoustique ou d'effet bio-électrique. Le mécanisme de cette synergie est mal connu, on peut penser qu'il résulte d'une perturbation de l'organisation membranaire de bactéries permettant ainsi une meilleure diffusion de l'antibiotique au sein du biofilm [108].

L'action synergique des ultrasons et de la gentamicine dans la réduction de biofilms d'*Escherichia coli* a été mise en évidence sur des modèles animaux. Les résultats de l'étude montrent de façon très significative que l'association d'ultrasons et de gentamicine est plus efficace que l'administration de gentamicine seule dans le traitement contre les biofilms [15].

Les antibiotiques peuvent augmenter aussi leur action par le sucre, comme les aminosides. Une équipe américaine vient de montrer que des sucres (mannitol, fructose) exerçaient un effet adjuvant en association à des antibiotiques. Ces sucres augmentaient l'entrée d'aminosides dans des bactéries persistantes, entraînant une plus grande mortalité bactérienne in vitro et dans un modèle in vivo d'infection liée à un biofilm d'*Escherichia coli* sur matériel implanté.

-Biofilms et plantes médicinales

Plusieurs plantes médicinales, huiles essentielles et produits naturels présentent des pistes très intéressantes pour stopper des infections reliées à des biofilms.

Certaines, comme la canneberge, inhibent l'adhésine, protéine utilisée par les bactéries pour adhérer aux surfaces, à la base de la formation des biofilms. Le jus de canneberge est d'ailleurs utilisé traditionnellement pour enrayer les infections urinaires qui sont, comme nous l'avons vu, reliées à des biofilms. Ou encore, *Allium sativum*, ce bon vieil ail utilisé par des milliers de personnes à travers le monde pour enrayer des infections de toutes sortes, a été beaucoup étudié en laboratoire et de manière très concluante. Xueqing Wu, chercheuse au Doctorat en microbiologie à l'Université d'Utrecht aux Pays-Bas, a même trouvé que les extraits d'ail fait maison (aqueux et alcooliques), testés contre la formation des biofilms, étaient plus efficaces que l'allicine isolé [158].

De nombreuses études ont été menées sur le potentiel antimicrobien des extraits des huiles essentielles confirme leur capacité de lutter contre les souches pathogènes. Comme *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis* qui ont prouvé une activité antibactérienne et anti-biofilm efficace contre les biofilms formés par *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* et *Escherichia coli*. Toutefois, les solutions désinfectantes à base de *Laurus nobilis* sont les plus efficaces pour enlever les bactéries fixées sur les surfaces d'acier inoxydable [159].

Ceci est en conformité avec l'étude de M. Mahboubi et G. Haghi (2008) qui ont constaté que l'huile de *M. pulegium* montre un fort effet bactéricide contre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* et *Escherichia coli*, mais à faible valeur CMI et

CMB que l'étude sus-citée. Cette différence est probablement attribuable à la différence dans la composition chimique de l'huile [160].

Ces études suggèrent que ces deux produits naturels *Laurus nobilis* et *Mentha pulegium* peuvent être de nouvelles alternatives pour assainir les surfaces d'acier utilisées dans des sociétés d'industrie agroalimentaire ; contaminées par des microorganismes pathogènes qui conduisent à des graves problèmes sanitaires et économique.

La liste des plantes médicinales efficaces pour assaillir les biofilms est longue et cette information, qu'elle provienne d'usages traditionnels empiriques ou d'un laboratoire, demeure utile et précieuse. L'incomparable pouvoir de régulation des plantes médicinales nous offre cependant l'occasion d'aller beaucoup plus loin : rétablir l'équilibre immunitaire, renforcer les tissus, réduire l'impact du stress, favoriser un microbiote sain, supporter une bonne détoxification et bien plus [158].

Tableaux9 : Liste non exhaustive des moyens de lutte spécifiquement actifs contre les biofilms

Mécanisme d'action	Evaluation in vitro	Evaluation in vivo	Utilisation chez l'homme
Inhiber l'adhérence initiale			
Bloqueur de la biogenèse d'adhésine	Inhibe la biogenèse de curli et de pili et prévient la formation de biofilm	Diminue la virulence d'une souche d'E. coli (modèle murin d'infection urinaire)	-
Inhibiteur de liaison entre l'adhésine d'E.coli et son substrat	Efficacité corrélée à la multivalence de l'inhibiteur de galabiose (substrat de l'adhésine)	-	-
lactoferrine	Inhibe l'adhérence irréversible de P.aeruginosa (via chélation du fer)	-	-
EDTA (chélateur du magnésium, du calcium et du fer)	Prévient la formation de biofilm et dégrade un biofilm préexistant	Avec minocycline : effet préventif dans un modèle d'infection liée à un cathéter chez le lapin	Avec minocycline en verrou d'antibiotique pour cathéters : réduction du nombre d'infections
Biomatériaux modifiés (polymères hydrophiles, etc.)	Réduction de l'adhérence de S.epidermidis, S. aureus ou E.coli	-	-
biosurfactants	Réduit la formation de biofilm (E.coli, P.mirabilis, candida spp, S.aureus)	-	-
Brouiller les communications			
Modulateurs des signaux de quorum-sensing			
furanones	Inhibe la formation de biofilm et l'expression de facteurs de virulence de p.aeruginosa	Réduction de la virulence de P.aeruginosa	-
azithromycine	Inhibe la formation de biofilm et l'expression de facteurs de virulence de p.aeruginosa	Effet bénéfique dans un modèle murin d'infection respiratoire chronique par p.aeruginosa	Réduit le nombre d'exacerbations et améliore la fonction respiratoire en cas de mucoviscidose

RNAII inhibiting peptide(RIP)	Réduit l'adhérence et la virulence de S.aureus	S.aureus et epidermidis : réduit la colonisation de cathéters (rat) et améliore la cicatrisation de plaies chroniques (souris)	-
Inhibiteur de la biosynthèse de di-GMPc			
sulfathiazole	Prévient la formation de biofilm (E.coli)	-	-
Favoriser la dispersion			
enzymes			
DNase I	Favorise la dispersion chez S.aureus >S.epidermidis	-	-
Dispersine B (active contre le PNAG)	Favorise la dispersion chez S.epidermidis > S.aureus	Avec triclosan (antiseptique) : réduit la colonisation par S.aureus dans un modèle de cathéter le lapin	-
Modulation du quorum sensing			
Autoinducing peptide	Induit la dispersion d'un biofilm de S.aureus		-
Monoxyde d'azote	Induit la dispersion	Modèle de silicone imprégné de NO chez des rats : réduction de la colonisation par S.aureus	-
Acide cis-2-decenoid	Induit la dispersion d'un biofilm de S.aureus, E.coli, C.albicans et S.pyogenes	-	-
D-acides aminés	Induit la dispersion d'un biofilm de S.aureus et de P.aeruginosa	-	-
Administration passive d'anticorps (contre DNABII)	Induit la dispersion d'un biofilm de S.epidermidis, Streptococcus spp, et d'E.coli	-	-
Utilisation de phages	Le phage PT-6 produit une alginase favorisant la	-	-

	dispersion P.auruginosa	de		
Diminuer la tolérance du biofilm				
Sucres (mannitol, fructose) associés aux aminosudes	Augmentent la mortalité des bactéries persistantes (S.aureus, E.coli)		Efficace sur un modèle d'infection des voies urinaires associée à un cathéter chez la souris (Ecoli)	-
Molécule anti-persisters	Bactéricide restreinte aux bactéries persistantes		-	-
Approches vaccinales				
Prévenir l'adhérence initiale	-		Prévention de la colonisation de cathéters par S.epidermidis et S.aureus chez le rat	En cours d'évaluation chez l'homme avant une chirurgie cardiaque
Favoriser la résolution de l'infection	-		Modèle d'infection osseuse à S.aureus : la vaccination augmente l'efficacité de l'antibiotique	-



Les biofilms bactériens sont des amas structurés de cellules bactériennes enrobés d'une matrice polymérique et attachés à une surface. Le biofilm protège les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles.

Comme nous l'avons repris à divers niveaux du présent travail, l'importance des biofilms tient, entre autres, à la formation de résistances et à la difficulté d'imprégnation par les antibiotiques. La présence de biofilms a un impact considérable, que ce soit dans l'agro-alimentaire (altérations de qualités organoleptiques), l'industrie ou le milieu médical (biofilms et infections nosocomiales) tels la formation de biofilms dans les canalisations et les réseaux d'eau, sur les dispositifs médicaux (cathéters, implants...) ou encore les muqueuses du corps humain ce qui en conséquence des problèmes économiques et sanitaires.

Une fois le biofilm formé il est très difficile de l'éliminer. Les bactéries dans un biofilm, dites bactéries sessiles, présentent en effet des propriétés phénotypiques qui les distinguent de leurs homologues planctoniques. D'où, la nécessité de prévenir leur formation et/ ou de leur élimination à partir de stratégies mieux adaptées à ce mode de vie en communauté. Leur présence lors d'infections demande donc de nouvelles méthodes de prévention, de diagnostic et de traitement

Malgré la liste des problèmes engendrés par les biofilms, tous les biofilms ne sont pas néfastes pour l'homme et ils jouent même un rôle positif dans bien des domaines. Un des meilleurs exemples pour illustrer les effets bénéfiques des biofilms est leur mise en application dans le domaine du traitement des effluents et de l'eau potable. Dans la nature, les biofilms ont des impacts bénéfiques multiples, puisqu'ils sont responsables dans le sol du recyclage des nutriments, ils jouent un rôle important dans la production d'oxygène, dans la fixation du carbone et de l'azote, mais également dans les processus de biominéralisation ou de bioremédiation. Dans l'industrie, les biofilms sont de plus en plus utilisés par les biotechnologies ; ils interviennent dans de nombreux procédés dans des secteurs tels que l'industrie agro-alimentaire ou l'industrie de raffinage. La production biotechnologique par des cellules fixées et organisées en biofilms présente plusieurs avantages, notamment de pouvoir produire de grands volumes sur un long terme et d'éviter la perte de temps induite par les redémarrages de production. Depuis quelques années, la découverte de la capacité de certains biofilms, appelés biofilms électroactifs, à échanger des électrons de manière directe

avec les métaux, ouvre de nouvelles perspectives technologiques. En premier lieu, leur pouvoir de développer de nouvelles sources d'énergie peu coûteuses. Les biofilms électroactifs sont donc le sujet d'un nouveau domaine de recherches en pleine expansion faisant intervenir différentes disciplines dominées par l'électrochimie et la microbiologie.

Néanmoins ce mode de vie en biofilm est un processus complexe et reste un sujet vaste à explorer car ces biofilms positifs peuvent devenir nos alliés.



RESUME

Titre : Biofilms bactériens et leur implication en pathologie humaine

Auteur : Bezoui mouna

Mots clé : Biofilms bactériens ; Résistance ; infections chronique ; Implant médicaux ; anti-biofilms.

Le mode de vie en biofilm est prédominant chez les organismes unicellulaires. L'autre alternative est la flottaison libre qualifiée de "planctonique". Cette dernière a longtemps été considérée comme leur unique forme de vie. Ce n'est que récemment que les biofilms sont admis comme le mode de vie normal et majoritaire des microorganismes responsables de nombreuses infections bactériennes qui présentent la majeure cause de la morbidité et de la mortalité en milieu hospitalier. Cela pose de graves problèmes de santé publique

Dans un premier temps de ce travail , nous avons exploré les étapes de formation des biofilms et les mécanismes impliqués dans leur régulation ainsi que les pathologies impliquant ce mode de vie ,Les biofilms se forme aussi bien sur les tissus superficiels ou internes de l'hôte que sur des dispositifs invasifs tels que les cathéters et les implants, les valves cardiaques, les sondes urinaires ou encore les prothèses articulaires constitueront l'élément clé de la pathogénèse des infections sur matériels. La présence de biofilms lors d'une infection n'est pas diagnostiquée par les méthodes actuelles d'analyse bactériologique. L'éradication des biofilms dans ce contexte pose de sérieux problèmes car si les traitements antibiotiques classiques sont efficaces sur les bactéries planctoniques, ils révèlent parfois une efficacité quasiment nulle sur les biofilms.

Cependant les preuves expérimentales s'accumulent pour reconnaître que le biofilm est un véritable bouclier à l'action des antimicrobiens et à celle du système immunitaire.

Comme nous l'avons indiqué l'amélioration des connaissances sur les mécanismes impliqués dans la formation des biofilms et la résistance de ceux-ci aux antimicrobiens, et en particulier aux antibiotiques, est devenue un challenge afin de trouver de nouveaux moyens pour prévenir ou traiter les infections associées aux biofilms. Qu'ils sont variés et font parfois appel aux nouvelles technologies (bactériophages, vaccinations ...). Ou Ainsi, de nouvelles molécules perturbant la formation, la maturation ou la persistance des biofilms sont étudiées.

ABSTRACT

Title: Biofilm bacteria and their involvement in human pathology

Author: Mouna Bezoui

Key words: bacterial biofilms, resistance; chronic infections, medical implants; anti- biofilm

The lifestyle in biofilm is predominant in unicellular organisms. The other alternative is the free float described as "plankton". The latter has long been regarded as their only form of life. It is only recently that biofilms have been recognized as the normal and most recurrent lifestyle of the microorganisms responsible for many bacterial infections causing morbidity and hospital mortality.

Initially in this study, we explored the stages of biofilms formation; the mechanisms of their regulation and pathologies involving this lifestyle. We therefore deduced that biofilms form on the host's superficial or internal tissues as well as invasive devices such as catheters; implants; heart valves; urinary catheters and artificial joints. These biofilms thus constitute the key element in the pathogenesis of infections on materials. Furthermore, their presence during an infection fails to be diagnosed by current methods for bacteriological analysis. Their eradication in this context poses serious public health problems, because even supposing conventional antibiotic treatments are effective on planktonic bacteria, they prove to be almost completely ineffective on biofilms.

However, improving knowledge on the mechanisms involved in biofilm formation and their resistance to antimicrobial, particularly to antibiotics, has become crucial to finding new ways of preventing and treating infections associated with biofilms. We had revised new means of detection and treatment. They are varied and often resort to new technologies or new molecules that disrupt the formation, maturation or persistence of biofilms.

ملخص

العنوان: الأغشية الحيوية وصلتها بالأمراض البشرية

الكاتبة: منى بزوي

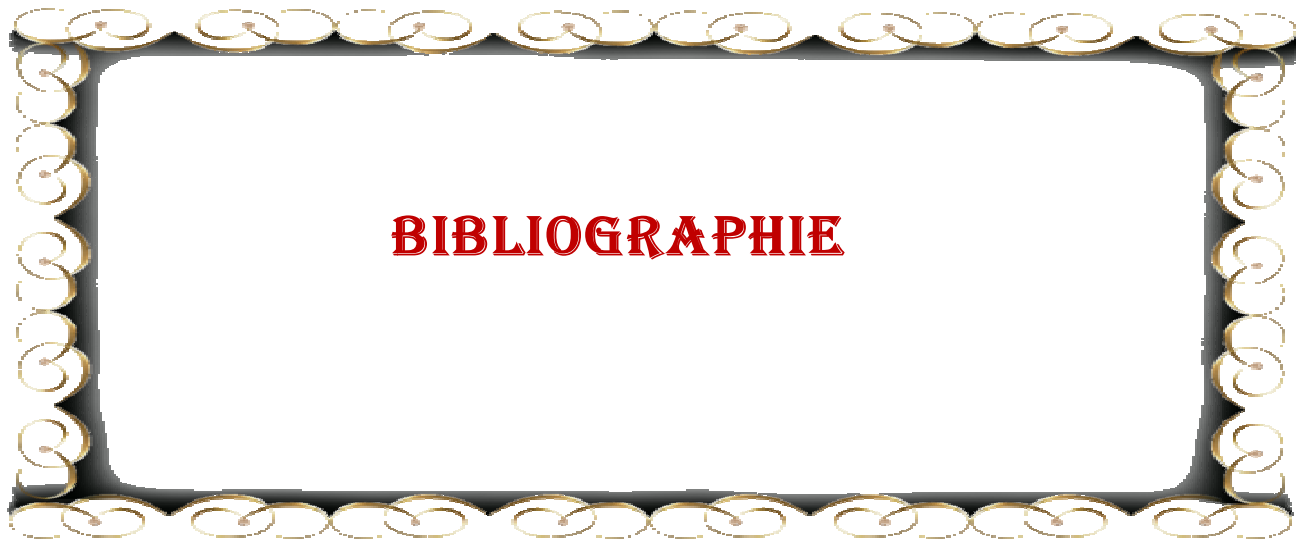
كلمات مفتاحية: أغشية حيوية، مقاومة، عدوى مزمنة، زرع طبي، مضاد حيوي.

لدى الكائنات وحيدة الخلية، نمط حياة يكون غالبا على شكل غشاء أو نسيج حيوي. وهناك بديل آخر يعرف بالتعويم الحر يسمى بالعوالق. وقد اعتبر هذا الأخير منذ مدة على أنه الشكل الوحيد لحياة هاته الكائنات، إلا أنه اتضح مؤخرا أن الأنسجة الحيوية تشكل، في غالبية الأحيان، نمط حياة الكثير من الكائنات الدقيقة الطبيعية المسؤولة عن العديد من الأمراض البكتيرية المعدية، والتي تشكل في حد ذاتها السبب الرئيسي في الإصابة بالأمراض وارتفاع نسب الوفيات بالمستشفيات.

في مقدمة هذا العمل، بحثنا في مراحل تكوين الأغشية الحيوية وآليات تنظيمها وكذا طبيعة الأمراض التي تستلزم هذا النمط الحيوي. تتشكل الأغشية الحيوية على أنسجة الكائن المضيف، سواء السطحية أو الداخلية، وكذا على الأجهزة الغازية مثل، القسطرة الأنبوبية والبولية، الصمامات القلبية أو المفاصل الاصطناعية، وتعتبر هذه الأغشية العنصر الأساسي في تسبب العدوى عن طريق المواد.

لا يتم تشخيص وجود الأغشية الحيوية، خلال العدوى، بواسطة الأساليب الحالية للتحليل الجراثومي، والقضاء عليها في هذا السياق يطرح مشاكل خطيرة على الصحة العمومية، لأنه إذا كان العلاج بالمضادات الحيوية التقليدية فعالا على البكتيريا العوالق فإنه يكشف حاليا فعالية تقارب نسبتها الصفر بالنسبة للأغشية الحيوية.

لكن تحسين المعرفة حول آليات تشكيل الأغشية الحيوية وأساليب مقاومته المضادات، خاصة المضادات الحيوية، يشكل تحديا لإيجاد سبل جديدة للوقاية أو علاج الالتهابات والأمراض المعدية التي لها صلة بهذه الأغشية. وفي خاتمة هذا البحث، عرضنا وسائل جديدة للكشف والعلاج، متنوعة من حيث الصنف ومواكبة للتكنولوجيات الحديثة أو جزيئات جديدة يمكن من تعطيل تشكلها، نضجها أو ديمومة عيشها.



BIBLIOGRAPHIE

- [1] Roux A, Ghigo J M(2006). Les biofilms bactériens présenté par communication. Bull. Acad. Vét. France - Tome 159 - N°3. Pp 261-268.
- [2] Graves N (2004). Economics and preventing hospital-acquired infection. *Emerg Infect Dis.*10:561-566.
- [3] Munch R, Robert Koch. 2003. *Microbes Infect.* 5: 69-74.
- [4] Costerton JW (2004). A short history of the development of the biofilm concept. *Methods of studying biofilms.* Ghannoum M & O'Toole GA Editors. *Microbial biofilms*, ASM Press, Washington, DC, pp 4-19.
- [5] Costerton JW, Stewart PS and Greenberg EP (1999). Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284: 318–322.
- [6] Allwood A C, Malcolm R Walter, Balz S Kamber, Marshall Craig P and Burch Ian W (2006). Stromatolite reef from the Early Archaean era of Australia. *Nature*, 441(June 8): 714-718.
- [7] Karunakaran, E., Mukherjee, J., Ramalingam, B. and Biggs, C.A. (2011). "Biofilmology": a multidisciplinary review of the study of microbial biofilms. *Appl Microbiol Biotechnol* 90, 1869-1881.
- [9] Dolan, R. M. ET J. W. Costerton, (2002) Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.* 15: 167-193.
- [10] Clutterbuck AL, Woods EJ, et al. (2007) Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Vet Microbial.* Mar 31; 121 (1-2): 1-17
- [11] Tolker- Nielsen T., Molin S (2000) spatial organization of microbial biofilm communities. *Microb. Ecol.*, 40: 75-84.
- [13] Donlan RM. (2002) Biofilms: Microbial life on surface. *Emerg. Infect. Dis.* 8 (9), 881-890.
- [14] Stoodley P, Boyle JD, Dodds I et al. (1997) Biofilms: community interactions and control, 1-9.
- [15] Chalvet de Rochermonteix A (2009). Les Biofilms et peaux. Thèse pour obtention de Doctorat vétérinaire. Faculté de médecine de Créteil. Paris Ecole Nationale Vétérinaire D'Alfort. p147.

- [16] Sutherland I.W. (2001). The biofilm matrix - an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends in microbiology*. 9, 222-227.
- [17] O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R (2000). Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol*, 54: 49- 79.
- [18] Squinazi F. Biofilm & Matériaux : des réseaux intérieurs de distribution de l'eau. Edition 2013 p: 4-10.
- [19] Pratt L.A. ET Kolter R (1999). Genetic analyses of bacterial biofilm formation. *Current opinion in microbiology*. 2, 598-603.
- [20] Filloux A. et Vallet I(2003). Biofilm : mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Medecine/sciences*. 19, 77-83.
- [21] Lejeune P (2003). Contamination of abiotic surfaces: what a colonizing bacterium sees and how to blur it. *Trends in microbiology*. 11, 179-184.
- [22] Hall-Stoodley L, Costerton J.W, Stoodley P (2004). Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature reviews microbiology*. 2, 95-108.
- [24] Characklis WG (1990). Biofilm process. In *Biofilms* Edited by Characklis W G & Marshall K C. New York: Wiley pp. 195–231.
- [26] Ghigo J-M (2003). Are there biofilm-specific physiological pathways beyond a reasonable doubt? *Research in Microbiology* 154(1), 1-8.
- [27] Verstraeten N, Braeken K, Debkumari B, Fauvart M, Fransaeer J, Vermant J, Micheiels J (2008). Living on a surface: swarming and biofilm formation .*Trends Microbiol* 16,496-506.
- [28] O'Toole G.A. et Kolter R(1998). Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Molecular Microbiology*. 30, 295-304.
- [29] Pratt L.A. ET Kolter R (1998). Genetic analysis of *Escherichia Coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Molecular Microbiology*. 30, 285-293.
- [30] Hengge R (2009). Principles of c-di-GMP signaling in bacteria. *Nat Rev Microbiol* 7,263-273.
- [31] Wang X, Preston JF 3rd, Romeo T (2004). The PGA ABCD locus of *Escherichia coli* promotes the synthesis of a polysaccharide adhesin required for biofilm formation. *J. Bacteriol*. 186: 2724- 2734.

- [32] Davey ME and O'Toole GA. (2000). Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64: 847–867.
- [33] Stoodley P, Sauer K, Davies DG and Costerton JW (2002). Biofilms as complex - differentiated communities. *Annu. Rev. Microbiol.* 56: 187–209.
- [34] Shurtleff ME, Mader JT and Camper AK (2002). Molecular interactions in biofilms. *Chem. Biol.* 9: 859–871.
- [35] Zobell C E (1943). The effect of solid surfaces upon bacterial activity, *J. Bacteriol.* 46: 39.
- [36] Lemon KP, Earl AM, Vlamakis HC, Aguilar C, Kolter R (2008). Biofilm development with an emphasis on *Bacillus subtilis*. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 322, pp 1-16.
- [37] S.L. Kuchma, J.P. Connolly, G.A. O'Toole (2005). A three-component regulatory system regulates biofilm maturation and type III secretion in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 187, 1441-1454.
- [38] Ploux, L.Beckendroff, S.Nardin, M.etNeunlist, S. (2007) Quantitative and morphological analysis of biofilm formation on self-assembled monolayer.*Colloids and Surface B: Biointerfaces* 57(2),174-181
- [40] Grasteau A (2011). Sélection de mutations affectant la formation de biofilm chez *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Thèse doctorat en sciences vétérinaires option microbiologie. Université de Montréal, Faculté de médecine vétérinaire, p111.
- [41] Tenke, P, Kovacs, B, JackelM. & Nagy E (2006). The role of biofilm infection in urology. *World J Urol* 24, 13-20.
- [42] Parsek MR, Greenberg EP (2005). Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *Trends in Microbiology*, 13:1, pp 27-33.
- [43] Gjermansen M, Ragas P, Sternberg C, Molin S, Tolker-Nielsen T (2005). Characterization of starvation-induced dispersion in *Pseudomonas putida* biofilms. *Environmental Microbiology*, 7:6, pp 894-906.
- [44] Morgan R, Kohn S, Hwang SH, Hasset DJ, Sauer K (2006). Bd1A, a chemotaxis regulator essential for biofilm dispersion in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*, 188:21, pp 7335-7343.

- [45] Baier R.E (1970). Surface Properties Influencing Biological Adhesion, in Adhesion in Biological Systems, E.R.S. Manly, Editor. Academic Press. p. 15-48.
- [46] Bradshaw D.J. (1997). Effect of Conditioning Films on Oral Microbial Biofilm Development. *Biofouling*. 11(3): p. 217-226.
- [47] Fletcher M (1988) Attachment of *Pseudomonas fluorescens* to glass and influence of electrolytes on bacterium- substratum separation distance. *J. Bacteriol.*, 170: 2027-2030
- [48] Martinez LR, Casadevall A (2007). *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on surface support and carbon source and reduces fungal cells susceptibility to heat, cold and UV light. *Appl. Environ. Microbiol.* 4592- 4601.
- [49] Spormann AM (2008). Physiology of microbes in biofilms. *Curr. Top. Microbiol. Immunol*, 322: 17- 36.
- [50] Palmer J., Flint S., Brooks J (2007). Bacterial cell attachment, the beginning of a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, Vol. 34, p. 577-588.
- [51] Liu Y., Tay J.-H (2002). The essential role of hydrodynamic shear force in the formation of biofilm and granular sludge. *Water Research*, Vol. 36, p. 1653-1665.
- [52] Goller CC, Romeo T (2008). Environmental influences on biofilm development. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 322: 37- 66.
- [53] Tomlin, RG Mallot (2005). Quorum-sensing mutations affect attachment and stability of *Burkholderia cenocepacia* biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 5208- 5218.
- [54] Irie Y., Parsek MR., (2008). Quorum sensing and microbial biofilms. *Curr. Top. Microbiol. Immunol*, 322: 67- 84.
- [55] Schauder, S., Shokat K., Surette M. G., and Bassler B. L., (2001). The LuxS family of bacterial autoinducers: biosynthesis of a novel quorum-sensing signal molecule. *Microbiol.* 41:463-76.
- [56] Queck S-Y, Weitere M, Moreno AM et al. (2006) .The role of quorum sensing mediated developmental traits in the resistance of *Serratia marcescens* biofilms against protozoan grazing. *Environ. Microbiol.* 8: 1017- 1025.
- [57] Becker P, Hufnagle W, Peters G et al. (2001). Detection of different gene expression in biofilm-forming versus planktonic populations of *Staphylococcus aureus* using micro representational-difference analysis. *Appl. Environ. Microbiol.*, 6: 2958-2965.

- [58] Sailer FC, Meberg BM, Young KD (2003). Beta-lactam induction of colanic acid gene expression in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett*, 226: 245- 249.
- [59] Cotter PA, Stibitz S (2007). C- di- GMP- mediated regulation of virulence and biofilm formation. *Curr. Opin. Microbiol.* 10: 17-23.
- [61] Wolfe AJ, Chang DE, Walker JD et al. (2003). Evidence that acetyl phosphate functions as a global signal during biofilm development. *Mol. Microbiol.*, 48: 977- 988.
- [62] Goller CC, Romeo T (2008). Environmental influences on biofilm development. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 322: 37- 66.
- [63] Branda SS, Gonzalez- Pastor JE, Ben- Yehuda S et al. (2001). Fruiting body formation by *Bacillus subtilis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 11621- 11626.
- [65] Jefferson, KK (2004). What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS Microbiol. Lett*, 236, 163-173.
- [66] Costerton, J.W (2007) .*The Biofilm Primer*. Springer-Heidelberg. Book spring series on biofilms, vol1
- [67] Bridier, A., Dubois-Brissonnet, F., Greub, G., Thomas, V. and Briandet, R (2011). Dynamics of the action of biocides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 55, 2648-2654.
- [69] Bjarnsholt T, Jensen P.O, Burmolle M, Hentzer M, Haagensen J.A, Hougen H.P, Calum, H., Madsen, K.G., Moser, C., Molin, S., Hoiby, N. and Givskov, M. (2005). *Pseudomonas aeruginosa* tolerance to tobramycin, hydrogen peroxide and polymorphonuclear leukocytes is quorum-sensing dependent. *Microbiology (Reading, England)* 151, 373-383.
- [70] Daddi Oubekka S (2012). Dynamique réactionnelle d'antibiotique au sein des biofilms de *Staphylococcus aureus* Apport de la microscopie multimodale. Thèse pour obtenir le grade docteur délivré par L'université Paris Sud XI Spécialité : Microbiologie .p 46.
- [74] von Eiff, C., Peters, G. and Becker, K. (2006). The small colony variant (SCV) concept - the role of staphylococcal SCVs in persistent infections. *Injury* 37 Suppl 2, S26-33.
- [75] Rolauffs, B., Bernhardt, T.M., von Eiff, C., Hart, M.L. and Bettin, D. (2002). Osteopetrosis, femoral fracture, and chronic osteomyelitis caused by *Staphylococcus aureus* small colony variants (SCV) treated by girdlestone resection-6-year followup. *Arch Orthop Trauma Surg* 122, 547-550.

- [76] Keren, I., Kaldalu, N., Spoering, A., Wang, Y. and Lewis, K. (2004) Persister cells and tolerance to antimicrobials. *FEMS Microbiol Lett* 230, 13-18.
- [77] Andreson, G.G & O'Toole, G.A (2008). Innate and induced resistance mechanisms of bacterial biofilms. *Curr Top Microbiol Immunol* 322, 85-105.
- [78] Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., Bingen, E. & Quentin, R. (2007). Bacilles à Gram négatif non fermentaires, Genre *Pseudomonas*. In *Bactériologie Médicale, techniques usuelle*, pp. 330-343. Edited by E. Masson.
- [79] Fey, P.D. and Olson, M.E (2010). Current concepts in biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis*. *Future Microbiol* 5, 917-933.
- [80] Van Houdt R, Michiels C (2005). Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. *Res. Microbiol.*, 156: 626-633.
- [83] Kojic EM & Darouiche RO. (2004). *Candida* infections of medical devices. *Clinical microbiology reviews* 17, 255-267.
- [84] Association des Anciens Élèves de l'Institut Pasteur: Christophe d'Enfert, Paris (2005). *Biofilms fongique : Comprendre leur biologie pour une meilleure prise en charge des infections nosocomiales*. 47 - 3ème Trim. N°184.
- [86] Fux, C.A., Stoodley, P., Shirtliff, M. and Costerton, J.W. (2009). The Functional Resistance of Bacterial Biofilms. *Antimicrobial Drug Resistance Chapter* 11, 121-131.
- [87] David Lebeaux et Jean-Marc Ghigo (2013). *Des adversaires intraitables...?*. Institut Pasteur, Unité de Génétique des biofilms, Département de microbiologie, Paris. *BioFutur* vol.32/341 pp .34-39
- [91] David Lebeaux, Jean-Marc Ghigo (2012). Infections associées aux biofilms Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale ? Institut Pasteur, Unité de Génétique des Biofilms, Département de Microbiologie, m/s n° 8-9, vol. 28.
- [92] Houvion, E (2014). *Biofilms dentaire : composition, formation et propriétés*. Thèse pour obtention de diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. Académie de Nancy-Metz université de lorraine Faculté d'odontologie. N6713.
- [93] F. Simain, E. Rompen, E. Heinen (2010). *Biofilms bactériens et médecine dentaire*. Service de Médecine Dentaire, CHU de Liège, 4000 Liège, Belgique. *Rev* 65: 10: 569-573.

- [94] Teng YT (2003). The role of acquired immunity and periodontal disease progression. *Crit. Rev. Oral. Biol. Med.* 14: 237-252.
- [96] Eckert R, He J, Yarbrough DK, Qi F, Anderson MH, Shi W (2006). Targeted killing of *Streptococcus mutans* by a pheromone-guided “smart” anti- microbial peptide. *Antimicrob Agents Chemother* ; 50:3651-3657.
- [98] Lévesque B (2002). Les légionelloses et l’eau potable. Institut national de santé publique du Québec, 31 p.
- [99] Campèse C., Jarraud S., Bitar D., Maine C., Che D. (2006). Les légionelloses survenues en France en 2005. *Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire* n° 26.
- [100] Rogers J., Keevil C.W. (1995). Factors influencing the colonisation of biofilms by *Legionella pneumophila*. *International Biodeterioration*.
- [101] RAISIN. Réseau d’alerte d’investigation et de surveillance des infections nosocomiales. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, France, juin 2006. Volume 1 - Méthodes, résultats, perspectives. *INVS*, 2009:81 p.
- [102] Florence E, Bernard P, Brigitte C-B (2010). Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. Centre hospitalier universitaire Ambroise-Paré (AP-HP).n°426 // 51.
- [103] von Eiff, C., Peters, G. and Heilmann, C. (2002). Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis* 2, 677-685.
- [104] Donlan R.M. (2001). Biofilms and device-associated infections. *Emerg. Infect. Dis.* 7: 277-281.
- [105] Hatt JK, Rather PN (2008) Role of bacterial biofilms in urinary tract infections. *Curr Top Microbiol Immunol*, 322: 163- 192.
- [106] RAISIN. Réseau d’alerte d’investigation et de surveillance des infections nosocomiales. Surveillance des bactériémies nosocomiales en France. Résultats 2004. *INVS*, 2008.
- [107] Maryem Auger (2012). Formation de biofilms in vitro par des souches clinique de *E. COLI*: Impact de la modification de la condition expérimentale. Thèse pour le diplôme d’état de docteur en pharmacie. Université de Nances, N063.
- [108] Donlan, R. M. (2008). Biofilms on central venous catheters: is eradication possible? *Curr Top Microbiol Immunol* 322, 133-161.

- [109] [Marr KA, Sexton DJ, Conlon PJ et al.(1997) Catheter- related bacteremia and outcome of attempted catheter salvage in patients undergoing hemodialysis. *Ann. Inter. Med.* 127: 275- 280]
- [110] Karchmer AW, Gibbons GW (1994) Infections of prosthetic heart valves and vascular grafts. In. Bisno AL, Waldvogel FA, Editors. *Infections associated with indwelling medical devices*. 2nd ed. Washington: American Society for Microbiology; 213-249.
- [111] Bonten MJ, Gaillard CA, de Leeuw PW, Stobberingh EE. Role of colonization of the upper intestinal tract in the pathogenesis of ventilator-associated pneumonia. *Clin Infect Dis* 1997;24:309-19.
- [113] A. Boyer · B. Clouzeau · H.N. Bui · F. Vargas · G. Hilbert · D. Gruson. Springer-Verlag France (2013). *Nouvelles techniques pour lutter contre le biofilm de la sonde d'intubation*. *Réanimation* 22:250-256
- [116] Brady RA, Leid JG, Calhoun JH et al. (2008) Osteomyelitis and the role of biofilms in chronic infection. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 52: 13- 22
- [118] S.Baillif, D.Hartmann, J.Freney, L.Kodjikian. Implant intraoculaire et adhésion bactérienne : influence des conditions environnementales ; des propriétés bactériennes et des caractéristique du biomatériau, *Journal français d'ophtalmologie* (2010) 33, 210—221.
- [119] Zegans ME, Becker HI, Budzik J & O'Toole G (2002) .The role of bacterial biofilms in ocular infections. *DNA and Cell Biology*, 21: 415-420].
- [120] Garcia- Saenz MC, Arias-Puente A, Fresnadillo- Martinez MJ & Matilla- Rodriguez A (2000). In vitro adhesion of *Staphylococcus epidermidis* to intraocular lenses. *J. Cataract Refract. Surg.* 26: 1673- 1679
- [125] A. Trampuz J. Steinrücken M. Clauss A. Bizzini U. Furustrand I. Uçkay R. Peter J. Bille O. Borens. (2010). *Nouvelles méthodes pour le diagnostic des infections liées aux implants*. *Rev Med Suisse* 6: 731-4
- [128] Steven L, Percival James T, Walker Paul Hunter. 2000. *Microbiological Aspects of Bifilms and Drinking water*. CRC Press Boca Raton London New York Washington, D.C. p 61.
- [129] Rogers J, Dowsett AB, Dennis P J, Lee JV and Keevil CW. 1994. Influence of temperature and plumbing material selection on biofilm formation and growth of *Legionella*

pneumophila in a model potable water containing complex microbial flora, *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 1585.

[130] Peeters, E., Nelis, H. J. & Coenye, T. (2008). Comparison of multiple methods for quantification of microbial biofilms grown in microtiter plates. *J Microbiol Methods* 72, 157-165.

[131] Christensen GD, Simpson WA, Younger JJ, Baddour LM, Barrett FF, Melton DM, Beachey, EH. 1985. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J. Clin. Microbiol.* 22: 996–1006.

[132] EMD (2009). Fiche signalétique du Crystal Violet: EMD Chemicals Inc.

[133] Pierce, C. G., Uppuluri, P., Tristan, A. R., Wormley, F. L., Jr., Mowat, E., Ramage, G. & Lopez-Ribot, J. L. (2008). A simple and reproducible 96-well plate-based method for the formation of fungal biofilms and its application to antifungal susceptibility testing. *Nat Protoc* 3, 1494-1500

[134] Jiang, L. M., Hoogenkamp, M. A., van der Sluis, L. W., Wesselink, P. R., Crielaard, W. & Deng, D. M. (2011). Resazurin metabolism assay for root canal disinfectant evaluation on dual-species biofilms. *J Endod* 37, 31-35)

[135] Punithavathy, P. M., Nalina, K. & Menon, T. (2012). Antifungal susceptibility testing of *Candida tropicalis* biofilms against fluconazole using calorimetric indicator resazurin. *Indian J Pathol Microbiol* 55, 72-74.

[136] Honraet, K., Goetghebeur, E. & Nelis, H. J. (2005). Comparison of three assays for the quantification of *Candida* biomass in suspension and CDC reactor grown biofilms. *J Microbiol Methods* 63, 287-295.

[137] Tote, K., Vanden Berghe, D., Maes, L. & Cos, P. (2008). A new colorimetric microtitre model for the detection of *Staphylococcus aureus* biofilms. *Lett Appl Microbiol* 46, 249-254

[138] Chavant et al., 2007; Chavant, P., Gaillard-Martinie, B., Talon, R., Hebraud, M. & Bernardi, T. (2007). A new device for rapid evaluation of biofilm formation potential by bacteria. *J Microbiol Methods* 68, 605-612.

- [139] Nagant, C., Tre-Hardy, M., Devleeschouwer, M. & Dehaye, J. P. (2010). Study of the initial phase of biofilm formation using a biofomic approach. *J Microbiol Methods* 82, 243-248
- [140] Muatasem Alnassouri (2010). Etude de développement des biofilms dans les réacteurs de traitement d'eau. Thèse pour obtenir le grade de docteur en L INPL ; Université de Nancy P24-25
- [141] Wright, C.J., et al., Application of AFM from Microbial Cell to Biofilm. *Scanning*, 2010. 32(3): p. 134-149
- [142] Gaboriaud, F. and Y.F. Dufrene, Atomic force microscopy of microbial cells: Application to nanomechanical properties, surface forces and molecular recognition forces. *Colloids and Surfaces B - Biointerfaces*, 2007. 54(1): p. 10-19.
- [143] Prasad V, Semwogerere D and Eric R Weeks (2007). Confocal microscopy of colloids. *J. Phys.: Condens. Matter*. 19: 113102 (25pp).
- [143] Rodriguez GG, Phipps D, Ishiguro K and Ridgway HF (1992). Use of a fluorescent redox probe for direct visualisation of actively respiring bacteria, *Appl. Environ. Microbiol*, 58: 1801
- [144] Möhle RB, Langemann T, Haesner M, Augustin W, Scholl S, Neu TR, Hempel DC and Horn H (2007). Structure and shear strength of microbial biofilms as determined with confocal laser scanning microscopy and fluid dynamic gauging using a novel rotating disc biofilm reactor. *Biotechnology and Bioengineering*, 98: 747-755.
- [146] Francolini, I. & Donelli, G (2010). Prevention and control of biofilm-based medical-device related infections. *FEMS Immunol Med Microbiol* 59, 227-238
- [148] Donlan, RODNEY. M. (2011). Biofilm elimination on intravascular catheters: important considerations for the infectious disease practitioner. *Clin Infect Dis* 52, 1038-1045.
- [149] Utili R, Durante-Mangoni E, Tripodi MF (2007) Infection of intravascular prostheses: how to treat other than surgery. *Int. J. Antimicrob. Agents* 30 S: S42- S50]
- [153] Bridier, A., Briandet, R., Thomas, V. & Dubois-Brissonnet, F. (2011). Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review. *Biofouling* 27, 1017-1032.

- [154] Magali, Christiane, Elisabeth BERGER SAVIN. (2014) La phagothérapie : Historique et potentielle utilisation contre l'infection à bactéries multirésistantes .Thèse pour l'obtention du doctorat en vétérinaire. Ecole nationale de vétérinaires d'Alfort.p157
- [155] Hughes, K.A., Sutherland, I.W., Jones, M.V. 1998 « Biofilm susceptibility to bacteriophage attack: the role of phage-borne polysaccharide depolymerase », Microbiology, 144, 3039– 3047
- [160] Mahboubi M., and Haghi G., 2008. Antimicrobial activity and chemical composition of Mentha pulegium L. essential oil. Journal of Ethnopharmacology. 119, 325- 327.

Webographies

- [8] Girardin N, Morin D. Biofilms, implication française dans la production d'articles scientifiques et de brevets.En ligne disponible sur : http://www.pherecydes-pharma.com/files/1-Preface_Biofilms_Enjeux_et_valorisation.pdf
- [12] Oskar Wanner O, Martina Bauchrowitz, (2006) Les biofilms sont omniprésents (En ligne). EAWAG News 60 f: 4-7 .Disponible sur: http://www.novaquatis.eawag.ch/services/publikationen/eaneews/news_60/en60f_article_thematique.pf
- [23] John L Pace, Mark E Rupp, Roger G Finch. 2006. Biofilms Infection and Antimicrobial Therapy. CRC Press Taylor & Francis Group. P437 [http://loyce2008.free.fr/Microbiologie/Biofilms, % 20Infection,% 20and% 20Antimicrobial% 20Therapy% 20-% 20J.% 20Pace% 20-% 20CRC% 20Press,% 202006.pdf](http://loyce2008.free.fr/Microbiologie/Biofilms,%20Infection,%20and%20Antimicrobial%20Therapy%20-%20J.%20Pace%20-%20CRC%20Press,%202006.pdf)
- [25] Steven L, Percival James T, Walker Paul Hunter (2000). Microbiological Aspects of Biofilms and Drinking water (En ligne). CRC Press Boca Raton London New York Washington, D.C. p 61.Disponible sur: [https://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=GyTNBQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=%5B25%5D+Steven+L,+Percival+James+T,+Walker+Paul+Hunter+\(2000\).+Microbiological+Aspects+of+Bifilms+and+Drinking+water.+CRC+Press+Boca+Raton+London+New+York+Washington,+D.C.+p+61&ots=uEFITc5mkV&sig=wYMMXWC8QoNt4YMkcLYyokaV63Y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.fr/books?hl=fr&lr=&id=GyTNBQAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=%5B25%5D+Steven+L,+Percival+James+T,+Walker+Paul+Hunter+(2000).+Microbiological+Aspects+of+Bifilms+and+Drinking+water.+CRC+Press+Boca+Raton+London+New+York+Washington,+D.C.+p+61&ots=uEFITc5mkV&sig=wYMMXWC8QoNt4YMkcLYyokaV63Y#v=onepage&q&f=false)
- [39] M. Klausen, M. Gjermansen, J.U. Kreft, T. Tolker-Nielsen. 2006. Dynamics of development and dispersal in sessile microbial communities: examples from Pseudomonas

aeruginosa and Pseudomonas putida model biofilm. FEMS Microbiol. Lett. 261, 1-11. En ligne disponible sur : <http://femsle.oxfordjournals.org/content/femsle/261/1/1.full.pdf>

[60] Colette, D (2012). Les biofilms bactérienne (en ligne). Centre d'ingénierie de protéine université de liège, p8. Disponible sur : www.bibr.be/download/bibr/Les-biofilms-bactériens-ebook.pdf

[64] Roux A, Ghigo J-M (2006). Les biofilms bactériens présenté par communication (en ligne). Bull. Acad. Vét. France - Tome 159 - N°3. Pp 261-268. Disponible sur : https://research.pasteur.fr/wp-content/uploads/2015/05/research.pasteur.fr_genetics-of-biofilms1.pdf

[68] Mario J, yannick d.n. Tremblay et Hélène Poirier (2013). Les biofilms un astucieux moyen de défense des bactéries contre les antibiotiques et les désinfectants (en ligne). Réseau canadien de recherche sur la mammite bovine et la qualité du lait. P 34-35. Disponible sur https://www.dairyresearch.ca/file.php?filename=/var/www/cdrplive/files/documents/516/BiofilmMammite_avril2013.pdf

[71] Lebeaux D, et J-M.Ghigo C.Belion (2014). Tolérance des biofilms aux antibiotiques : comprendre pour mieux traiter(en ligne). Journal des Anti infectieux, disponible sur : <http://www.em-consulte.com/article/927225/tolerance-des-biofilms-aux-antibiotiques%2%A0-comprend>

[72] Martinez, J.L. and Rojo, F. (2011) .Metabolic regulation of antibiotic resistance (en ligne). FEMS Microbiol Rev 35, 768-789. Disponible sur : <http://femsre.oxfordjournals.org/content/femsre/35/5/768.full.pdf>

[73] Anne-Sophie Valentin (2013). Physiopathologie du biofilm sur matériel. Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU de Tours. En ligne disponible sur : <http://docplayer.fr/10397113-Physiopathologie-du-biofilm-sur-materiel-anne-sophie-valentin-service-de-bacteriologie-hygiene-hospitaliere-chu-de-tours.html>

[81] Réseau BN-Raisin - Résultats 2004 .Réseau d'alerte d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales. Surveillance des bactériémies nosocomiales en France. INVS, Institut de veille sanitaire .p39 http://www.invs.sante.fr/publications/2008/bn_raisin_300108/bn_raisin_300108.pdf

- [82] Seddiki S.M.L, Boucherit-Otmani Z, Boucherit K, kunkel D (2015). Infectivités fongique des cathéters implantés due à Candida sp. Formation des biofilms et résistance (en ligne). journal de mycologie médicale (25)2. Disponible sur : https://www.researchgate.net/publication/276073758_Infectivites_fongiques_des_catheters_implantes_dues_a_Candida_sp_Formation_des_biofilms_et_resistance
- [85] Maria, I, T. Andrés, A et Antoine, G (2010) Biofilms : les virus aussi (en ligne). Revue francophone des laboratoires. N°419. Disponible sur <http://another-sample.net/biofilms-les-virus-aussi>
- [88] E. Greenberg (2000). Mucoviscidose une étude confirme la présence de biofilms bactériens dans les poumons des patients (En ligne). Nature, 407 :762-64 .Disponible sur <http://www.caducee.net/actualite-medicale/1428/mucoviscidose-une-etude-confirme-la-presence-de-biofilms-bacteriens-dans-les-poumons-des-patients.html>
- [89] Diane ST-cyr, iNF. (2011) Les biofilms : Que sont-ils ? Où sont-ils ? Quels impacts ont-ils sur les soins des plaies ? (En ligne) .Sions de plaies perspective infirmière p38 .Disponible sur : https://www.oiiq.org/sites/default/files/uploads/pdf/publications/perspective_infirmieres/2011_vol08_n03/13%20Biofilms.pdf
- [90] Phillips PL, Wolcott RD, Fletcher J, Schultz GS (2010). Biofilms Made Easy (En ligne). Wounds International; V1, Iss 3 p6. Disponible sur : http://www.woundsinternational.com/media/issues/288/files/content_8851.pdf
- [95] J. Goffart, Ph. Gillet(2007), Biofilms endodontique et infections tardives des prothèses totale de hanche(En ligne).Biofilms endodontiques et infections des PTH, Rev Med Liege; 62: 12: 736-742. Disponible sur [https://orbi.ulg.ac.be/bitstream/2268/2691/1/12.%20GOFFART%20Biofilm%20\(7\).pdf](https://orbi.ulg.ac.be/bitstream/2268/2691/1/12.%20GOFFART%20Biofilm%20(7).pdf)
- [97] Fondation de l'eau potable sur. Information détaillée pour Légionella, p10 .En ligne sur <http://www.safewater.org/PDFS/knowthefacts/frenchfactsheets/LegionellaDetaille.pdf>
- [112] Jérôme, P (2012) .Prévention de la pneumopathie acquise sous ventilation mécanique. Quoi de neuf en 2012 ? (en ligne). Hôpitaux Universitaires de Genève p178-181. Disponible sur : <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&ved=0ahUKEwjmgqC-gOn LAh UGdCw KHYf6DYMqFggdMAA&url=http%3A%2F%2Fwww.mapar.org%2Farticle%2Fpdf%2F997%2FPr%25C3%25>

[25 A9vention%2520de%2520la%2520 pneumopathie% 2520acquise% 2520sous%2520ventilation%2520m%25C3%25A9canique.%2520Quoi%2520de%2520neuf %2520en%25202012%2520%3F.pdf&usg=AFQjCNF_nuBTfmmOwq9g2ba93Y-1EwFrYg&sig2=FSVB3bKz4-EEwpiIc07vvQ](#)

[114] **HAS** (haut autorité de santé). (2014) Recommandation de bonne pratique. Prothèse de hanche ou de genou : diagnostic et prise en charge des infections dans le mois suivant l'implantation (En ligne). Disponible sur :http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2014-04/rbp_reco2 clics_protheses_infectees.pdf

[115]**SPILF** (la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française) (2009). Recommandations de pratique clinique: Infections ostéo-articulaires sur matériel (prothèse, implant, ostéosynthèse) (En ligne) .P61. Disponible sur :
http://nosobase.chulyon.fr/recommandations/spilf/2010_osteo_court.pdf

[117] S. Maître T. Pirrello P. Hoffmeyer D. Lew D. Pittet I. Uçkay. (2012). Prévention des infections postopératoires en orthopédie(En ligne). Revue Médicale Suisse .Disponible sur :
<http://www.revmed.ch/rms/2012/RMS-338/Prevention-des-infections-postoperatoires-en-orthopedie>

[121] Lebeaux D. Ghigo J-M, Lucet J- G (2014). Physiopathologie et prévention des infections liées aux dispositifs médicaux implantés(En ligne). La Revue du Praticien Mai Vol. 64; n°5 pp.620-625. Disponible sur :
https://research.pasteur.fr/wpcontent/uploads/2015/05/research.pasteur.fr_genetics-of-biofilms5.pdf

[122] Delorme L (2012). Biofilms : nouvelle approche dans la guérison des plaies (En ligne). Disponible sur :
https://www.oiiq.org/sites/default/files/uploads/pdf/1_ordre/ordres_regionaux/ORIIM/2012/biofilm_presentation_%20dr_Delorme_%2020120207.pdf

[123]Shalu Mengi, Prakriti Vohra, Natasha Sawhney, Varsha A. Singh (2013). BIOFILMS: un défi diagnostique dans persistent infections(En ligne). Journal international de recherche en sciences médicales et de la santé.V3, N2 ISSN 2307-2083 .Disponible sur http://ijsk.org/uploads/3/1/1/7/3117743/1_microbiology.pdf

[124] O. Borens F. Nussbaumer R. Baalbaki A. Trampuz (2009). Diagnostic et traitement des infections d'implants orthopédiques(En ligne). Rev Med Suisse 5 : 2563-2568 .Disponible

sur <http://www.revmed.ch/rms/2009/RMS-230/Diagnostic-et-traitement-des-infections-d-implants-orthopediques>

[126] Romana C-M. (2011). Sonication de prothèses Augmente le taux de détection de bactéries(En ligne) Disponible sur http://www.unilabs.ch/FR/Lists/ScientificInformation/Infos/Sonication_FR_03-03-2011.pdf

[127]Olivia peuchant (2013). Les nouveaux outils diagnostiques microbiologiques (En ligne). Laboratoire de bactériologie CHU Bordeaux.p7 .Disponible sur : http://www.endocardites.aquitaine.fr/fileadmin//2013_PEUCHANT.pdf

[145] Jacquier, M-C(2014). Le cancer du côlon associé à la présence de biofilms (En ligne).Futura sciences. Disponible sur <http://www.futura-sciences.com/magazines/sante/infos/actu/d/maladie-cancer-colon-associe-presence-biofilms-56444/>

[147] Perrigault, P-F(2011).Catheters impregens(En ligne). Chu Montpellier, Disponible sur www.institutmauricerapin.org/docs/Brochure-resumes.pdf

[150] Gary DAVID – Villefranche / Saône(2015). Infections sur dispositifs veineux centraux : actualités sur les verrous antibiotiques et non antibiotiques. Journée des infectiologues de la région Auvergne-Rhône-Alpes Annecy - En Ligne sur : www.infectiologie.com/2015-j-inf-rhoalpauv-verrous-antibio-david.p.

[151] Christophe Cartier et al (2013). Comment prévenir la colonisation d'implants par des pathogène ? (En ligne). Centre national de la recherche scientifique CNRS, Chimie 0.2.Disponible sur: http://www.cnrs.fr/chimie2_0/spip.php?article177

[152]Karen Vago(2009). Biofilm, infection et plante, Comment la médecine par les plante peut aider à contrôler le développement des biofilms (En ligne). Nutritionk21 IntelligenceAlimentaire.Disponible sur www.nutritionk21.com/ressources/articles/Biofilms.html

[156]Alemayehu D., Casey P. G., McAuliffe O., Guinane C. M., Martin J. G., Shanahan F., Coffey A., Ross R. P. & Hill C. (2012). Bacteriophages MR299-2 and NH-4 Can Eliminate Pseudomonas aeruginosa in the Murine Lung and on Cystic Fibrosis Lung Airway Cells(En ligne).mBio, 3(2).Disponible sur <http://mbio.asm.org/content/3/2/e00029-12.full.htmlref-list-1This>

[157] Weiling Fu, Terriet Rodney M.Dolan. (2010) Bacteriophage cocktail for the prevention of biofilm by pseudomonas aeruginosa on catheters in vitro model system (En ligne). Antimicrobial Agents & Chemotherapy 54 (2010) 397-404. Disponible sur http://www.iqg.com.br/pbsp/img_up/01336132672.pdf

[158] Veronique (2015) Biofilms, infection chronique et plante medicinale (En ligne).Blogue de Véronique.Disponible sur : <http://www.floramedicina.com/biofilms-infections-chroniques-et-plantes-medicinales>.

[159] El AZZAOUI Samir(2011). Contribution à l'étude de l'effet anti-biofilm des huiles essentielles : Mentha pulegium et Laurus nobilis. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah En ligne sur : www.memoirepfe.fst-usmba.ac.ma/get/pdf/1714

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à législation en vigueur aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne pas dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis

Fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes

Confrères si je manquais à mes engagements.



جامعة محمد الخامس
كلية الطب والصيدلة
- الرباط -

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم
وأحسب بالثمن العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيها لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد



الأغشية الحيوية وصلتها بالأمراض البشرية

أطروحة:

قدمت ونوقشت علانية يوم:

من طرف

الآنسة : منى بزوي

المزداة في 07 يوليوز 1991 بالدار البيضاء

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: أغشية حيوية، مقاومة، عدوى مزمنة، زرع طبي، مضاد حيوي.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

السيد : ميمون الزهدي

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

مشرفة

السيدة : مريم شادلي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

السيدة : سكيمة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

أعضاء

السيدة : سعيدة طلال

أستاذة في الكيمياء الحيوية

السيد : يسين سخسوخ

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة