



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : Biologie

OPTION: Microbiologie Appliquée

Thème

Les infections liées aux biofilms

Réaliser par :

KELLIL DALIA et TRAD SAIDA

Jury de soutenance

Président :	M^{me} CHORFI KELTOUM (M.A.A)	Univ. AbbèsLaghrou – Khenchela
Encadreur :	M^{me} ARAB YASMINE (M.A.A)	Univ. AbbèsLaghrou–Khenchela
Examineur :	M^{me} BOUTARFA SOUMIA (M.A.A)	Univ. AbbèsLaghrou–Khenchela

Année universitaire 2020/ 2021



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



UNIVERSITE ABBES LAGHROUR KHENCHELA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

MEMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de

MASTER

FILIERE : Biologie

OPTION: Microbiologie Appliquée

Thème

Les infections liées aux biofilms

Présenté par :

KELLIL DALIA et TRAD SAIDA

Jury de soutenance

Président : M^{me} CHORFI KELTOUM (M.A.A) Univ. AbbèsLaghrou – Khenchela
Encadreur : M^{me} ARAB YASMINE (M.A.A) Univ. AbbèsLaghrou–Khenchela
Examineur : M^{me} BOUTARFA SOUMIA (M.A.A) Univ. AbbèsLaghrou–Khenchela

Année universitaire 2020/ 2021

Remerciement

Avant tout, Nos plus chers remerciements à notre Dieu, tout puissant de nous avoir donné le courage, la force et la volonté pour réaliser ce travail.

*On remercie en deuxième lieu notre promotrice **ArabYasmine** pour la proposition de ce thème ainsi que pour sa compréhension et pour l'aide qu'elle nous a donné.*

*Nos vifs remerciements vont à madame **CHORFI KELTOUM**. Maitre assistante à la faculté de science de la nature et de la vie, Université Abbés LaghrourKhenchela, pour avoir accepté de présider ce jury de mémoire*

*A notre maitre madame **BOUTARFA SOUMIA**. Maitre assistante à la faculté de science de la nature et de la vie, Université Abbés LaghrourKhenchela permettez-nous de vous exprimer nos sincères remerciements. C'est un grand honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner ce travail.*

Nos remerciements vont également à Nos enseignants qui nous ont accompagnés pendant notre cursus universitaire.

A Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mon père, pour ses encouragements incessants et son soutien moral aux moments difficiles qui furent pour moi les gages de réussite.

Mon adorable mère, qui est toujours présente et continue de l'être pour faire mon bonheur.

Merci pour être sacrifiée pour que ces enfants grandissent et prospèrent. Que dieu la protège et lui donne bonne santé.

Mes frères.

Mes sœurs.

A toute ma famille

A tous mes amis

Spéciale dédicace à mon amie et binôme DALIA

A tous ceux et toutes celles qui m'ont encouragé et m'ont souhaité du bien de près ou loin.

A tous les étudiants de biologie et ma promotion et qui m'aiment.

SAIDA

Dédicaces

Je dédie ce travail :

*A la personne qui a sacrifié sa vie pour moi, et qui a pris le défi pour mes études, a l'homme qui m'a éclairé le chemin de la réussite ; Mon cher père :
LARBI.*

A la prunelle de mes yeux, celle qui m'a poussé moralement, a la femme qui est toujours fière de moi ; Ma chère mère : HAYAT.

*A mon mari : Kamel en témoignage de ma gratitude pour ses encouragements, sa patience et son aide, puisse dieu vous donne santé, bonheur et courage.
A mes petites : AYA SIFANA et TASNIME que dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.*

A vous mes frère: MOHAMED (TOUTOU), DIAA, FARID et sa famille (SARA, AMINA, IYAD ET RIAL), A qui je souhaite un avenir radieux plein de réussite.

A ma chère sœur: ISMAHANE, qui m'avez toujours soutenu et encouragé et à sa petite MAYA.

Ama belle-famille pour leurs encouragements et leurs soutiens

A mon binôme TRAD SAIDA

A CHAHIDA, Dr vétérinaire, pour son aide pratique et son soutien moral et ses encouragements.

A toute ma famille.

DALIA

Table des matières

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux.....	III
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Introduction.....	1
Chapitre I: les biofilms	
I.Définition.....	2
II .La formation de biofilms	2
II.1. L'adhésion réversible	2
II.2. L'adhésion irréversible	3
II.3. Le développement.....	3
II.4. La maturation	3
II.5. La dispersion.....	4
III.La composition des biofilms.....	4
IV. Les facteurs impliqués dans la formation des biofilms.....	5
IV.1. Les facteurs liés à la surface.....	5
IV.2.Les facteurs liés aux microorganismes	5
IV.3.Les facteurs liés aux milieux.....	6
V.La régulation de la formation des biofilms (le quorum sensing)	6
V.1. Le rôle de quorum sensing	7
VI. La résistance des biofilms aux agents antimicrobienne	7
VI.1. La matrice extracellulaire.....	7
VI.2. Conditions défavorables à l'actionde certains antibiotiques.....	8
VI.3. Mécanismes génétiques spécifiques.....	8
VI.4. Les bactéries en dormance.....	8
Chapitre II: les infections liées aux biofilms	
I. Généralité.....	10

II. Les infections chroniques liées aux biofilms.....	11
II.1. Infections associées aux plaies chroniques.....	11
II.1.1. Les ulcères veineux des jambes.....	12
II.1.2. Les ulcères du pied diabétique.....	12
II.1.3. Les escarres de décubitus.....	12
II.2. La plaque dentaire.....	15
II.3. La mucoviscidose (Fibrose kystique).....	17
III. Les biofilm des dispositifs médicaux.....	18
III.1. Classification des DM.....	19
III.2. Biofilms des cathéters urinaires.....	19
III.2.1. Les voies de contamination des sondes urinaires.....	19
III.3. Biofilms des cathéters vasculaires.....	21
III.3.1. Les principales voies de contamination du cathéter.....	23
III.3.1.1. Contamination de la face externe du cathéter.....	23
III.3.1.2. Contamination de la lumière interne du cathéter.....	23
III.3.1.3. Colonisation de la portion intravasculaire du cathéter.....	23
Chapitre III: Stratégies thérapeutiques pour lutter contre les biofilms	
I. Généralité.....	28
II. Mesures préventives empêcher la formation des biofilms.....	28
II.1. L'hygiène.....	28
II.2. Les dispositifs imprégnés d'argent ou de substances antimicrobiennes.....	29
II.3. Les dispositifs imprégnés de substances hydrophiles.....	29
II.4. Les verrous d'agents chélateurs.....	29
III. Traitements curatifs pour l'élimination des biofilms déjà formé.....	30
III.1. Elimination mécanique du biofilm.....	30
III.2. L'ablation du dispositif.....	30
III.3. Antibiothérapie.....	30
III.4. Verrous antibiotiques curatifs.....	31
IV. Nouvelles approches antibiofilms.....	32
IV.1. Inhibition du quorum sensing (le quorum quenching).....	32
IV.2. Autres nouvelles approches antibiofilm.....	33
Conclusion et perspectives.....	34
Références bibliographiques.....	35

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR: Association Française de Normalisation.

AHL: Acylhomosérines lactones.

AI-2: L'autoinducteur 2.

ATB: Antibiotiques.

BG-: Bacille Gram négative.

CAP: Cathéter artériel périphérique.

CVP: Cathéter veineux périphérique Cathéter artériel périphérique.

CVC: Cathéters veineux centraux.

CMEB: Concentration Minimale d'Eradication du Biofilm.

CG+: Cocci Gram positive.

DM: Dispositifs médicaux.

EPS:Exopolysaccharides.

IgG:Immuno-globuline G.

ILC: Infection Liée au Cathéter.

LPS :Lipopolysaccharides.

QS:QuorumSensing.

QQ: Quorum Quenching.

SPM: Système des Phagocytes Mononucléés.

UFC:Unité Formant Colonie.

LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Pages
01	Développement et structure d'un biofilm bactérien.	4
02	Les Principales molécules du quorum sensing bactérien.	7
03	Représentation schématique des mécanismes de tolérance des biofilms aux antimicrobiens.	9
04	les infections liées aux biofilms les plus étudiées chez l'homme.	10
05	Mécanismes de formation de biofilm d'une infection chronique au niveau d'une plaie.	13
06	Plaque dentaire (biofilm) chez un patient présentant une parodontite	15
07	Sondage vésical; principales voies d'acquisition des microorganismes	20
08	Schéma d'un cathéter veineux.	22
09	Les principales voies d'acquisition des microorganismes sur cathéters.	24
10	vue schématique de la formation de biofilm à la surface d'un cathéter veineux.	25
11	Mécanismes du quorum sensing bactérien et des différentes stratégies de quorum quenching.	32

LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Pages
01	La composition chimique de biofilm.	5
02	Variables importantes dans l'attachement cellulaire et la formation de biofilm.	6
03	Principales bactéries retrouvées dans la plaque dentaire supra et sous gingivale.	16
04	Classification des DM.	19
05	Les différents types de cathéters.	22
06	Liste de micro-organismes isolés à partir de biofilms formés sur des cathéters veineux.	24
07	Verrous antibiotiques curatifs étudiés en clinique.	31
08	Autres nouvelles approches antibiofilm.	33

Résumé: les infections reliées aux biofilms.

Les biofilms sont des amas structurés de cellules 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. Il se forme 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.

Dans le cadre de cette recherche, nous avons exploré les étapes de formation des biofilms et les mécanismes impliqués dans leur régulation ainsi que les infections impliquant ce mode de vie.

Les bactéries du biofilm peuvent résister à la réponse immunitaire de l'hôte et sont beaucoup plus résistantes aux antibiotiques et aux désinfectants que les cellules bactériennes planctoniques.

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 appelées quorum quenching QQ (utilisation des inhibiteurs chimiques, des anticorps ou encore des enzymes capables d'interférer avec les autoinducteurs). QQ a également montré des effets synergiques avec des traitements antibactériens classiques, ceci constitue une piste thérapeutique prometteuse pour lutter contre les biofilms.

Mots clés: Biofilms, bactérie, infections, résistance, quorum quenching, antimicrobiens.

Abstract: biofilms-related infections.

Bacterial biofilms are structured communities of bacterial cells enclosed in a self-produced polymer matrix that is attached to a surface. Biofilms protect and allow bacteria to survive and thrive in hostile environments. They 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.

In this research, we have explored the stages of biofilms formation, the mechanisms of their regulation and pathologies involving this lifestyle.

Bacteria within biofilms can withstand host immune responses, and are much less susceptible to antibiotics and disinfectants when compared to their planktonic counterparts.

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. These methods are varied and often resort to new technologies named quorum quenching QQ (Chemical inhibitors, sequestering antibodies and degrading enzymes). QQ also showed synergistic effect with traditional antibacterial treatment, thereby it constitutes an interesting therapeutic strategy to fight against biofilms.

Key words: Biofilms, bacteria, infections, resistance, quorum quenching, antimicrobials.

ملخص : العدوى المرتبطة بالأغشية الحيوية.

الأغشية الحيوية عبارة عن مجموعات منظمة من الخلايا مغلقة بمصفوفة بوليميرية و مثبتة على سطح. تحمي الأغشية الحيوية البكتيريا و تسمح لها بالبقاء في ظروف بيئية قاسية وهي تتشكل بشكل جيد على الأنسجة السطحية أو الداخلية للمضيف و كذلك على الأجهزة الغازية مثل القسطرة و الزرع , صمامات القلب , قسطرة المسالك البولية و الأطراف الاصطناعية, و التي تشكل العنصر الرئيسي في التسبب المرضي للعدوى على المعدات.

قننا في هذا البحث باستقصاء مراحل تكون الأغشية الحيوية والميكانيزمات المشاركة في تنظيمها و بالإضافة إلى الأمراض التي تستلزم هذا النمط من الحياة.

يمكن للبكتيريا الموجودة في الأغشية الحيوية أن تقاوم الاستجابة المناعية للمضيف وهي أكثر مقاومة للمضادات الحيوية و المطهرات من الخلايا لبكتيريا العوالق.

أصبح تحسين المعرفة حول آليات المشاركة في تكوين الأغشية الحيوية ومقاومتها للمضادات الميكروبات وخاصة المضادات الحيوية، تحديا من أجل إيجاد طرق جديدة للوقاية من العدوى المرتبطة بالأغشية الحيوية وهي متنوعة و أحيانا تستخدم تقنيات جديدة تحت عنوان إخماد النصاب الكمي (استخدام مثبطات كيميائية أو أجسام مضادة أو إنزيمات قادرة على التدخل في المحرضات الذاتية)، والذي أظهر أيضا تأثيرات تآزريه مع العلاجات التقليدية المضادة للبكتيريا، وهذا يشكل وسيلة علاجية واعدة لمحاربة الأغشية الحيوية .

الكلمات المفتاحية: الأغشية الحيوية، البكتيريا، العدوى، المقاوم، إخماد النصاب الكمي، مضادات الميكروبات.



Introduction

Introduction

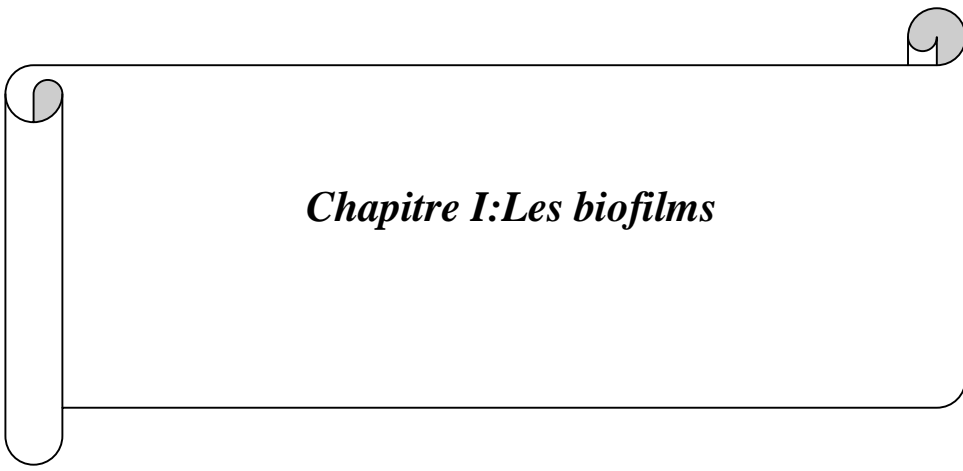
Dans leur environnement naturel, la plupart des micro-organismes favorisent un mode de vie où la population bactérienne se trouve fixée sur un support (état sessile) plutôt que libre et isolée dans le milieu environnemental (état planctonique). Les micro-organismes sont attachés à une surface, organisés en communautés structurées, et englobés dans une matrice d'exopolysaccharide, William Costerton a donné le nom de « biofilm » à ce mode de développement(1).

Les biofilms ont une grande importance pour la santé publique en raison de leur rôle dans certaines maladies infectieuses et de leur importance dans diverses infections liées aux dispositifs (2), la majorité des infections humaines (65%) sont causées par des biofilms(1).

Les principales infections associées aux biofilms sont liées d'une part à des pathologies chroniques comme l'endocardite infectieuse, la mucoviscidose, les infections urinaires ou de plaies chroniques et les pathologies buccodentaires et d'autre part à la colonisation de dispositifs médicaux même si les techniques aseptiques sont rigoureusement respectées. Le développement du biofilm est rapide et inévitable sur la plupart des matériaux utilisés en médecine humaine telles que les cathéters veineux et les sondes urinaires ou les implants (valves cardiaques, hanches artificielles) (3,4).

Malheureusement, ces nombreux problèmes associés au développement des biofilms en milieu médical, ont pour origine leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens (antibiotiques et désinfectants)(4). Cette résistance accrue, multifactorielle, est liée aux conditions de vie dans le biofilm (hétérogénéité, accès aux nutriments, oxygène...etc) ; Elles modifient les propriétés physiologiques des micro-organismes et induisent des mécanismes de résistance spécifiques qui s'ajoutent aux mécanismes de résistance connus(5). plus une capacité extrême à échapper aux défenses de l'hôte (3).Pour cela, Il est nécessaire de trouver des moyens de lutte efficaces et pérennes contre leur formation et de développer des stratégies pour la prévention afin de limiter leurs conséquences de l'antibiorésistance.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude ayant comme une synthèse bibliographique où nous apportons dans le premier chapitre de décrire le biofilm, suivre son développement et sa physiologie. Dans le deuxième chapitre nous nous sommes penchés sur les principales infections chroniques liées aux biofilms. Le dernier chapitre expose les stratégies de lutte contre ces biofilms. Enfin, une conclusion achève notre étude.



Chapitre I: Les biofilms

Chapitre 1 les biofilms

I. Définition

Les biofilms sont un complexe de cellules microbiennes intégrées dans une matrice extra cellulaire composée, d'ADN extra cellulaire, de protéines et d'exopolysaccharides qui offre une protection pour les bactéries (6), qui forme une structure tridimensionnelle organisée spatialement. Il est peut être constitué d'une ou plusieurs couches composées chez laquelle est constitué d'une ou plusieurs espèces des microorganismes(7).

D'après Donlan et J.Costerton, 2002, un biofilm est une communauté sessile d'origine microbienne caractérisée par des cellules qui sont irréversiblement attachées à un substrat ou à une interface ou les unes aux autres, sont intégrées dans une matrice de substances polymères extracellulaires qu'elles ont produites et présentent un phénotype modifié à l'égard du taux de croissance et à la transcription génique (8). Ils sont dits ubiquitaires du fait qu'ils concernent le monde animal, végétal, minéral, et aquatique avec des épaisseurs variables (9), ils se forment sur des surfaces abiotiques ou biotiques : Dispositifs médicaux, canalisation, surfaces humides ou immergées (10).

II. La formation de biofilms

Les études génétiques réalisées sur les biofilms ont montré que la formation d'un biofilm est un cycle se déroulant en cinq étapes (5): une phase d'adhésion initialement réversible puis une phase irréversible qui va permettre à la bactérie de se fixer à une surface, le début de la formation des microcolonies en troisième étape, en quatrième étape la phase de maturation du biofilm. Finalement, une phase de dispersion des cellules permettant la colonisation de nouvelles surfaces et le renouvellement du cycle (5,11).

II.1. L'adhésion réversible

Au cours de l'adhésion réversible, les bactéries établissent des interactions faibles de type Van der Waals et électrostatiques avec la surface conditionnée. L'adhésion des bactéries est facilitée si les conditions de flux sont proches de zéro. Des interactions spécifiques entre la surface et les macromolécules exprimées à la surface de la bactérie s'établissent. Tant que ces interactions ne sont pas établies, la bactérie peut se désorber rapidement de la surface et retrouver son état planctonique (12).

II.2. L'adhésion irréversible

Après la liaison à la surface à travers la matrice exopolymères, les cellules bactériennes commencent le processus d'adhésion irréversible, de prolifération et d'accumulation en tant que cellule multicouche grappes. Ces matrices extracellulaires, composées d'un mélange de matériaux tels que les polysaccharides, les protéines, les acides nucléiques et d'autres substances sont considérés comme essentiel dans la cimentation des cellules bactériennes ensemble dans la structure du biofilm, en aidant à piège et conserve les nutriments pour la croissance du biofilm, et dans la protection des cellules de la déshydratation et les effets des agents antimicrobiens. Les flagelles, pili et lipopolysaccharides (LPS) constituent des éléments clés dans la mise en place de la phase d'adhésion irréversible (13).

II.3. Le développement

Caractérisé par la formation des microcolonies composé des bactéries qui se divise et des bactéries qui s'attache sur le biofilm en formation (5), le développement des microcolonies et à la structuration du biofilm : les microcolonies se développent en piliers d'épaisseur variable au sein desquels les cellules sont englobées dans la matrice extracellulaire(5).

II.4. La maturation

C'est l'étape clé de la formation du biofilm. Une fois que les cellules microbiennes sont fixées irréversiblement sur la surface, elles commencent à croître et à se multiplier. Ces activités biologiques sont fonction de la carence ou l'abondance des facteurs essentiels tels que l'eau, la teneur en oxygène et de paramètres physico-chimiques comme la température, le pH, la lumière etc. Le nombre de cellules microbiennes augmente et donc la distance entre deux cellules diminue. Cela provoque la sécrétion d'exopolymères qui contribuent à la forte adhésion des cellules les unes aux autres d'un côté et de l'ensemble à la surface d'un autre côté. Les microorganismes peuvent échanger des métabolites avec leurs voisins par des relations physiologiques (14).

La maturation du biofilm est divisée en deux phases(15). La première phase est marquée par des régulations de gènes importantes, engendrant un changement marqué de phénotype par rapport aux formes planctoniques. Elles concernent 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 (16). La seconde phase de maturation du biofilm est marquée par des synthèses protéiques importantes, très différentes

Chapitre 1 les biofilms

de celles ayant lieu lors de la première phase de maturation du biofilm. L'épaisseur maximale du biofilm est atteinte durant la phase de maturation (15).

II.5. La dispersion

Certaines bactéries peuvent se détacher du biofilm mature et rentrer dans la phase de dissémination. La dispersion se produit soit sous forme de cellules uniques soit sous forme de petites microcolonies arrachées du biofilm. La dispersion planctonique est un processus programmé, mais les microcolonies sont arrachées généralement par les forces physiques) (3). Trois principaux processus physique de détachement sont (2):

- l'érosion ou le cisaillement (élimination continue de petites portions du biofilms),
- Re-largage ou la mue (élimination rapide et massive des biofilm),
- l'abrasion (détachement du à la collision de particule),

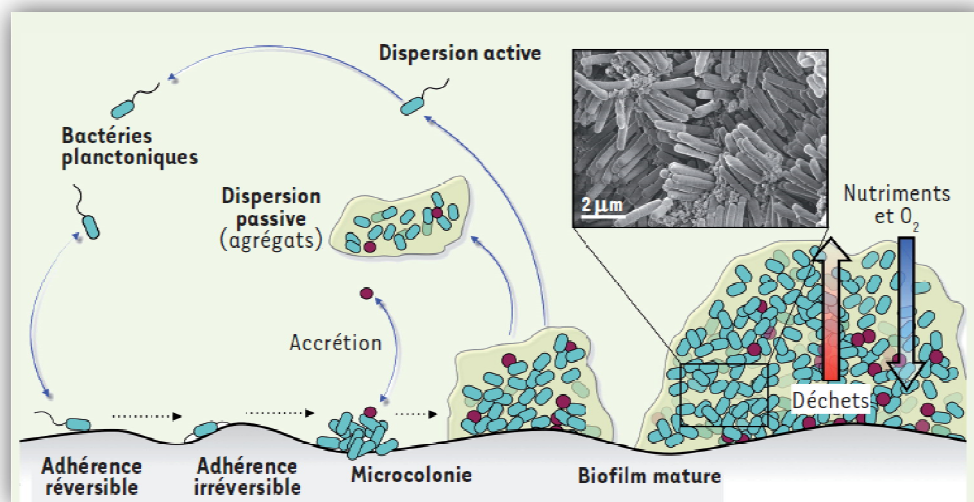


Figure 01: Développement et structure d'un biofilm bactérien(4).

III. La composition des biofilms

Le biofilm se compose de structures complexes des bactéries enveloppées dans une matrice polymère extracellulaire EPS(17). Cette matrice autoproduite par les cellules est composée de bio polymère et est traversée par des canaux hydrauliques(18). L'EPS peut représenter 50% à 90% du carbone organique total des biofilms(2), et peut stimuler sa propre synthèse (19), les composants majeurs de l'EPS sont les protéines, les exopolysaccharides et on peut trouver l'ADN extracellulaire, les glycoprotéines et les glycolipides. La composition de la matrice varie selon l'espèce bactérienne et les conditions de croissance(20).

Chapitre 1 les biofilms

Tableau01: La composition chimique de biofilm (21).

N°	Composant	Pourcentage de la matrice
1	ADN et ARN	2-5%
2	1 Microbialcells	<1-2%
3	Polysaccharides	1-2%
4	Protéine	<1-2% (inclue des enzymes)
5	Eau	Plus de 97%

IV. Les facteurs impliqués dans la formation des biofilms

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, forces s'exerçant dans le milieu aqueux (hydrodynamique du fluide), caractéristiques du milieu et propriétés de la surface des cellules (22).

IV.1. Les facteurs liés à la surface

Ces facteurs dépendent de:

- La rugosité de surface: des surfaces lisses pouvaient échapper à la fixation bactérienne (8), mais pour les souches bactériennes sauvages les caractéristiques physiques d'une surface n'influencent pas et peut coloniser facilement les surfaces lisses que les surfaces rugueuses (8).
- l'hydrophobicité: les micro-organismes hydrophobes adhèrent fortement sur les matériaux hydrophobes comme le polystyrène, tandis que les microorganismes hydrophiles adhèrent sur les matériaux hydrophiles comme l'acier inoxydable (23).
- la présence ou non de film organique (23): La présence de polymères sur un matériau modifie les propriétés physico-chimiques de sa surface, par exemple une diminution de l'adhésion de *staphylococcus aureus* et de *pseudomonas fragi* sur des échantillons d'acier inoxydable, de chrome et de polyuréthane (23).

IV.2. Les facteurs liés aux microorganismes

Chaque famille des micro-organismes présente des propriétés spécifiques:

- Présence des appendices à la surface des bactéries: les pili, les flagelles et les fimbriae sont des appendices essentiels à la formation du biofilm particulièrement dans les phases d'adhésion (1).
- L'hydrophobicité de la surface de la cellule: par exemple l'adhésion de quatre souches de *Streptococcus* sur des alliages dentaires dépend de leurs caractéristiques

Chapitre 1 les biofilms

énergétiques, la souche la plus hydrophile présentant les plus faibles taux d'adhésion(23).

- La substance polymère extracellulaire: par exemple pour *P.aeruginasasi* la source de carbone est le glucose, la bactérie forme un biofilm hautement différenciée composé de structure de champignons mais si la source de carbone est le citrate, la même souche forme un biofilm plat et indifférenciée (3).

IV.3. Les facteurs liés aux milieux

On peut citer les facteurs suivants :

- Vitesse de l'écoulement: Les bactéries préfèrent de former les biofilms dans les environnements à très forte cisaillement (des milieux à écoulement rapide)(8),
- Température, pH, concentration en oxygène, concentration en fer, osmolarité, présence d'ions spécifiques.

Tableau02: variables importantes dans l'attachement cellulaire et la formation de biofilm(2).

Propriété du substrat	Propriété de fluide	Propriété de la cellule
Texture ou rugosité	La vitesse de l'écoulement	Hydrophobicité de la surface
Hydrophobicité	pH	Présence de Fimbriae
Film de conditionnement	Température	Présence de Flagelles
	Les cations	Substance polymère extracellulaire
Présence d'agents antimicrobiens		

V. La régulation de la formation des biofilms (le quorum sensing)

De nombreux microorganismes ont des voies de régulation contrôlée par la densité des cellules du même type ce contrôle est appelé la détection de quorum (le mot quorum signifie ici "nombre suffisant"), donc c'est la détection du nombre suffisant (24).

Les cellules faisant partie d'un bio-film sont capables de communiquer entre elles au moyen de molécules de signalisation (quoromones)(18). Ce système est fondé, chez les Gram négative, sur la production de phéromones diffusibles, des Acyl-homéométrie lactones (Acyl-HSL)(1) cette molécule synthétisée par une HSL-synthétase(1) et diffuse librement à l'extérieur de la cellule (24). Chez les bactérie Gram positive utilisent de petits peptides ou des peptides modifiés pour la signalisation comme l'autoinducteur 2 (AI-2) (25) ou autre...

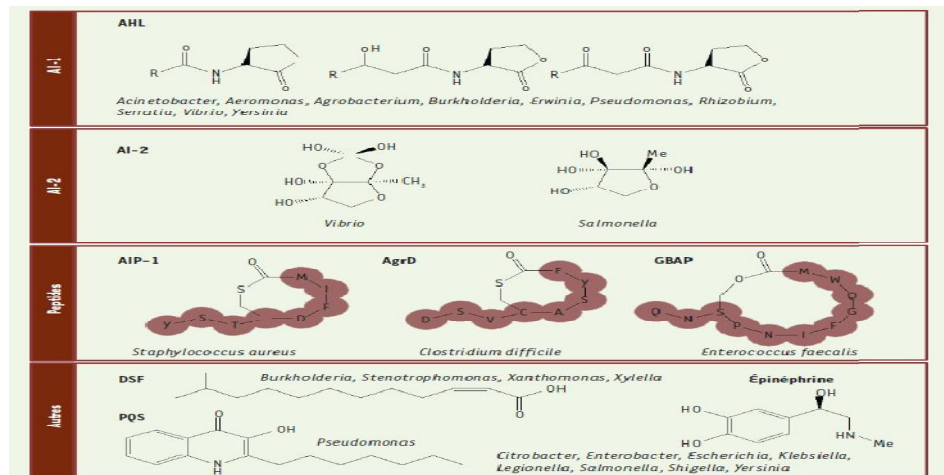


Figure 02:Principales molécules du quorum sensing bactérien(26).

V.1. Le rôle de quorum sensing

- Impliqué dans la formation de biofilm et la motilité de surface (25).
- Permet aux bactéries de communiquer entre elles afin d'estimer leur densité de population et de s'adapter à leur microenvironnement (18).
- l'activation de certains gènes tels que ceux codants pour des facteurs de virulence, des hydrolases spécifiques à certains agents antibactériens ou des pompes à efflux(18).

VI. La résistance des biofilms aux agents antimicrobienne

Les biofilms sont jusqu'à 1000 fois plus résistants aux ATB que les cultures planctoniques (27).

Les infections causés par des agents pathogènes associées au biofilms sont difficiles à éradiquer car la structure du biofilm, la matrice extracellulaire et la signalisation inter-bactérienne des communautés de biofilm microbien empêchent la pénétration des antibiotiques, limitent la nutrition favorisent lapersistance bactérienne et contribuent à la résistance aux antibiotiques des bactéries du biofilm(17). Cette résistance est due aux plusieurs facteurs.

VI.1.La matrice extracellulaire

La matrice extracellulaire pourrait constituer une barrière de diffusion Ce phénomène permettrait une adaptation progressive de la physiologie des bactéries exposées au stress antibiotique(4).

Chapitre 1 les biofilms

Le composant exo polysaccharide de la matrice de biofilm peut empêcher la pénétration des antibiotiques et fournir une protection contre la phagocytose par les cellules immunitaire de l'hôte (28).

Les cellules d'un biofilm peuvent protéger des ATB en raison de la limitée de pénétration des ATB à travers la matrice du biofilm(27).

VI.2. Conditions défavorables à l'action de certains antibiotiques

De nombreux antibiotiques sont plus efficaces sur les bactéries se multipliant activement. L'accès limité aux nutriments, la faible concentration en oxygène et le pH élevé des couches profondes du biofilm induisent un ralentissement de la croissance bactérienne qui pourrait diminuer l'activité des agents antibactériens(4).

VI.3. Mécanismes génétiques spécifiques

La propagation horizontale des gènes de résistances à d'autres bactéries de la même espèce ou d'espèces différentes crée rapidement des populations bactériennes(25) avec:

- Une capacité élevée de dégrader les composés antibactériens.
- Diminution de la perméabilité.
- Affinité réduite pour les ATB.

VI.4. Les bactéries en dormance

La présence de bactéries en dormance appelées persistantes (persister cells), joue un rôle majeur dans la tolérance du biofilms aux antibiotiques (4).

Les bactéries persistantes sont protégées de système immunitaire (leucocytes et anti anticorps) et survivent à un traitement antibiotique (8).

Bien que La résistance peut être considérée comme la capacité d'un microorganisme à se multiplier en présence d'un biocide (antibiotique ou antiseptique)(29), La tolérance correspond au fait que la croissance des bactéries est inhibée mais qu'un antibiotique bactéricide est incapable de tuer ces bactéries au-delà d'un certain point Cette situation correspond aux biofilms qui sont capables de survivre à des concentrations très élevées de biocides, mais avec une multiplication bactérienne interrompue. Dans le cas de la tolérance du biofilm, cette caractéristique est phénotypique, c'est à dire qu'elle disparaît lorsque les bactéries composant le biofilm sont remises en suspension, en phase planctonique (30). Cette tolérance est liée à la synergie de plusieurs mécanismes qui sont illustrées dans la figure suivante.

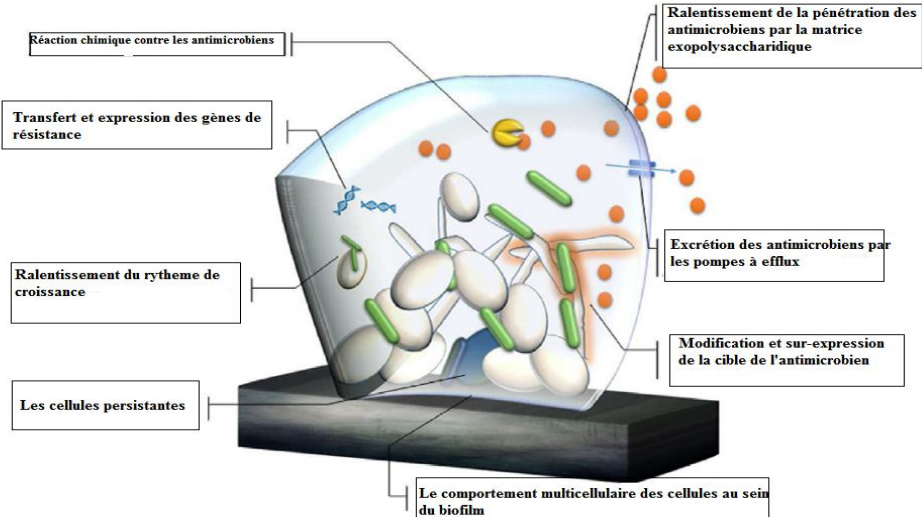
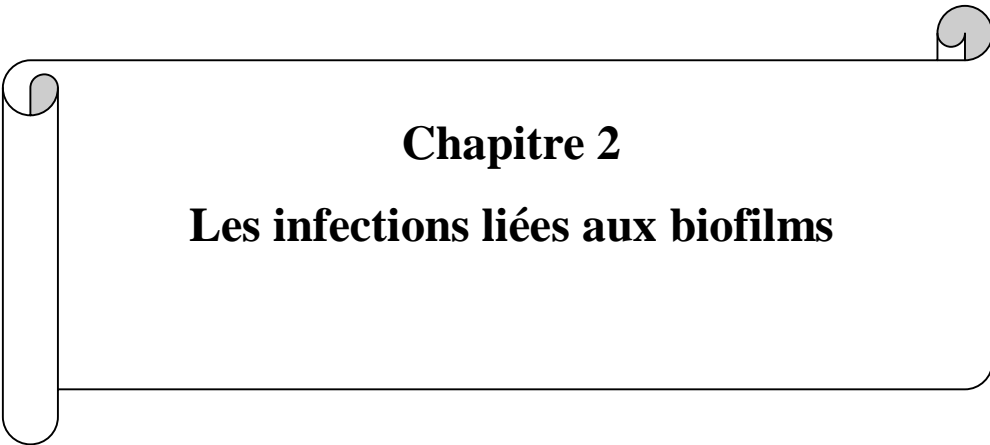


Figure03: Représentation schématique des mécanismes de tolérances des biofilms aux antimicrobiens(31).



Chapitre 2
Les infections liées aux biofilms

I. Généralité

En santé humaine, il a été montré que les biofilms sont associés à des problèmes majeurs de santé publique et sont impliqués dans un large éventail de maladies infectieuses qui touchent majoritairement les personnes légèrement ou fortement immunodéprimés ou porteurs de prothèses médicales (11).

Les principales infections associées aux biofilms sont liées d'une part à la colonisation de dispositifs médicaux (DM) telles que les cathéters sanguins, prothèses, sondes urinaires ou trachéales ou encore les valves cardiaques. Et d'autre part à des pathologies chroniques comme les plaies chroniques, l'endocardite infectieuse, la mucoviscidose, les infections urinaires ou, et les pathologies buccodentaires(32). Voir figure 04.

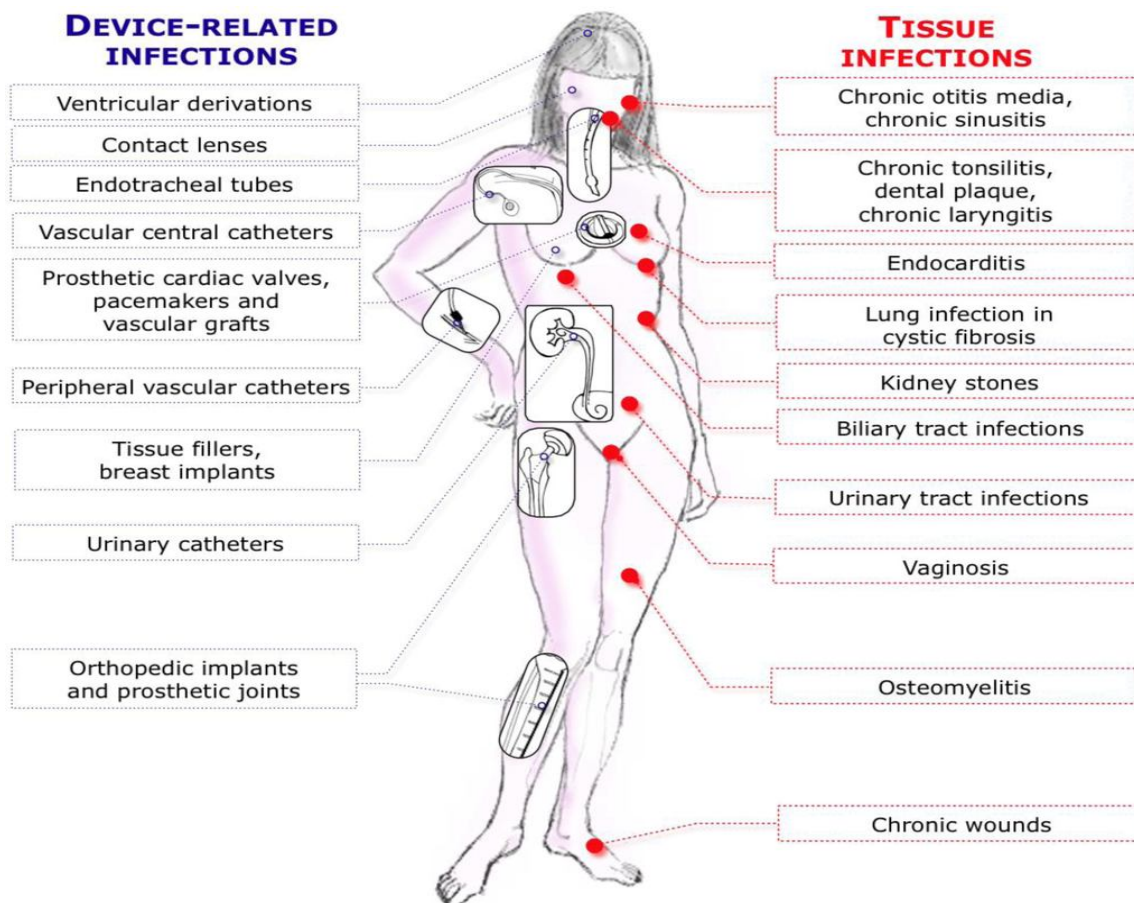


Figure04: les infections liées aux biofilms les plus étudiées chez l'homme (33).

Pour définir que une infection est associée ou non à un biofilm il Ya plusieurs critères:

- 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 (4).

Les microorganismes associés aux infections liées aux biofilms sont le plus souvent *P. aeruginosa*, *S. aureus* ou encore *E. coli*. Malheureusement, ces infections sont d'autant plus difficiles à combattre parce que les bactéries associées en biofilm sont résistantes aux antibiotiques et aux défenses de l'hôte(32).

II. Les infections chroniques liées aux biofilms

La chronicité des infections bactériennes persistantes est due à la formation de biofilm bactérien, qui contraste avec les bactéries planctoniques trouvées dans les infections aiguës(3).

La majorité (65%) des infections humaines sont causées par des biofilms, souvent responsables du caractère chronique de l'infection (32).

Plusieurs infections chroniques caractérisées par leur difficulté thérapeutique, l'impossibilité de stériliser certains foyers d'infection et le risque élevé de récurrence sont également considérées comme des infections liées aux biofilms (3).

Les biofilms constituent donc des réservoirs bactériens à l'origine d'infections chroniques ou récidivantes (4).

Il existe plusieurs pathologies chroniques dues aux biofilms comme les plaies chroniques, la plaque dentaire, la mucoviscidose, l'endocardite infectieuse, les infections urinaires.

II.1. Infections associées aux plaies chroniques

Une plaie est dite chronique lorsque la cicatrisation ne se déroule pas normalement et l'intégrité anatomique et fonctionnelle de la peau n'est pas atteinte en un mois environ(34), sous l'influence de divers facteurs internes ou externes (35). Il est démontré que 60% des plaies chroniques contiennent un biofilm (34), qui est un facteur important d'empêchement de la cicatrisation des plaies chroniques(35).

Les individus prédisposés au développement de plaies chroniques sont les personnes souffrant de diabète et de maladies cardio-vasculaires (36). Les ulcères de décubitus (escarres), les ulcères veineux des jambes, et les ulcères « du pied diabétique » sont les exemples les plus importants des plaies chroniques qui développent un biofilm (35).

II.1.1. Les ulcères veineux des jambes

Sont dus à un mauvais fonctionnement des clapets anti-retour présents dans les veines. Il en résulte une hypertension veineuse dans la veine saphène interne crurale, et par conséquent une augmentation de la pression hydrostatique dans les capillaires aboutissant à la formation d'un œdème. Une pression veineuse conduit inévitablement au développement d'un ulcère veineux (36).

De nombreuses bactéries sont rencontrées lors d'ulcères veineux des Jambes, comme: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, Staphylocoque coagulase négatif, *Proteus spp* et des bactéries anaérobies (36).

II.1.2. Les ulcères du pied diabétique

Résultent de troubles neuropathiques (perte de sensibilité) et ischémiques (nécrose). Au moindre choc, une plaie peut se former (36).

Les infections des plaies par des bactéries Gram-négatives surviennent trois fois plus souvent chez les patients diabétiques que chez les patients non diabétiques et *P. aeruginosa* est la bactérie Gram-négative la plus souvent isolée de ces infections. *P. aeruginosa* est un pathogène opportuniste qui produit une variété de facteurs de virulence et est un constructeur de biofilm notoire (38).

Des études montrent que le traitement à l'insuline affecte le système immunitaire d'une manière qui entraîne la transition de *P. aeruginosa* d'un phénotype planctonique, qui entraîne une bactériémie, à un phénotype associé au biofilm, favorisant une infection chronique (38).

II.1.3. Les escarres de décubitus

Sont des lésions cutanées d'origine ischémique liées à une compression des tissus mous entre un plan dur et les saillies osseuses (épaules, chevilles...)(36). Les escarres sont un problème courant dans les maisons de soins infirmiers, les cliniques de réadaptation et les patients recevant des soins à domicile (35).

Ces escarres sont dues aux *Staphylococcus aureus*, *S. pyogenes*, des Bactéries anaérobies et des bacilles Gram négatif (39).

La cicatrisation d'une plaie est un processus qui se déroule en plusieurs phases (36):

- phase inflammatoire (phase essentiellement vasculaire).
- phase de détergence (phagocytose intense, apparition de pus).
- phase de réparation (granulation, épithélialisation).

- phase de maturation (orientation des fibres de collagène).

Les plaies chroniques sont figées dans la phase inflammatoire de la cicatrisation cette phase est caractérisée par un afflux permanent de polynucléaires neutrophiles, qui relèguent des enzymes cytotoxiques dans le milieu environnant et conduisent à des dommages des tissus avoisinants(35).

C'est la charge bactérienne importante qui est responsable du maintien de la plaie dans la phase inflammatoire du processus de cicatrisation(36). La persistance bactérienne et les moyens de défense vis-à-vis des polynucléaires neutrophiles de l'hôte sont permis par le mode de vie des bactéries sous forme de biofilms (36).

Un biofilm bactérien dans une plaie chronique est un tissu membraneux formé par des bactéries attachées au lit de la plaie en excréant une substance épaisse, visqueuse, collante: la matrice extra cellulaire. Les bactéries adhèrent au lit des plaies sont protégées par cette matrice. De nouvelles bactéries apparaissent, et la colonie se développe (35).

La présence de biofilms au niveau de certaines plaies engendre un maintien de l'inflammation (afflux massif d'effecteurs de la réponse immune, inefficace sur les biofilms) et de l'infection (charge bactérienne importante) (36).

Les mécanismes à l'origine de la formation de biofilm des plaies chronique sont résumés dans la figure 05 (36).

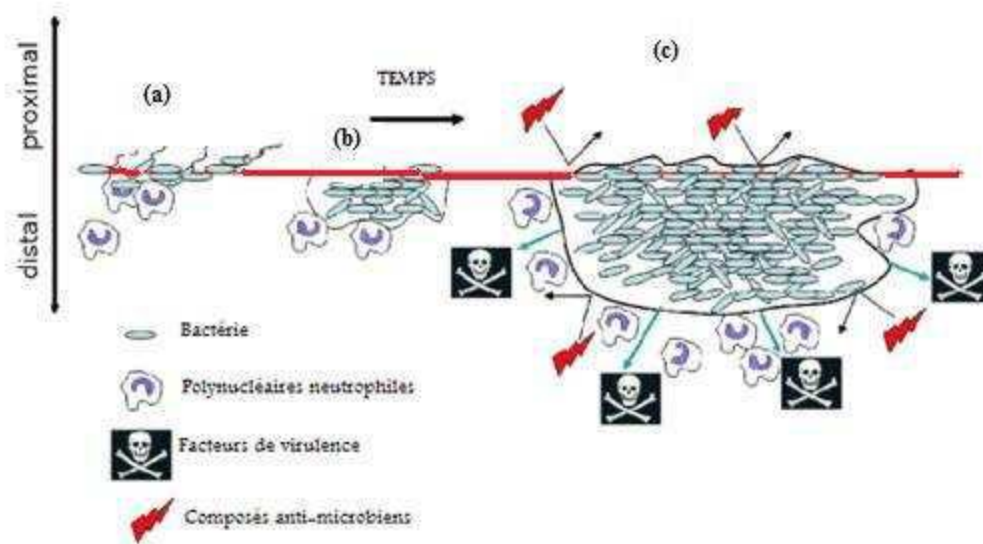


Figure 05: Mécanismes de formation de biofilm d'une infection chronique au niveau d'une plaie (40).

En (a), des bactéries planctoniques et des polynucléaires neutrophiles affluent au niveau du site de la plaie: il s'agit de la phase inflammatoire de la cicatrisation. En (b), les

Chapitre 2 les infections liées aux biofilms

bactéries continuent d'affluer et colonisent la plaie. On est toujours en phase inflammatoire de la cicatrisation. Puis, en (c), les bactéries s'organisent en biofilms, synthétisent des facteurs de virulence et deviennent résistantes aux composés antimicrobiens et à l'action des polynucléaires neutrophiles. Les bactéries persistent donc sur le site de la plaie sous forme de biofilms et bloquent la cicatrisation dans sa phase inflammatoire(40).

En 2012, un séminaire mondial sur le biofilm a résumé les critères de diagnostic clinique d'une infection par biofilm (35):

- (1) lit de plaie pâle et œdème.
- (2) un tissu de granulation fragile.
- (3) une grande quantité d'exsudat jaune.
- (4) tissu nécrotique et pourrissant.
- (5) douleur de la plaie.
- (6) odeur piquante.

Il est peu probable que les agrégats bactériens dans les biofilms de la plaie puissent être visualisés à l'œil nu(35).

La persistance de biofilms dans les plaies chroniques retarde la cicatrisation pour de multiples raisons:

- la matrice d'exopolysaccharides (EPS) du biofilm agit comme une barrière mécanique contre le complément et les anticorps, empêchant la pénétration et protégeant les cellules bactériennes (38).
- l'EPS peut également inhiber la cicatrisation des plaies en empêchant les cellules épithéliales, les fibroblastes, et les kératinocytes de migrer dans le lit de la plaie(38).

Il existe plusieurs stratégies thérapeutiques pour traiter les plaies chroniques comme le débridement, le traitement des plaies par pression négative, les ultrasons, les antibiotiques, les pansements contenant de l'argent, l'oxygénothérapie hyperbare et autres(38), mais Actuellement les plaies chroniques sont traitées par une approche connue par le nom TIME en plusieurs étapes (34):

- T; les tissu non viable de l'intérieure et auteur de la plaie sont retirés par débridement.
- I; l'infection et l'inflammation sont minimisées par l'administration d'antibiotiques et d'anti-inflammatoires.

- M; le déséquilibre hydrique est corrigé par des pansements soigneusement sélectionnés.
- E; l'épithélium et la formation des tissus sont favorisées par l'application de thérapie spécifiques.

Le miel a une pression osmotique très élevée et un pH bas, et il contient du peroxyde d'hydrogène et de l'aldéhyde d'acétone et d'autres composants bactéricides; il peut réduire l'adhésion bactérienne, inhiber la formation de biofilm, interférer avec le QS, entraver la formation d'une structure de biofilm précoce et éliminer ou détruire les biofilms établis(35).

II.2. La plaque dentaire

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) (41).

La plaque dentaire a été le premier endroit dans le corps humain où les biofilms ont été décrits(3).

Le biofilm dentaire ou plaque bactérienne, est un agrégat mou, adhérent et plus ou moins coloré qui se dépose en quelques heures sur les surfaces dentaires (naturelles, obturées, ou prothétiques) et gingivales, en l'absence d'un brossage efficace(34). Elle est formée par des bactéries reliées entre elles par une matrice extra cellulaire polysaccharidique (EPS)(34). Il se niche surtout dans les régions inaccessibles au brossage telles que les sillons dentaires, les zones inter-dentaires et les espaces gingivo-dentaires(42).

Les biofilms sont responsables de plaques dentaires, de caries, de gingivites ou de périodontites en se développant à la surface de l'email dentaire ou sur les membranes buccales (43).



Figure 06: Plaque dentaire (biofilm) chez un patient présentant une parodontite(44).

Chapitre 2 les infections liées aux biofilms

Les micro-organismes rencontrés dans la plaque dentaire sont en grande majorité *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* et *Lactobacillus* spp (36). Les streptocoques oraux ont été systématiquement identifiés comme étant les colonisateurs primaires, et ces organismes constituent 60-80% des bactéries de la plaque dentaire dans les 4 à 8 heures (34).

Les techniques modernes de biologie moléculaire ont identifié environ 1000 espèces de bactéries différentes dans le biofilm dentaire, les principales bactéries retrouvées dans la plaque dentaire se trouvent dans le tableau 03 (34).

Tableau 03: principales bactéries retrouvées dans la plaque dentaire supra et sous gingivale (34).

Bactéries aérobies ou anaérobies facultatives	Bactéries anaérobies
<i>Streptococcus mutans</i>	
<i>Streptococcus mitis</i>	
<i>Streptococcus salivarius</i>	
<i>Streptococcus sobrinus</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Streptococcus oralis</i>	<i>Prevotella nigrescens</i>
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Prevotella intermedia</i>
<i>Streptococcus cristatus</i>	<i>Porphyromonas catoniae</i>
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
<i>Stomatococcus</i> spp.	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Leptotrichia</i> spp.
<i>Haemophilus</i> spp.	<i>Selenomonas</i> spp.
<i>Capnocytophaga</i>	<i>Parvimonas micra</i>
<i>Actinomyces naeslundii</i>	(<i>Peptostreptococcus micros</i>)
<i>Lactobacillus</i> spp	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
<i>Neisseria</i> spp	<i>Corynebacterium</i> spp
<i>Spirochètes</i> dont <i>Treponema denticola</i>	<i>Bacteroides</i>
<i>Eikenella corrodens</i>	<i>Campylobacter gracilis</i>
<i>Pseudomonas</i> spp	<i>Tannerella forsythia</i>

Il existe deux types de la plaque dentaire; le premier type est la plaque supra gingivale, qui est facilement détectée au cours d'un examen clinique, elle se compose majoritairement de bactéries aérobies, qui sont responsables des caries(34). Le deuxième type est la plaque sous gingivale, beaucoup plus difficilement évaluable cliniquement et qui n'est pas accessible au patient. Elle contient des bactéries anaérobies, plus virulentes, qui se développent en pH basique, qui sont à l'origine des maladies parodontales (34).

Les bactéries buccales sous forme de cellules individuelles et de paires colonisent les surfaces dentaires recouvertes de pellicules(3), des protéines salivaires sélectivement adsorbées à la surface et forment des liaisons sélectives avec les bactéries. Une fois irréversiblement liées aux films moléculaires sur des surfaces d'accueil, les bactéries elles-mêmes excrètent de substrats, et les molécules qui composent leurs surfaces membranaires (34). Les stades initiaux sont dominés par des bactéries à divers stades de division cellulaire et des microcolonies se forment sous forme de monocouches. La division cellulaire continue dans ces microcolonies entraîne la formation de biofilms multicouches (3).

les streptocoques qui peuvent représenter jusqu'à 60 à 90 % de la flore initial_sont Les premiers colonisateurs de la surface(3), forment des microcolonies bactériennes, des bactéries filamenteuses (*fusobacterium*) mais aussi des spirochètes (*Borrelia*) ,des bacilles Gram positif et des cocci Gram négatif, se fixent et se développent sur la plaque de streptocoques, augmentant l'épaisseur de celle-ci (24). La complexité du microbiote augmente au cours des 48 h (34).

Les biofilms buccaux entraînent d'autres maladies infectieuses de la cavité buccale telle que La parodontite et les caries dentaires (41).

Le brossage des dents est un élément important de l'hygiène bucco-dentaire; le brossage électrique est efficace pour l'élimination des plaques dentaires et l'élimination des dépôts (34).

II.3. La mucoviscidose (Fibrose kystique)

C'est une maladie génétique autosomique récessive (4), cette maladie caractérisée par la présence d'un mucus très abondant et visqueux dans les poumons (10), qui ralentit la clairance mucociliaire et favorise la colonisation bactérienne et leur développement en biofilms(4).

Le mécanisme de défense non inflammatoire c'est –à-dire la clairance mucociliaire est altéré et des mécanismes de défenses inflammatoires sont recrutés (SPM, Macrophages,

IgG,...) provoquant des symptômes cliniques des infections pulmonaires bactériennes récurrentes ou chroniques (3).

La colonisation et les épisodes infectieux sont fréquemment polymicrobiens et les principales bactéries impliquées sont *S. aureus* et *H. influenzae* dans l'enfance puis, dans un second temps, *P. aeruginosa*(4).

85% des souches de *P.aeruginosa* isolées des poumons de patients atteints de mucoviscidose à un stade avancé de la maladie ont une morphologie de colonie mucoïde distinctive. Ce phénotype mucoïde est le résultat de la surproduction de l'exopolysaccharide alginate (27).*S.aureus* est généralement le premier isolat pulmonaire de ces patients (8),*B.urkholderiacepavia* infecte les poumons des patients atteints de mucoviscidose avec des conséquences mortelles mais il n'a jamais atteint le taux de colonisation de 80% de *P.aeruginosa*(8).

Le succès du traitement de la mucoviscidose peut dépendre d'un traitement antimicrobien précoce pour prévenir ou retarder l'infection chronique par *P.aeruginosa*, un vaccin contre cet organisme peut prévenir la colonisation initiale des poumons des malades de la mucoviscidose (8).

III. Les biofilm des dispositifs médicaux

Les premières descriptions d'infections liées aux biofilms sont associées à la contamination de matériel implanté. En 1982, un article rapportait le cas d'un patient porteur d'un stimulateur cardiaque qui présente trois épisodes de bactériémie à *S. aureus*(4). L'analyse du stimulateur cardiaque en microscopie électronique après son ablation a mis en évidence, pour la première fois, l'implication d'un biofilm dans la pathogénie d'une infection sur matériel(4).

Lors de l'implantation d'un matériel étranger, on considère que le risque d'adhérence bactérienne lié au geste chirurgical est majeur lors des six premières heures. Il s'engage alors une course de vitesse entre la prise en charge par le système immunitaire et la colonisation de la surface de l'implant par des bactéries à la suite d'une contamination préopératoire ou postopératoire précoce. Ces biofilms, une fois formés, constituent des réservoirs bactériens à l'origine d'infections liées aux soins (4).

Les environnements favorables aux micro-organismes pour coloniser et établir des biofilms sont pratiquement illimités (46). Ont fourni une liste partielle des dispositifs médicaux qui se sont avérés colonisés par des biofilms tels que les cathéters urinaires, les

Chapitre 2 les infections liées aux biofilms

cathéters vasculaires, sondes oro-trachéales, stimulateurs cardiaques et valves cardiaques prothétiques, les implants orthopédiques (prothèses articulaires ou matériels d'ostéosynthèse) et les lentilles de contact(8).

La contamination des surfaces médicales telles que les cathéters ou les prothèses articulaires aboutit à la formation de biofilms bactériens qui, outre leur tolérance aux bactéricides, libèrent des bactéries planctoniques à l'origine d'infections systémiques (4).

Le genre bactérien le plus représenté sur les implants médicaux est celui des *Staphylococcus spp.* Du fait de leur présence sur la peau des patients(4).

III.1. Classification des DM

Ces classes correspondent à des niveaux de risque croissants voir le tableau 04.

Tableau 04: Classification des DM (47).

Classe	Caractérisation	Exemple
Classe de risque I	Faible degré de risque	Lits médicaux, fauteuils roulants
Classe de risque II a	Degré moyende risque	Cathéter urinaire, gants chirurgicaux
Classe de risque IIb	Potentiel élevé de risque	prothèses articulaires, ciments osseux
Classe de risque III	Potentiel très sérieux de risque	prothèses ou cathéters vasculaires

III.2. Biofilms des cathéters urinaires

Les infections bactériennes du tractus urinaire sont les infections nosocomiales les plus fréquentes, le risque de développer une infection urinaire augmente avec l'implantation de matériel médical comme les sondes urinaires et les stents urétraux, la pose d'une sonde urinaire est le premier facteur responsable du développement d'une infection urinaire (36).

Les cathéters urinaires sont des dispositifs tubulaires, en latex ou en silicone qui sont insérés à travers l'urètre dans la vessie pour mesurer le débit urinaire, collecter l'urine pendant la chirurgie, prévenir la rétention urinaire contrôler l'incontinence urinaire (8), injecter un médicament ou bien diagnostiquer l'état de vessie(32).

III.2.1. Les voies de contamination des sondes urinaires

Trois modes d'acquisition des microorganismes par voie ascendante ont été décrits, pouvant s'associer chez un même patient sondé (22):

- Au moment de l'insertion de la sonde.
- Par migration extraluminaire: Dont le biofilm se développant sur la surface externe de la sonde, de microorganismes préférentiellement endogènes, à partir du méat urinaire vers l'urètre et la vessie, ou introduits dès la manœuvre invasive (22).
- Par migration intraluminaire: Quand des microorganismes pénètrent à l'intérieur du système de drainage fermé ou « système clos »: en cas de reflux des urines collectées vers la vessie au moment de la mobilisation du patient par exemple, ou lors de la violation du système de drainage au niveau de la connexion sonde-collecteur à urine, ou lors de la vidange sans précautions du collecteur: il s'agit alors d'une transmission croisée de microorganismes d'origine exogène, véhiculés par les professionnels de santé (manuportage) et pouvant diffuser selon un mode épidémique (22).

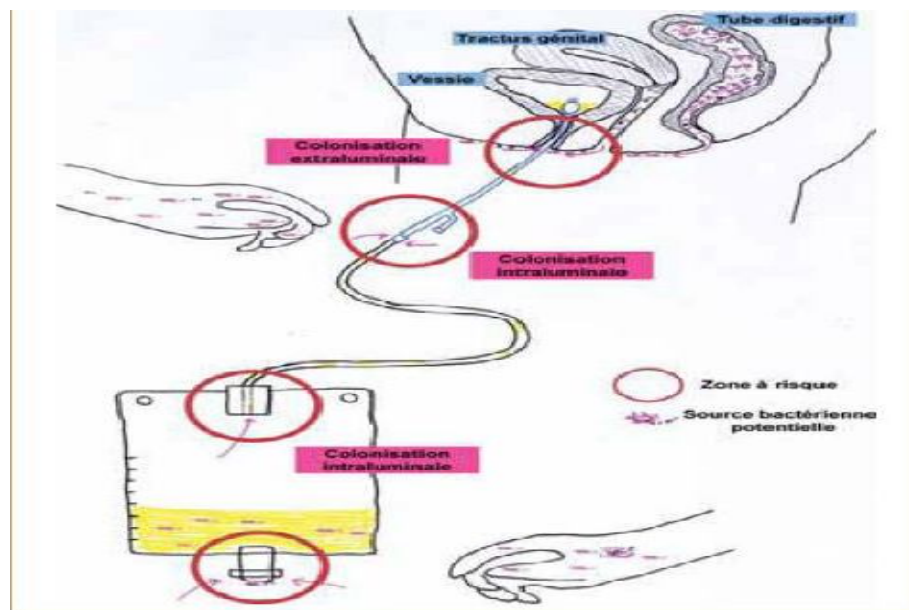


Figure 07: Sondage vésical: principales voies d'acquisition des microorganismes(22).

Dix 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 (36).

Initialement, les cathéters sont colonisés par des espèces uniques, telles que *S.epidermis*, *Enterococcusfaecalis*, *E.coli* ou *proteus mirabilis*. Comme le cathéter reste en place, le nombre et la diversité des micro-organismes augmentent. des communautés mixtes se développent contenant des organismes tels que: *Providenciastuartii*,

P.aeruginosa, Proteus mirabilis et *Klebsiella pneumoniae, M.morganii, Acinetobacter calcoaceticus et Enterobacter aerogenes*(8).

Le biofilm microbien s'installe en 24 à 72 heures après la pose de la sonde(32). Lors de l'insertion de la sonde, la muqueuse urétrale peut être endommagée et son effet protecteur vis-à-vis des microorganismes 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. La présence d'un corps étranger dans le tractus urinaire perturbe les mécanismes normaux de défense de l'hôte. La présence d'urine résiduelle dans la vessie favorise le développement bactérien (36).

Si certaines espèces bactériennes dotées d'une uréase (*Proteus* sp, *Providencia, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa*) sont présentes dans le biofilm, elles hydrolysent l'urée en ammoniac libre induisant une augmentation du pH urinaire et la précipitation de minéraux sous forme de cristaux de struvite (le phosphate d'ammonium et de magnésium) ou d'hydroxyapatite (le phosphate de calcium) qui s'incrustent sur la sonde. L'incrustation qui siège autour du ballonnet et dans la lumière de la sonde entraîne une réduction du canal de drainage et une stagnation des urines, favorisant ainsi la survenue de bactériurie. C'est une particularité du biofilm des sondes vésicales(36).

La présence de cristaux va créer des troubles urinaires: dysurie, strangurie, hématurie, distension vésicale et oligo-anurie..., on peut aussi avoir des conséquences plus sévères comme des infections ascendantes par exemple des pyélonéphrites (36).

Proteus mirabilis est l'agent le plus fréquemment à l'origine de la formation de biofilms cristallins, puisque cette bactérie produit une uréase 6 à 10 fois plus efficace que les autres uréases bactériennes (36).

III.3. Biofilms des cathéters vasculaires

Selon la norme AFNOR NF S 90- 040, les cathéters veineux sont, des «tubes en matière plastique ou en élastomère, d'une longueur inférieure ou égale à 80 mm, introduits par effraction dans le système vasculaire pour une durée limitée dans le temps ».

Le cathéter est composé d'un élément souple ou rigide introduit dans la veine et d'une embase sur laquelle se connecte le dispositif de perfusion ou « ligne veineuse», voir figure 08(48).

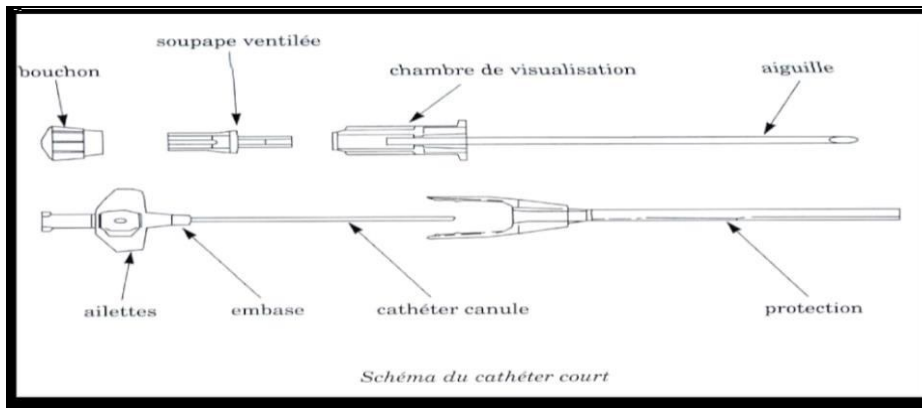


Figure08: Schéma d'un cathéter veineux(48).

Il existe des cathéters de longueur et de diamètres différents(48).Des cathéters peuvent être insérés pour l'administration de fluides, de produits sanguins, de médicaments, de solutions nutritionnelles et de surveillance hémodynamique (8). Sont également utilisés pour permettre des prélèvements sanguins intermittents ou des injections médicamenteuses répétées(48).

Il existe plusieurs types de cathéters vasculaires, les plus important sont trois détaillés dans le tableau 05.

Tableau05:Les différents types de cathéters (49).

Type de cathéters vasculaire	Site anatomique d'insertion et spécificités éventuelles	Durée moyenne de maintien habituellement observée
Cathéter artériel périphérique (CAP)	Artère radiale ou fémorale. Monitoring des paramètres hémodynamiques et accès vasculaire pour prélèvements répétés de gaz du sang	Courte
Cathéter veineux périphérique (CVP)	Veines de l'avant-bras, de la main ou du pied chez le nouveau-né	Très courte 2 à 4 jours
Cathéter veineux central (CVC)	Inséré dans des conditions d'asepsie chirurgicale dans la veine sous-clavière, jugulaire interne, ou fémorale	Courte

On définit une infection liée au cathéter (ILC) par la présence de microorganismes à la surface interne et/ou externe du cathéter, responsables d'une infection locale et/ou générale. Sur le plan physiopathologique, l'ILC est précédée par la colonisation de l'extrémité distale du cathéter par des bactéries (32). La microscopie électronique à balayage et la microscopie électronique à transmission ont montré que les biofilms sont universellement présents sur les CVC et peuvent être associés soit à l'extérieur du cathéter, soit à la lumière interne (8). Les cathéters veineux centraux sont les implants médicaux les plus à risque par rapport au développement d'une infection nosocomiale (15).

III.3.1. Les principales voies de contamination du cathéter

Il existe trois voies de contamination du cathéter:

III.3.1.1. Contamination de la face externe du cathéter (voie extra-luminale)

C'est la plus fréquemment rencontrée (32).

Peut survenir au moment de la pose du cathéter, la contamination se fait à partir de germes provenant du site d'insertion de la peau en migrant le long de la surface externe du dispositif (8). Cette flore peut être la propre flore cutanée du patient ou une flore ayant colonisé son revêtement cutané (mains du personnel soignant) (36).

III.3.1.2. Contamination de la lumière interne du cathéter (voie endo-luminale)

Elle survient lors des manipulations des raccords à l'occasion des divers branchements, ceux-ci étant colonisés soit par la flore cutanée du patient par contiguïté, soit par le personnel soignant (32), serait surtout en cause avec les cathéters centraux de longue durée et en particulier, en migrant le long de la lumière interne (8), pour la nutrition parentérale, chimiothérapie et hémodialyse (22).

III.3.1.3. Colonisation de la portion intravasculaire du cathéter (voie hématogène):

Cette voie est rare, elle survient à partir d'un foyer infectieux situé à distance, au cours d'une bactériémie ou d'une septicémie (22).

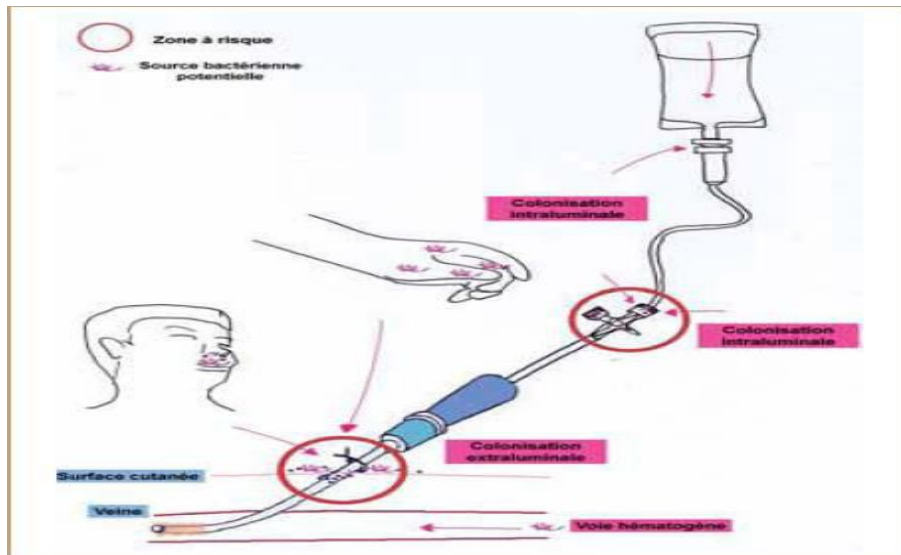


Figure09 : Les principales voies d’acquisition des microorganismes sur cathéters(22).

La colonisation bactérienne des biofilms a lieu dans les 24 heures suivant la pose du cathéter (50).

Les micro-organismes les plus fréquemment isolés de biofilm formés sur des cathéters veineux sont: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Pseudomonasaeruginosa*, *Enterococcusfaecalis* et *Klebsiellapneumoniae*(36), voir tableau 06.

Tableau 06:Liste de micro-organismes isolés à partir de biofilms formés sur des cathéters veineux (50).

Bactéries Gram positives	Bactéries Gram négatives	Autres micro-organismes
<i>Corynebacterium</i> spp	<i>Acinetobacter</i> spp	<i>Candida</i> spp
<i>Enterococcus</i> spp	<i>Acinetobacter</i> calcoaceticus	<i>Candida albicans</i>
<i>Enterococcus</i> faecalis	<i>Acinetobacter</i> anitratu	<i>Candida tropicalis</i>
<i>Enterococcus</i> spp	<i>Enterobacter</i> cloacae	<i>Mycobacterium</i> chelonei
<i>Staphylococcus</i> spp	<i>Enterobacter</i> aerogenes	
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	
<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline	<i>Klebsiella</i> pneumoniae	
<i>Staphylocoques coagulase négatifs</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
<i>Streptococcus</i> sppα-hémolytiques	<i>Proteus</i> spp	
<i>Streptococcus</i> spp	<i>Providencia</i> spp	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Serratia</i> marcescens	

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 (50).

Comme pour tout dispositif implanté, dans les 24 heures suivant l'insertion du cathéter dans l'organisme, début la constitution du biofilm (51).

Quelles que soient la source et la chronologie de la contamination du cathéter implanté par un micro-organisme, différentes étapes de la formation d'un biofilm peuvent être détaillées (46), figure 10 :

- L'étape initiale des infections sur cathéters intra-vasculaires serait le dépôt d'un film protéique et plaquettaire à la surface du cathéter (32).
- le micro-organisme adhère à la surface du dispositif (46).
- accumulation des m-o et production de certains polysaccharides et l'adhésine qui peuvent également participer à ces étapes d'adhérence (46).
- après avoir adhéré au substrat, les micro-organismes se multiplient et fondent une microcolonie enrobée dans une matrice extracellulaire composée de polysaccharides, d'eau, d'ADN et de protéines. Cette matrice joue un rôle majeur dans la protection des biofilms face aux agressions extérieures, qu'elles soient mécaniques, physiques, chimiques ou cellulaires (46).
- La formation des microcolonies puis du biofilm mature peut survenir dans les heures qui suivent la contamination microbienne.
- au stade de biofilm mature, une dispersion est possible, soit de manière passive, liée aux flux sanguin autour du biofilm, soit de manière active (46).

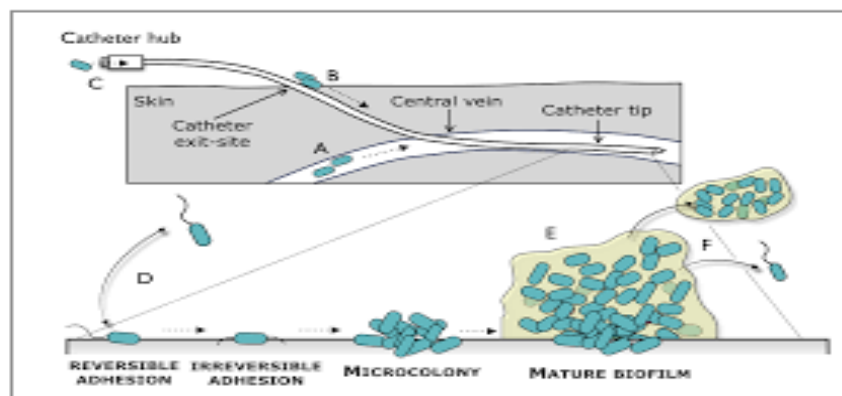


Figure 10: vue schématique de la formation de biofilm à la surface d'un cathéter veineux (52).

- a. La contamination microbienne peut provenir d'une infection de la circulation sanguine (qui définit une contamination hémotogène), mais doit le plus souvent provenir de la peau du patient. (en raison d'un manque d'antisepsie cutanée)
- b. ou du moyeu du cathéter
- c. Ces deux dernières voies de contamination conduisent à un clonage extraluminal et endoluminal, respectivement après contamination, l'adhérence réversible et irréversible permet au microorganisme de coller à la surface du cathéter;
- d. les micro-organismes se multiplient. d'un microcolonie puis évoluer vers un biofilm maturée)
- e. à travers la production matricielle et les signaux de quorum-sensing.
- f. Enfin, la dispersion de morceaux de biofilm ou de cellules individuelles est responsable de l'infection de la circulation sanguine et de la dissémination subséquente de l'infection.

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 et que les cathéters de longue durée (30 jours) ont des biofilms plutôt au niveau de la lumière du cathéter(8).

Cette infection pose de graves problèmes de santé publique puisque les traitements systémiques de routine des patients atteints d'infections de ce type se révèlent le plus souvent inefficaces (50).

Il a été démontré que la quinupristine-dalfopristine, le linézolide, la vancomycine et la ciprofloxacine demeurant pendant 1 heure étaient capables de réduire le taux de survie des UFC dans le sang et sur l'extrémité du cathéter, mais aucun d'entre eux n'a éradiqué le biofilm, suggérant l'importance d'un temps de séjour plus long (33).

Les traitements systémiques anti-microbiens ne sont pas un moyen efficace de juguler la formation de biofilms sur les cathéters (36).

Face à la fréquente inefficacité de l'antibiothérapie et de l'emploi d'antiseptiques et de désinfectants, le seul traitement efficace est le retrait du substrat contaminé, qu'il s'agisse d'un implant médical, de tissus infectés ou de croûtes(36).

Des stratégies autres que les traitements systémiques de routine ont été mises en place. On peut citer :

Chapitre 2 les infections liées aux biofilms

- la thérapie antimicrobienne de verrouillage. Brièvement, cette thérapie consiste en l'instillation de fortes concentrations d'agents antimicrobiens directement dans le cathéter colonisé par les biofilms, pendant une durée suffisante, afin d'éradiquer le biofilm (50).
- Utilisation de bactériophages. Des bactériophages peuvent être instillés localement au niveau des cathéters afin d'éradiquer les biofilms présents (50).
- Le meilleur moyen de lutter contre les biofilms réside dans la rigueur des conditions d'hygiène dans le milieu hospitalier (36), respecter les conditions d'asepsie recommandées pour la pose et pour la manipulation, et particulièrement la désinfection des mains par friction hydroalcoolique et la préparation cutanée du site d'insertion (22).

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the top, both with rounded ends and a slight shadow effect.

Chapitre III
**Stratégies thérapeutiques pour lutter contre les
biofilms**

I. Généralité

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(15).

Différentes stratégies de lutte ont toutefois été développées depuis quelques années. Il en existe deux grandes catégories: les stratégies préventives et les stratégies curatives, qui agissent à différentes étapes de la vie du biofilm. Les stratégies préventives empêchent la formation de biofilms sur les surfaces; les stratégies curatives perturbent les biofilms préétablis(43).

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(15).

II. Mesures préventives empêché la formation des biofilms

Une fois établies, les infections associées aux biofilms sont difficiles à traiter. C'est la raison pour laquelle l'axe thérapeutique privilégié est celui de la prévention.

II.1. L'hygiène

La pose de l'implant doit se faire dans des conditions d'hygiène strictes, afin d'éviter au maximum toute contamination bactérienne.

La formation de biofilms sur des implants médicaux est liée à la durée de présence de l'implant dans l'organisme. Plus l'implant est là depuis longtemps, et plus il y a un risque de formation de biofilms (15).

Au bloc opératoire, l'application maximale de mesures d'hygiène, même s'il ne s'agit pas de mesures spécifiques anti-biofilm, relève du bon sens et a fait ses preuves(45). 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. Lors de la pose de cathéters centraux, l'application de mesures d'asepsie chirurgicale (maximum sterile barrier precautions) a montré son efficacité pour réduire le risque infectieux associé à ces dispositifs (4).

II.2. 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(41).

Il est par exemple recommandé d'utiliser des cathéters centraux imprégnés (rifampicine/minocycline ou chlorhexidine/ sulfadiazine argentique) en cas de persistance d'une incidence élevée d'infection malgré la mise en place de mesures préventives strictes (4). 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 préopératoires ou postopératoires précoces (41).

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 (41).

II.3. 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 (41).

II.4. Les verrous d'agents chélateurs

Les cations divalents tels que les ions Mg^{2+} , Ca^{2+} et Fe^{2+} sont essentiels à l'adhérence et à la croissance du biofilm (45). 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 (4).

III. Traitements curatifs pour l'élimination des biofilms déjà formés

III.1. Elimination 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: bâtiments, coques de bateaux, peau, implants médicaux... 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 (15).

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-négatifs 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 (41).

III.2. 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 (4).

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 (53).

III.3. Antibiothérapie

Le traitement des infections associées aux biofilms devient de plus en plus compliqué du fait du développement de phénomènes de multi-résistances (53).

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(41).

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 (41).

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 (41).

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 ne pouvant 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 antimicrobiens 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 (15).

III.4. Verrous antibiotiques curatifs

Fondé sur le même principe que celui des verrous préventifset associé à une antibiothérapie systémique, actuellement, cette approche est restreinte aux cas d’infections liées à un cathéter de longue durée dues à certaines bactéries (principalement Staphylocoquesàcoagulase négative) et en l’absence de complications. Dans ces cas, le taux global de succès avec conservation du cathéter en place est d’environ 80 % (53).

Tableau 07: Verrous antibiotiques curatifs étudiés en clinique (41).

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

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 (41).

IV. Nouvelles approches antibiofilms

L'impact clinique et économique des infections liées aux biofilms a contribué au développement de très nombreuses études. Près de vingt années de recherche fondamentale sur la formation et les fonctions des biofilms bactériens ont permis de dégager plusieurs axes originaux exploitables pour le développement, à plus ou moins long terme, de moyens de lutte contre les biofilms bactériens. Nous avons présenté quelques exemples qui illustrent les intérêts et les limites de ces approches.

IV.1. Inhibition du quorum sensing (le quorum quenching)

Perturber le QS, pour limiter la pathogénicité des bactéries et leur capacité à former un biofilm, s'avère particulièrement prometteur. Cette stratégie, le quorum quenching (QQ), deux approches peuvent être considérées, la première consistant à empêcher les bactéries de produire ou percevoir les auto-inducteurs (AI), qui sont sécrétées dans l'environnement et sont perçues par les récepteurs spécifiques des bactéries voisines. Par l'utilisation d'inhibiteurs, la seconde à dégrader ces molécules par voie enzymatique (54).

Chez les bactéries Gram négatif, trois différentes cibles sont impliquées dans l'inhibition du QS. Il s'agit (i) du signal, généralement les AHLs, (ii) du récepteur et (iii) la synthèse

La stratégie d'inhibition du QS consisterait à

- dégrader l'AHL par des méthodes métaboliques, chimiques ou enzymatiques,
- bloquer le site de fixation de l'AHL au niveau du récepteur
- empêcher la synthèse de synthétiser l'AHL.

Le composant QS le plus ciblé dans les stratégies d'inhibition du QS est le récepteur, car en empêchant l'AHL de se lier au récepteur, celui-ci ne pourra pas agir en tant que régulateur transcriptionnel(55).

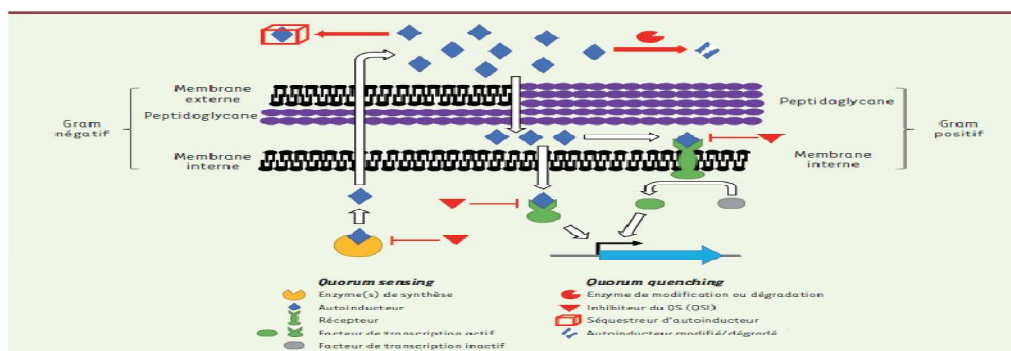


Figure 11: Mécanismes du quorum sensing bactérien et des différentes stratégies de quorum quenching(56).

Chapitre III Stratégies thérapeutiques pour lutter contre les biofilms

Les molécules QSIs peuvent être soit naturelles, sécrétées par des organismes vivants tels que les bactéries, les champignons, les algues, les éponges ainsi que les plantes et les animaux, soit chimiquement synthétisées (57).

IV.2. Autres nouvelles approches antibiofilm

Il existe d'autres nouvelles approches antibiofilm qui sont présentées dans le tableau suivant:

Tableau08 :Autres nouvelles approches antibiofilm.

Stratégie	Mécanisme d'action	REF
Inhiber l'adhésion initiale	Bloqueur de la biogénèse d'adhésines. Exemple: l'utilisation des Lactoferrine qui inhibe l'adhérence irréversible de <i>P. aeruginosa</i>	(58)
Brouiller les communications, limiter la maturation	Par l'utilisation des modulateurs des signaux de quorum-sensing. Exemple:Furanones qui inhibe la formation de biofilm et l'expression de facteurs de virulence de <i>P. aeruginosa</i>	(59,60)
Favoriser la dispersion	Par des enzymes comme DNase Favorise la dispersion chez <i>S. aureus</i> > <i>S. epidermidis in vitro</i>	(61,37)
Phagothérapie	Utilisation des phages spécifique induit la dispersion des bactéries exp phage PT-6 produit une alginase favorisant la dispersion de <i>P. Aeruginosa</i> .	(62)
Approches vaccinales	contre certains antigènes bactériens exprimés lors de l'adhérence initiale (adhésines)) ou dans le biofilm mature (polysaccharides de la matrice ou autres)	(63)



Conclusion et Perspectives

Conclusion Et Perspectives

Les biofilms sont des amas structurés de cellules 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. L'attachement sur une surface est une « stratégie de survie » qui permet à la bactérie de s'installer et de coloniser les surfaces telles que les implants médicaux, après attachement sur les sondes urinaires et les cathéters veineux, les bactéries vont mettre en place et développer un biofilm. Ce dernier est responsable de nombreuses infections récalcitrantes et extrêmement difficile à l'éradiquer.

Les propriétés originales des biofilms bactériens, au premier rang desquelles la tolérance aux antibiotiques, jouent un rôle majeur dans le développement des infections, qui 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.

Le quorum sensing (QS) module l'expression de nombreux gènes impliqués dans la formation de biofilm. Il est devenu une cible privilégiée pour le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques pour répondre aux problèmes posés par l'utilisation massive d'antibiotiques. Des approches mettant en œuvre des inhibiteurs chimiques, des anticorps ou des enzymes ont été développées pour contrer les effets du QS. Cette méthode d'inhibition du QS est appelée quorum quenching (QQ).

Il s'avère donc nécessaire et important dans un premier temps, Le développement de ces stratégies dont les plus importantes sont le respect des règles d'hygiène. Dans un deuxième temps, de réaliser d'autres travaux de comprendre les interactions existantes entre les bactéries impliquées dans ces associations à fin d'identifier les meilleurs moyens visant la prévention et le traitement des infections liées aux biofilms.

A la fin, nous suggérons une étude approfondie du biofilm à l'aide de techniques de biologie moléculaire et de génie génétique, également une variété de recherches *in vitro* et *in vivo* pour lutter contre le développement des infections liées aux biofilms, en expérimentant les technologies physico-chimiques et biologiques.



Références Bibliographiques

Références Bibliographiques

1. **Filloux, A., Vallet, I. (2003)**. Biofilm : mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Médecine Sciences* ; 19(1), 77–83.
2. **Donlan, R. M. (2002)**. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*. Vol. 8, No. 9, 881-890.
3. **Bjarnsholt, T. (2013)**. The role of bacterial biofilms in chronic infections. *Scandinavian Societies for Medical Microbiology and Pathology*; 121 (Suppl. 136), 1–54.
4. **Lebeaux, D., Ghigo, J.M. (2012)**. Infections associées aux biofilms Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale? *Médecine Sciences* ; 28: 727-739.
5. **Agnès, R., Ghigo, J.M. (2006)**. Les biofilms bactériens. *Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France*. Tome 159 - N°3, 261-268.
6. **Thien, F., Betsey, P., Brett, P., Graham, C. W., Philip, S. S .et George A. O. (2003)**. A genetic basis for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm antibiotic resistance *Nature Publishing Group NATURE*; VOL 426, 306-310.
7. **Behlou, I., Gilmore, M.S. (2008)**. Microbiol biofilms in ophthalmologie and infectious diseases. *Archive of Ophthalmology*; 126: 1572-1581.
8. **Donlan, R.M., Costerton, J. W. (2002)**. Biofilms: Survival Mechanisms of Clinically Relevant Microorganisms *Clinical microbiology review*, p. 167–193.
9. **Rambelomamonjy, H. (2017)**. Evaluation de la Formation Du Biofilm Sous Différentes Conditions De Culture (Milieu De Croissance, Acidité et Température) Chez : *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonasaeruginosa*. Thèse de doctorat de l'Université d'Antananarivo.
10. **Géraldine, K. (2011)**. Nouvelles molécules naturelles inhibitrices du développement de biofilms de bactéries marines. Thèse de doctorat de l'université de Bretagne occidentale. P 14,35.
11. **TASSE, J. (2017)**. Apport De L'antibiofilmogramme Et De La Mesure de La Capacité De Formation Du Biofilm Dans La Prise en Charge des Infections Osteo-Articulaires à Staphylocoques. Thèse de doctorat de l'université de Lyon. P 38.
12. **Haras, D. (2005)**. Biofilms et altérations des matériaux : de l'analyse du phénomène aux stratégies de prévention. *Materiaux et Techniques*; 93(Hors Série) s.27-s.41.
13. **Costerton, J.W. (2001)**. Cystic fibrosis pathogenesis and the role of biofilms in persistent infection. *Trends in Microbiology*; 9: 50-52.

Références bibliographiques

14. **Blenkinsopp, S.A., Costerton, J.W. (1991).** Understanding Bacterial Biofilms. *Trends in Biotechnology*;9:138-143.
15. **Clutterbuck, A.L.(2007).** Biofilms and their relevance to veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*; 121 (1-2): 1-17.
16. **Sauer, K., Camper. (2002).***Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during developing a biofilm. *Journal of Bacteriology*; 184: 1140-1154.
17. **Wang ,N., Qi ,F., Yu, H., Yestrepky ,B.D., Larsen ,S.D., Shi ,H.,Juan, J., David, W., AndersonI,D., Hao, L., Hongmin, S.(2021).** Physicochemical properties and formulation development of a novel compound inhibiting *Staphylococcus aureus* biofilm formation. *PLoS ONE* 16(2): 1-19.
18. **Mokhtari, L. (2017).** Sélection et étude de peptides inhibiteurs multi-cibles visant les Mur ligases chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat, Université de Montréal. P 4.
19. **Yasuhiko, I., Bradley R. Borleea,1, O’Connora,J. R., Preston J. H., Harwooda,C.S.,2, Wozniakb,D. J., and Matthew,R. P.(2012).** Self-produced exopolysaccharide is a signal that stimulates biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa* *Proceedings of the National Academy of Sciences*. vol. 109 .no. 50 .20632–20636.
20. **Flemming, H.C. et Coll. (2007).**The EPS matrix: the “house of biofilm cells” *.Journal of Bacteriology*; 189:7945-7947.
21. **Lu, T.K. et Collins, J.J. (2007).**Dispersing biofilms with engineered enzymatic bacteriophage. *Proceedings of the National Academy of Sciences* ; 104:11197-11202
22. **Florence, E., Bernard, P. et Brigitte, C .B. (2010).** Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue Francophone des Laboratoires* ; 426: 51-63.
23. **Rubio, C. (2002).** Compréhension des mécanismes d’adhésion des biofilms en milieu marin en vue de la conception de nouveaux moyens de prévention .Thèse de doctorat de l’université de Paris 6. P 40.
24. **Madigan, M. et Martinko, J. (2000).**Livre Biologie des Microorganisms. 11^oédition. PEARSON. France. P 221.
25. **Hentzer, M., Givskov, M. (2003).**Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections.*Journal of Clinical Investigation*; 112(9):1300-1307.

Références bibliographiques

26. **Mion, S., Benjamin, R., Plener, L. Chabrière, É., David, D. ;(2019).** Quorum sensing et quorum quenching Comment bloquer la communication des bactéries pour inhiber leur virulence ? médecine/sciences; 35: 31-8.
27. **Mulcahy, H.,charron-Mazenod, L., Leenza,S. (2008)** Extracellular DNA Chelates Cations and Induces Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Biofilms.PlosPathogens 4(11): e1000213.
28. **Perrin ,B., Preston ,J. H., Brendan, D. S.,Alnabelseya,N., Matthew ,J. P., LeeM.J., Jennings,L.K., Tam ,J., MelnykR. A., Parsek,M. R., Sheppard,D. C., Wozniak,D. J. , Howell,P. L .(2016).**Exopolysaccharide biosynthetic glycoside hydrolases can be utilized to disrupt and prevent *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Sciences Advances; 2: e1501632.
29. **Lewis, K. (2007).**Persister cells, dormancy and infectious disease. Nature Reviews Microbiology; 5: 48-56.
30. **Spoering, A.L., Lewis, K. (2001).** Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. Journal of Bacteriology: 183: 6746-51.
31. **Seghir, A .,Boucherit,K. (2017).** Risque infectieux lié à la formation des biofilms multi-espèces (Candida — bactéries) sur cathéters vasculaires périphériques. Journal ofMedicalMycology. [27. 10. 1016 /Journal ofMedicalMycology.2016.10.005].
32. **DERARDJA, A., et MESSAADIA, S. (2018).** Recherche de biofilms mixtes sur implants médicaux. Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. P 18-19.
33. **Lebeaux,D.,Ashwini, C., Olaya, R., Beloin, C.(2013).** From *in vitro* to *in vivo*Models of Bacterial Biofilm-Related Infections. *Pathogens*, 2, 288-356;
34. **Elodie, H. (2014).** Le biofilm dentaire : composition, formation et propriétés. Sciences du vivant(q-bio). 01733964.
35. **Allie, C., Tammy, C. (2015).**Chronic Wound Biofilms:Pathogenes and Potential Therapies. LaboratoryMedicine ; Vol 46, Issue 4,277-284.
36. **Alice, C.R. (2009).**Biofilms et lapeau.Thèse de doctorat. Ecole national vétérinaire d'Alfort.
37. **Fey, P.D.(2010).**Modality of bacterial growth presents unique targets: how do we treat biofilm-mediated infections? Current Opinion Microbiology; 13: 610-5.
38. **Chase, W., Everett, J.A., Cecily, H., Clintonet, A., Rumbaugh, K.P. (2014).**Le traitement à l'insuline module le système immunitaire de l'hôte pour améliorer les

- biofilms des plaies de *Pseudomonas aeruginosa*. Infection et Immunity; 82(1): 92–100.
39. **Masson,R., Vuagnat, H.,Uçkay,I, Laurence, T.T et Virginie, P. (2017).**Infection de plaies chroniques : particularités chez la personne âgée.RevueMédicale Suisse; 13 : 1938-44.
40. **Thomas,B ,Klaus ,K.M. ,Peter, O. J. ,Richard ,P. ,Karen ,K., Neils, H.(2008).**Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis.Wound Repairand Regeneration; 16(1),2-10.
41. **Bezoui, M. (2016).** Biofilms bactériens et leur implication en pathologie humaine. Thèse de Doctorat, La Faculté De Médecine et De Pharmacie. Université Mohammed V-Rabat. P 46,89.
42. **Aoullay, M., Abdellaoui, F., Guerida,A.(2000).**La plaque dentaire: élément perturbateur de l'équilibre de l'écosystème buccal. Biologie infectiologie ; Tome VI (1) :61-67.
43. **Baudin, M. (2017).** Couplage de rapporteurs génétiques et d'une molécule active pour l'étude de la dispersion de biofilms, Thèse de doctorat d'Université Paris-Saclay.
44. **Simain, F., Rompen,E., Heinen, E.(2010).**biofilms bactériens et médecine dentaire RevueMédicale Liège; 65: 10: 569-573.
45. **Dupin, A. (2017).** Intérêts des huiles essentielles dans la lutte contre l'antibio-résistance induite par les biofilms. Thèse de doctorat de l'Université claudobernard – Lyon 1.P 76.
46. **Lebeaux, D.,Ghigo, J.M.,Lucet, J.C. (2014).** Physiopathologie et prévention des infections liées aux dispositifs médicaux implantés. La revue du Praticien Vol. 64 .620-625.
47. **Jones, G.L., Russell,A.D., Caliskan, Z., Stickler,D.J.(2005).**AStrategy for the Control of Catheter Blockage by Crystalline Proteus mirabilis Biofilm Using the Antibacterial Agent Triclosan. EuropeanUrology; 48 .838–845.
48. **Joseph, H., Xavier, V., Astruc, K., Julie, G .B. et Frédéric, D. (2005).** Prévention des infections liées aux cathéters veineux périphériques. Haute Autorité de Santé / Service des recommandations professionnelles, 7-10.
49. **Virginie, C. (2019).** Bactériémies liées aux cathéters veineux centraux : épidémiologie, microbiologie, complications et prise en charge thérapeutique. Médecine humaine et pathologie. Thèse de doctorat de l'Université de Bordeaux.

Références bibliographiques

50. **Donlan,R.M.(2008).**Biofilms on central venous catheters: Is eradication possible?.*Current Topics in Microbiology and Immunology* ;vol 322 :133-61.
51. **Dali, A.A. (2015).**Infections nosocomiales à bactéries multirésistantes (BMR) en réanimation adulte à l'EHUO profil épidémiologique, facteurs de risque et facteurs pronostiques, Thèse de doctorat, La Faculté De Médecine, Université D'Oran 1 Ahmed Benbella. P 122.
52. **Christophe, B., Fernández-Hidalgo, N., Lebeaux,D. (2016).** Understanding biofilm formation in intravascular device-related infections. *Intensive Care Medicine*, Springer Verlag, 10.1007/s00134- 016-4480-7. pasteur-01377078.
53. **Hajoubi, W. (2019).** Les infections associées aux biofilms ; thèse pour l'obtention de Doctorat en médecine, Faculté de Médecine et de Pharmacie Rabat, université Mohammed 5-Rabat. P 66.
54. **Givskov, M., Nys, R., Manefield, M., Gram, L., Maximilien, R., Eberl,L.(1996).** Eukaryotic interference with homoserine lactone-mediated prokaryotic signalling. *Journal of Bacteriology*; 178: 6618-6622.
55. **Rasmussen, T. B.et Givskov, M. (2006).** Quorum-sensing inhibitors as anti-pathogenic drugs. *International Journal of Medical Microbiology* 296(2-3): 149-161.
56. **Mion, S., Benjamin, R., Plener, L., Chabrière,É., David ,D. (2019).** Quorum sensing et quorum quenching Comment bloquer la communication des bactéries pour inhiber leur virulence ? *médecine/sciences*; 35: 31-8.
57. **Kalia, V. C. (2013).** Quorum sensing inhibitors: an overview. *Biotechnology Advances* 31(2): 224-245.
58. **Singh,P.K., Parsek,M.R., Greenberg, E.P., Welsh,M.J. (2002).**A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature*; 417: 552-5.
59. **Landini, P., Antoniani, D., Burgess, J.G., Nijland, R. (2010).** Molecular mechanisms of compounds affecting bacterial biofilm formation and dispersal. *Applied Microbiology and Biotechnology*; 86: 813-23.
60. **Hentzer, M., Givskov, M. (2003).** Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. *Journal of Clinical Investigation*; 112: 1300-1307.
61. **Flemming, H.C, Wingender, J. (2010).** The biofilm matrix. *Nature Reviews Microbiology*; 8: 623-33.

Références bibliographiques

62. **Glonti, T., Chanishvili, N., Taylor, P.W. (2010).** Bacteriophage-derived enzyme that depolymerizes the alginic acid capsule associated with cystic fibrosis isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Applied Microbiology*; 108: 695-702.
63. **Pflumm, M. (2011).** Caught on film. *Nature Medicine*; 17: 650-3.