

*République Algérienne Démocratique et Populaire*

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

**Département : Biologie Appliquée**



**MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION  
DU DIPLÔME DE MASTER**

*Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie*

*Filière : Sciences Biologiques*

*Option : Microbiologie Appliquée*

**THÈME**

**BIOFILMS BACTÉRIENS ET LEURS  
IMPORTANCES EN SANTÉ PUBLIQUE**

**Présenté par :**

***BENKHEDIR Amina***

***TOUNSI Lobna***

**Date de soutenance : 07/06/2021**

**Membres de Jury**

*Dr. MECHAI Abdelbasset*

***Pr Univ. Tébessa***

*Président*

*Dr. BENHADJ Mabrouka*

***MCA Univ. Tébessa***

*Examinateur*

*Dr. MENASRIA Taha*

***MCB Univ. Tébessa***

*Encadreur*

**Année universitaire : 2020 / 2021**

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الْحَمْدُ لِلَّهِ الَّذِي هَدَانَا لِهَذَا

وَمَا كُنَّا لِنَهْتَدِيَ لَوْلَا أَنْ

هَدَانَا اللَّهُ



## *Remerciements*

*Nous tenons tout d'abord à remercier **ALLAH**, Le tout puissant et miséricordieux,  
Qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.*

*En seconde lieu, notre infinie gratitude et nos remerciements vont à notre encadreur  
**Dr. MENASRIA TAHA**, Maître de Conférence à l'Université de Tébessa, de nous avoir  
accueilli au sein de son équipe de recherche et d'avoir dirigé ce modeste travail, à savoir de  
nombreuses discussions que nous avons entamé malgré son temps chargé. Pour ses précieux  
conseils, sa confiance, les encouragements et son aide durant toute la période du travail,  
Aussi nous n'oublions pas de mentionner sa sensibilité, son égard, son respect et sa sympathie  
dont nous fûmes témoin. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont  
énormément marqués.*

*Notre vif remerciement pour les membres du jury qui ont bien voulu accepter de juger  
ce modeste travail, **Dr. MECHAI ABDELBASSET**, Professeur à l'Université de Tébessa,  
qui nous a fait l'honneur de présider notre jury, ainsi que pour son intérêt à notre travail et  
de ses jugement qui sont toujours réalistes,*

*Et **Dr. BENHADJ MABROUKA**, Maître de Conférence à l'Université de Tébessa,  
d'abord pour l'intérêt qu'il a porté à notre travail, ainsi que pour les observations  
constructives faites pendant la lecture du mémoire.*

*Notre profondes remerciement vont également à tous les  
Enseignants qui ont contribué à nos formations  
Et les Personnes qui nous ont aidé et contribué, de  
Près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.*





## Dédicace

*Je dédie cette mémoire à...*

### *A ALLAH*

*Tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail. Qui m'a inspiré, m'a conduit sur la bonne voie. Je te dois ce que je suis devenu. Merci et gratitude pour votre miséricorde et votre gentillesse. Vous êtes O Rahman, O Rahim.*

### *MES TRÈS CHERS PARENTS*

*Pour lesquels le remerciement ne sera jamais suffisant pour récompenser leurs immenses sacrifices, leur soutien et appui inconditionnel durant toutes les périodes de ma vie ...*

*Ce travail pour vous, Père, est le fruit de vos efforts continus, de vos prières, de votre tendresse et de votre amour. J'espère rester digne de votre appréciation et ne jamais vous décevoir. A toi, maman, source de tendresse, je te dois ma réussite, tout cela grâce à tes prières et ta tendresse. Vous êtes le seul à comprendre ma vie : je vous demande pardon et encore une fois merci.*

*Que Dieu Tout-Puissant vous protège et vous offre santé, longue vie et bonheur.*

### *MA CHÈRE GRAND-MÈRE*

#### *Hadda*

*À ma seconde mère, ma grand-mère, source de tendresse, de noblesse et d'amour, qui a toujours été là pour moi, qui m'a rempli de son amour avec sa tendresse et ses encouragements pour moi à chaque étape de ma vie. J'espère que vous trouverez toute ma gratitude et mon amour dans ce travail, les mots ne me suffisent pas pour vous remercier, mes yeux,*

*Que Dieu vous protège, vous guérisse et vous offre la santé, le bonheur et une longue vie.*

*Je n'oublie pas la mention de ma grand-mère **Yasmina** et de mon cher grand-père*

***Ahmed**, que Dieu les protège*





## MA CHÈRES SŒURS

*Basma, Salsabil, Hibat errahman, et. Aya. Qu'Allah vous bénisse et réalise vos aspirations. Je n'oublierai pas mon frère, qui n'était pas entré par ma mère, le mari de ma sœur Dhaoui, que dieu le protège..*

## MES CHÈRES ONCLES ET TANTES

*Les mots ne peuvent exprimer ma compréhension émotionnelle de vous et ma gratitude. Ma tante Houda, Mon oncle, Hichem et sa femme Warda, et Salim et sa future femme Mabrouka. Chère tante Amel et oncle Saif, Mourad et sa femme Abba. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

## À MES CHÈRES AMIES

*Un dévouement spécial à mon ami. Lobna qui a participé avec moi et partagé avec nous les meilleurs moments pour accomplir ce travail.*

*À mon amie et à ma sœur sincère Ahlem M., que Dieu la bénisse et prenne soin d'elle. A tous mes amis qui nous ont rassemblés de l'université, Ibtissem S., Fatma, Ahlem D., Ahlem B., Ibtissem D., Djouhayna., Chourouk, Sana, Ibtissem L.,*

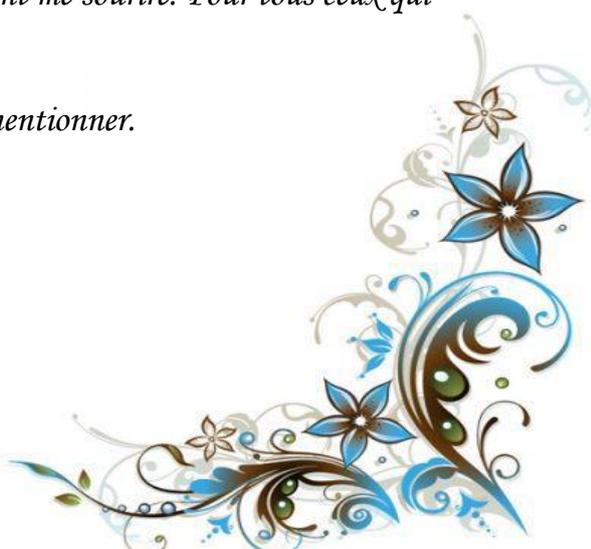
*Je vous dédie ce travail comme preuve de mon amour et de mon affection pour vous. Merci pour tous les moments qu'ils ont passés ensemble, pour toute la joie et la tristesse dans leur ensemble. Vous êtes mes âmes sœurs.*

## A TOUS CEUX QUE J'AIME

*Pour quelqu'un qui m'a consacré un moment  
Pour m'aider, me conseiller, m'encourager ou simplement me sourire. Pour tous ceux qui  
liront ma note un jour.*

*A tous ceux que j'ai oublié de mentionner.*

## BENKHEDIR AMINA





# Dédicace

*Je dédie cette mémoire à...*

## *ALLAH*

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

## *A MA TRÈS CHÈRE MÈRE*

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

*Que DIEU t'accorde longue vie auprès de nous.*

## *A MON TRÈS CHER PÈRE*

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





*J'aime papa. merci de m'avoir donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance*

*Merci d'avoir toujours été là pour moi.*

### *A MES TRÈS CHERS FRÈRES ET SŒURS*

*Hacene, Salah, Salîha, Mounira*

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

### *A MES TRÈS CHERS AMIS*

*Sana, Kenza, Amina, Fouzia, Ahlem, Sara, Widad, Nadjet, Khamissa, Djohayna, Chourouk, Awatef, Fatma, Ibtissem, Nacer, Sofiane, Ali, Abd'Elwahed.*

*Vous êtes plus que des amies pour moi, merci pour toutes ces fois où j'ai pu compter sur vous ; pour tous les bons moments qu'on a passés ensemble durant toute ses années d'études. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite. Après ma famille, vous êtes les personnes qui comblent mon quotidien et dont j'apprends énormément.*

*A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail. A tous ceux qui m'ont transmis leur savoir depuis la maternelle jusqu'à ce jour.*

*A tous ceux connus ou inconnus qui vont feuilleter un jour ce travail.*

*TOUNSI LOBNA*



## Résumé

Les biofilms sont des communautés de microbes qui habitent généralement sur les surfaces et enfermés dans une matrice extracellulaire présentant des caractéristiques très différentes de leur plancton homologues. Les biofilms sont omniprésents dans l'environnement et influencent nos vies énormément de manière positive et négative. Le mode de vie en biofilms offre de nombreux avantages pour la survie et la multiplication de l'écosystème bactérien mais pose de gros problèmes pour la santé publique, en raison de leur rôle dans certaines maladies infectieuses, y compris les infections chroniques. Les biofilms se forme aussi bien sur les tissus superficiels ou internes de l'hôte que sur des dispositifs invasifs tels que les cathéters et les implants, les valves cardiaques, les sondes urinaires ou encore les prothèses articulaires constitueront l'élément clé de la pathogénèse des infections sur matériels. Le microbe type *Pseudomonas aeruginosa*, est une bactérie connu pour produire des biofilms robustes, et causent de graves problèmes chez les patients immunodéprimés à raison de son pouvoir invasif et résistant aux antimicrobiens, et en particulier aux antibiotiques. La présence de biofilms lors d'infections demande donc de nouvelles méthodes de prévention, diagnostic même de traitement et font parfois appel aux nouvelles technologies (Ultrason, vaccinations ...).

**Mots clés :** Bactérie, biofilm, *quorum sensing*, infection chronique, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotique.

## Abstract

Biofilms are communities of microbes that typically inhabit surfaces and enclosed in an extracellular matrix in which present different characteristics from their counterpart plankton. Biofilms are ubiquitous in the environment and influence our lives enormously in positive and negative ways. Biofilm, a lifestyle that offers many benefits for survival and the multiplication of the bacterial ecosystem and yet poses major problems for public health, due to their role in certain infectious diseases, including chronic infections. Biofilms are formed both on the superficial or internal tissues of the host and on invasive devices such as catheters and implants, heart valves, urinary catheters or joint prostheses will constitute the key element the pathogenesis of infections on materials. The microbe type *Pseudomonas aeruginosa*, is a bacterium known to produce robust biofilms and cause serious problems in immunocompromised patients due to its invasive mode and antimicrobial resistance in particular to antibiotics. The presence of biofilms during infections therefore requires new prevention methods, diagnostic even treatment and every so often call for new technologies like (ultrasound, vaccinations, etc.).

**Keywords:** Bacteria, biofilm, *quorum sensing*, chronic infection, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic.

## ملخص

الأغشية الحيوية عبارة عن مجتمعات من الميكروبات التي تعيش عادةً على الأسطح ومحاطة بمصفوفة خارج الخلية. تُظهر الأغشية الحيوية خصائص مختلفة جدًا عن نظيراتها من العوالق. الأغشية الحيوية منتشرة في كل مكان في البيئة وتؤثر بشكل هائل على حياتنا بطرق إيجابية وسلبية. يوفر نمط حياة الغشاء الحيوي العديد من المزايا لبقاء النظام البيئي البكتيري وتكاثره ولكنه يطرح مشاكل كبيرة على الصحة العامة بسبب دورها في بعض الأمراض المعدية، بما في ذلك الالتهابات المزمنة، تتشكل الأغشية الحيوية أيضا على كل من الأنسجة السطحية أو الداخلية للمضيف وكذلك على الأجهزة الغازية مثل القسطرة والغرسات، وصمامات القلب، القسطرة البولية أو حتى الأطراف الاصطناعية التي تشكل العنصر الرئيسي في التسبب في العدوى على المعدات. الزائفة الزنجارية هي بكتيريا معروفة بتشكيل أغشية حيوية قوية، وتسبب مشاكل خطيرة للمرضى الذين يعانون من نقص المناعة. الأغشية الحيوية مقاومة لمضادات الميكروبات، وخاصة المضادات الحيوية. يتطلب وجود الأغشية الحيوية أثناء العدوى طرقًا جديدة للوقاية والتشخيص والعلاج، تتنوع هذه الوسائل وتتطلب أحيانا تقنيات جديدة (الموجات فوق الصوتية واللقاحات.... إلخ).

**الكلمات المفتاحية:** بكتيريا، غشاء حيوي، عدوى مزمنة، الزائفة الزنجارية، مضاد حيوي.

## Liste des figures

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>Page</b>
<b>Figure 1</b>	Microstructure (a) et Macrostructure (b) du biofilm de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<b>6</b>
<b>Figure 2</b>	Principales étapes de formation du biofilms	<b>10</b>
<b>Figure 3</b>	Mécanisme détection de QS chez les biofilms	<b>12</b>
<b>Figure 4</b>	Formules de molécules de communication	<b>13</b>
<b>Figure 5</b>	Synthèse du DPD dans le cycle du métabolisme de la SAM	<b>14</b>
<b>Figure 6</b>	Formation de biofilm en microplaque	<b>17</b>
<b>Figure 7</b>	Évaluation de la production de biofilm par la méthode en TM	<b>18</b>
<b>Figure 8</b>	Culture sur la gélose Rouge Congo	<b>19</b>
<b>Figure 9</b>	Principales infections associées aux biofilms	<b>21</b>
<b>Figure 10</b>	Illustration de la colonisation d'alvéoles pulmonaires par un biofilm bactérien	<b>24</b>
<b>Figure 11</b>	Plaque dentaire (biofilm) chez un patient présentant une parodontite	<b>24</b>
<b>Figure 12</b>	Développement de biofilms sur une sonde urinaire, observés sur microscope électronique	<b>26</b>
<b>Figure 13</b>	Mécanismes de résistance des biofilms aux défenses de l'hôte	<b>30</b>
<b>Figure 14</b>	Les trois mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques	<b>31</b>
<b>Figure 15</b>	Tolérance des biofilms aux antibiotiques	<b>33</b>
<b>Figure 16</b>	Modèle actuellement proposé pour expliquer la tolérance des biofilms aux antibiotiques	<b>34</b>
<b>Figure 17</b>	Forme cellulaire et ciliature de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vue au microscope électronique	<b>36</b>
<b>Figure 18</b>	Représentation schématique des stades de développement du biofilm de <i>P. aeruginosa</i>	<b>39</b>
<b>Figure 19</b>	Interactions entre les systèmes de détection de <i>quorum</i> de <i>P. aeruginosa</i>	<b>40</b>
<b>Figure 20</b>	Système de signalisation à deux composants GacS / GacA et RetS et LadS de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pour la formation de biofilm	<b>41</b>
<b>Figure 21</b>	Présentation schématique des fonctions physiologiques de la c-di-GMP	<b>42</b>
<b>Figure 22</b>	Principales étapes de l'attaque d'un hôte par <i>P. aeruginosa</i>	<b>43</b>
<b>Figure 23</b>	Schéma de synthèse avec les différentes cibles thérapeutiques sur différents phénotypes bactériens	<b>53</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau 1</b>	Compositions de la matrice du biofilms	<b>8</b>
<b>Tableau 2</b>	Facteurs influençant l'attachement de cellules et la formation d'un biofilm	<b>11</b>
<b>Tableau 3</b>	Systèmes de détection de <i>quorum</i> dans différentes bactéries et leur rôle dans le développement du biofilm	<b>13</b>
<b>Tableau 4</b>	Maladies associées au biofilm	<b>22</b>
<b>Tableau 5</b>	Micro-organismes qui causent généralement une infection associée au biofilm sur les tissus et dispositifs médicaux à demeure	<b>28</b>
<b>Tableau 6</b>	Taxonomie de <i>P. aeruginosa</i>	<b>36</b>
<b>Tableau 7</b>	Principales pathologies causées par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , classées selon le site d'infection	<b>44</b>

## Liste des abréviations

**ADH** : Arginine-dihydrolase.

**AHL** : N-acylhomosérine lactone.

**AI2** : Auto-inducteur 2.

**ATB** : Antibiotiques.

**BHIB** : Bouillon Brain Heart Infusion.

**c-di-GMP** : Acide diguanylique cyclique.

**CFTR**: Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator.

**CRA** : Rouge Congo Agar.

**CV** : Cristal Violet.

**DM** : Dispositifs médicaux.

**ECM** : Composants de la matrice extracellulaire.

**EPSs** : Extra-Polyméric Substance.

**EI** : Endocardite infectieuse.

**EPS** : Exo-polysaccharides.

**HE** : Huiles essentielles.

**MCBL** : Microscopie confocal à balayage laser.

**MEB** : Microscopie électronique à balayage.

**NO** : Oxyde nitrique.

**PIA** : Polysaccharide Intercellular Adhesion.

**Psl** : Polysaccharide.

**PNAG** : Poly N acétyl glucosamine.

**QS**: *Quorum-sensing*.

**SAM**: S-adenosyl-méthionine.

**TCP** : Plaque de culture tissulaire.

**TM** : Méthode en tube.

**TSB** : Bouillon trypticase soja.

## Table des matières

Remerciments.....	ii
Dédicace.....	iii
Résumé.....	vii
Abstract.....	viii
Liste des figures.....	x
Liste des tableaux.....	xi
Liste des abréviations.....	xii
Introduction.....	2

### Chapitre I : Généralité sur les biofilms

I. Historique.....	5
II. Définition et nature.....	5
III. Structure des biofilms.....	6
III.1. Une organisation stratifiée.....	7
III.2. Les principaux constituants du biofilm.....	7
IV. Formation de biofilms.....	8
IV.1. Étapes de formation.....	8
IV.1.1. Adhésion réversible.....	8
IV.1.2. Adhésion irréversible.....	9
IV.1.3. Formation de micro-colonies.....	9
IV.1.4. Maturation de biofilms.....	9
IV.1.5. Dispersion du biofilms.....	9
V. Les facteurs influencent la formation du biofilms.....	10
V.1. Les caractéristiques de la surface.....	10
V.2. Les caractéristiques du milieu.....	10
V.3. Caractéristiques des microorganismes.....	10
VI. <i>Quorum-sensing</i> (QS).....	11
VI.1. Définition-Mécanisme.....	11
VI.2. Les molécules du QS.....	12
VI.2.1 Acyl-Homosérine Lactones (AHLs).....	13
VI.2.2. L'auto-inducteur 2 (AI-2).....	14
VI.3. Rôles du QS.....	15

VI.4. Altération du QS .....	15
VII. Avantage de mode de vie des biofilms .....	15
VIII. Évaluation de la formation de biofilm <i>in vitro</i> .....	16
VIII.1. Méthode de la plaque de culture tissulaire (TCP) .....	16
VIII.2. La méthode en tube (TM).....	17
VIII.3. Méthode du Rouge Congo Agar (CRA).....	18
VIII.4. Méthodes microscopiques .....	19

## **Chapitre II : Infections liées aux biofilms**

I. Biofilms et santé publique .....	21
I.1. Biofilms et infection chronique .....	22
I.1.1. Infections chroniques : Étude de quelques exemples .....	22
I.2. Infections de dispositifs médicaux (DM) liées aux biofilms .....	25
I.2.1. Infections des voies urinaires (IVU) et cathéters .....	25
I.2.2. Biofilms et valves cardiaques .....	26
I.2.3. Biofilms et cathéter veineux centraux (CVC).....	27
I.2.4. Biofilms et prothèses articulaires.....	27
I.3. Biofilms et infection nosocomial (IN) ou infection liée aux soins .....	29
II. Interaction entre les biofilms et le système immunitaire .....	29
III. Résistance et tolérance du biofilm aux antibiotiques (ATB) .....	30
III.1. Résistance des biofilm aux ATB .....	30
III.1.1. Mécanismes de résistances .....	31
III.2. Tolérance des biofilms aux ATB .....	31
III.2.1. Mécanismes de tolérance .....	32

## **Chapitre III : Biofilms de *Pseudomonas aeruginosa***

I. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	36
I.1. Classification-Taxonomie .....	36
I.2. Caractères bactériologiques .....	36
I.2.1. Caractères morphologiques.....	36
I.2.2. Caractères culturels.....	37
I.2.3. Caractères biochimiques .....	37
I.2.4. Habitat.....	38
II. Biofilm à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	38

II.1. Cycle de vie .....	38
II.2. Systèmes de régulation .....	39
II.2.1. Mécanisme de <i>quorum sensing</i> (QS).....	39
II.2.2. Régulation par systèmes de deux composants GacS / GacA et RetS / LadS .....	41
II.2.3. Régulation via la signalisation c - di - GMP .....	42
II.3. Les infections liées aux biofilms de <i>P. aeruginosa</i> .....	43
II.4. Résistances aux antibiotiques (ATB) .....	44
II.4.1. Résistance naturelle .....	44
II.4.2. Résistances acquises .....	45

## **Chapitre IV : Stratégies de lutte contre les biofilms bactériens**

I. Les mesures préventives .....	47
I.1. Hygiène .....	47
I.2. Matériel imprégné d'antibactériens .....	47
I.3. Dispositifs imprégnés de substances hydrophiles .....	48
I.4. Verrous d'antibiotiques ou d'éthanol préventifs et d'agents chélateurs .....	48
II. Traitements curatifs contre les biofilms déjà formés.....	49
II.1. Élimination mécanique du biofilm .....	49
II.2. Antibiothérapie .....	49
II.3. L'ablation du dispositif.....	49
III. Nouvelles approches anti-biofilms.....	50
III.1. Inhiber l'adhésion initiale.....	50
III.1.1. L'inhibition non spécifique .....	50
III.1.2. L'inhibition spécifique .....	50
III.2. Brouiller les communications et limiter la maturation du biofilm .....	51
III.3. Lutter contre la tolérance des biofilms aux antibiotiques .....	51
III.3.1. Favoriser la dispersion .....	51
III.4. Ultrasons.....	53
III.5. Vers un vaccin antibiofilm ? .....	53
III.6. Intérêt des huiles essentielles (HE) contre les biofilm .....	54
<b>Conclusion</b> .....	55
<b>Références bibliographiques</b> .....	58
<b>Glossaire</b> .....	68



# *Introducción*



Tout au long de leur vie, les microorganismes et particulièrement les bactéries, ont constamment modifié leur métabolisme, en s'adaptant pratiquement à tous environnements de la planète (**Berh et al. 2017**). Ces micro-organismes ont été principalement caractérisés comme planctoniques, des cellules librement en suspension, décrites sur la base de leur croissance caractéristiques dans des milieux riches en nutriments. Une découverte décrite pour la première fois par van Leeuwenhoek, auquel les micro-organismes se fixent et se développent universellement sur les surfaces exposées révélée les micro-organismes formateurs de ce qu'on appelle un Biofilm (**Donlan, 2002**).

Les biofilms sont des communautés microbiennes bien structurées adhérentes qui sont attachées à une surface inerte ou vivante et enrobées par une matrice extracellulaire (**Lebeaux et al. 2014 ; Banerjee et al. 2020**). Les biofilms peuvent être composés d'une seule espèce, bactérienne, mais plus fréquemment, ils sont formés par une communauté complexe et diversifiée de micro-organismes (bactéries, algues, champignons et protozoaires) (**Balcázar et al. 2015**).

Les biofilms sont omniprésents, présents dans les systèmes d'eau aquatiques et industriels ainsi qu'un grand nombre d'environnements et de dispositifs médicaux pertinents pour la santé publique (**Sadekuzzaman et al. 2015**). Le mode de croissance du biofilm permet aux organismes de résister à un certain nombre de stress environnementaux, notamment chimiques et physiques (**Donlan, 2002 ; Robertson et McLean, 2015**).

Les biofilms ont une grande importance pour la santé publique en raison de leur rôle dans certaines maladies infectieuses et de leur importance dans une variété des infections liées aux dispositifs (**Donlan, 2002**). Les progrès de la recherche sur les biofilms ont conduit à comprendre que ces structures représentent la forme prédominante de vie bactérienne lors de la colonisation tissulaire, et peut survenir dans plus de 80% des infections microbiennes dans le corps. Les biofilms jouent un rôle important dans infections humaines, et environ 65 % des infections sont dues à des biofilms dans les pays dits développés, y compris endocardite valvulaire native, otite moyenne, l'infection chronique des plaies, ostéomyélite chronique, rhinosinose chronique, infection récurrente des voies urinaires, et infection pulmonaire associée à la fibrose kystique (**Bispo et al. 2015 ; Bezoui, 2016**). Des bactéries formant des biofilms sont également associées aux maladies inflammatoires chroniques telles que maladie de Crohn (**Romling et Balsalobre, 2012**). Les biofilms sont aussi impliqués dans 60 % des infections nosocomiales et dans toutes les infections prothétiques. Ces derniers peuvent se former à la surface ou à l'intérieur des dispositifs médicaux implantés dans l'organisme

(prothèses valvulaires cardiaques, cathéters intravasculaires, cathéters urinaires, dispositifs intra-utérins, dispositifs d'assistance ventriculaire, prothèses implants articulaires et autres) (**Bispo *et al.* 2015 ; Bezoui, 2016**), posant de sérieux problèmes en matière de santé publique (forte résistance aux traitements et composants du système immunitaire de l'hôte) (**Ciofu et Tolker-Nielsen, 2011**)

Étudier la complexité des biofilms exige un travail transversal utilisant des compétences liées à de nombreux domaines complémentaires : microbiologie, biologie, chimie des solutions, physico-chimie des surfaces, géologie, hydrologie, sciences des matériaux, etc. (**Bezoui, 2016**).

Dans ce contexte, le présent travail a pour objectif de définir succinctement la notion de biofilm bactérien, de présenter leurs propriétés biologiques particulières et de fournir quelques clés pour comprendre l'étendue de leur impact dans tous les environnements, suivre son développement, sa physiologie ainsi que l'intérêt de la communauté scientifique pour ce mode de vie complexe dont l'étude contribue au renouveau actuel de la microbiologie.

Considérant l'importance de telle question, qu'il nous a paru nécessaire d'entreprendre cette étude bibliographique qui représente l'ossature de la recherche et de celle-ci se dégagent plusieurs lignes directrices :

- La première partie comprend des notions générales sur les biofilms bactériens.
- La deuxième partie montre l'importance des biofilms en santé publique.
- La troisième partie consiste à présenter l'un des biofilm le plus fréquemment rencontré dans le milieu médical (Biofilm de *Pseudomonas aeruginosa*).
- Quatrièmement, cette partie s'intéresse aux principales stratégies utilisées pour lutter contre les biofilms.



*Chapitre I*

*Généralité sur les  
biofilms*



### I. Historique

L'origine de la recherche en microbiologie est souvent associée aux observations d'Antonie Van Leeuwenhoek qui, au XVII<sup>e</sup> siècle et grâce à un microscope de son invention, mit en évidence la présence d'organismes microscopiques à la surface de ses dents (**Roux et Ghigo, 2006**).

En 1933, Arthur Henrici plonge des lames de microscopie en verre dans son aquarium et observe un dépôt de microorganismes qui s'épaissit progressivement (**Roux et Ghigo, 2006**).

En 1943 Zobell a postulé que l'adhésion des bactéries consistait en un processus en deux étapes d'adhérence réversible puis irréversible (**Percival *et al.* 2011**). Il montra que de très faibles quantités de nutriments organiques s'adsorbent sur le verre et que cette concentration de matière organique favorise la formation de « biofilms » sur les surfaces (**Jouenne, 2008**).

William Costerton proposa dès 1978 la définition d'un biofilm. Comme étant une communauté de bactéries agrégées en micro-colonies, enrobées dans une gangue qu'elles ont sécrétée, et adhérant sur une surface inerte ou biologique (**Gouet, 2011**).

En 1995, Bourion décrivait les biofilms comme une communauté microbienne protégée par une matrice fibreuse de polymères extracellulaires et immobilisée sur une surface. Plus tard, en 2003, Bosgiraud définit les biofilms comme des structures organisées permettant de nombreuses communications intercellulaires, afin d'assurer un équilibre et un mode de vie coopératif entre les micro-organismes composant les biofilms (**Klein, 2011**).

### II. Définition et nature

Étymologiquement, le mot « biofilm » vient du grec « bios », la vie, et de l'anglais « film » qui signifie pellicule. Un biofilm est donc « une pellicule de vie ». Dans la littérature scientifique, on trouve de nombreuses définitions, plus ou moins semblables. Le plus souvent, on définit un biofilm bactérien comme, une population de cellules microbiennes (principalement bactéries), engluées dans leurs propres exo-polymères EPSs (Extra-Polyméric Substance) (**Jouenne, 2008 ; Lazar, 2011**).

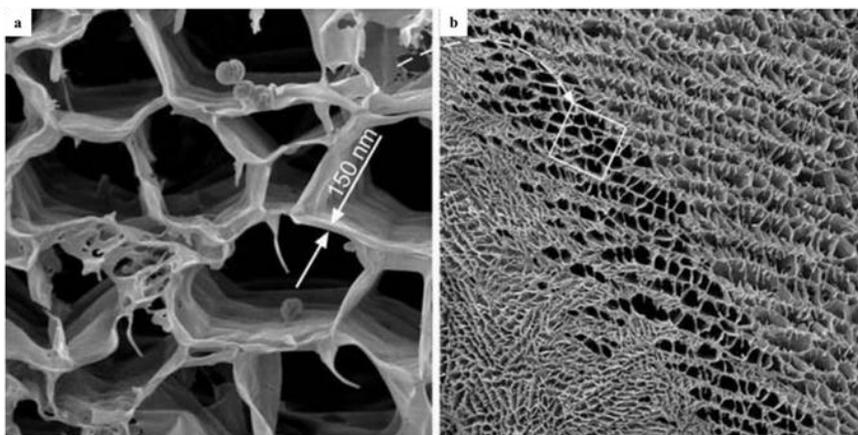
Dans une plus complexe définition, le biofilm est une communauté de microorganismes (bactéries, champignons et autres...), composé de cellules attachées de manière irréversible à un substrat, à une interface ou entre eux, noyés dans une matrice EPS produites par elle-même et qui présente un phénotype (**Brauge, 2015 ; Lazar, 2011**).

Les biofilms sont hétérogènes aussi bien dans le temps que dans l'espace. On distingue les biofilms homogènes et les biofilms hétérogènes. Un biofilm homogène est constitué d'une seule espèce de micro-organismes. Quant au biofilm hétérogène, il est composé de plusieurs espèces. En effet les biofilms peuvent se développer sur des surfaces inertes ou vivantes (Diaby, 2018).

### III. Structure des biofilms

Les biofilms sont hétérogènes d'un point de vue structural. Ils se forment sur des supports variés, ont des épaisseurs différentes et sont formés par des espèces variées de micro-organismes. De cette diversité on peut néanmoins dégager certaines caractéristiques structurales communes à tous les biofilms. Un biofilm est constituée d'une fine monocouche de cellules à sa base (fixées à la surface du substrat), surmontée de plusieurs couches épaisses de cellules enfermées dans une matrice et reliées par des canaux aqueux (De Chalvet de Rochemonteix, 2009).

Tous les biofilms n'ont pas la même épaisseur. Les biofilms des eaux naturelles oligotrophes sont plus fins que ceux des milieux riches comme la plaque dentaire ou les cathéters. L'utilisation de la microscopie électronique à balayage (MEB) montre que le biofilm de *Staphylococcus epidermidis* est composé des groupes de cellules et des agrégats séparés par des trous bordés par les exopolymères. Les cellules bactériennes forment des structures semblables à un nid d'abeille (Derardja et Messaadia, 2018), (Fig.1).



**Figure 1.** Microstructure (a) et Macrostructure (b) du biofilm de *Staphylococcus epidermidis* (Derardja et Messaadia, 2018).

### III.1. Une organisation stratifiée

Un biofilm a une organisation spatiale stratifiée, permettant des échanges (informations, nutriments...) et une coopération entre micro-organismes (**Diaby, 2018**).

La couche la plus profonde du biofilm est composée par des cellules qui sont fixées en premier. Ces cellules sont petites, leur métabolisme est anaérobie et leur croissance est lente. La couche superficielle du biofilm est composée de grandes cellules à croissance aérobie. Entre ces deux couches de cellules, il y a des cellules microaérobies (**De Chalvet de Rochemonteix, 2009**).

Les nutriments présents dans l'environnement extérieur se diffusent en grande quantité dans la couche superficielle du biofilm. Plus vous pénétrez profondément dans le biofilm, plus l'efficacité de diffusion est faible et plus la concentration de nutriments est faible. Ces gradients expliquent l'existence de différentes zones de croissance microbienne (**klein, 2011**).

Au sein du biofilm, les micro-organismes morts ou lysés sont réutilisés comme nutriments (cannibalisme cellulaire). L'ADN libéré lors de la mort programmée de certains micro-organismes du biofilm jouera également un rôle structural, dans la stabilité des biofilms (**De Chalvet de Rochemonteix, 2009 ; Klein, 2011**);).

### III.2. Les principaux constituants du biofilm

Les bactéries du biofilm sont reliées par une matrice extracellulaire, qui a pour fonction de protéger les bactéries de l'environnement extérieur et d'adhérer le biofilm à la surface. (**Rambelomamonjy, 2017**). La composition de la matrice varie selon l'espèce bactérienne et les conditions de croissance (**Yannick et al. 2016**). Cependant, comme elle est hautement hydratée, son composant majeur est l'eau (97%). Les polysaccharides font partie aussi de sa fraction majeure car la majorité de ces composés sont de longues molécules linéaires ou branchées, possédant une masse entre  $0,5 \cdot 10^6$  à  $2 \cdot 10^6$  Da. Cette matrice peut être aussi composée de protéines, d'acides nucléiques, d'agents tensioactifs, de lipides, de glycolipides, de cations et de la cellulose (**Tableau 1**). Ces derniers sont plus fréquemment retrouvés chez différentes espèces et genres des bactéries (**Rambelomamonjy, 2017**).

**Tableau1.** Compositions de la matrice du biofilms (**Jamal *et al.* 2015 ; Banerjee *et al.* 2019**)

Composants	Pourcentage de composition dans la matrice
Cellules microbiennes	2-5%
ADN et ARN	<1-2%
Polysaccharides	1-2%
Protéines (y compris les enzymes)	<1-2%
L'eau	Jusqu'à 97%

### IV. Formation de biofilms

La formation d'un biofilm commence lorsque des micro-organismes flottants se fixent à un surface et/ou liées les uns aux autres. Ce processus démarre avec la première bactérie, qui adhère à la surface initialement par faible, adhésion réversible. Au cours de la colonisation de surface, les cellules bactériennes sont capables de communiquer en utilisant signaux de détection de *quorum-sensing* (QS) tels que la N-acylhomosérine lactone (AHL) (**Srivastava *et al.* 2019**).

#### IV.1. Étapes de formation

Le cycle de vie du biofilm peut être subdivisé en cinq étapes majeures : l'adhésion réversible, l'adhésion irréversible, la formation des micro-colonies, la maturation et la dispersion, (**Fig. 2**).

##### IV.1.1. Adhésion réversible

L'adhésion réversible est un phénomène au cours duquel les cellules se fixent à une surface avec une intervention des mécanismes comme le chimiotactisme et la mise en place d'appendices générateurs de mouvement tels que les flagelles et elle est facilitée par les adhésines qui sont des récepteurs membranaires (**Rambelomamonjy, 2017**). Différents facteurs conditionnent le processus d'attachement microbienne aux surface telles que, les espèces bactériens, la composition de la surface des cellules, la nature des surfaces, la disponibilité des éléments nutritifs, les conditions hydrodynamiques et la communication du *quorum sensing* (**Donlan, 2002**).

### IV.1.2. Adhésion irréversible

La fixation à la surface solide devient irréversible en raison de la production d'exopolysaccharides (EPS) par les bactéries et surtout grâce à des structures d'attachement variables selon les espèces bactériennes (**Mebarki, 2016**). Par exemple pour les bactéries à Gram négatives (-), il s'agit des pilis, des capsules et du glycocalix et pour les bactéries à Gram positives (+), il y a les acides teichoïques, l'acide mycolique, la capsule et le glycocalix. D'autres bactéries vivant presque seulement fixées (comme par exemple *Caulobacterou Hyphomicrobium*) utilisent des structures spécifiques comme le pédoncule ou de la gaine (**De Chalvet de Rochemonteix, 2009**). Ces molécules d'attachement permettent d'établir des contacts cellule- surface et des contacts cellule-cellule (**Mebarki, 2016**).

### IV.1.3. Formation de micro-colonies

Les bactéries se multiplient lentement et continuent la production des EPS. Elles associées entre elles et forment des micro-colonies, qui sont protégées par la matrice exopolysaccharidique (**Chibi, 2015**). Ces micro-colonies seront suivies par l'élaboration d'un biofilm plus ou moins complexe selon la composition en microorganismes du milieu, les conditions hydrodynamiques et chimiques (**Rambelomamonjy, 2017**).

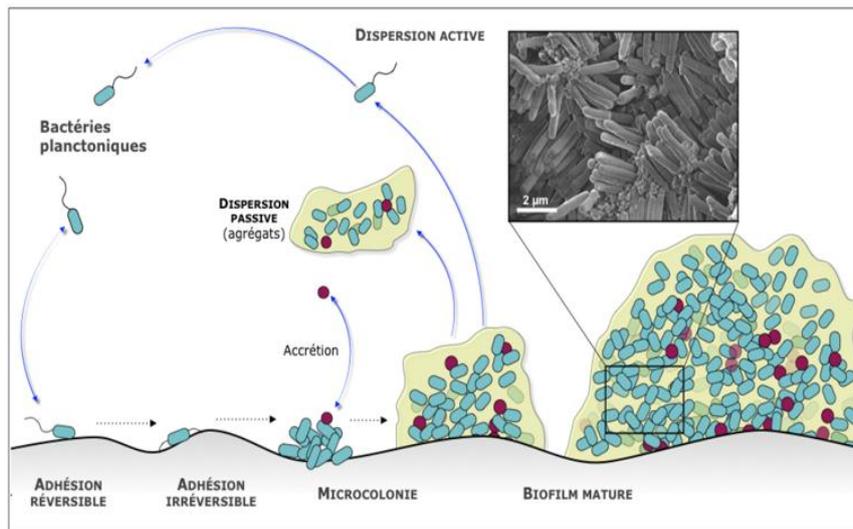
### IV.1.4. Maturation de biofilms

Une fois que les bactéries se fixent solidement au support, elles vont accélérer leur division cellulaire pour développer le biofilm et lui donner son architecture. Cette augmentation de la masse va être accompagnée d'une production plus intense d'EPS qui vont interagir avec des molécules organiques et inorganiques du milieu environnant pour former la matrice extracellulaire. Plusieurs facteurs contrôlent la maturation, notamment, la disponibilité et la bonne diffusion des nutriments à travers cette matrice extracellulaire, le pH interne, la disponibilité en oxygène, la disponibilité en source carbonée et l'osmolarité (**Brauge, 2015**).

### IV.1.5. Dispersion du biofilms

La dernière étape de formation du biofilm est le détachement. Lorsque les conditions du milieu deviennent défavorables (diminution de la concentration ou modification de la nature des nutriments disponibles...), les cellules du biofilm commencent à se détacher et vont

migrer pour coloniser des nouvelles régions favorables à leur développement afin de pouvoir recommencer un nouveau cycle de vie (**Rambelomamonjy, 2017**).



**Figure 2.** Principales étapes de formation du biofilms (**Lebeaux et al. 2016**).

## V. Les facteurs influencent la formation du biofilms

### V.1. Les caractéristiques de la surface

Plus que la surface est rugueuse, plus que la colonisation des bactéries sur cette surface est importante. Les propriétés chimiques de la surface peuvent exercer une influence sur le taux d'attachement et sur son ampleur : d'une part l'hydrophobicité, les micro-organismes se fixent plus facilement sur les surfaces hydrophobes et non polarisées comme le verre ou les métaux et, d'autre part, la présence préalable de films protéiques : exemples, le sang, les larmes, l'urine...etc., influencent la fixation des bactéries sur cette surface, et favorise la formation de biofilm (**Bezoui, 2016**).

### V.2. Les caractéristiques du milieu

Comprenant les conditions externes telles que : la disponibilité de nutriments (excès ou carence) et les différents stress physicochimiques (pH, température, présence de composés bactéricides...etc.) (**Nadji et Mizou, 2015**).

### V.3. Caractéristiques des microorganismes

L'hydrophobicité de la surface de la cellule, la présence des fimbriaes et des flagelles, et la production d'EPS influencent l'adhésion des bactéries sur une surface. L'hydrophobicité

d'une surface est importante pour l'attachement des micro-organismes à cette dernière (**Donlan, 2002**).

La majorité des bactéries sont chargées négativement et présentent sur leur surface des zones hydrophobes. Cette hydrophobicité influence l'attachement des bactéries sur une surface ; moins que les surfaces sont polarisées plus les liaisons hydrophobes deviennent importantes (**Donlan, 2002**). Les différents facteurs influençant la formation du biofilm sont présentés dans le **Tableau 2**.

**Tableau 2.** Facteurs influençant l'attachement de cellules et la formation d'un biofilm (**Donlan, 2002**)

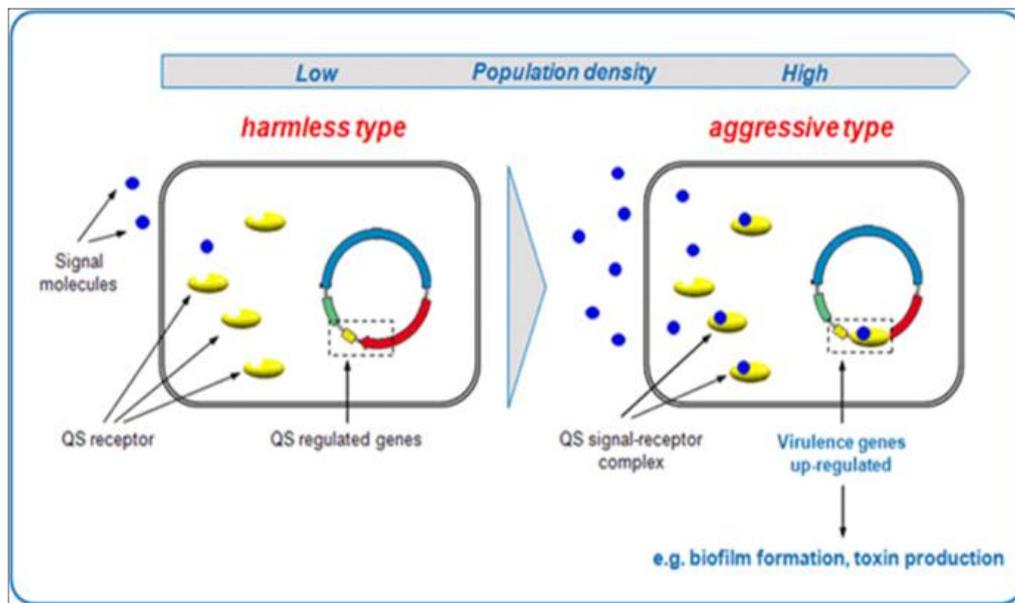
Propriétés du substrat	Propriétés du milieu	Propriétés de la cellule
Texture ou rugosité	La vitesse d'écoulement	Hydrophobicité de la surface cellulaire
Hydrophobicité	Ph	Fimbriae
Film de conditionnement	Température	Flagelles
	Cations	Substances polymériques extracellulaires
	Présence d'agents antimicrobiens	

## VI. *Quorum-sensing* (QS)

### VI.1. Définition-Mécanisme

Le QS est un processus de communication chimique chez les bactéries, qui est défini comme la régulation des gènes en réponse à la densité cellulaire, ce qui influe sur les différentes fonctions, à savoir, la virulence, la tolérance et la formation des biofilms (**Houvion, 2014**).

Il s'agit de mécanismes de contrôle ayant lieu au sein des cellules, optimisés par des signaux de cellules à cellules, et dépendant de leurs quantités : on parle de mécanismes de perception du *quorum* (**Fig. 3**). Ces mécanismes sont basés sur le principe de masse critique. Une fois que les signaux atteignent une valeur seuil (valeur critique), des régulateurs transcriptionnels sont activés et exercent un contrôle sur des gènes spécifiques. Ces mutations de gènes impliqués dans les mécanismes de QS entraînent des répercussions sur les stades tardifs de formation des biofilms. Ces gènes exercent un contrôle sur une grande partie de l'expression du transcriptome et du protéome, avec un contrôle de l'expression de facteurs de virulence comme les protéases par exemple (**Bezoui, 2016 ; Vasudevan, 2014**).



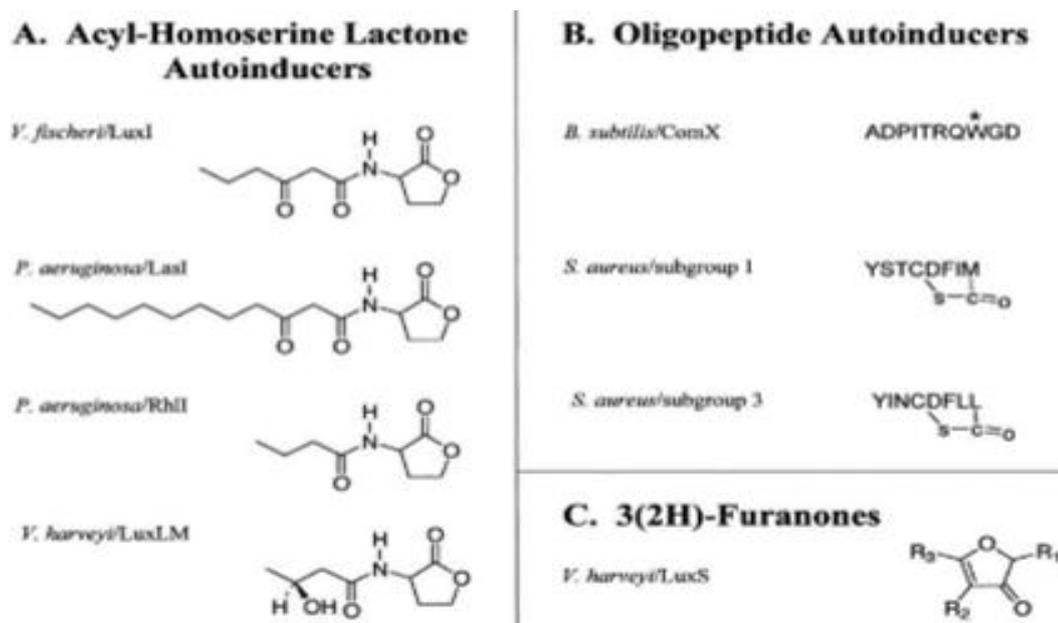
**Figure 3.** Mécanisme détection de QS chez les biofilms (Vasudevan, 2014).

## VI.2. Les molécules du QS

Les molécules du QS sont différentes selon les types de bactéries (Chibi, 2015 ; De chalvet de Rochemonteix, 2009). On distingue trois types de systèmes de QS : en utilisant des oligopeptides comme molécule signal est présent chez les bactéries à Gram positif, des acyl-homoserine lactone (AHL) comme molécule signal est présent chez les bactéries à Gram négatif. Utilisant l'auto-inducteur 2 (AI2) comme molécule signal se retrouve chez les deux groupes bactériens (Chonsui, 2017). Même si la détection de *quorum* ne semble pas être impliquée dans formation de biofilm, il peut influencer plusieurs aspects de développement de biofilm de plusieurs espèces (Tableau 3) (Srivastava et Bhargava, 2015).

**Tableau 3.** Systèmes de détection de *quorum* dans différentes bactéries et leur rôle dans le développement du biofilm (Srivastava et Bhargava, 2015)

Microbe	Système de détection de <i>quorum</i>	Rôle dans le développement de biofilm
<i>Salmonella enterica</i>	LuxS	Attachement
<i>Serratia liquefaciens</i>	Acyl-HSL	Maturation
<i>Burkholderia cepacia</i>	cepI/R	Maturation
<i>Aeromonas hydrophila</i>	ahyR/I acyl-HSL	Maturation
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	LuxI/LuxR; PQS	Maturation
<i>Streptococcus mutans</i>	LuxS	Maturation
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	Acyl-HSL	Agrégation cellulaire
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	acyl-HSL ypsI/R	Maturation
<i>Xanthomonas campestris</i>	DSF/rpf	Dispersion



**Figure 4.** Formules de molécules de communication (Bezoui, 2016).

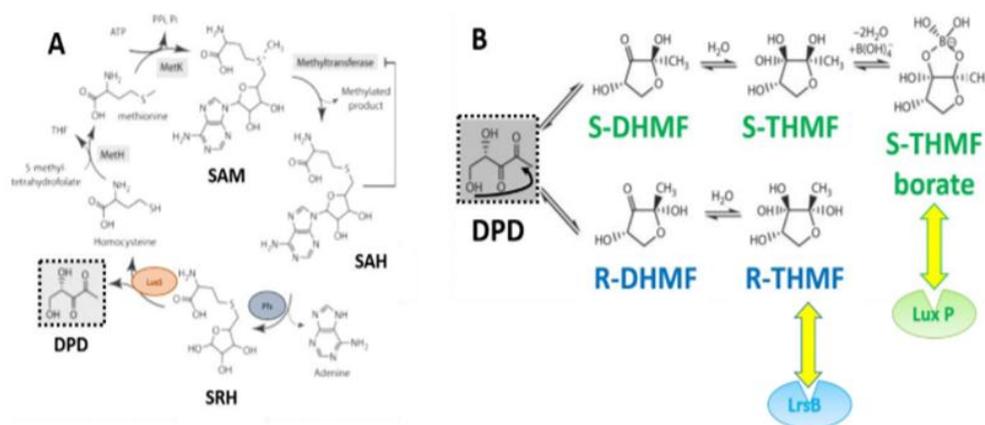
### VI.2.1 Acyl-Homosérine Lactones (AHLs)

Les Acyl-Homosérine Lactones ou AHLs sont les auto-inducteurs de type 1 (AI-1). Elles sont composées d'un groupement lactone et d'une chaîne acyle latérale, qui varie selon la longueur et selon la présence ou non d'un groupement substitué (oxo ou hydroxy), sur le carbone en position 3 (Ayé, 2015 ; Doberva, 2016). Elles sont synthétisées par des protéines

synthèses, qui sont des enzymes appartenant à la famille des protéines de type LuxI. Puis, diffuse librement dans et hors de la cellule. AHL diffusent librement à travers la membrane bactérienne et la réponse au QS est déclenchée par leur fixation dans la cellule à un régulateur de transcription de type LuxR qui, ainsi activé, induit l'expression des gènes du QS (**Mion *et al.* 2019 ; Aguanno, 2020**).

### VI.2.2. L'auto-inducteur 2 (AI-2)

L'auto-inducteur de type 2 (AI-2) a été identifié plus récemment, et permet une communication interspécifique entre les bactéries Gram- et Gram+. Il en existe de nombreux homologues. Finalement, le 4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione (DPD), une molécule instable, produit dérivé du métabolisme de la S-adénosyl-méthionine (SAM) (**Fig.5A**) a été reconnu comme responsable de l'activité AI-2. Il convient de noter que le produit du gène luxS, l'enzyme LuxS, est censé avoir un rôle métabolique dans les cellules, en plus d'être responsable pour la biosynthèse de l'AI-2 (**Galloway *et al.* 2011 ; Doberva, 2016 ; Landman, 2017**).



**Figure 5.** Synthèse du DPD dans le cycle du métabolisme de la SAM (A). Différentes formes d'AI-2 et leur reconnaissance par les récepteur LuxP de *Vibrio harveyi* et LsrB de *Salmonella typhimurium* (B) (**Landman, 2017**).

DPD : 4,5-dihydroxy-2,3-pentanedione ; SAH : S-adenosylhomocysteine ; SAM : Sadenosylmethionine ; SRH : S-ribosylhomocysteine ; S-DHMF : S-2,4-dihydroxy-2methylhydrofuran-3-one R-DHMF : R-2,4-dihydroxy-2methylhydrofuran-3-one ; S-THMF : S-2-methyl-2,3,3,4-tetrahydroxytetrahydrofuran R-THMF : R-2-methyl-2,3,3,4-tetrahydroxytetrahydrofuran.

### VI.3. Rôles du QS

Le QS implique la production de molécules de signalisation au sein d'une population bactérienne qui permet aux bactéries de communiquer entre elles et d'initier une réponse à leur environnement et peut impliquer des bactéries sécrétant des EPS protecteurs et augmentant la production d'enzymes qui facilitent leur invasion tissulaire (**Percival et Bowler, 2004**). Il régule la physiologie du biofilm en modulant la taille de la population du biofilm, et en prenant en compte les conditions environnementales, et initie les phénomènes de dispersion et d'essaimage de bactéries planctoniques à partir du biofilm (**Chibi, 2015 ; Mebarki, 2016**).

Le QS aurait aussi un rôle dans la détermination de l'épaisseur du biofilm. Il peut réprimer ou stimuler l'expression de certains caractères, tels que les facteurs de virulence extracellulaires, comme les protéases. Les molécules du QS jouent aussi un rôle dans la lutte contre l'attaque d'autres organismes vivants, comme des protozoaires (**Terki, 2015 ; Mebarki, 2016**).

### VI.4. Altération du QS

L'altération des mécanismes de QS peut aboutir à d'importantes modifications phénotypiques des micro-organismes du biofilm, par exemple une sensibilité augmentée à des antibiotiques ou à des antiseptiques, ou des anomalies dans le cycle de développement du biofilm, surtout au cours des étapes de formation et de dispersion (**Chibi, 2015**).

## VII. Avantage de mode de vie des biofilms

Les biofilms sont bénéfiques dans certains cas, la formation des biofilms hautement résistants s'est avérée être un avantage, en particulier dans les milieux industriels. Par exemples ils sont utilisés dans la production du vinaigre (acide acétique), des études ont également révélé l'utilité des biofilms dans la synthèse de l'éthanol, du poly-3-hydroxybutyrate, du benzaldéhyde, des mécanismes de résistance aux champignons et des biofilms bactériens induits par d'autres produits chimiques (**Anderson et Toole, 2008 ; Nadjji et Mizou, 2015**).

La formation de biofilm aide les micro-organismes à afficher une haute résilience antimicrobienne et à les protéger des conditions environnementales défavorables, telles que le pH, la chaleur, l'oxygène, la congélation, les radiations, etc., et les réacteurs à biofilm ont

également été utilisés dans la production d'antibiotiques par exemples : un réacteur à biofilm à lit fluidisé a donné de meilleurs résultats de la production de pénicilline (**Singh et al. 2019 ; Nadji et Mizou, 2015**).

Les biofilms bénéfiques sont utilisés dans le traitement des eaux usées, dans lequel les solides en suspension dans les eaux usées sont rapidement colonisés par des biofilms bactériens avant la décomposition. Il décompose la matière organique des eaux usées. Les biofilms de bioréacteur peuvent également être utilisés pour éliminer le carbone organique et / ou l'azote. En plus de traiter l'eau de mer huileuse et polluée pour décomposer les produits chimiques et prévenir la toxicité des déversements d'hydrocarbures (**Robertson et McLean, 2015 ; Qureshi, 2009**).

### VIII. Évaluation de la formation de biofilm *in vitro*

Différents méthodes utiliser pour étudier les biofilms, telles que : la méthode de la plaque de culture tissulaire (TCP), la méthode en tube (TM), la méthode du Rouge Congo Agar (CRA) et les méthodes microscopiques.

#### VIII.1. Méthode de la plaque de culture tissulaire (TCP)

Le test sur plaque, est une méthode simple à haut débit utilisée pour surveiller l'attachement microbien à une surface abiotique, en utilisant du bouillon trypticase soja (TSB) avec 1% de glucose et du bouillon Brain Heart Infusion (BHIB) avec 2% de saccharose (**Manandhar et al. 2018 ; Merrit et al. 2005**), (**Fig. 6**).

À partir des cultures jeunes, les puits d'une microplaque (polystyrène) sont inoculés avec des bactéries testes et incubés à 37°C pendant 24 h. Les puits par la suite sont lavés avec de tampon phosphate salin (pH 7,2) pour éliminer les bactéries planctoniques (libres) et les cellules qui restent adhérees aux puits sont ensuite colorées avec du Cristal Violet (CV) à 0,1 qui permet la visualisation du modèle d'attachement (**Hassan et al. 2011 ; Bellifa, 2014 ; Merrit et al. 2005**). La densité de formation des biofilm est déterminée par mesure spectroscopique (densité optique DO) l'aide des lecteurs automatiques micro ELISA à une longueur d'onde de 570 nm (**Hassan et al. 2011 ; Manandhar et al. 2018**).

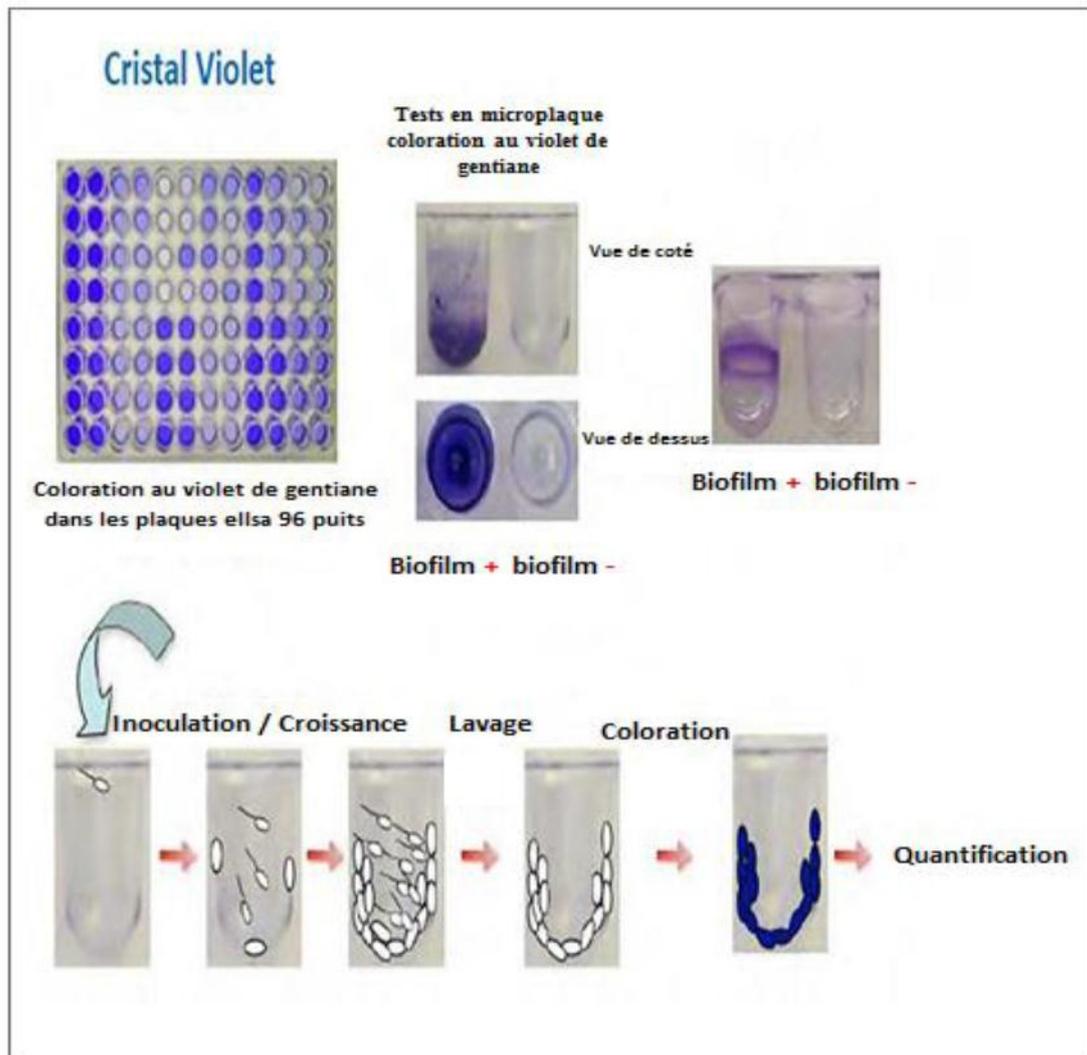


Figure 6. Formation de biofilm en microplaque (Bellifa, 2014).

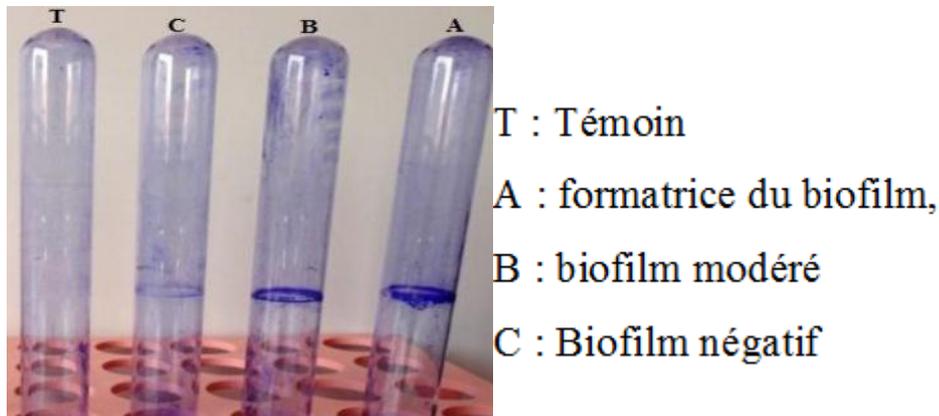
### VIII.2. La méthode en tube (TM)

C'est une méthode qualitative de détection des biofilms. Elle permet l'accumulation d'une grande masse de biofilm qui peut être collectée facilement en grattant le tube (Fig. 7). (Peterson *et al.* 2011 ; Hassan *et al.* 2011)

Des cultures bactériennes jeunes cultivées sur milieux riches dans des tube en verre à 37°C pendant 24 h, suite d'un lavage tamponnée et coloration au cristal violet (0.1%), une solution saline et laisser sécher. Chaque tube a été ensuite coloré par le cristal violet (0,1%) (Hassan *et al.* 2011 ; Peterson *et al.* 2011 ; Nabel, 2019).

La notation pour la méthode du tube a été faite selon les résultats des souches témoins. Présence d'un film visible doubler le fond et la paroi du tube résultat positif ; indiqué pour la production de biofilm lors de la formation d'un anneau taché au niveau de l'air-liquide,

l'interface était une preuve d'un résultat négatif (Hassan *et al.* 2011 ; Peterson *et al.* 2011 ; Bellifa, 2014 ; Sultan et Nabel, 2019).

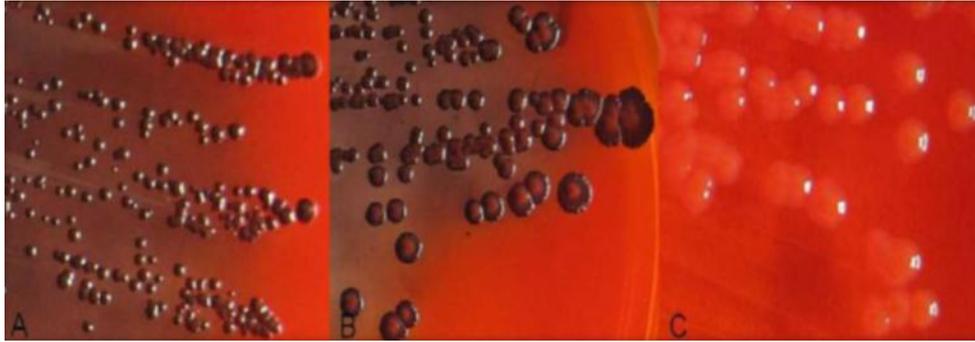


**Figure 7.** Évaluation de la production de biofilm par la méthode en TM (Bellifa, 2014).

### VIII.3. Méthode du Rouge Congo Agar (CRA)

La gélose au rouge Congo (CRA) a été décrite comme un milieu solide approprié pour la détection des souches productrices de boue. Sur ce milieu, les souches exprimant le PIA (Polysaccharide Intercellular Adhesion) se développent sous forme de colonies de couleur noire avec une surface rugueuse, contre des colonies de couleur rouge et à surface lisse pour les souches PIA négatives (Fig. 8) (Hassan *et al.* 2011 ; Ziebuhr *et al.* 2001),

La lecture se fait comme suit : les colonies noires à surface rugueuse : indique la production de biofilm, tandis que, les colonies rouges à surface lisse : indique les souches non productrices. Les souches de phénotype variables donnaient des colonies à centre noir et à contour rouge ou à centre rouge et à contour noir (Hassan *et al.* 2011, Bellifa, 2014).



**Figure 8.** Culture sur la gélose Rouge Congo. (A) RCA-positive souche de *S. epidermidis* (colonies noires), (B) RCA-positive souche de *S. aureus* (colonies noires), (C) RCA-négative souche de *P. aeruginosa* (colonies rouges) (Nadji et Mizou, 2015).

### VIII.4. Méthodes microscopiques

Divers techniques microscopiques sont utilisées pour visualiser et détecter les biofilms, à savoir la microscopie optique (MO), la microscopie électronique (ME), la microscopie électronique à balayage (MEB) et la microscopie confocal à balayage laser (MCBL).

La microscopie optique (MO) et la microscopie électronique (ME) sont utilisées pour l'examen d'imagerie des échantillons de biofilm avec des nouvelles techniques, telles que : la microscopie électronique à balayage (MEB) utile pour comprendre la structure de la surface de l'échantillon, bien que manquant de résolution verticale car il fournit des informations sur la structure spatiale et détecte la présence d'EPS. La microscopie confocal à balayage laser (MCBL) permet l'étude de biofilms vivants et entièrement hydratés et fournit des informations simultanées sur la structure tridimensionnelle (3D) des biofilms et l'identification des différents composants (Denkhaus *et al.* 2007 ; Azeredo *et al.* 2016 ; Sing *et al.* 2020).

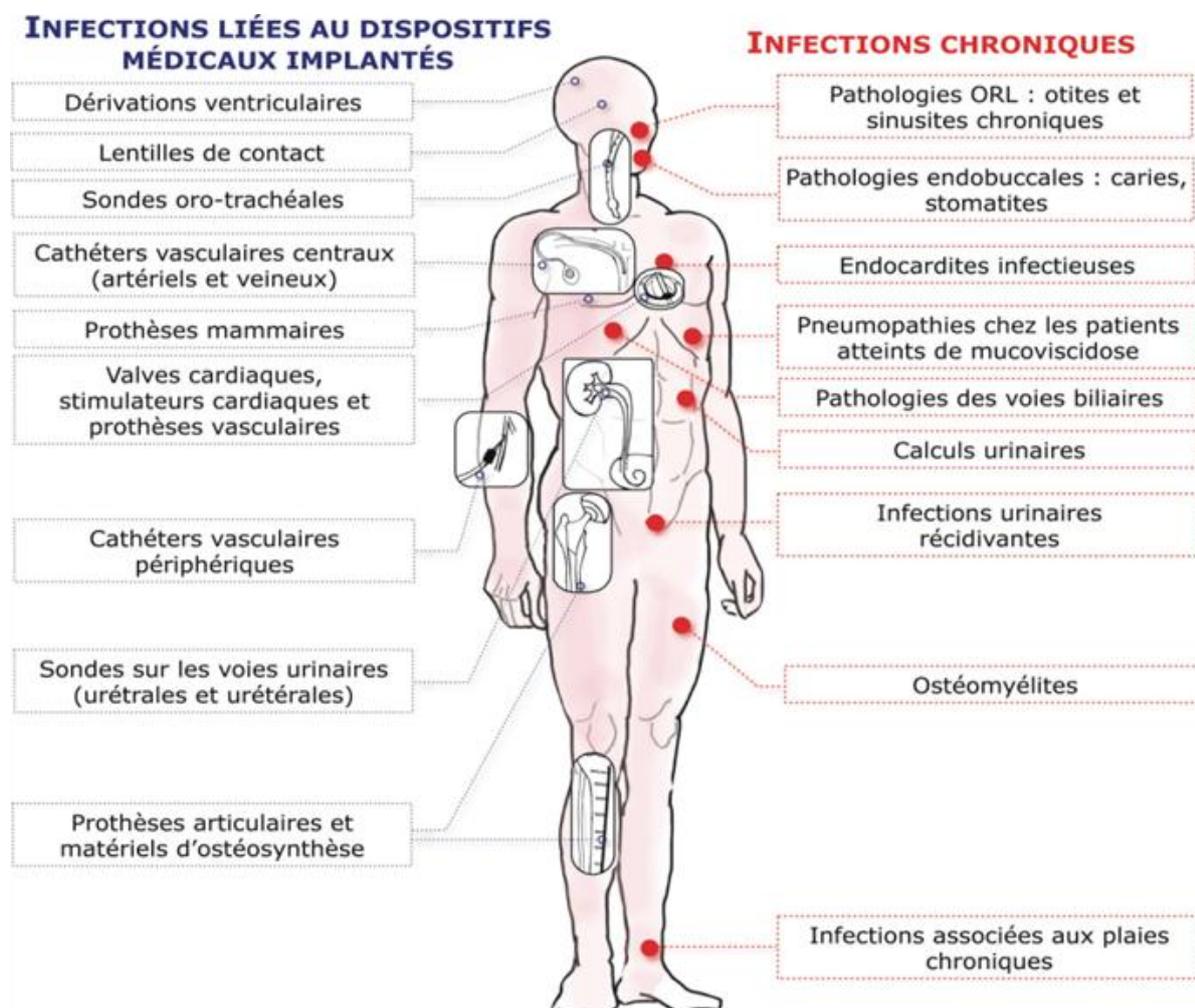


*Chapitre II*

*Infections liées aux  
biofilms*

### I. Biofilms et santé publique

Les micro-organismes se fixent aux surfaces et se développent en biofilms qui ont été impliqués dans une variété de maladies humaines d'une grande importance pour la santé publique. En effet, 65% des infections recensées dans les pays développés sont dues aux biofilms, et plus de 80% des infections bactériennes chroniques sont associées à la présence de ces derniers (**De Chalvet de Rochemonteix, 2009**). Ces infections comprennent à la fois les infections associées aux dispositifs et non aux dispositifs (**Jamal *et al.* 2018**). Malheureusement, ces maladies sont résistantes aux biocides conventionnels et immunisées contre le système de l'hôte (**Fig. 9**) (**Berh *et al.* 2017**).



**Figure 9.** Principales infections associées aux biofilms (**Lebeaux *et al.* 2016**).

### I.1. Biofilms et infection chronique

Les biofilms sont responsables d'infections chroniques et posent de nombreux problèmes dans le domaine médical. Les infections liées à des biofilms touchent plus les personnes légèrement ou fortement immunodéprimées et impliquent souvent des bactéries commensales comme *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (Tableau 4) (Roux et Ghigo, 2006).

Les infections chroniques ont une progression plus lente que les infections aiguës et leurs symptômes souvent vague (souvent qualifiée de faible classe). Ils sont très difficiles, voire impossibles, à guérir avec des antibiotiques. L'inflammation chronique est généralement caractérisée par une réponse inflammatoire adaptative, qui est dominé par les leucocytes mononucléaires et anticorps type IgG (Bjarnsholt, 2013).

**Tableau 4.** Maladies associées au biofilm (Banerjee *et al.* 2020)

Espèce bactérien	Infection au biofilm
<i>Staphylococcus aureus</i>	Ostéomyélite chronique, rhinosinusite chronique, endocardite chronique otite moyenne, implants orthopédiques
<i>Escherichia coli</i>	Voies urinaires aiguës et infection récurrentes, associée au cathéter, infection des voies urinaires, infection des voies biliaires.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Infection pulmonaire due à la fibrose kystique, infection de la plaie chronique, associée au cathéter
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Infection des voies urinaires, rhinosinusite chronique, otite moyenne chronique, kératite liée aux lentilles de contact.
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Colonisation de la cavité buccale et rhinopharynx, amygdalite récurrente, Colonisation du nasopharynx, Rhinosinusite chronique, otite moyenne chronique, maladie des obstructions pulmonaires chroniques.

#### I.1.1. Infections chroniques : Étude de quelques exemples

##### I.1.1.a. L'endocardite infectieuse (EI)

Elle correspond au développement d'un biofilm localisé aux valves cardiaques. L'EI est une maladie rare dont le diagnostic peut être complexe du fait de manifestations variées et parfois peu spécifiques (Lebeaux et Ghigo, 2012 ; Curlier *et al.* 2017). Le staphylocoque est le micro-organisme désormais le plus souvent à l'origine de l'EI, suivi par les streptocoques d'origine bucco-dentaire, puis l'entérocoque (Iung, 2019).

Trois étapes interviennent dans le développement de l'EI. Durant la première étape, on assiste à un dépôt de fibrine et de plaquettes sur l'endothélium valvulaire facilité par des lésions endothéliales mécaniques ou inflammatoires préexistantes. La deuxième étape comprend l'association des bactéries sur les valves lors d'une bactériémie transitoire. La troisième étape correspond à la multiplication des bactéries au niveau des valves avec extension et destruction locale (formation d'abcès et apparition une insuffisance cardiaque par destruction valvulaire) suivie par une dissémination à distance. Cette dernière est due à des embolies septiques, ou à la persistance de la bactériémie (**Gerlinger et Mainardi, 2016**).

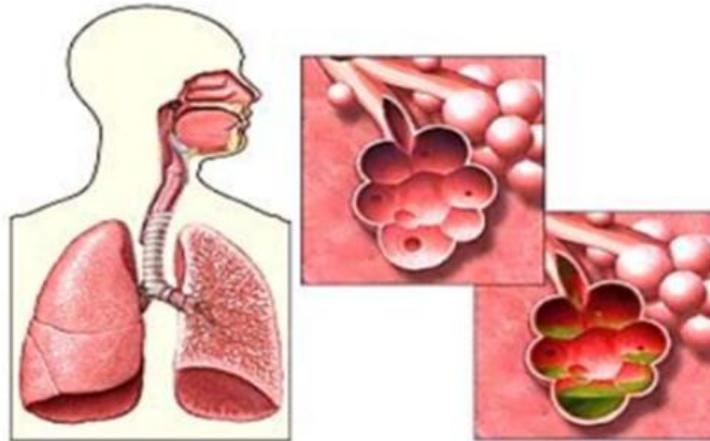
### I.1.1.b. La mucoviscidose

La mucoviscidose est une maladie génétique caractérisée par la présence d'un mucus très visqueux dans les poumons (**Fig. 10**), favorisent l'invasion des bactéries et leur développement en biofilms (**Klein, 2011**).

La colonisation et les épisodes infectieux sont souvent poly-microbiens. Les principales bactéries impliquées dans ce cas sont *S. aureus* et *Haemophilus influenzae* dans l'enfance puis, dans un second temps, *P. aeruginosa* (**Hajoubi, 2019**).

L'infection à *H. influenzae* est précoce mais son effet est moindre que celui des autres germes. *S. aureus* réalise une infection chronique et l'infection à *P. aeruginosa* est en grande partie responsable de la dégradation pulmonaire. Ainsi l'infection par cette bactérie représente le principale cause de mortalité chez les patients atteints de mucoviscidose (**Hajoubi, 2019 ; Noël et Sermet-Gaudelus, 2019**).

Lors de la mucoviscidose, la dysfonction de la protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator) induit des anomalies d'hydratation et de transferts ioniques dans l'épithélium, qui expliquent les conséquences de la maladie sur divers organes. Ces dernières sont maximales au niveau de l'épithélium respiratoire et digestif (**Fijeau et al. 2019**).



**Figure 10.** Illustration de la colonisation d'alvéoles pulmonaires par un biofilm bactérien (Klein, 2011).

### I.1.1.c. Pathologies buccodentaires et oto-rhino-laryngologie (ORL)

Ils existent deux grands types de pathologies buccodentaires d'une part, les caries, d'autre partie, les parodontopathies. Leur nature polymicrobienne a été clairement démontrée, la théorie de la plaque dentaire à la base de cette réflexion a régulièrement évolué (Simain *et al.* 2010). La plaque dentaire (Fig. 11) est la communauté différente de microorganismes retrouvée sur la surface dentaire sous la forme d'un biofilm, incorporée dans une matrice EPSs d'origine microbienne et salivaire (Langella, 2017).

Les bactéries responsables d'otites moyennes chroniques sont *H. influenzae*, *S. pneumoniae*, *Moraxellacatarrhalis*, forment des structures typiques des biofilms. La colonisation par une première espèce permet le développement d'un échafaudage de macromolécules favorisant l'association d'autres espèces. Ces complications concernent donc de nombreux patients dans des contextes de soins très variés. (Lebeaux et Ghigo, 2012).



**Figure 11.** Plaque dentaire (biofilm) chez un patient présentant une parodontite (Simain *et al.* 2010).

### **I.1.1.d. Biofilms et Infections associées aux plaies chroniques**

On estime que 1 à 2 % de la population des pays développés souffrent de plaies chroniques comme les ulcères des membres inférieurs ou les complications cutanées liées au diabète. Soixante pour cent d'entre elles (contre 6 % des plaies aiguës) sont colonisées par des bactéries ou des champignons sous forme de biofilms poly-microbiens tolérants aux antibiotiques qui ralentissent ou empêchent la cicatrisation en favorisant un état d'inflammation chronique. Puisqu'il a été rapporté que les biofilms constituaient un facteur majeur contribuant à de multiples maladies inflammatoires chroniques. Il est probable que la quasi-totalité des plaies chroniques présente des communautés de biofilms sur au moins une partie du lit de la plaie (**Hajoubi, 2019**).

### **I.2. Infections de dispositifs médicaux (DM) liées aux biofilms**

Il a été identifié que l'utilisation universelle de divers types de DM implantés à demeure chez l'homme peut conduire à l'adhésion de micro-organismes et provoquer une colonisation et des infections. Ce sujet aide à comprendre le mécanisme impliqué dans la capacité des biofilms bactériens à survivre et à se développer en infections liées au biofilm (**Singh et al. 2019**).

La contamination des DM est initiée à partir de quelques micro-organismes tels que les *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *E. coli* ou au *S. epidermidis*, et, *S. aureus*, ou entérocoques (**Tableau 5**) (**Rimondini et al. 2015**), qui sont très probablement transférés vers le dispositif via la peau des patients ou des agents de santé, de l'eau contaminée ou d'autres facteurs environnementaux externes (**Banerjee et al. 2019**).

#### **I.2.1. Infections des voies urinaires (IVU) et cathéters**

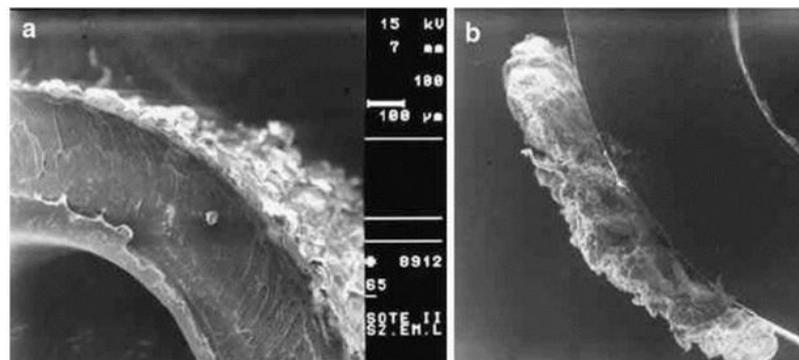
Les cathéters urinaires sont des gadgets cylindriques en latex ou en silicone qui sont utilisés pour quantifier le rendement urinaire et en outre pour recueillir l'urine pendant les procédures médicales, neutralisant le maintien de l'urine et contrôlant l'incontinence urinaire (**Srivastava et al. 2019**).

Les infections urinaires associées aux cathéters sont l'une des infections associées aux soins les plus courantes dans le monde, représentant environ 80% de toutes les infections urinaires nosocomiales, tous les patients étant colonisés par 30 jours. Les conditions environnementales créées sur la surface du cathéter en font un site important pour l'attachement des bactéries et la formation de structures de biofilm (**Delcaru et al. 2016**).

Pour les patients, les dangers associés augmentent d'environ 10% chaque jour après le cathétérisme. Les biofilms peuvent apparaître rapidement sur les surfaces internes et externes des cathéters urinaires (Srivastava *et al.* 2019), (Fig. 12). Dans ce type de DM, les micro-organismes produisant de l'uréase (enzyme qui hydrolyse l'urée en ions ammonium), peuvent provoquer des incrustations, des calculs de vessie infectés et une obstruction urinaire. La progression de ces incrustations bloque finalement la lumière du cathéter. La formation d'ions ammonium augmente le pH de l'urine et la rend de nature alcaline, provoquant finalement la précipitation de cristaux de magnésium et de phosphate de calcium. Une couche de cristaux de phosphate de calcium protège les bactéries des effets antimicrobiens des composés utilisés pour imprégner les cathéters (Tenke *et al.* 2006 ; Delcaru *et al.* 2016 ; Singh *et al.* 2019).

De plus, la formation de biofilm peut même entraîner la capacité accrue des uropathogènes à provoquer une prostatite aiguë et à persister dans la sécrétion de système prostatique, conduisant à des infections urinaires récurrentes caractéristiques de la prostatite bactérienne chronique (Delcaru *et al.* 2016).

Les organismes contaminant ces dispositifs sont *S. epidermis*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* et certaines bactéries à Gram- (Gupta *et al.* 2015).



**Figure 12.** Développement de biofilms sur une sonde urinaire, observés sur microscope électronique (Tenke *et al.* 2006).

### I.2.2. Biofilms et valves cardiaques

Les valves mécaniques ainsi que les bio-prothèses sont utilisées comme valves cardiaques prothétiques. L'implantation de telles prothèses est sensible à la colonisation microbienne et à la formation ultérieure de biofilm (Gupta *et al.* 2015).

L'insertion de valvules cardiaques mécaniques provoque beaucoup de lésions tissulaires, entraînant une accumulation de plaquettes circulantes et de fibrine là où la valvule est fixée, ce qui

montre un grand risque de colonisation de micro-organismes dans ces régions **(Das, 2019)**. Ces micro-organismes peuvent se associés et créer des biofilms sur différents segments de valves cardiaques mécaniques et en outre dans les tissus englobant du cœur, ça provoquent une condition connue sous le nom d'endocardite valvulaire prothétique. **(Srivastava et al. 2019)**.

Les principaux organismes responsables de cet état sont *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus* spp., les entérocoques et les *bacilles* à Gram- **(Das, 2019)**.

### I.2.3. Biofilms et cathéter veineux centraux (CVC)

Les CVC sont utilisés pour le transport de liquide, la médication de nutriments et la surveillance des activités hémodynamiques **(Gupta et al. 2015)**. La formation de biofilm est universelle sur les cathéters veineux centraux, mais l'emplacement et l'étendue de la formation de biofilm dépendent de la durée du cathétérisme. À titre d'exemple, les cathéters à court terme (<10 jours) ont plus de formation de biofilm sur la surface externe, tandis que les cathéters à long terme (30 jours) ont une plus grande formation de biofilm dans la lumière du cathéter **(Jamal et al. 2018)**. Par conséquent, les patients qui nécessitent l'utilisation de tels gadgets pour un accès intraveineux pendant de longues périodes (les patients transplantés de moelle osseuse), peuvent en effet faire face au danger très réel de contamination du système circulatoire. Il a également été remarqué que la colonisation des cathéters et le développement du biofilm dans les cathéters veineux focaux se produisent rapidement **(Srivastava et al. 2019)**.

Les organismes les plus couramment isolés des biofilms de cathéter sont *Klebsella pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*, *Enterococcus faecalis* et la levure *Candida albicans* **(Das, 2019)**.

### I.2.4. Biofilms et prothèses articulaires

Les surfaces des implants orthopédiques sont toutes sensibles à la colonisation par des micro-organismes formant des biofilms, dont la présence a été signalée comme jouant un rôle majeur dans la pathogenèse des infections associées aux implants, telles que l'infection de l'articulation péri-prothétique **(Goswami et Parvisi, 2019)**.

Les taux d'infection en chirurgie orthopédique propre et élective telle que l'arthroplastie du genou varient de 0,39% à 2,5%, tandis que les taux d'infection après fixation interne de fractures à haut risque telles que les fractures tibiales ouvertes peuvent être de 16% ou plus **(Armbruster, 2019)**. En termes de pathogenèse, l'infection de l'articulation péri-prothétique

peut être initiée par propagation hématogène ou par ensemencement direct via une infection sus-jacente, un traumatisme pénétrant ou une contamination lors de l'implantation chirurgicale de la prothèse. Indépendamment de la source d'ensemencement ou de l'espèce microbienne, la progression progressive de l'infection dépend de la formation et de la maturation du biofilm (Goswami et Parvisi, 2019).

L'infection dans l'os et l'articulation implantés est directement liée à la capacité des bactéries à établir des biofilms multicouches hautement structurés sur les surfaces artificielles et les surfaces osseuses nues. En effet, les biomatériaux implantés sont toujours connus pour être particulièrement sensibles à la colonisation microbienne et capable de favoriser l'apparition d'infections. Une fois le biofilm établi, l'infection devient chronique et ne répond plus à l'antibiothérapie systémique conventionnelle (Malizos et Ioannou, 2013).

**Tableau 5.** Micro-organismes qui causent généralement une infection associée au biofilm sur les tissus et dispositifs médicaux à demeure (Khan *et al.* 2014)

Microorganismes	Sites de formation de biofilm	
	Appareils à demeure	Organes
<i>Enterococcus spp.</i>	Prothèse de hanche artificielle, cathéter veineux central, dispositif intra-utérin, prothèse valvulaire cardiaque, cathéter urinaire.	Tractus intestinal.
<i>Staphylocoques Coagulase négative</i>	Prothèse de hanche artificielle, prothèse vocale artificielle, cathéter veineux central, dispositif intra-utérin, prothèse valvulaire cardiaque, cathéter urinaire, lentilles de contact.	Peau, Système respiratoire, gastro-intestinal, muqueuse, oreille moyenne.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Cathéter veineux central, cathéter urinaire.	Abcès hépatique pyogène, Endophtalmie.
<i>Pseudomonas Aeruginosa</i>	Prothèse de hanche artificielle, cathéter veineux central, sonde urinaire, lentilles de contact	Poumons de la fibrose kystique des patients, plaies des brûlures.

### **I.3. Biofilms et infection nosocomial (IN) ou infection liée aux soins**

La présence de biofilms sur des implants médicaux est à l'origine d'infections nosocomiales, souvent difficiles à traiter (**De Chalvet De Rochemonteix, 2009**).

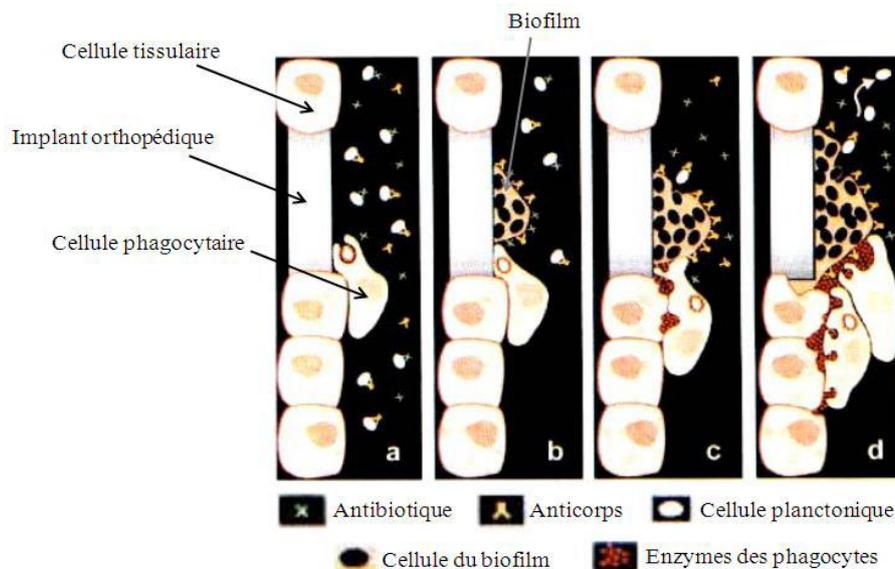
L'IN est une infection acquise dans un établissement de santé ou de soin. Pour être considérée comme acquise dans l'établissement, elle ne doit être ni présente, ni en incubation à l'admission du patient dans l'établissement (**Talon et al. 2015**). Le délai entre l'admission et le début de l'infection doit être de 48 à 72 heures pour les infections bactériennes et selon la période d'incubation il peut être plus long dans les infections virales (**Lachassinne, 2003**).

Tout être humain est porteur d'un grand nombre de microorganismes. Il a en lui plus de bactéries que de cellules. Ces bactéries se trouvent sur la peau, dans le tube digestif, la bouche, les narines, ... etc. Elles lui sont utiles pour vivre. Par exemple, les bactéries présentes dans l'intestin aident à la digestion (**Hippocrate et Nightingale, 2005**).

Les agents pathogènes nosocomiaux majeurs sont les *S. aureus*, *E. coli*, *Acinetobacter baumannii* et *P. aeruginosa*, qui sont associées à des infections liées aux DM, telles que cathéters intravasculaires, cathéters urinaires et implant orthopédique (**Solis-Velazquez et al. 2020**).

### **II. Interaction entre les biofilms et le système immunitaire**

La présence d'un biofilm bactérien stimule la réponse immunitaire et tenue les macrophages sur le site via un mécanisme de relargage d'antigènes. La phagocytose est inefficace sur des bactéries sessiles, mais la libération d'enzymes par les phagocytes endommage les tissus environnants, pouvant provoquer un descellement de la prothèse et une dissémination de l'infection (**Fig. 13**) (**Tasse, 2017**).



**Figure 13.** Mécanismes de résistance des biofilms aux défenses de l'hôte.

Les bactéries planctoniques (**en blanc**) sont tuées par les antibiotiques et les anticorps et phagocytées par les cellules immunitaires (**étape a**). Les bactéries ayant formé un biofilm qui résiste aux antibiotiques et aux mécanismes de défense mais son efficacité est limitée par défaut de pénétration des phagocytes et des anticorps dans la matrice du biofilm (**étape b**). Les phagocytes vont libérer leurs enzymes phagocytaires sur place (**étape c**). Le biofilm mature libère un nombre important de bactéries planctoniques suffisantes pour générer une infection aiguë (**étape d**). Les cellules phagocytaires produisent des enzymes qui dégradent les tissus avoisinants (**Daddi Oubekka, 2012 ; Bezoui, 2016**).

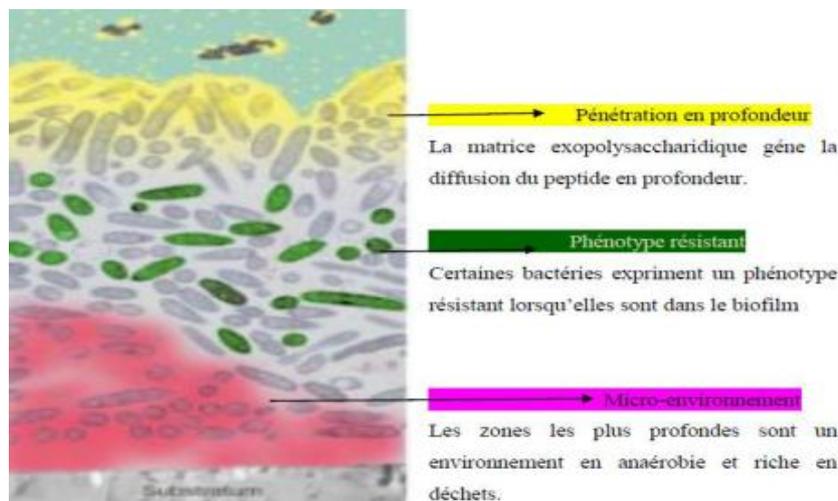
### III. Résistance et tolérance du biofilm aux antibiotiques (ATB)

#### III.1. Résistance des biofilm aux ATB

Lorsque les bactéries se fixent à une surface et se développent en biofilm, ils sont protégés de la destruction par des ATB, des biocides et d'autres produits chimiques ou physiques. Ce phénomène est de plus en plus reconnu comme un facteur important de persistance d'infections variées. En effet, les biofilms peuvent être jusqu'à 1000 fois plus tolérants aux ATB que les cultures planctoniques équivalentes (**Stewar, 2002 ; Percival et al. 2011**).

### III.1.1. Mécanismes de résistances

Les mécanismes de résistance des biofilms aux ATB sont expliqués par trois hypothèses principales. La première hypothèse repose sur une notion de barrière physique qui expliquerait la pénétration lente et incomplète de certains ATB. La seconde hypothèse est liée à l'environnement spécifique du biofilm dont les zones les plus profondes, riches en résidus acides, pauvres en oxygène et en nutriments, pourraient gêner l'action de l'ATB. Enfin, la dernière hypothèse s'appuie sur les modifications phénotypiques observées dans certains biofilms dont les microorganismes constituants pourraient présenter des formes plus résistantes (**Stewart et Costerton, 2001**), (**Fig. 14**).



**Figure 14.** Les trois mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques (**Stewart et Costerton, 2001**).

### III.2. Tolérance des biofilms aux ATB

La tolérance des biofilms aux ATB est donc définie par la capacité d'une sous-population des bactéries du biofilm à survivre en présence de fortes concentrations d'ATB bactéricide. La tolérance des biofilms aux ATB est dite « phénotypique » car elle disparaît en grande partie après la remise en suspension des bactéries du biofilm. Il ne s'agit donc pas de mécanismes de résistance héréditaires d'une bactérie mère à une bactérie fille (**Lebeaux et al. 2014**).

### III.2.1. Mécanismes de tolérance

Plusieurs hypothèses ont été proposées pour expliquer la tolérance des biofilms aux ATB, (Fig. 15).

#### III.2.1. a. Ralentissement de la pénétration des ATB par la matrice extracellulaire

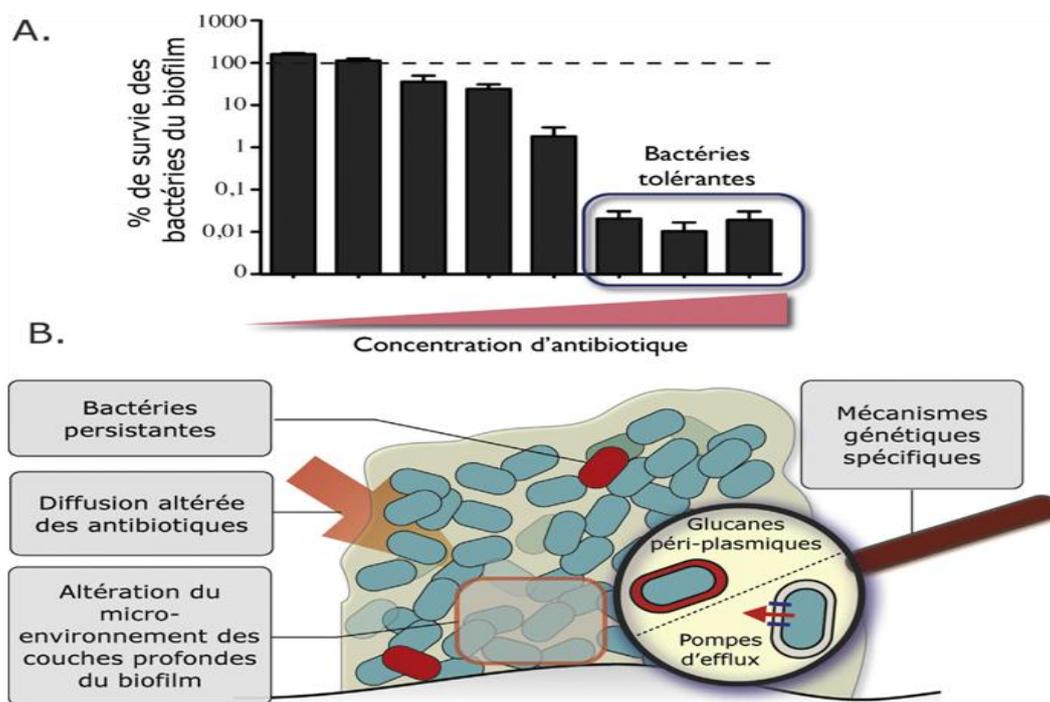
Le ralentissement de la diffusion des ATB au sein de la matrice peut conduire à exposer transitoirement des bactéries à des concentrations sub-inhibitrices d'ATB et donc permettre une adaptation physiologique. Par exemple, il a été démontré que l'exposition à des concentrations sub-inhibitrices d'ATB pouvait favoriser la formation de biofilm, la sélection de mutants résistants ou même la survenue de mutations de résistance (**Lebeaux *et al.* 2014**).

#### III.2.1. b. Ralentissement du rythme de croissance des cellules dans le biofilm

Les bactéries des couches profondes des biofilms sont en situation de carence nutritionnelle conduisant à un ralentissement du métabolisme et de la multiplication microbienne (taux de croissance lent) qui réduirait l'action de certains ATB, inactifs contre les bactéries ne se multipliant pas (**Lebeaux *et al.* 2013**).

#### III.2.1. c. Expression des gènes de résistance dans le biofilm

Les études génétiques montrent qu'en général, le nombre des gènes exprimés dans les biofilms est supérieur à celui des cultures planctoniques. Ces gènes contrôlent plusieurs fonctions encore qui restent mal connues actuellement. Les ATB peuvent exercer une sélection génétique en faveur des cellules les plus résistantes dans le biofilm (**Hajoubi, 2019**).



**Figure 15.** Tolérance des biofilms aux antibiotiques. (A). Un biofilm est traité durant 24 heures avec des concentrations croissantes d'ATB bactéricide X. À partir d'une certaine concentration, le nombre de bactéries survivantes ne diminue plus. Il s'agit des bactéries tolérantes du biofilm. (B). Hypothèses expliquant le phénomène de tolérance du biofilm vis-à-vis des ATB (Lebeaux *et al.* 2014).

### III.2.1. d. Multi-résistance médiée par les pompes à efflux

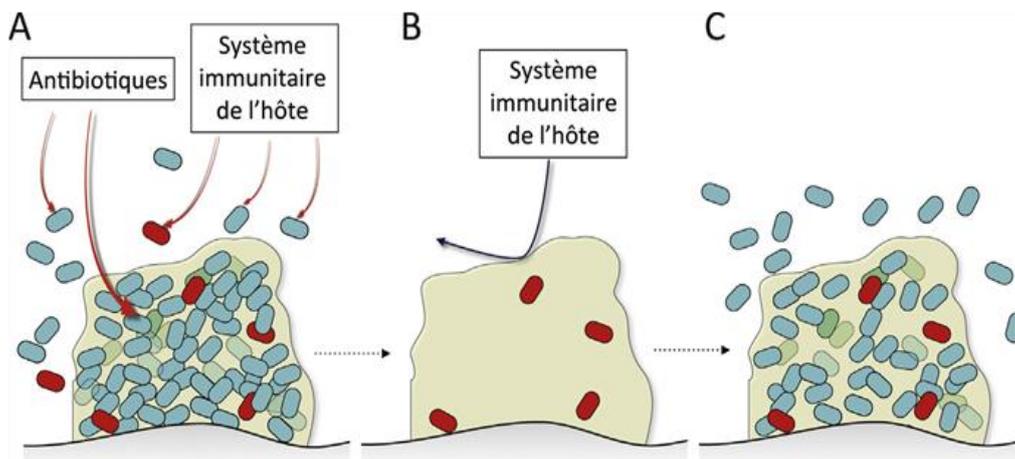
Certaines bactéries lorsqu'elles forment un biofilm, sont capables d'exprimer des gènes responsables des mécanismes de résistance, comme des pompes d'efflux, capables de rejeter les ATB à l'extérieur de la bactérie. Il a aussi été démontré que lorsque la bactérie *P. aeruginosa* forme un biofilm, elle produit des molécules qui s'accumulent entre sa membrane interne et sa membrane externe (glucanes périplasmiques), et entravent l'entrée de certains ATB à l'intérieur de la bactérie (Lebeaux *et al.* 2014).

### III.2.1. e. Cellules persistantes

Un autre mécanisme joue un rôle majeur dans la tolérance du biofilm aux ATB, la présence de bactéries en dormance appelées persistantes (persister cells). Ces cellules au sein du biofilm seraient dans un état de dormance, où leur métabolisme serait considérablement réduit, diminuant de ce fait l'action des antimicrobiens. Ces cellules persistantes ne sont pas

des mutants et ont la capacité de rétablir la population avec les mêmes caractéristiques que les cellules originales à la suite du traitement (**Lebeaux et Ghigo, 2012 ; Hajoubi, 2019**).

Le modèle actuellement proposé pour expliquer la tolérance des biofilms aux ATB repose dans une large mesure sur l'existence de ces bactéries persistantes, (**Fig. 16**).



**Figure 16.** Modèle actuellement proposé pour expliquer la tolérance des biofilms aux antibiotiques. (A et B). S'ils diffusent au travers de la matrice, les ATB vont éradiquer les bactéries non persistantes planctoniques et celles du biofilm. Le système immunitaire de l'hôte est capable d'éradiquer les bactéries persistantes (en rouge) en phase planctonique mais n'atteindra pas les bactéries persistantes au sein de la matrice extracellulaire. (C). À l'arrêt des ATB, les bactéries persistantes reprennent une croissance, recolonisent le biofilm et causent une récurrence de l'infection (**Lebeaux *et al.* 2014 ; Hajoubi, 2019**).

### III.2.1.f. Comportement multicellulaire

Le comportement multicellulaire permet aux cellules au sein du biofilm d'utiliser efficacement les ressources pour la croissance cellulaire et de fournir une défense collective contre le système immunitaire de l'hôte et les antimicrobiens. Cependant, des recherches approfondies sont nécessaires pour étudier les interactions entre levures et bactéries dans le cadre de la résistance collective vis-à-vis des antimicrobiens (**Hajoubi, 2019**).



*Chapitre III*  
*Biofilms*  
*de Pseudomonas*  
*aeruginosa*

## I. *Pseudomonas aeruginosa*

### I.1. Classification-Taxonomie

*P. aeruginosa* est une espèce-type du genre de *Pseudomonas* appartient à la famille des Pseudomonadaceae ou Pseudomonades. Cette famille renferme 10 genres dont le genre *Pseudomonas*, regroupe 141 espèces dont l'espèce *aeruginosa*, ayant 12 autres membres en son groupe. La classification de *P. aeruginosa* a été basée sur l'étude de leurs caractères phénotypiques (morphologiques, biochimiques...) et sur leur caractères génotypiques. Seule la composition en G+C % et qui est égale à 67 fût rajouté comme caractéristique génétique. (Moore *et al.* 2006 ; Nadji et Mizou, 2015 ; Saffiedine, 2019 ; Brindhadevi *et al.* 2020).

Tableau 6. Taxonomie de *P. aeruginosa* (Bourahla et Haddache, 2016)

Règne	Bacteria
Embranchement	Prokaryota
Division	Proteobacteria
Classe	Gammaproteobacteria
Ordre	Pseudomonadales
Famille	Pseudomonadaceae
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Aeruginosa</i>

### I.2. Caractères bactériologiques

#### I.2.1. Caractères morphologiques

*P. aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif en forme bâtonnet, généralement de 1 à 3 µm de longueur. Le corps est généralement un exercice strictement aérobie, mobile grâce à la présence d'un flagelle monotriche polaire, non capsulés, non sporulant de forme droite ou légèrement courbée (Paterson et Kim, 2009 ; Garnacho-Montero, 2012 ; Elmeskini, 2011), (Fig. 17).

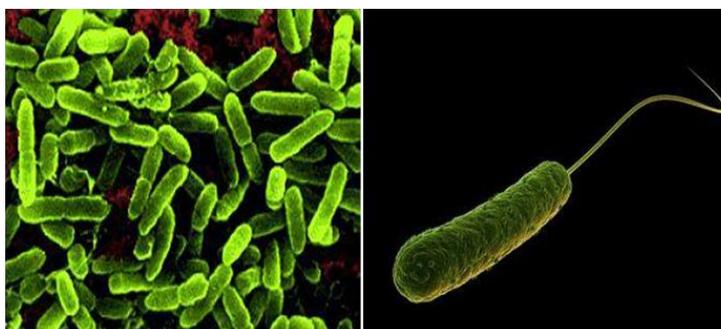


Figure 17. Forme cellulaire et ciliature de *Pseudomonas aeruginosa* vue au microscope électronique (Elmeskini, 2011 ; Nadji et Mizou, 2015).

### I.2.2. Caractères culturels

*P. aeruginosa* cultive facilement sur milieux ordinaires en développant une odeur de seringa. Croissant sur des milieux synthétiques simples, elle pousse facilement en 24 heures à 37°C. Elle peut croître entre 5 et 42°C avec un optimum de 30°C. Par contre, elle supporte de moindres variations de pH (6.5 à 7.5) avec un pH optimal de 7.2. Certaines souches peuvent présenter des caractères différents, leurs colonies sont non pigmentées ou colorées en brun ou en rouge (dû à la production de la pyomélanine ou pyorubrine) ; certaines souches se caractérisent par leurs aspects mucoïde (souches isolées dans certaines pathologies chroniques comme mucoviscidose). D'autres souches peuvent apparaître sous forme de colonies naines et sont plus difficiles à cultiver (**Darghout et Metheni, 2016 ; Mebarki, 2016 ; Traore, 2019**).

À partir de prélèvements polymicrobiens, il est nécessaire d'avoir recours à un milieu sélectif contenant du cétrimide (ammonium quaternaire) associé ou non à de l'acide nalidixique (**Traore, 2019**).

### I.2.3. Caractères biochimiques

*P. aeruginosa* appartient au groupe des non fermentant, possédant une oxydase, une nitrate-réductase (réduction des nitrates pouvant aller jusqu'au stade de N gazeux), et une arginine-dihydrolase (ADH). Cultivant sur des milieux ordinaires et possédant un métabolisme respiratoire strict (utilisation de l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons). Ces bacilles à métabolisme oxydatif ne fermentent pas les sucres en anaérobiose et sont qualifiées de « non fermentant » ou « non fermentaire » (**Mercado-Blanco, 2015 ; Darghout et Metheni, 2016 ; Solbi, 2013**). Il dégage une odeur aromatique caractéristique de seringa due à la production d'ortho amino-acétophénone, intermédiaire du métabolisme du tryptophane et non liée à la production de pigment (fluorescent ou non) qui servent à son identification. Ils peuvent être mis en évidence dans le milieu de King B et King A. Pyoverdine (pigment jaune-vert fluorescent, soluble dans l'eau, insoluble dans le chloroforme), Pyocyanine (phénazinique) (pigment bleu-vert non fluorescent soluble dans l'eau et le chloroforme. Cette espèce est la seule à le produire) (**Solbi, 2013, Darghout et Metheni, 2016**).

#### I.2.4. Habitat

*P. aeruginosa* est une bactérie ubiquitaire, que l'on trouve dans une grande variété d'habitats, y compris le corps humain, le sol, l'eau (douce et marine), les environnements contaminés par l'huile, les environnements hospitaliers et les éviers et drains. De plus, *P. aeruginosa* colonise les surfaces animées des animaux et plantes, ainsi que sur les fruits, légumes et fleurs et en particulier dans les environnements humides (**Michel-Briand et Baysse, 2002 ; Paterson et Kim, 2009 ; Wiehlmann et al. 2015 ; Crone et al. 2019**).

## II. Biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*

### II.1. Cycle de vie

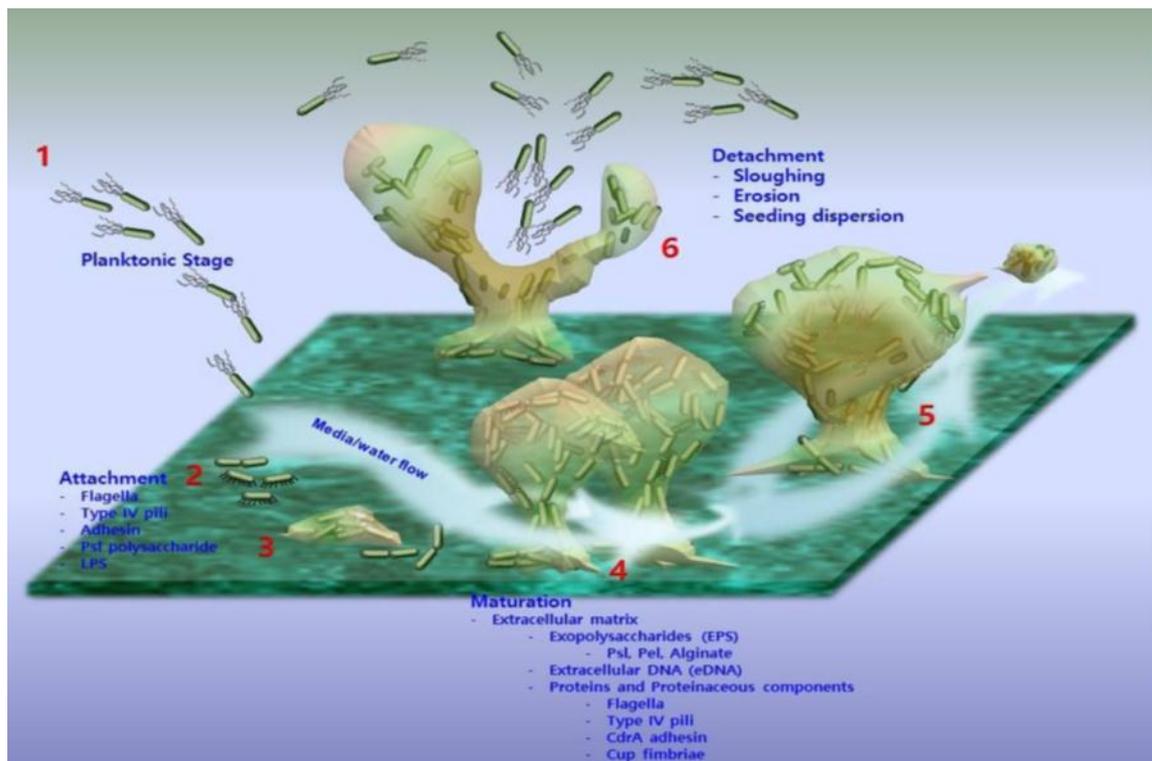
*P. aeruginosa* est une bactérie omniprésente capable de former des biofilms problématiques dans de nombreux environnements (surfaces vivantes et non vivantes), ce qui entraîne souvent des conséquences indésirables (**Jia et al. 2017 ; Kim et al. 2017**). Le cycle de vie du biofilm de *P. aeruginosa* peut être subdivisé en trois étapes phénotypiques majeures (**Fig. 18**).

Le processus commence par l'attachement des bactéries planctoniques sur une surface propice à la croissance, une variété de composants y compris, les flagelles, les pili de type IV, Cup-fimbria, l'ADN extracellulaire (ADNe) et le polysaccharide (Psl) jouent un rôle dans l'attachement de *P. aeruginosa* aux surfaces (**Harmsen et al. 2010 ; Lee et al. 2017**).

Après la fixation de *P. aeruginosa* à la surface, ils commencent l'étape de maturation qui subit une série de changements pour s'adapter au nouveau mode de vie. Au fur et à mesure que *P. aeruginosa* se développe et se forme des microcolonies, ils commencent à produire des ECM (composants de la matrice extracellulaire) et à construire des structures et canaux d'eau, comme le biofilm mûrit, les bactéries subissent des changements physiologiques et deviennent beaucoup plus résistants aux sollicitations environnementales ou antibiotiques. Ce développement de biofilm et la maturation sont étroitement liés à un système de signalisation appelé détection de quorum (**Rasamiravaka et al. 2015 ; Lee et al. 2017**).

Enfin, les bactéries se dispersent à partir de la structure sessile et rentrent à l'état planctonique pour se propager et coloniser d'autres surfaces (**Lee et al. 2017**).

Le diagramme qui suit présente : (1) le stade planctonique, (2) l'attachement des bactéries à une surface, (3) la production de la matrice extracellulaire, (4) la maturation des structures du biofilm, (5) la différenciation spatiale et (6) la dispersion du biofilm.



**Figure 18.** Représentation schématique des stades de développement du biofilm de *P. aeruginosa* (Lee *et al.* 2017).

## II.2. Systèmes de régulation

La régulation complexe de la formation du biofilm implique de multiples machines bactériennes, y compris les systèmes du *quorum sensing* (QS) et des systèmes de réglementation à deux composants qui interagissent tous les deux principalement avec production d'EPS (exopolysaccharide). Défaut de la régulation du réseau nécessaire pour la formation de la matrice de biofilm, résultats efficaces dans la modification de la structure et de l'architecture du biofilm et, par conséquent, de son rôle protecteur dans la régulation de la formation de biofilm par *P. aeruginosa* (Rasamiravaka *et al.* 2015).

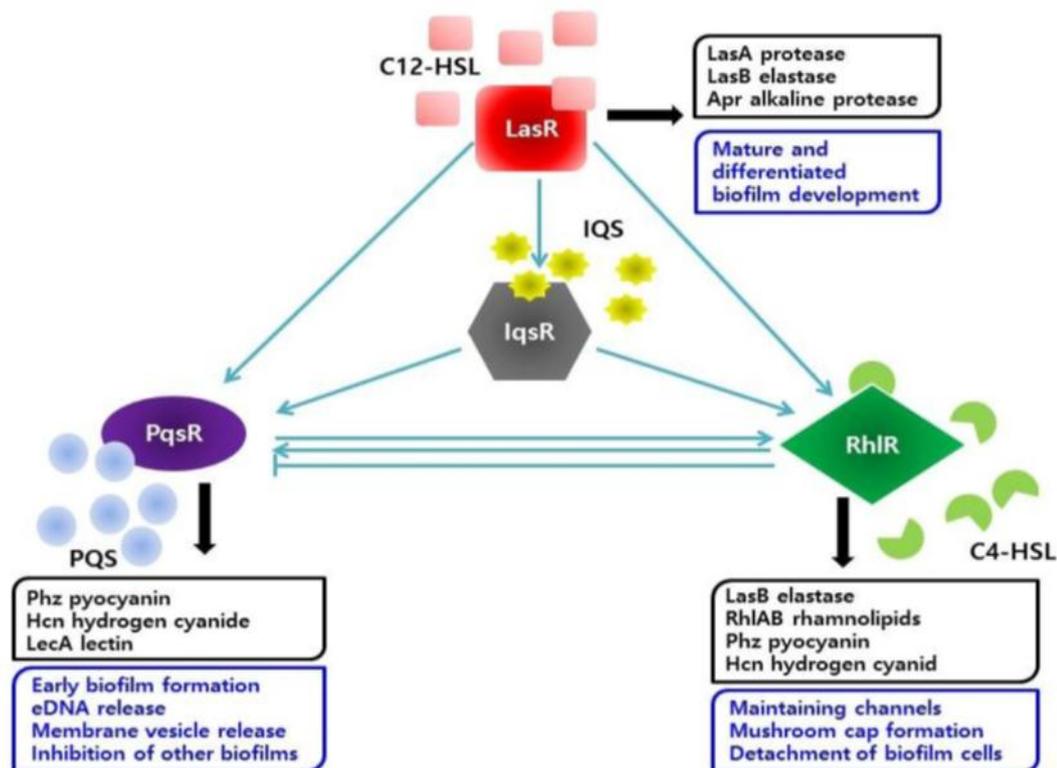
### II.2.1. Mécanisme de *quorum sensing* (QS)

Le QS joue évidemment un rôle important dans la régulation de la virulence et des gènes liés au biofilm chez *P. aeruginosa* (Fig. 19), à la fois dans son environnement naturel et dans les infections persistantes (Fazli *et al.* 2014). *P. aeruginosa* possède deux principaux systèmes QS identifiés, (las et rhl). Le système las se compose du régulateur transcriptionnel la protéine LasR et sa molécule de signalisation apparentée, la N- (3-oxododécanoyl)

homosérine lactone (3O-C12-HSL), dont la production est dirigée par l'auto-inducteur synthase codée par lasI. Le système rhl se compose de la protéine RhlR et d'un auto-inducteur synthase (RhlI), qui est impliquée dans la production de l'auto-inducteur N-butrylhomosérine lactone (C4-HSL) (Wagner *et al.* 2003 ; De Kievit, 2009 ; Rasamiravaka *et al.* 2015).

Le système Las QS s'est avéré essentiel pour la création de biofilms matures et différenciés. Cependant, le régulateur QS LasR peut se lier à la région promotrice de l'opéron psl. Le système rhl a été signalé comme intervenant dans la formation du biofilm de *P. aeruginosa* en améliorant la biosynthèse du polysaccharide. *P. aeruginosa* produit une troisième molécule de signalisation, la 2-heptyl-3-hydroxy-4 (1H) -quinolone, appelée *Pseudomonas* Quinolone Signal (PQS) interagit avec les acylhomosérine lactones (AHL), systèmes de manière complexe (De Kievit, 2009 ; Rasamiravaka *et al.* 2015).

L'ensemble de ces données indiquent que les trois systèmes QS connus dans *P. aeruginosa* jouent des rôles dans le cycle de vie des biofilms (Rasamiravaka *et al.* 2015).



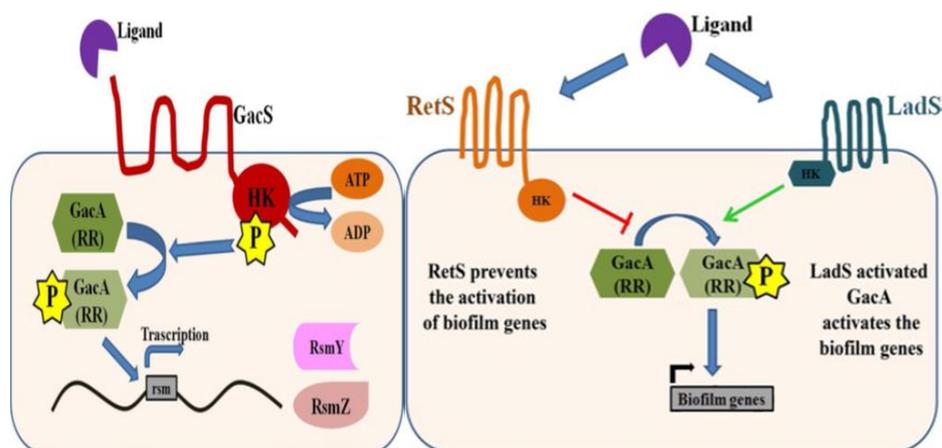
**Figure 19.** Interactions entre les systèmes de détection de quorum de *P. aeruginosa*  
 Les flèches bleues représentent un effet d'activation. La ligne perpendiculaire bleue représente un effet inhibiteur. Les flèches noires représentent le facteur de virulence sorties (**boîte noire**) et fonctions dans le développement de biofilm (**boîte bleue**) (Lee *et al.* 2017).

### II.2.2. Régulation par systèmes de deux composants GacS / GacA et RetS / LadS

Le système de deux composants GacS / GacA agit comme un super-régulateur du système QS et impliqué dans la production de virulence de multiple facteurs ainsi que dans la formation de biofilm. L'expression des gènes *pel* et *psl* pour la production d'exopolysaccharides, chez *P.aeruginosa* peut être réglementé ces système. L'un des mécanismes implique deux histidines kinases, RetS et LadS qui agissent de manière opposée sur le système à deux composants GacA / GacS (Shin, 2012 ; Rasamiravaka *et al.* 2015), (Fig. 20).

Le système GacA / GacS contrôle ensuite la transcription de deux petits ARN régulateurs (ARNs), *rsmY* et *rsmZ*, conduisant à la diminution ou à l'augmentation de la traduction de l'opéron *pel* ou *psl*, et sont stimulés, suivis du titrage en protéine RsmA, qui supprime finalement l'expression des gènes liés au biofilm et réprime la production de facteurs liés à la virulence. La cascade de signalisation en marche via RetS, fonctionnant de manière opposée à celle de GacS et LadS, génère plus RsmA libre, entraînant l'activation du T3SS et la répression du biofilm (Wei et Ma, 2013).

Il est intéressant de noter que GacS / GacA et RetS / LadS sont proposés pour être impliqués dans la médiation de la transition du phénotype et dans la phase d'infection d'une maladie aiguë à chronique de *P. aeruginosa* (Rasamiravaka *et al.* 2015).



**Figure 20.** Système de signalisation à deux composants GacS / GacA et RetS et LadS de *Pseudomonas aeruginosa* pour la formation de biofilm (Gupta *et al.* 2016).

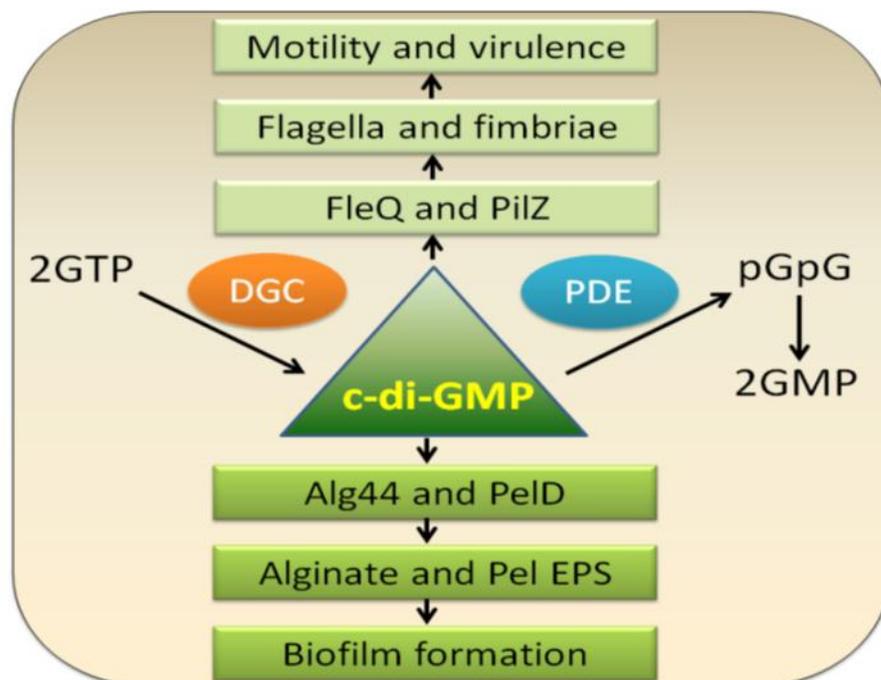
Dans le système GacS / GacA, en réponse au signal extracellulaire, GacS est activé qui en transforme les phosphorylates et active GacA. L'activation de GacA induit l'expression de gènes *rsm* qui codent pour RsmY et RsmZ qui contrôlent la transition entre les formes planctoniques et sédentaires de *Pseudomonas aeruginosa*.

Dans le système de signalisation RetS et LadS, RetS supprime les gènes nécessaires pour la formation de biofilm où le LadS active les gènes qui aide à la formation de biofilm.

### II.2.3. Régulation via la signalisation c - di - GMP

Les recherches actuelles indiquent que le messager secondaire cyclique diguanosine-5'-monophosphate (c-di-GMP) est un régulateur clé général du cycle de vie du biofilm bactérien (**Fig. 21**). L'acide diguanylique cyclique (c-di-GMP) est synthétisé par la diguanylate-cyclase (DGC) et dégradée par la phospho-diesterase A (PDEA). Le système de base était en fait découvert dans les années 1980 grâce aux travaux de Benzimen et collègues, qui ont constaté que la c-di-GMP était un activateur allostérique positif de la cellulose synthase (enzyme utilisée par *Gluconacetobacter xylinus* pour produire un matrice extracellulaire de cellulose) (**Fazli et al. 2014 ; Cotter et Stibitz, 2007**).

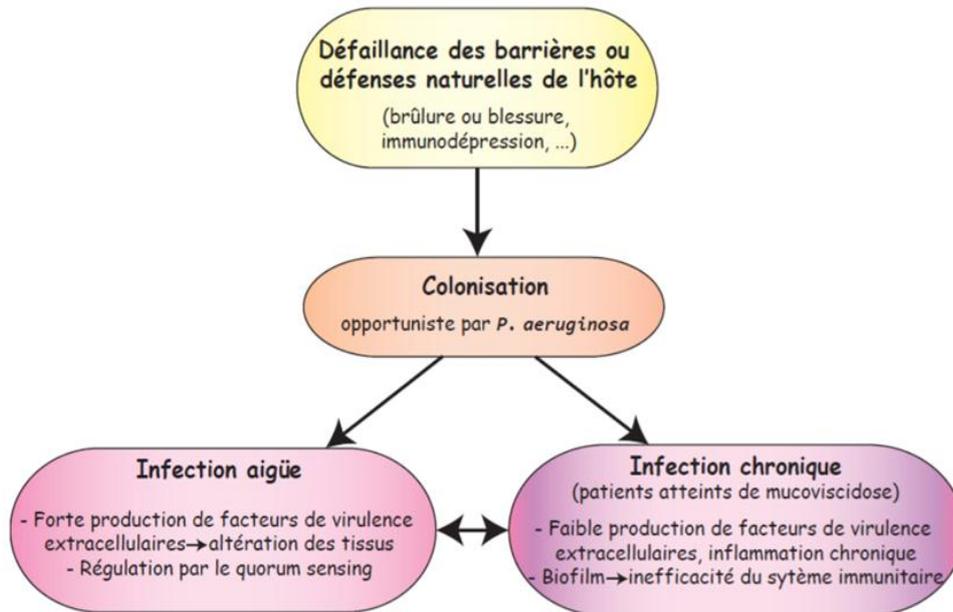
En fait, le c-di-GMP a été impliqué dans de nombreuses fonctions cellulaires y compris la régulation du cycle cellulaire, la différenciation, la formation et la dispersion de biofilm, la motilité et la virulence (**Ha et O'Toole, 2015**). En général, des niveaux internes élevés de c-di-GMP induisent la production d'adhésines et de composants de matrice extracellulaire (alginate et Pel) qui permettent aux bactéries de former des biofilms, tandis que de faibles niveaux de c-di-GMP favorisent la motilité en augmentant la formation flagellaire et conduisent les bactéries du biofilm dans la dispersion pour entreprendre un mode de croissance planctonique (**Fazli et al. 2014 ; Rasamiravaka et al. 2015**).



**Figure 21.** Présentation schématique des fonctions physiologiques de la c-di-GMP (Wei et Ma, 2013).

### II.3. Les infections liées aux biofilms de *P. aeruginosa*

*P. aeruginosa* est une pathogène opportuniste capable d'infecter une multitude d'hôtes comme les nématodes, les insectes, l'homme et même les plantes, Il joue un rôle dominant en tant que représentant causal d'infections aiguës lourdes et chroniques (Perdu, 2013) (Fig. 22).



**Figure 22.** Principales étapes de l'attaque d'un hôte par *P. aeruginosa* (Perdu, 2013).

Chez l'homme, elle occupe la troisième place, tous sites confondus, dans la survenue d'infections nosocomiales chez les patients immunodéprimés après *E. coli* et *S. aureus*. Parmi les affections les plus courantes, on peut citer l'infection pulmonaire chez les patients atteints de fibrose, Il provoque également une colonisation chronique des voies respiratoires des patients souffrant de bronchiectasie, maladie broncho-pulmonaire obstructive chronique ou fibrose kystique, les infections du tractus urinaire chez les malades sondés, les infections ostéo-articulaires sur matériel, les infections cutanées secondaires à des brûlures, des plaies ou bien encore les septicémies. De plus, *P. aeruginosa* est directement responsable du taux de mortalité élevé et précoce chez les patients atteints de mucoviscidose (Filloux et Vallet, 2003 ; Mesaros *et al.* 2007 ; Lahlou *et al.* 2008 ; Fuentesfria, 2011). Les principales pathologies causées par *P. aeruginosa* sont résumées dans le Tableau 7.

**Tableau 7.** Principales pathologies causées par *Pseudomonas aeruginosa*, classées selon le site d'infection (Mesaros *et al.* 2007)

Site d'infection	Pathologie spécifique	Fréquence (dans une population à risque)
<b>Tractus respiratoire</b>	Pneumonie aiguë ; Infections chroniques de l'arbre ; bronchique	Fréquent (hôpital, soins intensifs), Mucoviscidose
<b>Sang</b>	Bactériémie et septicémie	Fréquent
<b>Tractus urinaire</b>	Infections aiguës ; Infection chroniques	Relativement fréquent (complication suite à la présence de corps étrangers)
<b>Oreille</b>	Otite externe ; Otite externe maligne ; Otite moyenne chronique Suppurative	Fréquent
<b>Peau et tissus mous</b>	Dermatite ; Infections de plaies, Folliculite acné vulgaire résistant	Relativement fréquent (Traumatismes)
<b>Œil</b>	Kératite (ulcère cornéen) ; Enophtalmie	Rare (traumatisme)
<b>Système nerveux Central</b>	Méningite, Abscès cérébral	Rare (secondaire à une neurochirurgie ou à un Traumatisme)
<b>Tractus gastro-intestinal</b>	Entérocolite nécrosante	Tractus gastro-intestinal
<b>Cœur</b>	Endocardite	(Abus de drogues intraveineuses)
<b>Os et articulations</b>	Pyoarthrose sténo-articulaire ; Ostéomyélite vertébrale ; Ostéochondrite du pied ; Ostéomyélite	Rare

## II.4. Résistances aux antibiotiques (ATB)

*P. aeruginosa* est réputé pour sa résistance aux ATB qui pose de sérieux problèmes thérapeutiques et favorise sa dissémination en milieu hospitalier, de par la faible perméabilité de son enveloppe cellulaire mais également par la présence de nombreuses pompes d'efflux, qui rejettent hors de la cellule les drogues qui y pénètrent en faible quantité (Traore, 2019 ; Filloux et Vallet, 2003).

### II.4.1. Résistance naturelle

*P. aeruginosa* possède une résistance naturelle à de nombreux ATB, restreignant les possibilités thérapeutiques à un nombre limité d'agents antimicrobiens, les ATB

habituellement actifs sur *P. aeruginosa* appartiennent à plusieurs familles : les  $\beta$ -lactamines (Production d'une céphalosporinase chromosomique inductible du gène AmpC ; responsable de la résistance à l'amoxicilline, céfalotine, céfoxitine, ceftriaxone, céfotaxime et ertapénème), les aminosides (via la production d'une phosphotransférase), les fluoroquinolones (surtout ciprofloxacine et lévofloxacine), les polymyxines (colimycine) et la fosfomycine. La faible perméabilité de la membrane externe de *P. aeruginosa* lui confère une résistance naturelle à de nombreux ATB dont la plupart des  $\beta$ -lactamines hydrophile (**Patel, 2003 ; Mérens *et al.* 2013 ; Mulcahy *et al.* 2014**).

### II.4.2. Résistances acquises

En plus de ces résistances naturelles, les résistances acquises sont très fréquent pour les ATB anti-pyocyaniques. Les mécanismes de résistances liés à des mutations chromosomiques ou à l'acquisition de gènes de résistance exogènes, sont variés. Elles ne concernent que quelques souches d'une même espèce mais peuvent s'étendre ; leur fréquence varie dans le temps mais aussi dans l'espace ; région, ville, hôpital ou même service. Elles constituent un marqueur épidémiologique. Cette résistance plus importante dans les sites respiratoires et urinaires et peuvent s'expliquer par la fréquence et l'importance des colonisations à *P. aeruginosa* sur les sondes urinaires ou dans le tractus respiratoire et la pression d'ATB exercée chez ces patients avec les familles d'ATB les plus utilisés dans ces localisations spécifiques (**Mérens *et al.* 2013; Elmeskini, 2011; Traore, 2019**).



*Chapitre IV*

*Stratégies de lutte  
contre les biofilms  
bactériens*

En raison des dommages causés par les biofilms dans les environnements médicaux et industriels, il a un impact économique majeur et est en augmentation à l'heure actuelle. La plupart des outils de diagnostic et des traitements disponibles ont été développés pour leur efficacité sur des bactéries en phase de croissance planctonique. Il s'agit généralement de mesures préventives. La lutte contre les biofilms peut se définir selon deux axes principaux : empêcher la formation de biofilms, et les détruire lorsqu'ils sont déjà présents (**Lebeaux et Ghigo, 2012 ; Olivares, 2017**).

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.

### **I. Les mesures préventives**

Une fois établies, les infections associées aux biofilms sont difficiles à traiter. Par conséquent, il est essentiel de développer des moyens efficaces et durables pour empêcher le développement et la formation de biofilms, c'est pourquoi la prévention est le centre de traitement privilégié. Certains principes de base sont nécessaires pour éviter d'endommager les matériaux associés aux biofilms. Ceci est montré ci-dessous :

#### **I.1. Hygiène**

L'hygiène hospitalière est une pratique courante dans le secteur de la santé, car elle aide à protéger les patients des environnements hostiles chargés de germes et de bactéries formant des biofilms. L'application des mesures d'hygiène les plus extrêmes en cours de fonctionnement pas spécifiquement une mesure d'un antibiotique. Par conséquent, les mains doivent rester propres et la plupart des ustensiles utilisés peuvent être jetés et stérilisés lorsque cela est possible, ou sinon, des normes de décontamination strictes sont appliquées, ce qui représente un impact économique significatif. L'expérience originale était faite de cuivre ou sel de cuivre, un minéral connu pour ses propriétés antibactériennes (**Jouenne, 2008 ; Gaunand et Matt, 2012 ; Ribeiro pinto et al. 2015**).

#### **I.2. Matériel imprégné d'antibactériens**

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. Cathéters centraux imprégnés (rifampicine / minocycline ou chlorhexidine) en cas de

persistance d'une incidence élevée d'infection malgré la mise en place de mesures préventives strictes. Des implants orthopédiques imprégnés sont également en cours d'évaluation. **(Hetrick et Schoenfisch, 2006 ; Lebeaux et Ghigo, 2012).**

### **I.3.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 leur surface. Compte tenu de la nature hydrophobe des surfaces microbiennes, la prévention de l'adhésion bactérienne peut être obtenue en enduisant la surface de l'appareil avec du polymère. Pour éviter la croissance de déjà adhérent et / ou colonisation de microorganismes, les efforts de recherche ont focalisé au cours des deux dernières décennies sur l'adsorption de surface ou imprégnation en vrac du matériau avec un ou deux anti-agents microbiens. Le défaut principal de cette approche est sa durée d'action limitée qui restreint son intérêt aux dispositifs de courte durée ou à la prévention des colonisations peropératoires ou postopératoires précoces **(Francolini et Donelli, 2010 ; Hajoubi, 2019).**

### **I.4. Verrous d'antibiotiques ou d'éthanol préventifs et d'agents chélateurs**

Pour les porteurs de cathéters de longue durée ayant présenté de multiples complications infectieuses, il est préconisé l'utilisation de verrous préventifs afin de limiter l'adhérence bactérienne. L'utilisation de verrous d'antibiotiques ou d'éthanol repose alors sur l'injection et le maintien d'un volume restreint d'antibiotiques concentrés (ou d'éthanol), entre 12 et 24h, dans la lumière d'un cathéter **(O'Grady *et al.* 2011 ; Lebeaux et Ghigo, 2012).**

Ainsi que, les cations métalliques (comme le magnésium, le calcium ou le fer), qui sont des éléments essentiels à la croissance des bactéries et au maintien de la stabilité de la matrice extracellulaire du biofilm, se révèle être des cibles potentielles pour la mise en place de traitements préventifs contre les biofilms. Il a en effet été proposé dans ce sens d'avoir recours à des verrous composés de chélateurs de ces métaux (EDTA, citrate, lactoferrine) afin d'inhiber la croissance des bactéries, prévenir leur adhésion voire même participer à la destruction d'un biofilm mature, si le chélateur est combiné à une molécule antimicrobienne **(Banin *et al.* 2006 ; Olivares, 2017 ; Hajoubi, 2019).**

## II. Traitements curatifs contre les biofilms déjà formés

### II.1. Élimination mécanique du biofilm

Le nettoyage mécanique reste l'une des méthodes les plus efficaces pour lutter contre les biofilms. En raison de l'énorme force de cisaillement qu'il génère, il élimine les micro-organismes en les séparant de son support. Cela s'applique aux biofilms qui existent sur une variété de supports : peau, plaque dentaire, implants médicaux, bâtiments et coques de navires **(Bezoui, 2016)**.

Nettoyez avant la désinfection. Le but de ce dernier est d'éliminer les bactéries du biofilm, qui ne peuvent être éliminées par un nettoyage préalable. Toutes les molécules n'ont pas la même efficacité. L'utilisation de la chlorhexidine comme conservateur n'est pas efficace pour réduire le nombre d'infections causées par des bactéries à Gram négatif, et des individus résistants à plusieurs agents antibactériens ont été sélectionnés. La plupart des antiseptiques et désinfectants ont du mal à pénétrer dans le biofilm et les bactéries des biofilms sont résistantes à leur action. Cette méthode n'est pas très efficace **(De Chalvet, 2009)**.

### II.2. Antibiothérapie

Les biofilms se caractérisent par une résistance élevée aux médicaments. Par conséquent, de nombreuses recherches sont actuellement en cours pour trouver un moyen de lutter contre cette résistance aux antibiotiques produite par les biofilms. Une hypothèse est que la dose d'antibiotiques administrée n'est pas suffisante pour éliminer les biofilms, et certains chercheurs explorent à déterminer la concentration d'antibiotiques nécessaire pour éliminer les biofilms **(Bezoui, 2016)**.

Des études *in vitro*, et cliniques ont tenté d'identifier des associations d'antibiotiques plus efficaces contre les biofilms. L'usage d'une bithérapie pour cibler des bactéries dans des états métaboliques différents a également été suggéré chez *P. aeruginosa*. En plus de l'intérêt prouvé ou potentiel des multi-thérapies, il est souvent nécessaire de prolonger la durée d'antibiothérapie à dose élevée comme illustré dans le cas de l'endocardite infectieuse **(Lebeaux et Ghigo, 2012)**.

### II.3. L'ablation du dispositif

Dans le cadre d'une infection à un matériel implanté, l'élimination de ce dernier est souvent recommandée, car son entretien entraînera un risque élevé d'échec thérapeutique. Cette décision peut être problématique utilisé dans certains appareils (stimulateurs cardiaques,

prothèses Orthopédique) impact sur les patients et coûts lié à la fixation à long terme et à l'installation d'un deuxième équipement après un traitement antibiotique (**Lebeaux et Ghigo, 2012**).

### III. Nouvelles approches anti-biofilms

#### III.1. Inhiber l'adhésion initiale

Le but de cette méthode est de prévenir la formation de biofilm et les infections associées. Parmi les différentes stratégies développées récemment pour réduire l'adhérence bactérienne, on peut noter les stratégies d'inhibition d'adhérence non spécifiques et les stratégies qui ciblent les d'adhésine spécifiques.

##### III.1.1. L'inhibition non spécifique

L'inhibition non spécifique des micro-organismes implique généralement de modifier les propriétés de la surface à l'aide de polymères. La recherche s'est également concentrée sur la limitation du polymère qui régule la formation du film, ce dernier étant à l'origine de l'adhésion microbienne. De plus, la recherche sur les polymères multifonctionnels se développe également, ces polymères possèdent diverses propriétés complémentaires, telles que l'inhibition de l'adhésion, l'expression des propriétés antibiotiques, et la promotion de l'intégration par les tissus hôtes (**Beloin *et al.* 2014 ; Dupin, 2017**).

##### III.1.2. L'inhibition spécifique

D'autre part, l'inhibition spécifique réside dans le ciblage spécifique des mécanismes utilisés, dans la formation du biofilm, comme l'adhésine qui est impliquée dans l'adhésion irréversible. Un certain nombre d'inhibiteurs compétitifs des pili de type 1 (en particulier des sous-unités FimH) peuvent prévenir chez la souris lors de l'utilisation de cathéters urinaires, des infections du tractus urinaire par des souches uropathogènes d'*E. coli*. D'autres approches étudient également l'inhibition de synthèse de ces pili. Cependant l'inhibition spécifique est compliquée face à la pluralité des structures impliquées durant le processus d'adhérence, et l'hypothèse de développer une molécule anti-adhérence universelle semble faible (**Beloin *et al.* 2014 ; Dupin, 2017**).

### III.2. Brouiller les communications et limiter la maturation du biofilm

Les infections liées au biofilm peuvent également être réduites en empêchant le processus de maturation du biofilm, en interférant avec les signaux de communication au sein ou entre les bactéries. Des études ont montré certaines stratégies qui empêchent ou perturbent la maturation des biofilms. Elles devraient également inclure un traitement antimicrobien à utiliser *in vivo* pour éviter la libération d'une grande quantité de bactéries des biofilms dans la circulation sanguine (**Hentzer et Givskov, 2003 ; Beloin et al. 2016**). Par exemple, chez les patients atteints de mucoviscidose, un antibiotique-azithromycine-inhibe le signal de détection de *quorum sensing* chez *P. aeruginosa* et réduit le risque d'infections respiratoires. Ajouter L'analyse a révélé que les extrait (comme gingembre) provoquaient une diminution dans la substance polymère extracellulaire, une augmentation mobilisation et diminution des niveaux cellulaires c-di-GMP. Il a montré l'activité anti-biofilm à large spectre (chez *S. aureus* et *E. coli*) (**Hentzer et Givskov, 2003 ; Landini et al. 2010 ; Rabin et al. 2015 ; Beloin et al. 2016**). En plus de leur toxicité réelle ou potentielle, une limitation de ces approches est qu'elles ont un spectre d'action étroit car elles ne ciblent qu'un petit nombre d'espèces bactériennes. Il a également été montré que certaines bactéries (comme *P. aeruginosa*) étaient capables de freiner cette approche en sélectionnant des clones plus virulents (**Köhler et al. 2010**).

### III.3. Lutter contre la tolérance des biofilms aux antibiotiques

#### III.3.1. Favoriser la dispersion

L'objectif de cette approche est de libérer les bactéries du biofilm afin de les rendre planctoniques et qu'elles redeviennent ainsi sensibles aux antibiotiques et au système immunitaire. Il existe certaines enzymes, ont la capacité de favoriser la dispersion des biofilms en dégradant des composants majeurs de la matrice extracellulaire telles que : le polysaccharide lyases et DNases capables de perturber les exopolysaccharides, de même la dispersine B, une glycoside hydrolase fonctionne en clivant des polymères de le poly N acétyl glucosamine (PNAG) (fréquemment retrouvé chez *E. coli*, *S. aureus* et *S. epidermidis*) ou la DNase I, cibler l'ADN extracellulaire (ADNe) (**Beloin et al. 2014 ; Roy et al. 2017**).

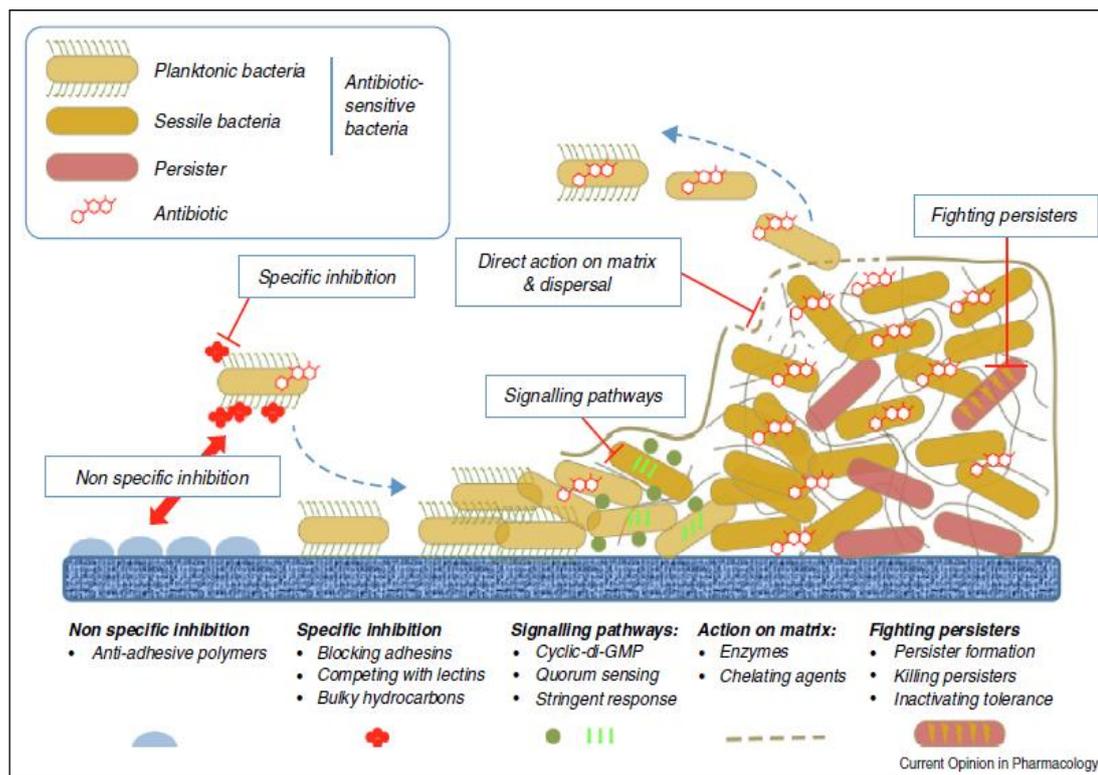
Une autre piste actuelle concerne le c-di-GMP, qui est un messager qui joue un rôle important dans la croissance des biofilms, est un autre axe majeur actuel. La diminution de sa concentration intracellulaire provoque la dispersion des biofilms dans l'environnement clinique. Si certains composés (tels que le sulfathiazole et l'azasol) peuvent inhiber la

diguanylate cyclase (c-di-GMP synthétase), alors la voie la plus intéressante semble être en faveur de l'oxyde nitrique (ON). Cette petite molécule est produite par *Pseudomonas aeruginosa* et peut augmenter l'activité de la phosphodiesterase bactérienne, réduisant ainsi le niveau de c-di-GMP dans la cellule. Cette approche est très intéressante car, d'une part, le NO peut induire la diffusion de biofilms à des concentrations faibles et non toxiques, d'autre part, ce mécanisme d'action semble largement préservé chez de nombreuses espèces (**Beloin et al. 2014 ; Dupin, 2017 ; Roy et al. 2017 ; Yufang et al. 2021**).

### III.3.2. Lutter contre les bactéries persistantes

Les bactéries persistantes ont été identifiées comme l'un des principaux mécanismes de résistance du biofilm aux antibiotiques (tels que les fluoroquinolones, les aminosides et les  $\beta$ -lactames). Par conséquent, des méthodes de biotechnologie microbienne ont été développées pour tuer les cellules endormies. Ces méthodes doivent utiliser des composés qui peuvent pénétrer dans les cellules et tuer les cellules persistantes. Des exemples de cette méthode incluent l'ajout de certains sucres (mannitol, fructose) aux aminosides, ce qui augmentera le nombre d'antibiotiques qui pénètrent dans les bactéries persistantes et provoquent la mort des bactéries. Récemment, il a été démontré que l'argent augmentait l'effet des antibiotiques sur les bactéries persistantes et les biofilms en augmentant la production de dérivés réactifs de l'oxygène et la perméabilité des membranes bactériennes (**Lebeaux et al. 2014 ; Wood, 2017**).

Un autre exemple de destruction des cellules persistantes est basé sur l'ajout de peptide d'acyle ADEP4 pour tromper la protéase ClpP en dégradant de nombreuses protéines cellulaires, cette méthode a réussi avec les infections à *S.aureus* dans un modèle *in vitro* lorsque ADEP4 est combiné avec d'autres antibiotiques comme la rifampicine (**Lebeaux et al. 2014**).



**Figure 23.** Schéma de synthèse avec les différentes cibles thérapeutiques sur différents phénotypes bactériens (Beloin *et al.* 2014).

### III.4. Ultrasons

Par rapport à d'autres méthodes, il a été prouvé que les ultrasons améliorent l'efficacité des agents antibactériens contre les bactéries planctoniques à Gram- et les biofilms, ce que l'on appelle l'effet bioacoustique (Donlan, 2008).

En effet, l'énergie acoustique présente de nombreux avantages plus importants encore, cette méthode peut détruire mécaniquement le revêtement du biofilm existant. Un autre avantage est que les ultrasons basse fréquence (70 kHz) à faible intensité acoustique augmentent également le transport de l'oxygène et des nutriments vers les cellules, détruisant ainsi les agents pathogènes dans le biofilm. Les études montrent que l'échographie *in vitro* augmentait considérablement le transport des antibiotiques (gentamycine) à travers les biofilms, augmentant la destruction d'*E. coli* et *P. aeruginosa* dans la matrice de biofilm (Donlan, 2008 ; Sadekuzzaman *et al.* 2015).

### III.5. Vers un vaccin antibiofilm ?

La vaccination réduit l'incidence des infections bactériennes et peut être un moyen de lutter contre la résistance aux antibiotiques. Un vaccin efficace doit induire une réponse d'anticorps capable de neutraliser sa cible pour l'immuniser contre certains antigènes

bactériens exprimés dans l'adhésion initiale de l'individu (adhésine) ou dans le biofilm mature (polysaccharide de la matrice) pour empêcher la dégradation du biofilm. Elle peut être liée à des patients qui envisagent d'implanter des matériaux (valvules cardiaques mécaniques ou prothèses articulaires) ou à des patients à risque d'infections chroniques (mucoviscidose, infections des voies urinaires) (**Castrillon *et al.* 2012 ; Walton, 2013 ; Gagneux-Brunon *et al.* 2017**).

Des études *in vitro* et *in vivo* ont montré que cette méthode réduit le risque de colonisation et d'infection urétrale en ciblant l'adhésine des souches pathogènes des voies urinaires impliquées chez *E. coli* et plusieurs vaccins contre *S. aureus* ou *S. epidermidis* sont en cours d'évaluation (**Ebert *et al.* 2011 ; Brady *et al.* 2011**).

### **III.6. Intérêt des huiles essentielles (HE) contre les biofilm**

D'autres agents antibiofilms ont été consultés, notamment des extraits des plantes médicinales et des produits végétaux, tels que les huiles essentielles utilisées en prévention, qui ont la capacité de combattre les souches pathogènes.

Les huiles essentielles ont une gamme d'actions très diversifiée. Ainsi, on suppose qu'il est capable de pénétrer dans la membrane bactérienne, comme la plupart des petites molécules lipophiles, et de déstabiliser les phospholipides qui la composent, et donc la perméabilité de la cellule. Elles agissent en empêchant la multiplication des bactéries, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. De plus, il a été démontré qu'il pouvait empêcher la formation de biofilms dentaires en attachant des microorganismes pathogènes à la surface de la dent, un événement clé dans la formation de la plaque dentaire et le développement des caries des gencives (**Azzaoui, 2011 ; Abdoune, 2013 ; Atailia et Djahoudi, 2015**).

Plusieurs chercheurs ont également étudié la capacité des HE à inhiber le QS. A titre d'exemple, l'effet du cinnamaldéhyde sur la transcription d'un gène impliqué dans la synthèse de HSL a été étudié chez *Vibrio harveyi*, une bactérie marine qui s'appuie sur QS pour sa bioluminescence. Il a été déterminé que cette molécule d'HE réduit de 70% la transcription de luxR6, un gène dont l'expression est catalysée par HSL 3-oxo-C6. De plus, LuxR, qui est également un régulateur de réponse QS, voit sa capacité à se lier à l'ADN, et donc la synthèse de HSL est considérablement réduite, lorsqu'il est exposé au cinnamaldéhyde (**Brackman *et al.* 2008 ; Bernatchez, 2019**).



*Conclusión*



## Conclusion

---

Les biofilms sont des structures vivantes, dynamiques qui constituent le mode de vie majoritaire des microorganismes, ils protègent les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles. Il est entendu que la formation de biofilm microbien se produit sur tous types de surfaces naturelles et industrielles.

Les biofilms ont un grand impact environnemental et économique. Un des meilleurs exemples pour illustrer ces effets bénéfiques est : certaines interactions intimes entre les consortiums microbiens sont particulièrement utiles lors de l'élimination du carbone et de l'azote lors de la dégradation des eaux usées.

D'autres applications bénéfiques des biofilms comprennent leur utilisation dans les piles à combustible microbiennes et la protection des organismes supérieurs contre les micro-organismes indésirables. Dans l'industrie, les biofilms sont de plus en plus utilisés en biotechnologies ; ils interviennent dans de nombreux procédés dans des secteurs tels que l'industrie agro-alimentaire (l'organisation complexe des biofilms permet une coopération entre micro-organismes dans les systèmes de dégradation de certains nutriments complexes). Ainsi, le produit de dégradation d'un substrat utilisé par un micro-organisme pourra être utilisé par un autre micro-organisme.

D'autre part, la présence de biofilms a un impact considérable, que ce soit dans l'agroalimentaire (altérations de qualités organoleptiques), l'industrie ou le milieu médical (biofilms et infections nosocomiales) tels la formation de biofilms dans les canalisations et les réseaux d'eau, sur les dispositifs médicaux (cathéters, implants...) ou encore les muqueuses du corps humain ce qui en conséquence des problèmes économiques et sanitaires.

Une fois le biofilm formé il est très difficile de l'éliminer. Les bactéries dans un biofilm, dites bactéries sessiles, présentent en effet des propriétés phénotypiques qui les distinguent de leurs homologues planctoniques. Par conséquent, nous avons suivi des méthodes de prévention et recherché de nouveaux outils et méthodes de diagnostic et de traitement de ces bactéries pathogènes, avec la nécessité de les appliquer dans tous les domaines.

La recherche sur les biofilms microbiens se poursuit sur de nombreux fronts, avec un accent particulier sur l'élucidation des gènes spécifiquement exprimés par les organismes associés au biofilm, évaluation de diverses stratégies de contrôle, y compris :

Les dispositifs médicaux traités avec des agents antimicrobiens et des verrous antimicrobiens) pour prévenir ou éliminer la colonisation par le biofilm de dispositifs et développement de nouvelles méthodes d'évaluation l'efficacité de ces traitements et éliminer la partie infectée du biofilm en cas de post-infection.

## Conclusion

---

La recherche doit également se concentrer sur le rôle des biofilms dans la résistance aux antimicrobiens, les biofilms en tant que réservoir d'organismes pathogènes, et le rôle des biofilms dans les maladies chroniques.

D'autres stratégies modernes sont également en cours d'élaboration, comme la vaccination contre les bactéries spécifiques du biofilm, ce qui donne un espoir pour le futur proche.

Des approches basées sur la nanotechnologie sont actuellement à l'étude pour lutter contre les infections bactériennes du biofilm. Une grande variété de nanoparticules et nanocomposites à propriétés bactéricides ont été synthétisées et sont maintenant utilisées à des fins biomédicales diverses.

Cela nous permettrait une meilleure évaluation des risques liés à la nanotechnologie avec le développement durable des nanoparticules. Ce domaine nous fournit des thérapies prometteuses pour éradiquer le problème croissant des infections à biofilm et traiter efficacement avec elles. Les imprégnations de nanomatériaux pour les fins antibiofilm fournissent de bien meilleurs effets antimicrobiens.



*Références*

*bibliographiques*



**A**

- Anderson G.G., O'Toole G.A. (2008).** Innate and Induced Resistance Mechanisms of Bacterial Biofilms [en ligne]. In: Romeo T. (eds) Bacterial Biofilms. Current Topics in Microbiology and Immunology. Berlin Heidelberg, P. 85-105.
- Armbruster D.A. (2019).** Biofilm Infections in Orthopedic Surgery and Their Impact on Commercial Product Development. In: Williams D. (eds) Targeting Biofilms in Translational Research, Device Development, and Industrial Sectors, P 11-27. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-30667-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-030-30667-0_2).
- Azeredo J., Azevedo N. F., Briandet R et al. (2016).** Critical review on biofilm methods. Critical in Microbiology, 43(3), P313–351. <https://doi.org/10.1080/1040841X.2016.1208146>.
- Aguanno D. (2020).** Modulation De la fonction De barriere Intestinale Et des Jonctions Serrees Par les N- Acyl homoserine Lactones Et Molecules. Du *Quorum Sensing* Bacterien. Thèse de Doctorat : Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique. Sorbonne : Sorbonne Université, Ecole doctorale 394, Physiologie, Physiopathologie et Thérapeutique, 181P.
- Ayé AM. (2015).** Mise En Evidence Du Systeme De Communication *quorum Sensing* Impliquant Les AHLs Chez Des Bactéries Marines Isolées De La Méditerranée. Thèse de Doctorat : Microbiologie / Biochimie. Université De Toulon, 245P.
- Abdoune MA. (2013).** L'effet préventif de quelques huiles essentielles contre la croissance et la formation de biofilms de certains pathogènes de la cavité buccale. Mémoire de Magister en Biologie. Tlemcen : Université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, 62P.
- Atailia I., Djahoudi A. (2015).** Chemical composition and antibacterial activity of geranium essential oil (*Pelargonium graveolens* L'Hér.) cultivated in Algeria. Article in Phytotherapie. 13(2015), P156-162. <https://www.researchgate.net/publication/273569654>.
- Azzaoui S. (2011).** Contribution à l'étude de l'effet anti-biofilm des huiles essentielles : *Mentha pulegium* et *Laurus nobilis*. Mémoire de Master Sciences et Techniques. Fès : Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, 49 P.

**B**

- Banerjee D., Shivapriya P. M., Gautam P. K., et al. (2019).** A Review on Basic Biology of Bacterial Biofilm Infections and Their Treatments by Nanotechnology-Based Approaches [en ligne]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 90(2), 243-25. (Page de consultée le 01/12/2018) <https://doi.org/10.1007/s40011-018-01065-7>.
- Berhe N., Tefera Y., intagu T. (2017).** Review on biofilm formation and its control options. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences [en ligne], 4(8), P122-133. <http://dx.doi.org/10.22192/ijarbs.2017.04.08.017>.
- Bezoui M. (2016).** Biofilms bactériens et leur implication en pathologie humaine [en ligne]. Thèse de Doctorat : Microbiologi. Rabat : université de Mohammed V- Rabat, 111P.
- Bjarnsholt T. (2013).** The role of bacterial biofilms in chronic infections. ACTA Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica, 121 (136), 1–54. DOI 10.1111/apm.12099.
- Brauge T. (2015).** Etude des exopolysaccharides de la matrice extracellulaire des biofilms de *Listeria monocytogenes* [en ligne]. Thèse de Doctorat : Microbiologie. Université Lille 1- Sciences et technologies, 385P.
- Bellifa S. (2014).** Evaluation de la formation du biofilm des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées de dispositifs médicaux au CHU Tlemcen [en ligne]. Thèse de Doctorat. Biologie cellulaire et biochimie. Tlemcen : Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, 76P.
- Brindhadevi K., Lewis Oscar F., Mylonakis E et al. (2020).** Biofilm and *Quorum sensing* mediated pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. Process Biochemistry, 96, P49-57. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.06.001>.

- Bourahla N., Haddache W. (2016).** Etude de la résistance du *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques au CHUN edir Mohammed de Tizi Ouzou pendant l'année 2015 [en ligne]. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Tizi Ouzou : Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou, 71P.
- Balcázar J. L., Subirats J., et Borrego, C. M. (2015).** The role of biofilms as environmental reservoirs of antibiotic resistance. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01216>.
- Bispo P., Haas W., et Gilmore M. (2015).** Biofilms in Infections of the Eye. *Pathogens*, 4(1), P111–136. <https://doi.org/10.3390/pathogens4010111>.
- Beloin C., Renard S., Ghigo J.-M., Lebeaux, D. (2014).** Novel approaches to combat bacterial biofilms. *Current Opinion in Pharmacology*, 18, P61–68.
- Brady RA., O'May GA., Leid JG., et al., (2011).** Resolution of *Staphylococcus aureus* biofilm infection using vaccination and antibiotic treatment. *Infect Immun*, 79(7), P 797-803. <https://doi.org/10.4161/hv.7.6.15407>.
- Brackman G., Defoirdt T., Miyamoto C., et al. (2008).** Cinnamaldehyde and cinnamaldehyde derivatives reduce virulence in *Vibrio* spp. by decreasing the DNA-binding activity of the *quorum sensing* response regulator LuxR. *BMC Microbiology*, 8, P 1–14. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-149>.
- Bernatchez A. (2019).** Étude des propriétés antibactériennes de composés d'huiles essentielles contre des agents pathogènes d'aquaculture. Maîtrise en microbiologie (M. Sc.), 58P.

## e

- Chibi A. (2015).** Evaluation de formation de biofilm par *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* isolées de CHU Tlemcen. Mémoire de Master : Biologie Moléculaire et Cellulaire. Tlemcen : Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, 61 P.
- Chonsui H. (2017).** Mise en place d'un modèle dynamique de biofilm pluri-espèces [en ligne]. Thèse de Doctorat : Chirurgie dentaire .Bordeaux : Université de Bordeaux U.F.R. d'odontologie, 63 P. Disponible sur : <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01671410> (page consulter le 22 Dec 2017).
- Curlier E, Hoen B, Duval X. (2017).** Endocardite infectieuse. EMC - Maladies infectieuses [en ligne], 14(2), P1-13. [http://dx.doi.org/10.1016/S1166-8598\(16\)64842-1](http://dx.doi.org/10.1016/S1166-8598(16)64842-1). (Consulter le mai 2017).
- Crone S., Vives-Flórez M et al. (2019).** The environmental occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*. *APMIS*, 128(3), P220-230. <https://doi.org/10.1111/apm.13010>.
- Cotter P. A., Stibitz S. (2007).** c-di-GMP-mediated regulation of virulence and biofilm formation. *Current Opinion in Microbiology*, 10(1), P17–23. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2006.12.006>.
- Ciofu O., Tolker-Nielsen T., (2011).** Antibiotic Tolerance and Resistance in Biofilms. T. Bjarnsholt et al. (eds.), *Biofilm Infections*. Denmark, P 215- 229. DOI 10.1007/978-1-4419-6084-9\_13.
- Castrillon CA., Martinezi MC., Contreras A., Botero JE. (2012).** Prevention of periodontal disease: beyond mechanical biofilm control. *Journal de Parodontologie & d'Implantologie Orale*, 32 (1), P 33- 40.

**D**

- Das S. (2019).** Biofilm-Mediated Diseases of the Heart and Lungs. In: Kumar S., Chandra N., Singh L., Hashmi M., Varma A. (eds) *Biofilms in Human Diseases: Treatment and Control*, P 137-149. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-30757-810>.
- Delcaru C., Alexandru I., Podgoreanu P et al. (2016).** Microbial Biofilms in Urinary Tract Infections and Prostatitis: Etiology, Pathogenicity, and Combating strategies. *Pathogens*, 5(4), 65P. (Page consultée le 28/11/2019) DOI : 10.3390/pathogens5040065.
- Derardja A., Messaadia S. (2018).** Recherche de biofilms mixtes sur implants médicaux [en ligne]. Mémoire de Master : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 45 P.
- De Chalvet De Rochemonteix A. (2009).** Les Biofilms et la peau. Thèse de .Doctorat : Veterinaire .Paris : faculté de médecine de Créteil, 141 P.
- Doudah H. (2016).** L'effet des extraits de *Lavandula officinalis* sur l'inhibition de la formation de biofilms formés par *Klebsiella pneumoniae* isolée des infections urinaires. Mémoire de Master : biotechnologie microbienne. Boumerdes : Université M'hamed Bougara Boumerdes, 39 P.
- Diaby k. (2018).** Les biofilms en industrie agroalimentaire : optimisation de leur élimination [en ligne]. Mémoire de Master : Sciences des Aliments, Qualité et Sécurité Alimentaires. France : Université de Lille 2, 50 P.
- Denkhaus E., Meisen S., Telgheder U et al. (2007).** Chemical and physical methods for characterisation of biofilms. *Microchimica Acta*, 158(1-2), P1–27. <https://doi.org/10.1007/s00604-006-0688-5>.
- De Kievit T. R. (2009).** *Quorum sensing* in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Environmental Microbiology*, 11(2), P279–288. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2008.01792.x>.
- Donlan RM., (2008).** Biofilms on Central Venous Catheters: Is Eradication Possible? In: Romeo T., *Bacterial Biofilms*. Atlanta, P 134 - 156. ISBN 978-3-540-75417-6. DOI : 10.1007/978-3-540-75418-3.
- Doberva M. (2016).** Le *Quorum Sensing* Bactérien Dans l'environnement marin : Diversité Moléculaire et génétique des auto-indicteur. Thèse de Doctorat : Ecologie Microbienne. Sorbonne : Université Pierre Et Marie Curie, 179P.
- Darghout S., Metheni A. (2016).** Caractérisation morphologique, biochimique et mutagenèse des souches de *Pseudomonas aeruginosa* dans la région de Constantine. Mémoire de Master : Génétique Moléculaire. Constantine, Université des Frères Mentouri Constantine, 54P.
- Donlan R. M. (2002).** Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases*, 8(9), P881–890.
- Dupin A. (2017).** Intérêts des huiles essentielles dans la lutte contre l'antibio-résistance induite par les biofilms. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Claude Bernard Lyon : Université de Claude Bernard Lyon 1, 209 P.

**E**

- Elmeskini K. (2011).** Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Rabat : université de Mohammed V- Rabat, 64 P.
- Ebert T., Smith S., Pancari G., et al. (2011).** Development of a rat central venous catheter model for evaluation of vaccines to prevent *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus aureus* early biofilms, 7(76), P 630-8. <http://dx.doi.org/10.4161/hv.7.6.1540>.

### F

- Fijeau AL., Chamagne M., Billon Y. (2019).** Mucoviscidose et grossesse : impact, facteurs pronostiques et prise en charge obstétricale. *Gynécologie Obstétrique Fertilité& Sénologie* [en ligne], 48. P428–435. <https://doi.org/10.1016/j.gofs.2020.02.014> (Disponible en ligne sur Science Direct).
- Fazli M., Almblad H., Rybtke M. L., et al. (2014).** Regulation of biofilm formation in *Pseudomonas* and *Burkholderia* species. *Environmental Microbiology*, 16(7), P1961–1981. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12448>.
- Filloux A., Vallet I. (2003).** Biofilm : mise en place et organisation d'une Communauté bactérienne. *M/S: médecine sciences*, 19(1), P77–83. <https://id.erudit.org/iderudit/000760ar>.
- Fuentefria D B., Ferreira A E., Corção G. (2010).** Antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital wastewater and superficial water: Are they genetically related? *Journal of Environmental Management*, 92 (2011), P 250-255.

### G

- Goswami K., Parvizi J. (2019).** Targeting Biofilms in Orthopedic Infection [en ligne]. In: Williams D. (eds) *Targeting Biofilms in Translational Research, Device Development, and Industrial Sectors*, P 71-83. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-30667-0\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-30667-0_5).
- Gouet JS. (2011).** Biofilms bactériens et implications en endodontie. *Revue d'Odonto-Stomatologie*, 40, P18-31.
- Gupta P., Sarkar S., Das B., et al. (2015).** Biofilm, pathogenesis and prevention a journey to break the wall: a review. *Archives of Microbiology* [en ligne], 198(1), P1-15. DOI: 10.1007/s00203-015-1148-6.
- Garnacho-Montero J. (2012).** *Pseudomonas aeruginosa*. In: Vincent JL., Hall J.B. (eds) *Encyclopedia of Intensive Care Medicine*. Berlin, Heidelberg, P 82-109. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-00418-6\\_95](https://doi.org/10.1007/978-3-642-00418-6_95).
- Galloway M., James T., Hodgkinson, et al. (2011).** *Quorum Sensing* in Gram-Negative Bacteria: Small-Molecule Modulation of AHL and AI-2 *Quorum Sensing* Pathways. *Chemical Reviews*, 111 (1).
- Gerlinger FM, Mainardi JL. (2016).** Endocardite infectieuse : du diagnostic au traitement. *EMC - Traité de Médecine Akos*, 11(3), P 1-7.
- Gagneux-Brunon A., Lucht F., Launay O. (2017).** Les vaccins dans la prévention des infections associées aux soins. *Journal des Anti-infectieux*, 19, P 134–146. <http://dx.doi.org/10.1016/j.antinf.2017.05.001>.

### H

- Hajoubi W. (2019).** Les infections associées aux biofilms .Thèse de Doctorat : Médecine. Rabat : Université Mohammed VI-Rabat ,77 P.
- Hippocrate et Nightingale F., (2005).** Les infections nosocomiales au Québec, un problème majeur de santé, une priorité. Rapport du comité d'examen sur la prévention et le contrôle des infections nosocomiales [en ligne], P460-377. [www.intranetreseau.rtss.qc.ca](http://www.intranetreseau.rtss.qc.ca).
- Houvion E. (2014).** Le biofilm dentaire : composition, formation et propriétés [en ligne]. Thèse de Doctorat : Chirurgie Dentaire. Lorraine : Université de Lorraine, 110P. Disponible sur : <https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01733964>. (Page consultée le 14 /3/2018).
- Hassan A., Usman J., Kaleem F et al. (2011).** Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 15(4), P305–311. <https://doi.org/10.1590/S1413-86702011000400002>.

**Ha D.-G., O'Toole G. A. (2015).** c-di-GMP and its Effects on Biofilm Formation and Dispersion: a *Pseudomonas aeruginosa* Review. *Microbial Biofilms*, P301–317. <https://doi.org/10.1128/9781555817466.ch15>.

**Harmsen M., Yang L., Pamp S. J et al. (2010).** An update on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation, tolerance, and dispersal. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 59(3), P253–268. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00690.x>.

**Hentzer M., Givskov M. (2003).** Pharmacological inhibition of *quorum sensing* for the treatment of chronic bacterial infections. *J Clin Invest*, 12 (9), P.1300-7.

### I

**Iung B. (2019).** Endocardite infectieuse : Épidémiologie, physiopathologie et anatomopathologie [en ligne]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0755498219301691>.

### J

**Jamal M., Tasneem U., Hussain T et al. (2015).** Bacterial Biofilm: Its Composition, Formation and Role in Human Infections. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 4(3), P1-14. <https://www.researchgate.net/publication/285228261>.

**Jamal M., Ahmad, W., Andleeb, S., et al. (2018).** Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(1), P7–11. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012>.

**Jouenne T. (2008).** Biofilms Bactériens. *Technique de l'ingénieur* [en ligne], P 2-8.

**Jia R., Yang D., Xu D et al. (2017).** Anaerobic Corrosion of 304 Stainless Steel Caused by the *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm. *Frontiers in Microbiology*, 8, P23-35. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02335>.

### K

**Klein G. (2011).** Nouvelles molécules naturelles inhibitrices du développement de biofilms des bactéries marines .Thèse de Doctorat : Microbiologie. Bretagne : L'Université de Bretagne occidentale, 180 P.

**Kim T.-S., Ham S.-Y., Park B. B et al. (2017).** Lauroyl Arginate Ethyl Blocks the Iron Signals Necessary for *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Development. *Frontiers in Microbiology*, 8, 970 P. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00970>.

**Köhler T., Perron GG., Buckling A., van Delden C. (2010).** *Quorum Sensing* Inhibition Selects for Virulence and Cooperation in *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Pathog*, 6(5), e1000883. doi:10.1371/journal.ppat.1000883.

### L

**Lazar V. (2011).** *Quorum sensing* in biofilms How to destroy the bacterial citadels or their cohesion/power? *Anaerobe*, 17(6), P 280–285. Doi : 10.1016/j.anaerobe.2011.03.023.

**Langella P. (2017).** Le biofilm dentaire et l'équilibre du microbiote oral : des concepts majeurs pour le maintien de la santé buccale [en ligne].Thèse de Doctorat : chirurgie dentaire. Paris. Faculté de chirurgie dentaire, 55P. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01779523>. (Accepté le 27 Apr 2018).

**Lachassinne E., Letamendia-Richard E., Gaudelus D. (2003).** Epidemiology of nosocomial infections in neonates. Elsevier SAS Tous droits réservés Archivent de pédiatrie [en ligne], 11 (2004), P229–233. (Disponible en ligne sur Science Direct).

- Lebeaux D., Lucet J.-C., Barbier F. S. (2016).** Nouvelles recommandations pour les infections associées au biofilm : implications en réanimation. *Réanimation*, 25(3), P 308–317. DOI 10.1007/s13546-016-1182-7.
- Lebeaux D., Ghigo JM., Lucet JC. (2013).** Physiopathologie et prévention des infections liées aux dispositifs médicaux implantés. Tous droits réservés- la revue du praticien, 64,P620-625. [www.larevuedupraticien.fr](http://www.larevuedupraticien.fr) .
- Lebeaux D., Ghigo JM. (2012).** Infections associées aux biofilms Quelles perspectives thérapeutiques issues de la recherche fondamentale ? .Unité de Génétique des Biofilms [en ligne], 9(8), P727-39. <http://doi:10.1051/medsci/2012288015> (consulter le 28 /11/ 2012).
- Lebeaux D., Ghigo J.-M., Beloin C. (2014).** Tolérance des biofilms aux antibiotiques : comprendre pour mieux traiter. *Journal des Anti-infectieux* [en ligne], 16(3), P 112–121.<http://dx.doi.org/10.1016/j.antinf.2014.04.001>. (Disponible en ligne sur Science Direct).
- Lahlou A., Salord H., Gille Y., et al. (2008).** *Pseudomonas aeruginosa* et résistance isolée à l'imipénème : clone émergent en milieu hospitalier ?
- Landman C. (2017).** Implications des N-acyl homosérine lactones, molécules du quorum sensing dans les maladies inflammatoires chroniques intestinales. *Microbiologie et Parasitologie* [en ligne]. Paris : Université Pierre et Marie Curie, 137P. Disponible sur :<https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-01807764>.
- Landini P., Antoniani D., Burgess JG., Nijland R. (2010).** Molecular mechanisms of compounds affecting bacterial biofilm formation and dispersal. *Appl Microbiol Biotechnol* V, 86, P 813-23. DOI: 10.1007/s00253-010-2468-8.
- Lee K., Yoon S. (2017).** *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm, a Programmed Bacterial Life for Fitness. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(6), P1053-1064.

## M

- Mebarki M. (2016).** Traitement de biofilm bactérien par les molécules bioactives. Mémoire de Master : Microbiologie Appliquée. Tlemcen : Université de Tlemcen, 44P.
- Manandhar S., Singh A et al. (2018).** Evaluation of methods to detect *in vitro* biofilm formation by staphylococcal clinical isolates. *BMC Research Notes*, 11(1), P2-6. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3820-9>.
- Merritt, J. H., Kadouri, D. E., O'Toole, G. A. (2005).** Growing and Analyzing Static Biofilms. *Current Protocols in Microbiology*, 0(1), P1-17. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc01b01s00>.
- Malizos K.N., Ioannou M. (2014).** Bone-Implant Interface in Biofilm-Associated Bone and Joint Infections. In: Karachalios T. (eds) *Bone-Implant Interface in Orthopedic Surgery*. London, P 239-253. DOI 10.1007/978-1-4471-5409-9\_17.
- Moore E. R. B., Tindall B. J., Martins Dos Santos et al. (2006).** Nonmedical: *Pseudomonas*. *The Prokaryotes*, P 646–703.
- Michel-Briand Y., et Baysse C. (2002).** The pyocins of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochimie*, 84(5-6), P499–510. [https://doi.org/10.1016/S0300-9084\(02\)01422-0](https://doi.org/10.1016/S0300-9084(02)01422-0).
- Mion S., Rémy B., Plener L., et al. (2019).** *Quorum Sensing Et Quorum Quenching Comment Bloquer La Communication Des Bactéries Pour Inhiber Leur Virulence ?* Article En Médecine/Sciences, 35, P31-8. <https://doi.org/10.1051/medsci/2018310>.
- Mesaros N., Nordmann P., Plésiat P. (2007).** *Pseudomonas aeruginosa*: resistance and therapeutic options at the turn of the new millennium. *Review of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 13, P 560–578.
- Mérens A., Jault P., Bargues L., Cavallo J.D. (2013).** Infections à *Pseudomonas aeruginosa*, 10(1), P 8-025. [http://dx.doi.org/10.1016/S1166-8598\(12\)56974](http://dx.doi.org/10.1016/S1166-8598(12)56974).

**Mulcahy L R., Isabella V M., Lewis K. (2014).** *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in disease. *Microb Ecol*, 68(1), P 1–12. Doi: 10.1007/s00248-013-0297-x.

### N

**Nadji N., Mizou A. (2015).** Détection de la formation de biofilms chez les isolats cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* [en ligne]. Mémoire de Master : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Microorganismes. Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine, 47 P.

**Noël S. Et Sermet-Gaudelus I. (2019).** Mucoviscidose : physiopathologie, génétique, aspects cliniques et thérapeutiques. Article EMC - Pédiatrie [en ligne].14(4), P1-23. [http://dx.doi.org/10.1016/S1637-5017\(19\)44856-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1637-5017(19)44856-4).

### P

**Percival SL., Bowler PG. (2004).** Biofilms and Their Potential Role in Wound Healing, 16(7), P 234-240.

**Percival SL., Knottenbelt DC. (2011).** Introduction to Biofilms.In:Biofilms and Veterinary Medicine. London New York:J. Cochrane CA., Costerton WJ., P 41-69.ISBN 978-3-642-21288-8.

**Paterson D.L., Kim BN. (2009).** *Pseudomonas aeruginosa*. In: Mayers D.L. (eds) Antimicrobial Drug Resistance. Infectious Disease. Humana Press, P 811-817. [https://doi.org/10.1007/978-1-60327-595-8\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-60327-595-8_9).

**Peterson SB., Irie Y., Borlee BR., et al. (2011).** Different Methods for Culturing Biofilms. In: Bjarnsholt T. et al., (eds.), Biofilm Infections. In Vitro. Washington, 295P. ISBN 978-1-4419-6083-2. DOI: 10.1007/978-1-4419-6084-9\_1.

**Patel R. (2005).** Biofilms and Antimicrobial Resistance. Division of Infectious Diseases, Mayo Clinic, 37, P41–47.

### Q

**Qureshi N. (2009).** Beneficial biofilms: wastewater and other industrial applications, P 474-498.

### R

**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*, *Pseudomonas aeruginosa*. Mémoire de Master : biotechnologie. Antananarivo : Université d'Antananarivo, 32 P.

**Robertson S R., McLean R JC. (2015).** Beneficial biofilms [J]. AIMS Bioengineering, 2(4), P 437-448. <http://www.aimspress.com>.

**Roux A., Ghigo JM., (2006).** Les biofilms bactériens (Bacterial biofilms). Revue Groupe de Génétique des Biofilms, Institut Pasteur. Tome, P159 - N°3 [www.academie-veterinaire-defrance.org](http://www.academie-veterinaire-defrance.org). (Consulter le 16 mars 2006).

**Rasamiravaka T., Labtani Q., Duez et al. (2015).** The Formation of Biofilms by *Pseudomonas aeruginosa*: A Review of the Natural and Synthetic Compounds Interfering with Control Mechanisms. Bio Med Research International, 2015, P1–17. <https://doi.org/10.1155/2015/759348>.

**Römling U., et Balsalobre C. (2012).** Biofilm infections, their resilience to therapy and innovative treatment strategies. *Journal of Internal Medicine*, 272(6), P541–561. <https://doi.org/10.1111/joim.12004>.

**Roy R., Tiwari M., Donelli G., Tiwari V. (2017).** Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*, 9(1), P522–554.

**Rabin N., Zheng Y., Opoku-Temeng C. Et al. (2015).** Agents that inhibit bacterial biofilm formation. *Future Med. Chem*, 7(5), P 647–671. ISSN1756-8919.

### S

**Simain F., Rompen E., Heinen ES. (2010).** Biofilms bactériens et médecine dentaire. *Rev Med Liège*, 65(10), P569-573.

**Solis-Velazquez OA et al. (2020).** Nosocomial pathogen biofilms on biomaterials : Different growth medium conditions and components of biofilms produced in vitro, *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* [en ligne], P1182-1684. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>. (Accepted 6 July 2020).

**Singh A.K., Gaur V., Maurya A.K. (2019).** The Role of Biofilm in Originating, Mediating, and Proliferating Infectious Diseases. In: Kumar S., Chandra N., Singh L., Hashmi M., Varma A. (eds) *Biofilms in Human Diseases: Treatment and Control*. Cham, P 43-57. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64279-0.00010-4>.

**Srivastava S., Bhargava A. (2015).** Biofilms and human health. *Biotechnology Letters*, 38(1), P 1–22. DOI 10.1007/s10529-015-1960-8.

**Srivastava A., Chandra N., Kumar S. (2019).** The Role of Biofilms in Medical Devices and Implants. In: Kumar S., Chandra N., Singh L., Hashmi M., Varma A. (eds) *Biofilms in Human Diseases: Treatment and Control*. India, P 151-165. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-30757-8\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-030-30757-8_11).

**Stewart P. S. (2002).** Mechanisms of antibiotic resistance in bacterial biofilms. *International Journal of Medical Microbiology*, 292(2), P 107–113. <http://www.urbanfischer.de/journals/ijmm>.

**Singh M. P., Singh P., Li H.-B et al. (2020).** Microbial biofilms: Development, structure, and their social assemblage for beneficial applications. *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering: Microbial Biofilms*, P125–138. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64279-0.00010-4>.

**Stewart P. S., William Costerton J. (2001).** Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *The Lancet*, 358(9276), P135–138. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)05321-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05321-1).

**Saffiedine B. (2019).** Contribution à l'étude du système BAC « Biofilm Associated Cluster » chez *Pseudomonas aeruginosa* [en ligne]. Thèse de Doctorat : Chimie. Rouen : Université de Rouen-Normandie, 208P. Disponible sur: <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-02272748>.

**Sultan AM., Nabel Y. (2019).** Tube Method And Congo Red Agar Versus Tissue Culture Plate Methode For Detection Of Biofilm Production By Uropathogens Isolated From Midstream Urine: Which One Could B Better? [en ligne]. *African Journal Of Clinical And Experimental Microbiology*, 20 (1), P 60-66. <https://dx.doi.org/10.4314/ajcem.v20i1.9>.

**Solbi S. (2013).** Effet Du Repiquage De *Pseudomonas aeruginosa* Sur Les Caractères Morphologiques, Biochimiques Et Sensibilité Aux Antibiotiques. Thèse De Doctorat En Pharmacie. Rabat : Université Mohammed V Souissi, 66P.

**Shin H. (2012).** Etude de la régulation de la virulence de *Pseudomonas entomophila* : recherche de gènes cibles du système à deux composants GacS / GacA impliqués dans la pathogénicité. *Bactériologie*.

**Sadekuzzaman M., Yang S., Mizan M. F. R., et al. (2015).** Current and Recent Advanced Strategies for Combating Biofilms. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 14(4), P491–509.

### T

**Talon D, Hocquet D, Bertrand X. (2015).** Infections nosocomiales. EMC - Maladies infectieuses. [en ligne], 12(2), P1-9. [http://dx.doi.org/10.1016/S1166-8598\(15\)49463-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1166-8598(15)49463-3) (consulter mai 2015).

**Tenke P., Kovacs B., Jäckel M et al. (2006).** The role of biofilm infection in urology. *World Journal of Urology*, 24(1), P13–20. DOI 10.1007/s00345-005-0050-2.

**Terki M. (2015).** Formation de biofilms et sensibilité de *Candida sp.* Isolées du CHU de Tlemcen à l'amphotéricine B. Mémoire de Master : Biochimie appliquée. Tlemcen : Université Aboubekr Belkaid Tlemcen, 28 P.

**Traore A. (2019).** Sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées de 2004 à 2009 au CHU du point G. Thèse de Doctorat : Pharmacie. Mali : Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, 65 P.

### V

**Vasudevan R. (2014).** Biofilms : microbial cities of scientific significance. *J Microbiol Exp*, 1(3), P 84–98.

### W

**Wei Q., et Ma L. (2013).** Biofilm Matrix and Its Regulation in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(10), P20983–21005. <https://doi.org/10.3390/ijms141020983>.

**Wiehlmann L., Cramer N., Tümmler B. (2015).** Habitat-associated skew of clone abundance in the *Pseudomonas aeruginosa* population. *Environmental Microbiology Reports*, 7(6), P 955–960. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12340>.

**Wagner V. E., Bushnell D., Passador L et al. (2003).** Microarray Analysis of *Pseudomonas aeruginosa* Quorum-Sensing Regulons: Effects of Growth Phase and Environment. *Journal of Bacteriology*, 185(7), P 2080–2095.

**Wood T. K. (2017).** Strategies for combating persister cell and biofilm infections. *Microbial Biotechnology*, 10(5), P1054–1056.

**Walton KD. (2013).** Murine models of *S. aureus* biofilm infections and therapeutic protein a vaccination. Thesis: Microbiology, Immunology, and Pathology. Colorado: Colorado State University, 70 P.

### Y

**Yannick D.N et al. (2014).** Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. Article in *Canadian journal of veterinary research* [en ligne], 78, P110-116. <https://www.researchgate.net/publication/263610777>. (Consulter le 31/06/2016).

**Yufang B., Guixue X., Chao Sh., et al. (2021).** Therapeutic strategies against bacterial biofilms. *Fundamental Research journal*, 1(2), P193-212.

### Z

**Ziebuhr W., Lobner I., Krimmer V *et al.* (2001).** Methods to detect and analyze phenotypic variation in biofilm-forming. *Methods in Enzymology*, 336, P195-205. [https://doi.org/10.1016/S0076-6879\(01\)36590-4](https://doi.org/10.1016/S0076-6879(01)36590-4).

## Glossaire

**Abcès cérébral :** est une collection de pus à l'intérieur du cerveau.

**Antibiothérapie :** est un traitement d'une affection par un médicament antibiotique.

**Bactériémie :** passage transitoire ou permanent de bactéries viables dans la circulation sanguine, à partir d'un foyer infectieux.

**Bioprothèse valvulaire :** appelée aussi valve biologique ou hétérogreffe valvulaire est une valve artificielle destinée à remplacer une valve cardiaque et fabriquée à partir de tissus animaux.

**Bronchectasies :** sont des dilatations et des destructions des bronches dues à une infection et une inflammation chronique.

**Cathéter urinaire :** est un tube introduit à l'intérieur du méat urinaire jusqu'à la vessie, destiné à collecter les urines.

**Cathéter veineux central :** est un tube mince et flexible (cathéter) qu'on met dans une grosse veine au-dessus du cœur. On peut l'insérer dans une veine du cou, du thorax ou du bras. Sur l'appelle aussi voie veineuse centrale ou voie centrale. Cela vous permet de recevoir plus un traitement à la fois. Selon le type de cathéter, on peut le laisser en place pendant des semaines, des mois ou des années.

**Chirurgie orthopédique, ou l'orthopédie :** est une spécialité médicale qui s'occupe des pathologies des os et de l'appareil locomoteur (articulations, muscles, tendons et nerfs).

**Dermatite :** est une inflammation de la peau.

**Dispositif intra-utérin :** également appelé stérilet, est un petit appareil médical placé dans la cavité utérine. Il a comme fonction une contraception locale.

**Endocardite :** est une infection de l'endocarde (couche interne du cœur), des valves cardiaques ou de l'aorte (gros vaisseau qui sort du cœur).

**Endothélium valvulaire :** C'est une membrane mince endothéliale qui tapisse la face interne du myocarde et qui se prolonge, en dehors du cœur, par une tunique interne des artères et des veines.

**Énoptalmie :** enfoncement du globe oculaire dans l'orbite.

**Entérocolite nécrosante :** est une maladie gastro-intestinale qui touche principalement le prématuré ou le nouveau-né malade. Elle est caractérisée par une nécrose de la muqueuse intestinale plus ou moins profonde.

**Fibrose kystique, ou mucoviscidose,** est une maladie génétique qui touche les voies respiratoires et digestives.

**Immunodépression :** congénitale ou acquise, est la réduction plus ou moins importante des réactions immunitaires d'un organisme contre un antigène.

**Infection chronique :** une affection de longue durée (de 6 mois ou plus), qui en règle générale, évolue lentement et qu'il n'y a pas de tendance à la guérison.

**Infection des voies biliaires :** fait généralement suite à la présence d'un obstacle au niveau de la voie biliaire principale.

**Infection nosocomiale** : est une Infection acquise dans le cadre d'une activité de soins, qu'elle soit ambulatoire ou hospitalière. Elle est généralement acquise plus de 48h après l'admission.

**Infection ostéo-articulaire** : est une infection qui touche un os, une articulation ou une prothèse articulaire.

**Infection pulmonaire** : est une infection affectant les poumons et plus largement le système respiratoire.

**Infection urinaire** : est une infection de l'appareil urinaire par un agent bactérien, viral ou parasitaire.

**Infection virale** : est une maladie déclenchée par un virus et sa propagation dans l'organisme (et aux dépens de l'organisme).

**Inflammation chronique** : est une phase anormale de l'inflammation, caractérisée par sa persistance dans le temps : elle peut durer plusieurs semaines voire plusieurs années, d'où le terme chronique.

**Kératite** : est une inflammation de la cornée, la fine membrane transparente qui recouvre le globe oculaire.

**La prostatite aiguë** : est une inflammation aiguë d'origine microbienne de la prostate, elle est souvent d'origine bactérienne, et peut être une infection sexuellement transmissible. Mais elle peut également être chronique.

**Les caries** : est une maladie infectieuse de la dent qui endommage l'émail puis la dentine en formant une cavité. Il s'agit du problème bucco-dentaire le plus fréquent au monde. Elle est causée par les bactéries présentes naturellement sur la plaque dentaire.

**Les parodontopathies** : (alias maladies parodontales) regroupent les gingivites, atteintes réversibles limitées aux gencives, et les parodontites, atteintes irréversibles du parodonte (organe de soutien de la dent) qui font suite à une gingivite chez la plupart des patients.

**Maladie aiguë** : est une altération de l'état général de santé. Elle est caractérisée par des symptômes identifiés, une évolution puis une guérison.

**Méningite** : est une inflammation des méninges, la membrane qui entoure le système nerveux central.

**Obstruction pulmonaire chronique** : est un état caractérisé par une limitation chronique et non réversible des débits expiratoires aériens.

**Ostéochondrite, ou ostéochondrose** : sont d'anomalies au niveau des zones de croissance des os et du cartilage.

**Ostéomyélite chronique** : est une infection chronique de l'os et de la moelle.

**Ostéomyélite vertébrale** : (également appelée spondylodiscite) est une infection atteignant 1 ou plus d'une composante extra-durale de la colonne vertébrale. En générale, elle se présente comme la combinaison d'une ostéomyélite d'une vertèbre et/ou une atteinte du disque adjacent (discite).

**Otite externe maligne** : est une infection de l'oreille externe qui s'étend jusqu'à l'os du crâne (os temporal) contenant le conduit auditif, l'oreille moyenne et l'oreille interne.

**Otite externe** : est une inflammation aiguë de l'oreille et plus précisément, de la peau du conduit auditif externe.

**Otite moyenne** : est une inflammation de l'oreille moyenne.

**Otites moyennes chroniques** : tous les processus inflammatoires de l'oreille moyenne évoluant depuis plus de 3 mois.

**Oto-rhino-laryngologie** : est la spécialité médicale et chirurgicale qui concerne la physiologie et les maladies qui affectent les oreilles, le nez et la gorge (larynx et pharynx).

**Pathologies buccodentaires** : Ils comprennent des douleurs buccales ou faciales, un cancer de la bouche ou du pharynx, une stomatite ou une lésion, une maladie des gencives (une affection qui affecte les gencives), un relâchement et une perte de dents et d'autres maladies et troubles.

**Personne Immunodéprimé** : une personne est immunodéprimée quand son système immunitaire ne fonctionne pas bien et qu'elle est donc plus vulnérable aux infections.

**Plaie aiguë** : est une blessure qui apparaît soudainement plutôt qu'avec le temps. Il à son tour, guérit avec le temps prévu et respecte le processus naturel de guérison. Il peut toucher n'importe quelle partie du corps.

**Plaie chronique** : est une plaie dont le délai de cicatrisation est allongé. Une plaie est considérée comme chronique après 4 à 6 semaines d'évolution, selon son étiologie. Les causes de plaie chronique incluent notamment les ulcères de jambe, les escarres, les plaies du diabétique et les moignons d'amputation.

**Pneumonie aiguë** : est une infection aiguë des voies aériennes inférieures caractérisée par une atteinte inflammatoire, voire purulente, du parenchyme pulmonaire (bronchioles, alvéoles pulmonaires et interstitium pulmonaire).

**Prothèse articulaire** : est un élément en matériau solide et neutre (toléré par l'organisme) qui reproduit la forme des surfaces articulaires.

**Prothèse de hanche artificielle** : est un dispositif articulaire interne consiste à remplacer une hanche malade par une articulation artificielle.

**Prothèse vocale artificielle** : est un dispositif en plastique, généralement en silicone de qualité médicale. Il sera placé entre le tube digestif (votre œsophage) et la trachée pendant la laryngectomie totale ou lors d'une ponction secondaire.

**Prothèse** : est un dispositif artificiel destiné à remplacer un membre, un organe ou une articulation.

**Pyo arthrose sténo-articulaire : l'arthrose** : est un rhumatisme qui touche les articulations, due à la destruction du cartilage situé au niveau des extrémités osseuses formant l'articulation.

**Rhinosinusite chronique** : est une maladie inflammatoire touchant la muqueuse nasale et les sinus paranasaux.

**Septicémie ou sepsis** : est une maladie infectieuse grave d'origine bactérienne ou virale ou parasitaire qui se propage par voie sanguine.

**Symphyse pubienne** : est l'articulation frontale reliant les deux os du pubis.

**Traumatisme** : ensemble des troubles provoqués dans l'organisme par une lésion, une blessure grave.

**Valve cardiaque** : est un élément du cœur séparant les différentes cavités et empêchant le sang de refluer dans le mauvais sens.