



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



UNIVERSITE de TLEMCCEN
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

Département de Biologie

Laboratoire : Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique

Mémoire

Présenté par

M^{elle} Hasnaoui Sihem

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En sciences biologiques

Option: Biochimie

Thème

*Aperçu bibliographique sur les Infections
associées aux biofilms*

Soutenu le 14 Novembre 2020, devant le jury composé de :

Présidente	Pr Boucherit-Otmani Zahia	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	Dr Seghir Abdelfettah	MCA	C.U. Ain Témouchent
Examinatrice	Dr Benhabib-Bekkal Brikci Ouassila	MCB	C.U. Ain Témouchent

Année universitaire 2019/2020

ملخص :

المستشفى هو مكان يتلقى فيه المرضى العلاج، وهو أيضا عبارة عن محيط اين يمكن للمريض ان يكون أكثر ملامستا بعالم من الجراثيم الذي يعتبر في اغلب الأحيان ذو خطورة بالغة وبالتالي يمكن ان يصاب بعدوى مرضية المعروفة باسم عدوى المستشفيات .عدد كبير من هذه العدوى ترتبط بالأغشية الحيوية.

الاعشية الحيوية هي عبارة عن شبكة ثلاثية الابعاد من الخلايا، تلتصق بالأسطح الحيوية او غير الحيوية، متشابكة في مصفوفة ذاتية التوليد.

الاعشية الحيوية تهتم جميع المجالات من علم الاحياء الدقيقة، الطب، علم الاحياء التركيبي وعلم المواد.

الكلمات المفتاحية : الاغشية الحيوية, عدوى المستشفيات , علم الاحياء الدقيقة , الطب , علم الاحياء التركيبي , علم المواد.

Résumé :

L'hôpital est un lieu où le patient entre en contact avec un univers microbien parfois redoutable et risque ainsi de contracter des maladies infectieuses connus sous le terme « infections nosocomiales ». Un grand nombre de ces infections sont liées à la formation de biofilms.

Les biofilms sont des réseaux tridimensionnels de cellules, adhérent à une surface abiotique ou biotique, enchevêtrées dans une matrice polymère extracellulaire auto-générée.

Les biofilms intéressent tous les domaines, de la microbiologie, médecine, biologie synthétique et de la science des matériaux.

Mots-clés :

Les biofilms, infections nosocomiales, microbiologie, médecine, biologie synthétique, la science des matériaux.

Summary :

The hospital is a place where patients are treated, but it is also considered as an environment where the patient comes into contact with a sometimes formidable microbial universe and thus risks contracting infectious diseases known under the term "nosocomial infections". A large number of these infections linked to the formation of biofilms.

Biofilms are three-dimensional networks of cells, adhering to an abiotic or biotic surface, Entangled in a self-generated extracellular polymer matrix.

Biofilms are of interest to all areas of microbiology and medicine, synthetic biology and materials science.

Keywords : Biofilms, nosocomial infections, microbiology, medicine, synthetic biology, materials science.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

Aux deux personnes précieuses les plus chères à mon cœur

Ma mère et mon père

Pour leur soutien, leur patience, leur amour, et leur encouragement,

Je leur souhaite une longue et heureuse vie

A mes chères sœurs et A mes chers frères

*Que dieu vous garde, vous protège et vous offre une vie pleine de
bonheur et de succès*

A toute ma famille et à toutes mes amies.

*A toute la promotion « biochimie 2019-2020 » avec qui j'ai partagé
d'agréables moments.*

Sihem

Remerciements

Je remercie tout d'abord Dieu le tout puissant et miséricordieux tout puissant de m'avoir donné le courage, la force et la patience d'achever ce modeste travail.

Mes remerciements les plus profonds vont à mon encadreur : **Monsieur Seghir Abdelfettah, Maître de conférences classe A au département de Biologie, Centre Universitaire Belhadj Bouchaïb d'Ain Témouchent**, Pour avoir accepté de diriger ce travail et pour l'aide scientifique précieuse. Votre écoute attentive, votre compréhension et vos conseils professionnels et personnels.

Madame Boucherit-Otmani Zahia, Professeur au département de Biologie, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, des Sciences de la Terre et de l'Univers, Université Aboubekr Belkaïd Tlemcen, pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant de présider le jury malgré ses multiples occupations. Qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect.

Madame Benhabib-Bekkal Briki Ouassila, Maître de conférences classe B au département de Biologie, Centre Universitaire Belhadj Bouchaïb d'Ain Témouchent, Je lui exprime ma profonde gratitude et ma sincère reconnaissance pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes vifs remerciements s'adressent également à tous les enseignants durant mon Coursus Universitaires et tous les membres du laboratoire LAPSAB pour toutes leurs attentions, ainsi que pour les moments de détente et de sympathies et pour leurs immenses aides.

Sommaire

Introduction	2
Synthèse Bibliographique	4
1. Les infections associées aux soins (IAS).....	4
2. Les biofilms.....	6
2.1. Composition du biofilm	7
2.1.1. Les micro-organismes.....	7
2.1.2. La matrice extracellulaire ou substances polymériques extracellulaires (EPS).....	7
2.2. Cycle de vie du biofilm.....	8
2.3. Quorum sensing (QS).....	9
3. Méthodes d'étude des biofilms	10
3.1. Les techniques microscopiques.....	10
3.1.1. La microscopie confocale à balayage laser (CLSM).....	10
3.1.2. Le microscope électronique à balayage (MEB).....	10
3.1.3. La tomographie par cohérence optique.....	11
3.2. La micro-CT (Micro-Computed Tomography).....	11
3.3. Etude <i>in vitro</i> en microplaques.....	12
3.4. Mesure de la biomasse.....	12
4. Stratégies thérapeutiques pour lutter contre les biofilms.....	15
4.1. Hygiène.....	15
4.2. Ciblage de la matrice extracellulaire.....	15
4.3. L'antibiothérapie.....	15
4.4. Le vaccin anti-biofilm.....	15
4.5. Ciblage des bactéries persistantes.....	16

4.6. La phagothérapie.....	16
4.7. Brouillage des communications.....	16
4.8. Relation Biofilms-plantes médicinales.....	17
4.9. La modification de la surface des biomatériaux.....	18
Conclusion.....	20
Références Bibliographiques.....	22

Liste des figures

Figure N°1 : Comparaison d'images de biofilms par CLSM et MEB.....	10
Figure N°2 : Principe de la mesure de la biomasse par la méthode au CV.....	13
Figure N°3 : Aperçu des méthodes de culture et de caractérisation des biofilms.....	14
Figure N°4 : Mécanismes du quorum sensing bactérien et des différentes stratégies de quorum quenching.....	17

Liste des abréviations

AFM : Atomic Force Microscope

AHL : N-acyl homosérine lactones

AI : Auto-inducteurs

AI-3 : Auto-inducteur 3

ATNC : Agents transmissibles non conventionnels

CARD-FISH : Catalyzed Reporter Deposition-Fluorescent In Situ Hybridization

CFU : Colony Forming Units

CLSM : confocal laser scanning microscopy (Microscopie confocale à balayage laser).

CV : Crystal Violet

DM : Dispositifs médicaux

DNA : Deoxyribonucleic acid

DOPE-FISH : Double Labelling of Oligonucleotide Probes-Fluorescence In Situ Hybridization

EIS : Electrochemical Impedance Spectroscopy

EPS : Substances polymériques extracellulaires

e-SEM : environmental-Scanning electron image

ESKAPE : Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa , Enterobacter spp.

FCS : Fluorescence Correlation Spectroscopy

FIB-SEM : Focused Ion Beam- Scanning electron image

FISH : Fluorescence in situ hybridization

FISH-MAR : Fluorescence In Situ Hybridization-micro-autoradiography

FISH-NanoSIM : Fluorescence In Situ Hybridization-Nanoscale secondary ion mass spectrometry

IAS : Les infections associées aux soins

IN : Infections nosocomiales

LNA-FISH : Locked Nucleic Acids-Fluorescence In Situ Hybridization

MCBL : Microscopie confocale à balayage laser

MEB : Microscopie électronique à balayage

Micro-CT : Micro-Computed Tomography

NIH : National Institutes of Health

OMS : Organisation mondiale de santé

PMA-qPCR : Propidium monoazide-quantitative polymerase chain reaction

PNA-FISH : Peptide Nucleic Acid-Fluorescence In Situ Hybridization

QCM : Quartz crystal microbalance

qPCR : Quantitative Polymerase Chain Reaction

QQ : Quorum quenching

QS : Quorum sensing

QSI : Inhibiteurs du QS

SEM: Scanning electron image

SPR : Surface Plasmon Resonance

TTC : (2,3,5-triphenyl-2H-tetrazolium chloride)

UTDR : Ultrasonic Time Domain Reflectometry

XTT : (2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide inner salt)

Introduction

Introduction

Introduction

La perception des biofilms a considérablement changé au cours des quatre dernières décennies en raison du développement technologique et de l'adaptation à la science des biofilms, notamment les nouvelles technologies d'imagerie, les méthodes biochimiques et les outils de biologie moléculaire des écosystèmes. Il est maintenant possible d'avoir une vue d'ensemble de la structure du biofilm tridimensionnel et une connaissance plus détaillée de la structure jusqu'au niveau nanométrique (**Neu et Lawrence, 2015**).

Les dispositifs médicaux sont utilisés dans presque toutes les procédures médicales diagnostiques et thérapeutiques et selon l'application, ils sont fabriqués à partir de différents matériaux, tels que les biomatériaux polymères, métalliques ou céramiques. Si les tissus du corps hôte n'adhèrent pas parfaitement à la surface du biomatériau, il y a des conditions favorables à l'adhérence microbienne, d'où la formation de biofilms microbiens et l'apparition d'infections ultérieures (**Stoica et coll., 2017**).

Le présent manuscrit présente un rappel bibliographique sur les infections associées aux soins et les biofilms.

Synthèse Bibliographique

Synthèse bibliographique

1. Les infections associées aux soins (IAS)

Les infections liées aux soins appelées aussi infections nosocomiales (IN) présentent un problème majeur de sécurité pour les patients admis aux hôpitaux (**OMS, 2020**). Ces infections sont souvent liées aux procédures thérapeutiques, la pratique des soignants, les moyens misent à la disposition des professionnels et des usagers, les comportements et les habitudes des patients durant l'hospitalisation ainsi que les mesures d'hygiènes hospitalières adoptées par l'établissement, et leurs conséquences sont souvent graves avec un impact financier, social et psychologique (la prolongation de la durée d'hospitalisation, le retentissement socio-économique sur le patient et l'établissement de santé et la dégradation de l'état de santé de l'hospitalisé...) (**Chaib et coll., 2016**).

Actuellement, l'OMS estime que plus de 1,4 million de personnes dans le monde souffrent d'infections contractées à l'hôpital. Entre 5 et 10 % des patients admis dans des hôpitaux modernes de pays développés contractent une ou plusieurs infections. Un taux qui dépasse parfois 25 % dans les pays en développement (**OMS, 2020**).

Si les taux d'IAS sont susceptibles de varier, les types d'impact eux, restent les mêmes. Selon leur niveau de gravité les IAS entraînent le plus souvent un allongement de la durée de séjour. Les patients vont rester en moyenne 2,5 fois plus longtemps à l'hôpital. L'allongement de la durée de séjour, combinée aux traitements engendrent alors des coûts supplémentaires. Un patient infecté coûterait environ trois fois plus cher (**Moura et coll., 2017**).

D'après l'étude réalisée par **Niang et Lakhe (2019)**, et dans le but d'évaluer les connaissances des facteurs favorisant des IAS auprès du personnel de santé du service des maladies infectieuses montrent que d'une manière générale ces connaissances sont insuffisantes avec un taux de 35,5%, donc la prévention et la lutte contre les IAS passent d'abord par la connaissance de ces infections par le personnel concerné.

Synthèse bibliographique

Les micro-organismes à l'origine de ces infections sont soit endogènes, issus de la propre flore du patient, soit exogènes provenant de l'environnement (eau, air, surface) ou d'un autre individu (autre patient, entourage familial, visiteur, soignant) (**Gachot et coriat, 2019**).

Il est à noter que tous les agents infectieux responsables des infections nosocomiales sont des micro-organismes tels que les parasites, les champignons, les bactéries, les virus et les agents transmissibles non conventionnels comme le prion (**Bakini et Nigri, 2014**).

Les infections les plus graves et les plus meurtrières sont les septicémies, les pneumonies, les infections urinaires, les infections du site opératoire, les infections locales liées aux cathéters, les infections du tractus gastro-intestinal et les infections de la peau et des tissus mous (**Fabbro-Peray et coll., 2007**).

Il est important de noter que les dispositifs médicaux (DM) comme les pansements, les cathéters, les endoscopes sont des outils indispensables à la médecine moderne, mais ils peuvent constituer un point d'entrée pour les micro-organismes pathogènes : on parle alors d'infections associées aux soins (IAS) ou infections nosocomiales (**Neoh et coll., 2017**). Les (DM) qui sont destinés à être implantés dans le corps humain ou être mis en contact avec des tissus ou des organes vivants doivent être fabriqués par des matériaux qualifiés de biomatériaux (**Sorel, 2005**).

On distingue 4 modes de transmission des infections nosocomiales (IN) :

1) L'auto-infection : le malade s'infecte avec ses propres germes, les « portes d'entrée » sont les lésions des muqueuses, les lésions cutanées (plaies, brûlures, maladies de peau).

2) L'hétéro-infection : le germe responsable de l'IN provient d'un autre malade. La transmission est le plus souvent manu-portée, par le personnel soignant intervenant auprès de plusieurs patients. D'où la dissémination de ces germes. C'est le mode de contamination le plus fréquent lors des épidémies.

3) La xéno-infection : dans ce cas les agents pathogènes sont transmis par des personnes venant de l'extérieur (personnels soignants, visiteurs, sous-traitants), et présentant eux-mêmes une pathologie infectieuse, déclarée ou en cours d'incubation.

Synthèse bibliographique

4) **L'exo-infection** : ce mode de transmission est issu, soit d'un dysfonctionnement technique d'un matériel (filtre à air, autoclave...), soit d'une erreur commise dans l'exécution des procédures de traitement (**Benmahdi, 2017**).

Les infections associées aux soins (IAS) sont un problème majeur de santé publique, notamment du fait qu'elles participent à la menace mondiale que représente l'antibiorésistance qui devrait en 2050 causer 10 millions de décès par an et se placer comme la première cause de mortalité dans le monde. La forte consommation d'antibiotiques, la promiscuité et la vulnérabilité des patients font de l'hôpital un lieu privilégié pour la transmission de bactéries notamment résistantes aux antibiotiques, et pour les phénomènes épidémiques (**Baranovsky, 2020**).

Par ailleurs, l'incidence des infections causées par *Candida* a augmenté dans le monde entier, avec des taux de mortalité dépassant 70% dans certaines populations de patients. *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* et *C. krusei* sont responsables de plus de 90% des infections (**Singh et coll., 2020**).

2. Les biofilms

The National Institutes of Health (NIH) a révélé que parmi toutes les infections microbiennes et chroniques, 65% et 80%, respectivement, sont associées à la formation de biofilms (**Jamal et coll., 2018**).

Les biofilms sont responsables d'un large éventail d'infections chez l'homme, 80% de ces infections microbiennes sont liées à la formation de ces derniers (**Harriott et Noverr, 2011**).

La capacité de former des biofilms est une caractéristique commune des micro-organismes, tels que les bactéries ou des champignons (**Rodrigues et coll., 2020**), malgré leur existence poussée dans l'histoire, leur implication en pathologie humaine n'a été démontrée qu'à partir de la fin des années 1970 (**Lebeaux et coll., 2014**).

Même si les techniques aseptiques sont scrupuleusement respectées lors de l'implantation des dispositifs médicaux, le développement du biofilm est rapide et inéluctable sur la plupart des matériaux utilisés en médecine humaine actuelle (**Espinasse et coll., 2010**).

Synthèse bibliographique

2.1. Composition du biofilm

Les biofilms sont des communautés architecturales complexes de cellules microbiennes maintenues ensemble par une matrice extracellulaire auto-produite **(Huang et coll., 2020)**.

Dans la plupart des biofilms, les micro-organismes représentent moins de 10 % de la masse sèche, alors que la matrice peut représenter jusqu'à plus de 90 % **(Daouadji, 2010)**.

2.1.1. Les micro-organismes

Dans l'environnement naturel, les micro-organismes (bactéries et champignons) sont attachés à une surface, organisés en communautés structurées, au sein desquelles on peut trouver de nombreuses espèces différentes **(Daouadji, 2010)**.

La communication cellule-cellule est un phénomène très répandu dans la nature, allant de la détection du quorum bactérien et de la communication des phéromones fongiques à la diaphonie cellulaire chez les eucaryotes multicellulaires. Ces modes de communication offrent la possibilité de contrôler le comportement d'une communauté entière en modifiant les performances des cellules individuelles de manière spécifique **(Hennig et coll., 2015)**.

Par conséquent, la résistance des cellules bactériennes formant un biofilm pourrait être jusqu'à 1000 fois plus élevée que celle des cellules planctoniques, ce qui nécessite une concentration d'antibiotiques très élevée pour le traitement **(Khan et coll., 2020)**.

2.1.2. La matrice extracellulaire ou substances polymériques extracellulaires (EPS)

La matrice extracellulaire fournit des microenvironnements chimiques mécaniquement stables et complexes qui sont fondamentaux pour le mode de vie du biofilm. La composition d'EPS est essentielle pour les caractéristiques structurelles et fonctionnelles du biofilm, qui peuvent être généralement divisés en propriétés physiques et chimiques, la composition et la structure peuvent varier considérablement en fonction du type de micro-organismes, du stress de cisaillement local, de la disponibilité des nutriments/substrats et de l'environnement de l'hôte **[(Flemming et coll., 2016) ; (Koo et Yamada, 2016) ; (Dragos et Kovacs, 2017)]**.

Synthèse bibliographique

En plus d'offrir une stabilité structurelle et un environnement fonctionnel, l'EPS améliore également la tolérance du biofilm aux antimicrobiens et aux cellules immunitaires [(Dragos et Kovacs, 2017) ; (Koo et coll., 2017)].

La synthèse et l'organisation spatiale de l'EPS diffèrent entre les communautés microbiennes mono-spécifiques et multi-espèces. Dans les communautés poly-microbiennes ou multi-espèces, les agents pathogènes producteurs de matrice peuvent être considérés comme des «conditionneurs d'environnement de biofilm» qui aident à créer un habitat pathologique sur des surfaces biotiques et abiotiques (Bowen et coll., 2018).

Chez l'homme, l'apparition de communautés bactériennes sous forme de biofilm est considérée comme un facteur intrinsèque majeur responsable d'une variété d'infections tenaces. *Staphylococcus aureus* et *S.epidermidis* ont fait l'objet d'une attention considérable en milieu clinique en raison de la formation de biofilms résistants et durables dans les dispositifs médicaux (Kannappan et coll., 2019). La matrice de biofilm possède la capacité de résister à plusieurs facteurs environnementaux défavorables, y compris l'effet des antibiotiques (Khan et coll., 2020).

2.2. Cycle de vie du biofilm

Les biofilms peuvent être composés d'une ou plusieurs espèces de micro-organismes, selon le type de dispositif implanté et la durée d'implantation dans l'organisme du patient, la formation de biofilms dépend de plusieurs facteurs : nombre de cellules présentes, vitesse du flux du liquide dans lequel se trouve le dispositif, propriétés physico-chimiques de la surface (Donlan, 2001).

Sur une période de 24 à 48 heures, les micro-organismes adhèrent aux surfaces, par une association réversible, suivie par un attachement irréversible, puis la formation d'un biofilm mature très structuré et interactif [(O'toole, 2003) ; (Ramage et coll., 2005) ; (Li et coll., 2007)].

Synthèse bibliographique

2.3. Quorum sensing (QS)

Le développement du biofilm dépend du nombre de cellules, ou « quorum » qui une fois atteint, déclenche la synthèse de molécules de signalisation diffusibles qui s'accumulent dans le milieu extracellulaire et qui sont désignées par le terme de « Quorum sensing ». Il s'agit d'un mécanisme de communication cellulaire entre micro-organismes qui permet la coordination des comportements cellulaires au sein du biofilm via la sécrétion de molécules de signalisation appelées auto-inducteurs (AI) permettant de contrôler le surplus de la population et la compétition pour les nutriments et d'adapter leur comportement en fonction de la taille de la population [(Wongsuk et coll., 2016) ; (Mion et coll., 2019)].

La détection du quorum est devenue un sujet de recherche important en microbiologie et en médecine. Le QS influence la croissance microbienne, la prolifération, la formation de biofilms, la production de facteurs de virulence, la synthèse antimicrobienne et l'adaptation à l'environnement (Yang et coll., 2020).

Des analyses récentes des voies modulant l'expression des gènes de la matrice du biofilm montrent qu'il y a plusieurs molécules de signalisation extra-cellulaire et intra-cellulaire (Kim et coll., 2017).

Plusieurs types de systèmes de quorum sensing sont connus pour les bactéries : les N-acyl homosérine lactones (AHL), et sont donc impliqués dans de nombreux processus physiologiques, notamment la production de facteurs de virulence, d'émission de bioluminescence et la production de pigments (Gozoua, 2019). AI-3, l'adrénaline ou la noradrénaline sont fréquemment rencontrés chez les pathogènes opportunistes de l'homme (e.g. *Enterobacter sp*, *Escherichia sp*, *Klebsiella sp*, *Salmonella sp*) (Kendall et Sperandio, 2007).

Les molécules du quorum sensing impliquées chez *Candida sp* sont le tyrosol et le farnésol :

-Le tyrosol améliore la morphogénèse de *Candida albicans* en assurant un contrôle positif de la transition vers la forme hyphé et stimule la production de tubes germinatifs.

-Le farnésol assure un contrôle négatif du quorum par inhibition de la formation des hyphes. Il empêche l'adhésion des cellules aux surfaces et la formation de biofilms [(Fernandes et coll., 2016) ; (Kostoulas et coll., 2016)].

Synthèse bibliographique

3. Méthodes d'étude des biofilms

3.1. Les techniques microscopiques

3.1.1. La microscopie confocale à balayage laser (CLSM)

La première observation de biofilm vivant pleinement hydraté a été réalisée par CLSM. C'est une méthode très utilisée pour les biofilms [(Costerton et coll., 1995) ; (Edith et coll., 2016)].

3.1.2. Le microscope électronique à balayage (MEB)

L'utilisation du MEB pour l'étude des biofilms a permis de fournir les premières images de la surface des biofilms, révélant des structures en trois dimensions. Avant l'avènement de la CLSM, la MEB était considérée comme la technique standard d'or pour l'étude morphologique des biofilms (Trinidad et coll., 2010).

Les techniques de CLSM ou de MEB sont limitées par la nécessité de retirer le cathéter du patient pour un diagnostic et par des champs microscopiques relativement petits de sorte que les structures et les modèles à plus grande échelle peuvent passer inaperçus. Ils exigent une ligne de visée claire ou directe pour l'imagerie, et la profondeur de pénétration dans le biofilm qui est limitée à quelques cent micromètres (Li et coll., 2016).

La **figure N°1** montre images de biofilms obtenu par CLSM et MEB.

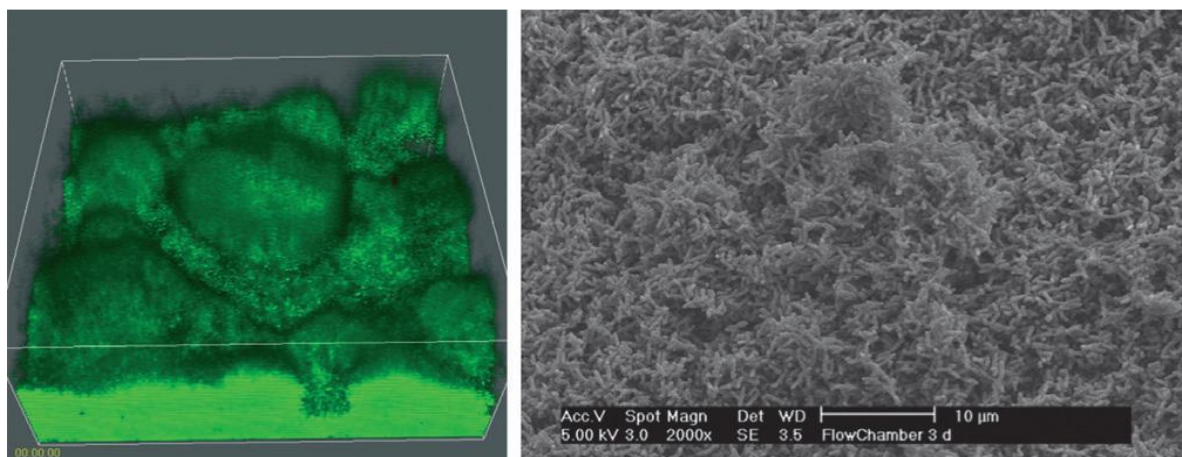


Figure N°1 : Comparaison d'images de biofilms par CLSM et MEB (Alhede et coll., 2012)

Synthèse bibliographique

3.1.3. La tomographie par cohérence optique

La tomographie par cohérence optique fournit une imagerie tridimensionnel rapide et à grande échelle, et peut pénétrer plus loin que l'imagerie confocale (1-2 mm), mais aussi exige généralement un matériau optiquement clair (**Li et coll., 2016**).

3.2. La micro-CT (Micro-Computed Tomography)

La micro-CT est un outil essentiel pour visualiser les communautés bactériennes qui peuvent fournir des indications sur la relation entre la structure et la fonction du biofilm bactérien, la technique micro-CT robuste et à haute résolution est utilisée par **Keren-Paz et ses collaborateurs (2018)**, pour étudier les zones minéralisées dans des biofilms bactériens intacts (**Keren-Paz et coll., 2018**).

En clinique, il a été démontré que la précipitation du carbonate de calcium favorise la colonisation du cathéter, une infection active et des interactions entre les espèces (**Li et coll., 2015, 2016a, 2016b**). Récemment, **Keren-Paz et ses collaborateurs et d'autres scientifiques** ont montré que la précipitation de carbonate de calcium contribuait à l'assemblage de l'architecture complexe du biofilm [(**Li et coll., 2016a, 2016b, c**) ; (**Oppenheimer-Shaanan et coll., 2016**) ; (**Dade-Robertson et coll., 2017**) ; (**Keren-Paz et coll., 2018**)].

La micro-CT à haute résolution permet d'obtenir des informations structurelles sur les structures du calcium présentes dans le biofilm et montre qu'un des mécanismes de résistance est la formation de feuilles de carbonate de calcium extracellulaire qui servent de barrières de diffusion protégeant la colonie. En utilisant les technologies à rayons X pour obtenir des images de biofilms dans des contextes médicaux pertinents, il peut être possible de prédire la diffusion des antibiotiques dans les biofilms. Comme la biominéralisation, est un phénomène conservé et largement répandu dans le règne bactérien, elle peut être potentiellement ciblée pour traiter les infections résultant de biofilms à espèces multiples et résistants aux antibiotiques (**Keren-Paz et coll., 2018**).

Synthèse bibliographique

En fait, la biominéralisation est un régulateur général de l'architecture et des propriétés du biofilm (**Li et coll., 2015**), l'uréase est une enzyme clé dans la voie de biominéralisation, et l'inhibition chimique de l'uréase empêche la formation de barrières de diffusion. Ainsi, l'uréase et d'autres enzymes de biominéralisation apparaissent comme des candidats incontournables pour le développement de nouveaux antibiotiques (**Keren-Paz et coll., 2018**).

3.3. Etude *in vitro* en microplaques

Plusieurs systèmes sont couramment utilisés afin d'étudier en laboratoire la formation de biofilms (**Coenye et Nelis, 2010**).

Le test de microplaque est la technique la plus utilisée pour quantifier la formation de biofilm, qui est un indicateur important de la pathogénicité (**Stepanovic et coll., 2000**). C'est une méthode de dépistage précise et reproductible et qui peut servir d'outil quantitatif fiable pour déterminer la formation d'un biofilm et a l'avantage d'être un outil quantitatif permettant de comparer les adhérences de différentes souches (**Mathur et coll., 2006**). Elle a la capacité d'examiner un grand nombre d'isolats simultanément (**Racha et coll., 2012**). C'est une technique quantitative pratique et économique pour l'identification des facteurs critiques et des conditions de cultures optimales pour la formation d'un biofilm (**Castro Melo et coll., 2013**).

3.4. Mesure de la biomasse

Il existe plusieurs méthodes de mesure de la biomasse, exemple : méthode du rouge Congo agar et la méthode au Crystal violet (CV), la plus utilisée est la méthode au CV. Cette méthode mesure la quantité de biomasse à l'intérieur du biofilm (**Christensen et coll., 1985**). Le CV est un colorant basique qui se lie aux molécules de surface chargées négativement et aux polysaccharides de la matrice extracellulaire (**Li et coll., 2003**). La quantification se fait par resolubilisation du colorant (**Stepanovic et coll., 2000**).

Synthèse bibliographique

La **figure N°2** montre la mesure de la biomasse par la méthode au CV.

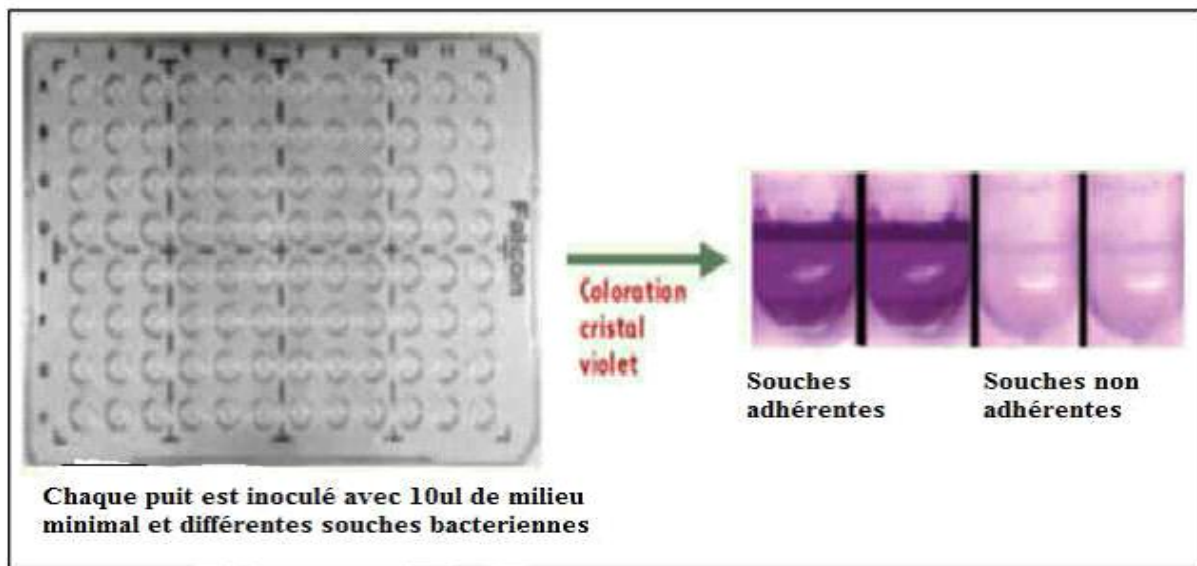


Figure N°2 : Principe de la mesure de la biomasse par la méthode au CV (Filloux et Vallet I, 2003).

Synthèse bibliographique

Il existe plusieurs méthodes d'étude des biofilms résumées dans la (**Figure N°3**), visant à guider les scientifiques vers les techniques les plus appropriées et les plus pointues pour une meilleure compréhension des biofilms. Cette figure comprend différents dispositifs de biofilm, des méthodes pour évaluer l'étendue et la force de l'adhésion, et les techniques pour mesurer la biomasse du biofilm, sa viabilité et la composition de sa matrice (**Azeredo et coll., 2017**).

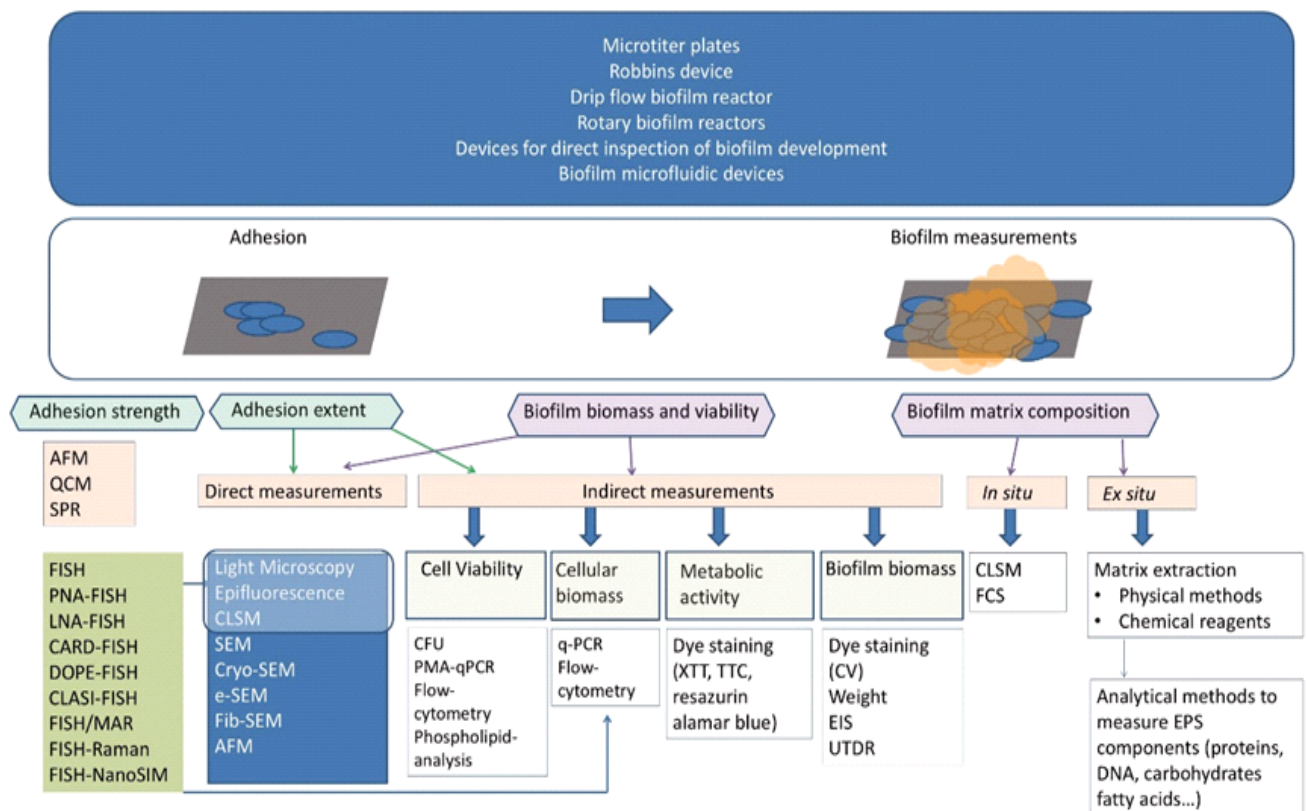


Figure N°3 : Aperçu des méthodes de culture et de caractérisation des biofilms (**Azeredo et coll., 2017**).

4. Stratégies thérapeutiques pour lutter contre les biofilms

4.1. Hygiène

La pose de l'implant doit se faire dans des conditions d'hygiène strictes, afin d'éviter toute contamination. L'application de mesures d'hygiène maximale en contexte opératoire n'est pas spécifiquement une mesure anti-biofilm. Néanmoins, la limitation des risques de contamination du site opératoire et l'application stricte des recommandations concernant la manipulation des dispositifs limitent le risque d'adhérence bactérienne initiale (**O'grady, 2011**).

4.2. Ciblage de la matrice extracellulaire

Les stratégies de traitement combinatoire sont cruciales pour éradiquer les biofilms en ciblant la matrice polymère extracellulaire fonctionnellement et structurellement complexe et les cellules microbiennes intégrées, également une meilleure compréhension de la nature multiple de la matrice du biofilm peut conduire à des approches plus efficaces pour contrôler les maladies liées au biofilm (**Karygianni et coll., 2020**).

4.3. L'antibiothérapie

Jusqu'à présent, plusieurs méthodologies utilisant des antibiotiques comme anti-biofilm, anti-virulence ou quorum quenching (QQ) ont été développées pour l'inhibition du biofilm et l'éradication d'un biofilm mature préformé (**Khan et coll., 2020**). L'utilisation d'antibiotiques sous forme retard, ingérés sous forme inactive puis activés au sein de la cellule bactérienne, est une stratégie en cours d'étude (**Lewis, 2008**).

4.4. Le vaccin anti-biofilm

On peut utiliser le vaccin contre le biofilm à but d'immuniser un individu contre certains antigènes bactériens exprimés lors de l'adhérence initiale (adhésines) ou dans le biofilm mature (polysaccharides de la matrice) afin d'empêcher le développement du biofilm. Des vaccins sont actuellement en cours de développement, comme par exemple les vaccins contre les caries, dirigés contre *Streptococcus mutans* [(**Pflumm, 2011**) ; (**Bury-Moné, 2007**)].

Synthèse bibliographique

4.5. Ciblage des bactéries persistantes

Le développement de substance capable de détruire la population bactérienne persistantes en profondeur du biofilm pourrait être une nouvelle approche thérapeutique. Les gènes responsable de la persistance pourrait également être identifiés pour servir comme cibles pour les nouveaux médicaments. Un inhibiteur de la persistance pourrait être combiné avec un antimicrobien pour tenter d'éradiquer un biofilm (**Del Pozo et Patel, 2007**).

4.6. La phagothérapie

Plusieurs études réalisées *in vitro* ont prouvé l'efficacité des phages comme agents antibactériens contre le biofilm et les cellules planctoniques d'*ESKAPE* [(**Pallavali et coll., 2017**) ; (**Dvořáčková et coll., 2019**) ; (**Jamal et coll., 2019**)].

Les chercheurs ont démontré l'efficacité d'un phage génétiquement modifié pour tuer les cellules du biofilm et réduire l'EPS par l'action de la dépolymérase associée au phage (**Donlan, 2011**).

4.7. Brouillage des communications

Le ciblage du QS représente une stratégie prometteuse pour inhiber les traits bactériens indésirables. Cette stratégie, appelée quorum quenching (QQ), comprend les inhibiteurs QS et les enzymes QQ, telles que les lactonases, sont prometteuses car elles agissent de manière extracellulaire catalytique. Les approches QQ ne tuent pas les bactéries, ce qui peut limiter l'émergence de la résistance (**Bzdrenga et coll., 2017**), QQ a également montré des effets synergiques avec des traitements antibactériens classiques. Il permettrait notamment d'augmenter la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Ceci constitue une piste thérapeutique prometteuse pour lutter contre les infections bactériennes et limiter les conséquences de l'antibiorésistance (**Mion et coll., 2019**).

Synthèse bibliographique

La figure N°4 montre les mécanismes d'action de QQ.

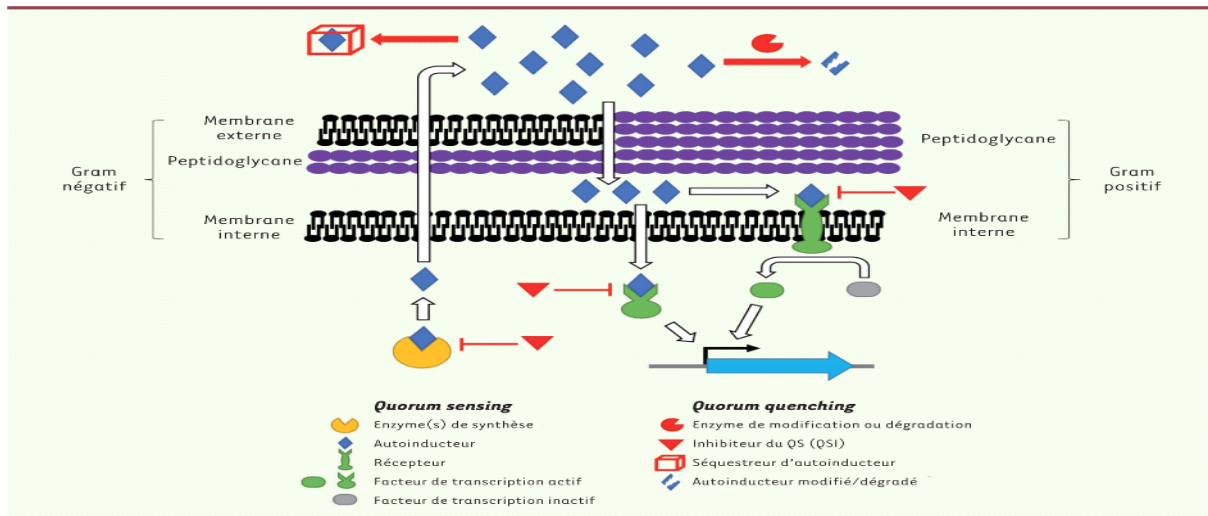


Figure N°4 : Mécanismes du quorum sensing bactérien et des différentes stratégies de quorum quenching (Bzdrenga et coll., 2017)

4.8. Relation Biofilms-plantes médicinales

Plusieurs plantes médicinales, huiles essentielles et produits naturels présentent des pistes très intéressantes pour arrêter les infections associées aux biofilms. Certaines, comme la canneberge, inhibe l'adhésine qui est une protéine utilisée par les bactéries pour adhérer aux surfaces, à la base de la formation des biofilms. Le jus de canneberge est d'ailleurs utilisé traditionnellement pour enrayer les infections urinaires qui sont, comme nous l'avons vu, reliées à des biofilms (Bezoui, 2016).

Les substances naturelles des plantes médicinales se sont montrées efficaces contre les médiateurs du QS dans ces dernières années. Elles peuvent inhiber, interférer ou séquestrer les auto-inducteurs du QS. Ainsi, elles peuvent supprimer les phénotypes qui en résultent tels que la bioluminescence et la formation de biofilms. Le système du QS est important comme cible thérapeutique spécifique de substances naturelles extraites des plantes médicinales (Bouyahya et coll., 2018).

4.9. La modification de la surface des biomatériaux

La prévention de la colonisation microbienne peut également être réalisée par la modification de la surface des biomatériaux, qui impliquent des techniques variables, telles que : revêtement, imprégnation, immersion, incorporation de l'agent thérapeutique dans la matrice polymère, fixation covalente d'un agent antimicrobien au monomère avant la polymérisation (le polymère-agent conjugué) (McCann et coll., 2008), et le traitement de surface du plasma (Zhang et coll., 2006).

Toutefois, malgré les efforts déployés, il est encore très difficile d'obtenir un matériau totalement résistant à la colonisation microbienne car *in vivo*, tout matériau est couvert immédiatement par un film de conditionnement formé de macromolécules adsorbées sur le sang, qui sert de récepteur pour les adhésines microbiennes impliquées dans l'adhésion (Arciola et coll., 2005).

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Les infections associées aux soins sont connues dans le monde entier et touchent les différentes structures hospitalières tout âge confondu. Ces infections demeurent un problème majeur malgré les avancées scientifiques et techniques dans le domaine de la santé. Elles ont un impact direct sur l'augmentation de la mortalité et la morbidité, sur la prolongation de l'hospitalisation ainsi que des complications socio-économiques importantes.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

1. Alhede M., K. Qvortrup, R. Liebrechts, N. Høiby, M. Givskov, T. Bjarnsholt. 2012. Combination of microscopic techniques reveals a comprehensive visual impression of biofilm structure and composition. *FEMS Immunol Med Microbiol.*, 65:335-42.
2. Arciola, C. R., Campoccia, D., Gamberini, S., Baldassarri, L., & Montanaro, L. (2005). Prevalence of *cna* *fnbA* and *fnbB* adhesin genes among *Staphylococcus aureus* isolates from orthopedic infections associated to different types of implant. *FEMS microbiology letters*, 246(1), 81-86.
3. Azeredo, J., Azevedo, N. F., Briandet, R., Cerca, N., Coenye, T., Costa, A. R., ... & Kačániová, M. (2017). Critical review on biofilm methods. *Critical reviews in microbiology*, 43(3), 313-351.
4. BAKINI B ; NIGRI M (2014), Synthèse bibliographique sur les infections des dispositifs médicaux en milieu hospitalier. Rapport du stage. Université Kasdi Merbah. Ouargla (Algérie), 64 p.
5. Baranovsky, S. (2020). Circulation et persistance de pathogènes nosocomiaux multirésistants et hautement résistants émergents dans l'environnement hospitalier: complexité des unités de transmission (Doctoral dissertation, Montpellier).
6. BENMAHDI L (2017), Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique : bactériologie et biofilm. Thèse de doctorat. Université Ahmed ben bella. Oran (Algérie) ,180 p.
7. BEZOUÏ M (2016), Biofilms bactériens et leur Implication en pathologie humaine, Thèse du doctorat, Université Mohammed v-rabat, 170 p.
8. Bouyahya, A., Guaouguaou, F. E., Dakka, N., & Bakri, Y. (2018). Quorum sensing: une nouvelle cible anti-infectieuse des plantes médicinales. *Phytothérapie*, 16(6), 365-373.
9. Bowen, W. H., Burne, R. A., Wu, H., & Koo, H. (2018). Oral biofilms: pathogens, matrix, and polymicrobial interactions in microenvironments. *Trends in microbiology*, 26(3), 229-242.
10. Bury- Moné S. (2007) Les biofilms. Polycoché. Ecole Normale Supérieure de Cachan. 17p.
11. Bzdrenga, J., Daudé, D., Remy, B., Jacquet, P., Plener, L., Elias, M., & Chabriere, E. (2017). Biotechnological applications of quorum quenching enzymes. *Chemico-biological interactions*, 267, 104-115.

Références bibliographiques

12. Chaib, Y., ELanssari, A., Aouane, M., Hamama, S., Oujar, N., Chakhtoura, K., ... & Soulaymani, A. (2016). Les facteurs liés aux patients hospitalisés favorisant l'infection nosocomiale [The factors related to the patients hospitalized favoured nosocomial infections]. *International Journal of Innovation and Applied Studies*, 14(2), 472.
13. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., Beachey E.H. (1985) Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *Journal of clinical microbiology*, 22(6), 996-1006.
14. Coenye T, Nelis HJ. In vitro and in vivo model systems to study microbial biofilm formation. *J Microbiol Methods*. 2010;83:89–105
15. Costerton J. W., Z lewandowski, D.E. Caldwell, D. R. Corber, H.M. Lappin-Scott. 1995. Microbial biofilms. *Annual reviews of microbiology*, 49: 711-745.
16. Dade-Robertson, M., Keren-Paz, A., Zhang, M., & Kolodkin-Gal, I. (2017). Architects of nature: growing buildings with bacterial biofilms. *Microbial Biotechnology*, 10(5), 1157-1163.
17. DAOUADJI DS (2010), Détection de biofilm a staphylocoques sur cathéters veineux, Mémoire du master. Université Abou Bekr Belkaid. Tlemcen (Algérie) ,99 p.
18. Del Pozo, J. L., & Patel, R. (2007). The challenge of treating biofilm-associated bacterial infections. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 82(2), 204-209. dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires*, 2010(426), 51-63.
19. Donlan RM. Biofilms and Device-Associated Infections. 2001;7(2):277–81.
20. Donlan, R. M. (2011). Biofilm elimination on intravascular catheters: important considerations for the infectious disease practitioner. *Clinical infectious diseases*, 52(8), 1038-1045.
21. Dragoš, A., & Kovács, Á. T. (2017). The peculiar functions of the bacterial extracellular matrix. *Trends in microbiology*, 25(4), 257-266.
22. Dvořáčková, M., Růžička, F., Benešík, M., Pantůček, R., & Dvořáková-Heroldová, M. (2019). Antimicrobial effect of commercial phage preparation Stafal® on biofilm and planktonic forms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Folia microbiologica*, 64(1), 121-126.
23. Edith, L., Swider, P., Duru, P., Quintard, M., & Davit, Y. (2016, October). Imagerie de Biofilm en Milieux Poreux par Micro-Tomographie X.
24. Espinasse F., Page B., Cottard-Boulle B. (2010) Risques infectieux associés aux dispositifs médicaux invasifs. *Revue francophone des laboratoires* (426),51-63.

Références bibliographiques

25. Fabbro-Peray, P., Sotto, A., Defez, C., Cazaban, M., Molinari, L., Pinede, M., ... & Daures, J. P. (2007). Mortality attributable to nosocomial infection: a cohort of patients with and without nosocomial infection in a French university hospital. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 28(3), 265-272.
26. Fernandes R.A., Monteiro D.R., Arias, L.S., Fernandes G.L., Delbem A.C.B., and Barbosa D.B. (2016) Biofilm formation by *Candida albicans* and *Streptococcus mutans* in the presence of farnesol: a quantitative evaluation. *Biofouling*, 32(3), 329-338.
27. Filloux A. et Vallet I(2003). Biofilm : mise en place et organisation d'une communauté bactérienne. *Medecine/sciences*. 19, 77-83.
28. Flemming, H. C., Wingender, J., Szewzyk, U., Steinberg, P., Rice, S. A., & Kjelleberg, S. (2016). Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nature Reviews Microbiology*, 14(9), 563.
29. Gachot, B., & Coriat, P. (2019). Le risque médico-judiciaire des infections nosocomiales. *Médecine & Droit*.
30. Gozoua, E. (2019). Etude du quorum sensing des bactéries organisées en biofilm en vue de la mise en place des biocides non toxiques (Doctoral dissertation, Université de Toulon; Université Nangui Abrogoua (Abidjan)).
31. Harriott, M. M., & Noverr, M. C. (2011). Importance of *Candida*-bacterial polymicrobial biofilms in disease. *Trends in Microbiology*, 19(11), 557-563.
32. Hennig, S., Rödel, G., & Ostermann, K. (2015). Artificial cell-cell communication as an emerging tool in synthetic biology applications. *Journal of biological engineering*, 9(1), 1-12. Introduction. *Ann Pathol*. 2019;39:246-7
33. Huang, Z., Wu, L., Li, X., Ma, L., Borriss, R., & Gao, X. (2020). Zn (II) suppresses biofilm formation in *Bacillus amyloliquefaciens* by inactivation of the Mn (II) uptake. *Environmental Microbiology*, 22(4), 1547-1558.
34. Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M. A., ... & Kamil, M. A. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(1), 7-11.
35. Jamal, M., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M. A., Hussain, T., ... & Das, C. R. (2019). Isolation, characterization and efficacy of phage MJ2 against biofilm forming multi-drug resistant *Enterobacter cloacae*. *Folia microbiologica*, 64(1), 101-111.
36. Kannappan, A., Balasubramaniam, B., Ranjitha, R., Srinivasan, R., Packiavathy, I. A. S. V., Balamurugan, K., ... & Ravi, A. V. (2019). In vitro and in vivo biofilm inhibitory

Références bibliographiques

- efficacy of geraniol-cefotaxime combination against *Staphylococcus* spp. *Food and Chemical Toxicology*, 125, 322-332.
37. Karygianni, L., Ren, Z., Koo, H., & Thurnheer, T. (2020). Biofilm Matrixome: Extracellular Components in Structured Microbial Communities. *Trends in Microbiology*.
38. Kendall, M. M., & Sperandio, V. (2007). Quorum sensing by enteric pathogens. *Current opinion in gastroenterology*, 23(1), 10-15.
39. Keren-Paz, A., Brumfeld, V., Oppenheimer-Shaanan, Y., & Kolodkin-Gal, I. (2018). Micro-CT X-ray imaging exposes structured diffusion barriers within biofilms. *NPJ biofilms and microbiomes*, 4(1), 1-4.
40. Khan, F., Pham, D. T., Oloketuyi, S. F., & Kim, Y. M. (2020). Antibiotics Application Strategies to Control Biofilm Formation in Pathogenic Bacteria. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 21(4), 270-286.
41. Kim, M. K., Zhao, A., Wang, A., Brown, Z. Z., Muir, T. W., Stone, H. A., & Bassler, B. L. (2017). Surface-attached molecules control *Staphylococcus aureus* quorum sensing and biofilm development. *Nature microbiology*, 2(8), 17080.
42. Koo, H., & Yamada, K. M. (2016). Dynamic cell–matrix interactions modulate microbial biofilm and tissue 3D microenvironments. *Current opinion in cell biology*, 42, 102-112.
43. Kostoulias X., Murray G.L., Cerqueira G.M., Kong J.B., Bantun F., Mylonakis E., Khoo C.A. and Peleg A.Y. (2016) Impact of a cross-kingdom signaling molecule of *Candida albicans* on *Acinetobacter baumannii* physiology. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(1), 161-167.
44. Lebeaux, D., Ghigo, J. M., & Beloin, C. (2014). Tolérance des biofilms aux antibiotiques: comprendre pour mieux traiter. *Journal des Anti-infectieux*, 16(3), 112-121.
45. Lewis, K. (2008). Multidrug tolerance of biofilms and persister cells. In *Bacterial biofilms* (pp. 107-131). Springer, Berlin, Heidelberg.
46. Li X.Z., Hauer B., Rosche B. (2007) Single-species microbial biofilm screening for industrial applications. *Applied microbiology and biotechnology*, 76(6), 1255-1262.

Références bibliographiques

47. Li, C., Wagner, M., Lackner, S., & Horn, H. (2016). Assessing the influence of biofilm surface roughness on mass transfer by combining optical coherence tomography and two-dimensional modeling. *Biotechnology and bioengineering*, 113(5), 989-1000.
48. Li, X., Chopp, D. L., Russin, W. A., Brannon, P. T., Parsek, M. R., & Packman, A. I. (2015). Spatial patterns of carbonate biomineralization in biofilms. *Applied and environmental microbiology*, 81(21), 7403-7410.
49. Li, X., Chopp, D.L., Russin, W.A., Brannon, P.T., Parsek, M.R., and Packman, A.I. (2016c) In situ biomineralization and particle deposition distinctively mediate biofilm susceptibility to chlorine. *Appl Environ Microbiol* 82: 2886–2892.
50. Li, X., Lu, N., Brady, H.R. and Packman, A.I. (2016a) Biomineralization strongly modulates the formation of *Proteus mirabilis* and *Pseudomonas aeruginosa* dual-species biofilms. *FEMS Microbiol Ecol* [Epub ahead of print] DOI: 10.1093/femsec/fiw189.
51. Li, X., Lu, N., Brady, H.R., and Packman, A.I. (2016b) Ureolytic biomineralization reduces *Proteus mirabilis* biofilm susceptibility to ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 60: 2993–3000.
52. Li, X., Yan, Z., & Xu, J. (2003). Quantitative variation of biofilms among strains in natural populations of *Candida albicans*. *Microbiology*, 149(2), 353-362
53. MATHUR, T., SINGHAL, S., KHAN, S., UPADHYAY, D.J., FATMA, T., RATTAN, A. (2006). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of staphylococci: an evaluation of three different screening methods. *Indian Journal of Medical Microbiology*. pp. 25-29
54. McCann, M.T., et al., 2008. *Staphylococcus epidermidis* device-related infections: pathogenesis and clinical management. *J. Pharm. Pharmacol.* 60, 1551–1571.
55. Melo, P. D. C., Ferreira, L. M., Nader Filho, A., Zafalon, L. F., Vicente, H. I. G., & Souza, V. D. (2013). Comparison of methods for the detection of biofilm formation by *Staphylococcus aureus* isolated from bovine subclinical mastitis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 44(1), 119-124.
56. Mion, S., Rémy, B., Plener, L., Chabrière, É., & Daudé, D. (2019). Quorum sensing et quorum quenching: Comment bloquer la communication des bactéries pour inhiber leur virulence?. *médecine/sciences*, 35(1), 31-38.
57. Moura, J., Baylina, P. et Moreira, P. (2017), Exploring the real costs of healthcare-associated infections: an international review, *International Journal of Healthcare Management*, Vol. 11, N° 4, p. 333-340.

Références bibliographiques

58. Nasr, R. A., AbuShady, H. M., & Hussein, H. S. (2012). Biofilm formation and presence of icaAD gene in clinical isolates of staphylococci. *Egyptian journal of medical human genetics*, 13(3), 269-274.
59. Neoh, K. G., Li, M., Kang, E. T., Chiong, E., & Tambyah, P. A. (2017). Surface modification strategies for combating catheter-related complications: recent advances and challenges. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(11), 2045-2067.
60. Neu TR, Lawrence JR. (2015). Innovative techniques, sensors, and approaches for imaging biofilms at different scales. *Trends Microbiol* 23:233–42
61. Niang, B. A., & Lakhe, N. A. (2019). Enquête sur les connaissances des facteurs favorisant des Infections Associées aux Soins (IAS) auprès du personnel du service des maladies infectieuses du centre hospitalier national universitaire de Fann. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 49(4), S165.
62. O'Toole G A (2003). To build a biofilm. *Journal of bacteriology*; 185 (9) : 2687 - 2689.
63. O'grady, N. P., Alexander, M., Burns, L. A., Dellinger, E. P., Garland, J., Heard, S. O., ... & Raad, I. I. (2011). Guidelines for the prevention of intravascular catheter-related infections. *Clinical infectious diseases*, 52(9), e162-e193.
64. Oppenheimer-Shaanan, Y., Sibony-Nevo, O., Bloom-Ackermann, Z., Suissa, R., Steinberg, N., Kartvelishvily, E., et al . (2016) Spatio-temporal assembly of functional mineral scaffolds within microbial biofilms. *NPJ Biofilms Microbiomes* 2: 15031.
65. Organisation Mondiale de la Santé (O.M.S.). (2020). Pourquoi un défi mondial sur les infections nosocomiales. Un soin propre est un soin plus sûr.
66. Pallavali, R. R., Degati, V. L., Lomada, D., Reddy, M. C., & Durbaka, V. R. P. (2017). Isolation and in vitro evaluation of bacteriophages against MDR-bacterial isolates from septic wound infections. *PloS one*, 12(7), e0179245.
67. Pflumm M. Caught on film. *Nat Med* 2011 ; 17 : 650–653
68. Ramage G., Saville S.P., Thomas D.P., López-Ribot J.L. (2005) *Candida* biofilms: an update. *Eukaryotic Cell*, 4(4), 633-638.
69. Rodrigues, M. E., Gomes, F., & Rodrigues, C. F. (2020). *Candida* spp./bacteria mixed biofilms. *Journal of Fungi*, 6(1), 5.

Références bibliographiques

70. Singh, D. K., Tóth, R., & Gácsér, A. (2020). Mechanisms of Pathogenic Candida Species to Evade the Host Complement Attack. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 94.
71. SOREL S (2005), La biocompatibilité des dispositifs médicaux : définition, mécanismes et évaluations - Exemple la biocompatibilité des membranes de dialyse. Thèse de doctorat. Université de Nantes. Paris (France), 136 p.
72. Stepanovic S., DraganaVukovic D., Dakic I. et al., (2000), A modifiedmicrotiterplate test for quantification of staphylococcal biofilm formation, *Journal of MicrobiologicalMethods*, 40: 175–179.
73. Stoica, P., Chifiriuc, M. C., Rapa, M., & Lazăr, V. (2017). Overview of biofilm-related problems in medical devices. In *Biofilms and Implantable Medical Devices* (pp. 3-23). Woodhead Publishing.
74. Trinidad A., A. Ibáñez, D. Gómez, J.R. García-Berrocal, R. Ramírez-Camacho. 2010. Application of environmental scanning electron microscopy for study of biofilms in medical devices. *Microscopy: Science, Technology, Applications and Education A. Méndez-Vilas and J. Díaz (Eds.)*. Formatex 2010.
75. Wongsuk T., Pumeesat P. and Luplertlop N. (2016) Fungal quorum sensing molecules: role in fungal morphogenesis and pathogenicity. *Journal of basic microbiology*, 56(5), 440-447.
76. Yang, M., Meng, F., Gu, W., Li, F., Tao, Y., Zhang, Z., ... & Yu, J. (2020). Effects of Natural Products on Bacterial Communication and Network-Quorum Sensing. *BioMed Research International*, 2020.
77. Zhang, W., Chu, P.K., Ji, J., Zhang, Y., Liu, X., Fu, R.K.Y., Ha, P.C.T., Yan, Q., 2006. Plasma surface modification of poly vinyl chloride for improvement of antibacterial properties. *Biomaterials* 27, 44–51.
78. Zhou, L., Zhang, L. H., Cámara, M., & He, Y. W. (2017). The DSF family of quorum sensing signals: diversity, biosynthesis, and turnover. *Trends in microbiology*, 25(4), 293-303.