

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique

*Ecole Nationale Polytechnique Département
Génie de l'Environnement*



*Mémoire de master en génie de
l'environnement*

*Présenté par
MOUD Mohammed Imad Eddine
Thème*

***Formation du biofilm sur les matériaux à
usage médical et stratégie de lutte***

Proposé et encadré par : **Mme Y.DJEMAI -ZEGHLACHE**
Soutenu le: 29 juin 2017 devant le Jury composé de :

Présidente : Mme N.BELHANECHÉ	Professeur	ENP
Prometteur : Mme Y.DJEMAI ZEGHLACHE	MCB	ENP
Examinatrice : Mme S.AROUA	MCB	ENP

ENP 2017

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET
POPULAIRE**

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique

*Ecole Nationale Polytechnique Département
Génie de l'Environnement*



*Mémoire de master en génie de
l'environnement*

*Présenté par
MOUD Mohammed Imad Eddine
Thème*

***Formation du biofilm sur les matériaux à
usage médical et stratégie de lutte***

Proposé et encadré par : **Mme Y.DJEMAI -ZEGHLACHE**
Soutenu le: 29 juin 2017 devant le Jury composé de :

Présidente : Mme N.BELHANECHÉ	Professeur	ENP
Prometteur : Mme Y.DJEMAI ZEGHLACHE	MCB	ENP
Examinatrice : Mme S.AROUA	MCB	ENP

ENP 2017

DEDICACE

À la mémoire de mon très cher père,

À ma très chère mère,

À mes frères et mes sœurs,

À mes nièces et mes neveux

À tous mes proches,

À tous mes amis,

À tous ce que j'aime beaucoup.

Je dédie ce modeste travail

Imad

Remerciements

Je tiens à remercier, en premier lieu, Dieu le tout puissant, qui m'a accordé santé, courage et bonne foi afin que Je puisse achever ce modeste travail.

Si ce mémoire a connu le jour, c'est grâce à Madame Y.DJEMAI -ZEGHLACHE Maitre de conférences à l'ENP, mon promoteur académique. A cet effet, je lui exprime mes profonds remerciements pour l'aide qu'elle m'a apportée, pour sa patience, sa confiance, son encouragement, et son œil critique qui m'a été très précieux pour structurer le travail et pour améliorer la qualité des différentes sections de mon mémoire, je la remercie vivement.

Je tiens à remercier chaleureusement Mme N.BELHANECHÉ Professeur à l'ENP pour avoir accepté de présider le jury.

Mes remerciements s'adressent également à madame S.AROUA, Maitre Conférence à L'ENP pour le temps qu'elle a accordé à l'évaluation de ce travail.

Je tiens aussi à adresser mes remerciements les plus sincères à toute l'équipe pédagogique qui m'a accompagné tout au long de ma formation à l'École Nationale Polytechnique pour la qualité d'enseignement prodigué et l'engagement dont ils ont fait preuve. En outre, je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué afin que je parvienne au bout de ce manuscrit.

ملخص:

البيوفيلم هو مجتمع من الكائنات الحية الدقيقة متماسكة ببعضها البعض ومثبتة على سطح. والبيوفيلم يمكنه ان يتشكل على مجموعة واسعة من المواد الحيوية ذات الاستعمال الطبي. الغرض من هذا العرض هو تقديم المعارف الحالية حول آلية تشكيل بيوفيلم على المواد ذات الاستعمال الطبي مثل القسطرة، القسطرة البولية، العدسات اللاصقة، ... التنظير. لوصف مدى تأثيرها على صحة المرضى وتقديم وسائل الكفاح المتاحة المناسبة. وقد قمنا بتسليط الضوء على استراتيجيات تقوم على وجهين رئيسيين هما: أ منع تشكله وكيفية القضاء عليها في حالة وجودها. **كلمات البحث:** الأغشية الحيوية، المواد الحيوية، ويزرع، والأجهزة الطبية، عدوى المستشفيات، استراتيجية كفاح.

Abstract:

A biofilm is a community of microorganisms adhering to each other and attached to a surface. Biofilms can form on a wide variety of biomaterials for medical use. The purpose of this bibliographic study is to state the state of knowledge about the mechanism Of biofilm formation on materials for medical use such as: catheter, urinary catheter, contact lens, endoscopy.... , To describe their impact on the health of the patients and to present the appropriate means of fighting against their training. Therefore, some control strategies have been identified, based on two main axes: preventing their training as a preventive measure, then, when present, how to eradicate them.

Key words: biofilm, biomaterials, implants, medical devices, nosocomial infections, Fighting strategy.

Résumé:

Un biofilm est une communauté de microorganismes adhérant entre eux et fixés à une surface .Les biofilms peuvent se former sur une grande variété des biomatériaux à usage médical, Le but de cette étude bibliographique, est d'exposer l'état des connaissances concernant le mécanisme de formation des biofilms sur les matériaux à usage médical tels que : cathéter, sonde urinaire, lentille de contact, endoscopie , de décrire leur impact sur la santé des patients et présenter les moyens de lutte adéquats existants contre leur formation .Ainsi on a mis en évidence quelques stratégies de lutte et cela en se basant sur deux axes principaux : empêcher leur formation à titre préventif, puis, lorsqu'ils sont présents, comment les éradiquer.

Mots clés : biofilm, biomatériaux, implants, dispositifs médicaux, infections nosocomiales, stratégie de lutte.

TABLE DES MATIÈRES

Liste de tableaux.

Liste de figures.

Liste d'abréviations.

I. INTRODUCTION	13
II. LES BIOMATERIAUX	15
II.1 Définition	15
II.2 Classification des biomatériaux	16
II.1.1 La bioinertie	16
II.1.2 La bioactivité.....	16
II.1.3 La bioresorption.....	16
II.3 La biocompatibilité	18
II.3.1 essais primaires:.....	18
II.3.2 essais secondaires	18
III. LES DISPOSITIFS MEDICAUX:	20
III.1 Définition	20
III.2 Critères de classification	20
III.3 Certification des matériaux utilisés	21
III.4 L'analyse du risque	21
IV. LES BIOFILMS	23
IV.1 Historique	23
IV.2 Définition:	23

IV.3 Etapes de formation des biofilms :	23
IV.3.1 L'adhérence réversible	24
IV.3.2 L'adhérence irréversible	24
IV.3.3 Le développement précoce du biofilm	25
IV.3.4 La maturation du biofilm	25
IV.3.5 Le détachement de bactéries	25
IV.4 Régulation de la formation de biofilm :	26
IV.4.1 Le quorum sensing	26
IV.4.2 Les molécules impliquées dans le quorum sensing :	26
IV.4.3 Altération du quorum sensing	26
IV.5 Les Propriétés du biofilm	27
IV.5.1 Résistance aux antibiotiques	27
IV.5.2 La résistance à l'immunité	28
IV.5.3 Rapidité d'acquisition d'éléments génétiques	28
IV.6 Facteurs favorisant la formation d'un biofilm	29
IV.6.1 Les caractéristiques de la surface du dispositif médical	29
<i>IV.6.1.1</i> La nature du matériau	29
<i>IV.6.1.2</i> La charge de surface et le caractère hydrophobe des matériaux	30
<i>IV.6.1.3</i> La rugosité de la surface	30
IV.6.1.4 Présence de films protéiques sur la surface	30
IV.6.2 Caractéristiques du milieu:	30
<i>IV.6.2.1</i> La température	30
<i>IV.6.2.2</i> PH	30

IV.6.2.3	Concentration en oxygène, concentration en fer, osmolarité, présence d'ions spécifiques.....	31
IV.6.2.4	Sources de carbones disponibles.....	31
IV.6.2.5	Concentration en nutriments.....	31
IV.6.2.6	Concentrations en certains cations.....	31
IV.6.2.7	Hydrodynamique du fluide.....	31
IV.6.3	Propriétés des cellules.....	31

V.MECANISME ET IMPACTS DE FORMATION DU BIOFILM SUR LES MATERIAUX A USAGE MEDICAL.....33

V.1	Importance des biofilms dans le secteur médical : Le problème d'infection nosocomiale ..	33
V.2	cathéter	34
V. 2.1	Mécanisme de formation de biofilm de staphylocoques sur cathéter:	34
V.3	Sonde urinaire:	35
V3.1	Nature de matériaux:.....	35
V3.2	Mécanisme	36
V3.2.1	Lors de la mise en place de la sonde	38
V3.2.2	Par voie endoluminale.....	38
V3.2.3	Par voie extraluminale ou périurétrale	38
V3.3	Microbiologie des infections urinaires associées au sondage urinaire	39
V 4	Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique	40
V.4.1	Définition :	40
V.4.2	Mécanisme de formation de biofilm.....	41
V.4.3	Microbiologie des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique	42

V.5.lentille de contact :	42
V 5.1 Définition	42
V. 5.2Les risques infectieux liés au port des lentilles de contacts:	43
V. 5.2.2 Les infections fongiques:	43
V.5.2.3Les infections amibiennes:.....	43
V.5.2.4Les infections virales:	43
V. 5.2.5Les infections bactériennes:	44
V .5.2.5.1 Serratia marcesens:	44
V. 5.2.5.2 Pseudomonas aeruginosa:	44
V .5.2.5.3 Staphylococcus aureus:	44
V.5.2.5.4 Staphylococcus epidermidis:	45
V.6 Endoscopie	45
VI. STRATEGIE DE LUTTE CONTRE LA FORMATION DU BIOFILM	47
VI. 1 Moyens de lutte contre la formation des biofilms	47
VI. 1.1 Les dispositifs imprégnés de substances hydrophiles	47
VI.1.2Les dispositifs imprégnés d'argent ou de substances antimicrobiennes	47
.VI .1.3 Les agentschélateurs	48
VI. 1.4L'éthanol	48
VI. 2 Techniques d'élimination du biofilm	48
VI.2.1L'antibiothérapie:	48
VI.2.2 Cibler la matriceexopolysaccharidique	49
VI.2.3Cibler les bactériespersistantes	49
VI.2.4Inhiber le quorumsensing	49
VI.2.5 Diminuer la tolérance du biofilm	50

VI.2.6 Favoriser la dispersion.....	50
VII CONCLUSION.....	52
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	54
Webographie.....	54

Liste de tableaux :

Tableau II.1: Domaines d'application de biomatériaux (Passuti, 1989)	15
Tableau II.2: Classification de biomatériaux (Hench 1998 ; Hulbert 1987).....	17
Tableau III.1: Classification des dispositifs médicaux (93/42/CE).....	21
Tableau V.1 : Principales infections liées à la présence du biofilm (Lewis, 2008).....	33
Tableau V.2: Différentes matières utilisées pour le sondage urinaire et leur complication (CCLIN, 2012)	36.
Tableau V.3 : Facteurs de risque d'une bactériurie associée à un acte invasif sur le tractus urinaire (Maki ,2009).....	40

Liste de figures :

Figure IV.1 Schéma présentant les étapes du développement du biofilm (Otto, 2012).....	24
Figure IV.2 : Représentation schématique des mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques [(Lewis, 2007) ;(De la Fuente-Nunez et <i>coll.</i> , 2013)].....	28
Figure V.1: Modèle de développement de <i>Staphylococcus epidermidis</i> à la surface d'un cathéter (Van Eiff et al, 2002).....	35
Figure V.2: Mécanisme de la formation du biofilm sur sonde urinaire (Jacobsen, 2008).....	36
Figure V.3: Microscopie électronique à balayage du biofilm d' <i>A. Baumannii</i> [(Longo et al, 2014 (Djeribi et al, 2012)].....	37.
Figure V.4 : Sondage vésical : principales voies d' d'acquisition des microorganismes (Botto, 2003)	39
Figure V.5: Intubation endotrachéale : principales voies d'acquisition des microorganismes (CTINILS ,2007).....	41

Liste des abréviations:

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

CCLIN : Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales.

ISO: International Standardisation Organisation.

L.M.A.A.B.E : Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

PAVM : Pneumopathie Acquis sous Ventilation Mécanique.

PCE : Parlement et Conseil Européen

I. Introduction

Les microorganismes qui sont attachés à une surface, sont organisés en communautés structurées, et englobées dans une matrice d'exopolysaccharides. Ce modèle de développement microbien, appelé **Biofilm, ou Biofouling** a pris une grande importance depuis sa découverte et sa confirmation dans les années 70 par Costerton.

Bien que cette forme de vie, présente de nombreux avantages, aussi bien pour les microorganismes, qui y trouvent toutes les conditions pour une meilleure croissance, que pour des applications dont ils sont l'objet dans les procédés biotechnologiques. Néanmoins, elle implique souvent de graves problèmes, notamment en santé publique où les infections liées aux dispositifs médicaux fabriqués à partir de matériaux pouvant favoriser l'adhérence et la survie des bactéries pathogènes dans l'environnement hospitalier, en leur procurant une protection contre l'action des agents antimicrobiens ainsi que les défenses immunitaires du patient.

Ainsi à l'hôpital, les surfaces susceptibles d'entrer en contact avec le patient soit directement, soit indirectement par l'intermédiaire de dispositifs médicaux ou les mains des personnes peuvent constituer des réservoirs microbiens, par conséquent l'OMS estime qu'entre 5 et 12 % des patients hospitalisés dans le monde développent **une infection nosocomiale** associée aux soins dont plus de 60 % sont dues à l'implantation d'un dispositif médical ou chirurgical [Ebrey *et al*, 2004], d'où la nécessité de comprendre les causes de formation de ces biofilms et d'établir une stratégie de lutte contre ce mode de développement afin d'atténuer ou éliminer son effet néfaste.

Cette étude, dont l'objectif est à intérêt bibliographique, est élaborée dans le cadre de la préparation du diplôme de Master (option Environnement.....). Elle est structurée comme suit :

- ✚ Présentation des matériaux à vocation de biomatériaux.
- ✚ Classification des dispositifs médicaux et leurs exigences
- ✚ Étude des modèles de formation des biofilms sur les matériaux à usage médical et leurs impacts.
- ✚ Énoncé de quelques stratégies de lutte existantes contre la formation du biofilm.

LES BIOMATERIAUX

II. Les biomatériaux

II.1 Définition:

L'utilisation des biomatériaux ayant des propriétés spécifiques pour des applications médicales a été bien reconnue dans les années 70. Au début, les recherches étaient concentrées sur les matériaux suscitant une faible réaction avec les tissus hôtes et qui pouvant supporter des fortes charges surfaciques qui peuvent engendrer des forces électrostatiques d'attraction ou de répulsion lors de l'approche de la bactérie. [Nath et al, 2004].

Il ne peut sans doute pas exister une définition totalement satisfaisante des biomatériaux.

Nous pouvons en retenir deux :

- La conférence de Chester de la Société Européenne des Biomateriaux, dite conférence du consensus en 1986 a retenu la définition suivante : "matériaux non vivants utilisés dans un dispositif médical destiné à interagir avec les systèmes biologiques."
- "tout matériau, naturel ou non, comprenant tout ou partie d'une structure vivante ou d'un appareil biomédical qui exécute ou remplace une fonction naturelle. [Marlot, 2012].

Les domaines d'application des biomatériaux sont nombreux, le tableau II.1 donne quelques exemples d'application en milieu médical.

Domaine d'application	Exemples
Ophtalmologie	<ul style="list-style-type: none"> • lentilles • implants • coussinets de récupération
Odontologie- Stomatologie	<ul style="list-style-type: none"> • matériaux de restauration et comblement dentaire et osseux • orthodontie • reconstruction maxillo-faciale
Chirurgie orthopédique	<ul style="list-style-type: none"> • prothèses articulaires (hanche, coude...) • remplacement osseux pour tumeur ou traumatisme • réparation de fractures (vis, plaques, ...)
Cardiovasculaire	<ul style="list-style-type: none"> • valves cardiaques • coeur artificiel • stimulateurs cardiaques
Urologie/ Néphrologie	<ul style="list-style-type: none"> • dialyseurs • poches, cathéters et tubulures pour dialyse péritonéale • rein artificiel portable
Endocrinologie- Chronothérapie	<ul style="list-style-type: none"> • pancréas artificiel • pompes portables et implantables • systèmes de libération contrôlée de médicaments
Chirurgie esthétique	<ul style="list-style-type: none"> • matériaux et implants pour chirurgie esthétique
Chirurgie générale et divers	<ul style="list-style-type: none"> • drains de chirurgie • colles tissulaires • peau artificielle

Tableau II.1: Domaines d'application de biomatériaux [Passuti, 1989]

II.2 Classification des biomatériaux:

La classification des biomatériaux repose sur plusieurs critères dont le type de réaction avec l'élément vivant : **bioactivité, bioinertie, biotoxicité et biosorption.**

II.2.1.Bioinertie:

Les matériaux Biologiquement inertes, ou Bioinertes, sont des matériaux qui n'initialisent pas une réponse ou ne sont pas interactifs lorsqu'ils sont introduits dans un tissu biologique. En d'autres termes, l'introduction du matériau au corps ne provoquera pas de réaction avec l'hôte. La raison pour laquelle ce type de matériau a été conçu est dû au fait que les matériaux qui initient une réponse peuvent avoir des effets néfastes sur l'hôte. [Blokhuis et al, 2007].

II.2.2.Bioactivité:

La bio-activité est définie comme la propriété de permettre des réactions chimiques spécifiques à l'interface implant-tissu receveur. Elle dépend directement des propriétés chimiques et physico-chimiques du matériau et s'oppose à la bio-inertie. [Mainard, 2003].

II.2.3.Biorésorption:

C'est l'altération d'un matériau dans un environnement biologique résultant d'une activité cellulaire, enzymatique, bactérienne, virale, et qui implique une biodégradation qui aboutit à la disparition du matériau, les produits de dégradation étant éliminés par voie rénale ou métabolisés [Mainard,2003].

Le tableau II.2 résume les quatre types de réaction en fonction des types de matériaux.

Type de biomatériau	Réaction de l'organisme	Matériau
Biotoxique	Le rejet de tissu vivant à la proximité du matériau suite à un procédé chimique, galvanique ou autre procédé.	Alliage contenant le cadmium, vanadium et autres éléments toxiques, les aciers, les carbures, et le méthylméthacrylate.
Bioinerte	Le matériau est lié au tissu vivant par une capsule fibreuse d'épaisseur variante.	Tantale, titane, aluminium et les oxydes de zirconium.
Bioactif	Formation d'un lien biochimique direct avec la surface du matériau accompagné d'une croissance libre.	Hydroxyapatite dense, phosphate tricalcique et certains bioverre.
Biorésorbable	Dissolution graduelle du matériau par le biosystème de l'organisme et son remplacement sans toxicité ou rejetement.	phosphate tricalcique, hydroxyapatite poreuse, sels de phosphate calcique, certains bioverre, polyuréthane.

Tableau II.2:Classification des biomatériaux [Hulbert 1987; Hench 1998].

D'après le tableau II.2, il n'y a pas une grande distinction entre les différents types de biomatériaux, ils peuvent être biotoxiques, bioinertes, bioactifs ou biorésorbables à de degrés variables. Par exemple, l'épaisseur de la couche fibreuse séparant le matériau du tissu vivant peut servir pour mesurer la bioinertie, elle varie de 0.1 mm dans le cas des matériaux faiblement inertes comme les aciers inoxydables à des couches moléculaires dans le cas des matériaux très inertes comme l'alumine et les oxydes de zirconium. En plus, la réaction du matériau avec le tissu vivant dépend de l'état physiologique de l'organisme. Dans certains cas, des éclats d'acier peuvent être encapsulés dans une couche de tissu fibreux et conservés dans un corps humain pendant des dizaines d'années (comme un matériau bioinerte), tandis que dans un autre organisme dans une situation similaire; une toxicité peut se produire en conduisant à la mort [Dubok,2000]

L'utilisation de ce type de biomatériaux (appelés matériaux bioinertes) a généré une révolution dans l'industrie céramique. Aujourd'hui les biomatériaux sont largement utilisés pour la réparation de tissus et des organes défectueux surtout avec le progrès de la biologie cellulaire et l'ingénierie tissulaire.

II.3 La biocompatibilité:

La notion de **biocompatibilité** est essentielle dans le domaine des biomatériaux. Soit, classiquement, biocompatibilité "négative", définie par les propriétés que le matériau **ne doit pas avoir** (pas de réaction inflammatoire, pas de toxicité, ...), soit, à la suite d'une évolution plus récente, biocompatibilité élargie (et si possible mesurable), définie comme "la capacité d'un matériau à être utilisé avec une réponse de l'hôte appropriée dans une application spécifique". Cette biocompatibilité "élargie" débouche sur la notion très actuelle de "**bioactivité**", par laquelle l'on souhaite que le matériau ne soit pas nécessairement le plus inerte possible, mais au contraire fasse réagir le tissu vivant. L'évaluation de la biocompatibilité ne peut être faite qu'à partir d'un ensemble de tests, Ces derniers doivent être réalisés mais surtout interprétés par des spécialistes en fonction de la future utilisation clinique du biomatériau. Il existe une chronologie des tests réalisés :

II.3.1 Essais primaires:

- essais de génotoxicité in vitro (**obligatoire en odontologie**).
- essais de cancérogénicité et reproduction (in vivo).
- essais d'hémolyse (in vitro).
- essais de toxicité systémique (in vivo).
- essais de cytotoxicité (in vitro) (**obligatoire en odontologie**).

II.3.2 Essais secondaires:

- essais d'irritation muqueuse (in vivo)
- essais d'irritation cutanée (in vivo)
- essais de sensibilisation (in vivo) (**obligatoire en odontologie**)
- essais d'implantation (in vivo) (**obligatoire en odontologie**)
- essais d'utilisation chez l'animal, dans les conditions normales d'utilisation du biomatériau (exemple : réalisation de cavités de classe V chez le singe afin d'évaluer la réaction pulpo-dentinaire à la mise en place d'un composite).
- essais cliniques chez l'homme.

LES DISPOSITIFS MEDICAUX

III. Les dispositifs médicaux:

III.1 Définition

Est considéré comme un DM : « ...tout instrument, appareil, équipement, logiciel, matière ou article, utilisé seul ou en association destiné par le fabricant à être utilisée chez l'homme à des fins de diagnostic, de prévention, de contrôle, de traitement ou d'atténuation d'une maladie ; de diagnostic, de contrôle, de traitement, d'atténuation ou de compensation d'une blessure ou d'un handicap ; d'étude ou de remplacement ou modification de l'anatomie ou d'un processus physiologique. et dont l'action principale voulue dans ou sur le corps n'est pas obtenue par des moyens pharmacologiques ou immunologiques ni par métabolisme . . . » [PCE 1882/2003].

III.2 Critères de classification

Suivant le niveau de risque lié à l'utilisation de ces DM, on distingue 4 classes de dispositifs (I, IIa, IIb, III ; [PCE 1882/2003] (voir tableau III.1).

- ✚ Les DM de classe I sont des dispositifs dont les risques d'utilisation sont faibles. Il s'agit en général de DM non invasifs (qui ne pénètrent pas à l'intérieur du corps que ce soit par un orifice naturel ou à travers la peau) et non actifs. Pour ces DM, le marquage CE est nécessaire à la mise sur le marché se fait par auto-certification du fabricant. Les plâtres médicaux ou les attelles externes sont considérés comme des DM de classe I.
- ✚ Les DM de classe II a sont en général des dispositifs invasifs temporaires (moins d'une heure d'utilisation) ou à court terme (d'une heure à 30 jours d'utilisation). Les guides de coupe osseuse sont des DM de classe IIa.
- ✚ Les DM de classe IIb correspondent le plus souvent à des dispositifs invasifs à long terme. Les plaques d'ostéosynthèse sont des DM de classe IIb. Pour ces deux classes, le dispositif doit être certifié (marqué CE) par type de référence (par exemple : les plaques en titane de 1 mm d'épaisseur) par un organisme notifié.
- ✚ Les DM de classe III concernent les dispositifs en contact avec le système circulatoire, le système nerveux ou le cœur. La certification de ces DM est similaire à celle des DM de classe II mais nécessite de plus que le système qualité mis en place soit qualifié ISO 13485 [AFNOR ,2012].

Comme le présente le Tableau III.1 la directive 93/42/CE classe les dispositifs médicaux en 4 catégories :

Classe I	Risque potentiel faible (instruments chirurgicaux réutilisables, dispositifs médicaux non invasifs, dispositifs médicaux invasifs à usage temporaire)
Classe IIa	Risque potentiel modéré (dispositifs médicaux invasifs à court terme, dispositifs médicaux invasifs de type chirurgical à usage unique)
Classe IIb	Risque potentiel élevé (dispositifs médicaux implantables à long terme)
Classe III	Risque potentiel critique (dispositifs médicaux implantables à long terme en contact avec le coeur, le système circulatoire central ou le système nerveux central, dispositifs médicaux implantables résorbables, implants mammaires, implants articulaires de hanche, de genou et d'épaule ...)

Tableau III.1 : classification de dispositifs médicaux [93/42/CE]

III.3 Certifications des matériaux utilisées :

Les matériaux destinés à la fabrication des DM sont eux-mêmes considérés comme des DM [ANSM,2010], et doivent respecter la norme ISO 10993:2010 portant sur l'évaluation biologique des dispositifs médicaux [AFNOR,2010]. Les dispositifs médicaux entrant en contact avec l'homme (que ce soit le patient ou l'utilisateur) au cours de leur utilisation doivent, quelle que soit leur classe, être réalisés dans des matériaux biocompatibles. Les tests de biocompatibilité à mettre en œuvre diffèrent en fonction du type de contact et de l'utilisation de ces dispositifs médicaux [NAMSA, 2007].

Des tests sont à effectuer non pas sur le matériau lui-même mais sur le DM final, incluant donc l'ensemble du procédé de fabrication.

III.4 L'analyse du risque:

Il s'agit d'un document propre à chaque référence de DM qui indique tous les problèmes potentiels liés au dispositif, de la conception à l'utilisation, et qui présente la façon de répondre aux risques afin de les réduire.

Les tests suivants doivent être effectués :

- Test de vieillissement du matériau.
- Test de conditionnement du dispositif.
- Test de toxicité du dispositif.
- Test de biocompatibilité du dispositif.

LE BIOFILM

IV. BIOFILM

IV.1 Historique:

On attribue la découverte des biofilms à l'inventeur du microscope Antoni Van Leeuwenhoek (1632-1723) ; qui observa vers 1683 avec cet appareil des communautés de microorganismes au niveau de ses dents [Donlan, 2002]. En 1932 ; **Henrici** observa des communautés bactériennes fixées sur des lames de verre lors de l'expérience visant à observer la croissance des algues sur ces mêmes lames de verre placées dans un aquarium. Il en déduit que la plupart des bactéries vivant en milieu aqueux ne sont pas sous la **forme planctonique**, mais plutôt elles sont organisées sous forme de communautés **sessiles** fixées à une surface [Henrici, 1932; Trauner *et al*, 2009].

IV.2 Définition:

Le biofilm est une communauté structurée de micro-organismes, se fixant à une surface inerte ou vivante et réunis au sein d'une matrice d'exo-polysaccharides adhésive et protectrice qu'ils secrètent. C'est une structure vivante en perpétuel remaniement [**Jain et al, 2011**]

Il constitue le mode de vie majoritaire des micro-organismes, par opposition à l'état planctonique, libre et isolé dans l'environnement. Un biofilm peut être constitué d'une ou plusieurs espèces de microorganismes. Lorsque qu'il est formé d'une seule espèce on dit qu'il est monospécifique par contre lorsqu'il héberge un grand nombre d'espèces dans ce cas il est hétérospécifique

IV.3 Etapes de formation des biofilms :

Les bactéries semblent initier la formation d'un biofilm en réponse à une pression environnementale [Annous *et al*, 2009], telle que le manque d'oxygène et de nutriments ou la présence d'un traitement. Les biofilms peuvent se développer sur une grande variété de surfaces incluant les tissus vivants, les dispositifs médicaux, ou tout autre support retrouvé dans le sol ou dans les milieux aquatiques. On distingue généralement cinq étapes de formation de biofilm.

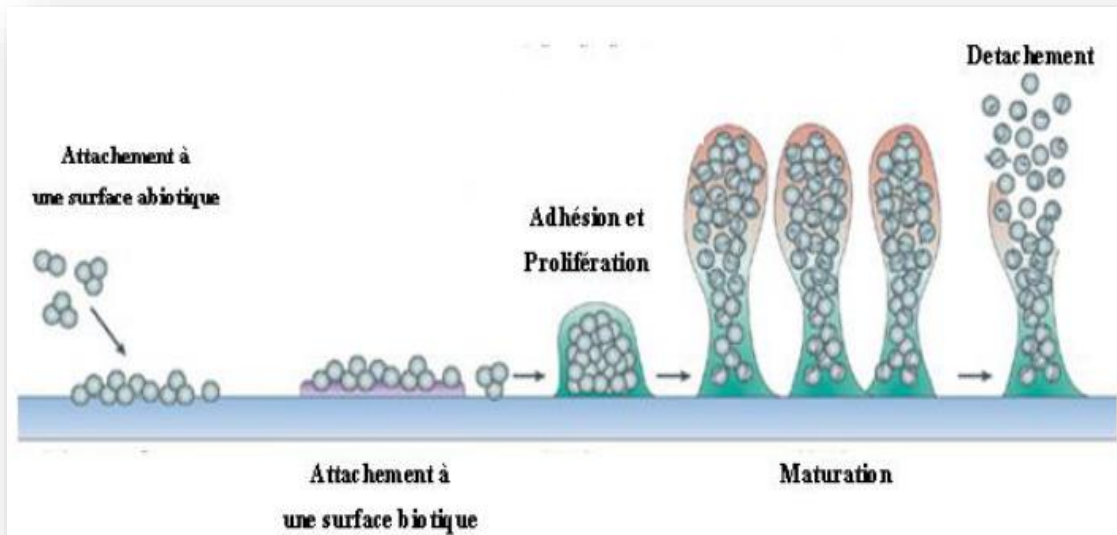


Figure IV.1: Schéma présentant les étapes du développement du biofilm [Otto, 2012].

IV.3.1 L'adhérence réversible:

En milieu liquide ou exposé à l'humidité, les bactéries planctoniques s'approchent d'une surface solide par mouvement brownien, par sédimentation ou par mobilité active (présence de flagelles). Elles s'y attachent de manière réversible grâce à des interactions non spécifiques, électrostatiques et électrodynamiques. Cette étape est influencée par des conditions environnementales impliquant le pH, l'osmolarité, la température, la concentration en oxygène et en nutriments et l'hydrodynamique de fluide [Beloin *et al*, 2008].

L'adhérence des bactéries est également influencée par la nature de la surface, notamment sa rugosité et son hydrophobicité. Les bactéries adhèrent facilement sur une surface rugueuse, hydrophobe et non polaire.

IV.3.2 L'adhérence irréversible:

La fixation à la surface solide devient irréversible en raison de la production d'exopolysaccharides par les bactéries et surtout grâce à des structures d'adhérence variables selon les espèces bactériennes, par exemple les fimbriae et les curli pour *E. coli*, qui interagissent avec des récepteurs spécifiques présents sur la surface [Beloin *et al.*, 2008].

IV.3.3 Le développement précoce du biofilm :

Les bactéries se multiplient lentement et continuent de produire des exopolysaccharides. Elles s'agrègent entre elles et forment des microcolonies, qui sont protégées par la matrice exopolysaccharidique [Jacolosen *et al*, 2008].

IV.3.4 La maturation du biofilm:

L'architecture complexe du biofilm se met en place avec la formation de canaux aqueux et de pores entre les microcolonies, permettant l'acheminement d'oxygène et de nutriments nécessaires à la croissance de micro-organismes, ainsi que l'élimination des déchets [Tenke *et al*, 2006]. La production et la sécrétion d'enzymes ou de toxines provoque la dégradation des résidus présents dans les surfaces environnantes et permet ainsi la libération de nutriments [Jacolosen *et al*, 2008].

IV.3.5 Le détachement de bactéries:

Les bactéries acquièrent un mode de croissance, une physiologie et un métabolisme différent des bactéries planctoniques. Ces changements phénotypiques résultent d'une révolution du profil d'expression de leurs gènes. Toutes ces transformations sont coordonnées grâce à un système de communication entre les bactéries d'une même espèce au sein du biofilm, appelé quorum sensing [Behlou et Gilmore, 2008]. Ce système est fondé sur la production de molécules diffusibles par les bactéries, par exemple les acyl-homoserinelactones chez les bactéries à Gram négatif, qui donnent une indication de la densité cellulaire dans un environnement donné. Les biofilms matures possèdent une structure tridimensionnelle avec plusieurs micro environnements différents qui évoluent selon l'osmolarité, le pH et la densité cellulaire.

Du fait de cette hétérogénéité, l'état métabolique d'une bactérie diffère selon sa localisation : il existe une variété de phénotypes bactériens au sein de biofilm. Les contacts rapprochés entre les micro-organismes favorisent le transfert horizontal de matériel génétique. Ce phénomène pourrait notamment faciliter la propagation des gènes de résistance aux antibiotiques [Trautner et Darouiche, 2004].

Des bactéries se détachent du biofilm et se dispersent dans le milieu environnant après un retour à l'état planctonique. Traditionnellement, le détachement de bactéries est considéré comme un phénomène passif, dépendant notamment des forces du flux du milieu dans lequel le biofilm se trouve. Cependant, le détachement de bactéries peut aussi être une stratégie active, initiée par les bactéries elles-mêmes, leur permettant de coloniser de nouvelles surfaces et de survivre lorsque l'espace et les nutriments deviennent limités. Les bactéries peuvent se détacher seules ou par petits ou gros amas selon les mécanismes impliqués.

Comme pour les autres étapes, le détachement de bactéries est un processus complexe qui implique des signaux environnementaux et une communication entre les bactéries.

Ainsi un biofilm établi constitue un réservoir de bactéries viables, capables d'aller coloniser d'autres surfaces [Joshi et al, 2010].

IV.4 Régulation de la formation de biofilm :

IV.4.1 Le quorum sensing:

Le quorum sensing régule la physiologie du biofilm en modulant la taille de la population du biofilm. Il initie les phénomènes de dispersion des bactéries planctoniques à partir du biofilm. Le quorum sensing aurait aussi un rôle dans la détermination de l'épaisseur du biofilm. Il peut réprimer ou stimuler l'expression de certains caractères, comme par exemple la motilité ou certains facteurs de virulence extra cellulaires, comme les protéases [Irie et Parsek, 2008].

IV.4.2 Les molécules impliquées dans le quorum sensing :

Les molécules du quorum sensing sont différentes selon les types de bactéries. En général, on trouve des acylhomosérines lactones (**AHL**) chez la plupart des bactéries Gram négatives. La majorité des bactéries Gram-positives utilisent des peptides auto inducteurs (**AI**), dont la taille est très variable (de 5 à 87 acides aminés). Les molécules du quorum sensing sont dégradées par des enzymes. [Irie et Parsek, 2008].

IV.4.3 Altération du quorum sensing:

L'altération des mécanismes de quorum sensing 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 lors des étapes de formation et de dispersion [Irie et Parsek, 2008].

IV.5 Les Propriétés du biofilm:

IV.5.1 Résistance aux antibiotiques

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

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

- La matrice d'exopolysaccharide agit comme une barrière empêchant la diffusion de l'antibiotique. En effet, les exopolysaccharides sont chargés négativement et fonctionnent comme une résine d'échange ionique pouvant séquestrer des antibiotiques hydrophobes et chargés positivement, comme les aminoglycosides. Ce mécanisme de limitation de la pénétration des agents antimicrobiens au sein d'un biofilm explique les antibiorésistances observées lors d'administration unique d'antibiotiques mais n'est pas valable pour les antibiothérapies de longue durée [Gilbert, 2001].
- Dans le biofilm, le métabolisme de la bactérie se stabilise à un niveau bas limitant ainsi l'action des antibiotiques nécessitant une division cellulaire et un métabolisme actif. Du fait d'un appauvrissement environnemental en nutriments, les bactéries ont un métabolisme ralenti. Or les antibiotiques agissent en phase de croissance bactérienne [Sotto et Lavigne, 2007].

Les bactéries subissent des adaptations phénotypiques pouvant mener à une augmentation de la résistance aux agents antimicrobiens. Ces modifications résultent de l'expression de gènes spécifiques en réponse aux conditions environnementales et se traduisent par des variations phénotypiques profondes de l'activité enzymatique et de la composition de la paroi cellulaire [Schwank *et al*, 1998]. Certaines bactéries par exemple peuvent augmenter leur capacité d'expression de leur β -lactamase chromosomique suite à une exposition prolongée au β -lactamines ou changer les proportions relatives de leurs porines. [Del pozo *et patel*, 2007].

Il existe plusieurs mécanismes de résistances aux biofilms dont les plus importants sont montrés par la figure ci-dessous.

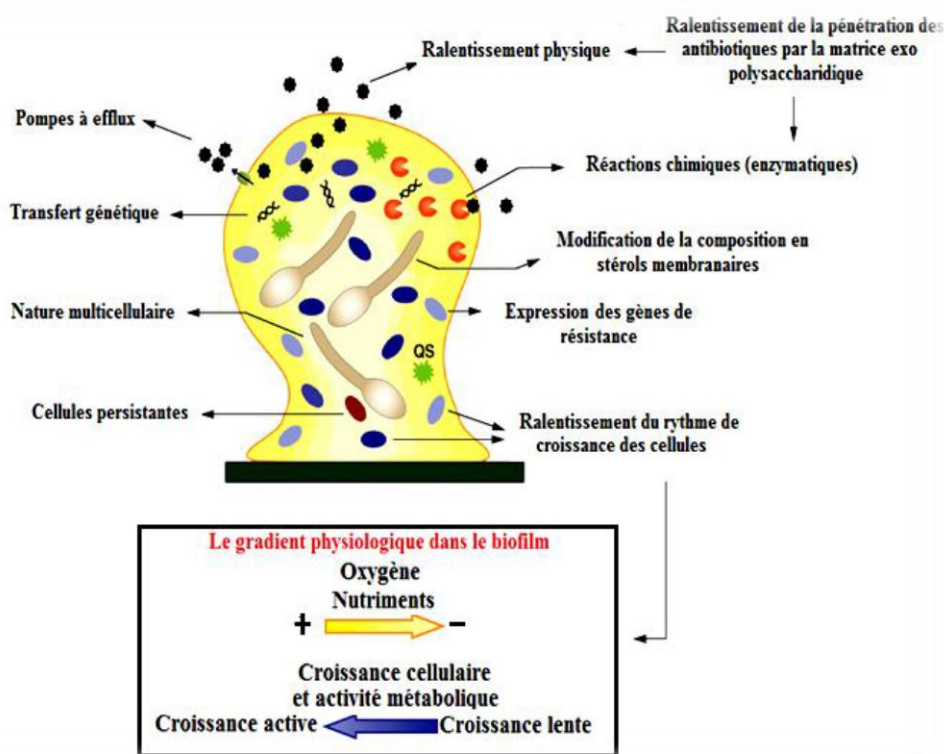


Figure IV.2 : Représentation schématique des mécanismes de résistance des biofilms aux antibiotiques [(Lewis, 2007) ;(De la Fuente-Nunez *et al*, 2013)]

IV.5.2 La résistance à l'immunité:

En plus de leur résistance aux antibiotiques, les biofilms sont protégés vis-à-vis du système immunitaire des hôtes infectés. La taille des biofilms est tout d'abord un frein important au processus de phagocytose. Les cellules phagocytaires libèrent des enzymes qui ont très peu d'effet sur le biofilm et qui peuvent endommager les tissus [Khoury *et al*, 1992].

La matrice extracellulaire est également une barrière au système immunitaire de l'hôte car elle empêche la reconnaissance des antigènes bactériens par les anticorps [Roux et Ghigo, 2006].

IV.5.3 Rapidité d'acquisition d'éléments génétiques:

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

IV.6 Facteurs favorisant la formation d'un biofilm:

IV.6.1 Les caractéristiques de la surface du dispositif médical

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

IV.6.1.1 La nature du matériau

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

- Le latex est peu coûteux et a une bonne élasticité, mais a tendance à être plus enclin à l'adhérence des bactéries et peut présenter un grand risque d'allergie comparé à d'autres matériaux. Il convient pour une utilisation à court terme seulement et est souvent recouvert de polymères supplémentaires [Gorman et Jones, 2005].

- Le silicone est la norme par rapport à laquelle les autres matériaux doivent être comparés en terme de biocompatibilité. Il est doux, non irritant et cliniquement stable, ce qui est idéal pour une utilisation à long terme. Il présente de bonnes propriétés de surface, qui permettent une insertion et un retrait plus facile. Cependant, bien qu'il semble y avoir une légère diminution dans la formation de dépôts incrustés, le silicone est toujours très sensible à la formation de biofilm [Gilmore et Gorman, 2013].

- **Les polyuréthanes** sont des polymères contenant la liaison uréthane $-OC(O)NH-$. Le terme polyuréthane se réfère à une large variété d'élastomères qui sont généralement formés par l'addition d'un polyglycol à un isocyanate. En changeant les composants chimiques, il peut être aisément adapté à de nombreuses applications. Les polyuréthanes ont de bonnes propriétés mécaniques, sont relativement peu coûteux, et sont couramment utilisés dans la pratique clinique [Gorman et Jones, 2005].

- **Le polychlorure de vinyle (PVC)** est largement utilisé dans la fabrication des cathéters intermittents car il est mécaniquement solide, peu coûteux et a une surface lubrifiée relativement lisse. La rigidité de la matière est surmontée dans la pratique par l'ajout de plastifiants pour obtenir un produit suffisamment souple qui peut être utilisé cliniquement. En comparaison avec le latex, les dispositifs peuvent avoir des parois plus minces et donc une lumière plus grande, mais même en le plastifiant le matériau n'est pas suffisamment élastique pour lui permettre d'être confortablement utilisé dans la fabrication des dispositifs implantables [Gilmore et Gorman, 2013].

IV.6.1.2 La charge de surface et le caractère hydrophobe des matériaux:

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

IV.6.1.3 La rugosité de la surface

Plus une surface est rugueuse, plus sa colonisation par des microcolonies est importante [Characklis et Marchall, 1990]. La rugosité est un paramètre qui traduit l'importance de la surface de contact [Van Loostrecht *et al*, 1990].

.IV.6.1.4 Présence de films protéiques sur la surface.

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

IV.6.2 Caractéristiques du milieu :

La formation et la dispersion d'un biofilm nécessitent des équipements enzymatiques précis et des entités structurales particulières, dont l'activation dépend de facteurs environnementaux clefs [O'Toole *et al*, 2000; Donlan, 2002 ; Martinez, 2007 ; Goller, 2008].

IV.6.2.1 La température :

Ce facteur est important non seulement parce qu'il affecte l'activité métabolique enzymatique des bactéries, mais aussi parce qu'il influence certains paramètres physicochimiques (pH, activité ionique, agitation thermique et solubilité des gaz) ainsi que les propriétés de surface des microorganismes. La température de croissance peut avoir un effet significatif sur la mobilité cellulaire et la production de flagelles et, ainsi sur l'adhésion [Dumas, 2007].

IV.6.2.2 pH:

Le pH du milieu environnant modifie la charge de surface des microorganismes ainsi que celle des supports solides suite au déplacement des équilibres d'ionisation (protonation/déprotonation) des groupements fonctionnels exposés selon leur pKa. Ce qui peut avoir comme conséquence une réduction ou une augmentation des interactions électrostatiques répulsives défavorables à l'adhésion [Boutaleb, 2007].

IV.6.2.3 Concentration en oxygène, concentration en fer, osmolarité, présence d'ions spécifiques.

IV.6.2.4 Sources de carbone disponibles :

Elles ont une influence sur la formation d'un biofilm et sur sa maturation [Martinez, 2007].

IV.6.2.5. Concentrations en nutriments :

Dans un milieu statique, la concentration en nutriments doit être élevée pour qu'il puisse y avoir formation d'un biofilm ; ce n'est pas le cas pour un milieu hydrodynamique.

IV.6.2.6 Concentrations en certains cations:

L'augmentation de la concentration de plusieurs cations (sodium Na^+ , Calcium Ca^{2+} , ion ferrique Fe^{3+}) influence l'attachement de *Pseudomonas fluorescens* sur des surfaces en verre, en réduisant les forces répulsives s'exerçant entre les bactéries chargées négativement et la surface de verre [Fletcher, 1988].

IV.6.2.7 Les forces hydrodynamiques du fluide :

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

IV.6.3 Propriétés des cellules:

L'hydrophobicité de la surface de la cellule, la présence de fimbriae et de flagelles, et la production d'exopolysaccharides influencent l'attachement des bactéries sur une surface.

L'hydrophobicité d'une surface est importante dans l'adhésion des micro-organismes à cette dernière. Moins les matériaux sont polarisés, plus les liaisons hydrophobes deviennent importantes [Donlan, 2002].

La plupart des bactéries sont chargées négativement et présentent à leur surface des zones hydrophobes. Plusieurs éléments structuraux des bactéries interviennent dans leur attachement à une surface : flagelles, fimbriae, polysaccharides. Il peut y avoir des compétitions ou des coopérations entre cellules lorsque plusieurs espèces de bactéries sont concernées. Les polymères apolaires situés à la surface des cellules comme les fimbriae, certaines protéines, et les acides mycoliques (composants de certaines bactéries Gram positives) semblent s'attacher de façon prédominante à des surfaces hydrophobes. Les exopolysaccharides et les lipopolysaccharides sont plus importants dans les mécanismes d'attachement à des surfaces hydrophiles [Donlan, 2002].

**MECANISMES ET IMPACTS DE FORMATION DU
BIOFILM SUR LES MATERIAUX A USAGE
MEDICALE**

V. Mécanismes et impacts de formation du biofilm sur les matériaux à usage médical

V.1 Importance des biofilms dans le secteur médical : Le problème d'infection nosocomiale: Introduction

Selon l'OMS, une infection nosocomiale ou infection hospitalière peut être définie comme suit : Infection acquise à l'hôpital par un patient admis pour une raison autre que cette infection. Infection survenant chez un patient à l'hôpital ou dans un autre établissement de santé et chez qui cette infection n'était ni présente ni en incubation au moment de l'admission. Cette définition inclut les infections contractées à l'hôpital mais qui se déclarent après la sortie, et également les infections professionnelles parmi le personnel de l'établissement.

Les biofilms sont responsables d'un large éventail d'infections chez l'homme. Plus de 80% des infections bactériennes chroniques sont associées à la présence de biofilms. Ces derniers peuvent se former à la surface ou à l'intérieur des dispositifs médicaux implantés dans l'organisme (lentilles de contact, cathéter veineux central, sonde endotrachéale, dispositifs intra-utérins, valves cardiaques artificielles, pacemakers, cathéters de dialyse péritonéale, sondes de tympanostomie, sondes urinaires, prothèses vocales...) ,82% des infections nosocomiales sont dues à la présence d'implants médicaux contaminés [Archibald et Gaynes, 1997].

Le tableau suivant non exhaustif regroupe les principales infections liées à la présence de biofilms [Lewis, 2008] :

Infections	Exemples
Infections ou maladies	• Caries dentaires, Gingivites, Péritonite, Mucoviscidose, Otite moyenne (notamment chez l'enfant), Ostéomyélites, Prostatites.
Infections nosocomiales	Sutures, Lentilles de contact, Port d'un implant médical, sonde urinaire, cathéter veineux central, Sonde endotrachéale, Sonde de gastrotomie, valve cardiaque artificielle, Prothèse orthopédique, Broches ostéomyélite.

Tableau V.1 : principales infections liées à la présence du biofilm [Lewis, 2008]

V.2. Cathéter :

Les cathéters veineux centraux sont les implants médicaux les plus à risque par rapport au développement d'une infection nosocomiale [Kelvins, 2005]. Ceci pose de graves problèmes de santé publique puisque les traitements systémiques de routine des patients atteints d'infections de ce type se révèlent le plus souvent inefficaces, souvent difficiles à traiter du fait de leurs propriétés d'antibiorésistance (FigureV.1) [Donlan, 2008]. Les staphylocoques sont responsables de la grande majorité des infections causées par des biofilms

V.2.1 Mécanisme de formation de biofilm sur cathéter:

Des études montrent que la zone d'insertion du cathéter représente la porte d'entrée des microorganismes. La colonisation bactérienne a lieu dans les 24 heures suivant la pose du cathéter.

Au contact du flux sanguin, la surface du cathéter se recouvre d'un film protéique (Plaquette, plasma, fibronectine, laminine, ou fibrine) (FigureV.1). La présence de ce dernier va modifier les propriétés physicochimiques de la surface du cathéter et favoriser la formation de biofilm, et ce dès 3 jours après la pose du cathéter [Donlan, 2008].

La formation des biofilms est un processus en deux étapes qui nécessite l'adhérence des bactéries à une surface, suivie de l'agglomération des cellules bactériennes entre elles, pour aboutir à un biofilm multicouches où les cellules sont engluées dans le « slime » (assimilé au glycocalyx produit par des souches fortement adhérente de staphylocoques) qui progressivement va recouvrir l'ensemble du biomatériau qui sera alors colonisé .

L'adhésion initiale, réversible au départ, puis progressivement irréversible, est régie par l'équilibre entre trois forces physico-chimiques fondamentales non spécifiques (van der Waals ou hydrophobes, électrostatiques, et interactions acide/base). Cette étape de colonisation implique une relation complexe entre le biomatériau, les protéines de l'hôte tapissant le biomatériau et les adhésines bactériennes responsables de la liaison des microorganismes au biomatériau [Vafidis et al., 1984 ; Characklis et Marshall, 1990 ; Mack ,1999].

La phase d'attachement de *S. aureus* est principalement médiée par une interaction entre des adhésines staphylococciques et des molécules de l'hôte, éventuellement adsorbées à la surface d'un corps étranger. Outre l'interaction entre l'acide teichoïque et la fibronectine, diverses protéines de surface, dites **microbial surface components recognizing adhesive matrix molecules** (MSCRAMM).

La seconde phase du processus d'adhérence de Staphylocoques est plus prolongée et médiée par la production bactérienne d'un glycocalyx polysaccharidique à la surface [Griffiths et al. 1989 ; Kadry et al, 1999].

La figure V.1 montre le développement de Staphylococcus epidermidis à la surface d'un cathéter

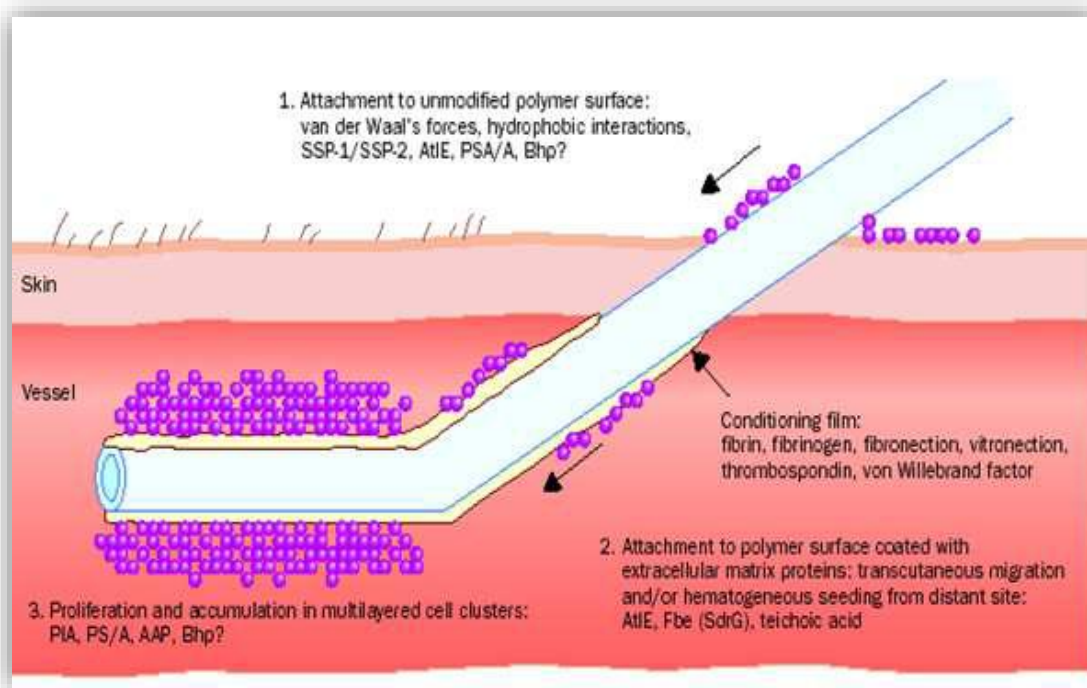


Figure V.1: Modèle de développement de Staphylococcus epidermidis à la surface d'un cathéter [Van Eiff et al, 2002].

V.3 Sonde urinaire:

La sonde urinaire est un instrument médical appelée souvent « dispositif », elle est utilisée chez l'homme et chez la femme pour vider la vessie en insérant dans l'appareil urogénital du patient jusqu'elle atteint la vessie sans avoir à déplacer physiquement et pour- injecter un médicament ou bien diagnostiquer l'état de vessie [Elves et Fneley, 1997].

V. 3.1 Nature de matériaux:

La nature de la sonde est très variable et dépend de leur structure ; une sonde urétrale simple sera composée d'un matériau unique, alors qu'une sonde vésicale sera d'une composition plus complexe (tableau V.1) [Conort et Pariente, 2005].

Biomatériau	Durée du sondage	Avantages	Inconvénients
Latex	Inférieure à une semaine	Prix, souplesse	Allergisant, irritation de la muqueuse. Obstruction (cristaux)
Latex enduit (PTFE, Hydrogel, Silicone)	Moyen terme Jusqu'à 3 semaines	Meilleure introduction	Risque d'allergie (99%de Latex)
Silicone 100%	Long terme 3 à5 semaines	Absence d'allergie et d'irritation	Prix élevé

Tableau V.2: Différents matières utilisées pour le sondage urinaire et leur complications [CCLIN, 2012].

V.3.2 Mécanisme de formation de biofilm:

Le mécanisme de formation de biofilm sur une sonde urinaire est simple. Une fois la sonde posée, un film protéique va se déposer à sa surface et favoriser la fixation de micro-organismes, et par conséquent entraîner la formation d'un biofilm (Figure V.2) [Jacobsen *et al*, 2008].

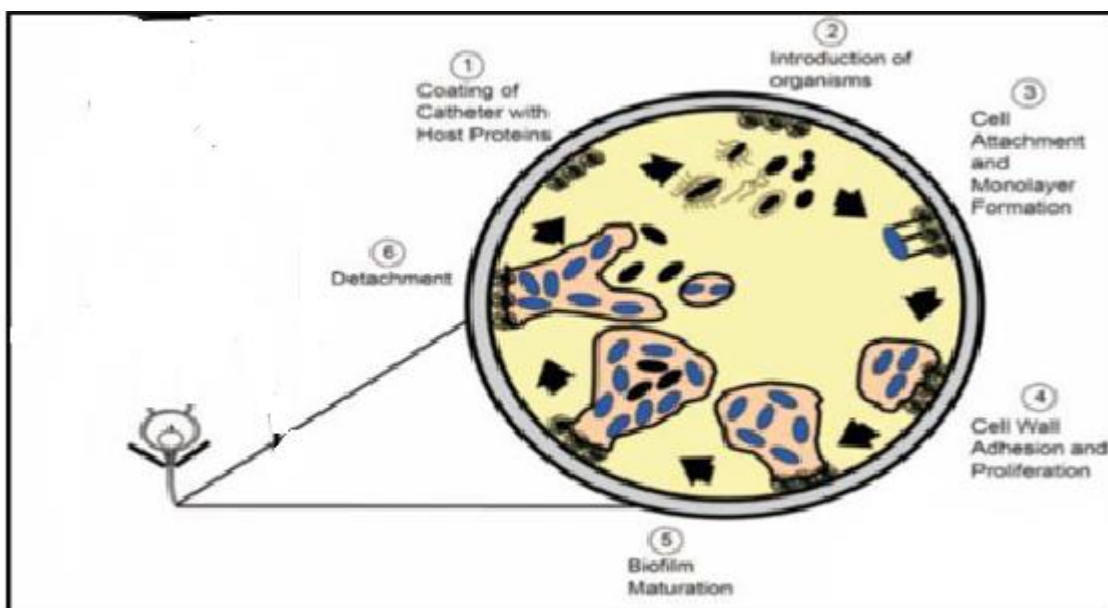


Figure V.2: Mécanisme de la formation du biofilm sur sonde urinaire [Jacobsen, 2008].

La figure V.3 montre un biofilm d'*A. Baumani* sur le verre et sur une sonde urinaire.

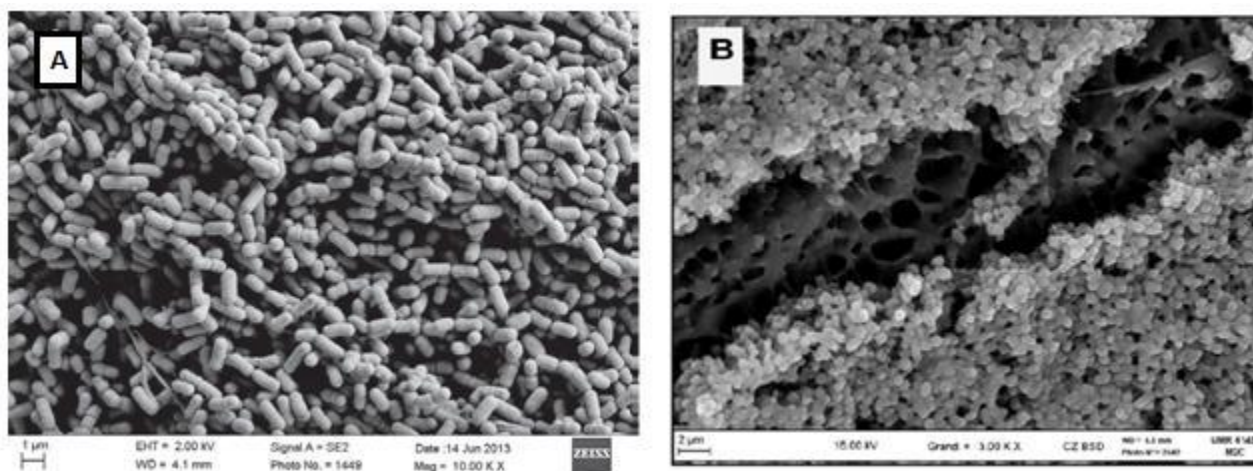


Figure V.3: Microscopie électronique à balayage du biofilm d'*A. baumani*.

[(Longo et al, 2014). (Djeribi et al, 2012)]

A : sur le verre [Longo *et al*, 2014].

B : sur sonde urinaire [Djeribi *et al*, 2012]

Trente pour cent des infections associées aux soins contractées dans un établissement de santé sont des infections urinaires (IU) (soit 1,63 % des patients hospitalisés).

Chez l'homme, le tractus urinaire est stérile à l'exception de la partie la plus distale de l'urètre qui constitue un milieu favorable à la croissance bactérienne [Léone et al, 1999].

La longueur de l'urètre intervient à l'évidence protégeant l'homme beaucoup mieux que la femme. Si cet obstacle se trouve franchit, les caractéristiques physicochimiques de l'urine normale (osmolarité, pH, teneur en acides organiques) rendent difficile la croissance de la plupart des germes colonisant l'urètre [Caron, 2003].

La miction permet d'éliminer presque en totalité les organismes ayant pénétré dans le tractus urinaire et dépose un film d'urine bactéricide sur les parois de la vessie. Le mucus vésical est bactéricide grâce à une immunité humorale; les protéines de Tamm-Horsfall recouvrent l'épithélium vésical et diminuent l'adhérence bactérienne [Pavese, 2003].

Le sondage vésical ou toute autre manoeuvre invasive altère ces mécanismes physiologiques de défense et facilite la colonisation microbienne, première étape du développement d'une infection urinaire sur sonde (IUSV).

La sonde urinaire perturbe aussi le cycle du fonctionnement normal de la vessie ; celle-ci se remplit jusqu'à atteindre un volume critique qui déclenche la vidange, l'urètre collabé s'ouvre alors pour permettre le passage de l'urine. A la fin de la miction, la vessie est vidée et le collapsus vésical a en lui-même un effet protecteur contre l'infection. La présence de la sonde perturbe ce cycle normal en le remplaçant par un flux d'urine continu.

. Au niveau vésical, le ballonnet génère des petites ulcérations de la muqueuse qui altèrent le film protecteur et sont autant de portes d'entrées pour les germes.

La sonde permet l'adhésion et la remontée des micro-organismes dans la vessie. En présence d'un matériel étranger, l'épithélium vésical 2 à 4 j avant la bactériurie se modifie favorisant l'adhésion des bactéries.

Ainsi, l'infection urinaire sur sonde voit coexister deux types de populations bactériennes : d'une part celle développée au sein de l'urine elle-même (développement "planktonic") et d'autre part celle développée sur la surface de la sonde (développement sur biofilm).

Trois modes d'acquisition des infections urinaires nosocomiales sur sonde ont été décrits, pouvant s'associer chez un même patient avec deux modes nettement prééminents : la voie endoluminale et la voie extraluminale ou péri-urétrale [Caron, 2003].

V 3.2.1 Lors de la mise en place de la sonde:

Même lorsque les mesures d'asepsie sont strictement respectées, les bactéries colonisant le périnée et l'urètre peuvent être introduites directement dans la vessie lors du sondage entraîné par la surface externe de la sonde. De ce fait, Maki qualifie cette voie «d'extraluminale précoce » [Caron, 2003].

V .3.2.2 Par voie endoluminale:

Se fait par l'ascension de germes à partir du sac de drainage. Jadis dominante avec les « systèmes ouverts » elle est possible si il y a violation du système clos [Garnier *et al*, 2005].

V .3.2.3 Par voie extraluminale ou périurétrale:

Depuis l'instauration des systèmes clos, cette voie de contamination est largement dominante. Ce mode de contamination implique des bactéries d'origine digestive qui colonisent le méat puis migrent progressivement vers l'urètre et la vessie par capillarité dans le fin film muqueux contigu à la surface externe de la sonde.

Les principales voies d'acquisition des microorganismes sont montrées sur la (figures V.4):

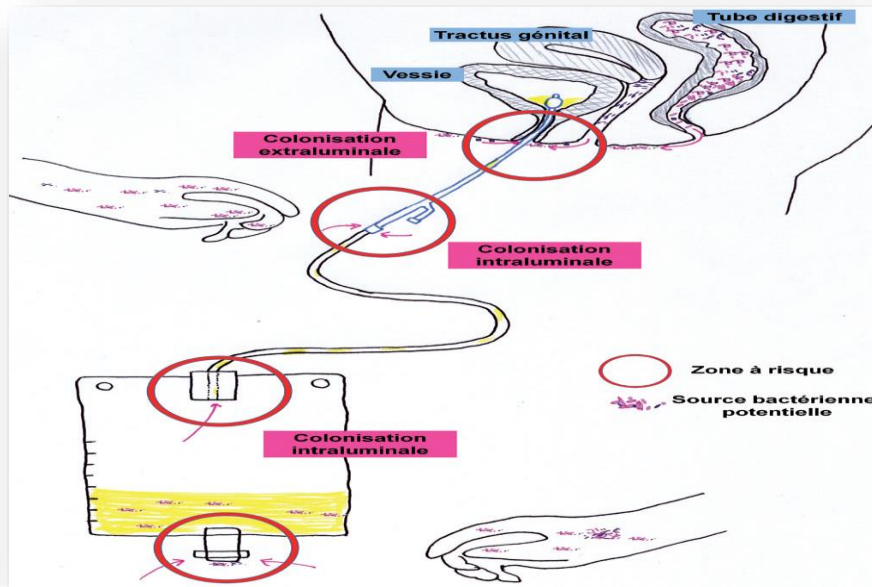


Figure V.4 : Sondage vésical : principales voies d' d'acquisition des microorganismes [Botto2003].

V.3.3 Microbiologie des infections urinaires associées au sondage urinaire:

Les microorganismes les plus fréquemment à l'origine des IUSV restent dans 60 % des cas les entérobactéries de la flore digestive du patient, native ou modifiée par l'exposition à une antibiothérapie, ou par transmission croisée, avec prédominance d'E. Coli [Raisain, Invs2009]. Dans les réanimations, après les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* (16 %), *Candida* (15 %) et les entérocoques (12 %) occupent une place non négligeable. La fréquence des souches résistantes aux antibiotiques est plus élevée que dans les infections urinaires communautaires, constituant un véritable réservoir intra-hospitalier.

La plupart des études se sont intéressées aux facteurs de risque d'une bactériurie associée à un acte invasif sur le tractus urinaire (tableau V.3) [Maki , 2009]. Cette bactériurie est précurseur d'une infection urinaire symptomatique chez moins de 10 % des patients sondés, probablement en raison de la décompression et du drainage permanent obtenu par le sondage. Les facteurs de risque d'une bactériurie associée à un acte invasif sur le tractus urinaire sont montrés sur le tableau V.3:

Modifiables		Non modifiables	
Facteur	RR	Facteur	RR
Durée de sondage > 6 jours	5,1 - 6,8	Sexe féminin	2,5 - 3,7
Mise en place sonde en dehors du bloc opératoire	2,0 - 5,3	Autres sites infectés	2,3 - 2,4
Hospitalisation dans un service d'urologie ou d'orthopédie	2,0 - 4,0	Dénutrition	2,4
Collecteur au-dessus du niveau de la vessie	1,9	Diabète	2,2 - 2,3
Sondage uniquement pour mesure de la diurèse	2,0	Insuffisance rénale	2,1 - 2,6
Désolidarisation sac de recueil-sonde	1,2 - 3,0	Stent urétéral	2,5
Administration d'antibiotique au moment du geste	0,1 - 0,4	Pathologie urologique (rétention, lithiase, incontinence)	
Non-observance des mesures d'asepsie adaptées à l'acte		Bactériurie asymptomatique au moment du geste invasif	
		Age supérieur à 50 ans	
		Vessie neurologique	

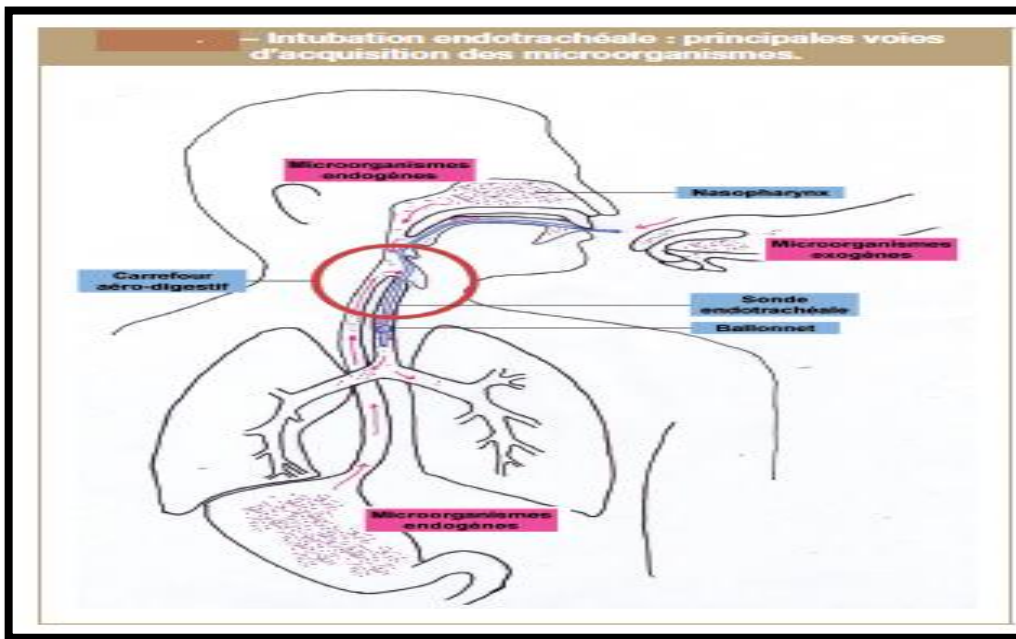
RR : risque relatif.

Tableau V.3: facteurs de risque d'une bactériurie associée à un acte invasif sur le tractus urinaire [Maki, 2009]

V.4 Pneumopathies acquises sous ventilation mécanique

V.4.1 Définition

Une pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) correspond à « toute pneumonie associée aux soins, survenant chez un malade dont la respiration est assistée par une machine, soit de manière invasive par l'intermédiaire d'un tube endotrachéal ou d'une trachéotomie, soit de manière non invasive par l'intermédiaire d'un masque facial ou d'un autre procédé, dans les 48 heures précédant la survenue de l'infection [CTINILS,2007]



FigureV.5: Intubation endotrachéale : principales voies d'acquisition des microorganismes [CTINILS ,2007]

V.4.2 Le mécanisme :

- Le mécanisme d'acquisition principal est la micro-inhalation de sécrétions contenant des microorganismes pathogènes, endogènes ou exogènes (transmission croisée à partir d'un autre patient ou de l'environnement), colonisant les voies aériennes supérieures et digestives. Cette colonisation est favorisée par la présence de la sonde d'intubation endotrachéale qui court-circuite la barrière naturelle entre oropharynx et trachée, altère la clairance mucociliaire et inhibe le réflexe de toux.

. L'intubation peut aussi léser l'épithélium de la muqueuse trachéale et en faciliter la colonisation.

Si la source principale de ces microorganismes potentiellement pathogènes est l'oropharynx, la colonisation gastrique, favorisée par une augmentation du pH et la présence éventuelle d'une sonde naso-gastrique, constitue également un réservoir microbien. Ce phénomène est aggravé par le reflux gastro-oesophagien et par la sédation. Enfin, la responsabilité du biofilm se constituant sur la sonde d'intubation dans la physiopathologie des PAVM est encore mal élucidée.

Plus accessoirement, l'invasion des voies respiratoires inférieures non protégées peut aussi avoir pour origine la contamination du matériel de ventilation, de nébulisation ou de fibroscopie, l'air ambiant ou l'eau du réseau. L'aérosolisation de germes dans les voies respiratoires est le mécanisme impliqué dans les pneumopathies associées à une contamination du circuit du respirateur et/ou du nébulisateur.

V .4.3 Microbiologie des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique :

Les microorganismes en cause varient en fonction du délai de survenue de la PAVM par rapport à l'intubation. Dans les PAVM survenant précocement (< 5 jours de ventilation), les espèces bactériennes habituellement responsables (*Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Escherichia coli*, staphylocoque doré sensible à la méticilline...) sont souvent présentes dans la flore oropharyngée commensale. Ces pneumopathies sont la conséquence d'une macro-inhalation lors de l'intubation.

V .5 Lentille de contact :

V .5.1 Définition :

Les lentilles de contacts sont les plus largement utilisées dans le monde. Elles sont clairement définies comme un dispositif biomédical optique souple ou rigide transparente en forme de disque, destinée à être placée au contact de la cornée pour la correction des défauts de la vision (réfraction) [Bohnert et al, 2000].

La lentille de contact corrige le trouble de la réfraction à un niveau plus proche de son origine que les lunettes d'où un meilleur résultat optique. Elle modifie moins la taille des images. Les lentilles sont plus esthétiques que les verres traditionnels, et permettent également plus d'aisance pour pratiquer un sport.

Les lentilles peuvent avoir des propriétés chimiques différentes telles :

- **La perméabilité à l'oxygène (DK) :** c'est le taux du flux d'oxygène passant à travers le matériau d'une lentille par unité de surface et par unité de temps.
- **La teneur en eau:** l'adhérence des dépôts est plus forte sur les matériaux plus riches en eau.
- **L'ionicité:** c'est la proportion en ions présente dans les matériaux ioniques présentant une meilleure mouillabilité, un meilleur confort mais favorisent les dépôts protéiques avec un risque d'encrassement de la lentille [Savin, 2003].

La classification la plus utilisée pour décrire les accidents liés au port de lentilles de contact est celle de [Spikler (1991)]. Elle repose sur la gravité potentielle et décrit les complications non significatives, les complications significatives et les complications graves.

Les complications non significatives sont le plus souvent asymptomatiques et ont un retentissement modéré. Elles ne nécessitent pas l'arrêt immédiat du port des lentilles.

Les complications significatives regroupent les complications inflammatoires, allergiques, hypoxiques Les agents transmissibles conventionnels (ATC).

- ✓ La première hypothèse : les EPS sont chargées négativement et fonctionnent comme une résine d'échange ionique qui est capable de lier un grand nombre de molécules d'antibiotique qui essaient d'atteindre les cellules incorporées dans un biofilm [Thein et al, 2001].

✓ La seconde hypothèse est liée à l'environnement spécifique du biofilm, dont les zones les plus profondes, riches en résidus acides et pauvres en oxygène et en nutriments, pourraient gêner l'action de l'antibiotique (**Stewart et al, 2001**).

✓ Enfin, la dernière hypothèse s'appuie sur les modifications phénotypiques observées dans certains biofilms et dont les micro-organismes constituants pourraient présenter des formes plus résistantes et sur l'explication de l'antibiorésistance [Drenkard et al, 2002].

Ces trois hypothèses reposent sur la nature communautaire et multicellulaire du biofilm. La plupart des spectres antibiotiques ont été étudiés sur des formes planctoniques, et doivent maintenant être étudiés sur des modèles de biofilms plus complexes. Ainsi, de nouvelles concentrations minimales d'inhibition, ainsi que de nouvelles associations médicamenteuses doivent être envisagées.

V.5.2 Les risques infectieux liés au port des lentilles de contacts:

V.5.2.1 Les agents transmissibles conventionnels (ATC):

Ils peuvent provoquer des kératites infectieuses chez le porteur de lentille de contact.

V.5.2.2 Les infections fongiques:

Elles sont très rares, surtout liées à une mauvaise hygiène, les champignons les mycéliens peuvent se fixer sur les lentilles souples. L'encrassement des lentilles ainsi la contamination des étuis favorise la prolifération des champignons (acrémonium) plus rarement les levures(Candida) [Wilhemus et al, 1988].

V.5.2.3 Les infections amibiennes:

Acanthamoeba est une amibe ubiquitaire, responsable des kératites assez rare mais grave avec ulcère de cornée, survenant le plus souvent chez un porteur de lentilles souples.

L'infection est favorisée par la contamination microbienne des boîtiers ainsi que par rinçage des lentilles à eau du robinet, ou la baignade avec les lentilles [Cardine et al. 2002].

V .5.2.4 Les infections virales:

Certain virus, adénovirus, herpès, HIV, sont susceptible d'être transmis d'un patient à un autre par l'intermédiaire de lentille d'essais multi patient. Par ailleurs le port des lentilles est un facteur aggravant une infection virale évolutive.

V .5.2.5 Les infections bactériennes:

Elles sont les plus fréquentes, la flore commensale du cul de sac conjonctival est modifiée par la présence d'une prothèse avec prédominance de bacille à gram négatif (*Pseudomonas aeruginosa*, *Serratiamarcescens*), d'où le risque d'infection et plus particulièrement sur des Lentilles souples hydrophiles [Stern GA, 1998].

Les germes les plus souvent responsables des kératites bactériennes sont *Serratiamarcescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ; *Staphylococcus epidermidis*, plus rarement les *Bacillus* [Levey et al, 1996].

V.5.2.5.1 Serratiamarcescens:

Les *Serratia* sont des entérobactéries; ils sont longtemps considérés comme un saprophyte, mais *Serratiamarcescens* se comporte de plus en plus souvent comme un pathogène opportuniste responsable, d'infections nosocomiales, et des kératites chez les sujets porteurs de lentilles de contact. *Pseudomonas aeruginosa*, *Serratiamarcescens* sont souvent des agents de contamination le plus souvent retrouvé dans des collyres mal conservés et contaminés [Marchal et al, 1982].

V.5.2.5.2 Pseudomonas aeruginosa:

Pseudomonas aeruginosa est un des microorganismes les plus difficiles à éradiquer. Ce bâtonnet gram négatif produit une enzyme: la collagénase qui détruit littéralement la cornée. C'est un organisme ubiquitaire ayant la facilité de vivre dans un environnement pauvre en nutriment. [Boles ,1990] a montré que *Pseudomonas aeruginosa* s'attache facilement à des lentilles neuves. Il a également été démontré que les dépôts de protéines sur les lentilles facilitent l'adhérence de *Pseudomonas* aux lentilles. Cette espèce microbienne semble particulièrement résistante aux antibiotiques, et plus spécifiquement sous forme de biofilm dans les infections oculaires.

V .5.2.5.3 Staphylococcus aureus:

Appelé couramment staphylocoque doré en raison de la couleur des colonies bactériennes observées en milieu gélosé. Ce coque à gram positif et un organisme ubiquitaire est souvent impliqué dans divers infections et peut causer des dommages extensifs par sa résistance aux antibiotiques. Cette espèce exprime de nombreux facteurs de virulence tels que la sécrétion de toxines ou la résistance au système immunitaire, mais également sa capacité à former des biofilms très mucoïdes lui permettant de devenir un pathogène opportuniste [Fey et al, 2010].

V.5.2.5.4 Staphylococcus epidermidis:

Staphylococcus epidermidis est une cause majeure de kératites infectieuses associées au port de verres de contact. L'adhésion de Staphylococcus epidermidis au port de lentilles de contact est modulée par plusieurs facteurs dont le phénotype du microorganisme et les solutions utilisées, [Durin et al,1994]

V.6 Endoscopie:

Le biofilm se formerait sur les surfaces de la tubulure d'endoscope en contact avec les fluides, et pourrait être difficile à éliminer par les procédures actuelles de lavage. Sa présence peut protéger les micro-organismes de l'action désinfectante et contribuer à l'échec de la décontamination avant la réutilisation. Des échantillons de tubes prélevés de 13 endoscopes qui avaient été envoyés à un centre d'entretien d'endoscope ont été examinés pour la présence de biofilm et de bactéries par microscopie électronique à balayage. Des dépôts biologiques étaient présents sur tous les échantillons testés. Biofilm (bactéries plus matrice exo polysaccharides) était présent sur les canaux d'aspiration / biopsie de cinq des 13 instruments, et était très étendu sur l'un d'eux. Les bactéries et les microcolonies étaient souvent mais pas nécessairement associées à des défauts de surface sur le tube. Tous les 12 canaux d'air / eau examinés ont montré le biofilm, et ceci a été étendu sur neuf échantillons. Les procédures de nettoyage de routine ne retiennent pas le biofilm de façon fiable des canaux endoscopiques, ce qui peut expliquer l'échec inattendu de la décontamination rencontrée en pratique, malgré un bon respect des directives de lutte contre l'infection [Pajkos et al ,2004].

Stratégie de lutte contre la formation du biofilm

VI Stratégie de lutte contre la formation du biofilm:

Le biofilm pose de graves problèmes de santé publique. La lutte contre le biofilm se définit selon deux axes principaux : empêcher sa formation puis, lorsqu'il est présent, l'éliminer.

VI.1 Moyens de lutte contre la formation des biofilms

Quelques principes fondamentaux sont indispensables à la prévention des infections sur matériel liées aux biofilms. Il faut limiter l'utilisation de ces dispositifs médicaux au strict nécessaire, les garder le moins longtemps possible, les poser dans des conditions strictes d'hygiène, Cependant ces règles ne sont pas suffisantes et de nombreuses recherches sont consacrées à la lutte contre la formation des biofilms. Les idées principales sont les suivantes:

VI.1.1 Les dispositifs imprégnés de substances hydrophiles:

L'adhérence bactérienne dépend fortement des propriétés physicochimiques des matériaux constituant les dispositifs médicaux implantés, notamment leur hydrophobicité et les charges présentes à leur surface. Les dispositifs médicaux constitués de polymères hydrophiles à leur surface permettent de limiter l'adhérence des bactéries [Francolini&Donelli, 2010].

VI.1.2 Les dispositifs imprégnés d'argent ou de substances antimicrobiennes

L'argent limiterait l'attachement et la croissance des bactéries [Zhang et al, 2011]. Des analyses ont montré que ces systèmes seraient efficaces pour prévenir les bactériuries lors des sondages de courte durée, [Muzzi Bjornson & Macera, 2011; Trautner & Darouiche, 2004b].

L'Argent également a montré son efficacité dans la prévention de la formation de biofilm pour les dispositifs intravasculaires mis en place moins de 10 jours [Donlan & Costerton, 2002].

Des sondes urinaires recouvertes d'antiseptique ont également été testées: la formation de biofilm serait moins importante sur des sondes urinaires recouvertes de endine, un antiseptique constitué de violet de gentiane et de chlorhexidine, que sur des sondes urinaires en hydrogel imprégnées d'argent et sur des sondes urinaires non recouvertes d'agent antimicrobien [Hachem et al, 2009].

Les cathéters intravasculaires imprégnés de chlorhexidine et d'argent mis en place pendant moins de 14 jours ont montré une réduction du risque d'infection d'environ 40%, mais des cas de réaction anaphylactique ont été retrouvés avec ce type de cathéter [Trautner & Darouiche, 2004a].

VI.1.3 Les agents chélateurs

Certains cations métalliques comme le calcium, le magnésium ou le fer peuvent être impliqués dans le développement et le maintien de la structure de la matrice du biofilm. Les agents chélateurs déstabiliseraient la structure du biofilm. De plus, certains agents chélateurs comme l'EDTA (Ethylène Diamine Tétra acétique Acide) ou le citrate de sodium possèdent également une activité antimicrobienne (Donlan, 2011). Des études ont été menées avec la lactoferrine, un agent chélateur du fer, dans le cadre des infections urinaires sur sonde mais de tels dispositifs n'ont pas encore été développés.

VI.1.4 L'éthanol

Pour les cathéters intravasculaires, l'utilisation de «verrou antimicrobien» à base d'éthanol permettrait de limiter les infections liées à ces cathéters. La combinaison de 4% de citrate de sodium et de 30% d'éthanol préviendrait la formation de biofilm par des souches cliniques d'E. Coli pendant 72 heures [Donlan, 2011].

VI.2 Techniques d'élimination du biofilm:

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

VI.2.1 L'antibiothérapie:

Les biofilms sont caractérisés par une résistance aux antibiotiques élevée. Les antibiotiques sont surtout efficaces pour ralentir la progression de la formation de biofilm en éliminant les bactéries planctoniques libérées et en limitant l'activité métabolique des bactéries en surface [Tenke *et al*, 2006]. Les molécules qui pénètrent bien dans le biofilm telles que les fluoroquinolones et la rifampicine sont plus efficaces (Donlan, 2011). Une étude a également montré que l'association amoxicilline-acide clavulanique pénètre bien dans le biofilm (50 % de la concentration initiale après 1 heure d'incubation, 60 à 70% après 6 heures), de même que la fosfomycine et la ciprofloxacine mais plus lentement. Le cotrimoxazole a en revanche une pénétration beaucoup plus réduite. D'autre part, les antibiotiques qui inhibent la synthèse de la paroi bactérienne, comme les glycopeptides, sont peu efficaces sur l'élimination des biofilms car de nombreuses bactéries ont un taux de croissance ralenti. Les macrolides ont montré leur efficacité dans la réduction des exopolysaccharides du biofilm: ils favorisent alors la pénétration des autres antibiotiques [Donlan, 2011]. De nouvelles molécules comme le ceftobiprole, une céphalosporine de 4^{ème} génération, sont à

l'étude [Simoes, 2011]. Cependant, l'antibiothérapie reste trop peu souvent efficace et ne doit pas remplacer le retrait du dispositif lorsque cela est possible.

VI.2 Cibler la matrice exopolysaccharidique

La matrice exopolysaccharidique est essentielle pour la survie du biofilm. Les substances capables de dépolymériser, dissoudre ou d'empêcher la synthèse de cette matrice vont permettre l'exposition des micro-organismes du biofilm aux agents antimicrobiens [DelPozo& Patel, 2007]. En règle générale, la matrice est composée de polysaccharides et de protéines associés à des lipides et des acides nucléiques, mais cette composition est variable, qualitativement et quantitativement, en fonction des souches et des conditions de croissance. Par exemple, la cellulose est un composant crucial dans la matrice extracellulaire d'*E.Coli*, et le poly-N-acétylglucosamine est le composant majoritaire des biofilm à staphyloques. En fonction de la composition des biofilms, différentes enzymes sont utilisables comme les protéases, cellulases, polysaccharide dépolymérase, alginatylases, dispersinB ou DNASE [Bridier et al, 2011]. Les biofilms étant souvent constitués de plusieurs espèces, des formulations contenant plusieurs enzymes semblent fondamentales pour une stratégie de contrôle efficace [Simoes, 2011]. Certains bactériophages peuvent aussi produire des enzymes comme le polysaccharide dépolymérase qui peuvent dégrader la matrice des biofilms [Donlan, 2011].

VI .2.3 Cibler les bactéries persistantes:

Le développement de substances capables de détruire la population bactérienne persistante en profondeur du biofilm pourrait être une nouvelle approche thérapeutique. Les gènes responsables de ce phénotype persistant pourraient également servir de cible. Ces inhibiteurs de bactéries persistantes seraient combinés à un traitement antimicrobien conventionnel pour tenter d'éradiquer les biofilms [Del Pozo& Patel, 2007].

VI.2.4 Inhiber le quorum sensing:

Pour de nombreuses espèces, le quorum sensing joue un rôle significatif dans la persistance du biofilm. L'utilisation de molécules interférant avec les voies de signalisation du quorum sensing perturberait l'architecture du biofilm et ainsi l'établissement du processus infectieux.

Les furanones sont des inhibiteurs potentiels du quorum sensing chez les bacilles à Gram négatifs [Francolini&Donelli, 2010]. Une étude a testé l'effet d'inhibiteurs du quorum sensing sur des biofilms à *P.aeruginosa* et *S.aureus* formés in vivo et in vitro. Associé à un traitement antibiotique, ces inhibiteurs pourraient améliorer la sensibilité des bactéries au sein des biofilms à cet antibiotique.

VI.2.5 Diminuer la tolérance du biofilm :

Une fois le biofilm établi, une façon de l'éradiquer sans risquer de libérer des bactéries est de mettre au point un traitement plus efficace contre les bactéries persistantes.

Une équipe de l'Université de Boston a ainsi montré qu'en associant une source de carbone – le fructose ou le mannitol – et un antibiotique, il est possible de tuer une grande partie des bactéries persistantes d'un biofilm. Au cours de ce travail, les chercheurs ont montré que le sucre utilisé stimule des voies métaboliques qui augmentent l'entrée de l'antibiotique dans les bactéries persistantes, conduisant à leur mort. Une autre approche prometteuse, s'appuyant sur l'association d'un antibiotique et d'un chélateur de métaux. Permet une éradication de biofilms formés à la surface de cathéters vasculaires [Chauhan A et al. ,2012].

Certaines de ces stratégies sont déjà utilisées en clinique, d'autres constituent des candidats prometteurs pour lesquels une évaluation en médecine humaine est envisagée à court terme. Cependant, il est probable que l'association de plusieurs stratégies sera nécessaire afin d'en augmenter l'efficacité.

VI.2.6 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. Des enzymes, comme la dispersine B ou la DNase I, ont la capacité de favoriser la dispersion des biofilms en dégradant des composants majeurs de la matrice extracellulaire, comme l'ADN extracellulaire ou certains polysaccharides. De plus, l'analyse des signaux émis naturellement par les bactéries du biofilm a permis d'identifier des composés induisant la dispersion, dont certains acides aminés, la norspermidine ou le monoxyde d'azote. La limite de cette approche est qu'elle favorise la libération de bactéries dans la circulation sanguine. Elle ne peut donc s'envisager qu'en association avec des antibiotiques.

Conclusion

VII Conclusion

L'usage des dispositifs médicaux est important dans le traitement des maladies chroniques. L'implantation temporaire d'un cathéter vasculaire, d'une sonde vésicale ou d'une sonde endotrachéale est associée à des infections, dû à la multiplication bactérienne sur ces dispositifs implantables, parmi les infections les plus courantes dans le milieu hospitalier, les bactériémies associées aux cathéters vasculaires, les infections urinaires associées au sondage vésical et les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique sont les plus fréquentes et sont considérées comme en partie évitables .

La physiopathologie de ces infections est étroitement liée à la constitution d'un biofilm sur ces corps étrangers. Les microorganismes sur les surfaces de ces corps se trouvent sous deux formes : la forme sessile selon laquelle les organismes sont intégrés dans le biofilm soupçonnés d'être responsable de l'augmentation des résistances aux antibiotiques et la forme flottante planctonique, dans laquelle les organismes se disséminent.

Le problème majeur avec cette forme de vie est qu'elle confère une résistance importante aux antibiotiques et aux attaques du système immunitaire.

Alors le choix des matériaux utilisés aux fabrications des dispositifs médicaux a une importance plus grande que celle que l'utilité du dispositif lui-même.

Dans l'attente d'un progrès dans la lutte contre les biofilms, leurs maitrises passe actuellement par la prévention des infections sur dispositif médical qui reposent sur le respect de quelques principes fondamentaux ,des programmes de surveillance rigoureux devraient être proposés à tous les établissements de soins, respecter les conditions d'asepsie recommandées pour la pose et pour la manipulation de ces dispositifs , et particulièrement la désinfection des mains par friction hydroalcoolique et la préparation cutanée du site d'insertion mais aussi la maitrise de la durée de cathétérisme qui influence le taux de formation de biofilm.

En perspectives de ce travail, il sera intéressant de pouvoir approfondir nos recherches sur les biofilms en étudiant les facteurs favorisant l'accrue de cette forme de vie, en mettant l'accent sur l'identification des gènes des bactéries impliquées dans les infections nosocomiales qui leur permettent d'adhérer sur les matériaux à usage médical ce qui contribue à l'amélioration des connaissances concernant la capacité des micro-organismes à être responsables d'infections liées au dispositif médical et de trouver de nouvelles stratégies préventives ou curatives dans le cadre de la lutte contre ces infections. **«Il faut se souvenir que l'implant est renouvelable, l'organe naturel ne l'est pas ».**

Références bibliographiques

A

AFNOR. NF en ISO 13485, dispositifs médicaux : systèmes de management de la qualité(2012)

Annous, B. Fratamico, P. and Smith, quorum sensing in biofilms: why bacteria behave the way they do, Journal of Food Science, Vol. 74 No. 1, pp.24–37, (2009).

Archibald L.K, Gaynes R.P. Hospital acquired infections in the United States: The importance of interhospital comparisons. Nosocomial Inf. 11: 245-255, (1997).

B

Behlou& Gilmore. Microbial biofilms in ophthalmologie and infectious diseases. Arch Ophthalmol 126, 1572-1581, (2008).

Beloin, C, Roux, A. &Svanborg, C .echerichia coli, biofilms.Curr Top MicrobiolImmunol 322,249-289, (2005).

Blokhuis, Taco J, Marco F. Terma at, Frank C. Den Boer, Peter Patka, Fred C. Bakker, and Henk J. Haarman. "Properties of Calcium Phosphate Ceramics in Relation to Their in Vivo Behavior." The Journal of Trauma, Injury, Infection and Critical Care 48 (2000): 179. Ovid. Drexel University, Philadelphia. 25 Aug, (2007).

Bohnert J., Horbett T., Ratner B., Royce F, Adsorption of proteins from artificial tear solutions to contact lens materials .Invest Ophthalmol Vis Sci; 29: 362- 373, (2000).

Botto H. Infections urinaires nosocomiales de l'adulte. Médecine et maladies infectieuses. 33: 223s–244s, (2003).

Boutaleb N. Étude de la formation de biofilms sur les surfaces de matériaux couramment utilisés dans les canalisations d'eau potable. Thèse de doctorat. Universités de Bretagne-Sud, France. 174 pages, (2007).

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

Bridier, A., Briandet, R., Thomas, V. & Dubois-Brissonnet, F, Resistance of bacterial biofilms to disinfectants: a review. Biofouling 27, 1017-1032, (2011).

C

- Cardine S., Bourcier T., Chaumeil C., Zamfir O., Borderie V., Larache L. prise en charge clinique et pronostic des kératites amibiennes .JFR ophtalmo; 10 :1007-13, (2002)
- Caron. F, physiopathologie des infections urinaires nosocomiales .médecine et maladies infectieuses 33:438-446, (2003).
- Chauhan A. Antimicrob Agents Chemother 56, 5310-8, (2012).
- Conort, P. Pariente, L, Biomatériaux synthétiques et métaux: application aux prothèses urétrales, Progrès en Urologie, (15) : 925-941, (2005).
- Costerton, J.W., Geesey, G.G., Cheng, and G.K, How bacteria stick? Scientific American. 238, 86-95, (1978).
- CTINILS. Actualisation de la définition des infections nosocomiales. Définitions des infections associées aux soins. DHOS/DGS/Ministère de la santé:11 p, (2007).

D

- De la Fuente-Núñez C., Reffuveille F., Fernandez L., Hancock R.E. bacterial biofilm développement as a multicellular adaptation: antibioticresistance and new therapeutic stratégies. Current opinion in microbiology, 16(5), 580-589, (2013).
- Del Pozo J.L., Patel R., The challenge of treating biofilm-associated bacterial infections. Clin Pharmacol Ther. 82: 204-209, (2007).
- Djeribi R, Characterization of bacterial biofilms formed on urinary catheters. American journal of infection control. 40: 854-859, (2012).
- Donlan R.M, Biofilms and device-associated infections. Emerge. Infect. Dis. 7: 277-281, (2001).
- Donlan R.M. Biofilms on central venous catheters: is eradication possible? Curr.Top.Microbiol. Immunol. 322:133, (2008).
- Donlan RM, Biofilms: microbial life on surfaces. Emerging Infectious Disease journal): 881-890, (2002).
- Donlan, R.M. &Castleton, J.W.biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbial Rev 15,167-193, (2002).
- Donlan, R, Biofilm elimination on intravascular catheters: important considerations for the infectious disease practitioner. Clin Infect Dis 52, 1038-1045, (2011).

Drenkard E, Ausubel FM, Pseudomonas biofilm formation and antibiotic resistance are linked to phenotypic variation. *Nature*; 416:740-743, (2002).

Dumas .C, Catalyse électro-microbienne dans les piles à combustible. Thèse de Doctorat. Institut National polytechnique de Toulouse. 306 pages, (2007).

Dubok VA, *Powd. Metall. and Metal Cer*, Vol. 39, pp. 7-8, (2000).

Durin JP., Mondino B J., Weissman B J, Infectious contact lens wearers in Benett Clininal Contact Lens Practice, (1994).

E

Ebrey R., Hamilton M.S., Cairns G, Biofilms and hospital-acquired infections. In: Ghannoum M, O'Toole GA. Editor *Microbial Biofilms*. Washington DC: ASM Press: 294-313, (2004).

Elves A., W. S., Feneley R., C., L, long term urethral catheterization and the urine-biomaterial interface, *British Journal of Urology*, 80, 1-5, (1997).

F

Fey J, Lentille de Contact et risques infectieux, aspect réglementaire *JFr ophtalmo*, 2004 ; 27,4 :420-423. (2010).

Fletcher, Attachment of *Pseudomonas fluorescens* to glass and influence of electrolytes on bacterium-substratum separation distance. *Journal of Bacteriology*. 170: 2027-2030, (1988).

Francolini.I. &Donelli.G, Prevention and control of biofilm-based medical device related infections, *Fems Immunol Med Microbiol* 59, 227-238, (2010).

G

Garnier .F, Etien L., Merlin V. Vigot V., *Martin Enseignement supérieur en soins infirmiers adultes et pédiatriques 2005*.1ed. Paris : Elsevier Masson. 3eme partie, sondage intermittent versus sondage à demeure, p 75-77, (2005).

H

Hachem, R., Reitzel, R., Borne, A., Jiang, Y., Tinkey, P., Uthamanthil, R., Chandra, J., Ghannoum, M. & Raad, I, Novel antiseptic urinary catheters for prevention of urinary tract infections: correlation of in vivo and in vitro test results. *Antimicrob Agents Chemother* 53,5145-5149, (2009).

Hall-Stoodley L., Stoodley P., Kathju S., Høiby N., Moser C., Costerton J.W., Motter A., Bjarnsholt T, Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*.65 (2):127-145, (2012).

Hamadi F, Latrache H., El Ghmari A., Ellouali M., Mabrouki M., Kouider N, Effect of pH and ionic strength on hydrophobicity and electron donor and electron acceptor characteristics of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Annals of Microbiology*. 54:213-225, (2004).

Hench L.L, Amer. Ceram. Soc, Vol. 81(7), pp. 1705-1727, (1998).

I

Irie .Y. et Parsek M, Quorum sensing and microbial biofilm, *Curr Top Microbial Immunol*, 322: 67-84, (2008).

J

Jacobsen S.M, Stickler D.J, Mobley H.L.T, Shurtleff M.E. Complicated catheter-associated urinary tract infections due to *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*. *Clinical microbiology reviews*: 21(1): 26-59, (2008).

Jacques, M. ; Tremblay, Y ; & Poirier, H, Un astucieux moyen de défense des bactéries contre les antibiotiques et les désinfectants. www.hvovet.com, (2013).

Joshi, P., Wadhvani, T., Bahale, P. and Kothari, V, Microbial Chit-Chat: Quorum Sensing, the IUP Journal of Life Sciences. Vol. 4 No. 1, pp. 59-72, (2010).

K

Khoury A.E., Lam K., Ellis B., Costerton J.W. Prevention and control of bacterial infections associated with medical devices. *Asaio J*. 38: 174-8, (1992).

Klevins R.M, Tokars J.I, Andrus M. *Nephrol. News Issues* 19: 37- 38, 43, (2005).

L

Levey SB, Cohen EJ, Methods of disinfecting contact lenses to avoid corneal disorders. *Survophtalmol*; 41: 245-51, (1996).

Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nature Reviews Microbiology*, 5:48-56, (2007).

M

Maki DG, Tambyah PA. Engineering out the risk for infection with urinary catheters. *Emerg Infect Dis*;7(2):342-47, (2001).

Marchal N., Bourdon J.L., Richard C, Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries. Doin éditeurs-Paris; 483 pages, (1982).

Marlot.A .Synthèse par pulvérisation cathodique magnétron et caractérisation de revêtements d'oxydes biocompatibles pour application aux implants dentaires en alliage de titane ".thèse de doctorat l'université de Lorraine (2012).

MARTINEZ L.R, Casadevall A, *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on *Cryptococcus neoformans* biofilm formation depends on surface support and carbon source and reduces fungal cells susceptibility to heat, cold and UV light. *Applied and Environmental Microbiology*. 4592- 4601, (2007).

MINARD .D. Définitions données par GESTO (Association pour l'étude des Greffes Et Substituts Tissulaires de l'Appareil Locomoteur), site réalisé et hébergé par maîtrise orthopédique Disponible sur la page Web <http://www.maitrise.com>.

Mittelman M.W, Adhesion to biomaterials. *Bacterial Adhesion: molecular and ecological diversity*. New York: Wiley-Liss, Inc. 89-127, (1996).

Muzzi-Bjornson, L. & Macera, L Preventing infection in elders with long-term indwelling urinary catheters. *J Am Acad Nurse Pract* 23, 127-134, (2011).

N

Nath N., Hyun J., Ma H., Chilkoti, A, Surface engineering strategies for control of protein and cell interactions. *Surf. Sci*. 570: 98-110, (2004).

O

O'Toole G. A., Kaplan HB, Kolter R, Biofilm formation as microbial development The Annual Review of Microbiology. 54: 49- 79, (2000).

Oosterlink E, Delers M. Puériculture et pédiatrie. L'enfant à l'hôpital .Lamarre :Ed7. Chapitre 50.p1206-1207, (2007).

Otto M. Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinant of pathogenicity. Review of Medicine. 64:1-14, (2012).

P

Pajkos A, Vickery K, Cossart YJ Hosp Infect, 58(3):224-229, (2004).

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

Passuti, N, G. Daculsi, Presse Méd. Vol. 18, pp. 28-31, (1989).

Pavese P. Infections urinaires nosocomiales : définition, diagnostic, physiopathologie, prévention, traitement. Médecine et maladies infectieuses. 33 : 266s–274s, (2003).

R

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

S

Santos J.D, « ceramics in medicine », Busines briefing: Medical device manufacturing and technology pp.1-2, (2002).

Schuman EK, Chenoweth CE. Preventing hospital-acquired pneumonia. In: Lautenbach E, Woeltje KF, Malani PN, editors, Practical Healthcare Epidemiology. Chicago: University of Chicago Press: 164-72, (2010).

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

Simoe.M, Antimicrobial strategies effective against infectious bacterial biofilms.CurrMed Chem18, 2129-2145, (2011).

Sotto A. et Lavigne J.P, Le biofilm. Forum du Comité d'Infectiologie de l'AFU. Association française d'urologie, (2007).

Stern GA. Contact lens associated bacterial keratitis "past, present, future" *clao*; 24:52-6, (1998).

Stewart P. S, Costerton J .W. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. *Lancet* .358: 135-138, (2001).

T

Talaro, Kathleen, Park ,Foundation in Microbiology: Basic Principles, McGraw- Hill, New York, (2008).

Tenke, P., Kovacs, B., Jackel, M. & Nagy, E, Theroie of biofilm infection inurology. *World J Urol* 24, 13-20, (2006).

Thein FC, *Microbial*; 9: 34-39. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie « Port de lentilles de contact et kératites d'origine infectieuse : 14 cas diagnostiqués au CHU de Nantes de juin 2001 à décembre 2003 », (2001).

Trautner, B. W. & Darouiche. R, Catheter-associated infections: pathogenes is affects prevention. *Arch Intern Med* 164,842-850, (2004a).

Trautner, B. W. & Darouiche, R. O. Role of biofilm in catheter-associated urinary tract infection. *Am J Infect Control* 32,177-183, (2004b).

V

Van Loosdrecht M.C.,lyklema J., Norde W., Zehnder A.J. Influence of interfaces on microbial activity. *Microbiol Rev.* 54:75 – 87, (1990).

W

Watnick P., Kolter R. Biofilm: City of microbes. *J. Bacteriol.* 182 (10): 2675-2679, (2000).

Wilhemus Kit, Robinson NM. Font RA., Hamill MB. Jones DB. Fungal keratitis in contact lens. *WearersAMI ophthalmol*; 10:708-14, (1988).

Z

Zhang. L, Gowardman.J. &Rickard, C.M, Impact of microbial attachment on intravascular catheter-related infections. Int J Antimicrob Agents 38,9-15, (2011).

Webographie:

CCLIN. (2012). Check list Sondage Urinaire. www.cclin-arlin.fr.

NAMSA, .Biocompatibilité matrix.www.namsa.com/Portals/0/Documents/biocompatibility-matrix.pdf en ligne, parution ,2009.