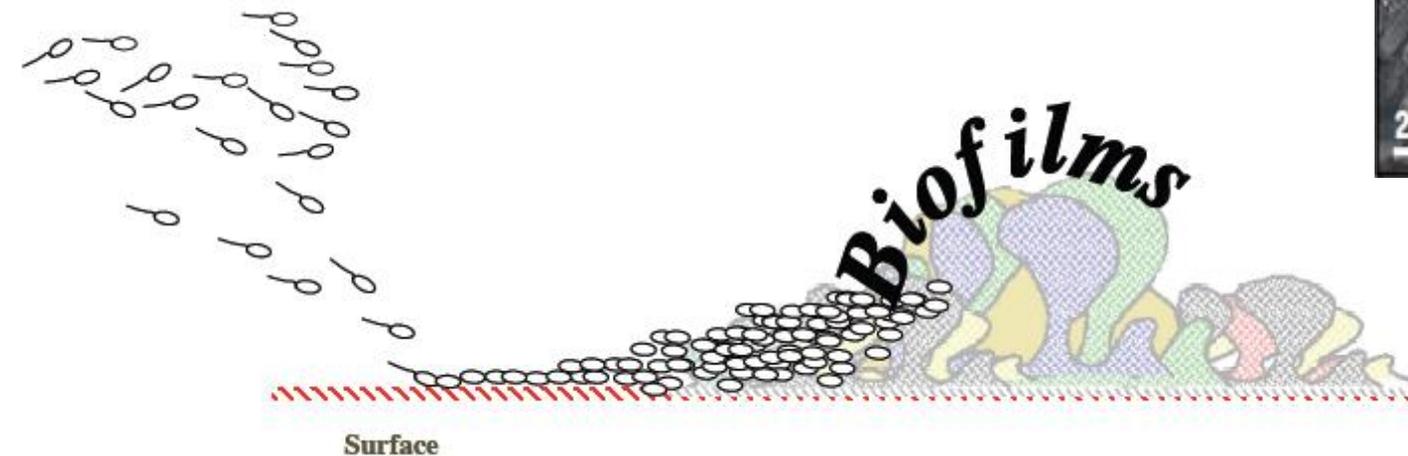
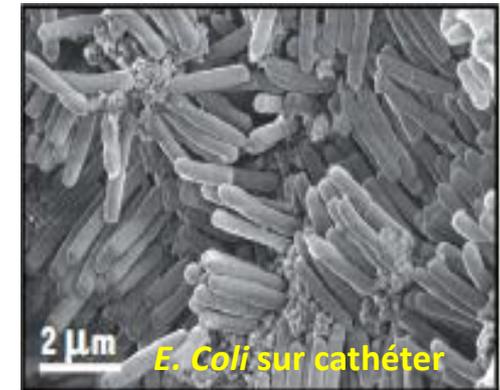


LE BIOFILM

Sa vie, Son œuvre



2019 Rencontre des praticien en hygiène

CPIAS ARA

De quoi va-t-on parler ?

- Qu'est-ce que c'est ?
- Un peu d'histoire
- Où trouver les biofilms ?
- Comment se forme le biofilm ?
- Comment fonctionne le biofilm ?
- Comment se dissémine le biofilm ?
- Quelles conséquences du biofilm ?

Définition du biofilm

(Donlan 2002)

Populations organisées de microorganismes

Englobés dans une matrice extra-cellulaire
auto-produite

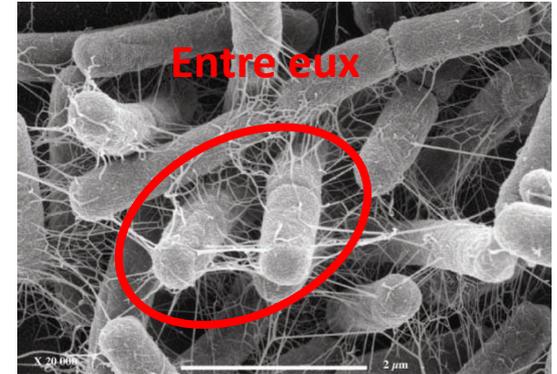
Adhérent les uns aux autres

et/ou

à des surfaces biotique ou abiotique

Biotopes naturels ou artificiels

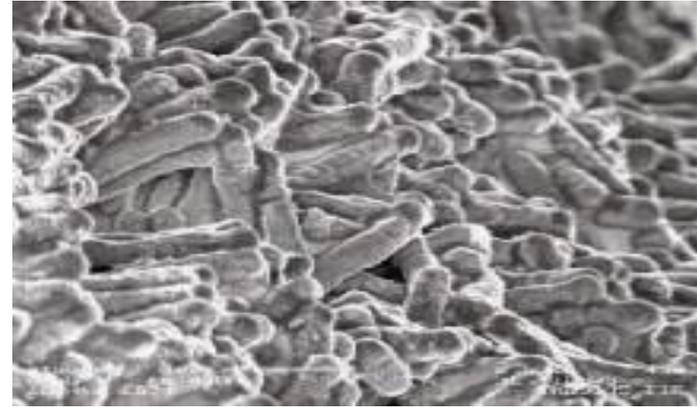
Souvent constitués de **populations mixtes** où se
côtoient toutes sortes de microorganismes



"TOUS" les microorganismes forment des biofilms

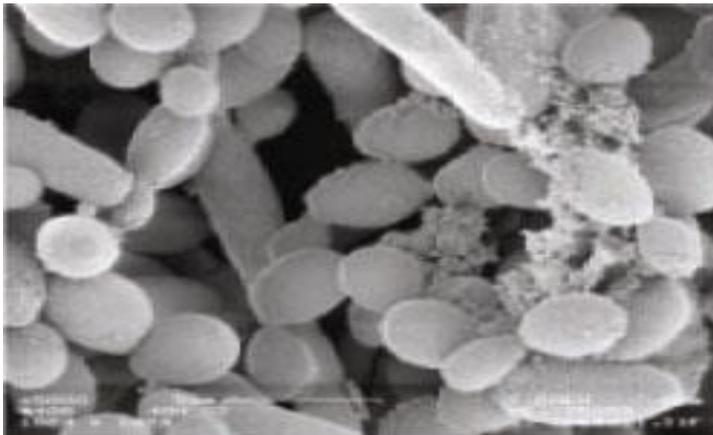


Bactérie à Gram positif
Staphylococcus sp



Bactérie à Gram négatif
Escherichia coli

Principal mode de prolifération bactérien dans la majorité des écosystèmes



Levures : *Candida albicans*

**Protozoaires,
Algues unicellulaires,
.....**

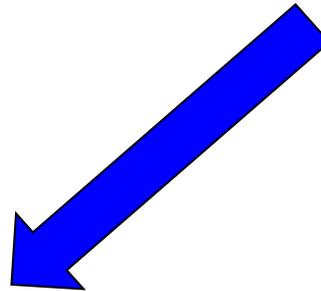
Un peu d'histoire...



Anton Van Leeuwenhoek

Commerçant

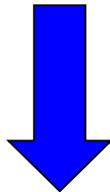
Inventeur du microscope



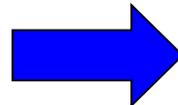
1864

Plaque dentaire : «Animalcules»

Film adhérent à l'émail



Vinaigre + Grattage dents



Disparition de la couche externe du biofilm

MAIS

Persistance d'une couche d' "animalcules"

Quelques publications fondatrices

The Fouling of ships bottoms by bacteria.

Croissance bactéries sur la coque des bateaux

Angst EC. Rep. Bur. Constr. Repair,
US Navy Dep., Washington DC, 1923.

*Studies of freshwater bacteria. I. A
direct microscopic technique*

“... it is quite evident that for most part
water bacteria are not free floating
organisms, but grow upon submerged
surfaces.”

Henrici AT. J. Bacteriol. 1933.

*Microscopic examination of natural
sessile bacterial populations
from an alpine stream*

Can J Microbiol. 1977.

Geesey GG, Richardson WT,

Yeomans HG, Irvin RT,

Costerton JW.



J. William Costerton

How bacteria stick

Sci Am. 1978

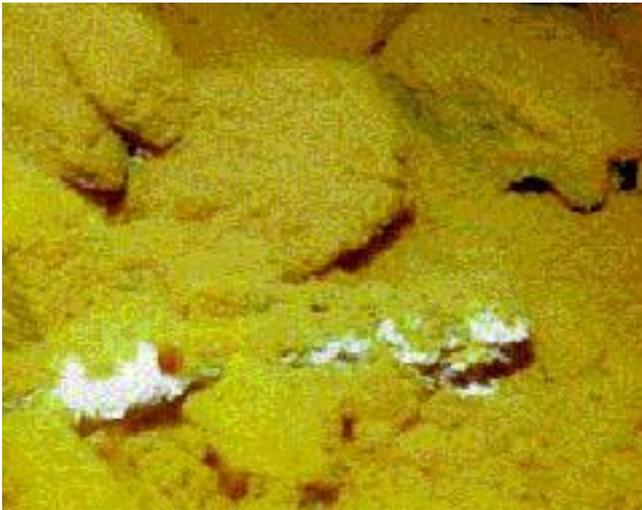
Costerton JW,

Geesey GG, Cheng KJ.

Où trouver les biofilms ?

Les biofilms sont ubiquitaires dans les environnements naturels

Milieu minéral



Milieu végétal



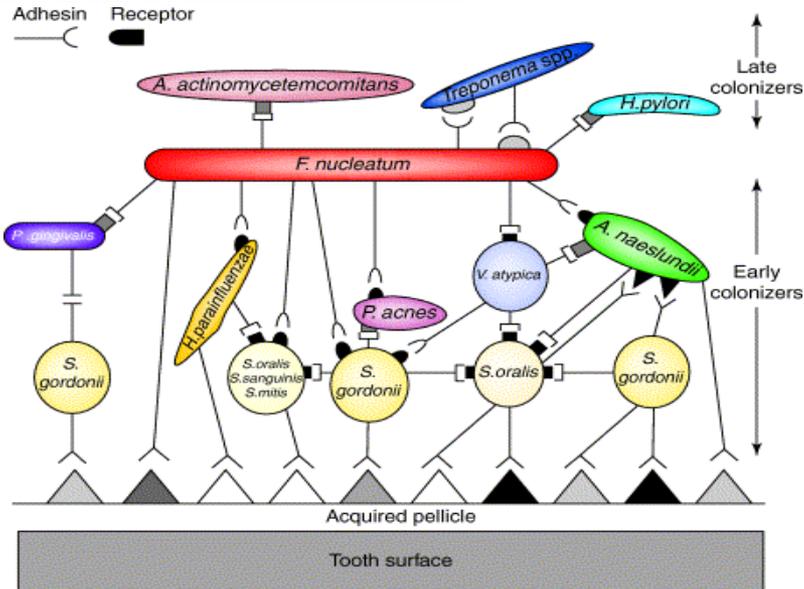
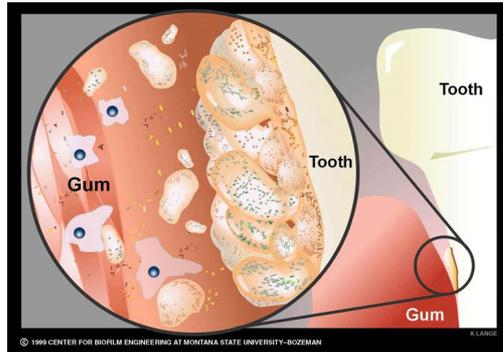
En milieu aquatique, les bactéries sont en majorité associées à des surfaces

Où trouver les biofilms ?

Les biofilms sont ubiquitaires dans les environnements naturels

Animaux : dents

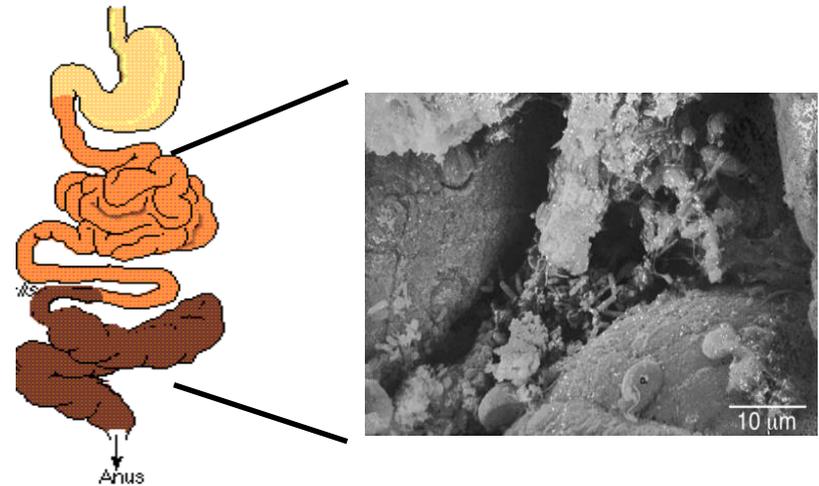
Plaque dentaire : > 500 espèces bactériennes



TRENDS in Microbiology

Animaux

Peau, tympan,
intestins, prostate,
valves cardiaques...



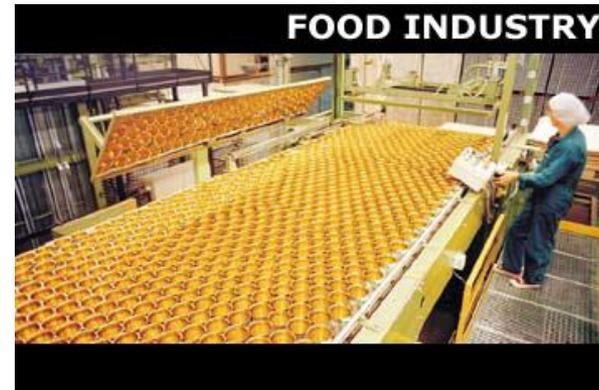
Biofilm dans l'intestin
d'une souris

Où trouver les biofilms ?

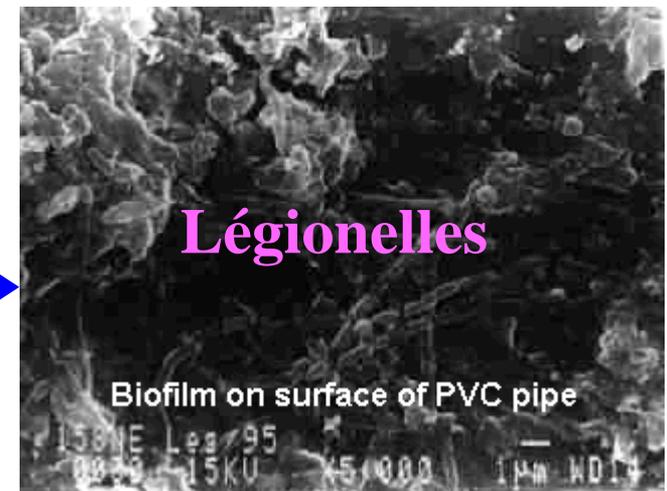
Les biofilms sont ubiquitaires dans les environnements humains

Industrie agroalimentaire

Sur les aliments et les surfaces



Industries, systèmes de distribution des eaux, ...



Où trouver les biofilms ?

Les biofilms sont ubiquitaires dans les environnements humains

A la maison

Éponge

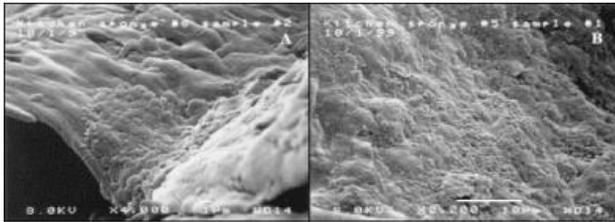
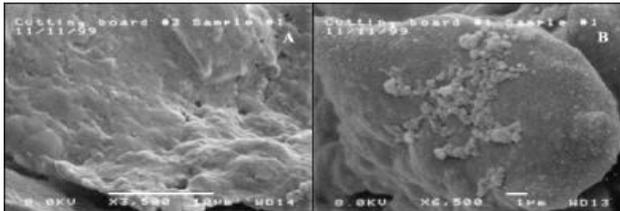
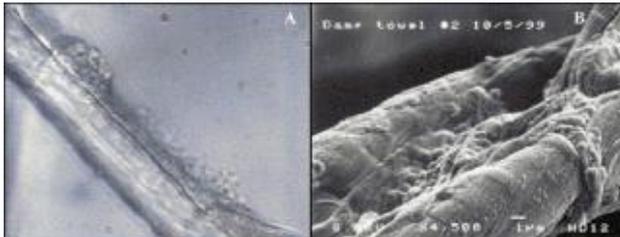


Planche
à
découper



Serviette
de



toilette



Rayner,
2004

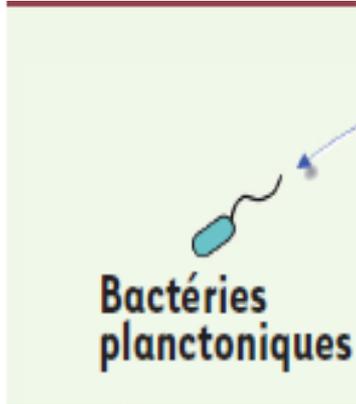
A l'hôpital

Dispositifs médicaux invasifs...



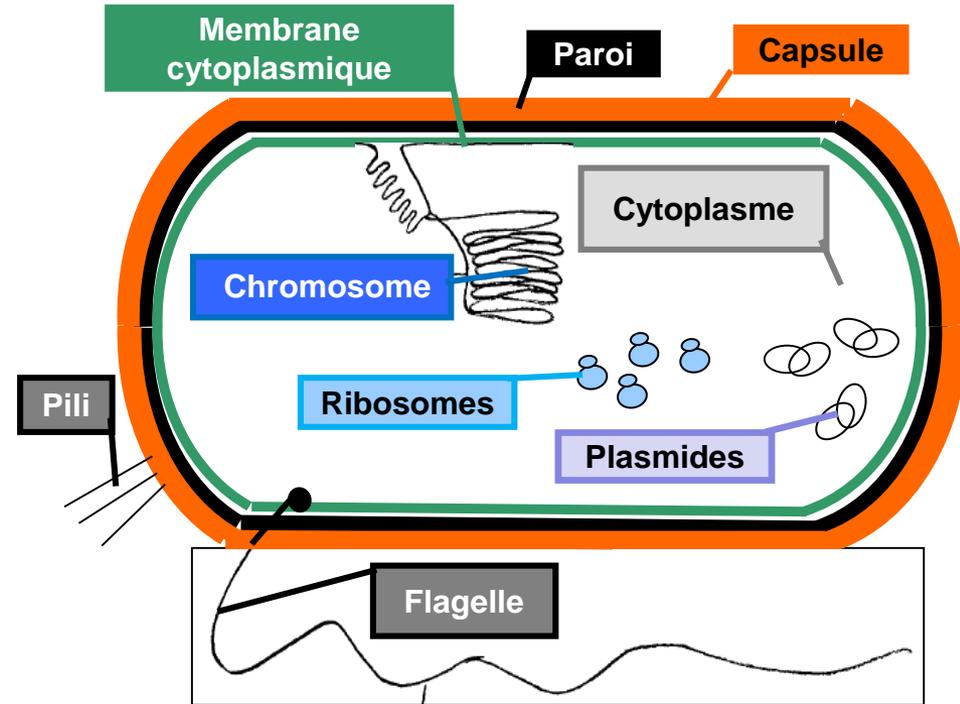
...ou non : générateur de dialyse,
lave-endoscope, unité d'eau dentaire,
surfaces...

Formation des biofilms : 1^{ère} étape



Propriété physico-chimique des bactéries

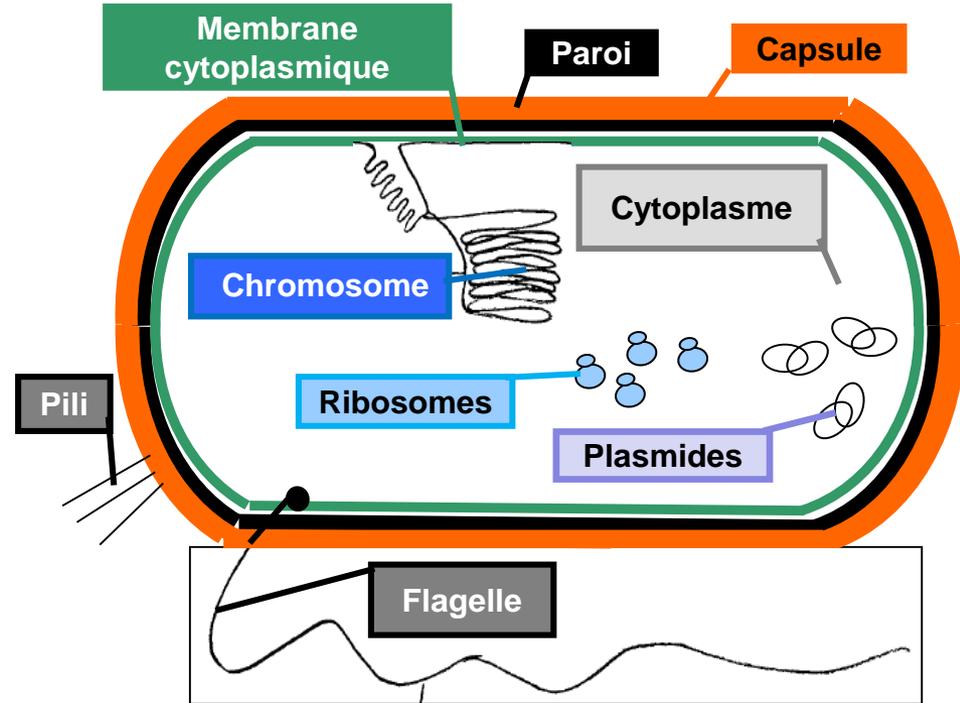
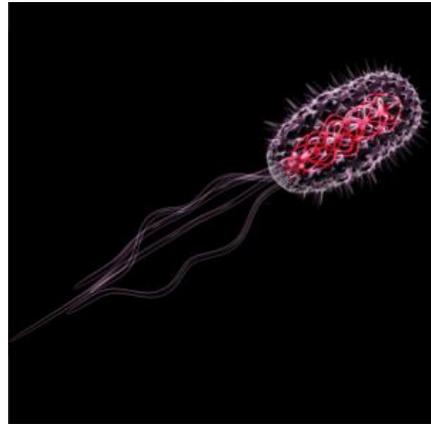
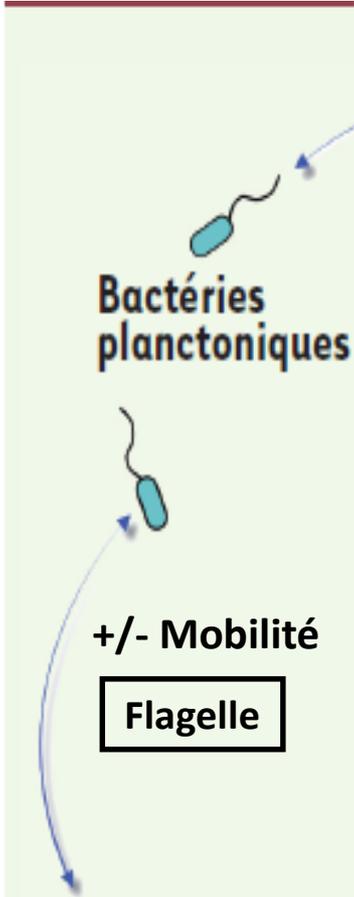
Hydrophobie ; Charge électro-statique



Formation des biofilms : 1^{ère} étape

Propriété physico-chimique des bactéries

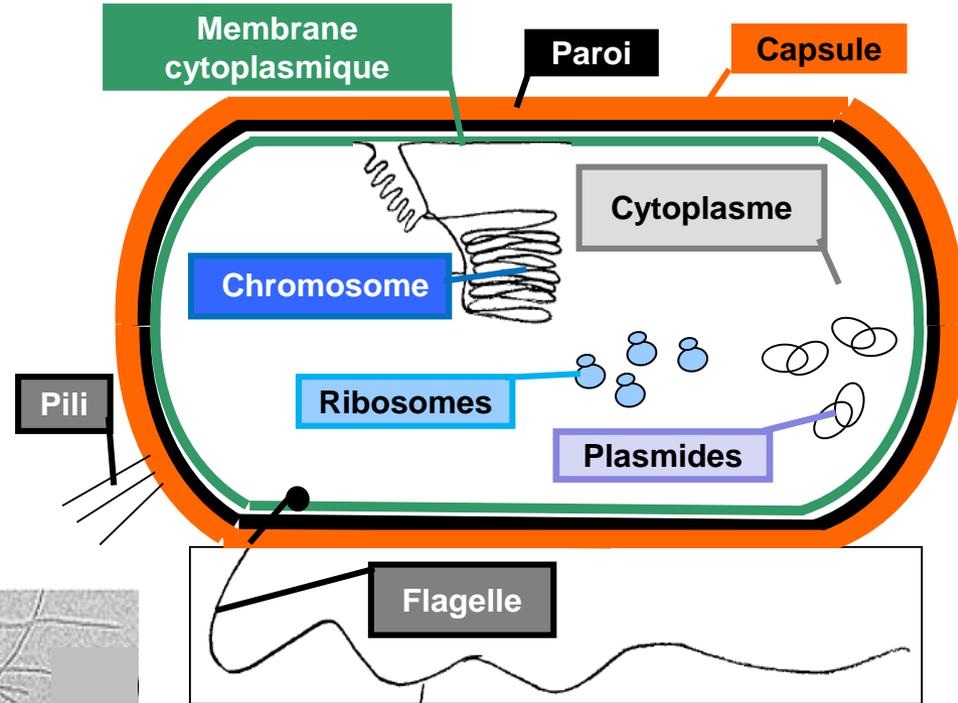
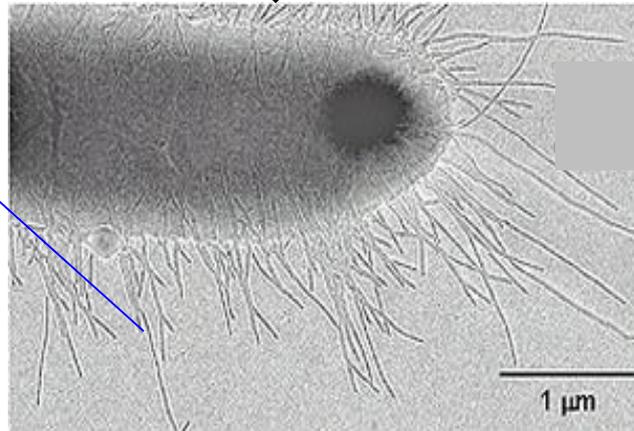
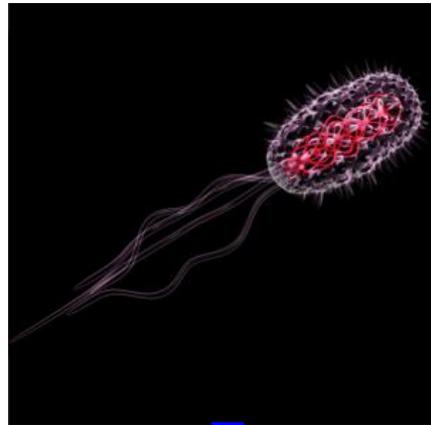
Hydrophobie ; Charge électro-statique



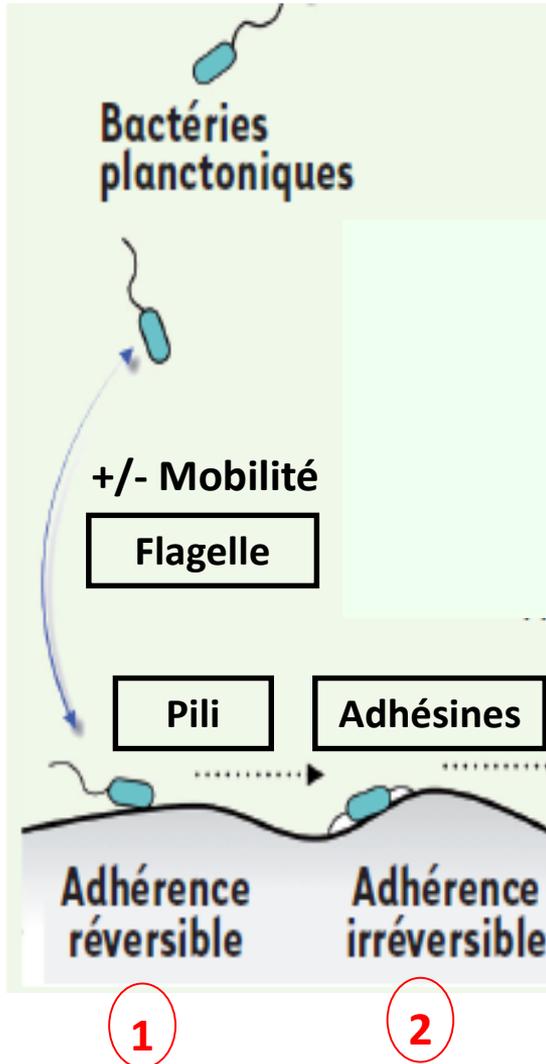
Formation des biofilms : 1^{ère} étape

Propriété physico-chimique des bactéries

Hydrophobie ; Charge électro-statique



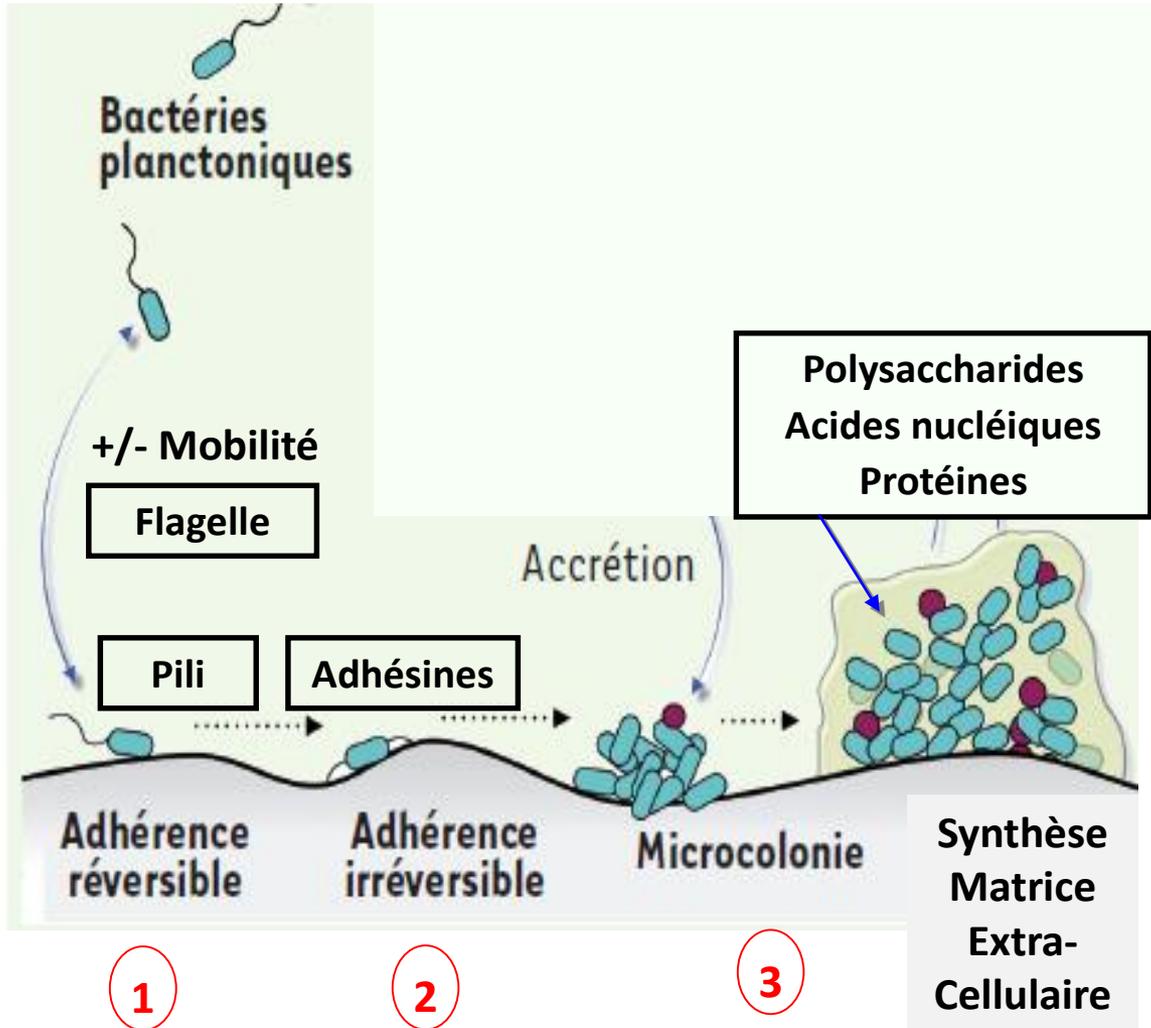
Formation des biofilms : 2^{ème} étape



Adhérence à la surface

- Propriété physico-chimique des bactéries :
Hydrophobie ; Charge électro-statique
- Adhésine : Molécules de l'enveloppe surface interagissant +/- spécifiquement avec la surface
- Pili : adhésion avec la surface et entre bactéries

Formation des biofilms : 3^{ème} étape



Colonisation du support

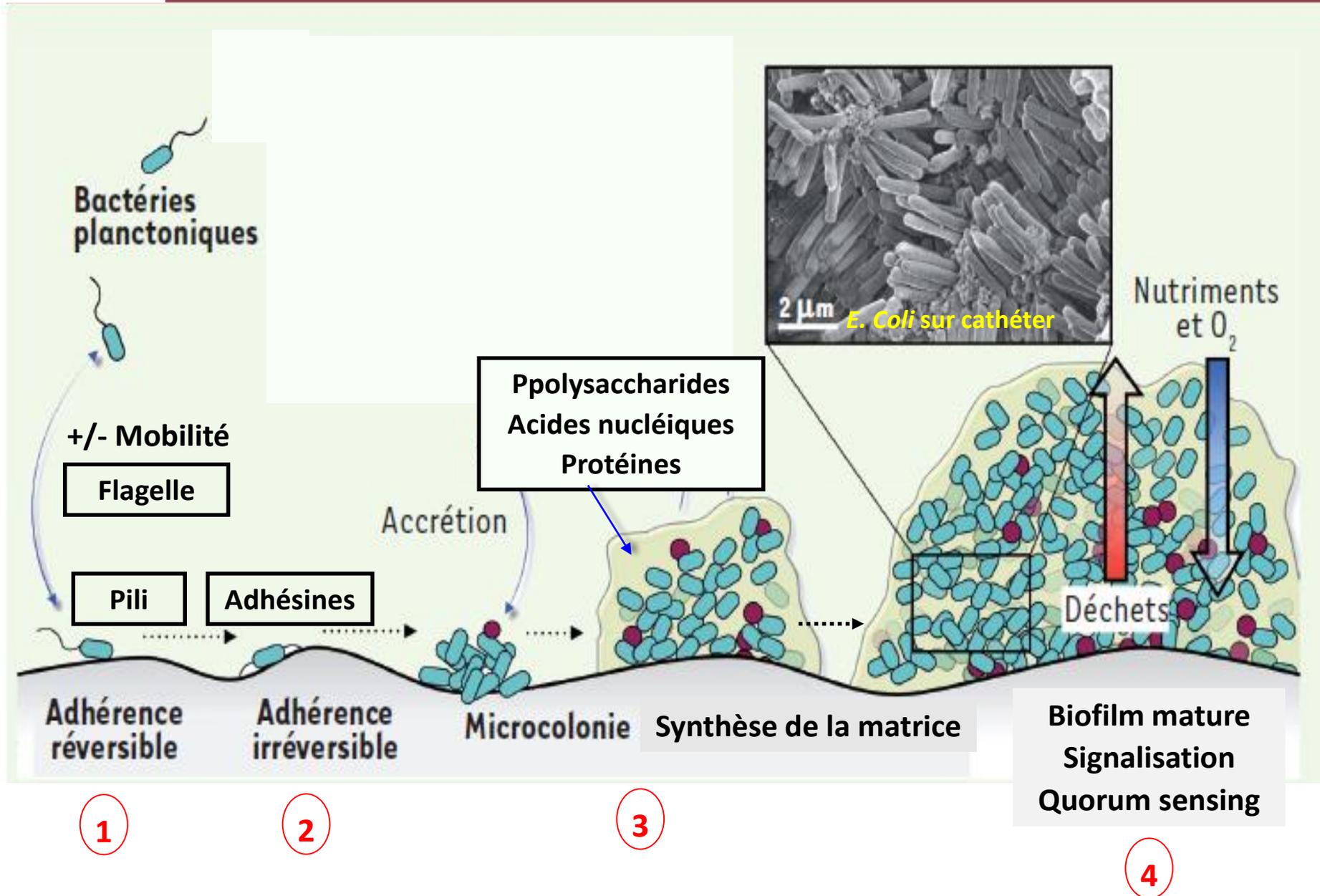
Micro-colonies

- Prolifération bactéries sessiles
- Recrutement bactéries planctoniques

Matrice extra-cellulaire

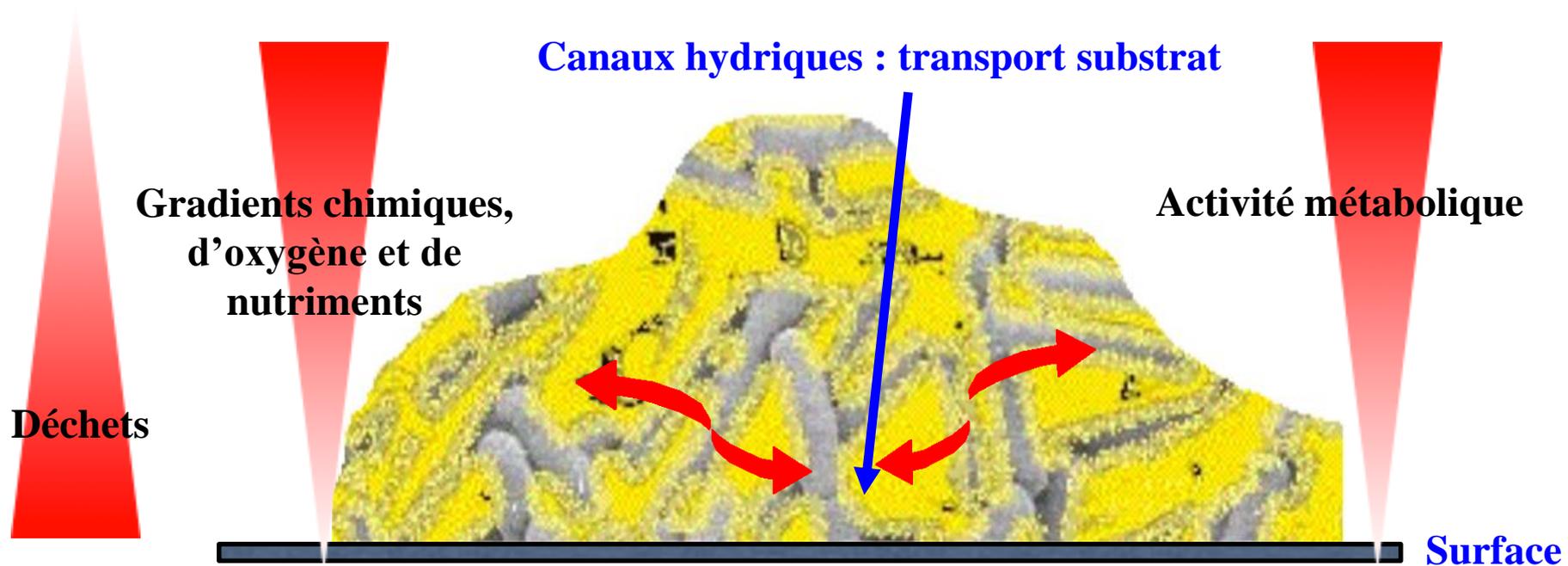
- Protection et Cohésion
- Contribue au passage planctonique – sessile

Formation des biofilms : 4^{ème} étape



Comment fonctionne le biofilm ?

Sociomicrobiologie ou coopération métabolique

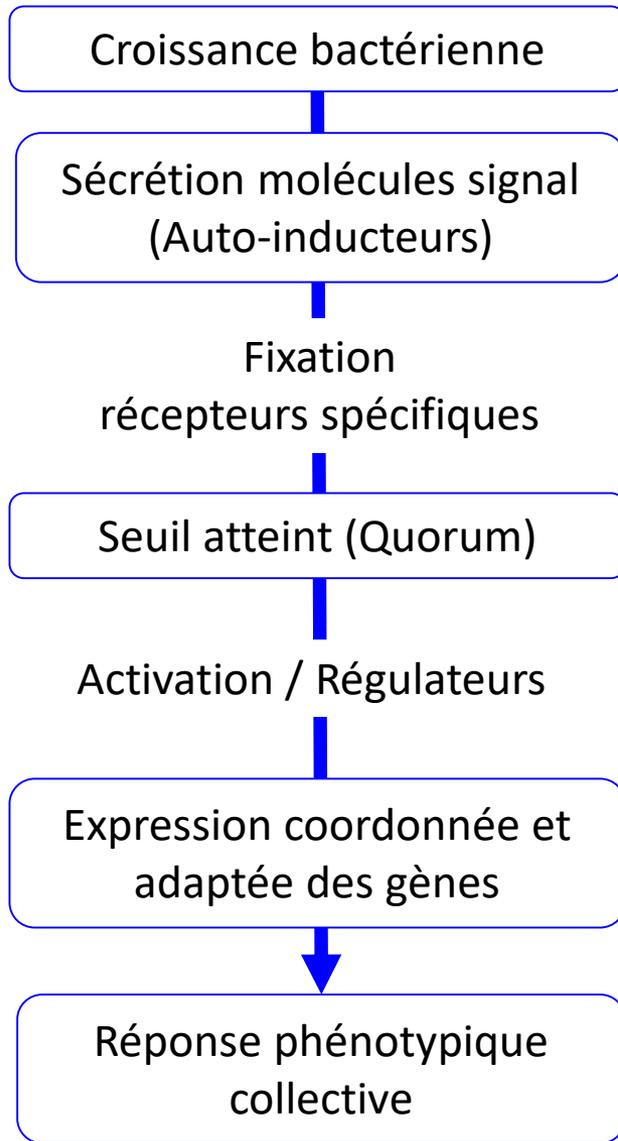


Structure organisée, complexe, hétérogène, adaptable et évolutive

- **Coopération** : Quorum sensing, Tolérance élevée
- **Compétition** : Molécules empêchant l'implantation d'un organisme exogène

Exemple de sociomicrobiologie

Quorum sensing



- 1^{ère} description chez *P. aeruginosa*
- Coordonne l'expression des gènes en fonction de la densité bactérienne
- Rôle dans la formation et le détachement du biofilm
- Différences entre les systèmes
 - Nature chimique des auto-inducteurs produits
 - Mécanismes de détection des auto-inducteurs

Exemple de sociomicrobiologie

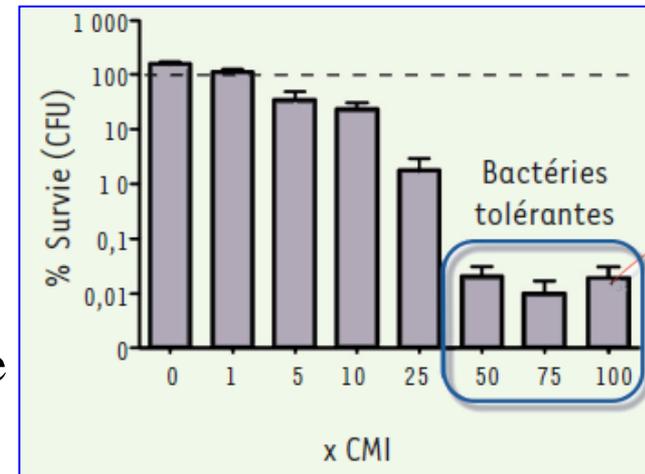
Tolérance du biofilm aux biocides

- Résistance

- Capacité de multiplication du microorganisme en présence du biocide
- Mécanisme en majorité héritable : bactérie mère → bactéries filles

- Tolérance

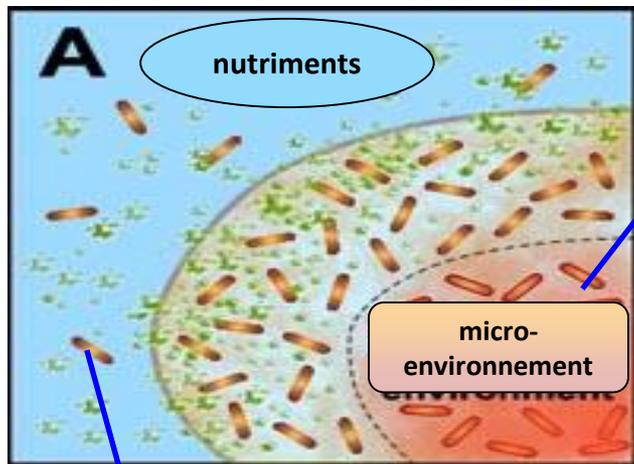
- Survie à des concentrations très élevées de biocides MAIS avec une croissance microbienne interrompue
- Biofilm : caractéristique phénotypique réversible et non héritable



Exemple de sociomicrobiologie

Tolérance du biofilm aux biocides

Utilisation des nutriments



Bactéries planctoniques

= activité individuelle

Substrat environnant non
épuisé

Gradient nutriments/oxygène

Micro-environnement chimique

Epuisement des substrats

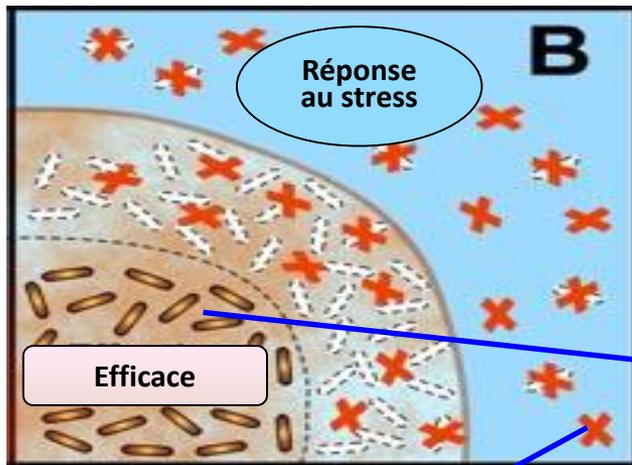
Diminution de l'activité métabolique

Diminution de la sensibilité aux antimicrobiens
(aminosides)

Exemple de sociomicrobiologie

Tolérance du biofilm aux biocides

Réponse au stress coordonnée



Bactéries planctoniques
= Activité individuelle

Gènes non activés car faute
de temps

Expression de gène de résistance

- Pompe à efflux (*E. coli*, *P. aeruginosa*)

Transfert horizontal de gènes

- Conjugaison via les pili : Réservoir BMR

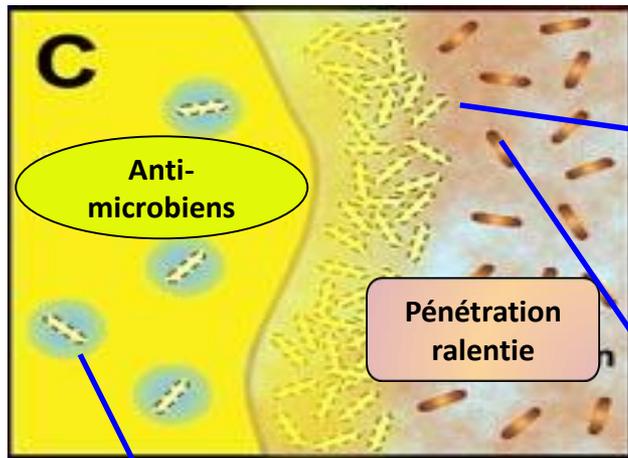
Accumulation de glucanes

- Inhibe diffusion antibiotique (*P. aeruginosa*)

Exemple de sociomicrobiologie

Tolérance du biofilm aux biocides

Neutralisation des antimicrobiens



Bactéries planctoniques
= Activité individuelle
Sans impact sur le
voisinage

Ralentissement ou impossibilité de
pénétration

- Du à la matrice extra-cellulaire
- *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*

Matrice extra-cellulaire

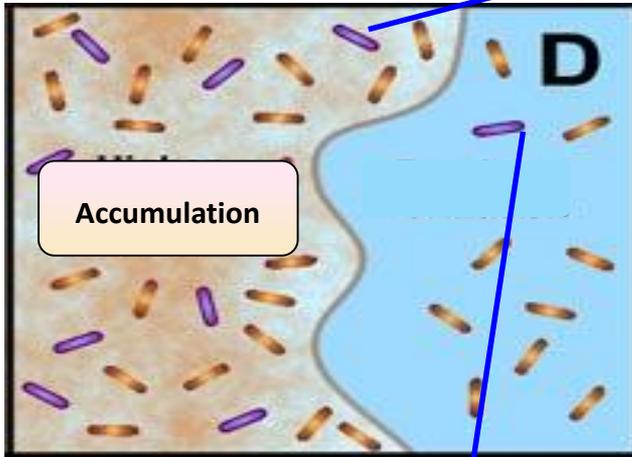
Augmentation de la résistance aux
défenses immunitaire de l'hôte

Exemple de sociomicrobiologie

Tolérance du biofilm aux biocides

Persisters = bactéries en dormance

— Persisters



Bactéries planctoniques

= Activité individuelle

Persisters peu nombreux

Etat instable

Micro-environnement chimique

Epuisement des substrats

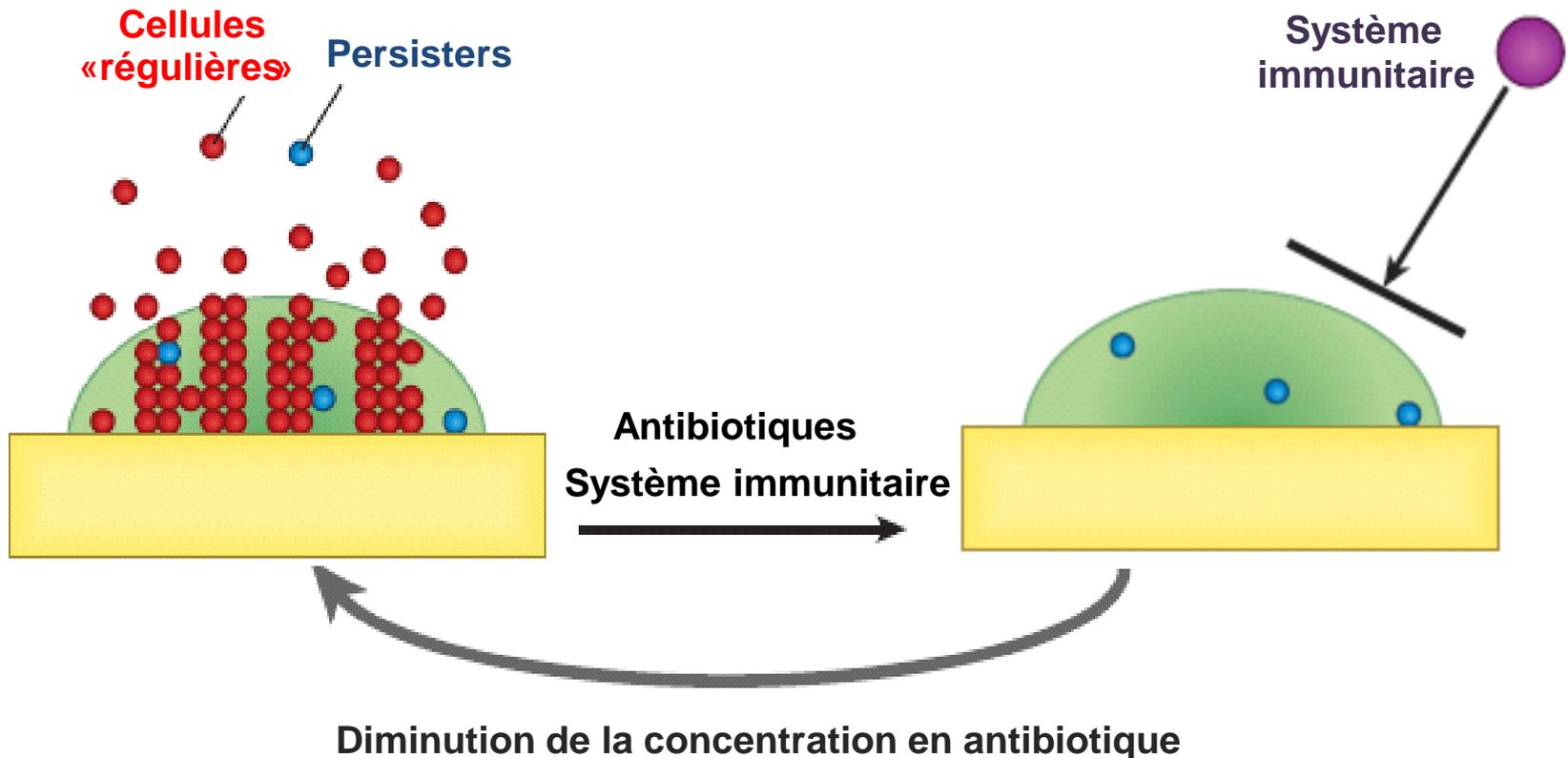
Diminution de l'activité métabolique

Accumulation de persisters

- Cellules à faible activité métabolique
- Etat stable car retenus par la MEC
- Etat réversible

Inactivité de la plupart des antimicrobiens

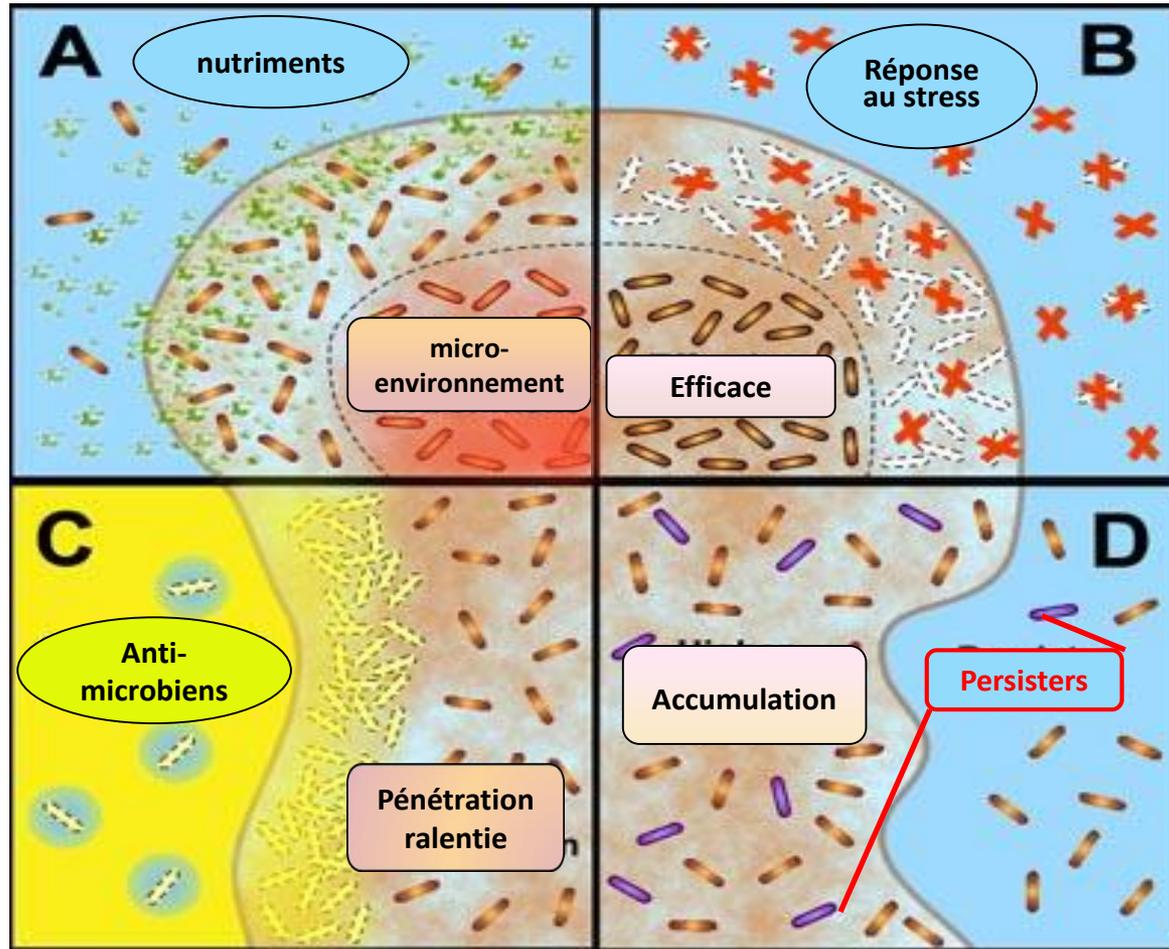
Rôle des persisters dans la persistance des infections chroniques



Exemple de sociomicrobiologie

Tolérance du biofilm aux biocides

A.
Gradient
nutriments -
oxygène



B.
Réponse au
stress
coordonnée

C.
Neutralisation
antimicrobiens

D.
Persisters
(bactéries
dormantes)

Exemple de sociomicrobiologie

Tolérance du biofilm aux biocides

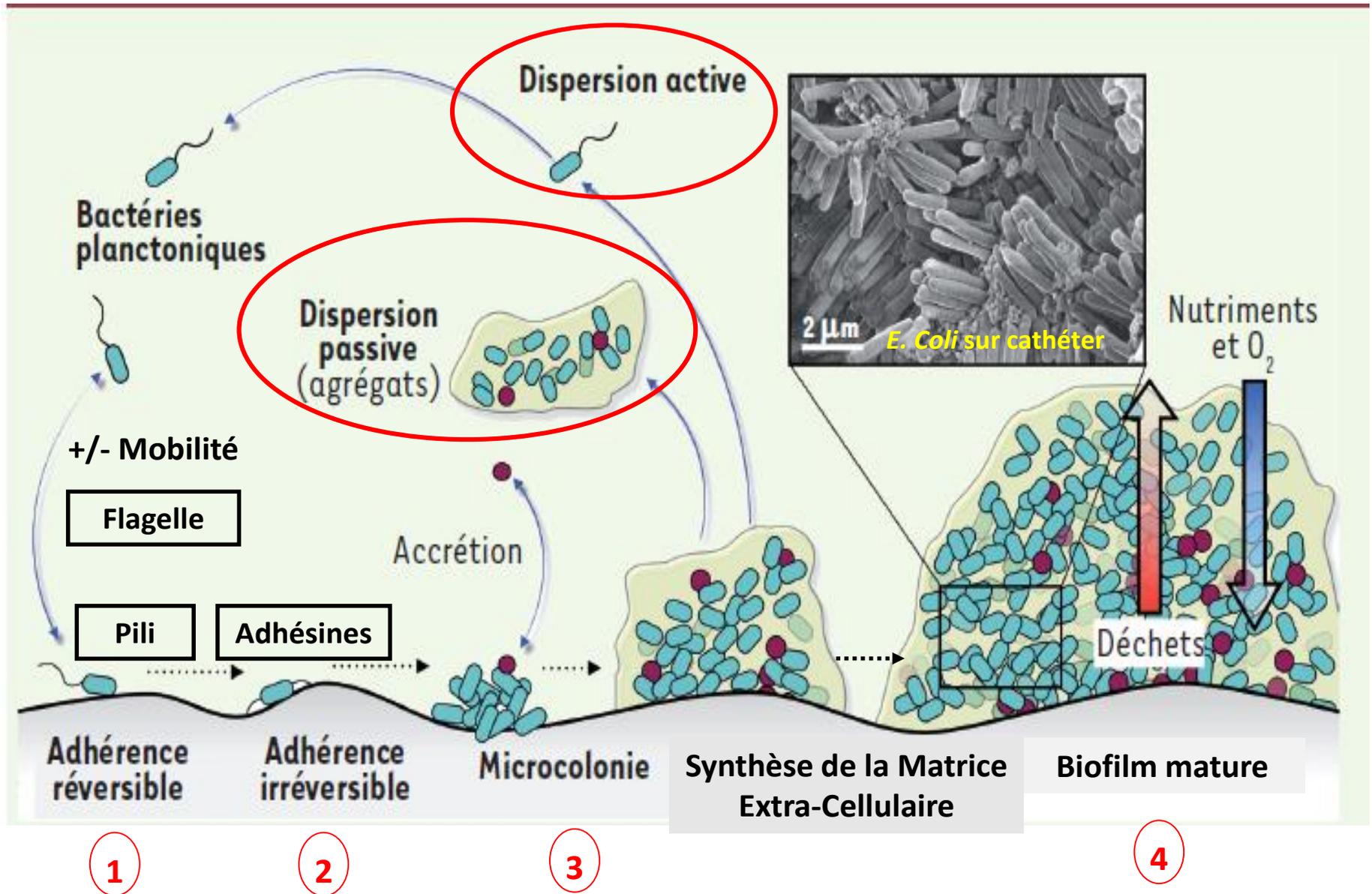
- Infections chroniques/récidivantes à des bactéries sensibles : Ex. mucoviscidose, infections associées aux dispositifs médicaux
- Résistance aux antibiotiques des bactéries sessiles : jusqu'à 1000 fois la concentration minimale inhibitrice

Micro-organisme	Antibiotique	CMI ou CMB planctonique (µg/ml)	Concentration efficace biofilm (µg/ml)	Référence
<i>S. aureus</i> (NCTC 8325-4)	Vancomycine	2 (CMB)	20 ^a	Williams 1997
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	Imipénème	1 (CMI)	> 1024 ^b	Ceri 1999
<i>E. coli</i> (ATCC 25 922)	Ampicilline	2 (CMI)	512 ^b	Ceri 1999
<i>P. pseudomallei</i>	Ceftazidime	8 (CMB)	800 ^c	Vorachit 1993
<i>S. sanguis</i> 804	Doxycycline	0,063 (CMI)	3,15 ^d	Larsen 1996

^a Concentration nécessaire pour une réduction de 99% ; ^b Concentration minimale d'éradication en biofilm

^c Concentration nécessaire pour environ 99% de réduction ; ^d Concentration nécessaire pour réduction > 99%

Comment se dissémine le biofilm ?



Comment se dissémine le biofilm ?

Coloniser de nouveaux sites

Multiforme et pas totalement élucidé (Guilhen, 2017)

Décrochement passif

Modification des forces hydrodynamiques

- Croissance cellulaire : Ex Quorum sensing
- Erosion : décrochement continu de petites portions
- Sloughing : décrochement rapide de larges agrégats
- Abrasion : collisions entre particules et biofilm

Décrochement actif

- Modifications de l'environnement
- Programmé : Ex synthèse protéine (dispersine B et *S. aureus*)

Signal

Intégration du signal

Protéine sensor

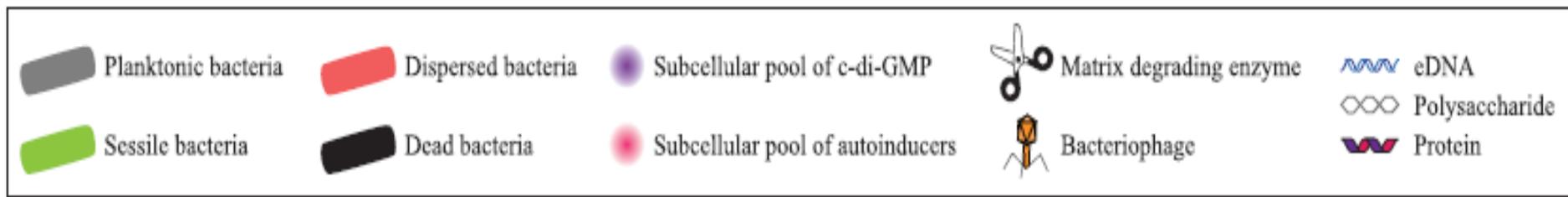
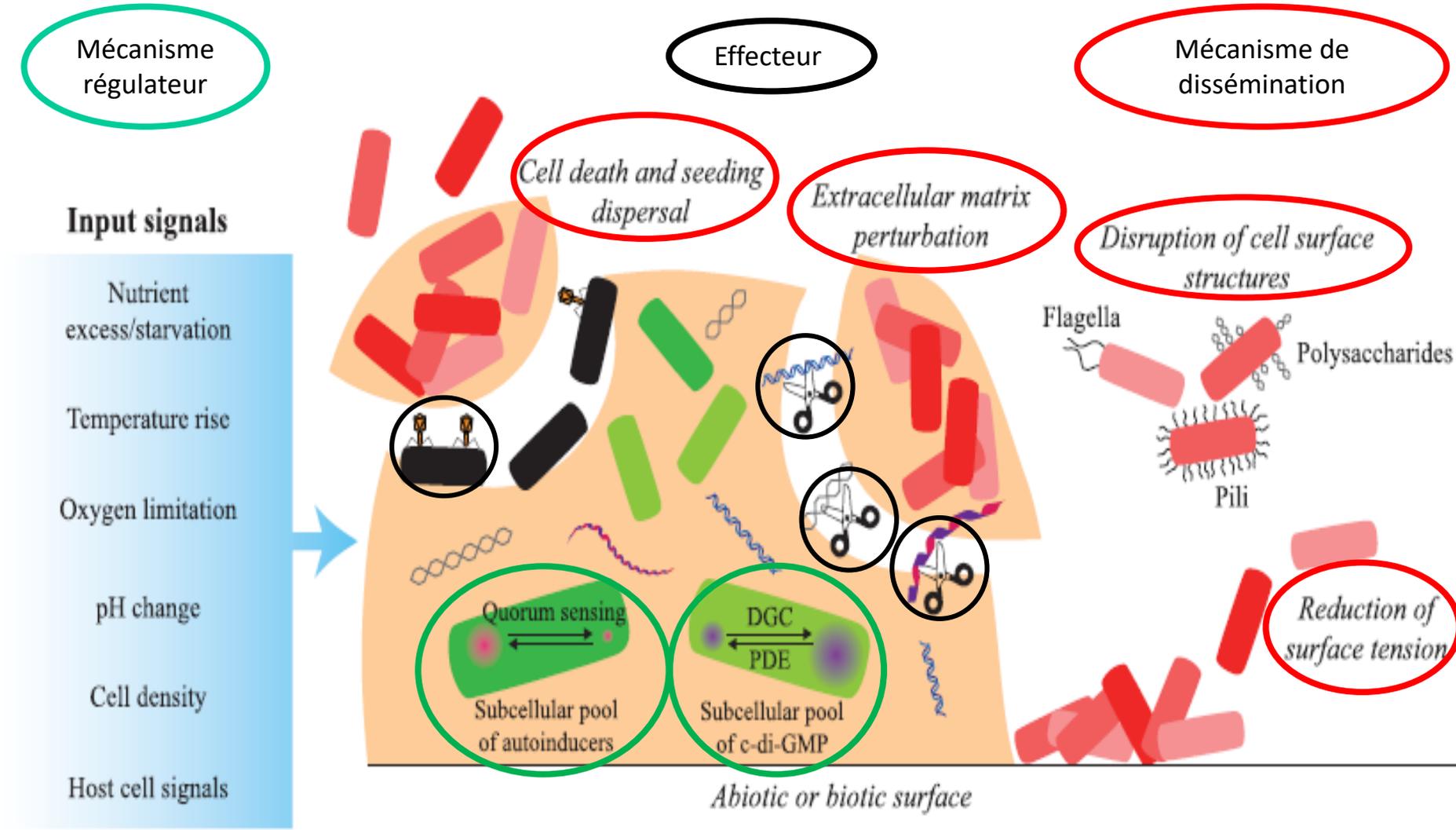
Régulateur

intracellulaire

Réponse spécifique

Effecteur

Dissémination



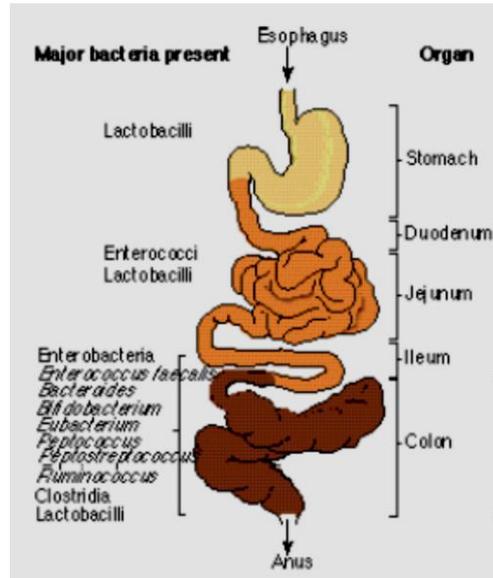
Quelles conséquences du biofilm ?

Impact des biofilms dans l'environnement : les aspects positifs ...



Fonctionnement / Renouvellement
des écosystèmes naturels

Bioréacteurs : traitement des eaux usées



Flore commensale ou biofilm commensal

Protection du système digestif vis-à-vis de
l'implantation de microorganismes pathogènes

... etc....

Quelles conséquences du biofilm ?

Impact des biofilms dans l'environnement : les aspects négatifs ...

Environnement

Corrosion/Altération surfaces

- Industrie navale
(nettoyage coque des bateaux)
- Biocorrosion des canalisations



Infections humaines

- 75% seraient associées au biofilm (Davies 2003)
- Infection communautaire et associée aux soins
- Sur tissus natifs, souvent chroniques :
Endocardite, otite moyenne, prostatite chronique,
mucovicirose, parodontite...
- Sur dispositifs médicaux, souvent associées
aux soins : stérilets, lentilles, cathéters, prothèses...
- Rôle des bactéries dispersées : facteurs
d'adhésion et de virulence +++

Principales infections associées aux biofilms

Infections liées au matériel

Dérivations ventriculaires

Sondes oro-trachéales

Cathéters vasculaires centraux
(artériels et veineux)

Valves cardiaques et stimulateurs cardiaques

Cathéters vasculaires périphériques

Sondes sur voies urinaires (urétrales et urétérales)

Prothèses articulaires et matériels d'ostéosynthèse

Endoscopie

Souvent associées aux soins

Infections chroniques

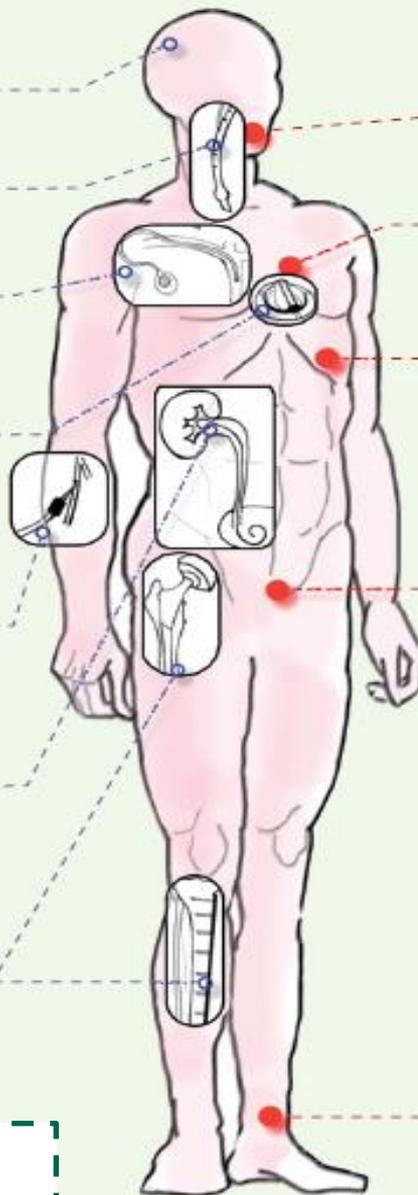
Pathologies buccodentaires et ORL (caries, stomatites, otites chroniques)

Endocardites infectieuses

Pneumopathies chez les patients atteints de mucoviscidose

Infections urinaires récidivantes

Infections associées aux plaies chroniques



Conclusions sur le biofilm

Communauté complexe et évolutive de différents microorganismes

Ubiquitaire

Etat planctonique, sessile ou dispersé

Expressions géniques différentes et uniques

Formation, Physiologie et Dispersion

Pas complètement élucidés

Impacts positifs et négatifs

Eradication possible...et souhaitable ?