

Biofilms bactériens et santé

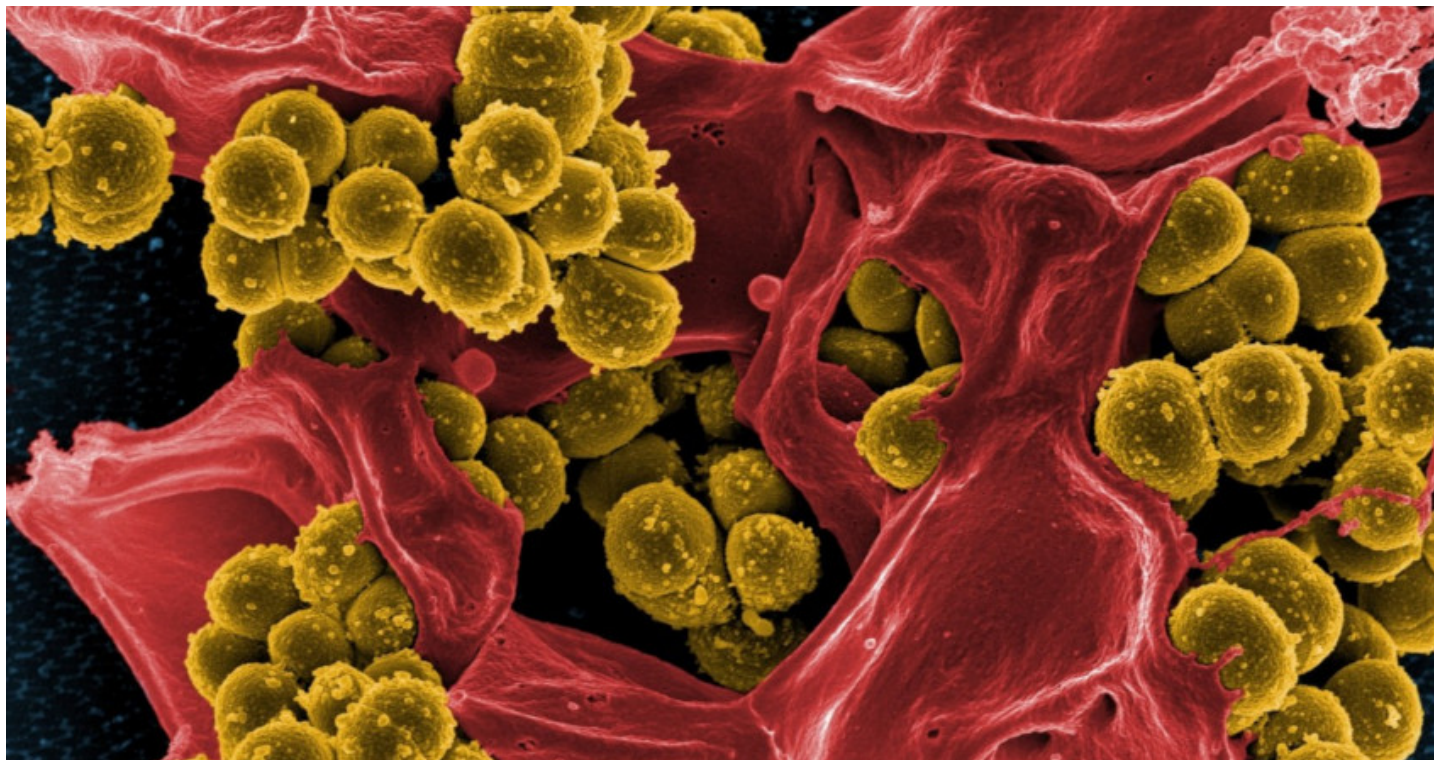
Auteurs :

AUMERAN Claire, Maitre de conférences - Praticien Hospitalier, Université Clermont Auvergne CHU Clermont Ferrand.

BALESTRINO Damien, Enseignant-chercheur à l'Université Clermont-Auvergne, LMGE (Laboratoire Microorganismes : génome et environnement), UMR CNRS 6023

FORESTIER Christiane, Professeur des Universités, Université Clermont Auvergne.

17-03-2020



in vitro

Qu'est-ce qu'un biofilm ? C'est un mode de vie en communautés qui permet à des microorganismes - des êtres unicellulaires tels que les bactéries - d'adopter un comportement de groupe. Les biofilms sont le plus souvent fixés à un support et ils sont ubiquitaires. Ce fut d'ailleurs un des premiers modes d'organisation du vivant au fond des océans, il y a quelques milliards d'années. La majorité des infections bactériennes impliquent des biofilms, ce qui favorise la survenue des formes chroniques et entraîne des difficultés de traitement. Aucune stratégie efficace n'a encore pu être mise au point, mais une meilleure connaissance des mécanismes impliqués dans la formation et le maintien de ces agrégats devrait permettre d'élaborer prochainement des approches innovantes et efficaces.

1. Biofilms ou comment des êtres unicellulaires s'organisent en communautés

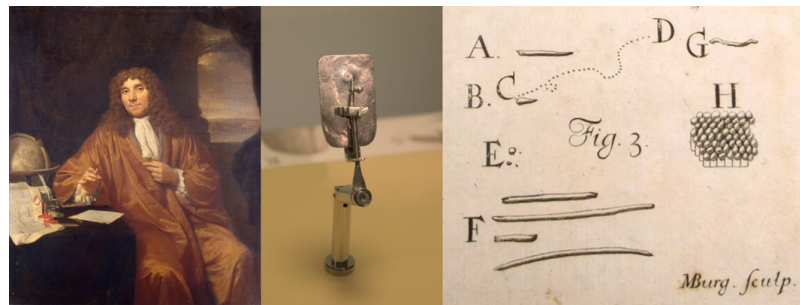


Figure 1. Anton van Leeuwenhoek et son microscope lui ayant permis d'observer des amas d' « animacules » (ici des bactéries de la bouche même de Leeuwenhoek. [Source : images libres de droit]

Les premiers regroupements de bactéries furent observés au XVII^e siècle par Antoni van Leeuwenhoek [1], un commerçant néerlandais qui avait développé des lentilles de microscope et analysé des échantillons de plaque dentaire (Figure 1). Il se servait de cet instrument pour compter le nombre de fils d'un tissu et leur épaisseur. Il eut surtout l'idée d'observer le milieu environnant et fut l'un des premiers scientifiques à avoir utilisé le microscope pour explorer le monde des micro-organismes.

Mais ce n'est que beaucoup plus tard que le terme de « film bactérien » puis de « biofilm » fut popularisé, notamment par J. William Costerton [2] dans les années 1980. Costerton était un microbiologiste canadien (1934 - 2012), intéressé notamment par les bactéries du milieu aquatique. Il a montré que, contrairement aux données établies, le mode de vie dominant des bactéries était sous forme de communautés complexes apparentées à un être pluricellulaire qu'il a dénommées biofilms.

Les biofilms sont définis comme des agrégats organisés de microorganismes pouvant contenir jusqu'à 100 millions (10^8) à 10 milliards (10^{10}) cellules par gramme de matière déshydratée. Au sein de ces structures, les cellules bactériennes sont entourées d'une gangue appelée matrice, produite par les bactéries elles-mêmes et qui joue un rôle majeur en assurant la cohésion de l'ensemble, voire la fixation à la surface du substrat.

La majorité des bactéries sont capables de former des biofilms et les différentes étapes conduisant à la formation d'agrégats complexes et hétérogènes à partir de quelques bactéries individuelles ont été largement décrites pour certaines espèces (Figure 2). Il s'agit de phénomènes parfaitement coordonnés et génétiquement programmés.

1.1. Les étapes de formation des biofilms

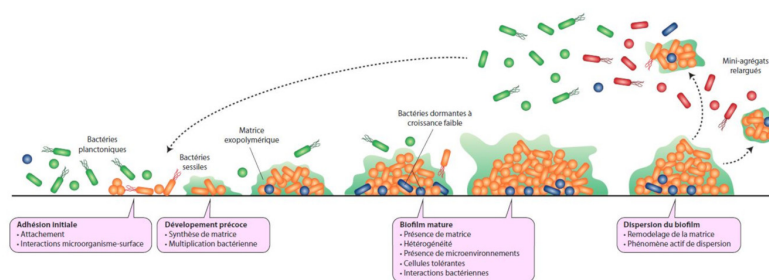


Figure 2. La formation de biofilm s'effectue en plusieurs étapes : adhésion initiale, phase de développement précoce puis phase de maturation aboutissant à une phase dite de dispersion, avec détachement d'un certain nombre de bactéries du biofilm sous forme isolée ou de microagrégats, susceptibles de coloniser d'autres surfaces. [Source : © auteurs de l'article]

L'adhésion initiale permet à quelques bactéries de se fixer aux surfaces ; elle est suivie d'une phase de développement dite précoce au cours de laquelle les bactéries se divisent, synthétisent et sécrètent les composants de la matrice. Ce sont le plus souvent des sucres, des protéines et de l'ADN. La présence de cette matrice participe à l'organisation spatiale des bactéries au sein du biofilm, assure la stabilité du complexe et permet la mise en place de canaux internes permettant la circulation des fluides. En englobant l'ensemble des microorganismes, elle joue également le rôle d'interface avec le milieu extérieur et assure donc une fonction protectrice, mais également des fonctions nutritives, en tant que source d'eau, lieu de rétention de nutriments (calcium, fer,...) et siège d'activités enzymatiques extracellulaires. [3]

L'étape suivante dite de maturation permet le développement d'une structure tridimensionnelle avec mise en place d'un environnement hétérogène dans lequel les bactéries évoluent et interagissent, sous la forme de compétition ou de synergie.

Enfin, l'étape ultime consiste en une phase de dispersion, avec détachement d'un certain nombre de bactéries du biofilm isolées

ou sous forme de microagrégats, susceptibles de coloniser d'autres surfaces.

1.2. Les propriétés spécifiques des biofilms

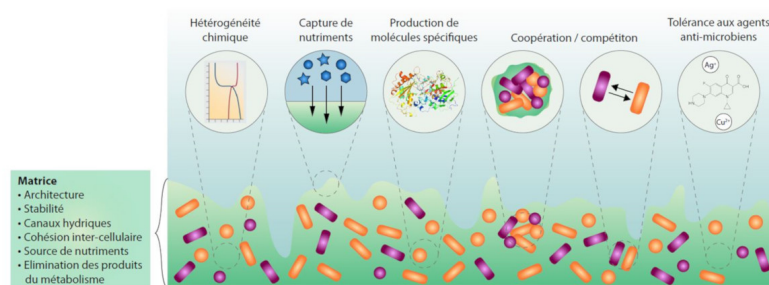


Figure 3. Le biofilm bactérien est une structure hétérogène. Les variations locales de composition en nutriments, enzymes, et autres molécules produites par les bactéries créent des microenvironnements différents au sein du biofilm. Certaines bactéries modifient leur état physiologique et adoptent un état de tolérance vis-à-vis des agents anti-microbiens. [Source : © auteurs de l'article]

La matrice des biofilms est également le siège d'échanges entre bactéries, via la mise en place de réseaux de communication. Ainsi, par le biais de molécules dites de « quorum sensing » (Lire [Dialogues et coopération chez les bactéries](#)), l'ensemble des membres de la communauté harmonise ses réponses au-delà d'un seuil de concentration en cellules et peut ainsi se prévaloir d'une conduite type organisme multicellulaire. Cette aptitude permet notamment des coopérations métaboliques sur un plan nutritionnel avec utilisation successive des métabolites produits par les différents acteurs du biofilm. De par la proximité géographique établie au sein des biofilms, cette forme de vie communautaire facilite également les échanges horizontaux de fragments d'ADN et donc de matériel génétique entre membres de la communauté, ce qui permet d'enrichir leur patrimoine génétique via l'acquisition de nouvelles fonctions.

1.3. Les biofilms : des réservoirs de bactéries en dormance

Les communautés organisées que sont les biofilms constituent des réservoirs de bactéries, capables de survivre aux agressions extérieures (agents anti-infectieux, déshydratation,...) et de maintenir ainsi des formes viables malgré des conditions extérieures hostiles. Ceci est rendu possible par la transformation de certaines cellules du biofilm en formes dormantes, avec des fonctions vitales ralenties, ce qui leur permet d'échapper à l'action de la plupart des agents anti-infectieux qui nécessitent pour être actifs des bactéries capables de se répliquer. Mais si cette forme de vie permet aux bactéries de franchir des étapes difficiles, elle n'est pas pour autant figée, et des bactéries sous forme individuelle ou de mini-agrégats sont capables de s'échapper de biofilms constitués.

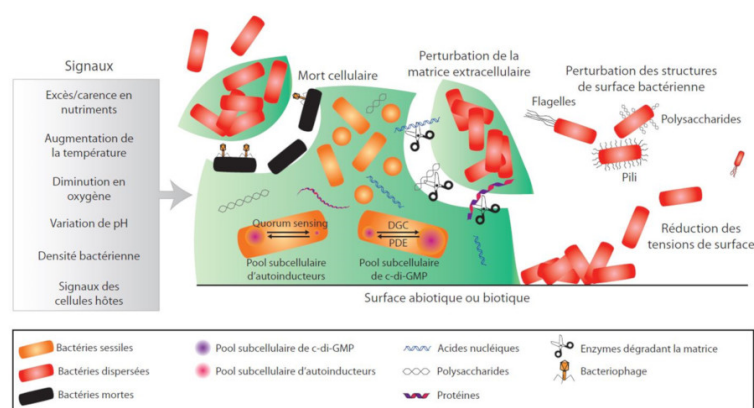


Figure 4. Le phénomène de dispersion d'un biofilm mature est un mécanisme complexe et actif en réponse notamment à des signaux extérieurs. Le détachement physique de bactéries ou de microagrégats est secondaire à l'action d'enzymes capables de dégrader la matrice, à des modifications de surface, à la réduction des tensions de surface par production d'agents tensioacteurs, ou à la mort cellulaire de bactéries au sein du biofilm. [Source : © auteurs de l'article]

Ce phénomène complexe dit de dispersion représente l'étape ultime de formation des biofilms et il est induit par des événements

extérieurs tels que l'appauvrissement en nutriments, les modifications de concentration en oxygène ou de densité bactérienne (Figure 4). Ces modifications sont perçues par les bactéries, ce qui entraîne l'activation de signaux intracellulaires et ultimement le décrochage d'une partie du biofilm. Plusieurs actions peuvent ainsi conduire au détachement physique de bactéries ou de microagrégats : synthèse et sécrétion d'enzymes de dégradation de la matrice (nucléases, glycosidases, protéases), modifications de surface des bactéries conduisant à une moindre adhésion, production de surfactants induisant une réduction des tensions de surface ou encore lyse de quelques bactéries, des phénomènes qui tendent à fragiliser localement la cohésion du biofilm. Les bactéries ou amas de bactéries ainsi libérés sont alors capables de coloniser d'autres surfaces, voire de créer d'autres points infectieux car les bactéries ainsi libérées sont particulièrement virulentes.

2. Les processus d'infection revisités à l'aune des biofilms

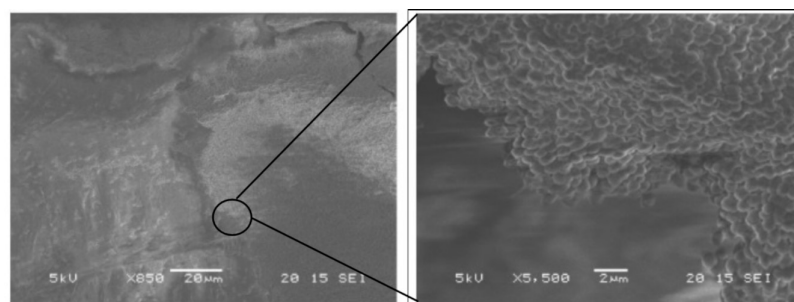


Figure 5. Observation de biofilm à *Staphylococcus aureus* sur des échantillons de cathéter par microscopie électronique à balayage. Les bactéries adhérentes sous la forme de biofilm à la surface du matériel forment des plaques constituées de plusieurs couches superposées de bactéries accolées les unes aux autres et engluées dans une matrice. [Source : © auteurs de l'article]

Plus de 75% des infections de l'Homme serait liée à la présence de microorganismes sous forme de biofilm à la surface des tissus ou de dispositifs médicaux (Figure 5). Ce sont des infections spécifiques (ostéo-infections, otites,...) ou liées aux soins, souvent secondaires à l'utilisation de matériels invasifs (sondes urinaires, sondes trachéales, cathéters,...) à la surface desquels se forment des biofilms (Figure 6). [4] A partir des réservoirs ainsi constitués, des bactéries peuvent se détacher ponctuellement et coloniser d'autres surfaces ou pénétrer plus en aval dans l'organisme. La répétition de ces décharges conduit à des formes infectieuses chroniques, particulièrement difficiles à diagnostiquer et à traiter.

Les principales bactéries incriminées proviennent des microbiotes propres aux patients (exemples : microbiotes de la plaque dentaire et endocardites, microbiote intestinal et infections urinaires) ou de son environnement et mis à part les infections profondes, les biofilms incriminés sont généralement constitués de plusieurs espèces bactériennes (Lire [Les microbiotes humains : des alliés pour notre santé](#)).

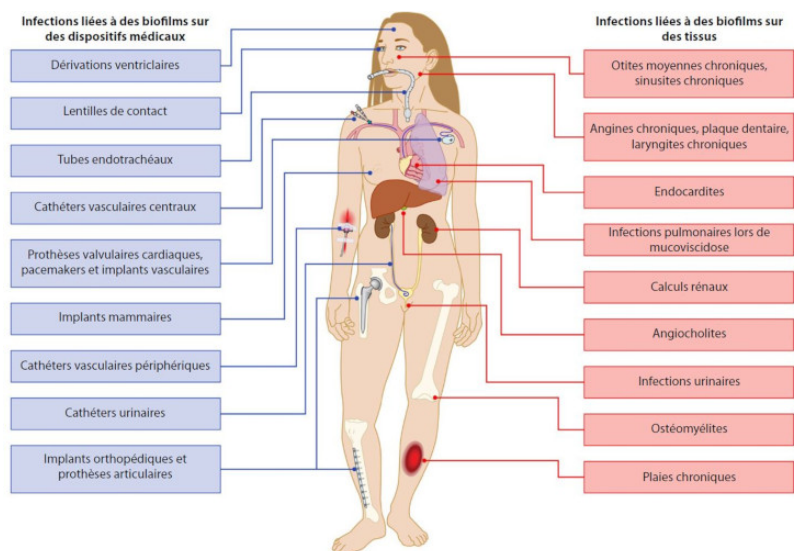


Figure 6. La formation de biofilms sur des dispositifs médicaux ou dans des tissus de l'organisme est associée à des formes infectieuses souvent chroniques et difficiles à traiter avec des agents anti-bactériens. [Source : Schéma adapté de Lebeaux et al. (ref. [4]).]

La coexistence de différents microorganismes au sein d'un même biofilm pourrait se traduire par une lutte écologique

aboutissant à la prédominance de l'un des protagonistes ou à la mise en place de niches écologiques spécifiques au niveau du site infectieux. Il semble que ce ne soit pas le cas, mais qu'au contraire, la multiplicité des espèces contribue à des phénomènes de synergie au cours de l'élaboration du biofilm. Ainsi, des expériences récentes réalisées avec deux espèces bactériennes (*Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*) montrent que l'une (*S. aureus*) se comporte comme un pionnier et favorise l'implantation ultérieure de l'autre (*P. aeruginosa*). [5] De plus le biofilm composé des deux espèces comporte à terme une biomasse conséquente supérieure à la somme des biomasses des biofilms formés par chacune des espèces prises isolément.

La présence simultanée de différentes espèces bactériennes peut également jouer un rôle actif dans les processus de détachement à partir d'un biofilm constitué et donc influencer la dissémination parfois sélective de bactéries dans l'organisme. Dans un modèle murin, la colonisation des muqueuses nasales par le couple de bactéries pathogènes *S. aureus* - *Streptococcus pneumoniae* entraîne la survenue d'infections pulmonaires essentiellement dues à *S. pneumoniae*, *S. aureus* étant en quelque sorte piégé dans le biofilm mixte.

Ces données récentes devraient contribuer à modifier considérablement les approches diagnostiques en clinique. La prise en compte d'un écosystème et des interactions entre microorganismes au niveau des sites de portage ou infectieux s'avère indispensable. Ainsi l'analyse globale des microorganismes présents et non pas la recherche spécifique d'un pathogène donné pourrait s'avérer particulièrement pertinente, notamment dans une approche préventive pour déterminer les situations à haut risque de développement de pathologies infectieuses.

3. Stratégies thérapeutiques anti-biofilm ou comment lutter contre les biofilms ?

Le traitement des infections liées à la formation de biofilm est particulièrement délicat, et ceci pour de multiples raisons. Outre la présence simultanée de plusieurs espèces bactériennes, la forme de vie biofilm complexifie les traitements car les bactéries ainsi agrégées présentent des mécanismes de résistance aux agents anti-infectieux qui se surajoutent à leurs mécanismes de résistance propre (génétique et individuelle). [6] Plusieurs éléments sont responsables de cette « indifférence » aux antibiotiques des bactéries sous forme biofilm : défaut de pénétration pour certaines molécules, inefficacité due à la réduction du niveau d'oxygène dans les couches profondes des agrégats bactériens, ou acidité locale pour d'autres. Mais le mécanisme le plus sophistiqué est sans aucun doute la forme de vie particulière qu'adoptent certaines bactéries au sein des biofilms et qui s'apparente à un état de dormance, avec un ralentissement global de leur métabolisme. Les antibiotiques sont alors inactifs car leurs cibles cellulaires ne sont pas synthétisées par les bactéries (Voir Figure 2).

Selon les situations, l'objectif pour lutter contre les biofilms consiste à inhiber leur formation (stratégies préventives) ou à désintégrer un biofilm existant (stratégie curative) sans entraîner la dissémination dans l'organisme de bactéries vivantes capables de coloniser d'autres sites (Figure 7).

3.1. Stratégies préventives anti-biofilm

Plusieurs stratégies préventives anti-biofilm ont été développées, destinées à contrecarrer différentes étapes de formation du biofilm. Empêcher l'adhésion initiale des bactéries aux surfaces a été largement exploité, soit en modifiant la structure physico-chimique des matériaux, en leur incorporant des agents anti-bactériens ou en recouvrant les surfaces de molécules anti-adhésion (biosurfactants). La nature de ces molécules est assez diverse mais de nombreux exemples d'origine bactérienne ont été décrits, notamment des exo-polysaccharides, ce qui laisse à penser que cette stratégie est naturellement employée par les bactéries lors de la constitution de biofilms dans un environnement compétitif.

Quelles que soient les modifications de surface apportées, ces approches s'avèrent assez décevantes, car les matériaux sont rapidement conditionnés par des molécules organiques (tel que le collagène en ce qui concerne les dispositifs médicaux) qui neutralisent l'effet anti-adhésion, voire favorise cette étape.

Prévenir la formation de biofilm dans des cathéters utilisés à long terme (cathéter de dialyse) est couramment réalisé en introduisant des solutions anti-bactériennes (antibiotiques, éthanol) dites « solutions verrou » dans la lumière des dispositifs en dehors des périodes d'utilisation. Si cette pratique s'avère efficace - empêcher le développement des bactéries limite bien évidemment la formation d'agrégats - l'emploi d'antibiotiques à fortes concentrations entraîne inévitablement un risque écologique en terme de développement de résistances, et de plus, l'impact de ces solutions sur l'intégrité des matériaux reste souvent méconnu.

3.2. Stratégies curatives anti-biofilm

Quant au traitement de biofilms déjà formés, il s'avère particulièrement délicat. L'utilisation d'antibiotiques requiert non seulement des doses largement supérieures aux concentrations classiquement administrées chez l'Homme mais certaines molécules peuvent paradoxalement exercer un effet stimulant sur la formation de biofilm. Un traitement idéal devrait être capable de déstabiliser le biofilm, stimuler les formes dormantes et exercer un effet lytique sur l'ensemble des microorganismes. Des approches enzymatiques visant à déstructurer la matrice du biofilm ont été décrites (glycosidases, nucléases) mais les effets

bénéfiques déterminés sur des biofilms constitués d'une espèce bactérienne sont souvent difficilement extrapolables à des biofilms complexes.[\[7\]](#)

Une autre approche consiste à interférer avec les mécanismes de régulation en neutralisant les molécules responsables de la transmission entre bactéries des signaux impliqués dans la structuration des biofilms. Malgré la complexité de ces réseaux de signalisation, de nombreuses pistes ont été étudiées dans des modèles expérimentaux et ont donné lieu à des résultats prometteurs. Les applications pratiques semblent cependant assez éloignées ; la séquestration de ces molécules dans la matrice extracellulaire, une répartition hétérogène au sein des biofilms constituent les principaux écueils de cette approche innovante. Dans tous les cas, cette stratégie devrait être couplée à un traitement bactéricide de façon à lyser les bactéries ainsi libérées afin d'éviter qu'elles ne colonisent d'autres sites, et ceci ne peut être obtenu que si ces cellules bactériennes sont métaboliquement actives. Il est donc essentiel, dans le cadre de la lutte contre les biofilms, non seulement de désorganiser les agrégats formés mais également de réanimer les cellules en dormance. Plusieurs approches peuvent être utilisées, les plus efficaces consistant à favoriser leur croissance en apportant des nutriments ou à endommager leurs membranes et induire ainsi un processus lytique. Certains peptides anti-microbiens sont capables d'agir au niveau des membranes de cellules en dormance, avec plus ou moins de spécificité quant aux espèces bactériennes ciblées, et pourraient constituer à terme des éléments importants de l'arsenal thérapeutique anti-biofilm.

En conclusion, les capacités de la plupart des bactéries à s'organiser en biofilms constituent un problème supplémentaire lors de la mise en place de traitements anti-infectieux. Aucune stratégie efficace n'a encore pu être mise au point, mais une meilleure connaissance des mécanismes impliqués dans la formation et le maintien de ces agrégats devrait permettre d'élaborer prochainement des approches innovantes et efficaces.

4. Messages à retenir

Nos principales connaissances du monde bactérien découlent de l'étude des bactéries sous la forme de cellules individualisées cultivées en laboratoire dans des milieux adaptés.

Dans la nature, les bactéries vivent majoritairement sous la forme de communautés agrégées appelées biofilms. Ce mode de vie leur permet d'opter pour un comportement coordonné de groupe et leur confère un certain nombre d'avantages, concernant notamment leurs capacités à résister aux agressions extérieures.

Cette découverte a modifié profondément l'approche du monde bactérien au cours des dernières décennies et invite à considérer d'un œil nouveau l'ensemble des données, que ce soit à propos des bactéries pathogènes ou de celles qui constituent nos microbiotes.

Notes et références

Image de couverture. Image libre de droit.

[\[1\]](#) Antoni van Leeuwenhoek (1632 - 1723) est un marchand et un savant néerlandais. Il est surtout connu pour ses travaux sur le microscope (on pense qu'il a été inventé par Hans et Zacchary Jensen, ou encore par Galilée) dont il a construit de nombreux exemplaires. Il se servait de cet instrument pour compter le nombre de fils d'un tissu, et leur épaisseur. Il eut surtout l'idée d'observer le milieu environnant, et fut l'un des premiers scientifiques à avoir utilisé le microscope pour explorer le monde des micro-organismes.

[\[2\]](#) J. William Costerton (1934 - 2012) est un microbiologiste canadien. Pionnier de la reconnaissance des biofilms bactériens comme mode de croissance dominant des bactéries, Costerton a démontré leur importance dans la résistance des bactéries aux agents antibactériens et la persistance de certaines infections bactériennes chroniques.

[\[3\]](#) McCoy W.F., Bryers J.D., Robbins J. & Costerton J.W. (1981) Observations of fouling biofilm formation. *Can J Microbiol.* 27(9):910-917; Zobell C.E. & Allen E.C. (1935) The significance of marine bacteria in the fouling of submerged surfaces. *J Bacteriol.* 29(3):239-251.

[\[4\]](#) Lebeaux D, Ghigo JM & Beloin C (2014) Biofilm-related infections: bridging the gap between clinical management and

[5] Alves P.M., I-Badi E., Withycombe C., Jones P.M., Purd K.J. & Maddocks S.E. (2018) Interaction between *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* is beneficial for colonisation and pathogenicity in a mixed biofilm. *Pathogens Dis.* 76, fty003 ; Reddinger R.M., Luke-Marshall N.R., Sauberan S.L., Hakansson P. & Campagnari A. (2018) *Streptococcus pneumoniae* modulates *Staphylococcus aureus* biofilm dispersion and the transition from colonization to invasive disease. *mBio*, 9 e02089-17

[6] Davies D. (2003). Understanding biofilm resistance to anti- bacterial agents. *Nat Rev Drug Discov* 2:114–122 ; Lewis K. (2001) Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 45:999e1007.

[7] Ko H., Allan R.N., Howlin R.P., Stoodley P. & Hall-Stoodley L. (2017) Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies. *Nature Microbiol Rev.* 15:740-754 ; Miquel S., Lagrèfeuille R., Souweine B. & Forestier C. (2016) Anti-biofilm activity as a health issue. *Front Microbiol.* 7:592.

L'Encyclopédie de l'environnement est publiée par l'Université Grenoble Alpes - www.univ-grenoble-alpes.fr

Pour citer cet article: **Auteurs** : AUMERAN Claire - BALESTRINO Damien - FORESTIER Christiane (2020), Biofilms bactériens et santé, Encyclopédie de l'Environnement, [en ligne ISSN 2555-0950] url :

<http://www.encyclopedie-environnement.org/?p=11013>

Les articles de l'Encyclopédie de l'environnement sont mis à disposition selon les termes de la licence Creative Commons Attribution - Pas d'Utilisation Commerciale - Pas de Modification 4.0 International.
