

CARNETS
DE
SCIENCES

Romain Briandet
Lise Fehner
Murielle Naïtali
Catherine Dreanno

Biofilms, quand les microbes s'organisent

éditions
Quæ

Romain Briandet
Lise Fechner
Murielle Naïtali
Catherine Dreanno

Biofilms, quand les microbes s'organisent

Collection Carnets de sciences

Bonnes bactéries et bonne santé

Gérard Corthier

2011, 128 p.

La faune des forêts et l'homme

Roger Fichant

2011, 184 p.

Danger dans l'assiette

Sylviane Dragacci, Nadine Zakhia-Rozis, Pierre Galtier

2011, 184 p.

Quand le raisin se fait vin

Pascale Scheromm

2011, 184 p.

Manger sans risques

Vincent Leclerc

2011, 200 p.

Éditions Quæ

RD 10

78026 Versailles Cedex, France

© Éditions Quæ, 2012

eISBN : 978-2-7592-1765-6

ISSN : 2110-2228

Le Code de la propriété intellectuelle interdit la photocopie à usage collectif sans autorisation des ayants droit. Le non-respect de cette disposition met en danger l'édition, notamment scientifique, et est sanctionné pénalement. Toute reproduction, même partielle, du présent ouvrage est interdite sans autorisation du Centre français d'exploitation du droit de copie (CFC), 20 rue des Grands-Augustins, Paris 6^e.

REMERCIEMENTS

Ce livre est un livre collaboratif. Quatre auteurs mais aussi une multitude de discussions, d'échanges... Nous remercions particulièrement Véronique Leclerc pour ses suggestions et son enthousiasme stimulant.

Ce livre, c'est un texte mais aussi de nombreuses illustrations. Des spécialistes de la microscopie les ont permises ainsi que des biologistes, des photographes (parfois très amateurs), des paysagistes, des architectes, des peintres et des créateurs. Tous passionnés. Nous les remercions vivement.

Et nous espérons que le lecteur prendra autant de plaisir à lire ce livre que nous avons eu à le faire !

SOMMAIRE

Remerciements	3
Des biofilms partout !	7
Biofilms en vue !	9
Que serait notre environnement sans biofilm ?	10
Mi-ange, mi-démon : une vision anthropocentrique des biofilms	15
Au festival des biofilms, les bactéries sont des vedettes !	25
Alors, biofilm ou non ?	28
Construction d'une forteresse biologique	33
À l'abri du biofilm	35
Les microbes vivent en 3D !	36
L'adhésion originelle	41
Un chantier coordonné	47
Un équilibre parfois précaire entre colocataires de la matrice	49
D'un biofilm à l'autre... ..	52
Les défis d'une résistance collective	55
Un pour tous, tous pour un !	57
Biofilms : les bactéries résistent !	58
D'où vient l'hyper-résistance des biofilms ?	60
Est-il possible de prévenir la formation des biofilms ?	72
Comment lutter contre les biofilms installés ?	76
Les biofilms et notre santé	83
Mi-ange, mi-démon	85
Les biofilms tuent !	85
Peur sur l'hôpital !	90
Y-a-t-il des biofilms pathogènes à la maison ?	93
<i>Escherichia coli</i> : une bactérie qui fait parler d'elle !	96
Le bénéfice santé des « bons » biofilms	99
Les biofilms dans le milieu naturel	107
Les biofilms dans les rivières, lacs et autres milieux d'eau douce	109

À quoi servent les biofilms dans la nature ?	113
Le cycle de vie des biofilms en rivière	119
Les facteurs influençant le développement des biofilms en milieu aquatique	121
D'autres biofilms dans la nature	125
Des biofilms utiles à l'homme ?	135
En mer, les biofilms peuvent être gênants et salissants	137
Des biofilms à notre service	142
Bibliographie	172
Crédits photographiques	173





**Des biofilms
partout !**

Des biofilms partout !

Ça y est, j'y suis ! Enfin ! Depuis le temps que j'en rêvais... et je ne regrette rien. Ces couleurs, elles sont encore plus belles, plus éclatantes que dans les livres. Je n'ai jamais vu un bleu turquoise aussi lumineux, limpide... Et ce contraste avec les ocres, les rouges et les oranges. Monet, et autres Van Gogh en auraient rêvé. Je n'ose même pas prendre de photos. La réalité en serait sûrement ternie. Il faut absolument que Jean voie ça un jour !

Extrait du journal de Louise – Yellowstone – Grand Prismatic Spring – Été 2010

Ces ocres, ces oranges, ces rouges, ce sont des biofilms bactériens. Louise le savait-elle ?



■ Page précédente

Le Grand Prismatic Spring (Parc de Yellowstone) tel qu'aurait pu le voir Louise. Des couleurs spectaculaires, mélange de matières minérales et de biofilms.



Biofilms en vue !

Les micro-organismes constituent la majorité de la biomasse vivante sur Terre. Bactéries, virus, champignons microscopiques, micro-algues, protozoaires... Tous sont invisibles à l'œil nu et pourtant ils sont plus nombreux que les organismes macroscopiques. La plupart, très utiles à l'équilibre de notre planète, sont peu connus du public. Quelques-uns font néanmoins parler d'eux. En bien : les bactéries lactiques des laits fermentés sont vantées pour prendre soin de nous et de notre confort intestinal. Ou en mal : *Salmonelle*, *Listeria*, et récemment des bactéries au « presque nom de grande école », les *Escherichia coli* EHEC... ont toutes fait la une des médias. Ces bactéries sont dangereuses, ce sont des acteurs des crises sanitaires. Mais sait-on que pour tous ces micro-organismes, bénéfiques ou nuisibles, le mode de vie privilégié est la vie en communauté, une vie en société si possible associée à une surface ou au moins une interface ? Alors la surface se modifie. Elle devient collante, gluante, glissante, colorée, tout dépendra de la communauté microbienne impliquée et du mucus – dit encore matrice – qu'elle sécrètera. Et sait-on que cette vie fixée les rend plus forts, plus résistants, presque indestructibles ?

Plus de 90 % des micro-organismes vivent ainsi fixés la plus grande partie de leur vie, dans leur environnement naturel. C'est ce qu'on appelle un biofilm. Dès qu'il y a de l'humidité, des nutriments et une surface, des biofilms sont susceptibles de se former. Quelle humidité ? N'importe laquelle. De la moindre flaque d'eau aux plus grands océans, de l'eau chaude des fosses hydrothermales à celle gelée des glaciers...

Quels nutriments ? Tout leur est bon. Des résidus alimentaires, un festin pour les biofilms. Du sérum humain, que demander de plus. Du pétrole, de l'essence, *Pseudomonas oleovorans* s'en délecte... Quelle surface ? De la planche à découper de notre cuisine aux rochers des déserts américains en passant par l'épithélium intestinal, peu importe. L'important, c'est de se fixer. Ça, le génie de Pasteur ne l'avait pas perçu. Quoique... Il avait démontré que les particules de poussière véhiculaient les germes. Mais savait-il qu'on en trouvait jusque dans les nuages ?

Une telle prédominance a forcément des impacts bénéfiques ou non sur notre vie passée, présente et à venir.

Si nous luttons contre le biofilm qui se forme dans ce vase en changeant l'eau, nous profiterions pendant beaucoup plus longtemps du bouquet.





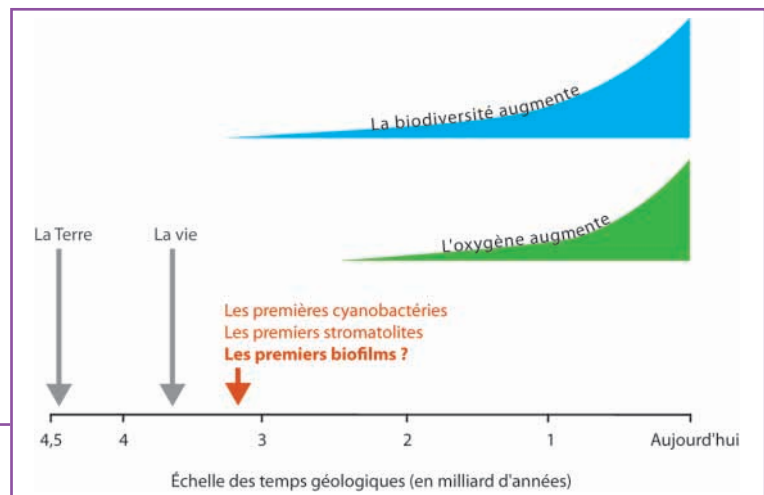
■ Que serait notre environnement sans biofilm ?

Que serait la Terre sans biofilm ? Sans bactéries, ni autres microbes ? Sûrement pas ce qu'elle est aujourd'hui. Remontons le temps.

Il était une fois... la Terre

Il y a 4,5 milliards d'années, pas d'oxygène dans l'atmosphère terrestre mais, selon certaines hypothèses, de l'azote, de l'hydrogène et du dioxyde de carbone. C'est dans cette atmosphère que les premiers composés organiques se sont formés. Ils se sont alors accumulés dans les océans. Et dans cette soupe primitive, des organismes extrêmement simples sont apparus... Ces premiers êtres vivants étaient hétérotrophes, autrement dit capables de se nourrir de cette matière organique, et bien entendu anaérobies, se développant sans oxygène. Ils ont épuisé la matière organique. La vie s'est alors adaptée, diversifiée. Où trouver le carbone nécessaire à la synthèse de biomasse ? Dans le CO_2 . Où trouver de l'énergie ? Pour certains, dans la lumière. Des bactéries pourpres auraient alors fait de la photosynthèse anoxygénique. Grâce à la lumière, elles auraient oxydé l' H_2S (ou sulfure d'hydrogène) en soufre. Mais toujours pas d'oxygène. Puis c'est la révolution. Les cyanobactéries, autres micro-organismes photosynthétiques, apparaissent et se développent. Elles produisent de l'oxygène à partir d'eau. Au début, cet oxygène réagissait avec le fer ferreux des océans et précipitait. Mais une fois le fer épuisé, c'est la grande oxydation, une catastrophe écologique... pour les micro-organismes anaérobies de l'époque. L'oxygène s'accumule dans l'atmosphère. C'est le début d'un air « respirable ».

Il était une fois la vie ! Au précambrien, l'oxygène s'est accumulé, la biodiversité a augmenté. Certaines cyanobactéries étaient organisées en colonies fixées, en tapis, en biofilms, qui se retrouvent dans les stromatolithes fossiles.





Si aujourd'hui, la plupart des bactéries vivent dans leur environnement naturel sous forme fixée, pourquoi en aurait-il été autrement autrefois ? Les cyanobactéries du précambrien se sont d'ailleurs organisées en colonies fixées, donnant les premiers stromatolithes, des roches biogéniques calcaires. Les stromatolithes fossiles, ces structures que l'on présume avoir été élaborées par des tapis – des biofilms – de bactéries et d'algues, constituent le premier indice d'importance de l'apparition de la vie sur Terre, il y a environ 3,5 milliards d'années. Ils peuvent culminer jusqu'à 3 km dans la chaîne marocaine de l'Anti-Atlas et continuent à se former aux Bahamas et en Australie.

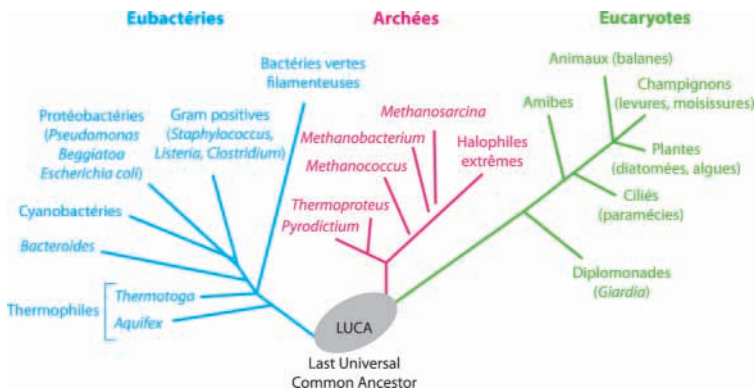
Ces dômes stromatolithiques d'Afrique du Sud ont plus de 2 milliards d'années. Ce sont des roches construites par l'activité photosynthétique des cyanobactéries.

Une majorité invisible

Cyanobactéries, archéobactéries, eubactéries ou bactéries vraies, tous des organismes unicellulaires sans noyau, des procaryotes. Ils constituent la majorité invisible. Majorité, ces quelques chiffres le montrent bien. Il y aurait $4 \text{ à } 6 \times 10^{30}$ cellules procaryotes sur Terre (10^{30} ou 1 000 milliards de milliards de milliards !), $1,2 \times 10^{29}$ dans les habitats aquatiques, $2,6 \times 10^{29}$ dans les sols et $3,8 \times 10^{30}$ dans les sédiments. 90 à 95 % des procaryotes vivent dans les sédiments, sous forme de biofilms. Les procaryotes représenteraient $3,5 \text{ à } 5,5 \times 10^{15}$ g de carbone, soit

Les domaines du vivant

Jusqu'à récemment, les scientifiques divisaient le monde vivant en deux types cellulaires : les eucaryotes et les procaryotes. Les eucaryotes se distinguent principalement des procaryotes par la présence au sein de leurs cellules d'un noyau contenant l'information génétique de l'organisme. Le terme eucaryote provient d'ailleurs du grec *eu*, vrai, et *karyo*, noyau. Les eucaryotes sont les plantes, les animaux, les végétaux, les champignons, et certains organismes unicellulaires comme les amibes. Depuis la fin des années 70, les progrès de la biologie moléculaire ont permis de distinguer deux types de cellules procaryotes : les eubactéries ou bactéries vraies (qui correspondent aux bactéries classiques) et les archéobactéries (dites encore archées). Comme les eubactéries, les archées ne possèdent pas de noyau cellulaire. Cependant, elles diffèrent de leurs consœurs par plusieurs caractéristiques cellulaires dont la composition lipidique de leurs membranes. Certaines caractéristiques génétiques et métaboliques tendent d'ailleurs plutôt à rapprocher les archées des eucaryotes. Elles sont ainsi aussi différentes des eubactéries que celles-ci sont différentes des eucaryotes.



L'arbre phylogénétique du vivant nous le montre bien : l'Homme serait plus proche d'un chêne ou d'un roseau qu'une archée ne le serait d'une *Listeria* ou d'un *Pseudomonas*.

pratiquement autant de carbone que les plantes. Et il y aurait 10 fois plus d'azote et de phosphore dans les procaryotes que dans les plantes. Invisibles, souvent mais pas toujours. Surtout lorsqu'ils se fixent (les stromatolithes en sont un signe extérieur), lorsqu'ils s'organisent en biofilm, ces structures souvent tridimensionnelles, associées à une surface, parfois engluées dans une matrice d'exopolymères. On va le découvrir.

Les champions du recyclage, les maîtres de la matière

Les biofilms sont impliqués dans les cycles biogéochimiques de la plupart des éléments. Ils oxydent, réduisent, incorporent, dégradent, minéralisent et participent au recyclage des éléments, au grand nettoyage, celui grâce auquel la vie sur Terre peut continuer pour quelques temps encore. Que ce soit le carbone, l'azote, le soufre, le phosphore, le fer, rien ne leur échappe. Ils en font leur biomasse et contribuent ainsi à la production primaire de la matière organique. On parle alors



d'anabolisme. Tout élément qui constitue la biomasse microbienne est, à un moment ou à un autre, transformé par des bactéries, souvent organisées en biofilm. Mais ce n'est pas tout, cette même biomasse et nombre de composés minéraux sont utilisés pour produire de l'énergie en tant que donneur ou accepteur d'électrons.

Si l'on considère les premiers millimètres de la surface d'un sol, on trouve de 8 à 10 milliards de micro-organismes pour 100 g de sol. Majoritairement des mycètes et des bactéries en proportions variables selon les sols. Ils sont 10 fois moins nombreux un mètre en dessous de la surface. Très peu sont libres. Ils sont fixés en micro-colonies à la surface des particules du sol, dans des pores de taille suffisamment petite pour les protéger des protozoaires. On les trouve aussi associés aux racines des plantes dans la rizosphère. Une des fonctions les plus importantes de ces biofilms du sol est de décomposer la matière organique en nutriments pour leur propre utilisation mais aussi pour celle d'autres organismes dont les plantes. Si certains « macro-organismes » sont capables de cela en aérobiose, seuls des micro-organismes peuvent le faire en anaérobiose. Ils évitent ainsi que le carbone soit bloqué dans une voie sans issue. Autre rôle indispensable des bactéries du sol : celui de la fixation de l'azote. 135 millions de tonnes d'azote par an seraient fixés dans les sols de cultures légumineuses, les prés et les forêts contre 45 millions de tonnes par an dans l'environnement marin. Les légumineuses fonctionnent en symbiose avec des bactéries des genres *Rhizobium* et *Agrobacterium*. Et rien ne serait possible sans une première étape de fixation, d'adhésion des bactéries aux poils racinaires. Un début de biofilm, qui disparaît lors de la pénétration des bactéries dans la plante.



Les biofilms des sols jouent un rôle fondamental dans le recyclage de la biomasse. Fixés sous formes de micro-colonies aux particules, les procaryotes sont les seuls à décomposer la matière organique en anaérobiose.

Les premiers maillons de la chaîne

Pendant longtemps, on a cru que toute vie actuelle sur Terre était dépendante de la photosynthèse. Or, il y a environ 40 ans, des américains découvrent sur la dorsale océanique du Pacifique, à 2 500 m de fond – là où nulle lumière ne pénètre – des écosystèmes vivants particulièrement riches. Des bivalves géants,



Les biofilms bactériens sont des maillons indispensables pour la vie des vers tubicoles et autres organismes des grands fonds (photographie prise par le Nautille dans le bassin de Guaymas, golfe de Californie).

notamment grâce à ces biofilms que la vie abyssale a pu se développer. Pour certains, ces fosses hydrothermales présenteraient même un environnement idéal de l'apparition de la vie sur Terre.

Jusque dans les nuages

Biofilms et sol, biofilms et eau. Mais qu'en est-il des biofilms et de l'air ? L'atmosphère représente le plus grand compartiment pour la biosphère. Des bactéries y ont été détectées jusqu'à des hauteurs de plus de 70 km. Elles sont rarement libres. Elles sont fréquemment sous forme d'agrégats cellulaires véhiculés par des particules inertes. On trouve aussi des morceaux de biofilm arrachés de la surface de feuilles où ils se sont formés. Le nombre total de bactéries aériennes (5×10^{19}) apparaît cependant bas par rapport à d'autres compartiments et leur rôle est encore peu connu. On sait qu'elles peuvent faire pleuvoir et neiger en favorisant la prise de glace dans l'atmosphère. On imagine que les biofilms volants pourraient, comme tout corps particulaire, augmenter l'albédo, cette fraction de l'énergie solaire réfléchi vers l'espace. Peut-être sont-ils également capables de participer à la biochimie atmosphérique ? On ne peut que souhaiter la transformation du méthane, le 3^e gaz à effet de serre, directement dans l'atmosphère par des bactéries méthyloxydantes. Une participation au « puits biologique de méthane » qui compléterait l'élimination chimique de ce gaz par les radicaux hydroxyles. Mais ceci n'est que pure hypothèse...

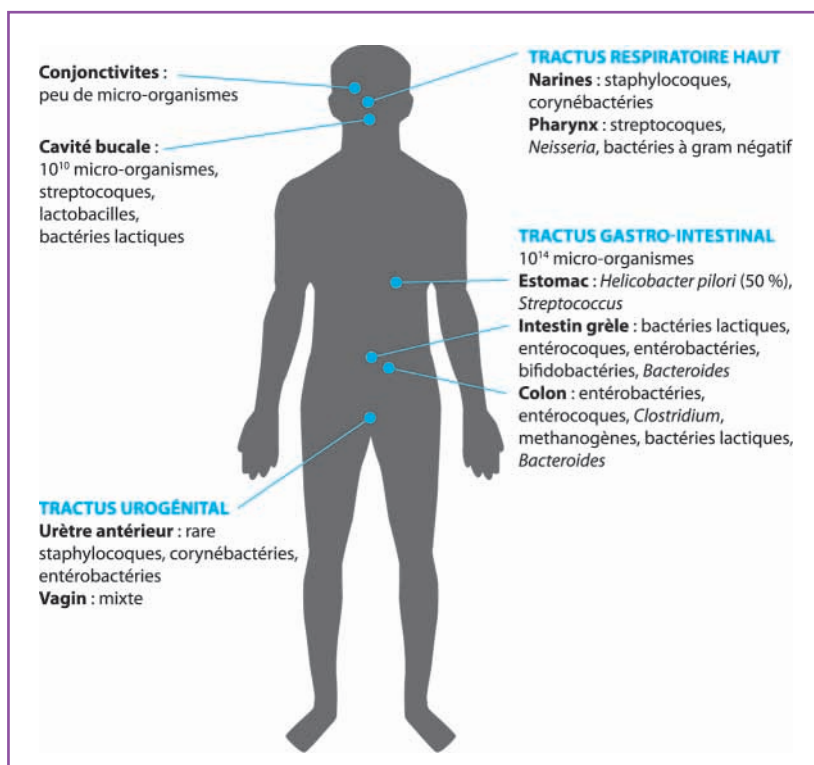
des crevettes aveugles, des poissons monstrueux ont élu domicile à proximité des fosses hydrothermales et des suintements froids. Les bactéries chimiolithotrophes utilisent uniquement des minéraux pour se développer. Elles forment le premier maillon de la chaîne alimentaire de ces lieux sous-marins d'émanation de sulfure d'hydrogène et autres composés minéraux. Des *Beggiatoa* orange s'étendent ainsi en tapis à proximité de vers tubicoles. C'est

■ Mi-ange, mi-démon : une vision anthropocentrique des biofilms

Nous sommes couverts de biofilms de la tête au pied !

Si un bébé évolue dans un environnement stérile dans le ventre de sa mère, ses premiers contacts avec les microbes se font dès l'accouchement, lors du passage à travers le vagin maternel. Notre écosystème corporel s'installe alors, avant même notre première respiration, pour ne plus nous quitter. Et il nous est propre. Mais, côté flore intestinale, nous ne sommes pas uniques.

Des études viennent de mettre en évidence que l'écosystème digestif humain n'est pas un continuum entre individus. On l'appelle flore intestinale, ou microbiote. Il est constitué pour partie de biofilms bactériens fixés dans notre tractus intestinal. Il existe trois « entérotypes », ou signatures bactériennes intestinales. Elles sont indépendantes du continent, de l'âge et des activités. Ces entérotypes sont principalement déterminés par l'abondance de certaines bactéries, mais aussi par leur potentiel génétique (c'est-à-dire par les fonctions que leurs gènes codent). Cette



On ne les voit pas, mais ils sont là. Nos plus fidèles compagnons, ce sont peut-être ces bactéries fixées, ces biofilms invisibles que nous portons sur nous, en nous.



découverte ouvre de nombreuses perspectives d'applications dans les domaines de la nutrition et de la santé humaine. Peut-être qu'à l'avenir, en plus de notre groupe sanguin, il nous faudra déterminer à quel entérotypé nous appartenons pour cibler au mieux certains traitements. Il en sera aussi probablement de même pour nos autres biofilms, qu'ils soient buccaux, cutanés, respiratoires ou génitaux.

Et ces germes, combien en portons-nous ? Sur nous, en nous ? Les chiffres sont variables, mais on estime que nous aurions dans le colon de l'ordre de 3×10^{11} cellules par gramme, pour un total de 10^{14} dans le tractus gastro-intestinal. C'est nettement plus que sur la peau sur laquelle nous n'aurions que 10^{12} bactéries, avec des concentrations moyennes 100 fois supérieures pour les endroits humides comme l'aîne ou les aisselles. Et tout ceci représenterait de 5 à 7×10^{23} cellules procaryotes pour les 6,9 milliards d'individus que nous sommes. Nous aurions finalement 10 fois plus de bactéries sur nous et en nous que de cellules humaines ! Pour le meilleur la plupart du temps. Elles font partie de notre écosystème, nous aident à digérer les aliments, limitent les contaminations par des micro-organismes moins souhaitables, ne serait-ce qu'en occupant le terrain. Elles dirigent notre écologie microbienne.

Certains signes nous alertent de la présence de ces microbes. Bien qu'on ne puisse les voir à l'œil, d'autres sens nous permettent d'en percevoir l'existence. Après une séance de sport intense par exemple. La transpiration évacuée pendant l'effort n'a pas d'odeur particulière. Par contre, l'augmentation locale de l'humidité va permettre le développement rapide de bactéries qui ont la faculté de produire des acides gras volatiles très odoriférants : des corynéformes sous les aisselles, des *Brevibacterium epidermidis* sur les pieds... Et ce n'est certainement pas un hasard si cette dernière espèce est une cousine très proche de *Brevibacterium linens*, utilisé dans la fabrication du maroille et du munster. Une simple douche après l'exercice permet de régler ce désagrément qui n'est que transitoire. Ce n'est pas grand chose et elle conserve notre flore tant que les produits utilisés ne sont pas bactéricides. Il faut la choyer cette flore protectrice.

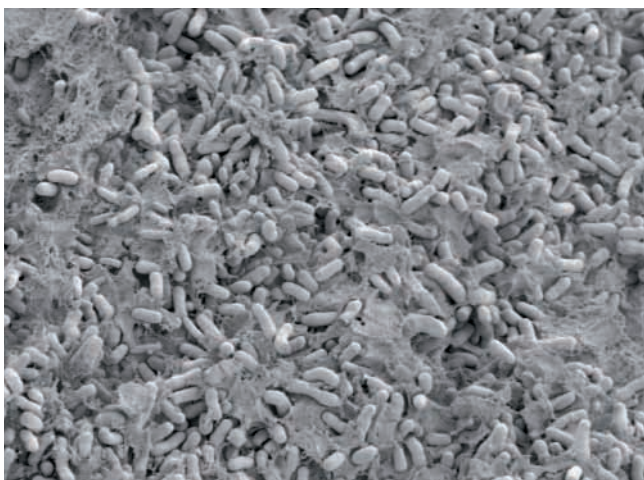
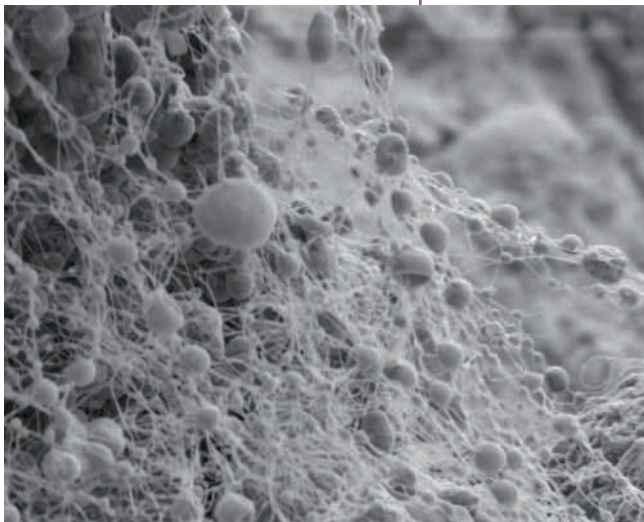
Notre salle de bain, une couveuse à biofilms ?

Si nous nous déplaçons avec un véritable micro-zoo sur nous, notre environnement domestique fourmille également de biofilms. Sans le savoir, tous les jours nous touchons des biofilms microbiens, nous en avalons, nous en respirons. On parle souvent des téléphones portables, des pièces de monnaie, des claviers d'ordinateurs ou des sacs à mains comme des objets proches de l'insalubrité. Mais c'est probablement dans notre salle de bains que nos contacts avec des micro-flores adhérentes sont les plus fréquents. La présence quotidienne d'une forte humidité en fait un véritable incubateur à biofilms. Les bactéries, les moisissures s'y logent, s'y collent, mais elles sont également capables

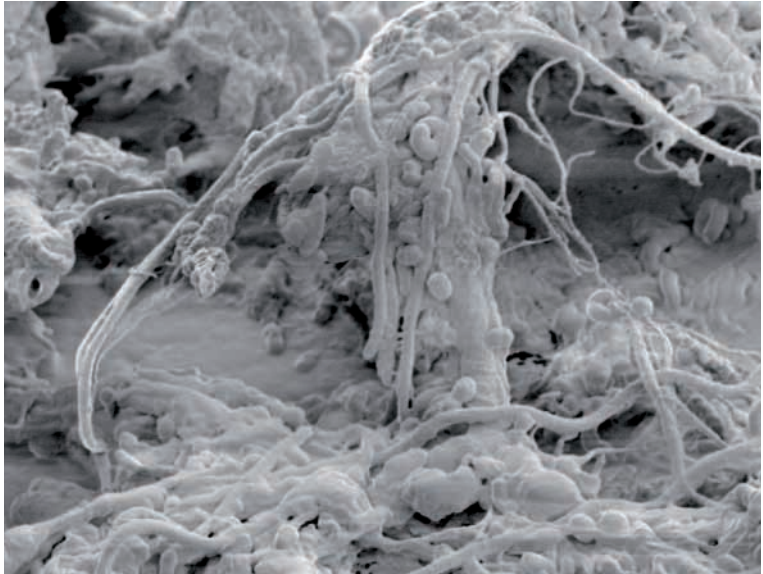
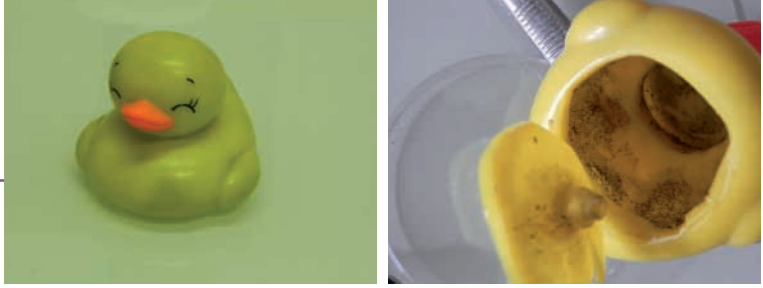


d'y proliférer. Toutes les surfaces y passent : porte-savon, pierre ponce, rideau de douche, siphon... Un robinet qui fuit, un biofilm qui naît. Et il ne faut pas s'attarder sur le canard de bain de nos chérubins : une dissection au laboratoire révèle la présence d'un biofilm extrêmement dense constitué très largement de moisissures... Voilà l'origine de ce voile noir qui s'échappe du jouet quand on le presse dans l'eau. Pas forcément dangereux, pas forcément agréable non plus. En séchant « l'animal » entre deux bains lorsque c'est possible, on évite la prolifération fongique.

Nous élevons tous sans le savoir des biofilms dans notre salle de bain. Robinet qui fuit, porte-savon humide, autant de lieux de prédilections pour les biofilms fongiques et bactériens.



Même le canard de bain abrite des biofilms.



Depuis notre enfance, nous savons qu'il faut se brosser les dents plusieurs fois par jour pour éviter la formation de caries. Les bactéries de la plaque dentaire à l'origine de ces attaques transforment les sucres en acides organiques qui vont dégrader les tissus minéralisés de nos dents. *Streptococcus mutans* est une de ces bactéries. Mais ce n'est pas la seule. Imaginez : il y aurait plus de 500 espèces microbiennes différentes dans une plaque dentaire « typique ». La brosse à dents est très efficace pour décoller ce biofilm indésirable de nos dents, lorsque le brossage est bien mené. Mais que devient-il par la suite ? Ce biofilm est-il éliminé par le filet d'eau que nous appliquons sur notre brosse ? Les images obtenues en microscopie électronique sont sans appel. Les poils de nos brosses à dents sont couverts de biofilms. Nous partageons donc aussi nos brosses à dents avec des biofilms ! Mais peut-être ces biofilms résidents sont-ils bénéfiques ? Peut-être font-ils barrage à la colonisation de nos brosses par des bactéries malveillantes ?