



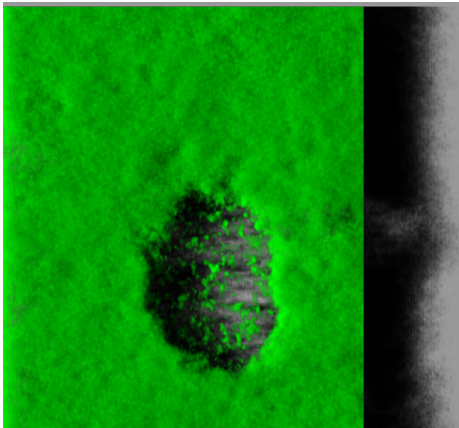
**Biofilms:**

*les bactéries font de la  
résistance !*

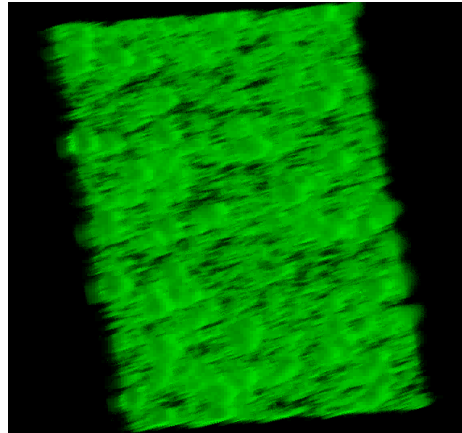
**Romain Briandet**

# LES BACTÉRIES VIVENT EN 3D

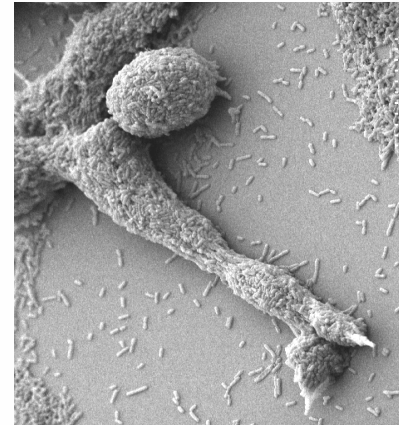
*Staphylococcus aureus*



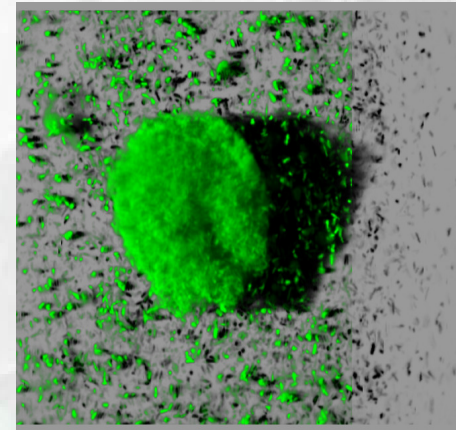
*Pseudomonas aeruginosa*



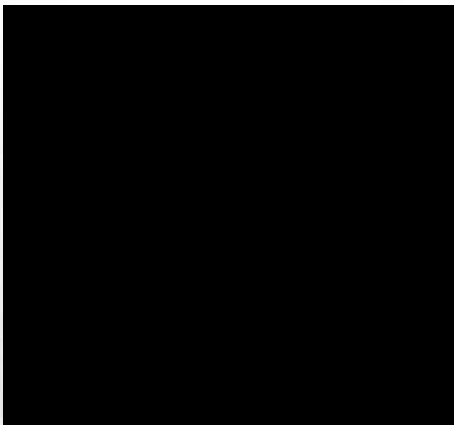
*Stenotrophomonas maltophilia*



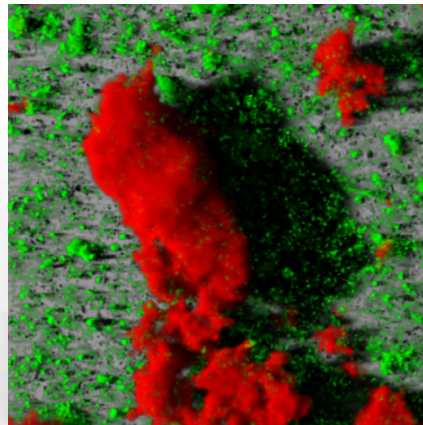
*Salmonella enterica*



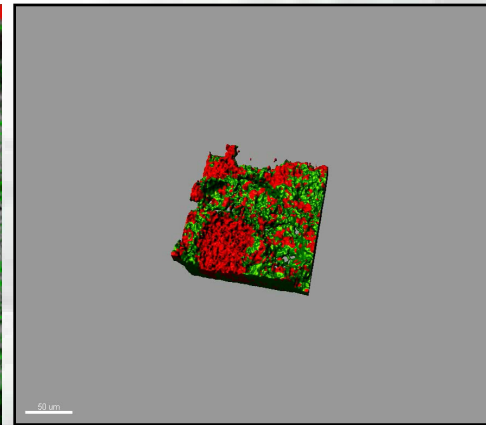
*Morphotypes*



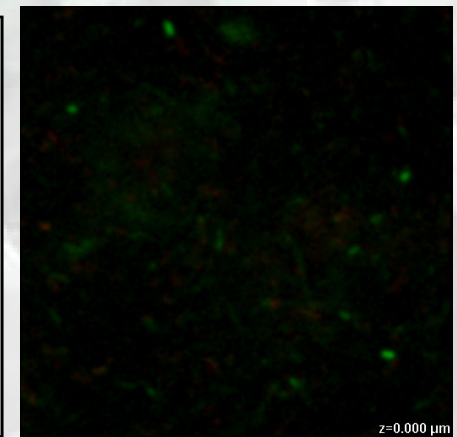
*Exopolymères*



*Live/dead*



*Gene expression*



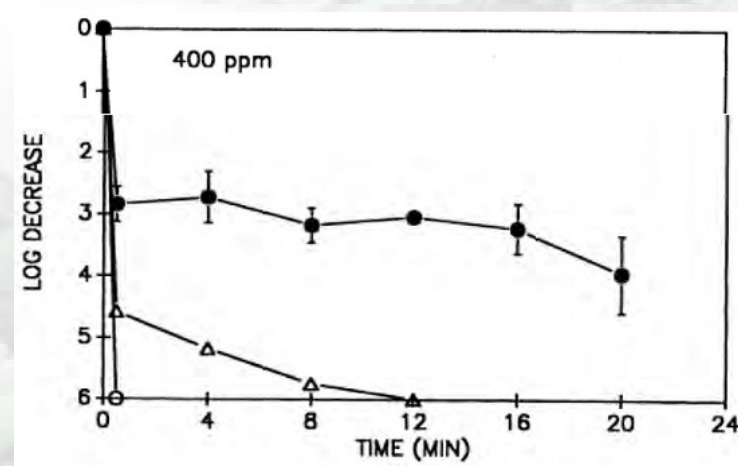
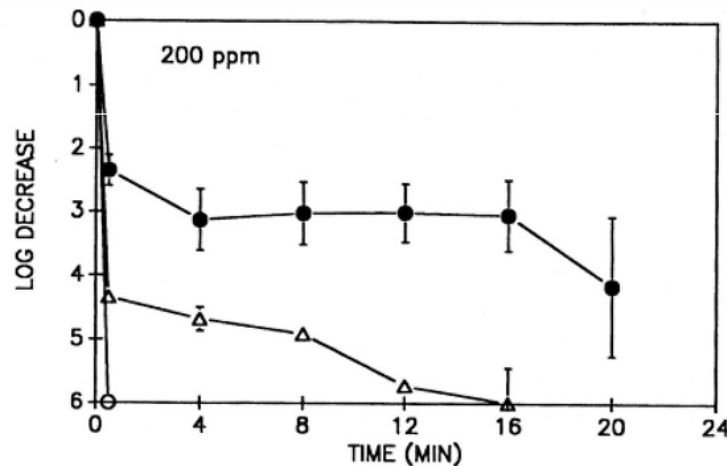
# LE BIOFILM: UNE STRUCTURE DE RÉSISTANCE

Le biofilm est une structure organisée capable de fonctions spécifiques:  
→ Résistance aux traitements de désinfection

Désinfectants	Rapport de concentrations efficaces entre cellules en biofilm et cellules planctoniques
Agents oxydants	5 - 600
Ammoniums quaternaires	10 - 1000

(Dubois-Brissonnet et al, 1995; Ntsama-Essomba et al, 1997; Campanac et al 2002, Luppens et al, 2002)

Activité du chlorure de benzalkonium sur *Listeria monocytogenes* à l'état planctonique (○), adhérent (△) et en biofilm (●).



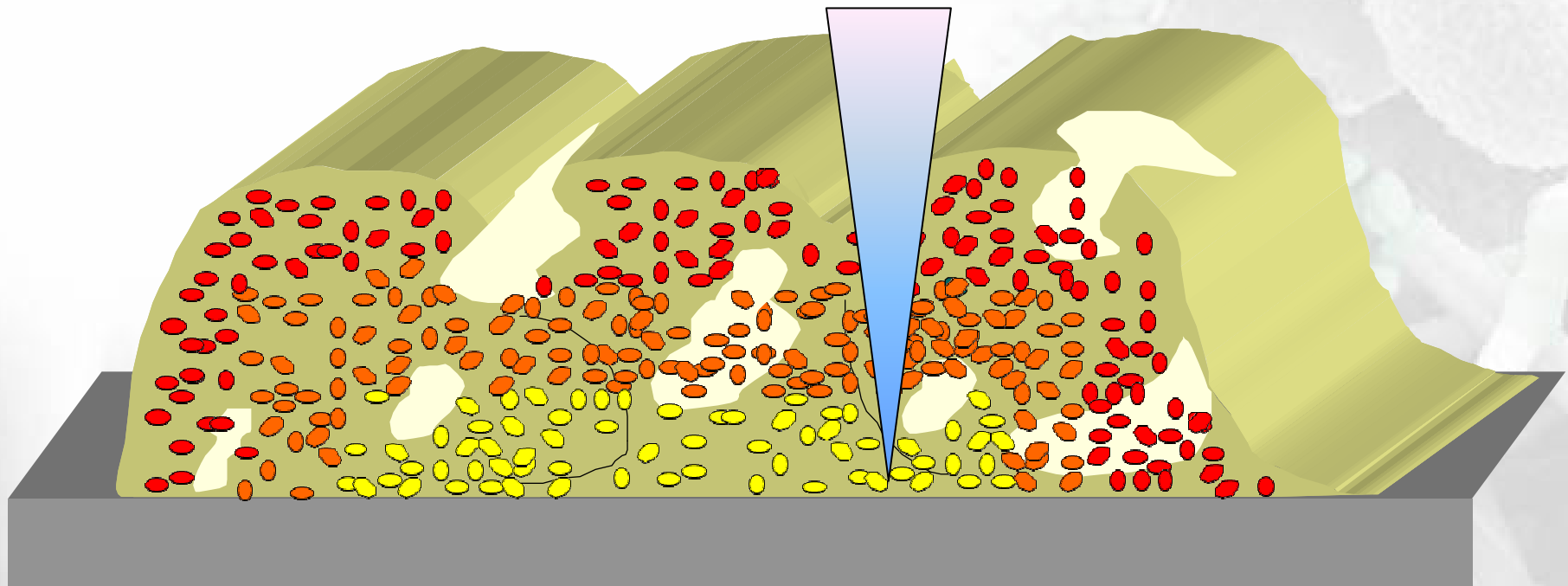
Frank and Koffi, 1990

# MÉCANISMES DE RÉSISTANCE DES CELLULES EN BIOFILMS

- **Relation étroite entre l'architecture du biofilm et sa résistance**

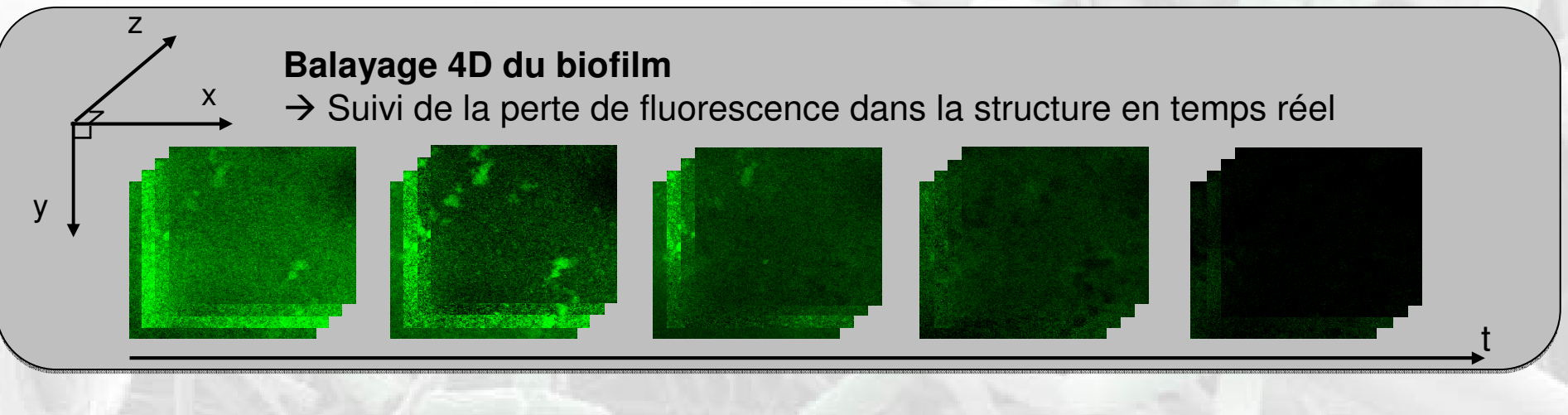
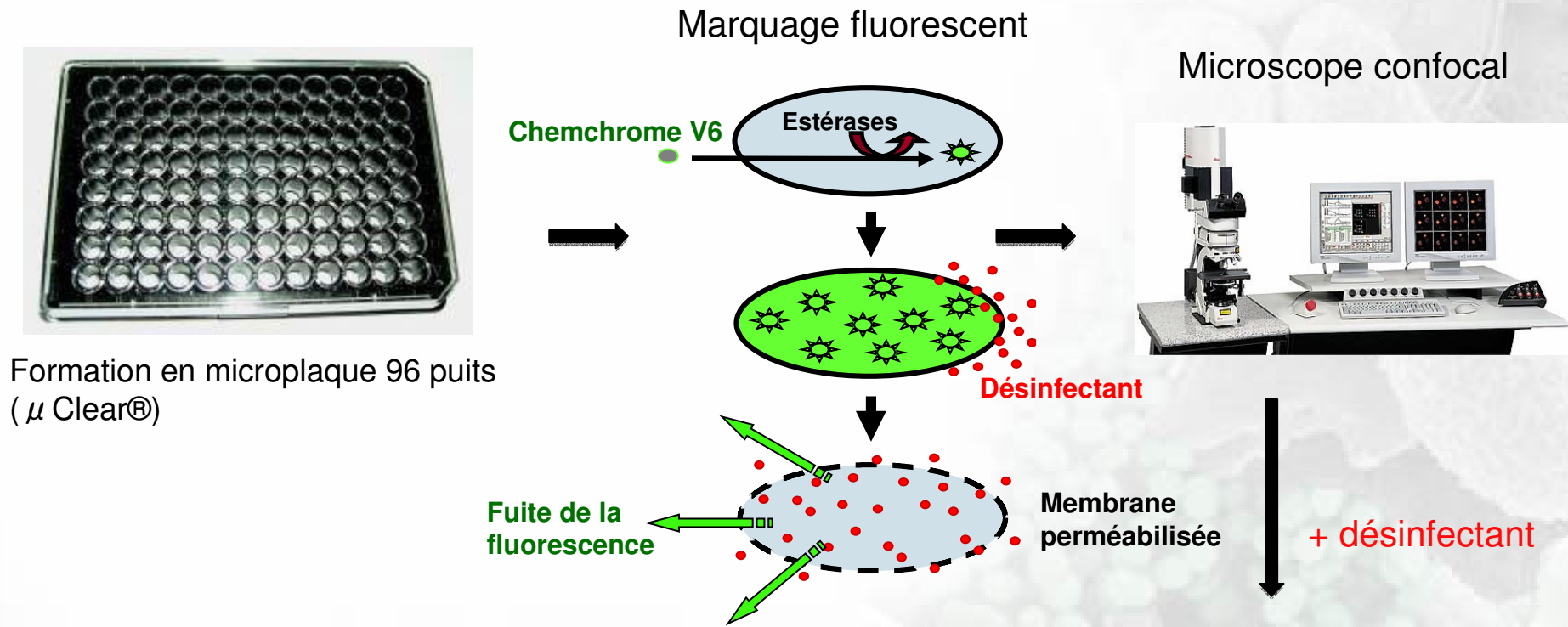
- Barrière de diffusion-réaction
- Hétérogénéité chimique: adaptation physiologique, réponse au stress
- Plasticité génétique

Biocide, nutriments, oxygène...

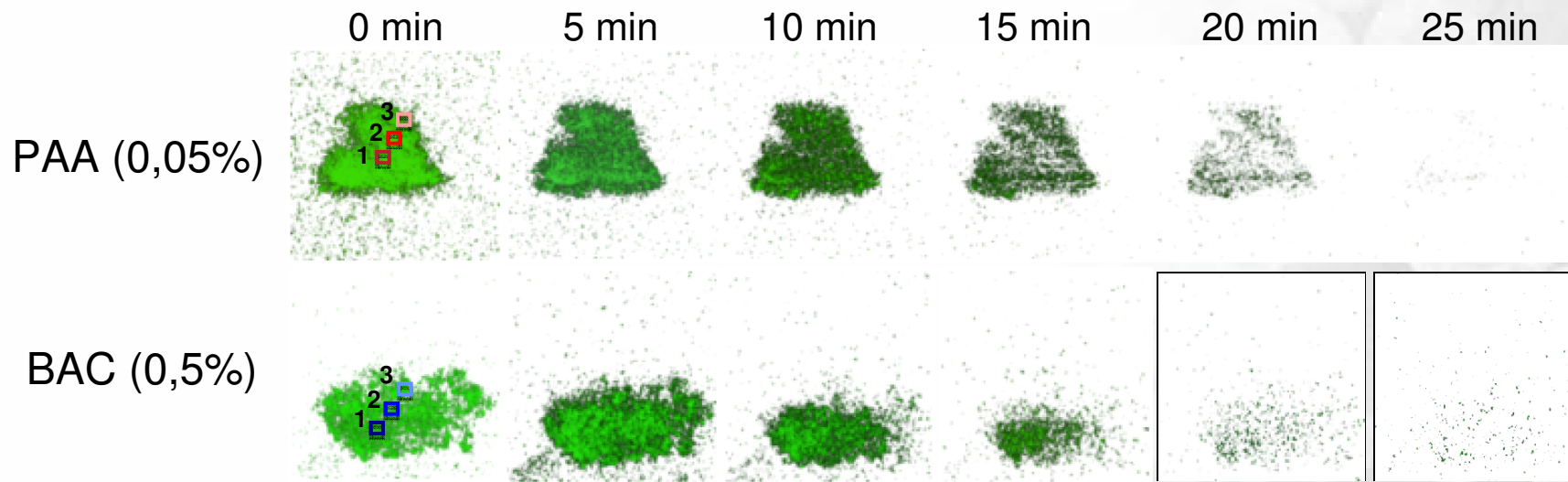




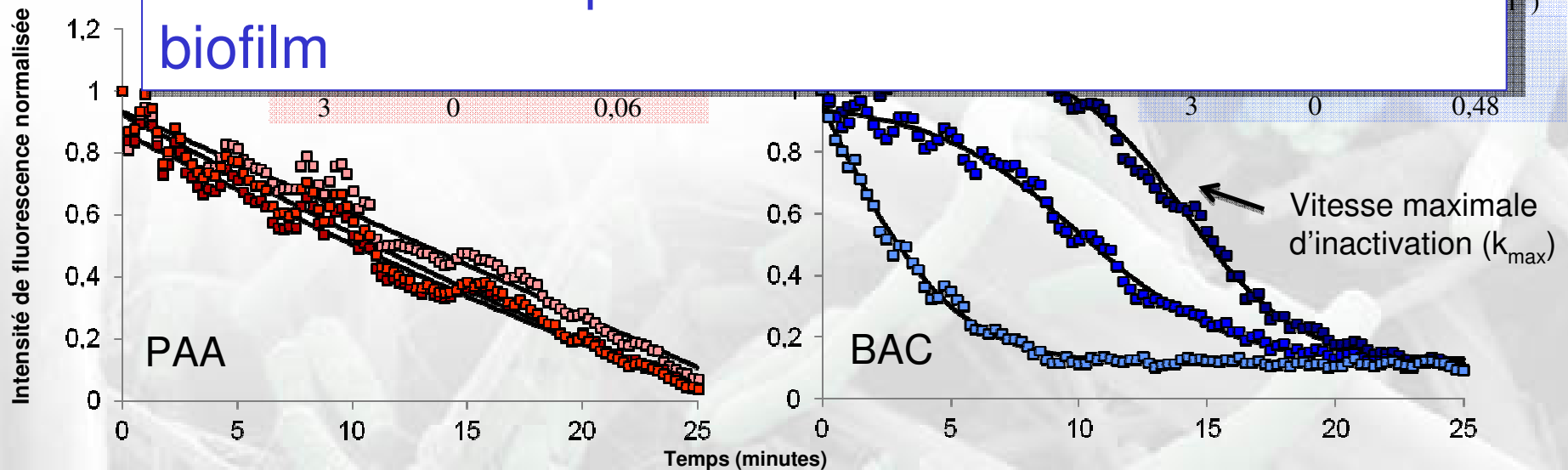
# MÉTHODE DE VISUALISATION EN TEMPS RÉEL DE L'ACTION DES DÉSINFECTANTS DANS LE BIOFILM



# DYNAMIQUES D'ACTION SPATIO-TEMPORELLES DES DÉSINFECTANTS



→ Problème de pénétration du BAC dans le biofilm



# Extension des observations à des isolats cliniques pour le BAC

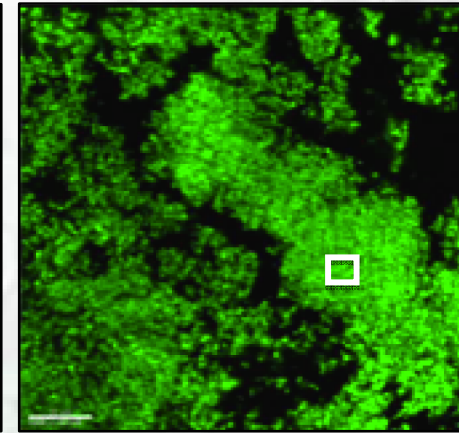
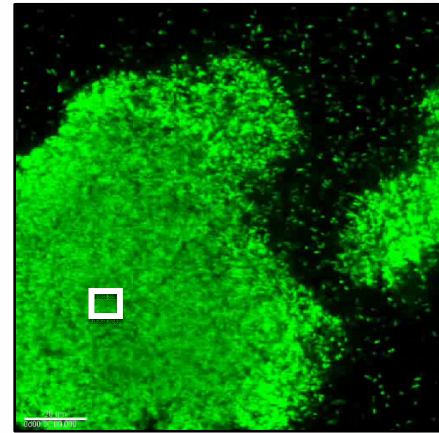
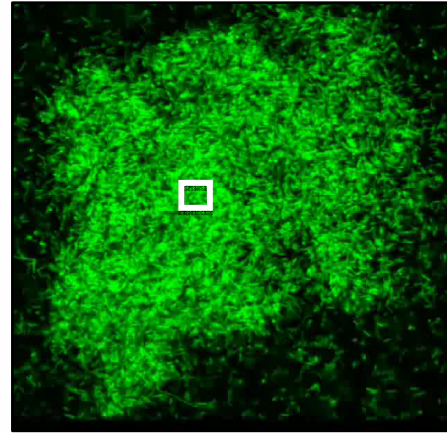
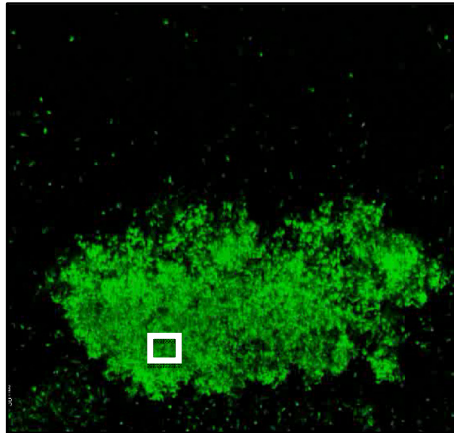
## ▪ Souches cliniques de l'Hôpital Universitaire de Lausanne (G. Greub)

ATCC 15442

Laus 3

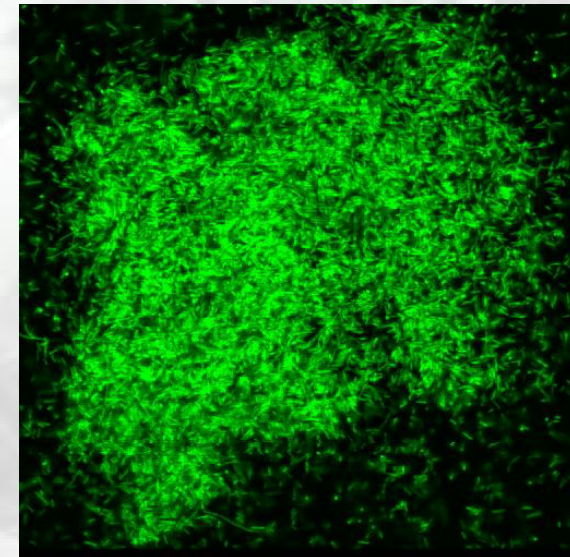
Laus 16

Laus 21



## ▪ Paramètres cinétiques d'inactivation:

souche	<i>n</i>	SI (min)	$k_{\max}$ (min <sup>-1</sup> )
ATCC 15442	4	7.3 ± 3.7	1.6 ± 0.9
Laus 3	3	3.2 ± 1.7	4.0 ± 4.3
Laus 16	3	0.8 ± 1.3	4.6 ± 4.0
Laus 21	3	11.6 ± 4.3	0.2 ± 0.1





# ISOLATS CLINIQUES POUR LE BAC

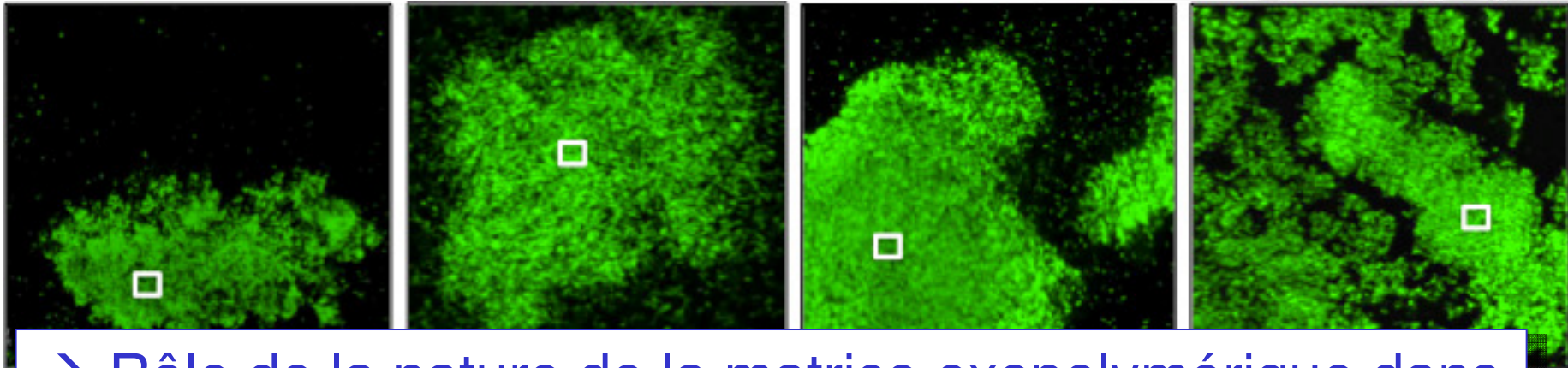
## ▪ Souches cliniques de l'Hôpital Universitaire de Lausanne (G. Greub)

ATCC 15442

Laus 3

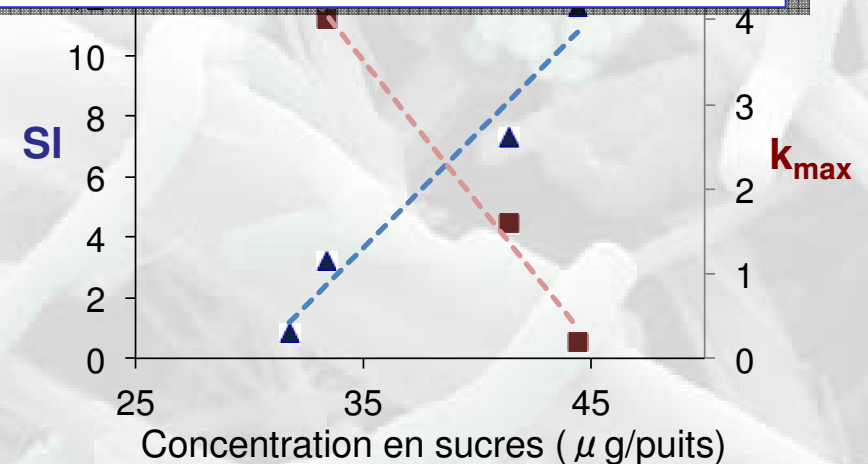
Laus 16

Laus 21

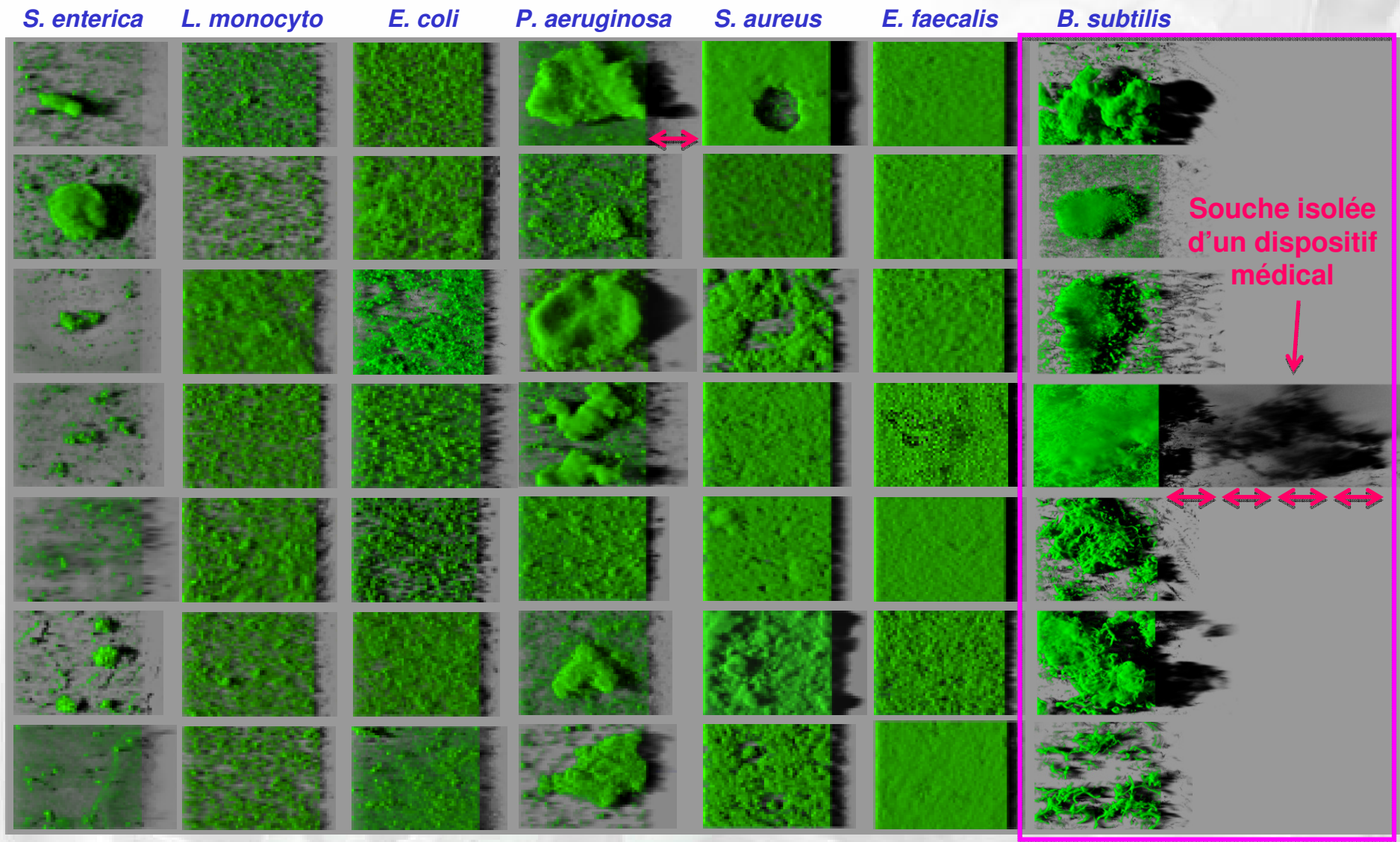


→ Rôle de la nature de la matrice exopolymérique dans les problèmes de pénétration du BAC

souche	<i>n</i>	SI (min)	$k_{\max}$ ( $\text{min}^{-1}$ )
ATCC 15442	4	$7.3 \pm 3.7$	$1.6 \pm 0.9$
Laus 3	3	$3.2 \pm 1.7$	$4.0 \pm 4.3$
Laus 16	3	$0.8 \pm 1.3$	$4.6 \pm 4.0$
Laus 21	3	$11.6 \pm 4.3$	$0.2 \pm 0.1$



# DIVERSITÉ ARCHITECTURALE DES BIOFILMS BACTÉRIENS



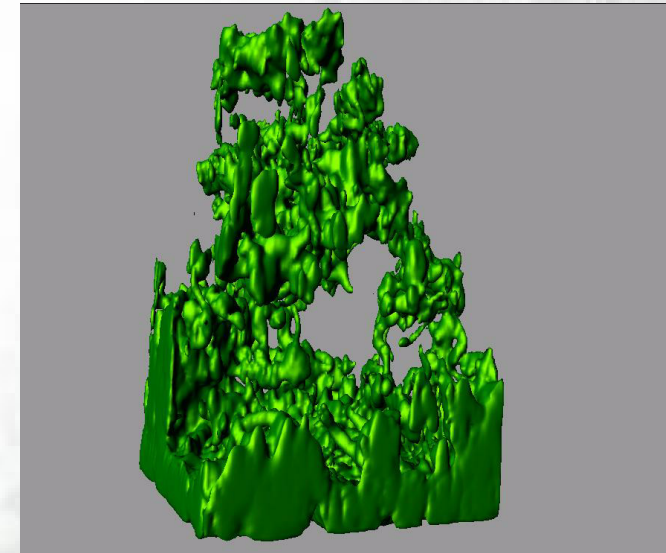
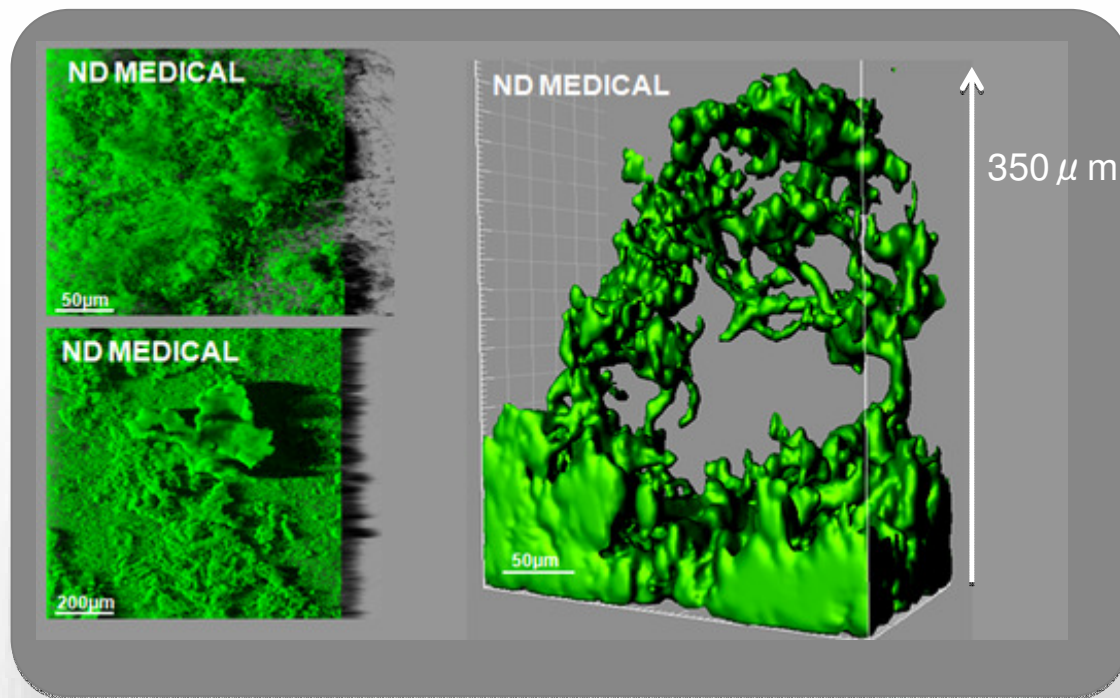
50 μm



# BIOFILMS DE LA SOUCHE ND<sub>MEDICAL</sub>: « BEANSTALK STRUCTURES »

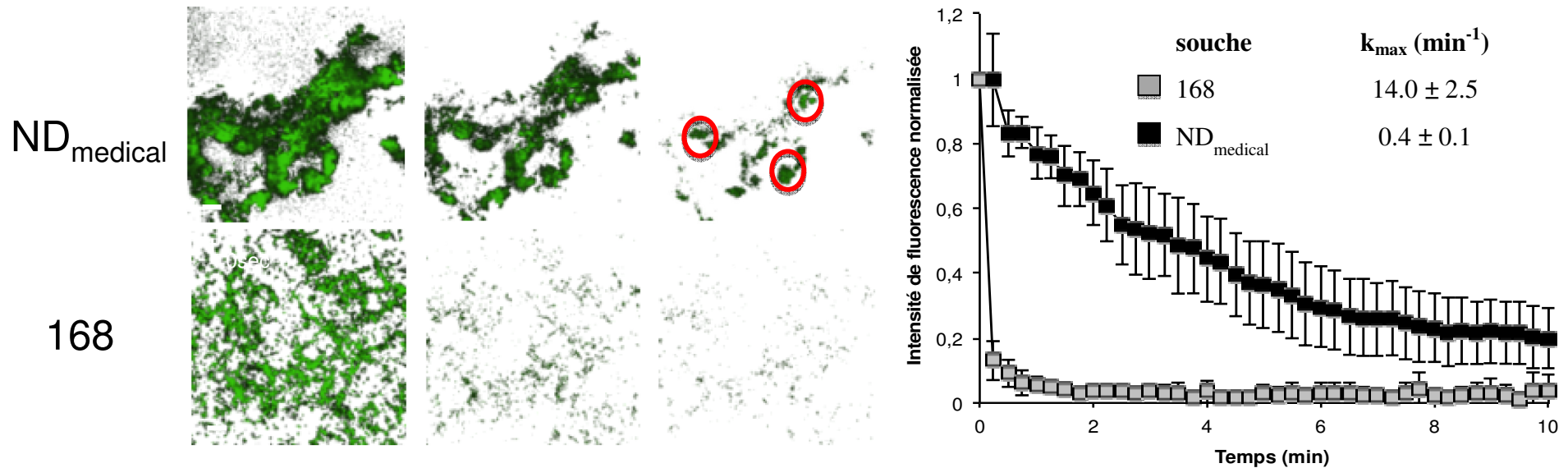
- Souche isolée d'un laveur-désinfecteur d'endoscopes (Martin *et al*, 2008)

→ Structures pouvant atteindre plusieurs centaines de microns



# HYPER-RÉSISTANCE DU BIOFILM DE LA SOUCHE NDMEDICAL AU PAA

- Visualisation de l'action du PAA (0,05%) par microscopie confocale en temps réel



- Traitement à 0,35% de PAA pendant 5 minutes

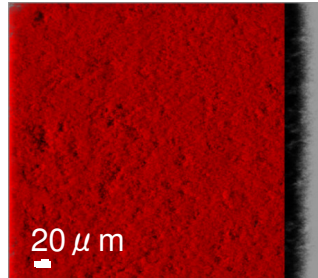
	log (CFU/puit)	
	Eau distillée	0,35% PAA
168	7,6 ± 0,2	-
ND <sub>medical</sub>	7,7 ± 0,1	3,9 ± 0,6

(-) inférieur au seuil de détection

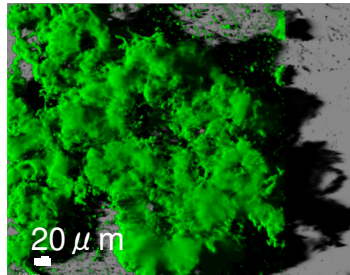
- Absence de spores dans le biofilm (dénombrement après traitement thermique)

# PROTECTION DE *S. AUREUS* EN BIOFILMS MIXTES PAR LA SOUCHE ND<sub>MEDICAL</sub>

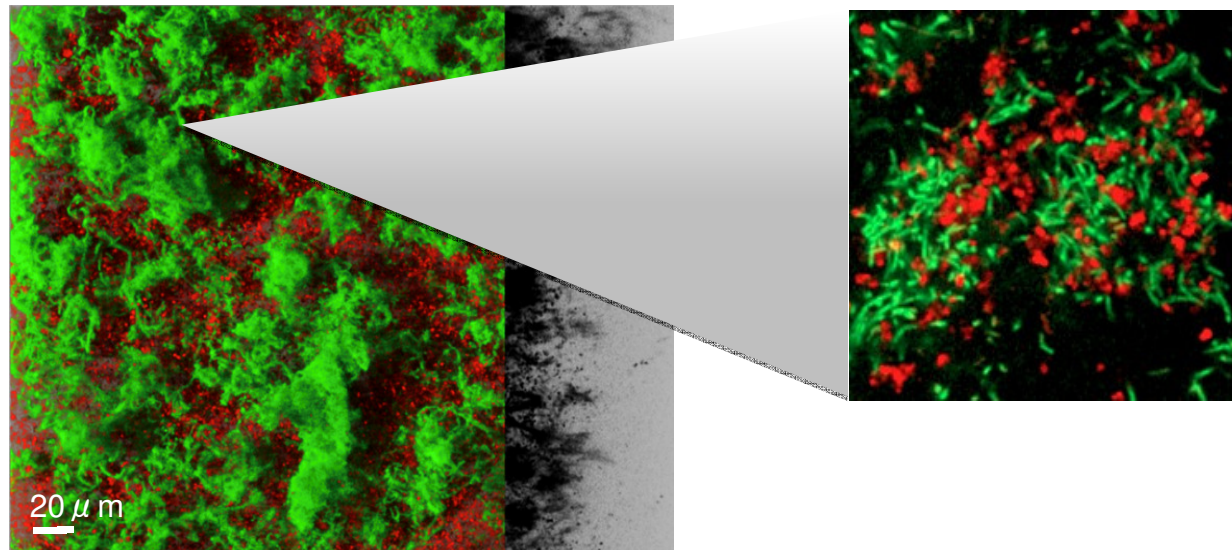
Biofilm de *S. aureus* AH478 mCherry



Biofilm de *B. subtilis* ND<sub>medical</sub> GFP



Biofilm mixte *S. aureus* AH478 mCherry/ *B. subtilis* ND<sub>medical</sub> GFP



## Résistance des cellules en biofilms mono-espèce ou mixtes à 0.35% de PAA, 5 minutes

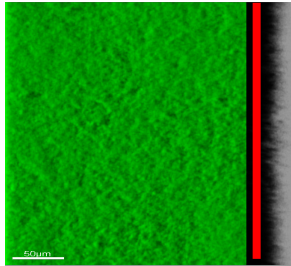
		log (CFU/puits)	
		Eau distillée	0.35% PAA
Biofilm mono-espèce	<i>B. subtilis</i> ND <sub>medical</sub>	7.7 ± 0.1	3.9 ± 0.6
	<i>S.aureus</i> AH478	9.3 ± 0.1	-
Biofilm mixtes	<i>B. subtilis</i> ND <sub>medical</sub>	7.3 ± 0.3	3.9 ± 0.3
	<i>S.aureus</i> AH478	8.4 ± 0.1	2.6 ± 0.5

(-) inférieur au seuil de détection



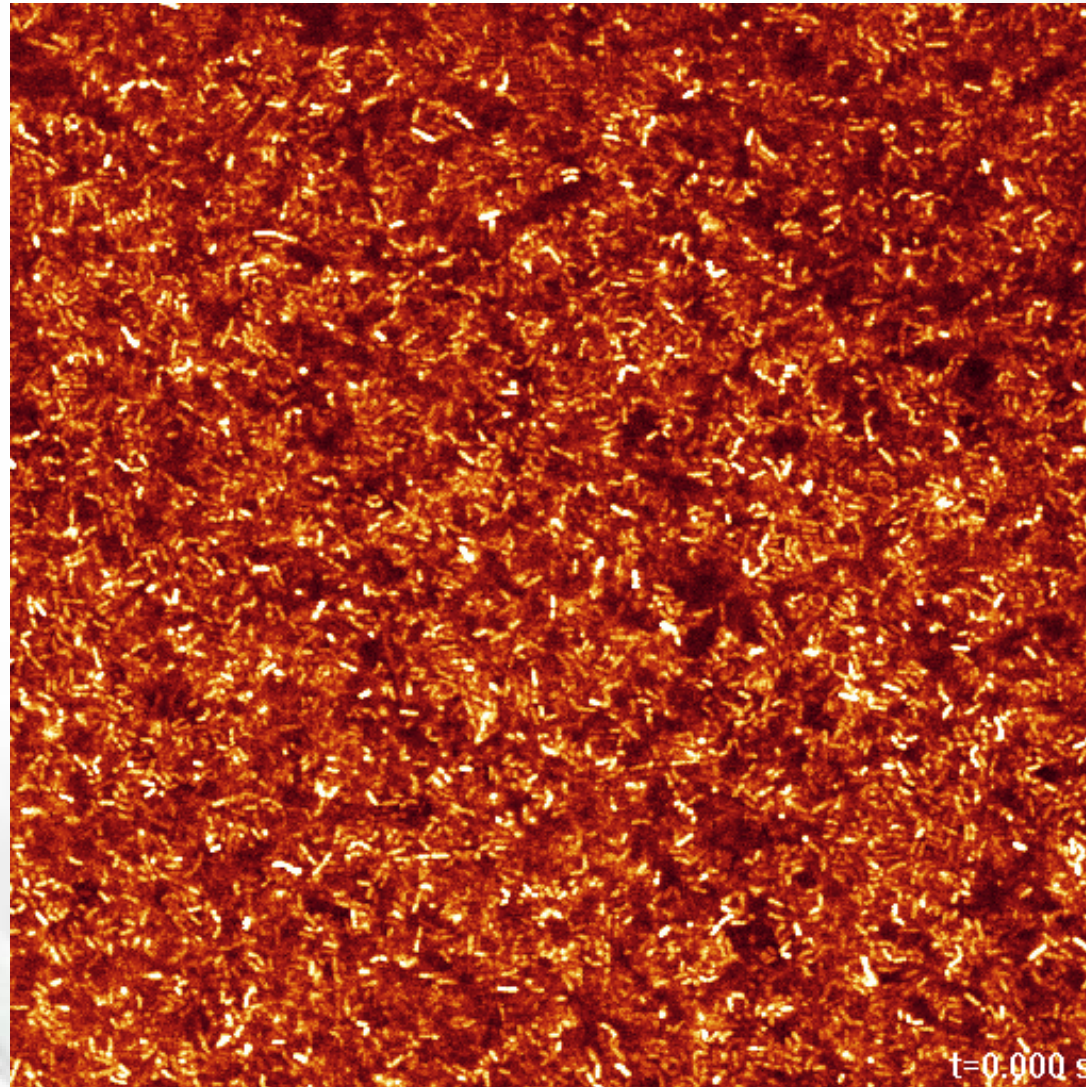
# STEALTH SWIMMERS INFILTRATES THE BIOFILM MATRIX

48h



*Bacillus Bt*  
GFP

$V_{max} \approx 20 \mu\text{m/s}$

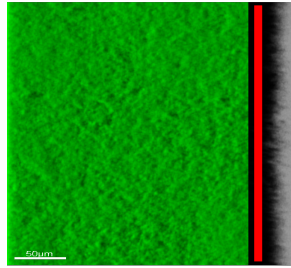


t=0.000 s

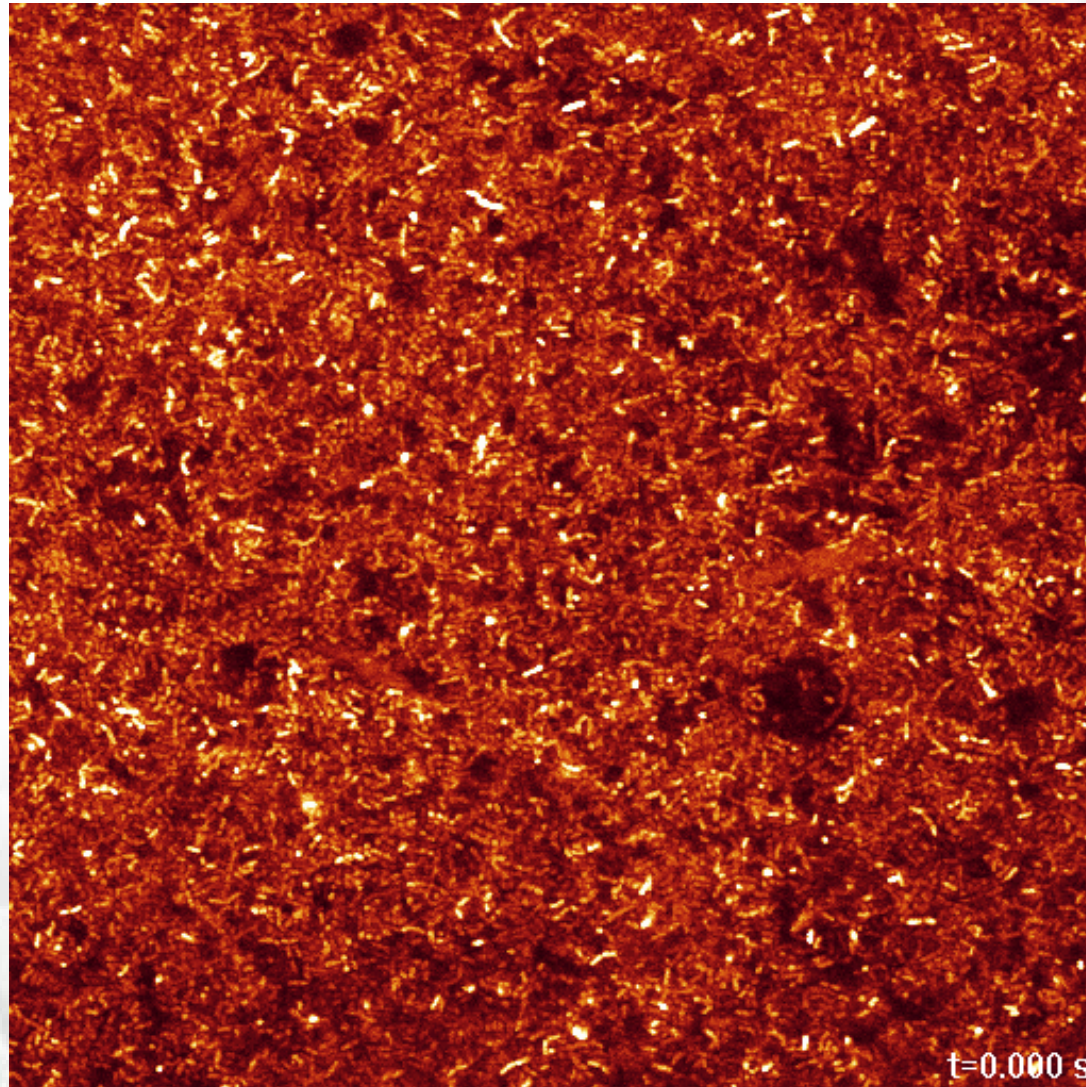


# STEALTH SWIMMERS INFILTRATES THE BIOFILM MATRIX

48h



*Bacillus Bt*  
GFP

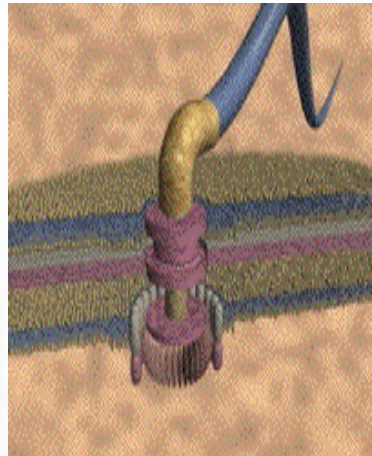
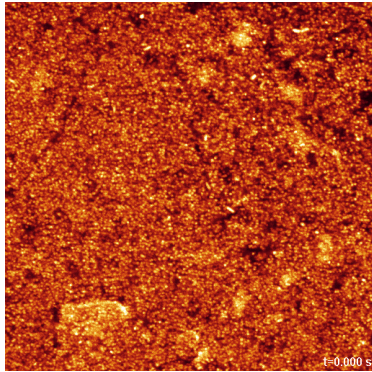


A new function  
for chains in  
motile bacteria ?

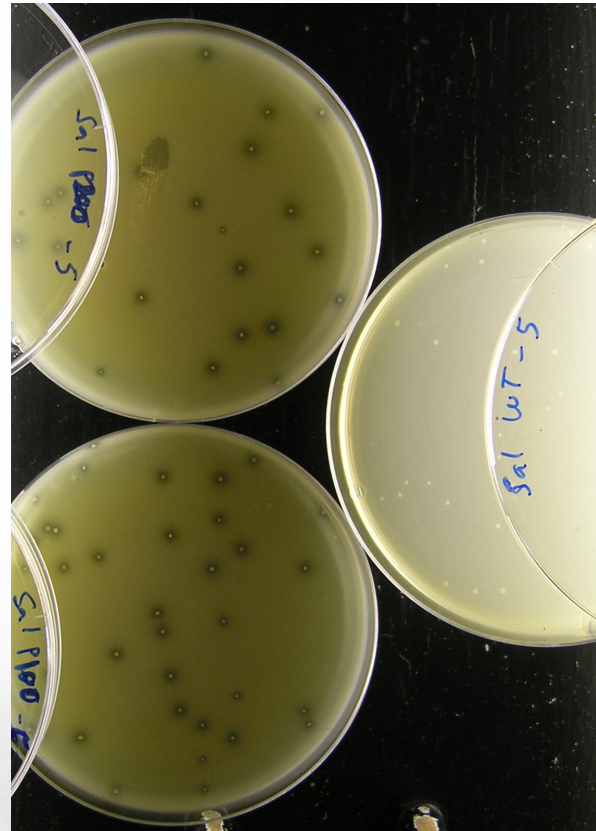


DISRUPTION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BIOFILMS BY *BACILLUS THURINGIENSIS* (BT) SWIMMERS DELIVERING A BIOCIDIDE

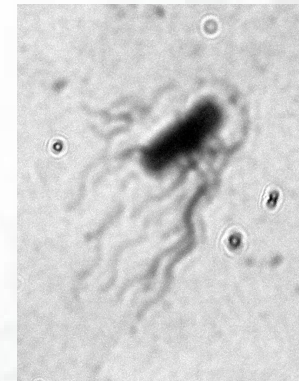
Swimmers (Bt)



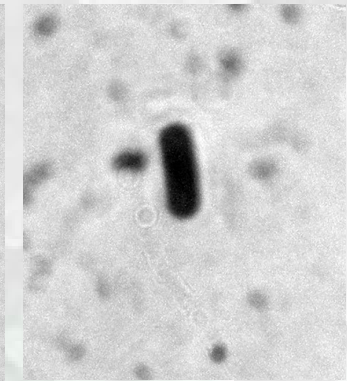
Lysostaphin (Lys+)



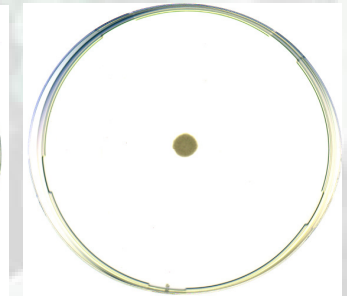
Bt



$\Delta fla$

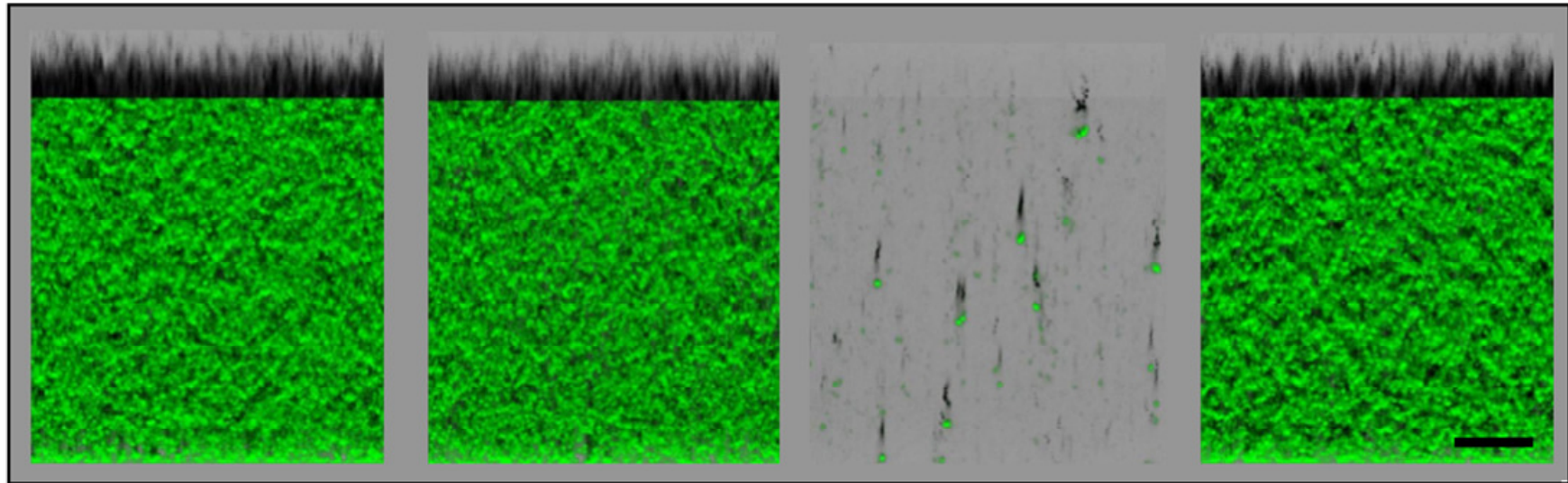


swim +



swim -

Disruption of *Staphylococcus aureus* biofilms by *Bacillus thuringiensis* (bt) swimmers delivering a biocide



S.aureus

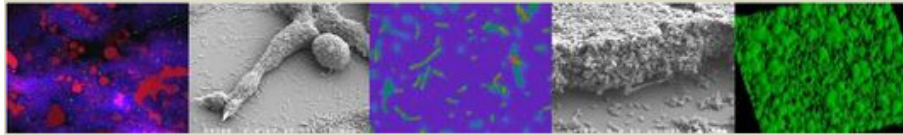
+Bt

+Bt Lys<sup>+</sup>

+Bt  $\Delta$ fla Lys<sup>+</sup>

*S. aureus* GFP biofilms after contact with *B. thuringiensis*  
Motile (+Bt) or non-motile (+Bt $\Delta$ fla) cells, expressing (Lys<sup>+</sup>) or not lysostaphin





Les actes du colloque Dourdan 2008

Soumission

Accueil

 [Imprimer](#)

## Les Biofilms au service des Biotechnologies

**Appel à communications jusqu'au 1 novembre 2011 (onglet "Soumission")**

Bioénergies, Agro-Alimentaire, Environnement  
24-26 janvier 2012 - Narbonne

Ce colloque est organisé par le Réseau National Biofilms et l'INRA de Narbonne.

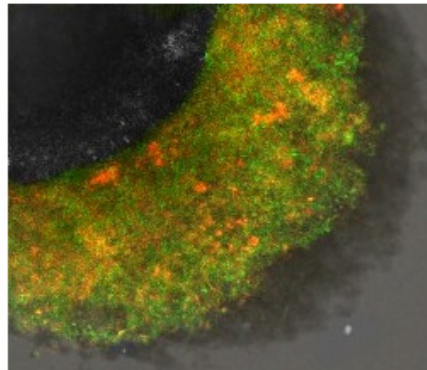
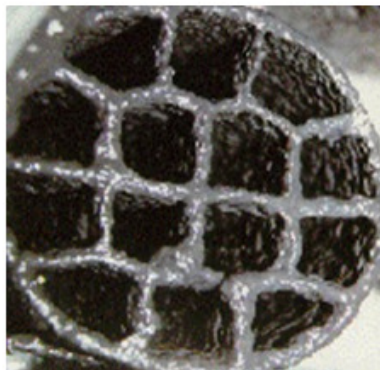
**Ces journées se tiendront dans la salle des Synodes à l'Hôtel de ville de Narbonne**

Programme des cinquièmes journées du RNB

Télécharger la plaquette du colloque ([fichier pdf](#))

Télécharger la fiche d'inscription ([fichier word](#))

Note aux auteurs ([fichier pdf](#))



[https://colloque2.inra.fr/reseau\\_national\\_biofilm](https://colloque2.inra.fr/reseau_national_biofilm)



# Merci !

A. Bridier, J. Deschamps, P. Sanchez-Vizueté, O. Habimana, A. Houry, D. Perez-Nunez, E. Tischenko, M. Renault, M. Guilbaud, S. Durieux, J.-M. Herry, T. Meylheuc, F. Dubois-Brissonnet, M. Naïtali, G. Gerlot, B. Carneze, V. Chaplain, J.-C. Piard, M.-P. Chapot-Chartier, S. Kulakauskas, E. Guédon, M. Gohar, D. LeCoq, S. Aymerich, A. Gruss, M.-N. Bellon-Fontaine ([MICALIS – Jouy en Josas](#)) V. Thomas ([Steris - Fontenay](#)) K. Steenkeste, S. Daddy-Oubekka, M.-P. Fontaine-Aupart ([CNRS - Orsay](#))

A. Bergel, N. Bernet, T. Bouchez, C. Compère, M. Dubow, F. Garrido, M. Hébraud, Y. Héchard, E. Paul, P. Piveteau, B. Tribollet ([Réseau National Biofilms](#))