



HAL
open science

Biofilms et rhumatismes inflammatoires chroniques

Jean-Marie Berthelot, Christelle Darrieutort-Laffite, Benoît Le Goff, Stéphane Corvec, Yves Maugars

► **To cite this version:**

Jean-Marie Berthelot, Christelle Darrieutort-Laffite, Benoît Le Goff, Stéphane Corvec, Yves Maugars. Biofilms et rhumatismes inflammatoires chroniques. *Revue du Rhumatisme*, 2020, 87, pp.453 - 458. <10.1016/j.rhum.2020.06.002>. <hal-03493520>

HAL Id: hal-03493520

<https://hal.science/hal-03493520v1>

Submitted on 15 Dec 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons CC BY-NC 4.0 - Attribution - Non-commercial use - International License

Biofilms et rhumatismes inflammatoires chroniques

Jean-Marie Berthelot, Christelle Darrieutort-Laffite, Benoît Le Goff, Stéphane Corvec, Yves Maugars

Service de Rhumatologie, Hôtel-Dieu, CHU Nantes, 44093, Nantes Cedex 01

Tel : (33)(0)2.40.08.48.22 ou 01 ou 25

Fax : (33)(0)2.40.08.48.30

Courriel : jeanmarie.berthelot@chu-nantes.fr

Résumé

Les biofilms sont un mode de persistance, notamment à la surface des muqueuses, de 99,99 % des bactéries et levures, dans un état métaboliquement peu actif. Elles y partagent au mieux les substrats, mais s'y contrôlent les unes les autres, *via* la sécrétion de peptides anti-microbiens. Elles y mutualisent aussi leur défense contre les menaces extérieures par la synthèse d'un abri commun, traversé de fins canaux, fait d'un mélange de glycoprotéines (variables selon les espèces de bactéries/levures), d'ADN extracellulaires bactériens ou fongiques, et de molécules d'attachement, dont des molécules amyloïdes. Cette gangue et/ou l'état dormant induit de certaines de ces bactéries/levures peut induire des faux négatifs des méthodes de détection usuelle des agents infectieux, y compris PCR. Des bactéries peuvent aussi persister sous forme de biofilms intracellulaires au sein des macrophages et utiliser ces chevaux de Troie pour migrer des muqueuses aux articulations, dans lesquelles des biofilms extra-cellulaires peuvent se reformer grâce à la présence facilitante du liquide synovial. Certains biofilms peuvent induire un état de phagocytose frustrée des macrophages, source d'inflammation chronique, et/ou provoquer des phénomènes de NETose inefficace des polynucléaires. S'en suit une libération d'ADN humain et de molécules citrullinées associées à des molécules amyloïdes bactériennes, pouvant aboutir à une auto-immunisation à l'encontre de ces antigènes, cibles des auto-anticorps des rhumatismes inflammatoires. Les sels d'or, qui pouvaient induire des rémissions très durables des polyarthrites rhumatoïdes, sont *ex-vivo* plus efficaces sur les biofilms que les antibiotiques. Des biofilms pourraient donc participer à l'initiation et/ou aux poussées des rhumatismes inflammatoires chroniques.

Mots-clés : biofilm, bactéries, dormantes, levures, ADN, NETose, muqueuses, polyarthrite rhumatoïde, sels d'or, pathogénie

1. Introduction

Les biofilms sont des communautés de bactéries (d'une ou plusieurs espèces) et/ou d'autres pathogènes (levures), qui, à la surface des muqueuses et épithéliums ou des corps étrangers, s'abritent de la réponse immune de l'hôte au sein d'une gangue de polysaccharides, d'ADN, et de protéines amyloïdes d'origine microbienne.

Les médecins savent que les biofilms autour des prothèses et cathéters contribuent à la tolérance des bactéries aux antibiotiques, mais ignorent parfois qu'il s'agit du mode de persistance usuel de 99,99 % des bactéries et levures depuis 3 milliards d'années [1]. Des biofilms pourraient participer à l'initiation et aux poussées des rhumatismes inflammatoires chroniques, car certains peuvent induire un état de phagocytose frustrée des macrophages, source d'inflammation chronique [2], et/ou provoquer des phénomènes de NETose inefficace des polynucléaires [3]. Or, la liaison de l'ADN humain et des molécules citrullinées libérées durant la NETose à des molécules amyloïdes des biofilms peut induire une rupture de tolérance (en particulier, vis-à-vis de l'ADN) [4]. Enfin, c'est sous forme de biofilms intra-cellulaires que certaines bactéries peuvent persister dans les macrophages et utiliser ces chevaux de Troie pour migrer des muqueuses aux articulations [5], dans lesquelles des biofilms extra-cellulaires peuvent se former grâce à la présence facilitante du liquide synovial [6].

2. Les bactéries et levures se contrôlent les unes les autres

Peu de bactéries tentent l'aventure d'une croissance exponentielle sous forme dite planctonique (car flottant librement dans le milieu extra-cellulaire, comme le plancton dans l'eau) [1]. Ceci s'explique : 1-par la défense immunitaire des hôtes ; 2-parce que cette multiplication n'est pas dans l'intérêt du micro-organisme, s'il consomme tout son substrat et s'empoisonne par ses propres déchets ; 3- par la surveillance que les micro-organismes exercent les uns sur les autres, pour que l'un d'entre eux ne s'accapare pas les ressources du milieu : plus de 50 % des antibiotiques utilisés en médecine sont d'origine naturelle et synthétisés par des bactéries ou levures. Au final, une écrasante majorité des bactéries et levures gardent leurs populations relativement à l'équilibre au sein de biofilms [1]. Ceci explique pourquoi les infections bactériennes et mycosiques à traduction clinique restent rares, malgré la présence de milliards de bactéries et levures à la surface de nos muqueuses et épithéliums: 70 % de ces bactéries, au sein des biofilms physiologiques, ne sont pas cultivables aisément [7], mais nous protègent de l'intrusion de bactéries pathogènes (comme les chiens domestiques protègent des loups).

3. Les bactéries et levures ont intérêt à mettre en commun leurs spécificités au sein des biofilms

Chaque bactérie ou levure a un profil anabolique et catabolique original, et sous-traite des métabolites d'autres espèces (tout en en profitant). Une deuxième raison aux fréquentes associations de différents micro-organismes dans un même biofilm (jusqu'à des dizaines d'espèces) est que ceux-ci permettent à ces micro-organismes de mutualiser leurs défenses pour se protéger des menaces (les premières ayant été des protozoaires se nourrissant de

bactéries). Cette défense mécanique du biofilm est assurée par la synthèse d'une solide gangue de protection (matrice ou glycocalyx), traversée par des canaux permettant des échanges de métabolites et d'informations entre occupants du biofilm.

4. Composition variable de la matrice

Sa composition varie beaucoup selon les micro-organismes, mais aussi, pour une même bactérie comme le staphylocoque, selon les stress subis et les conditions environnementales [1].

Elle combine en proportions variables (Figure 1):

- des molécules d'adhérence et d'attachement (pili, fimbriae), soit entre bactéries, soit entre micro-organismes et tissus. Parfois l'attachement se fait d'abord à la fibrine de l'hôte, qui encercle la bactérie pour la fixer, mais peut être réciproquement utilisée par les bactéries pour renforcer la matrice des biofilms [1].
- un maillage de polysaccharides. Chaque micro-organisme synthétise préférentiellement un type de polysaccharide: l'alginate pour les *Borrelia sp.* et les *Pseudomonas sp.*, des hyaluronanes pour certains streptocoques, ou du curdlan pour les *Alcaligenes sp.*, etc...[1].
- des dépôts d'ADN bactérien extracellulaire (ADNe), dont la longueur une fois déroulée est importante. Cet ADNe capte les cations divalents, comme le calcium, ce qui solidifie le biofilm [1]. Il absorbe aussi beaucoup des peptides antimicrobiens de la réponse innée, ainsi que certains antibiotiques sécrétés par d'autres bactéries. Il peut prendre une structure repliée qui le rend plus résistant aux DNases.

- l'adoption de cette structure plissée est guidée et amplifiée par diverses protéines amyloïdes bactériennes [8], qui permettent aussi aux bactéries de s'agréger entre elles, à un moindre coût énergétique. Ces protéines amyloïdes peuvent également participer à la construction d'alvéoles en nids d'abeilles, qui solidifient encore les biofilms [9].

5. Les biofilms facilitent la persistance bactérienne et fongique en promouvant l'adoption d'un phénotype dormant, résistant aux antibiotiques usuels

Ceci survient surtout en profondeur du biofilm où existent des conditions de survie moins favorables (moins d'oxygène et de nutriments). Ces bactéries et/ou levures dites quiescentes peuvent permettre au biofilm de renaître des mois, années, voire décennies, après le délitement de la portion superficielle du biofilm [10].

6. Les biofilms évoluent par cycles de formation et de destruction/effondrement

Les biofilms se forment en quelques heures à quelques jours, mais se défont aussi en quelques jours à mois, suite à la libération d'enzymes/toxines bactériennes. Certaines peuvent, si elles se diffusent dans l'organisme, réaliser des tableaux gravissimes de syndromes de chocs toxiques/toxiniques (comme à *Staphylococcus aureus* après usage

prolongé de tampons hygiéniques). Les délitements de biofilms permettent la libération des rares bactéries du biofilm restées ou redevenues planctoniques, qui peuvent alors se multiplier, ou migrer à distance et aller constituer un nouveau biofilm dans un autre site. Les autres bactéries restant attachées dans les fragments du biofilm (devenu perméable aux cellules) peuvent par contre être ingérées par les polynucléaires ou macrophages pénétrant dans la brèche.

7. Une fois un certain quorum atteint (quorum sensing), les bactéries communiquent entre elles

Cette communication se fait au moyen de signaux chimiques qui varient selon les bactéries : homosérine-lactones pour les bactéries à Gram négatif, et peptides variés pour les bactéries à Gram positif. Elles vont encourager la synthèse de tels ou tels composants de la matrice [1]. Au sein du biofilm, les bactéries échangent aussi des gènes ou des plasmides codant pour une résistance aux antibiotiques: ceci survient à une fréquence 10 fois plus importante que chez les bactéries planctoniques [11].

8. Des biofilms peuvent aussi se former au sein d'une seule cellule humaine

Des mini-biofilms peuvent aussi se constituer au sein même d'une cellule où des centaines de bactéries peuvent s'agglomérer dans le cytoplasme pour pouvoir mieux y persister en

échappant à la xénophagie (variété d'autophagie éliminant les agents infectieux, dont les bactéries intra-cellulaires).

Des infections urinaires récidivantes sont en lien avec des biofilms de bactéries à Gram négatif présents dans une seule cellule urothéliale superficielle [12]. Ces biofilms intra-cellulaires peuvent induire des infections récidivantes à *Escherichia coli* lorsque la cellule urothéliale infectée desquame dans la lumière de la vessie, surtout si celle-ci n'est pas vidée assez régulièrement.

Lors de la maladie de Whipple, les granulations PAS+ au sein des macrophages des muqueuses duodénales révèlent la présence de bactéries entourées d'une gangue de sucre au sein de biofilms. Ceci explique deux progrès. Le premier est le recours à l'utilisation des glycosidases pour traiter les prélèvements avant de pratiquer des PCR pour amplifier le génome de *Tropheryma whipplei*. En effet, si la gangue de sucres n'est pas cassée, l'ADN bactérien ne peut pas être extrait correctement, et/ou reste mélangé à l'ADNe également contenu dans les biofilms, ce qui peut expliquer les faux négatifs des PCR passées : les PCR, après glycosidase, sont 100 fois plus sensibles [13].

Le deuxième progrès est la compréhension que ces biofilms pouvaient modifier le pH des phagosomes et/ou bloquer la fusion de celui-ci avec les lysosomes, empêchant ainsi la destruction des bactéries intra-cellulaires. L'ajout d'hydroxychloroquine (Plaquenil®) permet d'acidifier les phagosomes et majore l'efficacité des antibiotiques dans la maladie de Whipple s. Il faut poursuivre l'association très longtemps, car au sein des biofilms, les bactéries ne se multiplient que très lentement, et y adoptent souvent un état dormant.

La capacité de *Cutibacterium acnes* à infecter *in vitro* les cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse et d'y persister sous forme de biofilms [14] pourrait aussi expliciter la pathogénie des syndromes SAPHO. *Mycobacterium tuberculosis* peut aussi persister très

longtemps à l'état dormant dans les cellules souches mésenchymateuses de l'os, et former des biofilms [15].

9. Les macrophages, polynucléaires et cellules souches sont paradoxalement des cellules où peuvent aussi persister des biofilms intra-cellulaires

Les polynucléaires et les macrophages sont les cellules les plus capables de phagocyter des bactéries. Certaines bactéries une fois ingérées peuvent, soit tuer la cellule les ayant phagocytées, soit persister durablement au sein de ces cellules, et même y constituer des biofilms. Les micro-organismes correspondants peuvent utiliser ces macrophages ou polynucléaires comme des chevaux de Troie pour voyager dans le sang en échappant temporairement à la réponse immune, pour aller coloniser des tissus à distance des muqueuses ou ganglions où ils ont été initialement phagocytés.

10. Les biofilms protègent les bactéries de la réponse immune de l'hôte par plusieurs mécanismes

La gangue de biofilm bloque la phagocytose par les macrophages et permet aux bactéries (et aux levures) de s'abriter des effets cytotoxiques des anticorps (opsonisation), du complément, et des peptides anti-microbiens sécrétés par les cellules (comme la cathelicidine = LL37, dont la synthèse est majorée par la vitamine-D [16]).

La gangue du glycocalyx met également les bactéries à l'abri des enzymes (MPO, PR3, etc...) et des filets d'ADN humains libérés par les polynucléaires neutrophiles lors des phénomènes de NETose (suicide altruiste du polynucléaire après citrullination de ses histones et d'autres molécules nucléaires ou cytoplasmiques, lesquelles sont ensuite expulsées hors de la cellule pour essayer de lyser les bactéries ne pouvant être ingérées)[17].

11. Certains biofilms poussent même les polynucléaires à se suicider par NETose

Des biofilms de bactéries ou levures peuvent adopter la stratégie d'attirer puis provoquer les polynucléaires pour les forcer à entrer en NETose [3], ce suicide étant souvent inefficace, car certains biofilms y résistent bien. De telles NEToses provoquées peuvent être utiles aux biofilms: 1- en leur permettant d'incorporer aussi dans leur gangue une partie de l'ADN humain expulsé; 2-en offrant aux bactéries les nutriments que constituent les molécules libérées par les polynucléaires durant leur explosion [3].

12. La provocation des macrophages et polynucléaires par les biofilms peut induire un état d'inflammation chronique

La stimulation de macrophages et polynucléaires incapables de phagocyter les biofilms formés par la libération de fragments de polysaccharides, d'ADNe ou de lipopolysaccharides bactériens, peut générer un état dit de phagocytose frustrée. La réponse cytokinique induite

est comparable en intensité à celle provoquée par des bactéries planctoniques [2]. Elle varie selon les bactéries majoritaires dans le biofilm [18]. La libération par les macrophages et/ou polynucléaires de TNF- α , IL-6, IL12p40, PGE2, NO, COX-2, et iNOS pourrait contribuer à la pathogénie de pathologies dites dysimmunitaires, *a fortiori* quand ces fragments de biofilms sont transitoirement libérés dans la circulation et filtrés dans la rate [19].

13. Certaines molécules amyloïdes des biofilms peuvent induire des ruptures de tolérance à l'égard de produits de NETose

Les curli (synthétisées par des bactéries à Gram-négatif de l'intestin surtout) représentent une des molécules amyloïdes bactériennes les plus étudiées, car capables de se lier non seulement à l'ADN bactérien, mais aussi à l'ADN humain, en lui imposant une conformation quaternaire le rendant immunogénique [4]. La liaison des curli à la fois à l'ADNe et à l'ADN humain pourrait être un facteur inducteur des anticorps anti-ADN, voire des lupus [4,20-21]. L'induction d'une phagocytose frustrée avec libération de produits de NETose (fibrine citrullinée, histones citrullinés, ADN qui devient immunogénique par sa liaison aux molécules amyloïdes [4], elastase, MPO, PR3) pourrait contribuer aux ruptures de tolérance observées dans les pathologies bien connues des rhumatologues : lupus, vascularites, et rhumatismes inflammatoires, dont les polyarthrites rhumatoïdes (PR). En effet, les cibles de tous les auto-anticorps marqueurs de ces pathologies sont des antigènes citrullinés libérés durant la NETose [17], et la liaison de certains à des protéines amyloïdes bactériennes comme les curli induit une rupture de tolérance à leur égard [4,20-21].

Cette hypothèse cadrerait bien : 1-avec les associations préférentielles entre PR et bronchectasies [22], parodontites [23] (médiées par des anomalies des biofilms gingivaux [24]), et anomalies du microbiote (qui s'agence en biofilms) [25] ; 2-avec les travaux récents faisant jouer dans le lupus un rôle de starter à des infections par des entérobactéries [20, 26], d'autant que l'ingestion par les macrophages de l'ADNe des biofilms induit une forte synthèse d'interféron alpha [27]. Il est aussi intéressant de noter que des biofilms de petite taille (bactéries buccales, mais aussi levures) peuvent être retrouvés dans les canalicules des glandes salivaires de plus de la moitié des sialadénites chroniques [28].

14. Pour devenir invasives, les bactéries échappées des biofilms des muqueuses doivent d'abord pouvoir traverser la couche de mucus

La très grande majorité des biofilms présents naturellement chez un individu sont retrouvés à la surface du mucus, qui les sépare des muqueuses [29]. Le tabac altère la couche de mucus bronchique. Dans l'intestin, outre diverses bactéries pathobiontes, certaines molécules chimiques (émulsifiants) peuvent altérer le mucus intestinal, en prélude à des réactions immunes et/ou à la translocation de bactéries ou levures à travers la muqueuse, parfois jusqu'aux articulations [5]. L'étude usuelle du microbiote fécal [25] ne renseigne pas bien sur la nature des bactéries qui s'échappent ainsi des biofilms muqueux [30]. En revanche, des techniques très sensibles peuvent détecter des bactéries transitant dans le sang, dont chez le sujet sain. Elles sont souvent oligotrophes (ne se développent pas dans les flacons d'hémocultures usuels, incubés généralement uniquement 5 jours) [31-33]. Il s'agit

surtout de symbiontes (entérobactéries du 'Soi', non pathogènes, les protégeant au sein des biofilms des bactéries pathogènes), comme les protéobactéries et les firmicutes [33].

15. Le milieu synovial favorise beaucoup la formation de biofilms

La résistance aux traitements des ostéites, et les faux négatifs possibles de leurs cultures, peuvent s'expliquer le fait que les bactéries vont rapidement se cacher au sein de biofilms et/ou de cellules (dont les ostéoblastes) [34-35]. Ceci vaut aussi pour les arthrites septiques : par rapport à d'autres milieux de culture, le liquide synovial facilite beaucoup la création de biofilms [6], même pour des bactéries qui n'en forment que peu ou pas *ex vivo* [35-36]. Cette facilitation dépend de composants protéiques présents dans les liquides synoviaux, dont la fibrine et l'acide hyaluronique [6].

16. Moyens de détection et d'étude des biofilms

Les biofilms matures déjà constitués peuvent être mis en évidence par la technique dite de fixation de crystal violet (mesure d'une biomasse bactérienne totale, bactéries vivantes et mortes), mais les biofilms précoces en formation nécessitent d'autres méthodes, comme celle du biofilm-ring-test, basée sur l'adhérence et l'immobilisation de billes magnétiques [37]. Sur les tissus, c'est l'application d'acide osmique qui peut orienter vers la présence de

biofilms [9]. Ces tests ne donnent pas d'information sur la nature des bactéries ou levures présentes.

Sur des biopsies de tissus, si l'on suspecte déjà plus précisément une bactérie, c'est l'utilisation d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) utilisant des sondes d'ADN spécifiques de cette bactérie, marquées à l'aide d'un traceur fluorescent, qui est l'examen de référence, aussi sensible en général que les PCR quantitatives [38]. Pour démontrer que la bactérie est bien présente au sein d'un biofilm, on applique simultanément sur la même coupe histologique un anticorps (ou une sonde) spécifique d'un des composants du biofilm de la bactérie présumée (par exemple l'alginate pour les biofilms à *Borrelia sp.* ou *Pseudomonas sp.*). La co-localisation des deux couleurs en FISH atteste de la présence de la bactérie au sein d'un biofilm. Il faut toutefois parfois déglycosyler partiellement le prélèvement pour éviter des faux négatifs quand la gangue de sucres fait obstacle à l'hybridation de la sonde sur l'ADN bactérien. On peut aussi démontrer par FISH l'association de plusieurs bactéries et/ou levures dans un même biofilm.

L'analyse conjointe du tissu ou liquide par spectrométrie de masse (de type MALDI-TOF) directement à partir des flacons d'hémocultures avec le liquide synovial [39] permet de repérer des profils de protéines ribosomales spécifiques de la plupart des bactéries [40], même si certaines espèces comme le streptocoque s'y prêtent moins [41]. La combinaison du MALDI-TOF avec des PCR spécifiques des bactéries suspectes (technique dite IBIS) permet de « screener » un très grand nombre de pathogènes différents [40].

Une technique d'antibio-filmogramme standardisée a été optimisée par des équipes françaises [42] : il consiste à étudier la formation ou non, de biofilms, au fond de puits où des concentrations graduelles d'antibiotiques ont été déposées.

17. Traitement des biofilms par antibiotiques

Il est d'autant plus important de réfléchir avant d'utiliser des antibiotiques pour traiter des biofilms présumés pathogènes que : 1-les bactéries au sein des biofilms sont peu accessibles à ceux-ci, et acquièrent bien plus vite une tolérance/résistance : la sensibilité aux antibiotiques peut y être mille fois moindre qu'avec une bactérie planctonique; 2-il faut souvent utiliser des combinaisons d'antibiotiques, qui peuvent avoir des effets pervers sur les bactéries et biofilms 'du Soi'; 3-les meilleurs schémas pour éradiquer les biofilms pourraient être différents (par exemple utilisation de pulses d'antibiotiques : administration de fortes posologies d'un ou plusieurs antibiotiques combinés, mais par intermittence, et sur de très courtes périodes) ; 4-ces antibiothérapies pourraient être rendues bien plus efficaces par l'administration préalable ou simultanée de molécules pouvant casser la matrice des biofilms, ou (pour les biofilms intra-cellulaires) pouvant renforcer la xénophagie des macrophages.

Certains antibiotiques usuels, pour des raisons physico-chimiques variées, dont leur charge électrique, peuvent plus facilement pénétrer les biofilms. Pour les biofilms de staphylocoques, la rifampicine (qui inhibe la transcription de l'ADN bactérien en ARN) paraît particulièrement adaptée, d'autant qu'elle peut être active sur des formes non répliquantes de staphylocoques [43]. Il faut toutefois l'utiliser en association (comme avec la fosfomycine) car elle induit une sélection rapide de mutants résistants [44]. Elle permet alors l'éradication de 90 % des biofilms de staphylocoques [45]. De nouvelles variétés d'antibiotiques, agissant plus spécifiquement sur la membrane des bactéries, et pouvant de ce fait être efficaces même sur des formes dormantes ne se répliquant pas, ont été testées. Il s'agit des

lantibiotics, dont l'efficacité est assez faible, et de divers biosurfactants, bien plus efficaces, mais qui ne peuvent être administrés que sous forme de topiques sur des biofilms superficiels (peau, muqueuses proches de celle-ci) du fait de leur toxicité systémique.

18. Autres traitements curatifs des biofilms

18.1. Traitements visant à briser la gangue du biofilm ou à empêcher sa constitution

Différents enzymes peuvent casser *ex vivo* les liaisons entre peptides du biofilm et/ou glycoprotéines : nattokinase, hyaluronidase, et surtout plasmine, activateur du plasminogène, ou streptokinase [46]. L'inconvénient de ces enzymes fibrinolytiques est de renforcer transitoirement la réaction inflammatoire, ce qui pourrait aggraver les lésions au sein de l'articulation [47]. La N-acétyl-cystéine pourrait être moins à risques, car elle a déjà été utilisée en intra-articulaire dans l'arthrose chez l'homme avec une bonne tolérance [48]. Des injections intra-articulaires de concentrés plaquettaires (PRP) ont été pratiquées avec succès lors d'arthrites septiques chez les chevaux [49].

18.2. Molécules visant à inhiber les dialogues entre bactéries après *quorum sensing*.

Parmi ces molécules, figure un antibiotique, l'azithromycine, et divers dérivés de végétaux (ce qui n'est pas étonnant car les plantes ont dû apprendre depuis des milliards d'années à se défendre contre les biofilms bactériens) [50]. Les extraits d'une plante d'Afrique de l'Est (*Rhamnus prinoides*, ou 'Gesho') seraient particulièrement efficaces, réduisant de 99,9 % la taille des biofilms de staphylocoques et streptocoques, du moins *in vitro* [51]. Il faudra toutefois des études contrôlées pour vérifier et quantifier l'efficacité de ces molécules et confirmer ces résultats *in vivo*.

18.3. Les sels d'or et les sels d'argent

Ils modifient le potentiel électrique des membranes des bactéries, et leur utilisation par voie systémique (Auranofin®), qui avait été cantonnée par le passé aux polyarthrites rhumatoïdes, est à nouveau étudiée pour traiter les infections chroniques médiées par des biofilms [50, 52-54]. L'Auranofin® est en effet très efficace sur les biofilms *ex vivo*, en particulier s'il est couplé à des nanoparticules facilitant son ingestion par les bactéries (auranofin-PLGA). Les sels d'or sont aussi efficaces sur des biofilms de levures [55]. Reste à prouver leur efficacité *in vivo*.

Une minorité des PR traitées il y a 30 ans par sels d'or étaient mises en rémission très durable (parfois une décennie). Ceci pourrait conforter l'hypothèse que la persistance de biofilms bactériens dans certaines muqueuses (gingivales, pulmonaires, digestives) contribue à la pathogénie des PR du fait d'un phénomène de trained-immunity [56], et/ou de provocations persistantes [57] ou répétées [58] de la réponse immune. Reste à démontrer la présence au moins transitoire de biofilms dans les liquides et tissus synoviaux au début des synovites, et/ou lors des poussées de polyarthrite. Ce sont peut-être plutôt des biofilms fongiques qui pourraient participer à la pathogénie de certains rhumatismes psoriasiques

[59], d'autant que la topographie des atteintes des psoriasis est très similaire à celle des infections fongiques : ongles, plis, lisière du cuir chevelu, voire langue.

19. Conclusion

Les travaux sur les biofilms, initiés pour mieux comprendre et traiter des infections bactériennes résistantes aux antibiotiques, pourraient déboucher sur des avancées dans la compréhension de la pathogénie des rhumatismes inflammatoires, et de leurs évolutions par poussées [57]. Les emballements de la réponse immunitaire, sur des terrains génétiques prédisposants, ne se font en effet pas spontanément, mais suite à des provocations répétées par des agents extérieurs [60], notamment infectieux (et dans les muqueuses surtout). Dans les arthrites, il pourrait surtout s'agir de bactéries ou levures cachés dans des biofilms en provenance des microbiotes gingivaux, pulmonaires ou digestifs, passant sous le radar des méthodes de détection ne dépistant que les micro-organismes se multipliant de façon exponentielle. La recherche par FISH et MALDI-TOF de biofilms dans des biopsies synoviales réalisées au tout début des rhumatismes inflammatoires pourrait donc être informative.

Conflit d'intérêt : aucun

Références

1-Bjarnsholt T. The role of bacterial biofilms in chronic infections. *APMIS Suppl* 2013;136:1-51

2-Sadowska B, Więckowska-Szakiel M, Paszkiewicz M, Różalska B. The immunomodulatory activity of *Staphylococcus aureus* products derived from biofilm and planktonic cultures. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2013;61:413-20.

3-Bhattacharya M, Berends ETM, Chan R, et al. *Staphylococcus aureus* biofilms release leukocidins to elicit extracellular trap formation and evade neutrophil-mediated killing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2018;115:7416-7421.

4-Gallo PM, Rapsinski GJ, Wilson RP, et al. Amyloid-DNA Composites of Bacterial Biofilms Stimulate Autoimmunity. *Immunity* 2015;42:1171-84

5-Berthelot JM, Wendling D. Translocation of dead or alive bacteria from mucosa to joints and epiphyseal bone-marrow: facts and hypotheses. *Joint Bone Spine*. 2020;87:31-36.

6-Dastgheyb S, Parvizi J, Shapiro IM, Hickok NJ, Otto M. Effect of biofilms on recalcitrance of staphylococcal joint infection to antibiotic treatment. *J Infect Dis*. 2015;211:641-50.

7-Alain K, Querellou J. Cultivating the uncultured: limits, advances and future challenges. *Extremophiles*. 2009;13:583–594. doi: 10.1007/s00792-009-0261-3

8-Novotny LA, Jurcisek JA, Goodman SD, Bakaletz LO. Monoclonal antibodies against DNA-binding tips of DNABII proteins disrupt biofilms in vitro and induce bacterial clearance in vivo. *EBio Medicine* 2016;10:33-44

9-Masters EA, Trombetta RP, de Mesy et al. Evolving concepts in bone infection: redefining "biofilm", "acute vs. chronic osteomyelitis", "the immune proteome" and "local antibiotic therapy". Bone Res. 2019 ;7:20. doi: 10.1038/s41413-019-0061-z. eCollection 2019. Review.

10-Chihara K, Matsumoto S, Kagawa Y, Tsuneda S. Mathematical modeling of dormant cell formation in growing biofilm. Front Microbiol 2015;6:534

11-Ma H, Bryers JD. Non-invasive determination of conjugative transfer of plasmids bearing antibiotic-resistance genes in biofilm-bound bacteria: effects of substrate loading and antibiotic selection. Appl Microbiol Biotechnol. 2013;97:317-28.

12-Rosen DA, Hooton TM, Stamm WE, Humphrey PA, Hultgren SJ. Detection of intracellular bacterial communities in human urinary tract infection. PLoS Med. 2007;4:e329.

13-Audoly G, Fenollar F, Lagier JC, Lepidi H, Raoult D. Deglycosylation of *Tropheryma whippelii* biofilm and discrepancies between diagnostic results during Whipple's disease progression. Sci Rep. 2016;6:23883. doi: 10.1038/srep23883.

14-Dubus M, Varin J, Papa S, et al. Interaction of *Cutibacterium acnes* with human bone marrow derived mesenchymal stem cells: a step toward understanding bone implant-associated infection development. Acta Biomater. 2020;104:124-134.

15-Fatima S, Kamble SS, Dwivedi VP, et al. *Mycobacterium tuberculosis* programs mesenchymal stem cells to establish dormancy and persistence. J Clin Invest. 2020;130:655-661

16-Bartley J. Vitamin D: emerging roles in infection and immunity. Expert Rev Anti Infect Ther 2010;8:1359-69.

17-Berthelot JM, Le Goff B, Neel A, Maugars Y, Hamidou M. NETosis: At the crossroads of rheumatoid arthritis, lupus, and vasculitis. *Joint Bone Spine*. 2017;84:255-262

18-Gahukamble AD, McDowell A, Post V, et al. *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus lugdunensis* cause pyogenic osteomyelitis in an intramedullary nail model in rabbits. *J Clin Microbiol*. 2014;52:1595-606

19-França A, Pier GB, Vilanova M, Cerca N. *Staphylococcus epidermidis* Biofilm-Released Cells Induce a Prompt and More Marked In vivo Inflammatory-Type Response than Planktonic or Biofilm Cells. *Front Microbiol*. 2016;7:1143

20-Qiu CC, Caricchio R, Gallucci S. Triggers of Autoimmunity: The Role of Bacterial Infections in the Extracellular Exposure of Lupus Nuclear Autoantigens. *Front Immunol*. 2019;10:2608. doi: 10.3389/fimmu.2019.02608. eCollection 2019. Review.

21-Nicastro L, Tükel Ç. Bacterial Amyloids: The Link between Bacterial Infections and Autoimmunity. *Trends Microbiol*. 2019;27:954-963. doi: 10.1016/j.tim.2019.07.002. Epub 2019 Aug 15. Review.

22-Duarte AC, Porter J, Leandro MJ. Bronchiectasis in rheumatoid arthritis. A clinical appraisal. *Joint Bone Spine* 2020 Jan 30. pii: S1297-319X(20)30010-5. doi: 10.1016/j.jbspin.2019.12.006. [Epub ahead of print]

23-Ancuța C, Pomîrleanu C, Mihailov C, et al. Efficacy of baricitinib on periodontal inflammation in patients with rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine*. 2020 Jan 18. pii: S1297-319X(20)30003-8. doi: 10.1016/j.jbspin.2019.12.003.

24-Ceccarelli F, Orrù G, Pilloni A, et al. Porphyromonas gingivalis in the tongue biofilm is associated with clinical outcome in rheumatoid arthritis patients. Clin Exp Immunol. 2018;194:244-252.

25-Salem F, Kindt N, Marchesi JR, et al. Gut microbiome in chronic rheumatic and inflammatory bowel diseases: Similarities and differences. United European Gastroenterol J. 2019;7:1008-1032

26-Manfredo Vieira S, Hiltensperger M, Kumar V, et al. Translocation of a gut pathobiont drives autoimmunity in mice and humans. Science. 2018;359:1156-1161.

27-Lou H, Pickering MC. Extracellular DNA and autoimmune diseases. Cell Mol Immunol 2018;15:746-55.

28-Schrøder SA, Eickhardt S, Bjarnsholt T, Nørgaard T, Homøe P. Morphological evidence of biofilm in chronic obstructive sialadenitis. J Laryngol Otol. 2018;132:611-614.

29-Buret AG, Motta JP, Allain T, Ferraz J, Wallace JL. Pathobiont release from dysbiotic gut microbiota biofilms in intestinal inflammatory diseases: a role for iron? J Biomed Sci. 2019 ;26:1. doi: 10.1186/s12929-018-0495-4.

30-Jones RB, Zhu X, Moan E, et al. Inter-niche and inter-individual variation in gut microbial community assessment using stool, rectal swab, and mucosal samples. Sci Rep. 2018;8:4139. doi: 10.1038/s41598-018-22408-4.

31-Gray DA, Dugar G, Gamba P, Strahl H, Jonker MJ, Hamoen LW. Extreme slow growth as alternative strategy to survive deep starvation in bacteria. Nat Commun. 2019;10:890. doi: 10.1038/s41467-019-08719-8.

32-Damgaard C, Magnussen K, Enevold C, et al. Viable bacteria associated with red blood cells and plasma in freshly drawn blood donations. PLoS One 2015 10:e0120826. doi: 10.1371/journal.pone.0120826

33-Whittle E, Leonard MO, Harrison R, Gant TW, Tonge DP. Multi-method characterization of the human circulating microbiome. Front Microbiol. 2019;9:3266. doi: 10.3389/fmicb.2018.03266. eCollection 2018.

34-Valour F, Rasigade JP, Trouillet-Assant S, et al. Delta-toxin production deficiency in *Staphylococcus aureus*: a diagnostic marker of bone and joint infection chronicity linked with osteoblast invasion and biofilm formation. Clin Microbiol Infect. 2015;21:568.e1-11. doi: 10.1016/j.cmi.2015.01.026. Epub 2015 Feb 10.

35-Perez K, Perez K, Patel R. Survival of *Staphylococcus epidermidis* in fibroblasts and osteoblasts. Infect Immunity 2018;86: pii: e00237-18.

36-Ibberson CB, Parlet CP, Kwiecinski J, Crosby HA, Meyerholz DK, Horswill AR. Hyaluronan Modulation Impacts *Staphylococcus aureus* Biofilm Infection. Infect Immun. 2016;84:1917-1929

37-Tasse J, Trouillet-Assant S, Josse J, et al. Association between biofilm formation phenotype and clonal lineage in *Staphylococcus aureus* strains from bone and joint infections. PLoS One. 2018;13:e0200064

38-Lopes SP, Azevedo NF, Pereira MO. Quantitative assessment of individual populations within polymicrobial biofilms. Sci Rep 2018;8:9494.

39-Thomin J, Aubin GG, Foubert F, Corvec S. Assessment of four protocols for rapid bacterial identification from positive blood culture pellets by matrix-assisted laser desorption

ionization-time of flight mass spectrometry (Vitek[®] MS). J Microbiol Methods. 2015;115:54-6.

40-Palmer MP, Melton-Kreft R, Nistico L, et al. Polymerase Chain Reaction–Electrospray–Time-of-Flight Mass Spectrometry Versus Culture for Bacterial Detection in Septic Arthritis and Osteoarthritis. Genet Test Mol Biomarkers. 2016;20:721–731

41-Lallemant E, Arvieux C, Coiffier G, et al. Use of MALDI-TOF mass spectrometry after liquid enrichment (BD Bactec™) for rapid diagnosis of bone and joint infections. Res Microbiol 2017;168:122-9.

42-Tasse J, Croisier D, Badel-Berchoux S, et al. Preliminary results of a new antibiotic susceptibility test against biofilm installation in device-associated infections: the Antibiofilmogram[®]. Pathog Dis 2016;74: pii: ftw057.

43-Coiffier G, Albert JD, Arvieux C, Guggenbuhl P. Optimizing combination rifampin therapy for staphylococcal osteoarticular infections. Joint Bone Spine 2013; 80: 11-7

44-Jacqueline C, Caillon J. Impact of bacterial biofilm on the treatment of prosthetic joint infections. J Antimicrob Chemother 2014; 69 Suppl 1: i37–i40

45-Mandell JB, Orr S, Koch J, et al. Large variations in clinical antibiotic activity against *Staphylococcus aureus* biofilms of periprosthetic joint infection isolates. J Orthop Res 2019;37:1604-9.

46-Gilbertie JM, Schnabel LV, Hickok NJ, et al. Equine or porcine synovial fluid as a novel ex vivo model for the study of bacterial free-floating biofilms that form in human joint infections. PLoS One 2019; 14: 8: e0221012

47-Sultana S, Dey R, Bishayi B. Role of plasminogen activator inhibitor - 1 (PAI-1) in regulating the pathogenesis of *S. aureus* arthritis via plasminogen pathway. *Immunol Letter* 2019;209:53-66.

48-Ozcamdalli M, Misir A, Kizkapan TB, Uzun E, Duygulu F, Yazici C, Kafadar IH. Comparison of Intra-articular Injection of Hyaluronic Acid and N-Acetyl Cysteine in the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Pilot Study. *Cartilage* 2017;8:384-90. doi: 10.1177/1947603516675915. Epub 2016 Nov 29

49-Gilbertie JM, Schaer TP, Schubert AG, et al. Platelet-rich plasma lysate displays antibiofilm properties and restores antimicrobial activity against synovial fluid biofilms in vitro. *J Orthop Res* 2020; Jan 10. doi: 10.1002/jor.24584. [Epub ahead of print]

50-Roy R, Tiwari M, Donelli G, Tiwari V. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. *Virulence*. 2018;9:522-554.

51-Campbell M, Zhao W, Fathi R, Mihreteab M, Gilbert ES. *Rhamnus prinoides* (gesho): A source of diverse anti-biofilm activity. *J Ethnopharmacol*. 2019;241:111955. doi: 10.1016/j.jep.2019.111955. Epub 2019 May 16.

52-AbdelKhalek A, Abutaleb NS, Elmagarmid KA, Seleem MN. Repurposing auranofin as an intestinal decolonizing agent for vancomycin-resistant enterococci *Sci Rep*. 2018;8:8353. doi: 10.1038/s41598-018-26674-0.

53-Díez-Martínez R, García-Fernández E, Manzano M, et al. Auranofin-loaded nanoparticles as a new therapeutic tool to fight streptococcal infections. *Sci Rep*. 2016;6:19525. doi: 10.1038/srep19525.

54-Aguinagalde L, Díez-Martínez R, Yuste J, et al. Auranofin efficacy against MDR *Streptococcus pneumoniae* and *Staphylococcus aureus* infections. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70:2608-17.

55-Thangamani S, Maland M, Mohammad H, et al. Repurposing Approach Identifies Auranofin with Broad Spectrum Antifungal Activity That Targets Mia40-Erv1 Pathway. *Front Cell Infect Microbiol.* 2017;7:4

56-Berthelot JM, Sibilia J. Trained Immunity and Autoimmune Disease: Did Eve Sin before Adam? *Joint Bone Spine.* 2019;86:293-295

57-Berthelot JM, Puéchal X. Impaired intracellular pathogen clearance and inflammatory joint disease: Is Whipple's disease a guiding light? *Joint Bone Spine.* 2018;85:531-536

58-Tsumiyama K, Shiozawa S. Induction of de novo autoimmune disease in normal mice upon repeated immunization with antigen. *Methods Mol Biol.* 2014;1142:85-90.

59-Laurence M, Asquith M, Rosenbaum JT. Spondyloarthritis, acute anterior uveitis, and fungi: updating the catterall-king hypothesis. *Front Med (Lausanne).* 2018;5:80. doi: 10.3389/fmed.2018.00080. eCollection 2018.

60-Boissier MC, Biton J, Semerano L, Decker P, Bessis N. Origins of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine* 2019 Dec 5. pii: S1297-319X(19)30175-7. doi: 10.1016/j.jbspin.2019.11.009.

[Epub ahead of print]

figure 1: Différentes étapes de la création puis du délitement d'un biofilm

Dans un premier temps des bactéries planctoniques, s'attachent à un tissu (ou à d'autres bactéries pour les biofilms se formant dans les liquides) ; il peut s'agir d'une même espèce de microorganismes ou de plusieurs, voire d'une co-habitation de bactéries et de levures (1) ;

La cohésion entre ces microorganismes est renforcée par l'établissement de liens physiques entre-elles, au moyen de pili : ces bactéries (et/ou levures) ne se répliquent alors plus que lentement ou pas, certaines pouvant même rentrer en phase de 'dormance' (2) ;

Les microorganismes synthétisent ensuite une gangue de polysaccharide, dont la nature varie selon les bactéries et/ou levures, qui isolent les bactéries des cellules de la réponse immune et des anticorps (3) ;

Simultanément, la matrice est renforcée par de l'ADN bactérien (et/ou fongique) qui peut se structurer en feuillets plissés et résistants, via sa liaison à diverses molécules amyloïdes d'origine également bactérienne (dont les Curli des entérobactéries) (4) ;

Après quelques semaines ou mois, le biofilm peut se déliter sous l'influence de certaines toxines bactériennes, rendant le biofilm vulnérable à la phagocytose par les macrophages, mais permettant à certaines bactéries restées ou redevenues planctoniques d'aller migrer dans d'autres sites (au substrat non appauvri) pour créer de nouveaux biofilms (5).

