

Biofilms en réseaux de distribution d'eau potable

Tony PARIS

tony.paris@ensem.inpl-nancy.fr

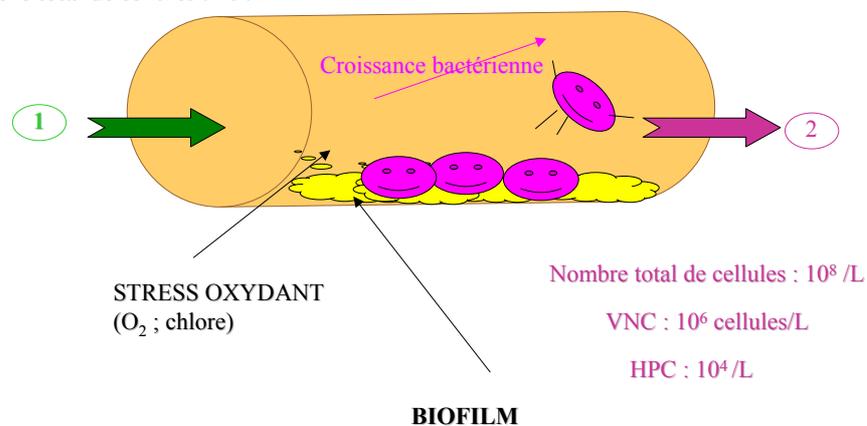
1. LEMTA – UMR 7563, Nancy Université - CNRS
2. LCPME – UMR 7564, Nancy Université – CNRS
3. NanCIE – Centre International de l'Eau de Nancy

17 Octobre 2007

Limoges

Réseau de distribution d'eau potable

COD : 1 to 5 mg/L
 CODB : 30% DOC } Milieu oligotrophe
 Nombre total de cellules : $10^7/L$



VNC : Viables Non Cultivables HPC : Cultivables



Qu'est-ce qu'un biofilm ?

- Communauté microbienne adhérant à une surface via une matrice de polymères extracellulaires
- En réseaux d'eau potable, surface rugueuse, tubercules de corrosion, dépôts minéraux,...
- ➔ Biofilms très hétérogènes, loin de la notion de « film » uniforme



Comment décrire un biofilm d'eau potable?

Quelques paramètres :

- Densité bactérienne (Nombre de microorganismes/cm²)
- Épaisseur
- Surface couverte
- Structure (Répartition de la biomasse)
- Composition phylogénétique

Densité bactérienne en biofilm d'eau potable



- 10^4 à 10^7 cellules.cm⁻²
- Varie en fonction de l'âge, du matériaux, des conditions hydrodynamiques, des caractéristiques de l'eau, ...

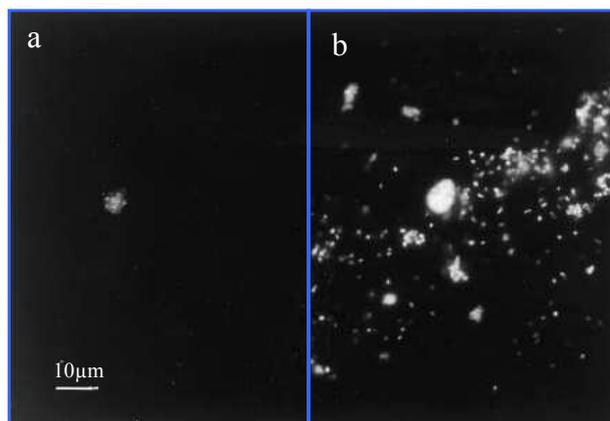
Densité bactérienne en biofilm d'eau potable



Auteurs	Nombre total de bactéries (bactéries.cm ⁻²)	Age du biofilm	Vitesse de circulation (m.s ⁻¹)	Matériau support	Température de l'eau (°C)
Boe-Hansen et al. (2002)	$2,2 \cdot 10^6$	385 jours	0,07	Acier Inox	13
Batté et al. (2003)	$3 \cdot 10^7$	16 semaines	0,6	Polycarbonate	20
Langmark et al. (2005)	$1 \cdot 10^4$ à $2 \cdot 10^5$	8 semaines	≈ 0	Verre	5 à 8
Percival et al. (1998)	$4,8 \cdot 10^5$ à $6,8 \cdot 10^4$	5 mois	0,32 à 1,75	Acier Inox	15
Sibille et al. (1998)	$7,1 \cdot 10^6$ à $4,3 \cdot 10^7$	2 mois	1	PVC	22
Pedersen (1990)	$4,9 \cdot 10^6$	167 jours	0,1	PVC Acier Inox	–
Kalmbach et al. (1997)	$5,9 \cdot 10^5$ $1,5 \cdot 10^6$	70 jours	≈ 0	Verre Polyéthylène	9 à 15

Épaisseur, surface couverte, structure

Biofilm d'eau potable sur polyéthylène



Kalmbach et *al.* (1997) Observation d'un biofilm de 33 jours sur polyéthylène. a. Hybridation in situ avec la sonde LEG 705. b. Coloration DAPI.

➤ 41% de la population bactérienne consommés par les amibes



Biofilm d'eau potable sur verre et acier inox



➤ Langmark *et al.* (2005)

sur verre, biofilm constitué de cellules isolées sur la surface et d'agrégats complexes dont l'épaisseur ne dépassait pas 10 μm .

➤ Percival *et al.* (1998)

sur acier inox, après 24 mois, présence de microcolonies constituées de bactéries en bâtonnet, de bactéries filamenteuses et de diatomées.



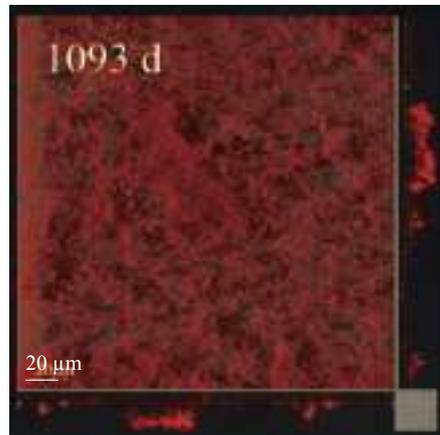
Biofilm d'eau potable vu par microscopie confocale



➤ Martiny *et al.* (2003) : 3 stades de développement :

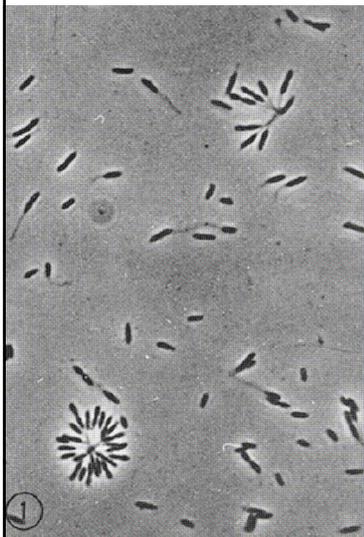
- 1 - 94 jours : cellules isolées, 41% de surface couverte
- 94 - 700 jours : microcolonies, épaisseur : 30 μm
- > 700 jours : structure morcelée, épaisseur : 15 μm , 76 % couverture de surface

Structure d'un biofilm « mature »



Martiny *et al.* (2003) Observation en microscopie confocale d'un biofilm âgé de 3 ans.

Influence de l'hydrodynamique lors de la formation du biofilm



➤ Percival *et al.* (1998) :

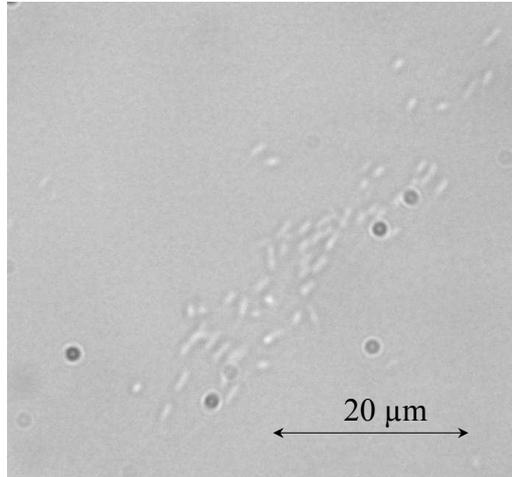
- Moins de microorganismes à $0,32 \text{ m.s}^{-1}$ comparé à $0,96$ et $1,75 \text{ m.s}^{-1}$ ($3,2 \cdot 10^3$ contre $2,4 \cdot 10^5$) au cours du 1^{er} mois
- Plus de bactéries filamenteuses à vitesse élevée
- Présence de bactéries à prostheca (*Caulobacter*)

Stove et Cohen-Bazire (1964)

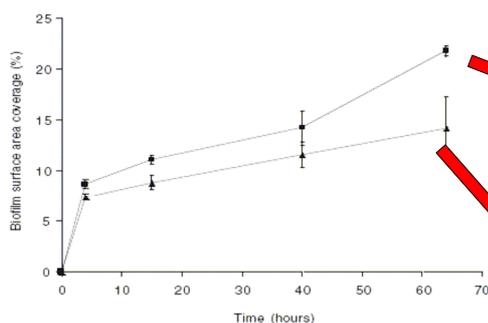
Caulobacter bacteroides X 2000

Caulobacter : une bactérie pionnière

- Très grande capacité d'adhésion ($70 \text{ N}\cdot\text{mm}^{-2}$) (Hopkin, 2006)
- Très présentes dans les chambres 3 et 4 (gradient de cisaillement pariétal élevé)
- Proportionnellement moins représentées au fur et à mesure de la maturation du biofilm

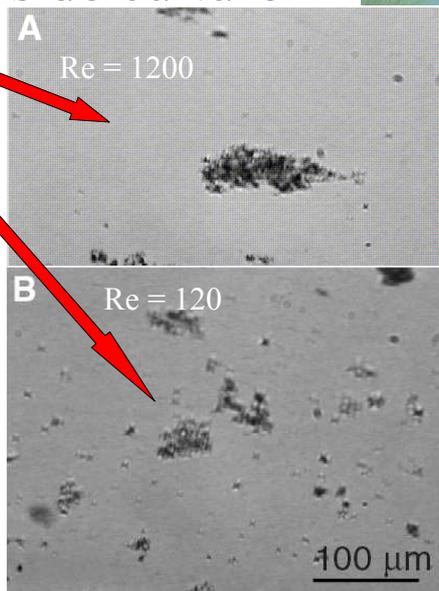


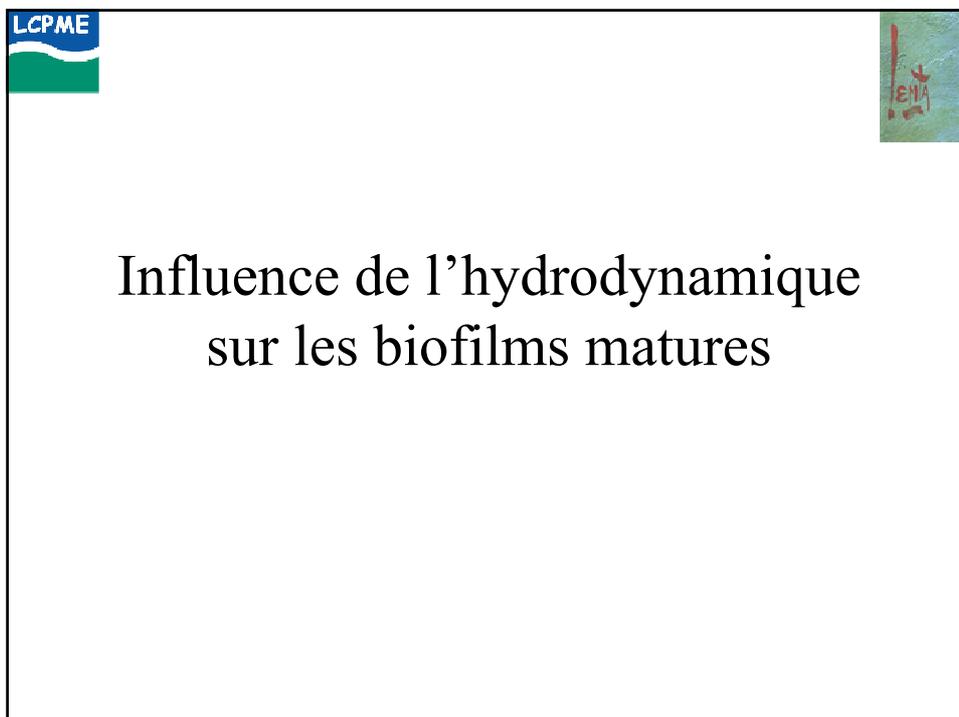
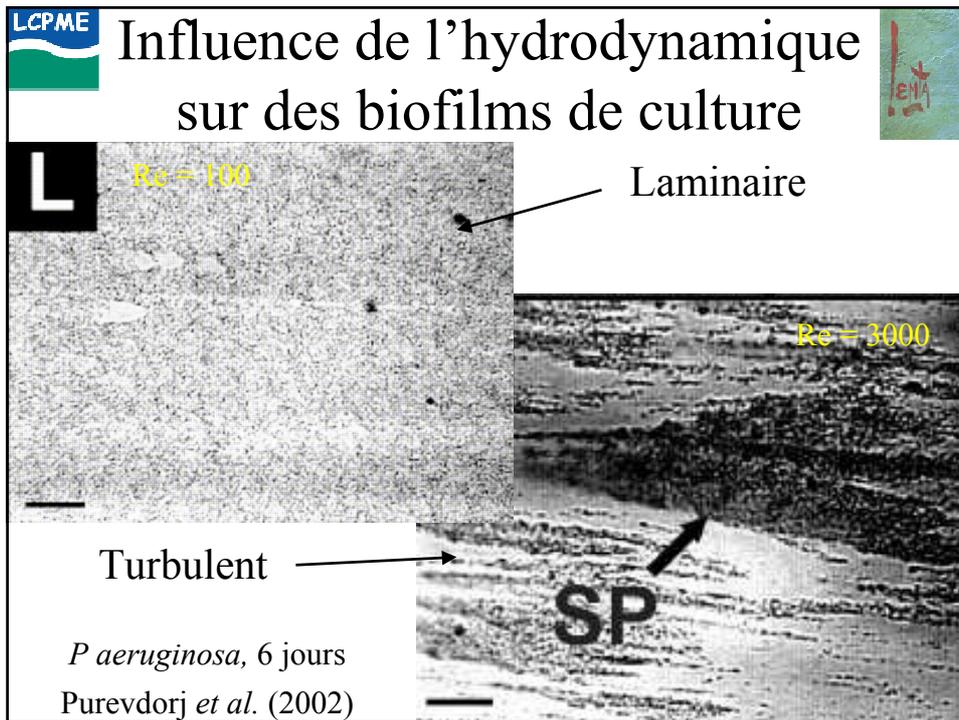
Influence de l'hydrodynamique sur des biofilms de culture

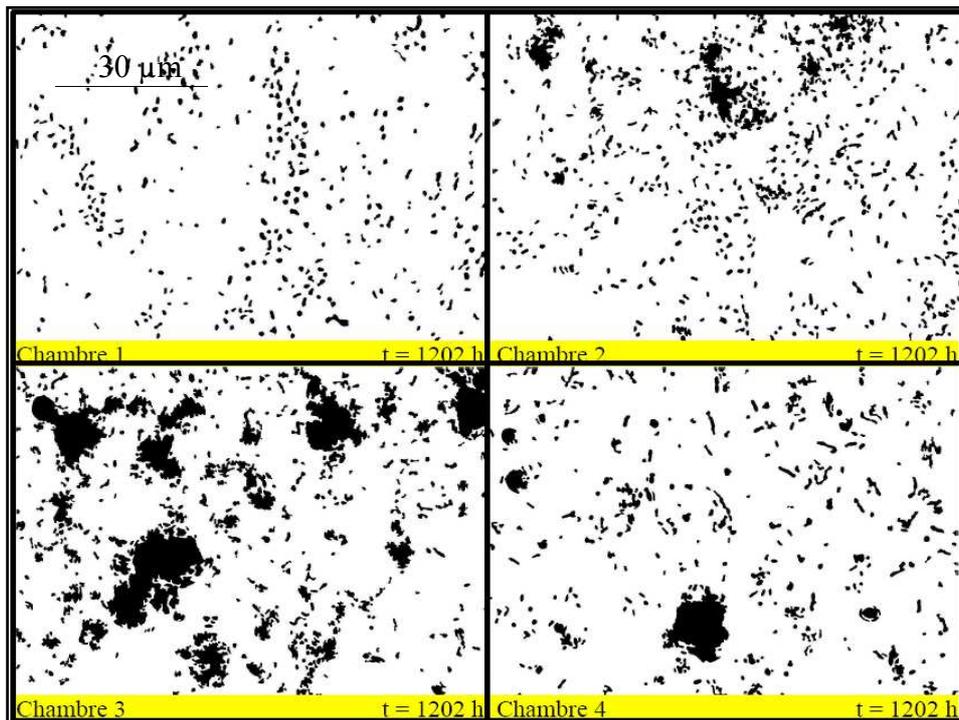


- Surface couverte supérieure sous fort gradient de vitesse pariétal.
- Agrégats de formes différentes
- Impossibilité de faire la part de la multiplication cellulaire et du dépôt.

Dunsmore *et al.* (2002)







LCPME

Conclusion : structure du biofilm

- Biofilm d'eau potable = structure fine (10 à quelques dizaines de μm) et dispersée, constituée de bactéries isolées et d'agrégats, soumise à une prédation par des protozoaires.
- L'hydrodynamique semble influencer la densité bactérienne pendant la formation initiale (1^{er} mois).



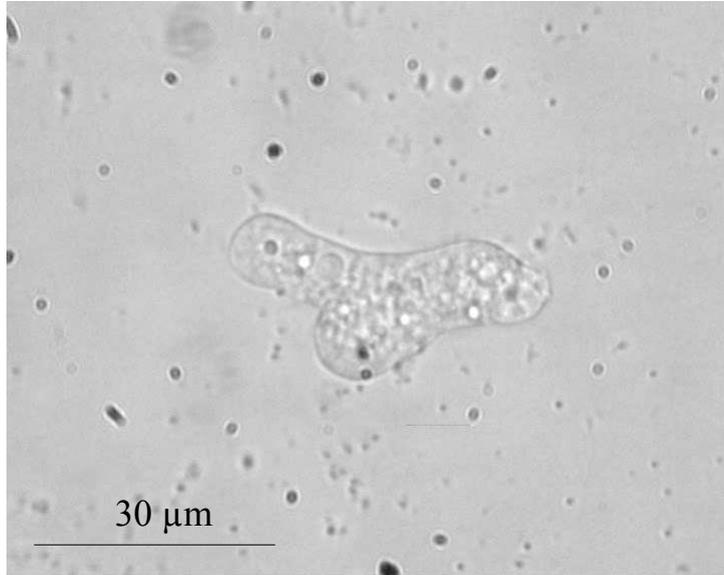
Composition phylogénétique

- Très grande diversité d'espèces
- Faible cultivabilité (0,1 à 1 % sur gélose R2A)
- Identification de la communauté bactérienne par extraction de l'ADN
- Groupes majoritaires : *Proteobacteria* (α, β, γ) et *Actinobacteria*.
- Genres majoritaires : *Pseudomonas*, *Caulobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*,...

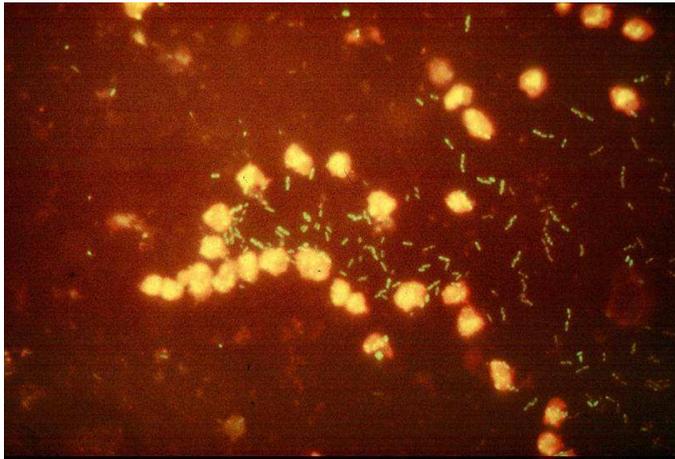
Martiny *et al.*, 2005. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(12),8611-8617.



Un peu de la diversité des biofilms d'eau potable



Détection directe d'amibes dans des biofilms

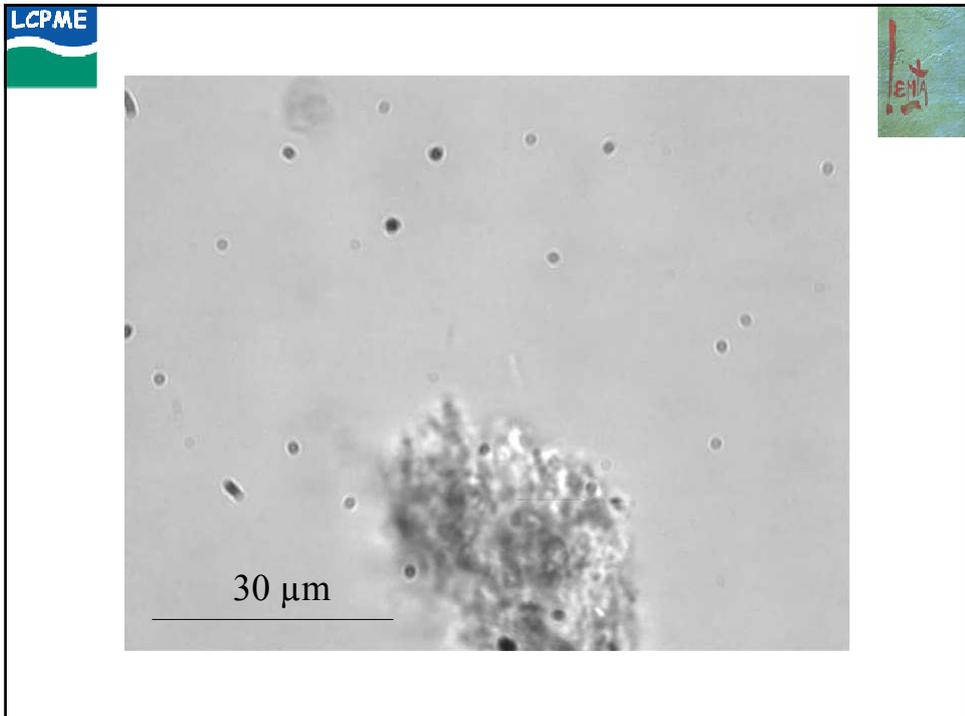
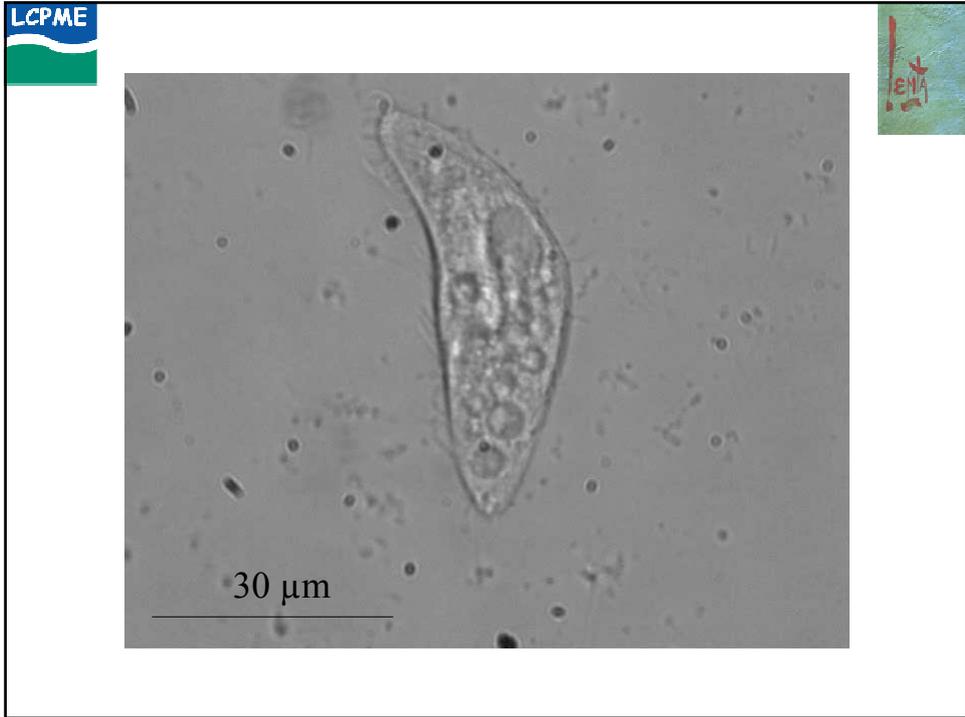


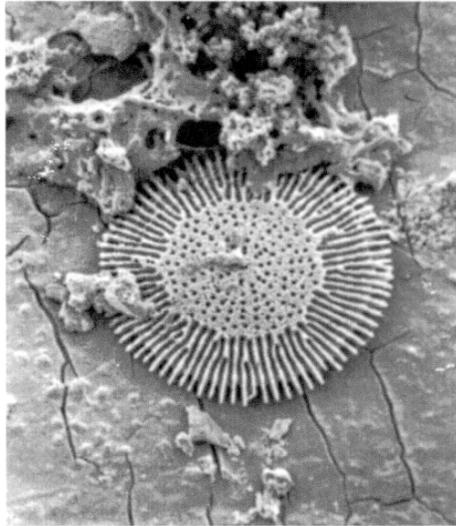
Front de prédation amibien visualisé par FISH

Jaune : Amibes

Vert: Bacteries

(U. Szewzyk, TU Berlin)





Diatomée associée à la surface en eau potable
(Percival *et al.* 2000)



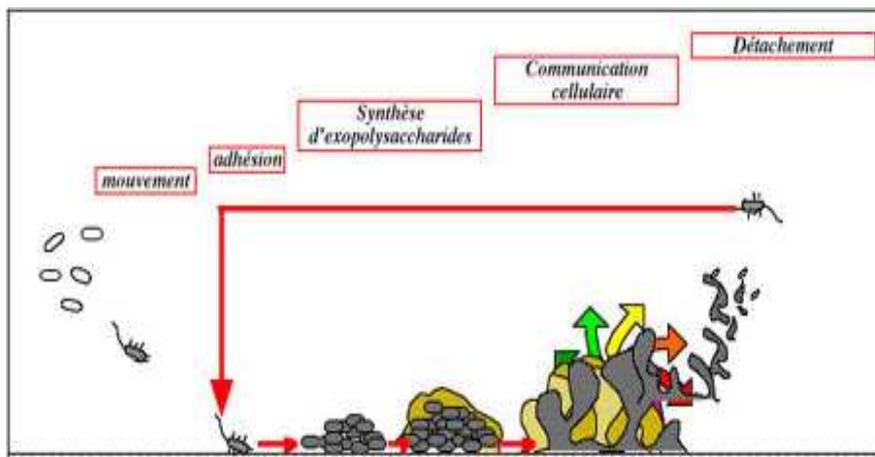
Les différentes phases de
formation d'un biofilm en réseau
de distribution d'eau potable

Pourquoi les biofilms se forment-ils ?



- Disponibilité des nutriments : le flux de nutriments vers une bactérie fixée est supérieur à celui vers une bactérie planctonique
- Recherche d'un environnement plus favorable : protection vis à vis des biocides, de la prédation par les protozoaires,...

Etapas de formation du biofilm

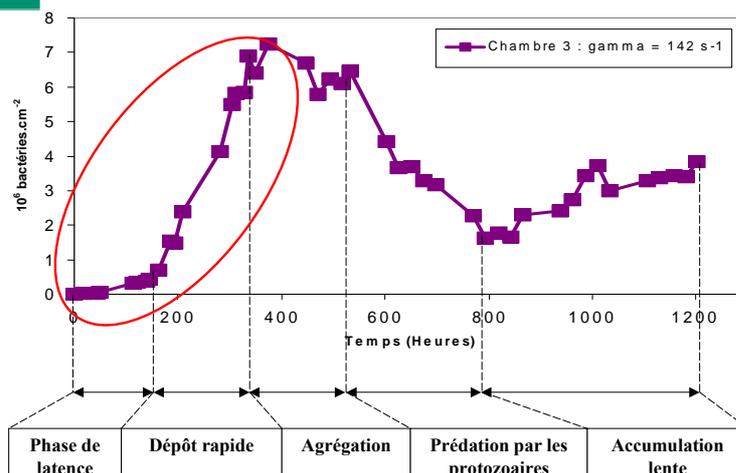


Transport/Adhésion

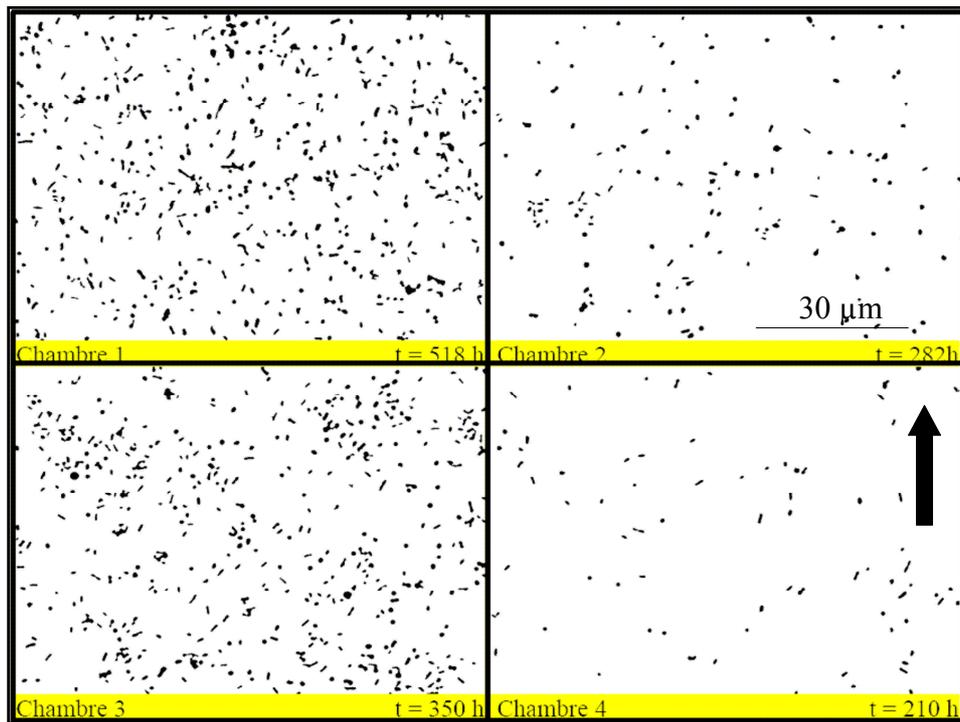
- Formation du film conditionnant sur la surface par les molécules organiques présentes dans l'eau
- Transport : Diffusion, convection, mobilité propre
- Adhésion « réversible » : interactions électrostatiques
- Adhésion « irréversible » : excréments d'exopolymères

Bos *et al.*, 1999. *FEMS Microbiol. Rev.*, 23,179-230.

Dépôt initial du biofilm



- La formation du biofilm est majoritairement le fruit du transport diffusif des bactéries vers la paroi.

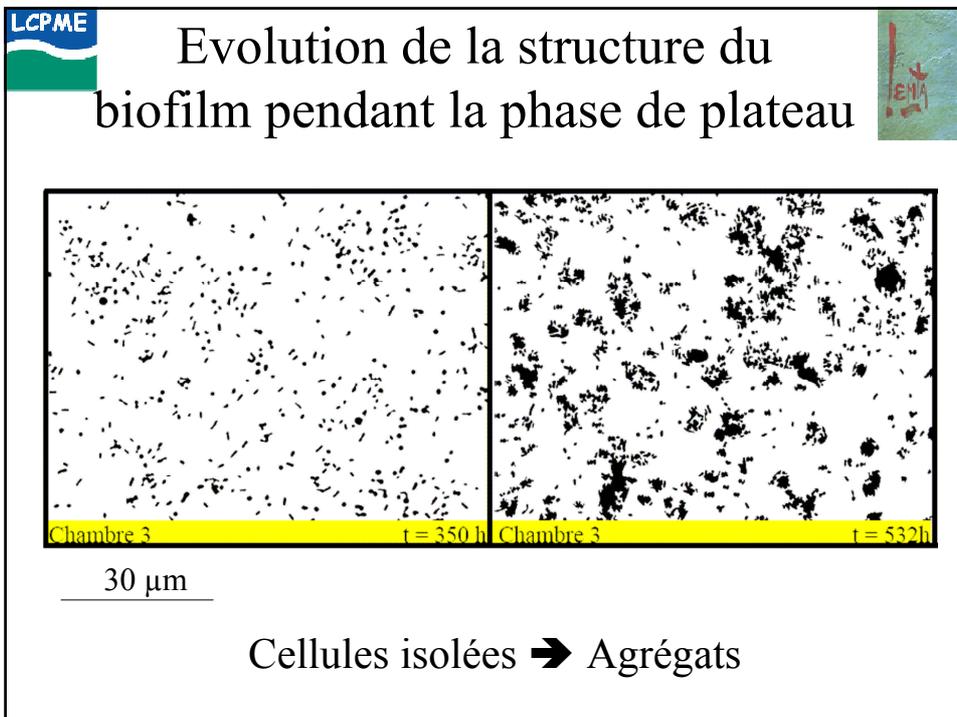
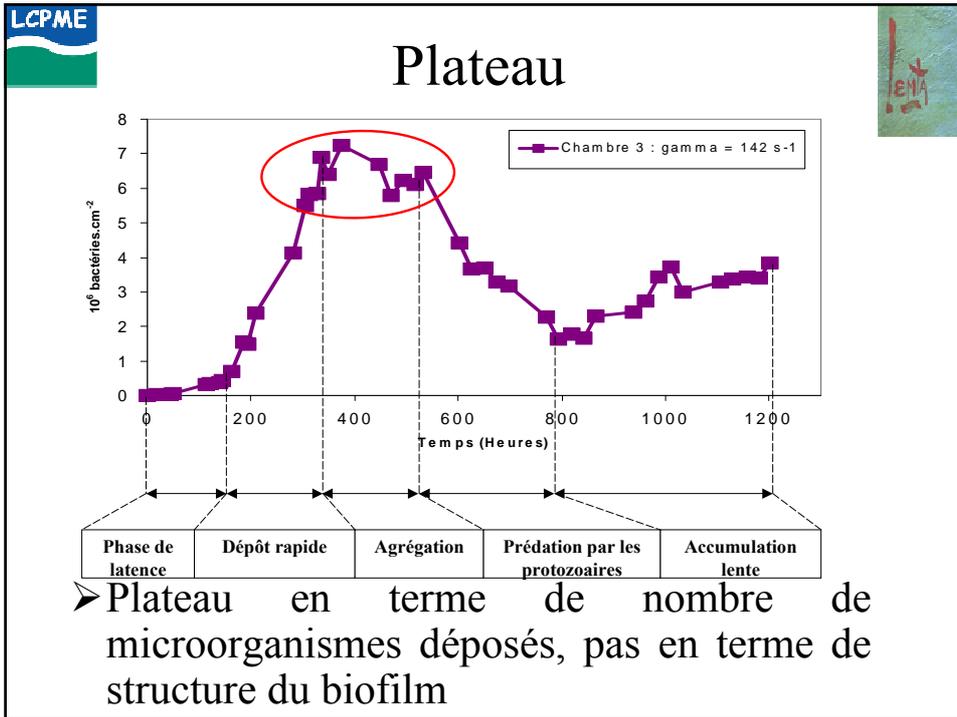


LCPME

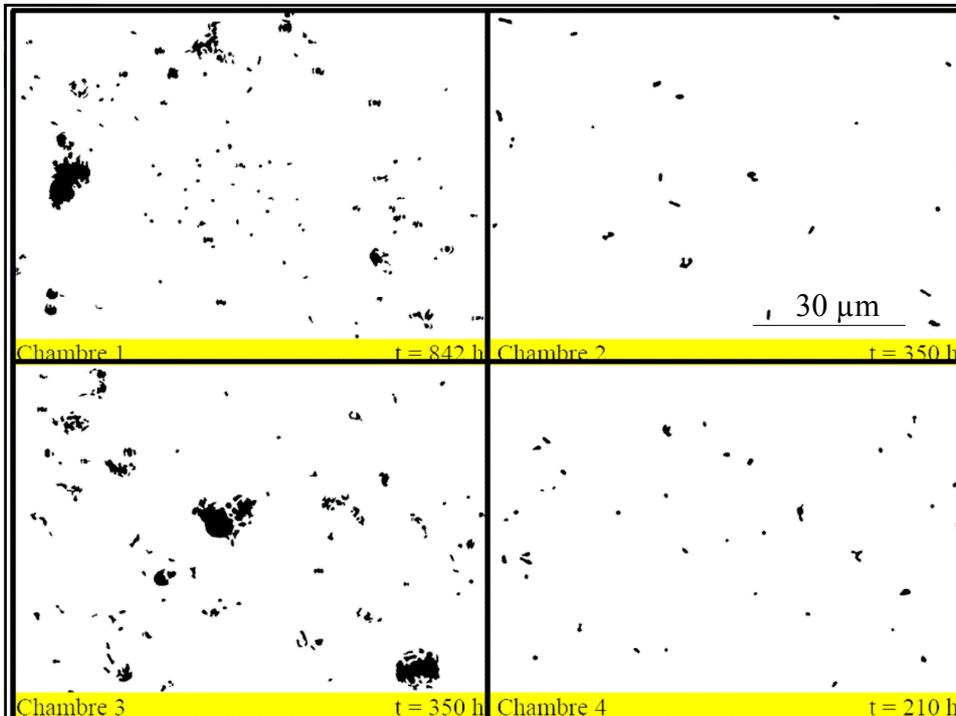
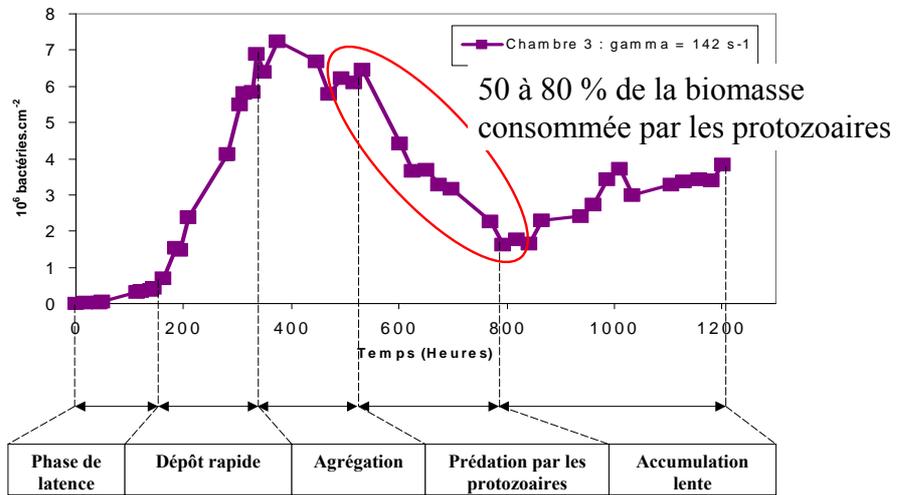
Dépôt initial du biofilm

- Aux termes de cette phase, quelques soient les conditions, le biofilm est constitué très majoritairement de cellules isolées

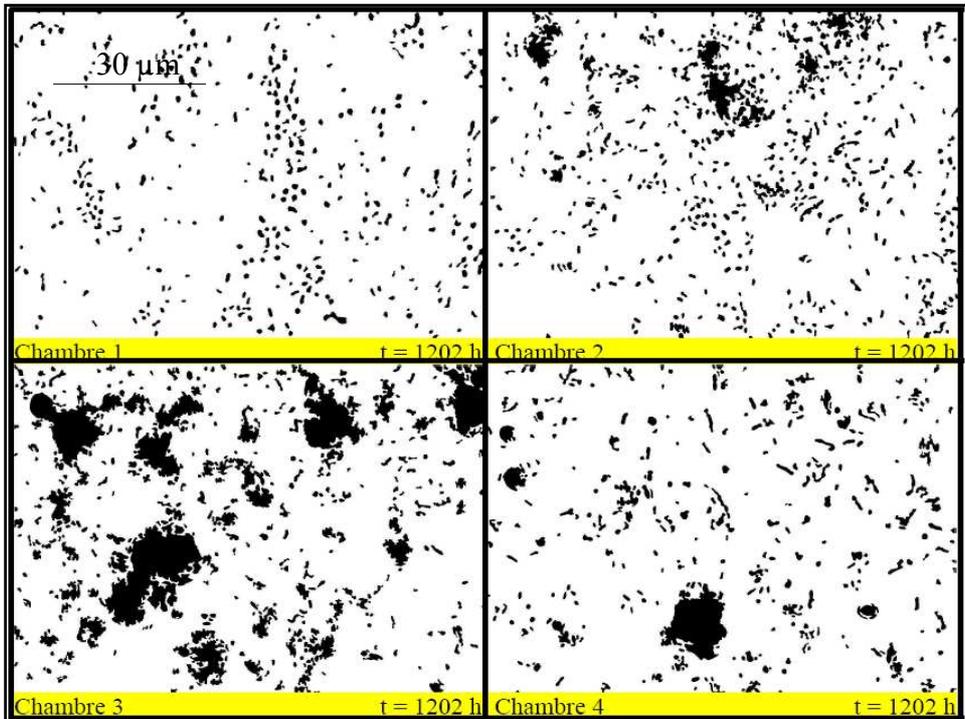
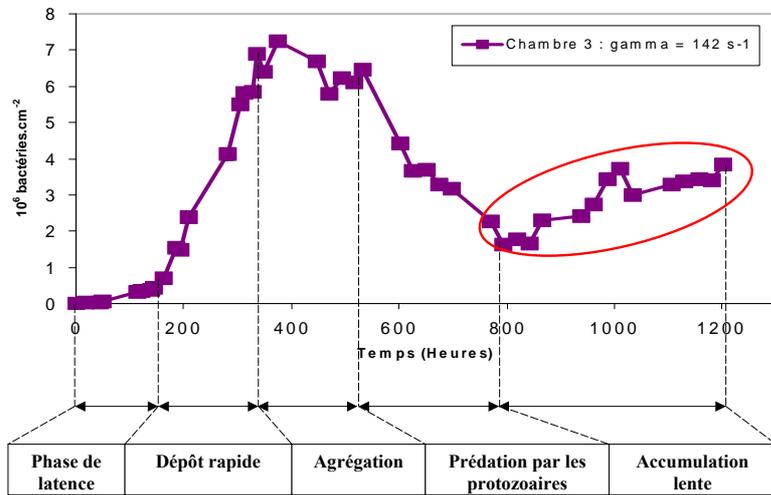
➔ Faible multiplication cellulaire

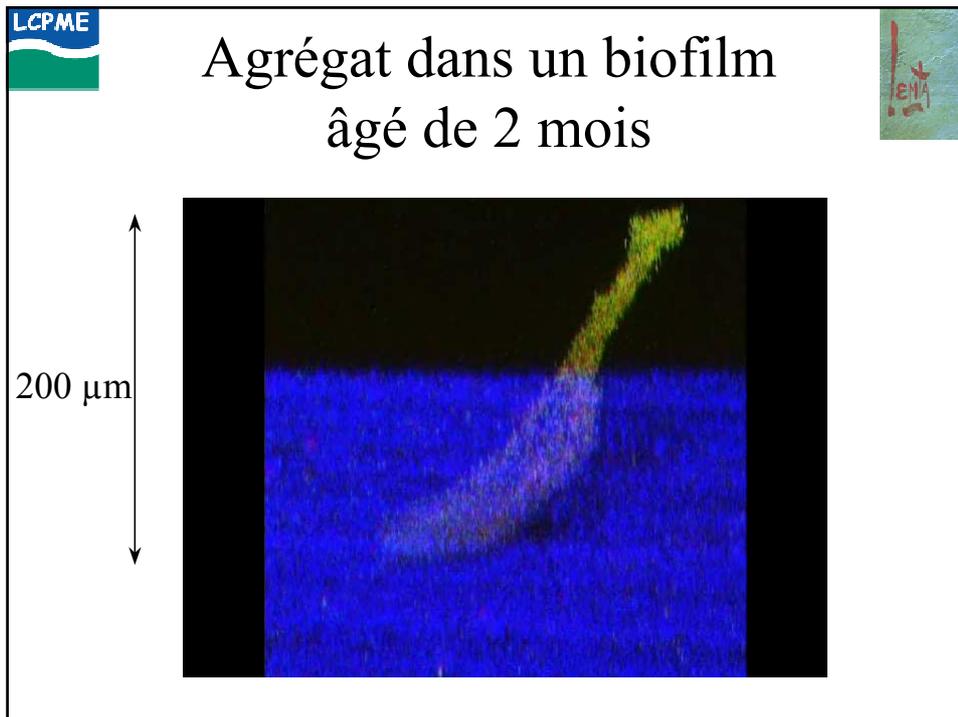


Prédation par les amibes



Structuration du biofilm





LCPME

Faut-il avoir peur des biofilms ?

EMA

Oui : niche pour d'autres μ organismes dont les amibes

Peu de moyens d'actions : actions répétées
matériaux ?

- limiter la corrosion
- Désinfection discontinue
- Utiliser une eau « propre » (peu de nutriments,...)
- Tuer les amibes ? (adaptation)
- Vérifier efficacité des actions