

# Biofilms en réseaux de distribution d'eau potable

Tony PARIS

tony.paris@ensem.inpl-nancy.fr

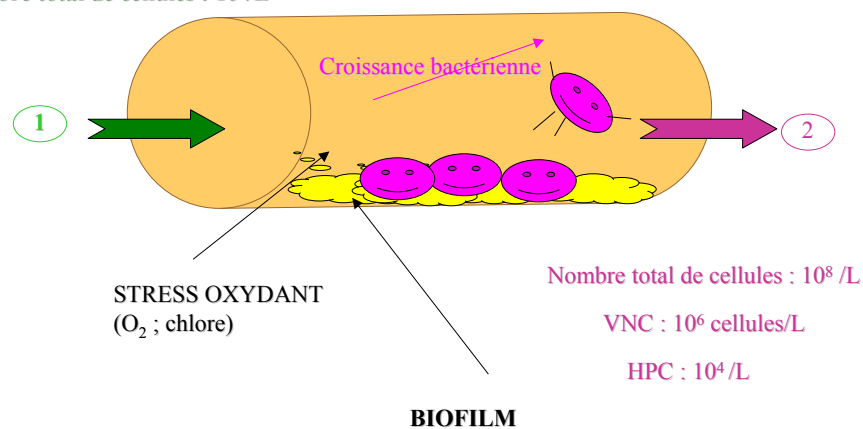
- 1. LEMTA – UMR 7563, Nancy Université - CNRS
- 2. LCPME – UMR 7564, Nancy Université – CNRS
- 3. NanCIE – Centre International de l'Eau de Nancy

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/cm<sup>2</sup>)
- Épaisseur
- Surface couverte
- Structure (Répartition de la biomasse)
- Composition phylogénétique

## Densité bactérienne en biofilm d'eau potable



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

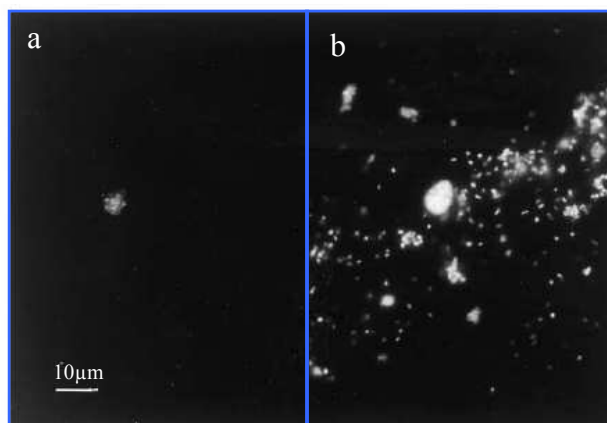
## Densité bactérienne en biofilm d'eau potable



Auteurs	Nombre total de bactéries (bactéries.cm <sup>-2</sup> )	Age du biofilm	Vitesse de circulation (m.s <sup>-1</sup> )	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  $\mu\text{m}$ .

➤ Percival *et al.* (1998)

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



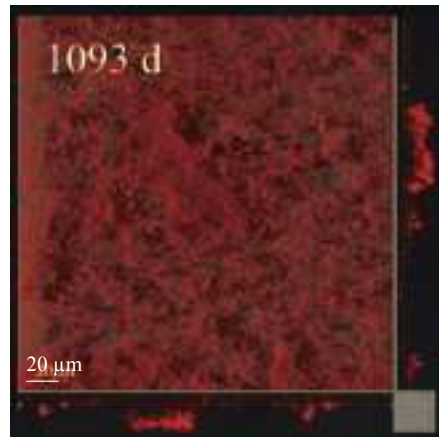
## Biofilm d'eau potable vu par microscopie confocale



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

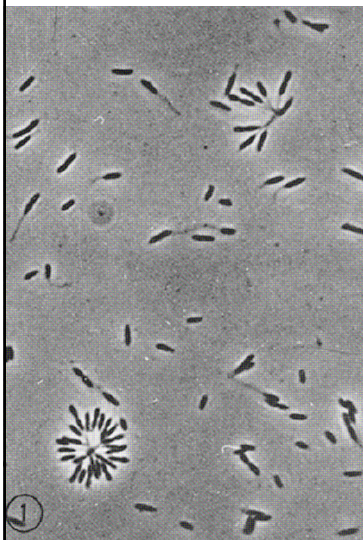
- 1 - 94 jours : cellules isolées, 41% de surface couverte
- 94 - 700 jours : microcolonies, épaisseur : 30  $\mu\text{m}$
- > 700 jours : structure morcelée, épaisseur : 15  $\mu\text{m}$ , 76 % couverture de surface

## 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) :

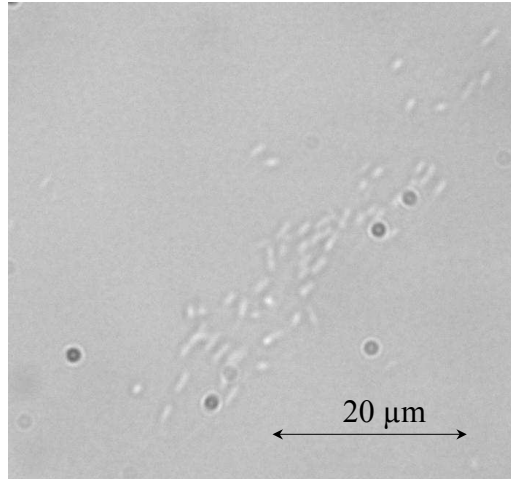
- Moins de microorganismes à  $0,32 \text{ m.s}^{-1}$  comparé à  $0,96$  et  $1,75 \text{ m.s}^{-1}$  ( $3,2 \cdot 10^3$  contre  $2,4 \cdot 10^5$ ) au cours du 1<sup>er</sup> mois
- Plus de bactéries filamenteuses à vitesse élevée
- Présence de bactéries à prostheca (*Caulobacter*)

Stove et Cohen-Bazire (1964)

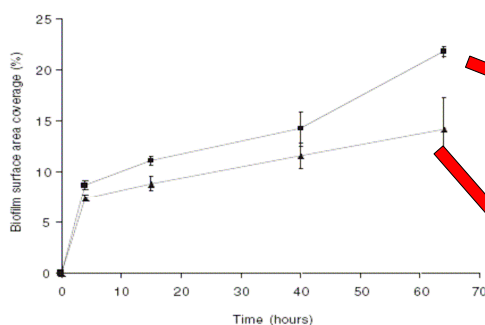
*Caulobacter bacteroides* X 2000

## *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

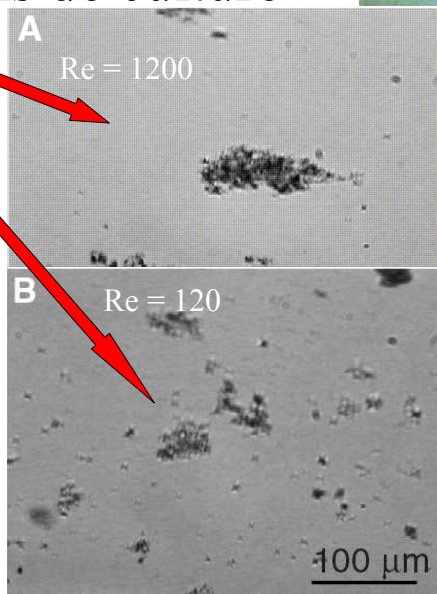


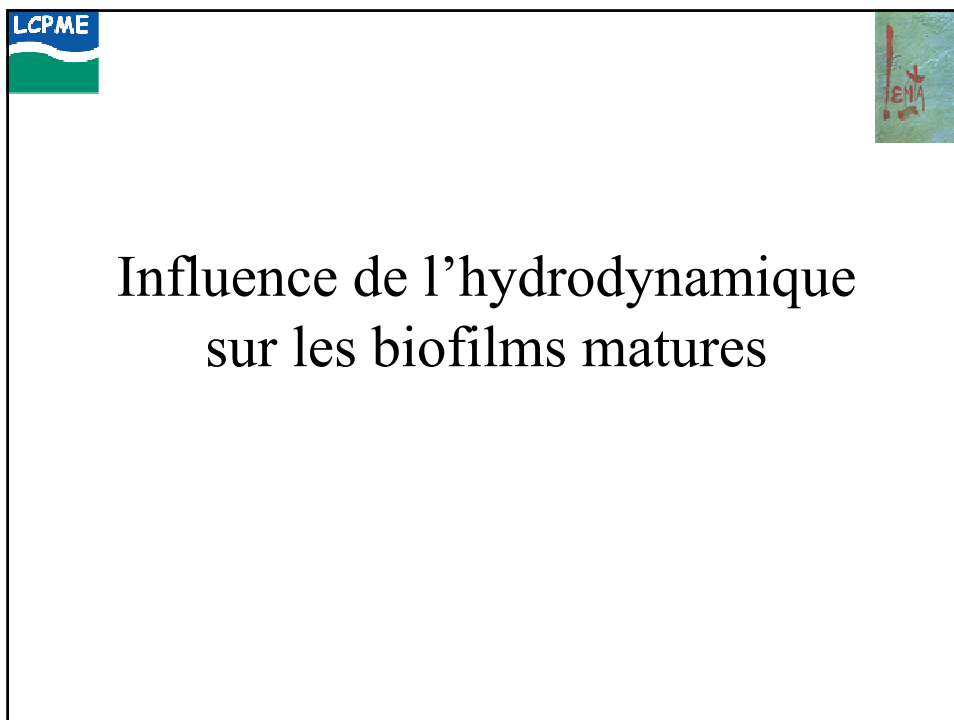
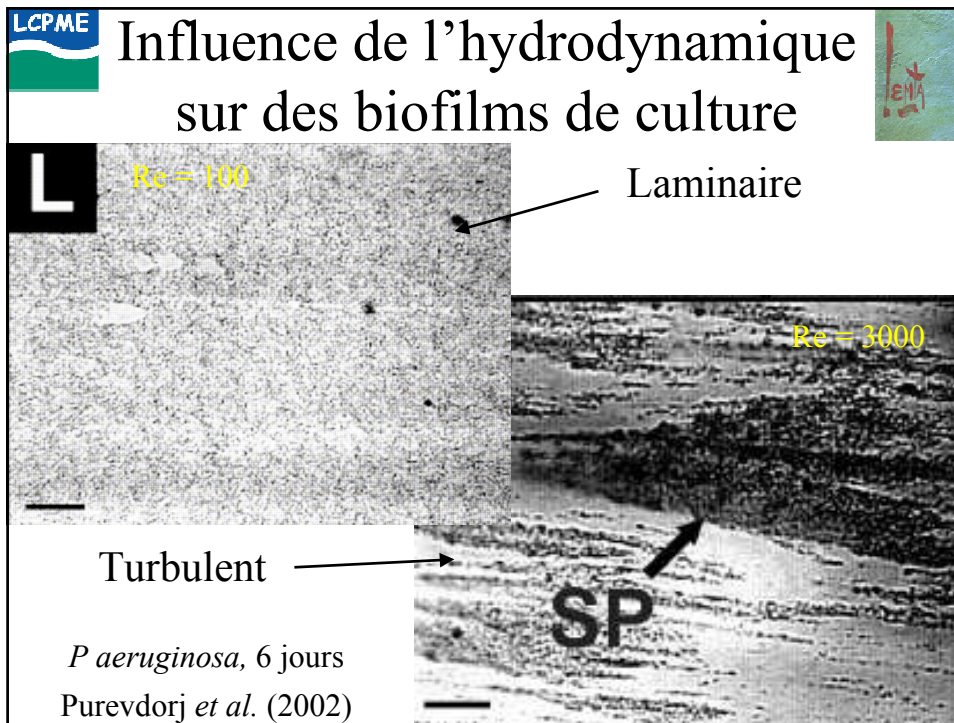
## Influence de l'hydrodynamique sur des biofilms de culture



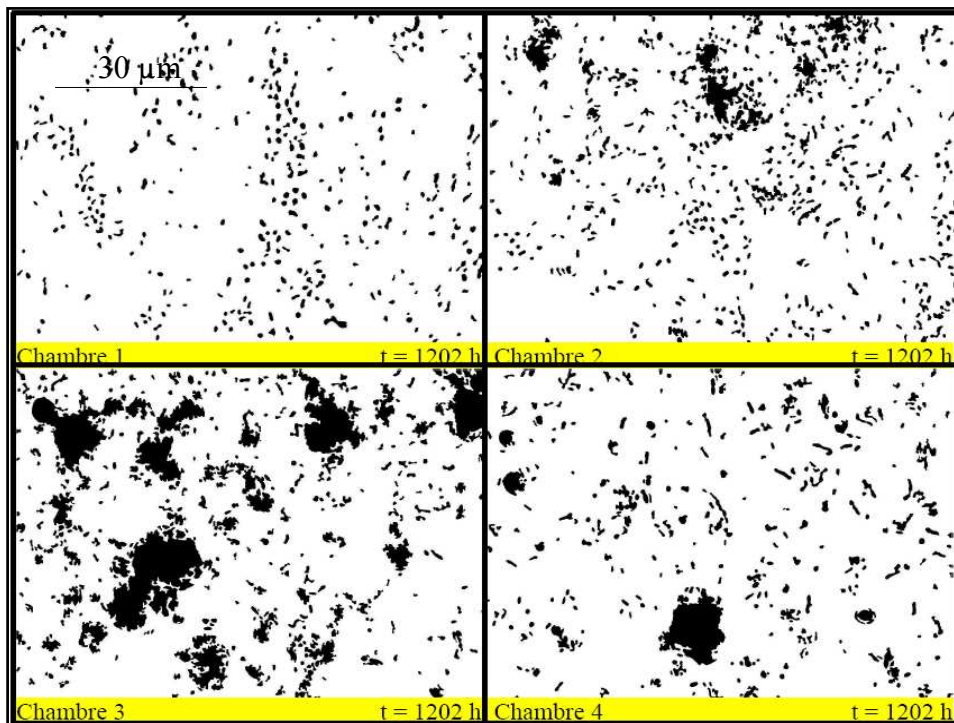
- Surface couverte supérieure sous fort gradient de vitesse pariétal.
- Agrégats de formes différentes
- Impossibilité de faire la part de la multiplication cellulaire et du dépôt.

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<sup>er</sup> mois).



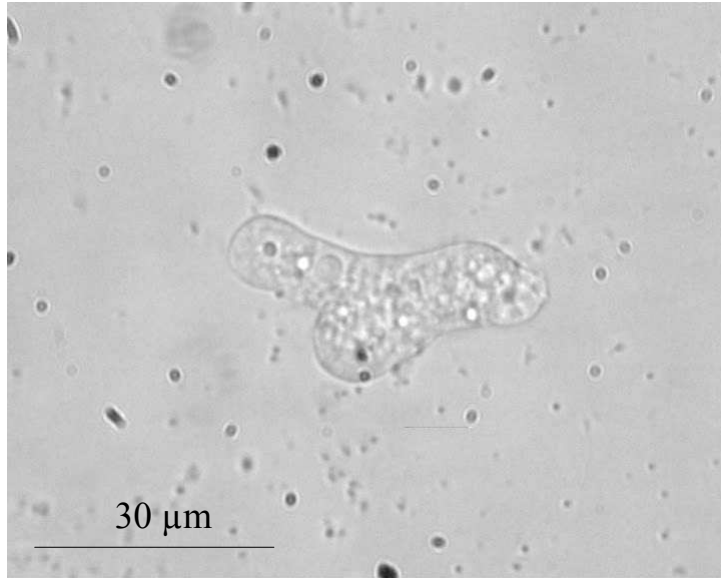
## Composition phylogénétique

- 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* ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) et *Actinobacteria*.
- Genres majoritaires : *Pseudomonas*, *Caulobacter*, *Aeromonas*, *Bacillus*,...

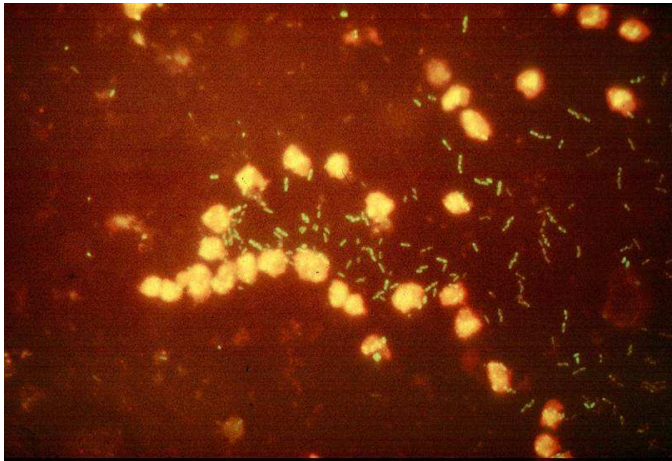
Martiny *et al.*, 2005. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71(12),8611-8617.



## Un peu de la diversité des biofilms d'eau potable



## Détection directe d'amibes dans des biofilms

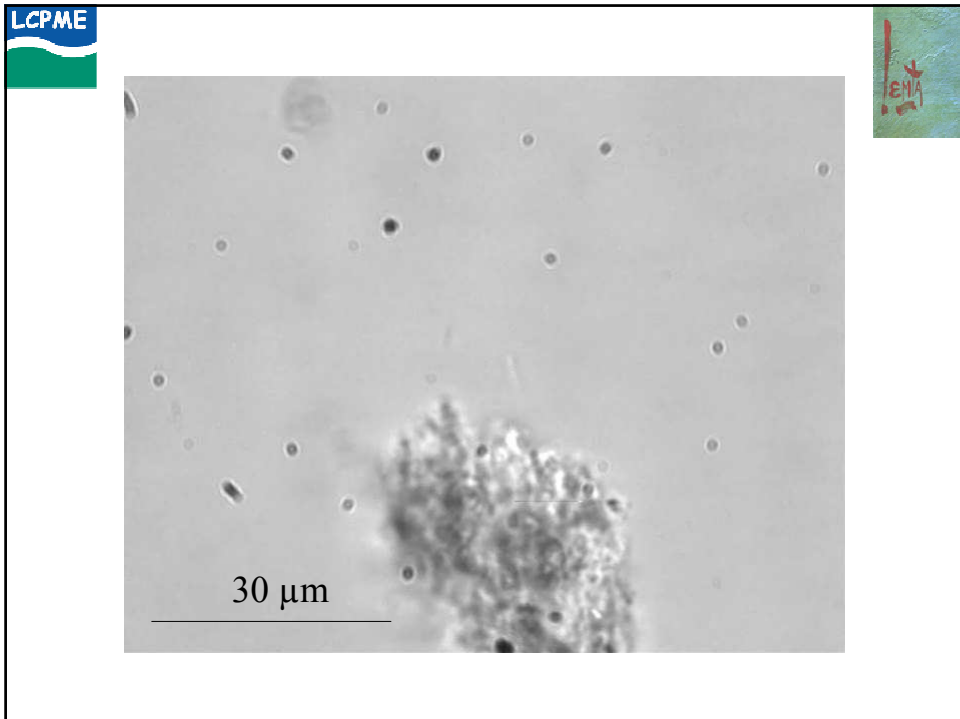
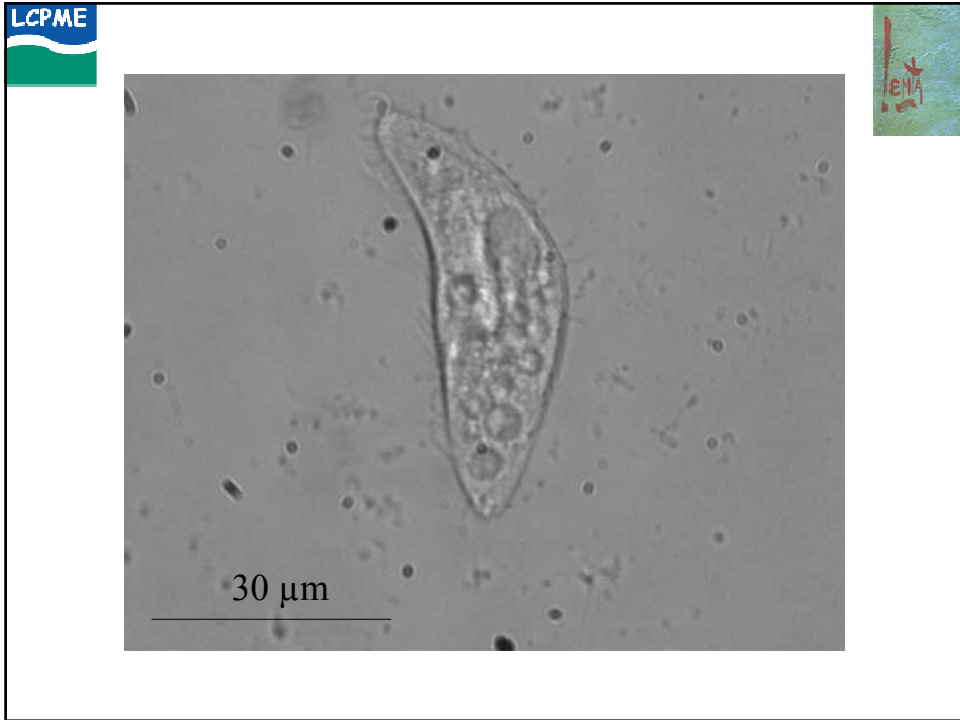


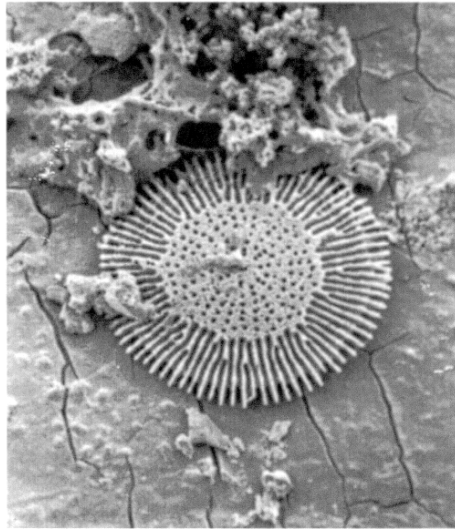
Front de prédation amibien visualisé par FISH

Jaune : Amibes

Vert: Bacteries

(U. Szewzyk, TU Berlin)





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



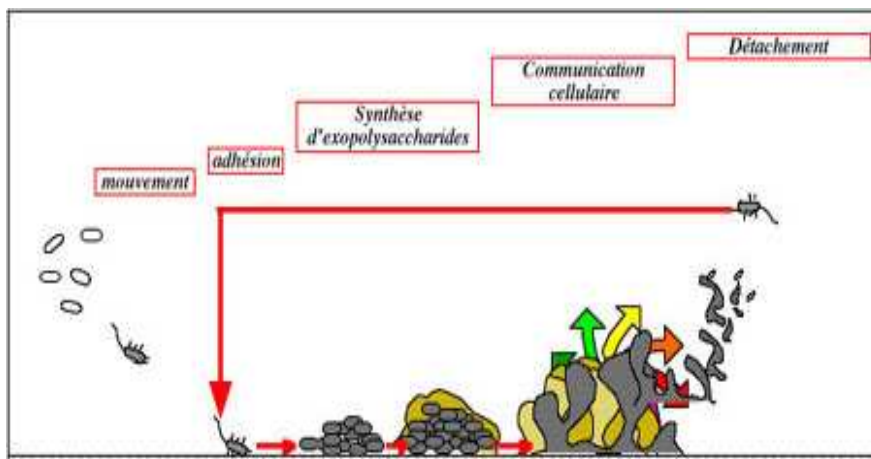
Les différentes phases de  
formation d'un biofilm en réseau  
de distribution d'eau potable

## 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

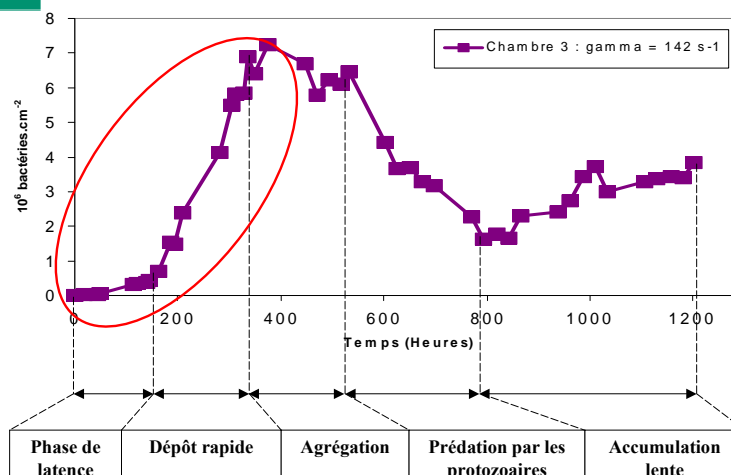


## Transport/Adhésion

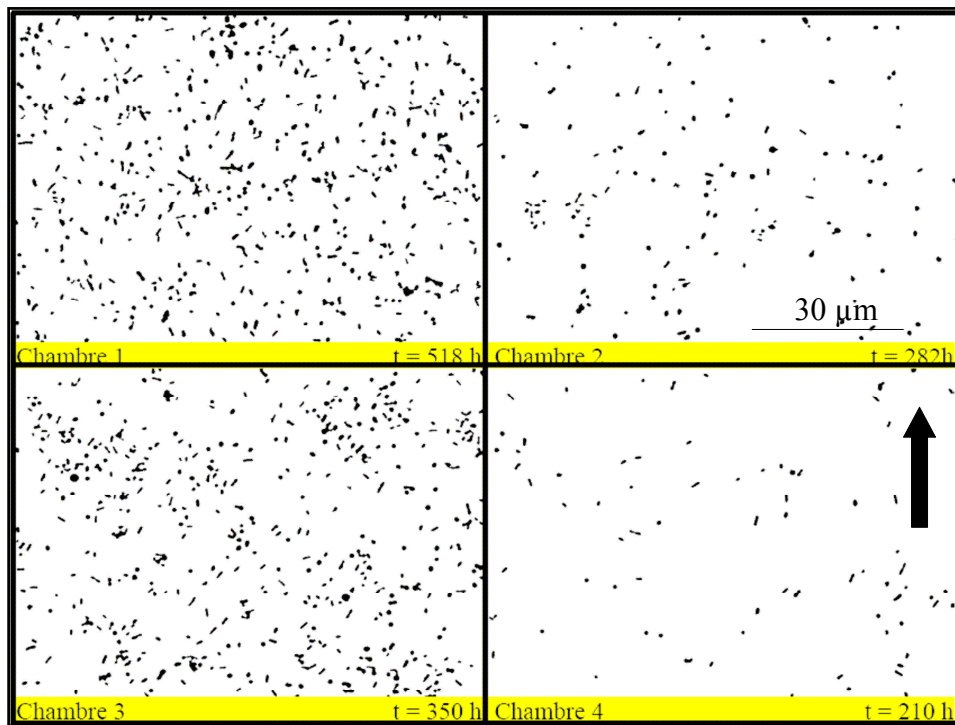
- Formation du film conditionnant sur la surface par les molécules organiques présentes dans l'eau
- Transport : Diffusion, convection, mobilité propre
- Adhésion « réversible » : interactions électrostatiques
- Adhésion « irréversible » : excréments d'exopolymères

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

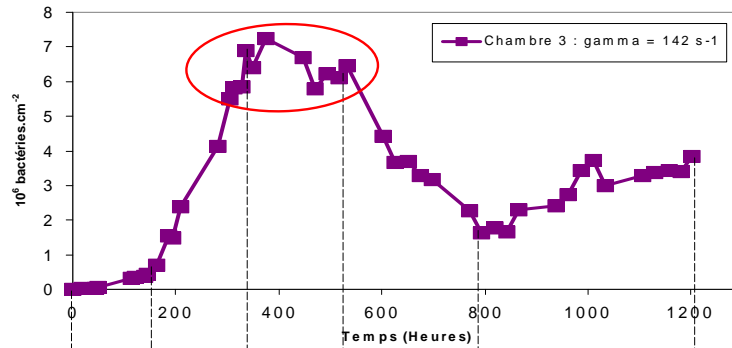
## Dépôt initial du biofilm

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

➔ Faible multiplication cellulaire



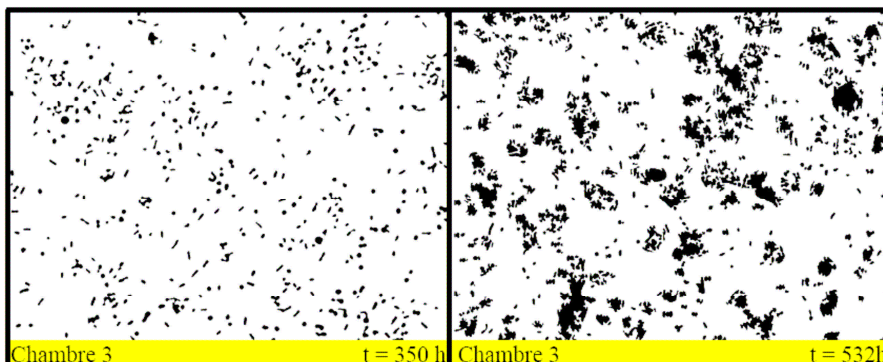
# Plateau



Phase de latence      Dépôt rapide      Agrégation      Prédation par les protozoaires      Accumulation lente

➤ Plateau en terme de nombre de microorganismes déposés, pas en terme de structure du biofilm

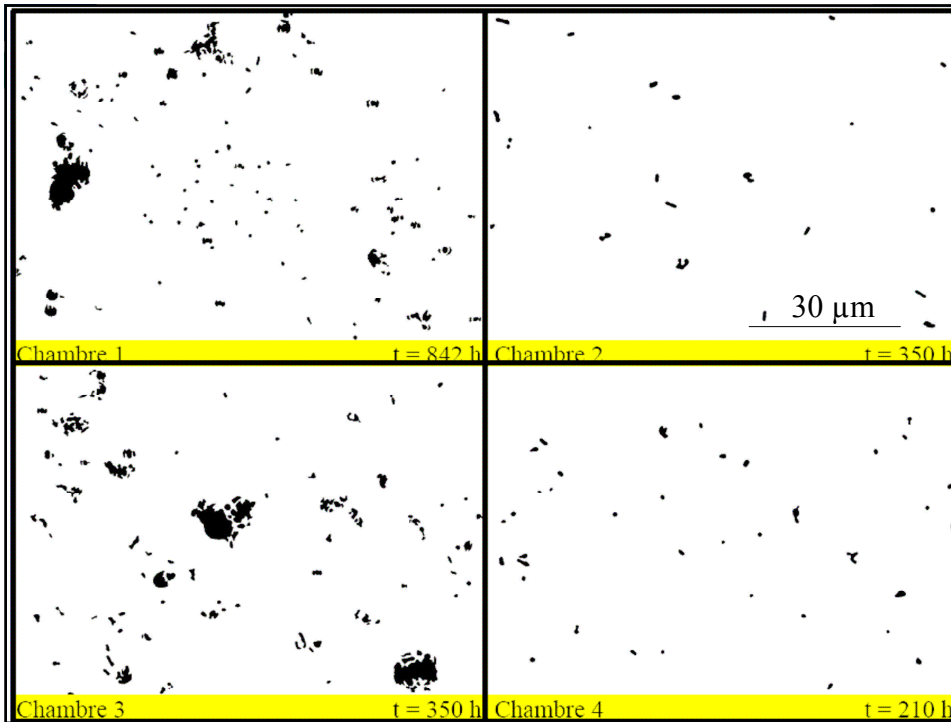
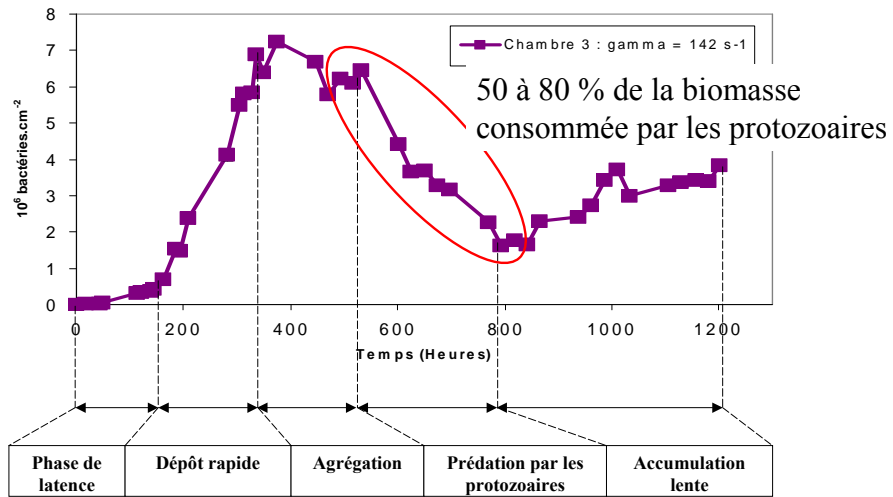
# Evolution de la structure du biofilm pendant la phase de plateau



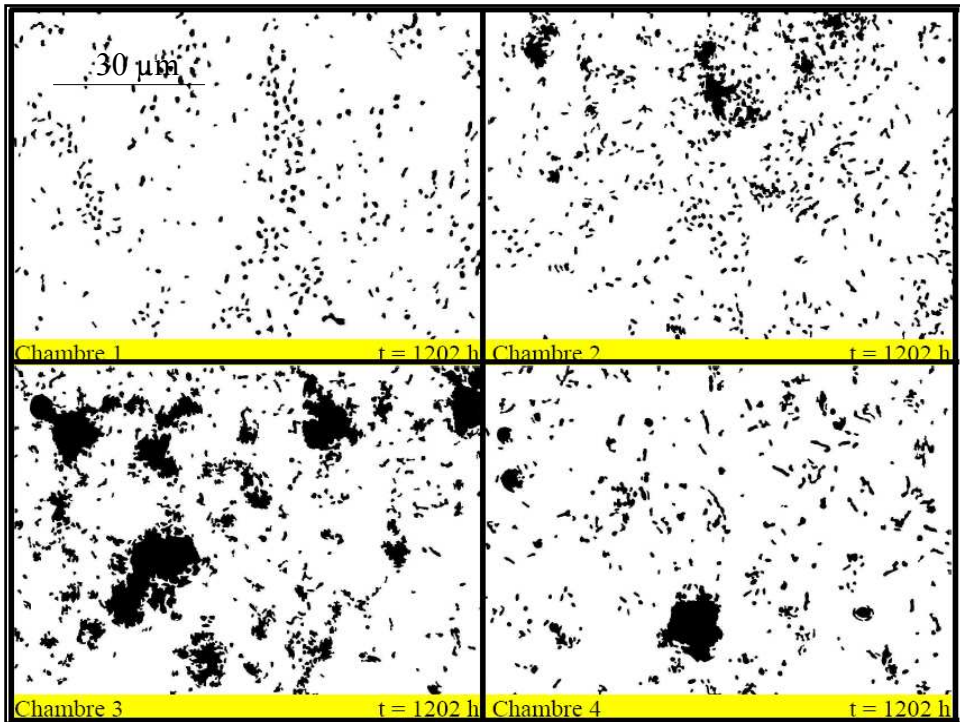
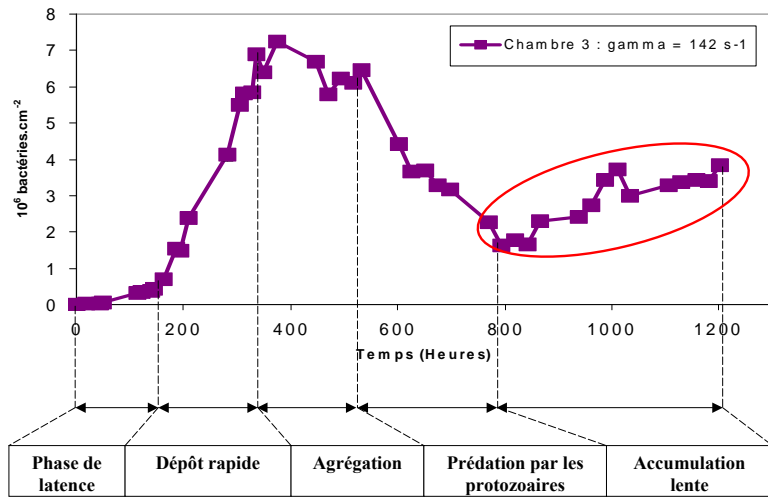
30 μm

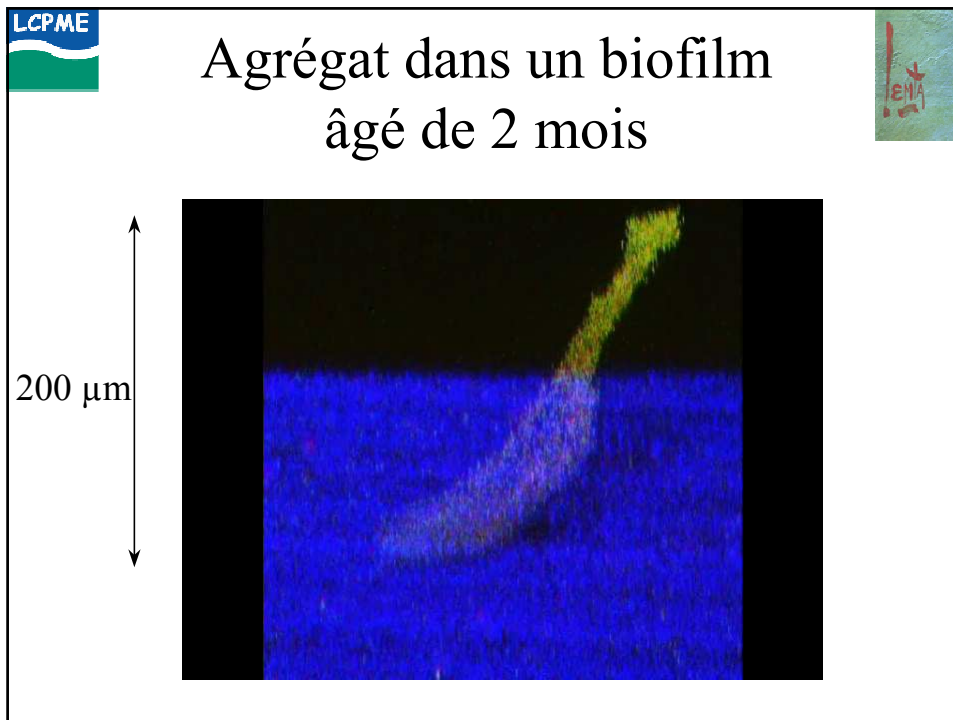
Cellules isolées → Agrégats

# Prédation par les amibes



# Structuration du biofilm





LCPME

## Faut-il avoir peur des biofilms ?

EMA

**Oui** : niche pour d'autres  $\mu$ 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