



# Dernières découvertes sur les biofilms : applications en santé buccodentaire

- Bénédicte Martin
- Institut NUMECAN - U1241 INSERM
- Université de Rennes 1

Conférence Hygia

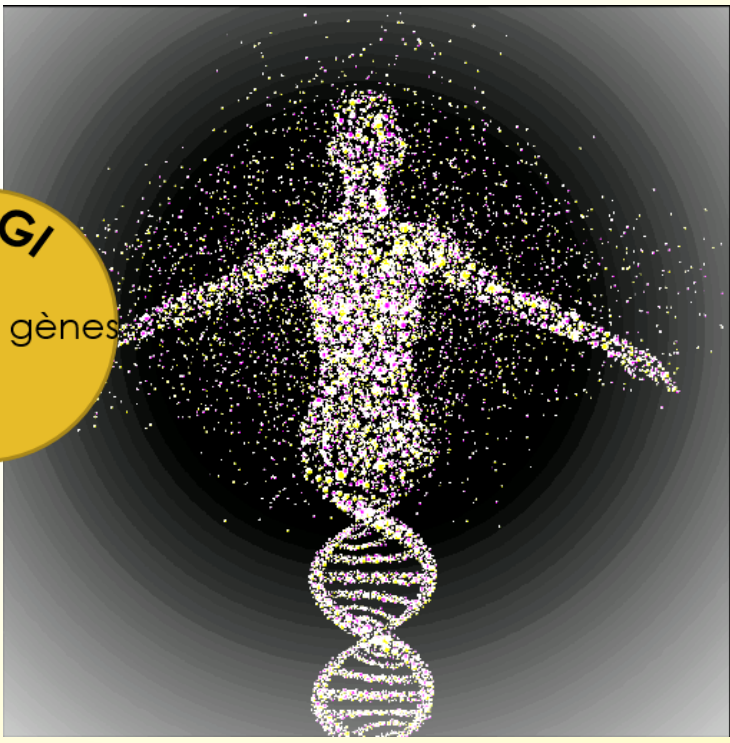
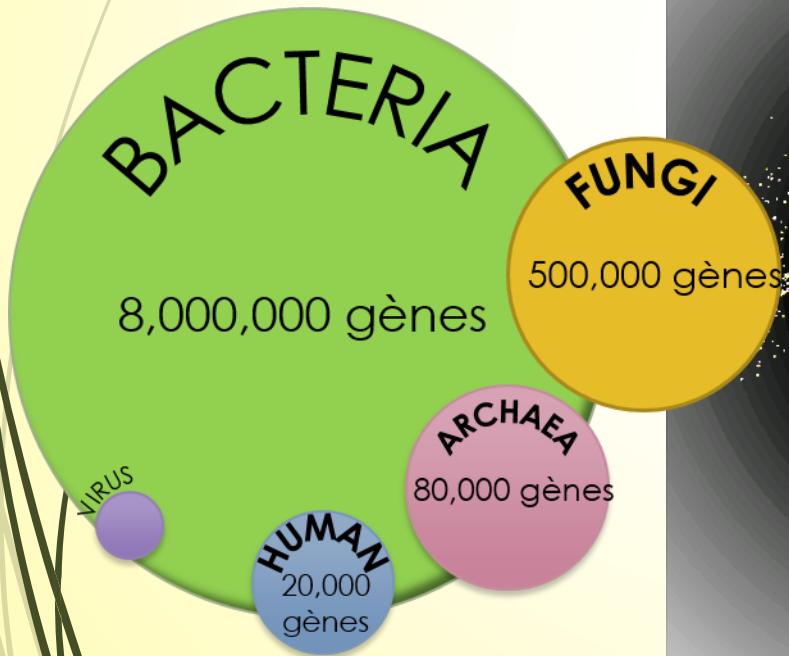
2 mai 2018

Académie de Pharmacie, Paris

# L'homme et ses microbiotes

2

Un individu  
=  
 $10^{13}$  Cellules +  $10^{14}$  Bactéries

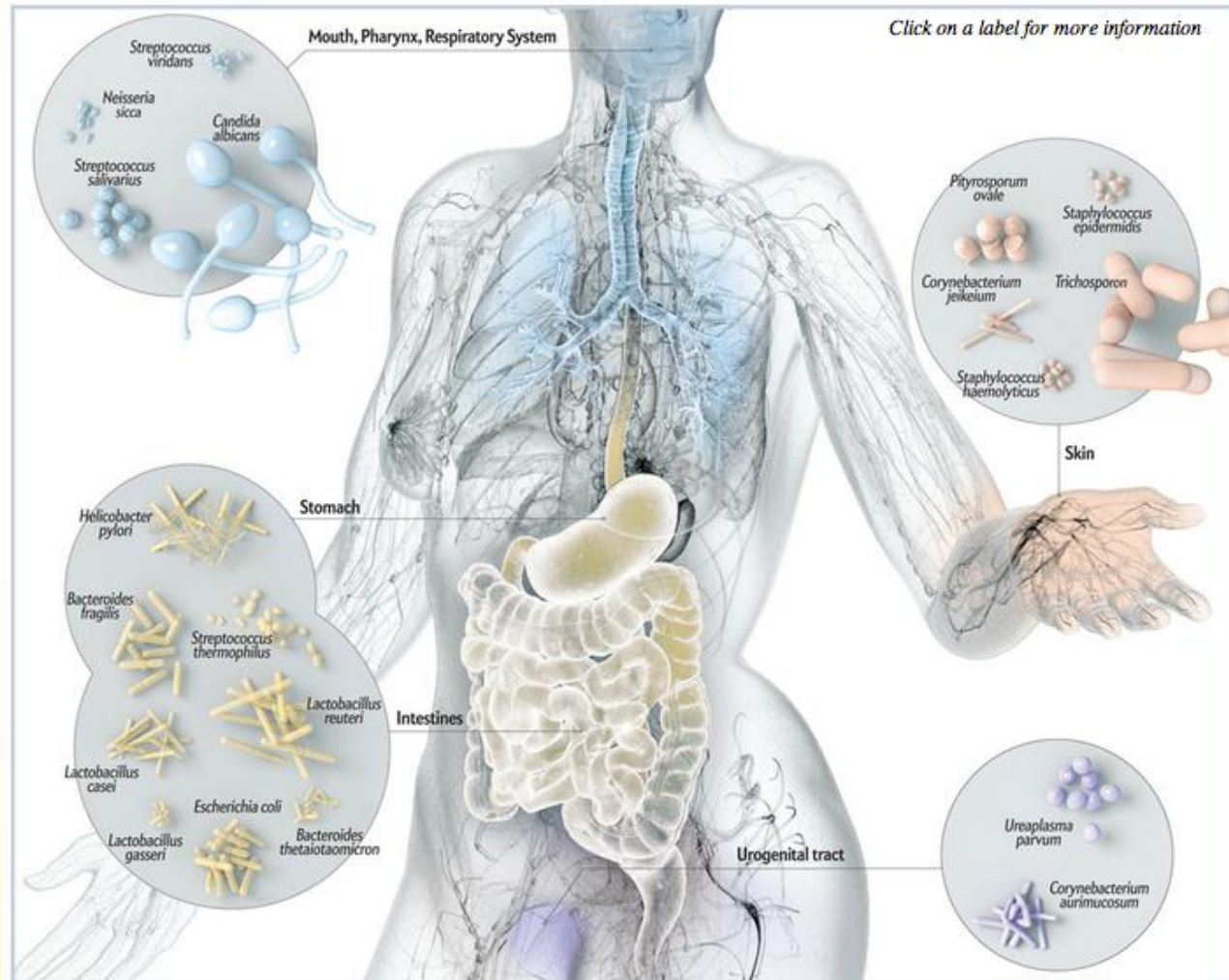


# L'homme et ses microbiotes

3

## Microbiote buccal

150-200 espèces par individu  
> 700 espèces différentes identifiées

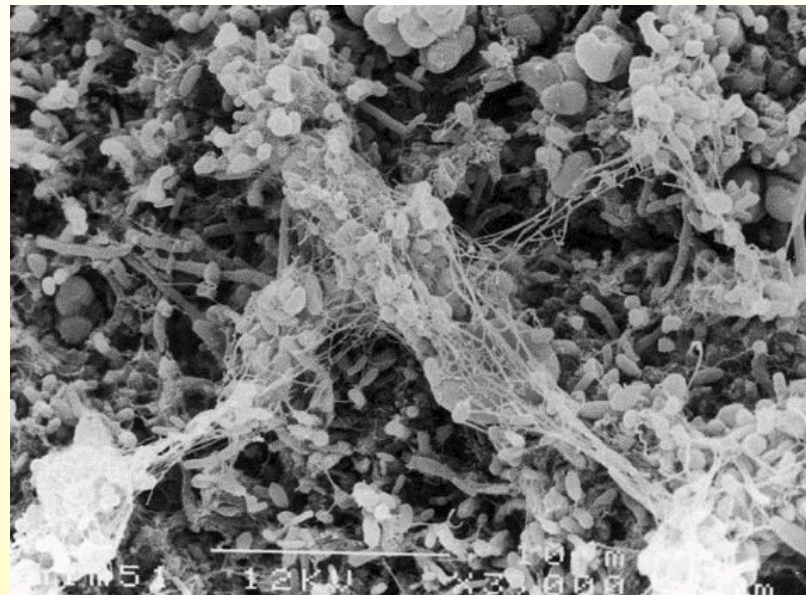
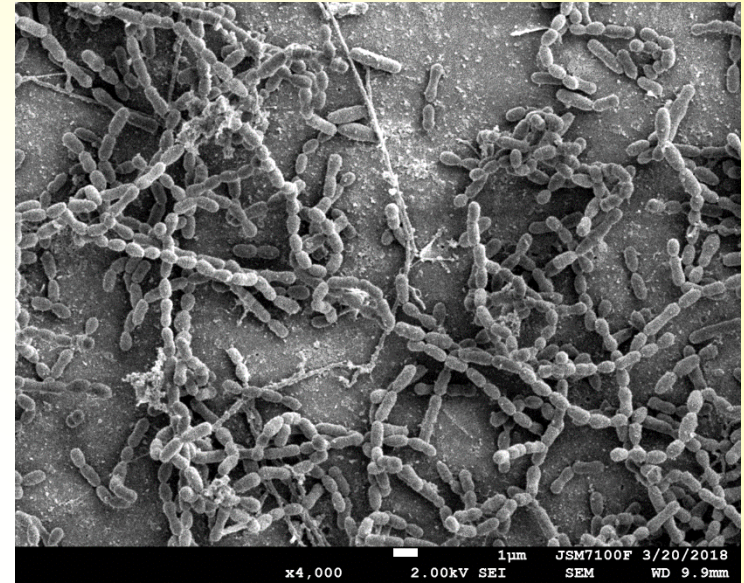
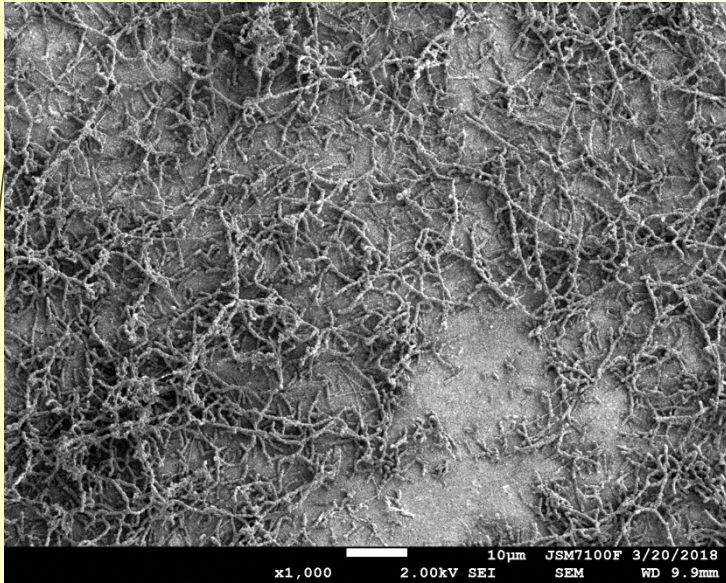


# BIOFILM BACTÉRIEN

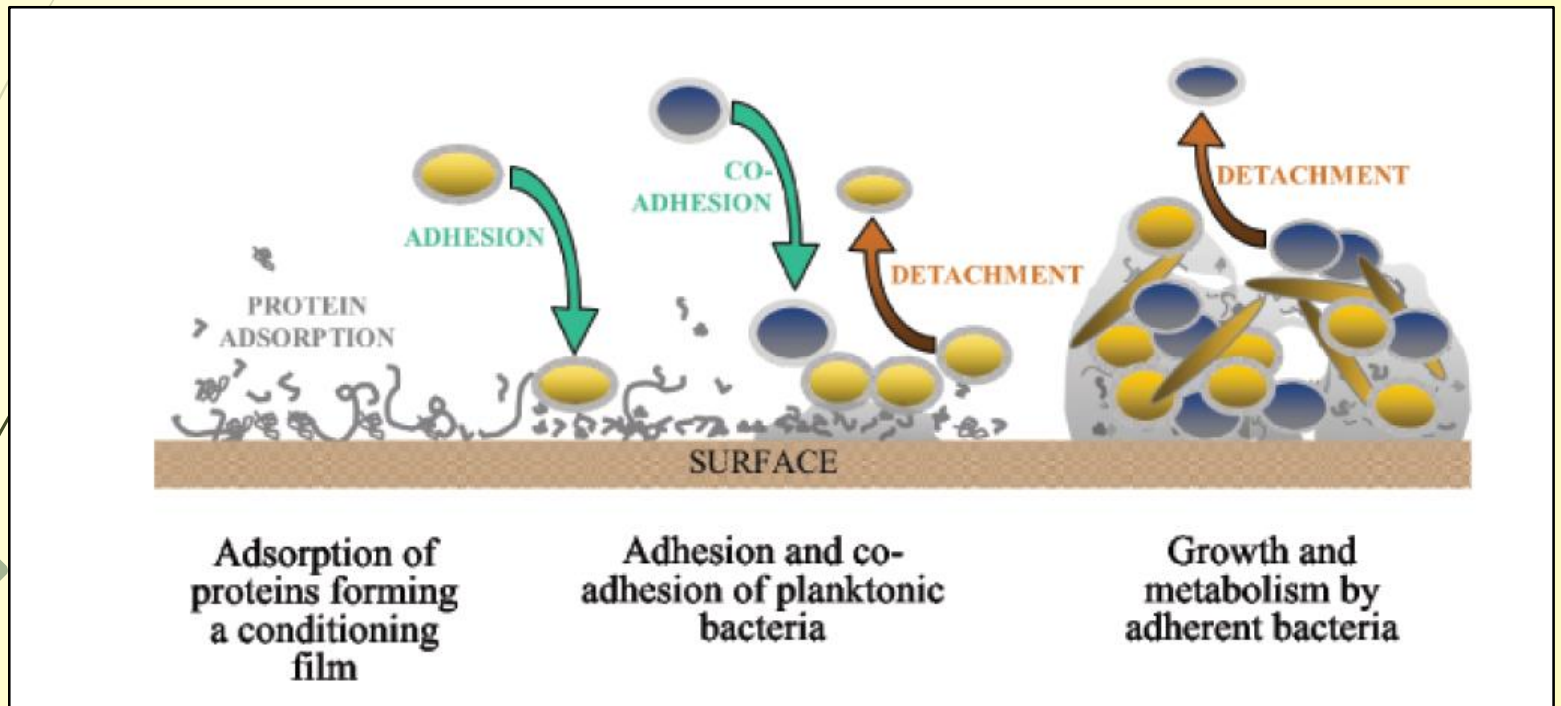
4

- Définition : Communauté structurée de cellules bactériennes adhérente à une surface inerte ou vivante contenues dans une matrice adhésive et protectrice composée de polymères, produite par les bactéries elles-mêmes
- Biofilms mixtes dominants dans la nature et chez l'homme
- 65% des maladies infectieuses humaines sont de nature sessile

# BIOFILMS DENTAIRES



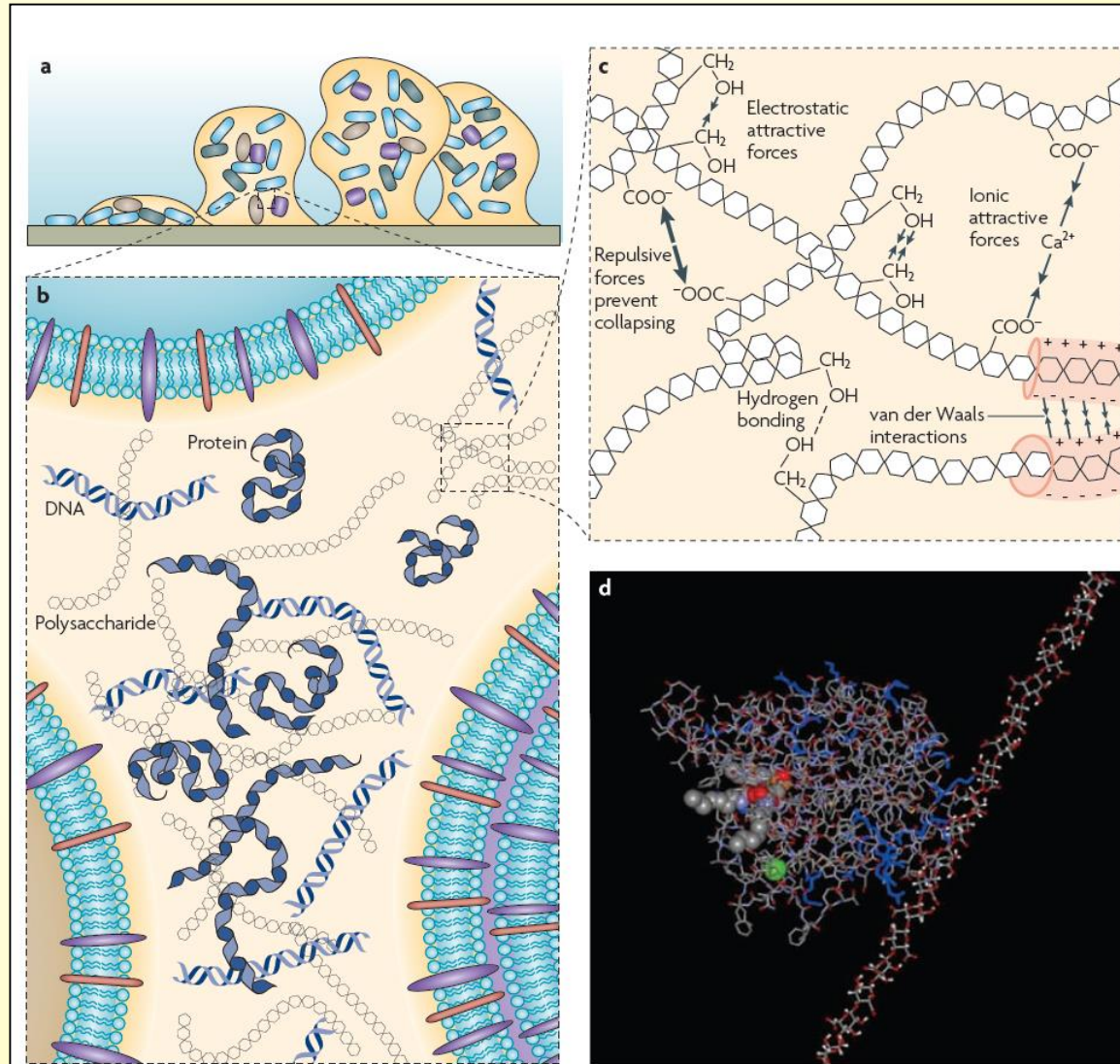
# ETAPES DE FORMATION DES BIOFILMS



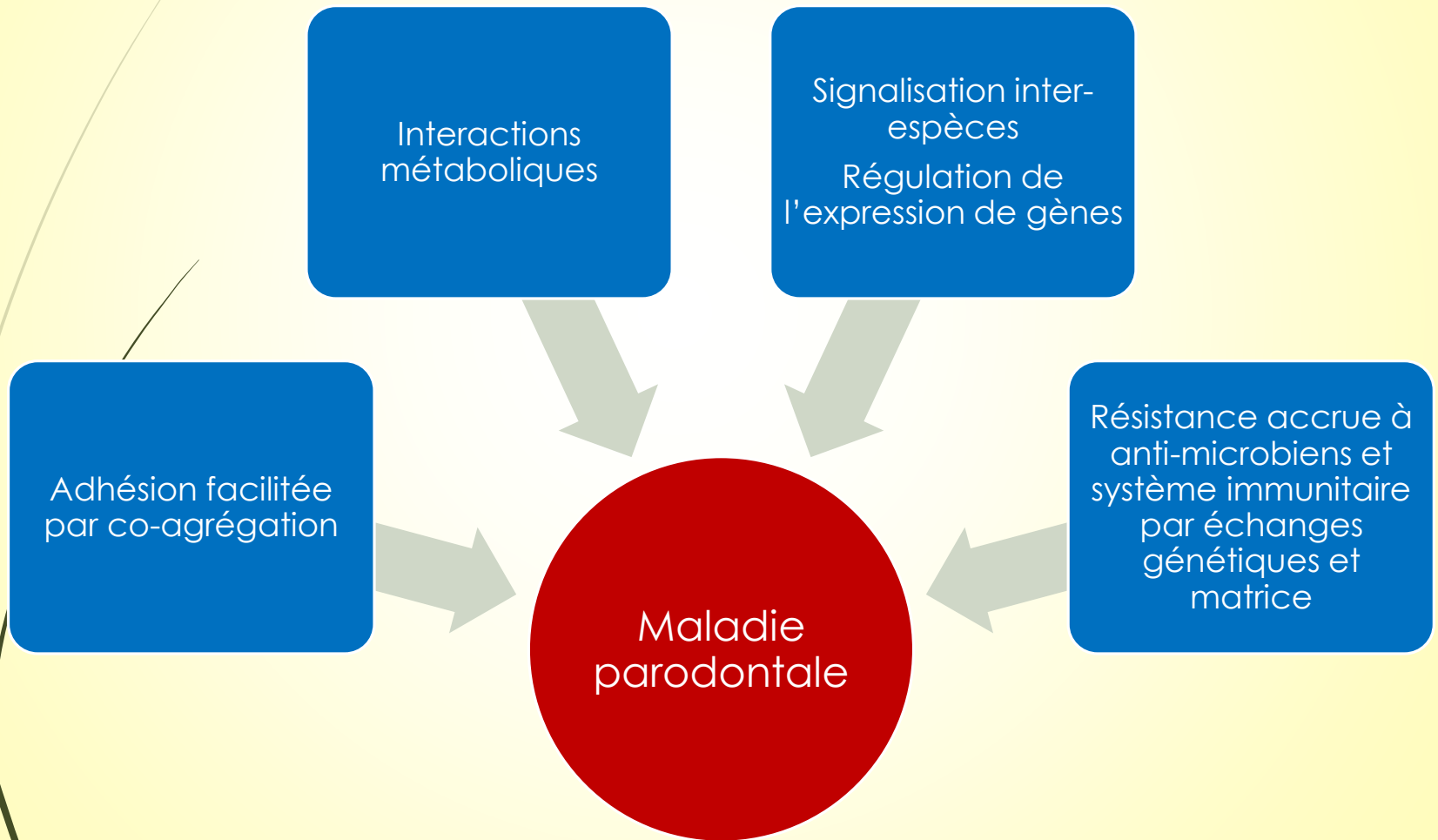
Svensäter & Bergenholtz, 2004

# Matrice extracellulaire

7



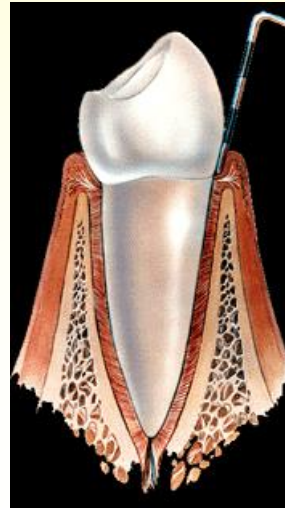
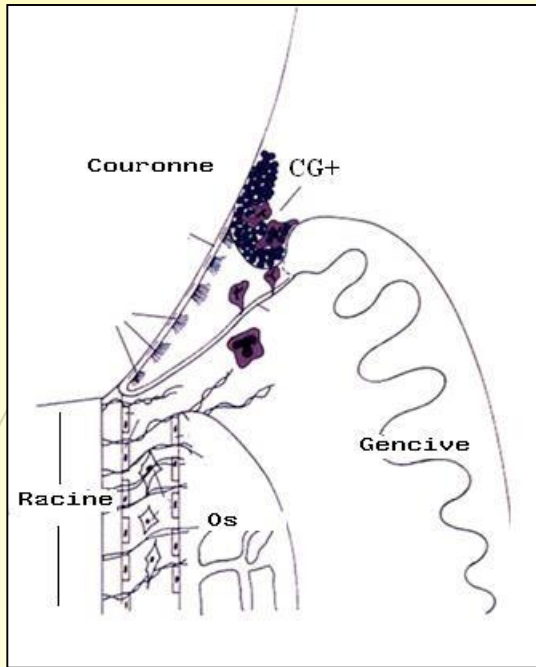
# Avantages conférés aux bactéries par l'organisation en biofilm



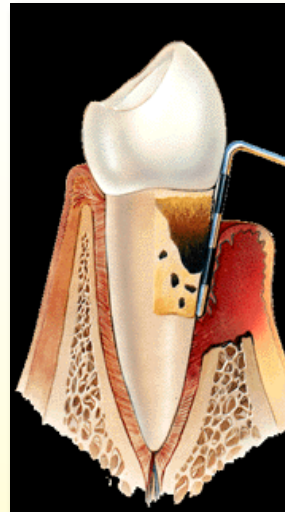
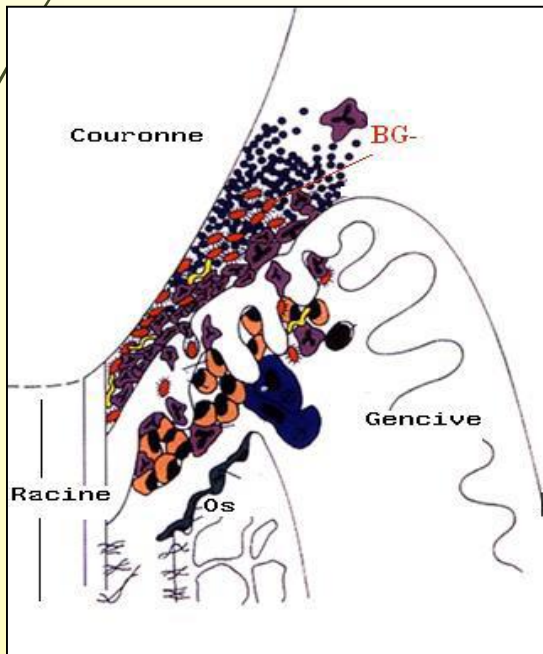


# Maladies parodontales

9

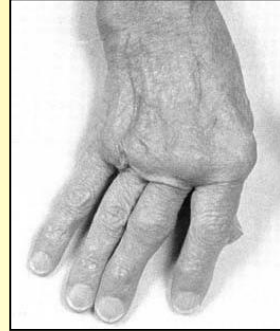


Sain

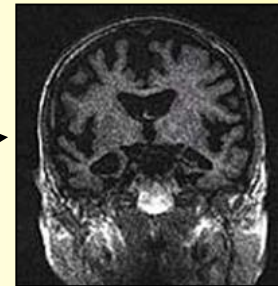


Pathologique

# Association avec maladies systémiques



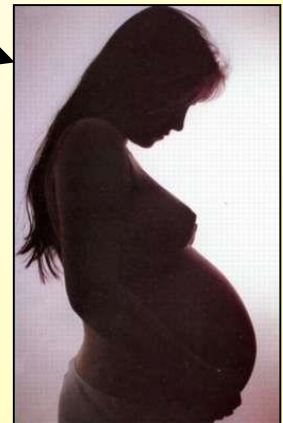
Lange 2014



de Souza Rolimer 2014  
Poole 2013

**Cancer**

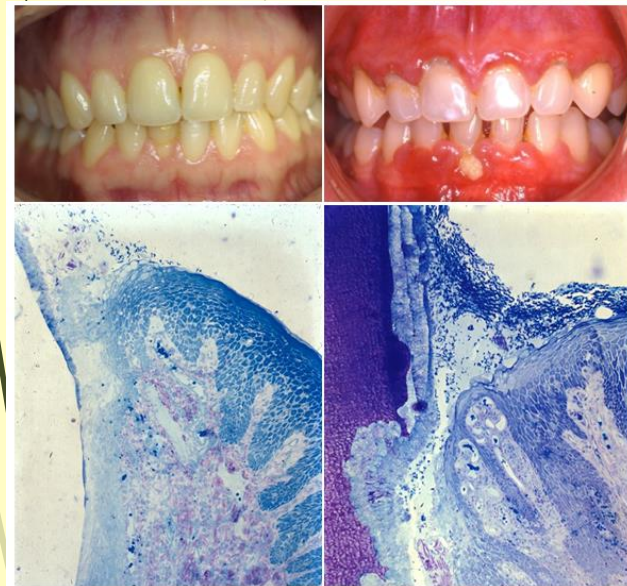
Atanasova 2014  
Klimesova, 2018



Kumar 2014



Peter 2013



Zhang 2012  
Jim, 2014

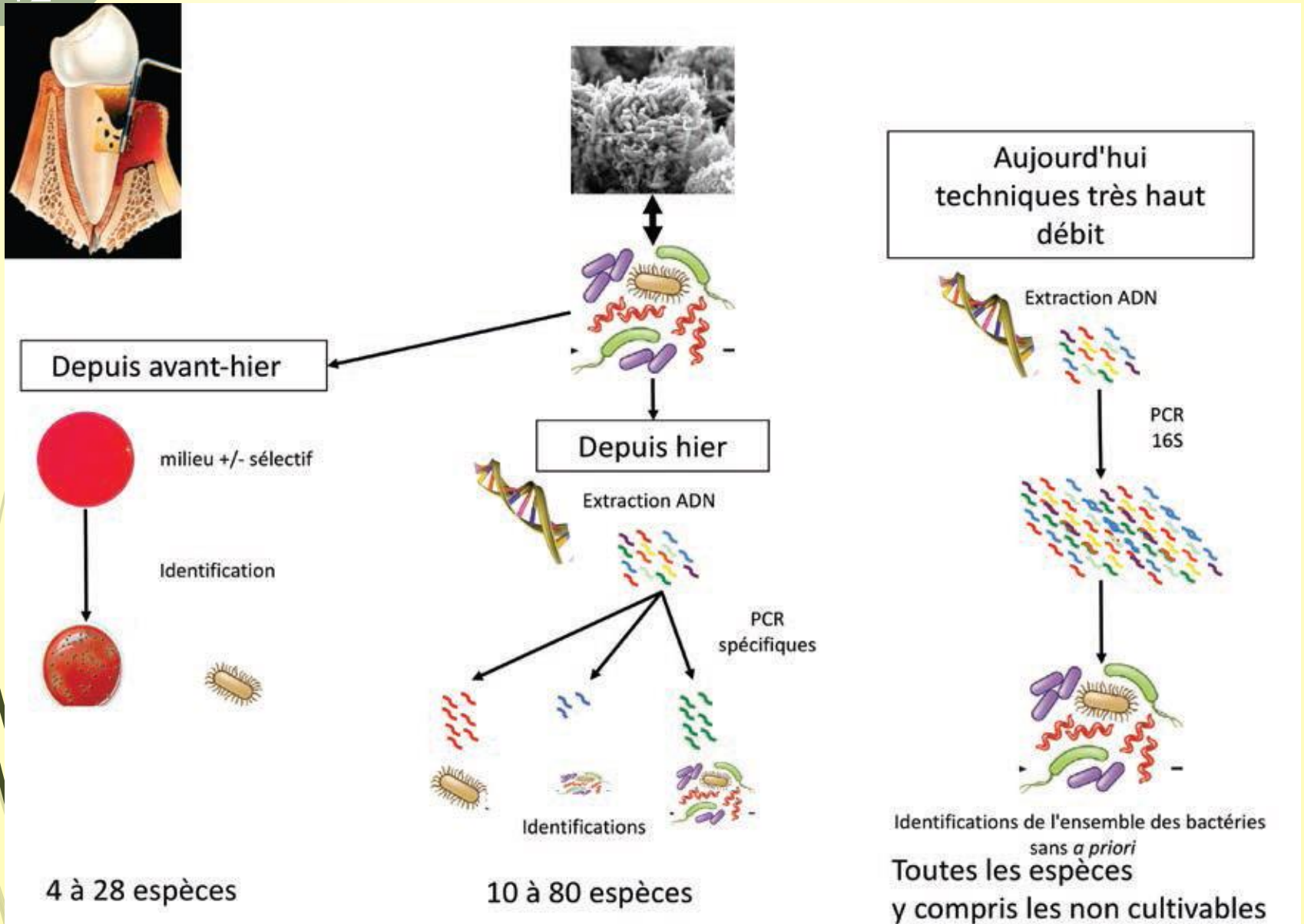


# Apport de nouvelles technologies à la compréhension des biofilms

- Nouvelles technologies de séquençage (haut débit)
- Performances microscopiques
- Modélisation mathématique

# Apport des nouvelles technologies de séquençage (NGS) à l'identification des bactéries orales

12

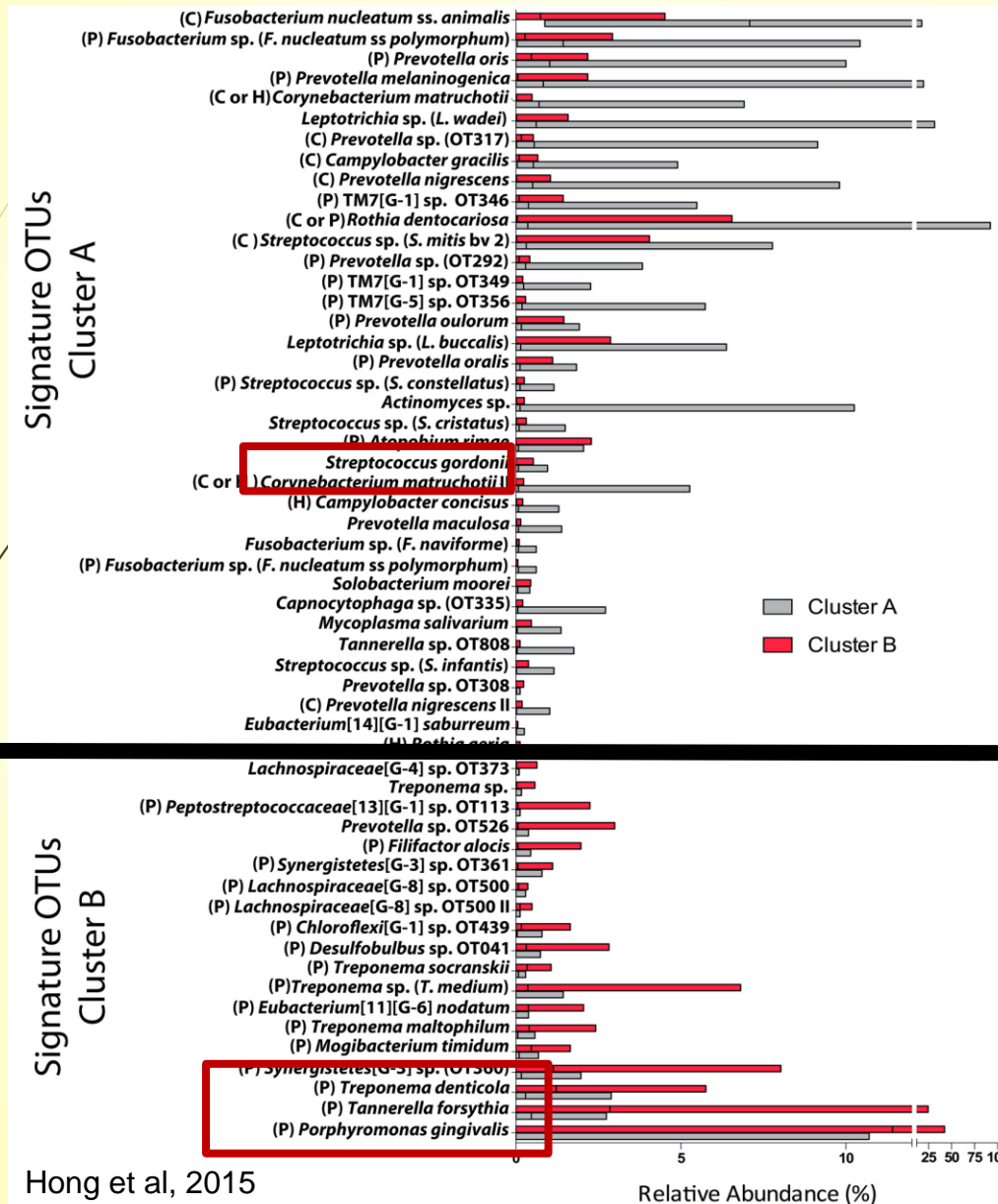


# Hier ... Complexes bactériens

13



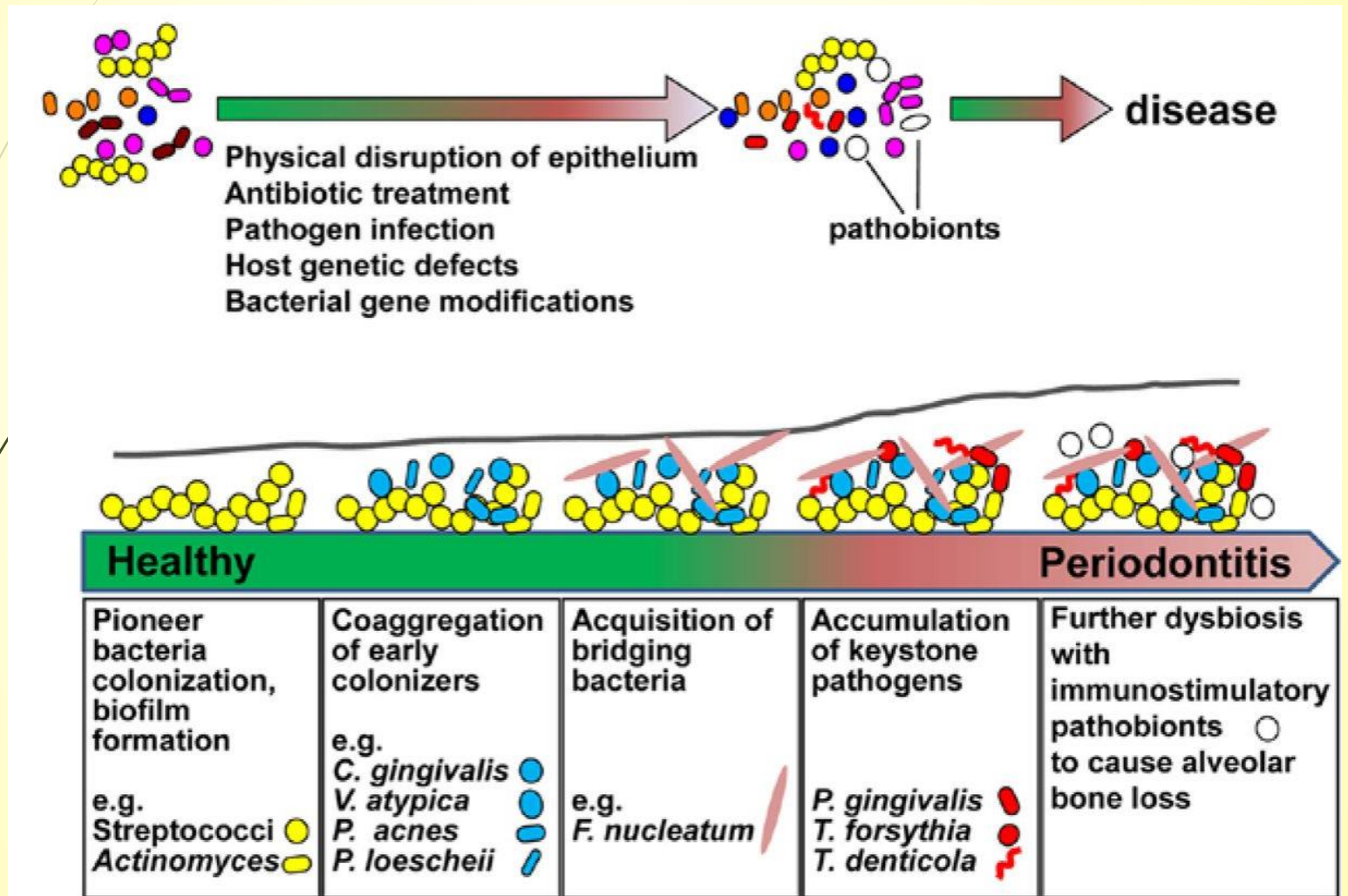
# Aujourd'hui ... Profils métagénomiques



Cluster A  
Parodontites  
modérées

Cluster B  
Parodontites  
sévéres

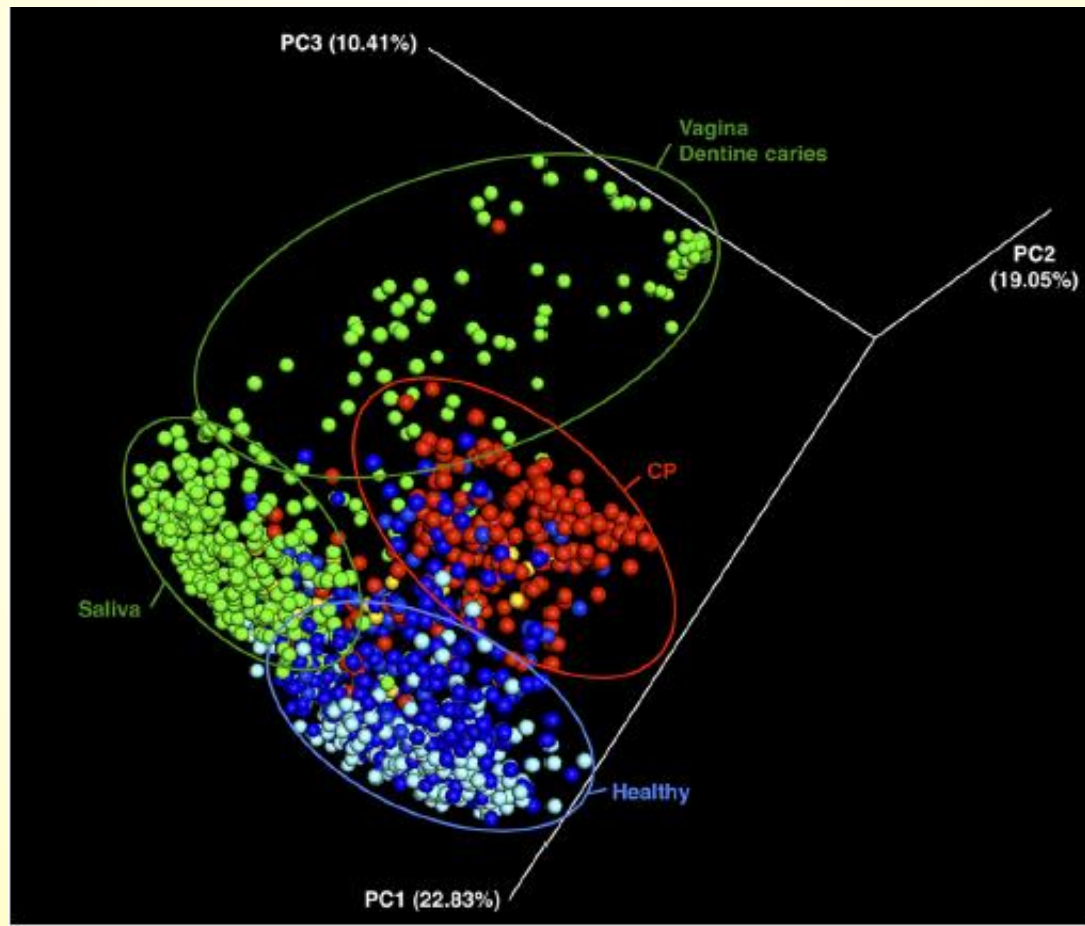
# Maladie parodontale : Notion de dysbiose



# Définition d'une signature caractéristique de la dysbiose parodontale

16

Analyse d'échantillons d'origine différente : classement en fonction de l'origine



Meuric et al, 2017

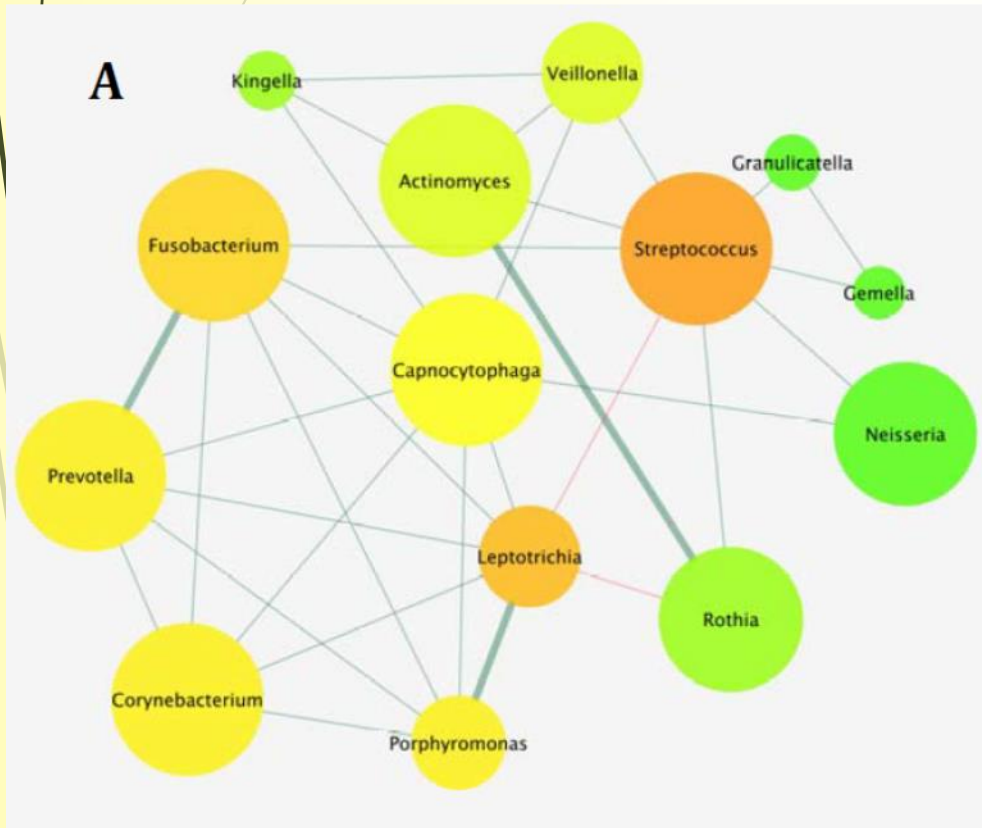


# Définition d'une signature caractéristique de la dysbiose parodontale

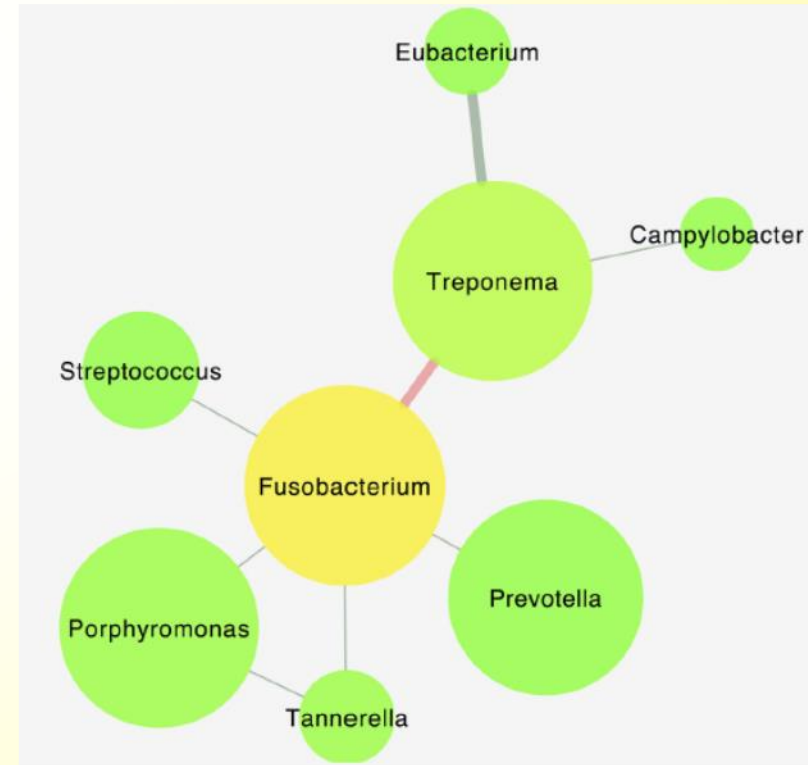
17

Genres bactériens majoritaires (>95%)

chez les sujets sains



chez les sujets atteints de parodontite

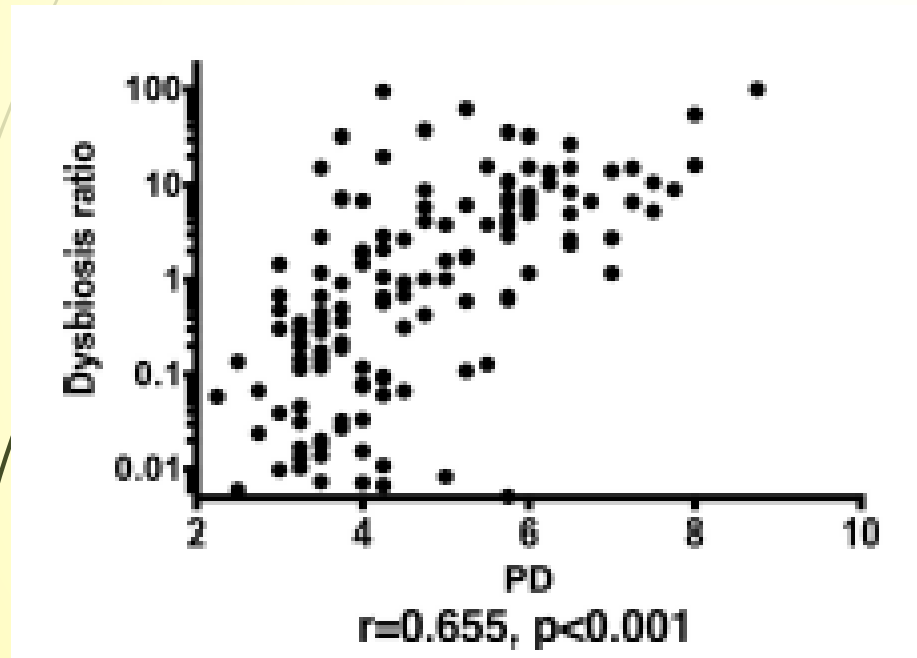


Meuric et al, 2017

# Définition d'une signature caractéristique de la dysbiose parodontale

18

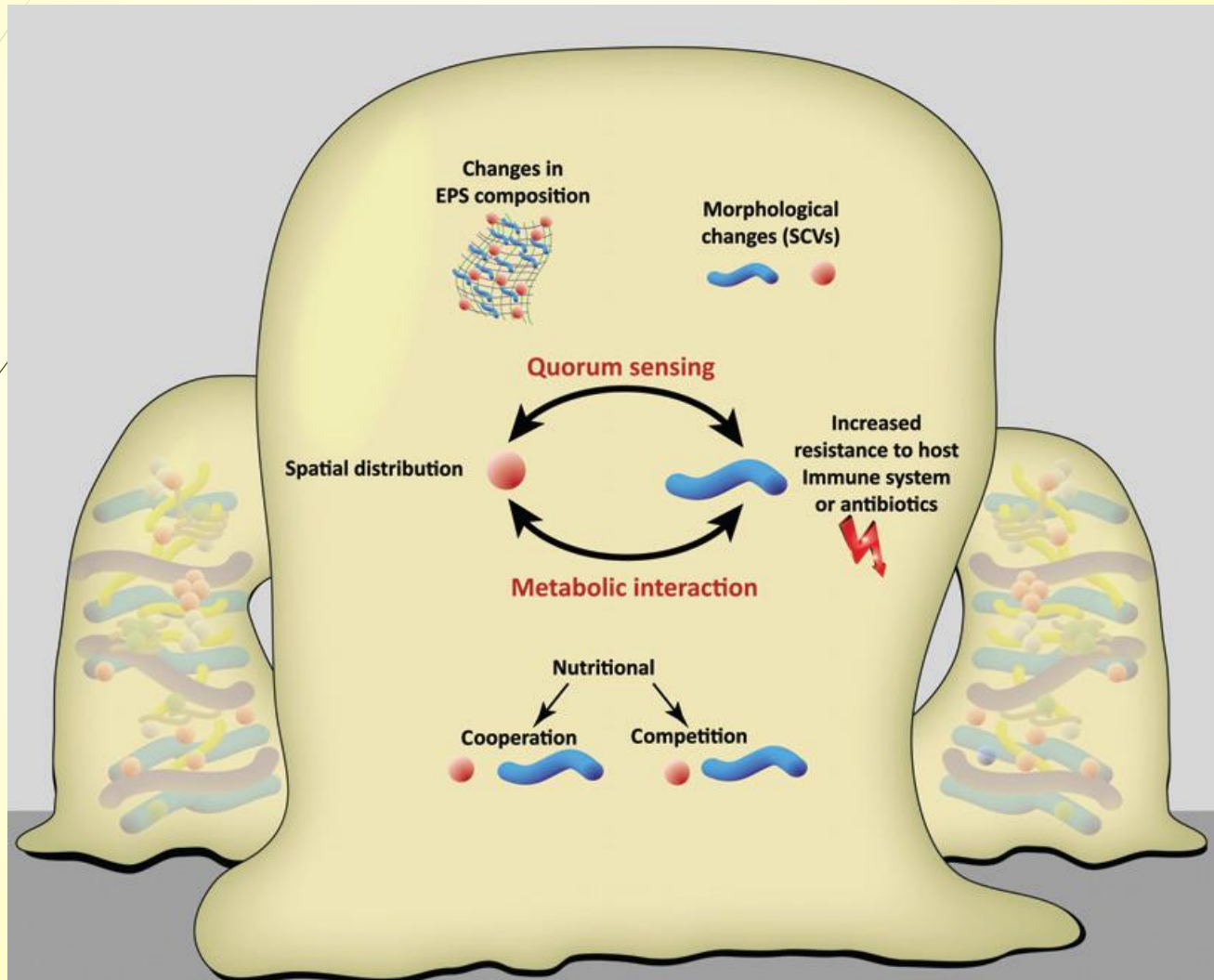
-> calcul d'un ratio de dysbiose = 
$$\frac{\text{Abondance des genres « parodontite »}}{\text{Abondance des genres « sains »}}$$



Corrélation avec le critère clinique de mesure de profondeur de poche parodontale

# Importance des interactions bactériennes en biofilm

19



# Apport de nouvelles technologies à la compréhension des biofilms

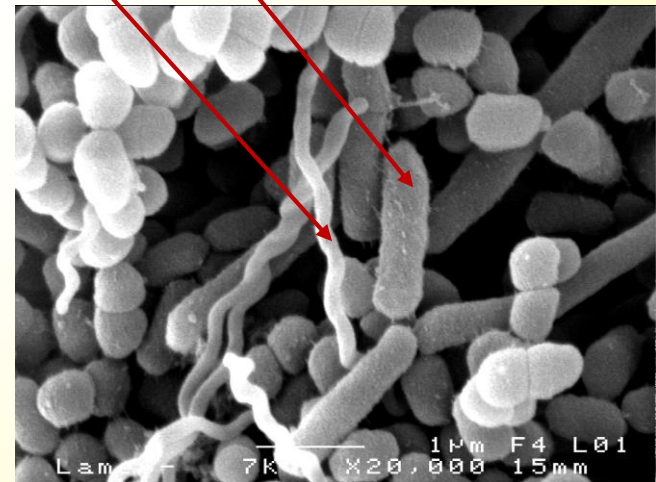
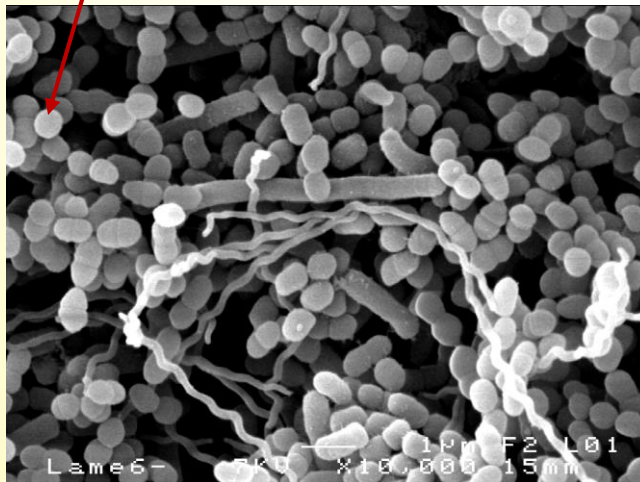
- Nouvelles technologies de séquençage (haut débit)
- Performances microscopiques
- Modélisation mathématique

# Etude des interactions bactériennes en biofilm

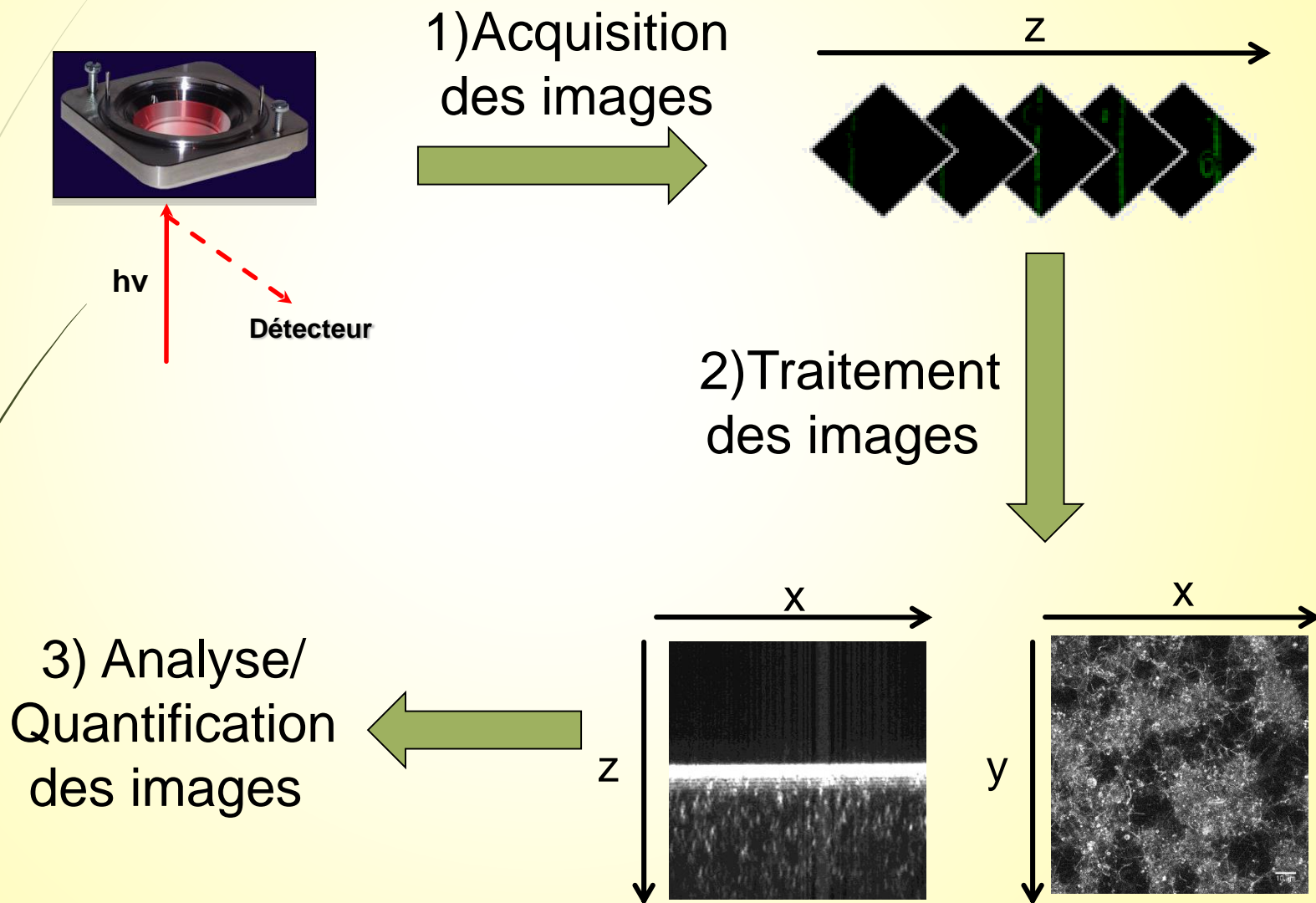
21

-> modèle de biofilm en chambre à flux comprenant 3 bactéries buccales :

- *Streptococcus gordonii*
- *Porphyromonas gingivalis*
- *Treponema denticola*



# Modèle expérimental du biofilm : Analyse par microscopie confocale

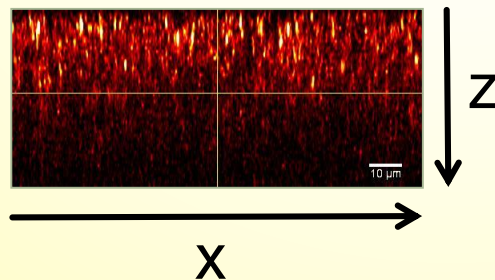
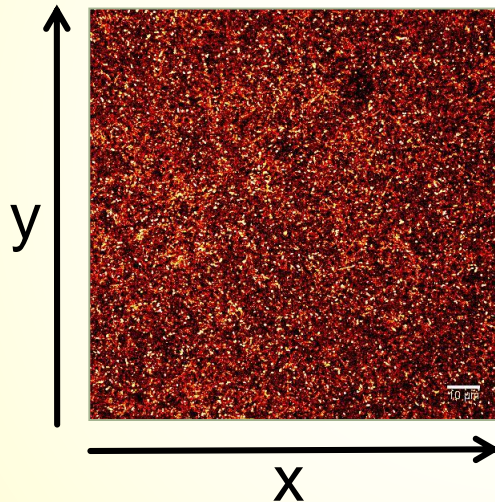


# Interactions au sein d'un biofilm multi-bactérien: Etude par microscopie confocale

23

## Analyse qualitative

*P. gingivalis*

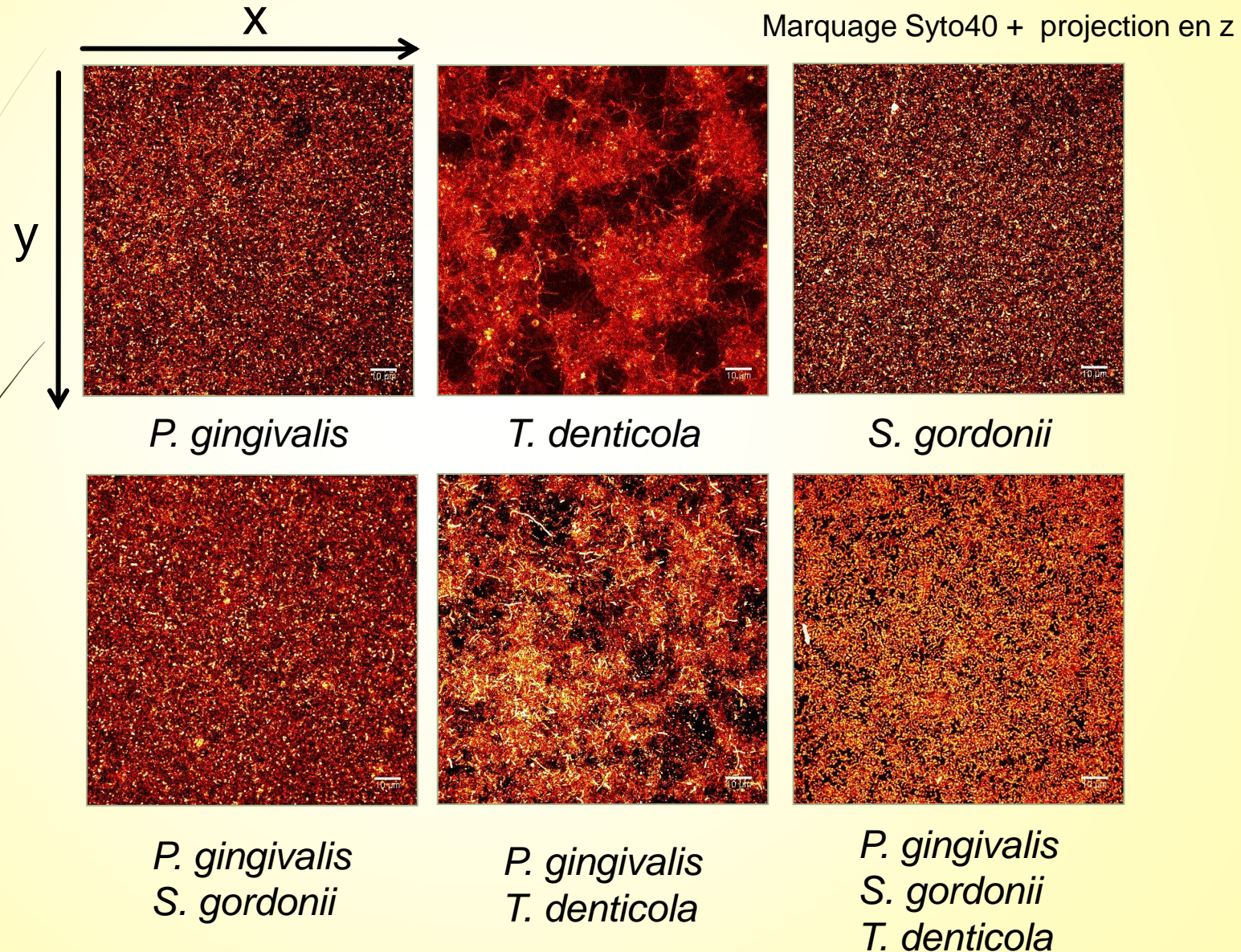


## Analyse quantitative

- Biomasse
- Epaisseur
- Rugosité
- Surface ...

# Interactions au sein d'un biofilm multi-bactérien: Etude par microscopie confocale

24

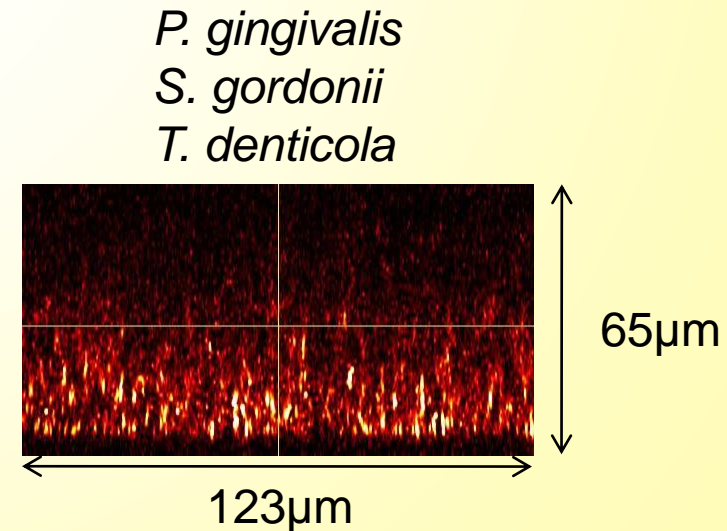
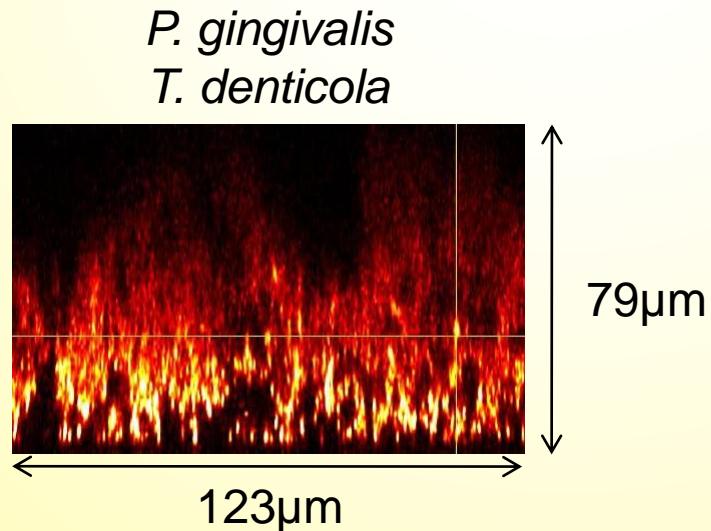
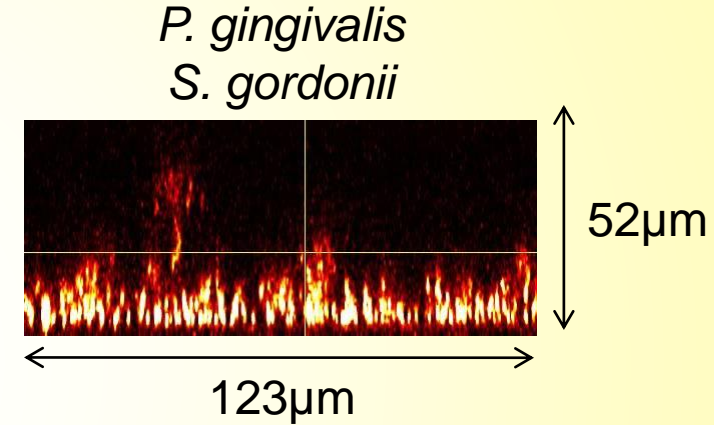
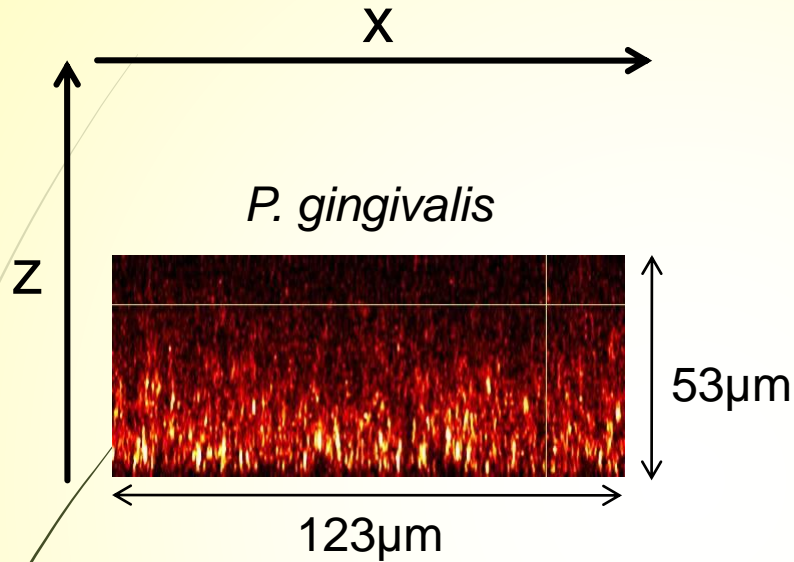




# Interactions au sein d'un biofilm multi-bactérien: Etude du biofilm par microscopie confocale

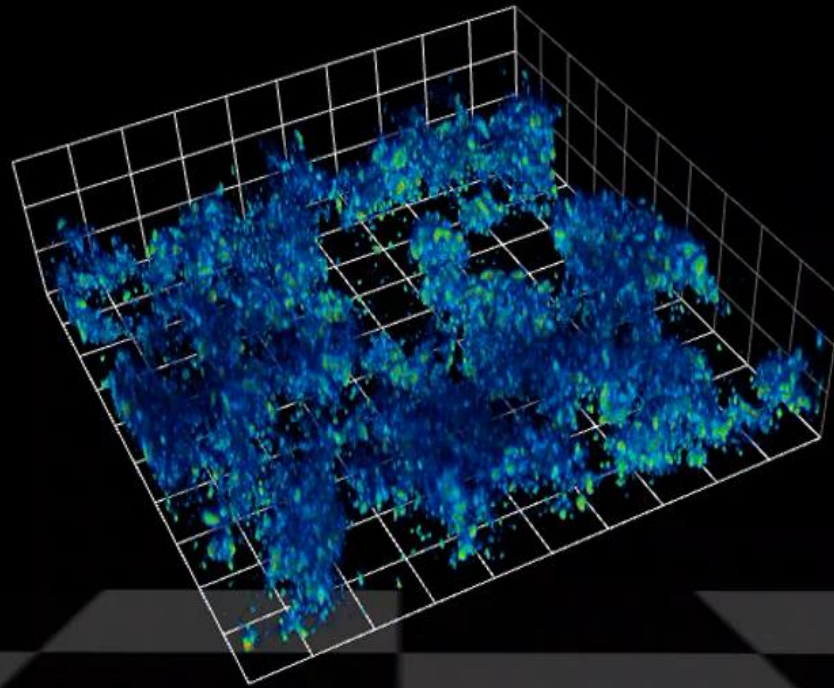
25

(Biofilms 48h - Marquage Syto40)



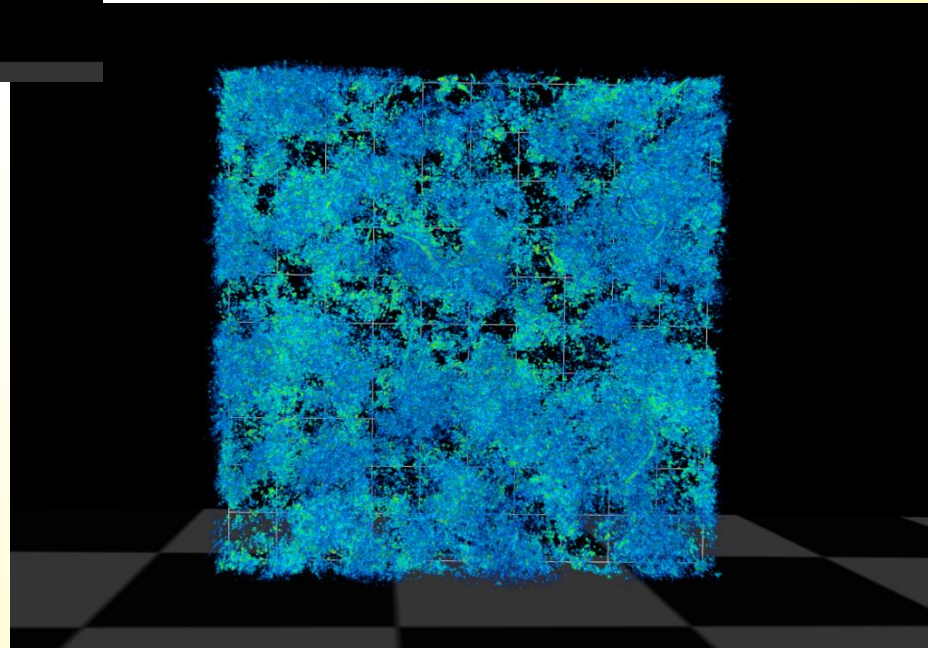
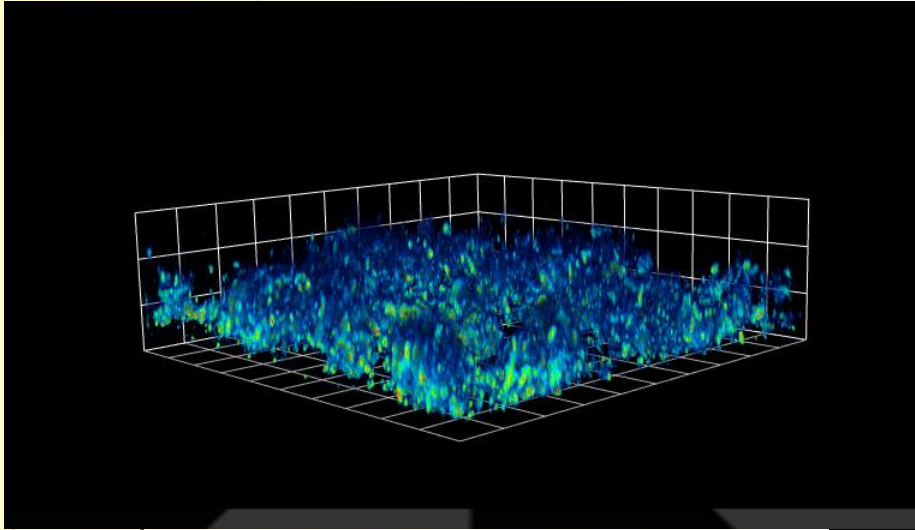
# Représentations 3D

26



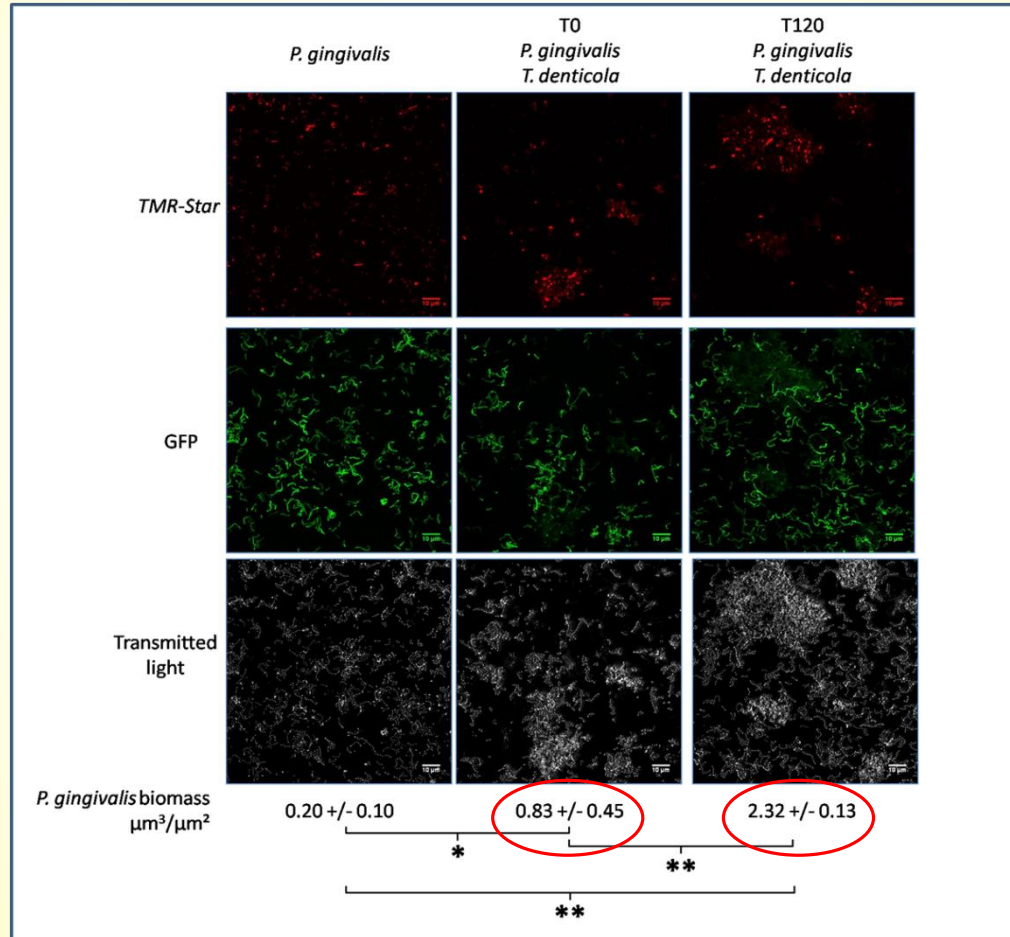
# Représentations 3D

27



# Coopération au sein d'un biofilm multi-bactérien: *Porphyromonas gingivalis*/*Treponema denticola*

L'incubation avec *T. denticola* augmente la biomasse de *P. gingivalis* dans les biofilms



*Porphyromonas*  
*gingivalis*

*Streptococcus*  
*gordonii*

Les 3 espèces

-> Modulation de l'expression de gènes d'adhésion

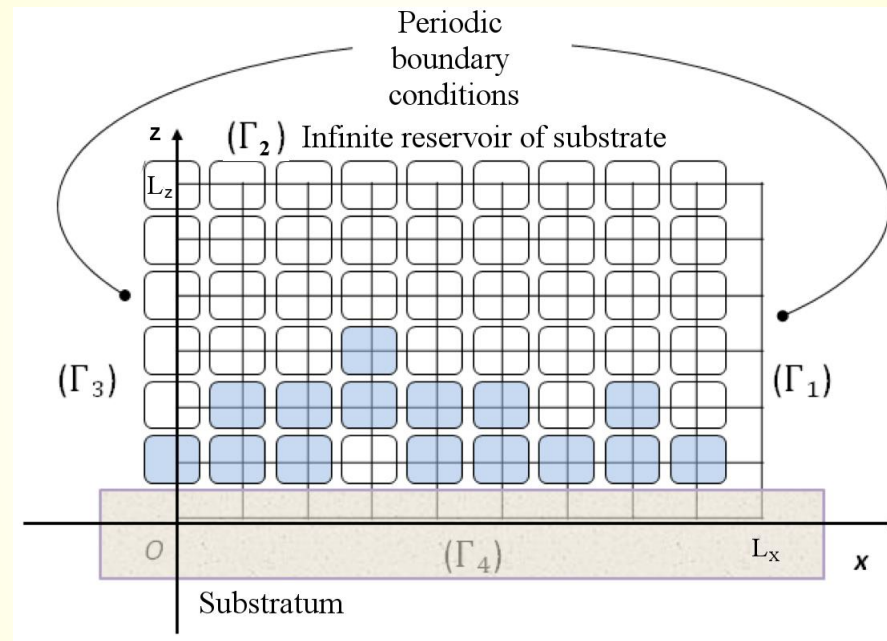
# Apport de nouvelles technologies à la compréhension des biofilms

- Nouvelles technologies de séquençage (haut débit)
- Performances microscopiques
- Modélisation mathématique

# Interactions au sein d'un biofilm multi-bactérien: *Porphyromonas gingivalis*/*Streptococcus gordonii*

30

-> Modèle expérimental + modèle mathématique



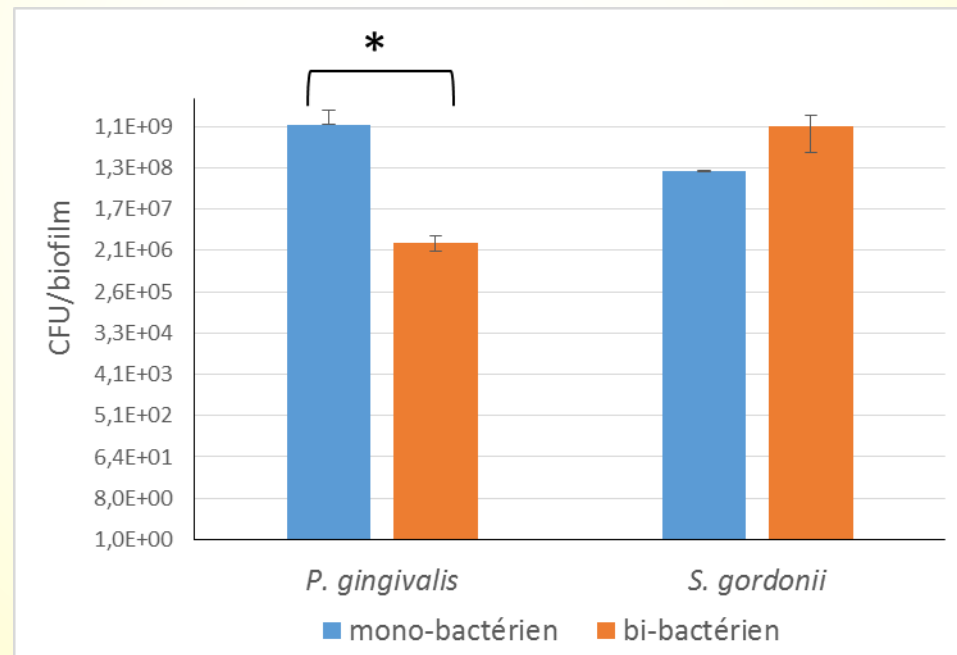
- Modèle mathématique de croissance de biofilm en fonction de la concentration en substrat (nutriment) pour chaque espèce bactérienne :

$$L = f(\mu_m C_x) / D_s \cdot C_s$$

Avec  $L$  = épaisseur du biofilm,  $\mu_m$  = taux de croissance des bactéries,  $C_x$  concentration maximale de biomasse,  $D_s$  coefficient de diffusion du substrat,  $C_s$  concentration maximale de substrat

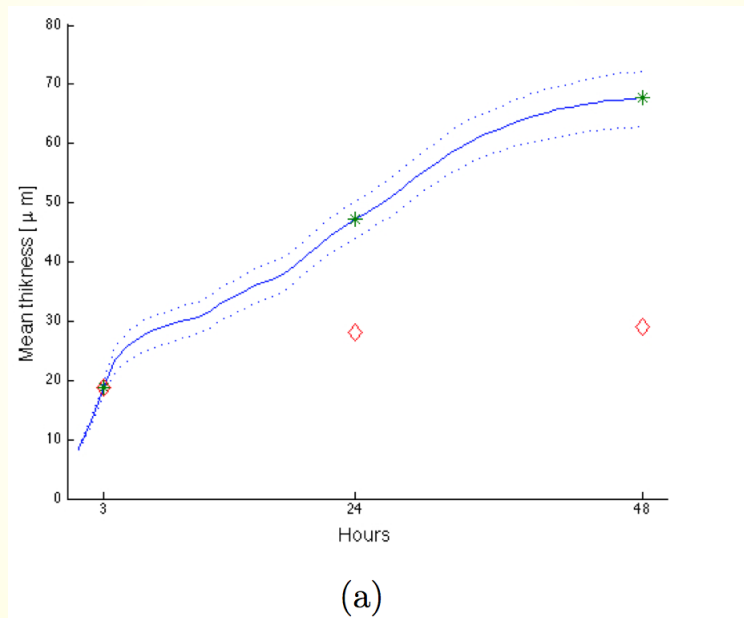
# Interactions au sein d'un biofilm multi-bactérien: *Porphyromonas gingivalis*/*S. gordonii*

-> La quantité de *P. gingivalis* diminue en présence de *S. gordonii*



## 1- **Modèle d'indépendance**

-> pas de substrat commun pour les 2 espèces

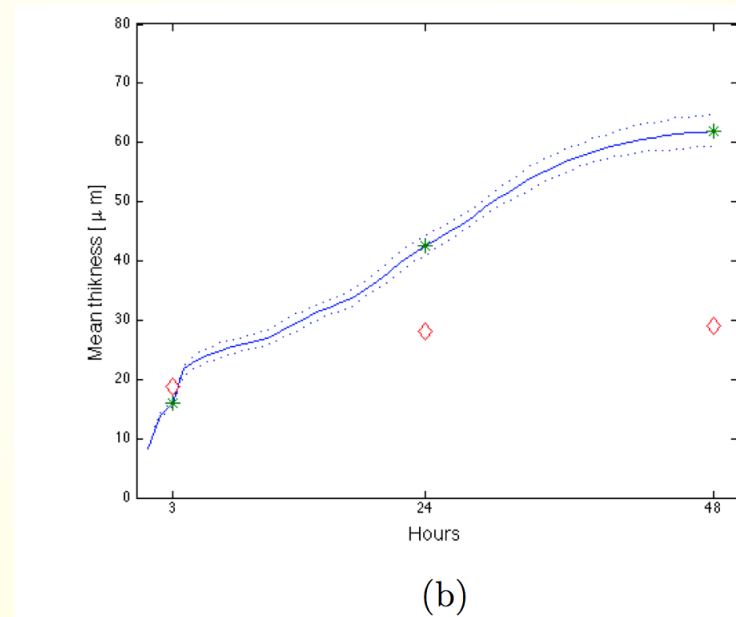


-> pas d'adéquation avec les données expérimentales



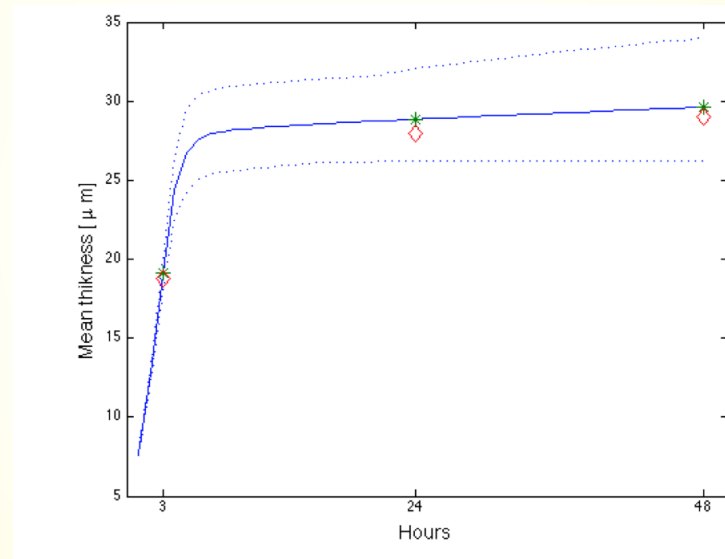
## 2- Modèle de compétition

-> modèle avec compétition de substrat entre les 2 espèces



-> pas d'adéquation avec les données expérimentales

## 3- Modèle de diffusion d'une substance toxique produite par *S. gordonii*

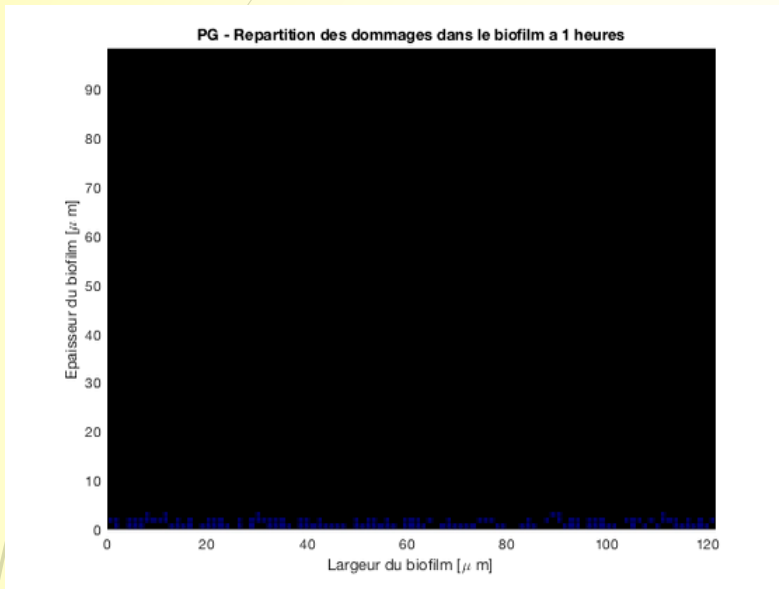


-> adéquation avec les données expérimentales (épaisseur, rugosité, et proportion de bactéries)

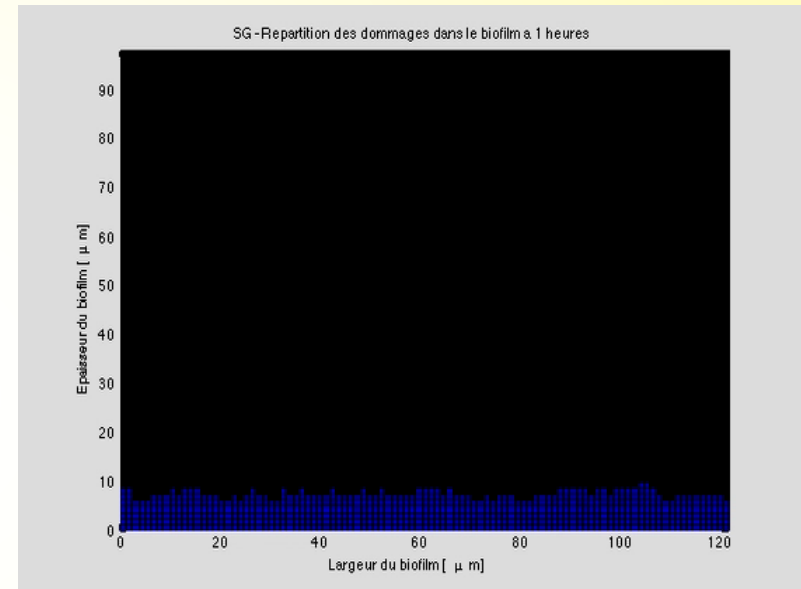
# Simulation de la croissance de biofilms bi-bactériens

35

***P. gingivalis* seul**



***P. gingivalis* +  
*S. gordonii***



Le modèle mathématique développé permet :

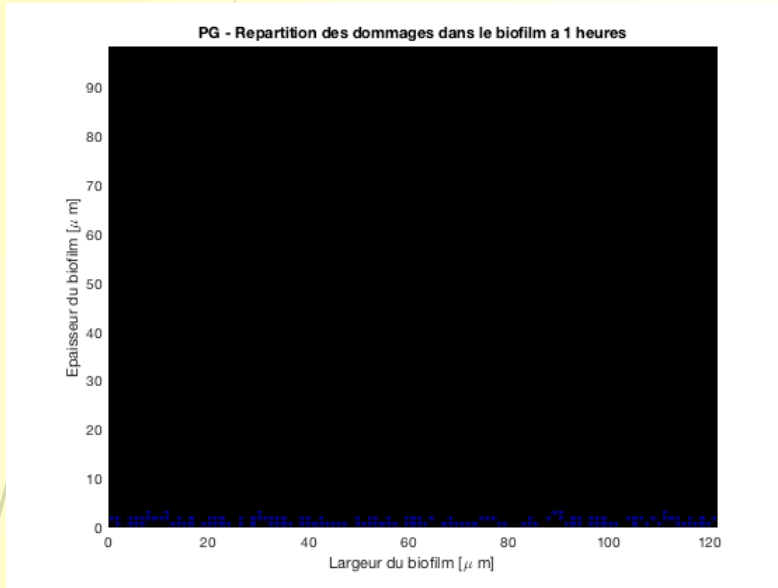
- L'étude des caractéristiques de l'interaction entre 2 espèces dans un biofilm en croissance
- De prévoir le comportement de 2 espèces dans un biofilm

-> peut être utilisé avec d'autres espèces/substrats

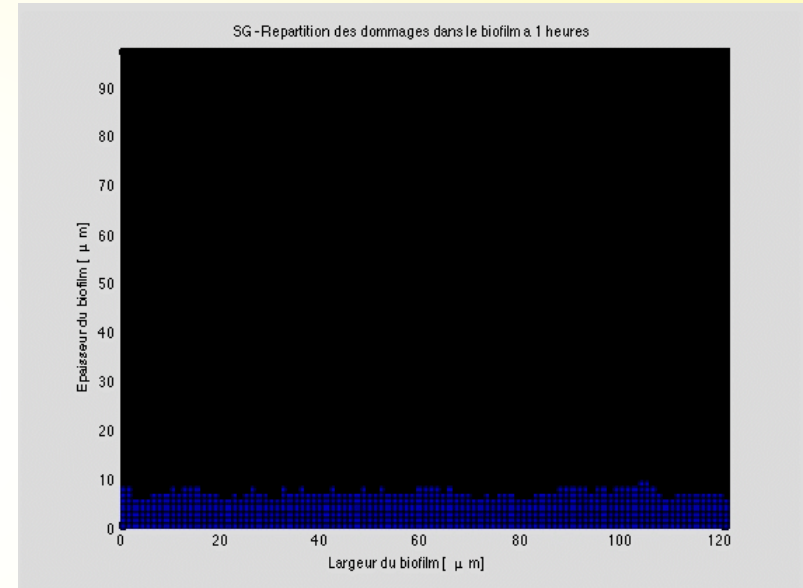
# Simulation de la croissance de biofilms bi-bactériens

36

***P. gingivalis* seul**



***P. gingivalis* +  
*S. gordonii***



Le modèle mathématique développé permet :

- L'étude des caractéristiques de l'interaction entre 2 espèces dans un biofilm en croissance
- De prévoir le comportement de 2 espèces dans un biofilm

-> peut être utilisé avec d'autres espèces/substrats

# Perspectives thérapeutiques anti-biofilms

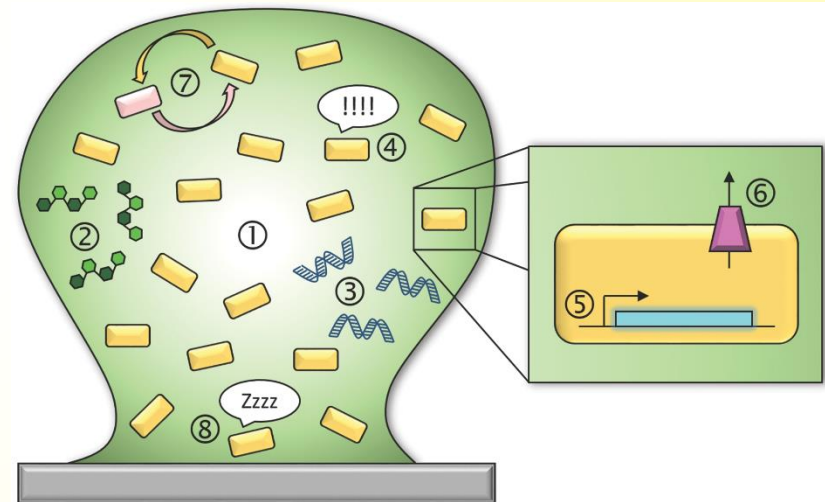
37

Traitements actuels des parodontites :

- Élimination de la plaque dentaire (non invasif ou chirurgical)
- Association avec traitement anti-microbien (antibiotique)

Problèmes :

- Résistance accrue des bactéries sessiles
- Manque de sélectivité
- Accessibilité des traitements
- Effets secondaires



FEMS Microbiol Rev. 2017;41(3):276-301

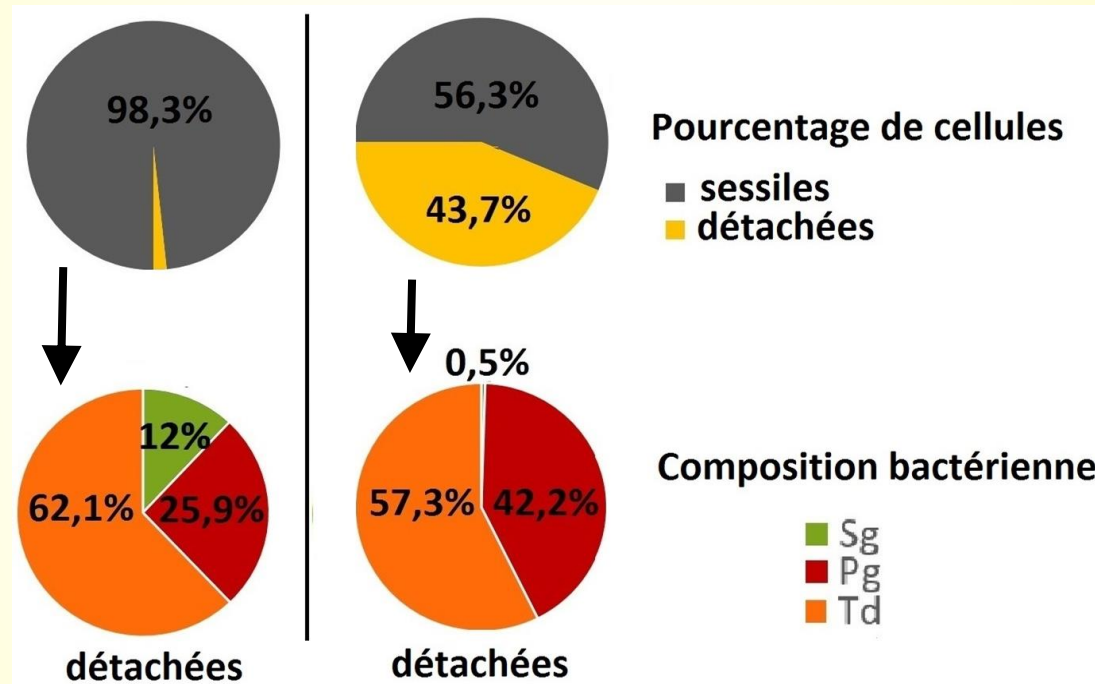
-> **Nécessité de thérapies efficaces et ciblées contre les biofilms**

# Nouvelles stratégies thérapeutiques anti-biofilms

38

- traitement

+ traitement



→ Le traitement amplifie le **détachement** des **cellules bactériennes**  
(Principalement *T. denticola* et *P. gingivalis*)

# MERCI POUR VOTRE ATTENTION

## **Microbiologie**

Institut NUMECAN - U1241 INSERM  
Université de Rennes 1

► Martine Bonnaure-Mallet,  
Christine Baysse, Kanchana Chathoth

## **Bio-informatique**

Institut NUMECAN - U1241 INSERM  
Université de Rennes 1

► Vincent Meuric, Emile Boyer,  
Sandrine Le Gall

## **Microscopie- Analyse images**

Microscopy Rennes Imaging Center  
Rennes

► Stéphanie Dutertre, Sébastien Huet

## **Modélisation mathématique**

IRMAR- Université de Rennes 1

► Fabrice Mahé

### A- Détermination des paramètres du modèle :

#### Biofilms à 1 espèce

*P. gingivalis*  
ou  
*S. gordonii*

### B- Simulation de la croissance en biofilm :

#### Biofilms à 2 espèces

*P. gingivalis* + *S. gordonii*

