



Biofilm Pathogène et Chronicisation de la Cystite: des évidences scientifiques aux stratégies thérapeutiques

Ce document est le fruit du travail d'une team d'experts Deakos.

Ce document se veut un instrument d'information et diffusion de faits scientifiquement avérés et vérifiés au sujet des biofilms pathogènes et de leur implication dans certaines pathologies chroniques des voies urinaires.

Deakos autorise la divulgation de ce document à toute personne souhaitant s'informer sur ce sujet à condition de le conserver dans son intégralité pour ne pas dénaturer son contenu ou le soumettre à des interprétations thérapeutiques erronées.

Ce document ne constitue ni un outil diagnostic ni une préconisation thérapeutique et ne se substitue en aucun cas à l'avis d'un médecin.

Afin de faire clairement la part des choses entre extraits, citations et reformulations issues des études et essais scientifiques et explications et vulgarisation de ces mêmes concepts pour faciliter leur accès et compréhension, nous avons choisi d'employer un code couleur.

Pour toutes questions ou remarques, vous pouvez nous joindre



infofrance@deakos.com
info@deakos.com



+39 0187 575150



#Deakos
#Deakos France
#Deakos España

1. BIOFILM: QUE SONT-ILS?
 - 1.1. HISTOIRE DES BIOFILMS
 - 1.2. DÉFINITION ET DESCRIPTION DES BIOFILMS
 - 1.3. CYCLE D'ÉVOLUTION DU BIOFILM
 - 1.4. PARTICULARITÉS DES BIOFILMS EN URO-GYNÉCOLOGIE
2. BIOFILM: QUEL PROFIL DU PATIENT EN URO-GYNÉCOLOGIE?
3. BIOFILM: QUELS OUTILS DIAGNOSTIC?
4. BIOFILM: QUELLES STRATÉGIES THÉRAPEUTIQUES?



1. Biofilm: que sont-ils?

Dans ce premier paragraphe il s'agit de définir clairement les biofilms pathogènes en faisant une synthèse expliquée de ce que nous disent les travaux scientifiques en la matière faisant consensus auprès du corps médical.

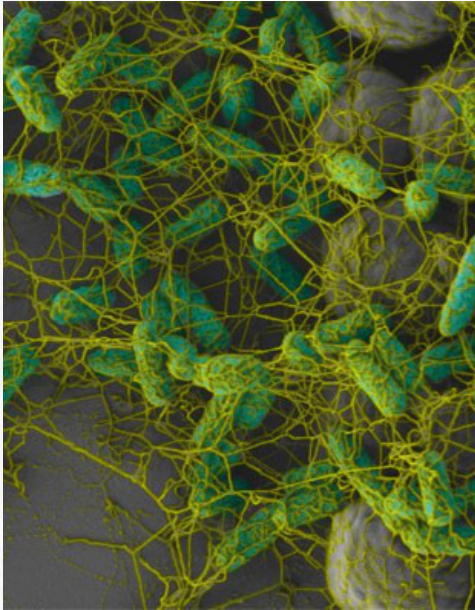


Fig.1: Biofilm extracellulaire composé d'*Escherichia coli* (Courtesy of Dr Ronn Friedlander, Harvard University)

1.1. Histoire des biofilms

Dans l'histoire de la microbiologie, les microorganismes ont longtemps été considérés comme des cellules planctoniques en suspension, et classifiés sur la base de leur développement observé dans de riches milieux de culture.

Cet état de fait implique deux points concernant l'étude des microorganismes

- l'étude *in vitro* comporte une marge d'inexactitude dans ses observations et conclusion parfois très importante par rapports à l'étude *in vivo*
- l'hypothèse selon laquelle les caractéristiques données à un microorganisme en suspension sont les mêmes que celles de ce même microorganisme adhérent sur une paroi (vivante ou inerte) est souvent inexacte.

A la fin des années 1600, Anton Van Leeuwenhoek, en gratant la surface de ses dents, observe pour la première fois avec son microscope rudimentaire l'*animalcules* (= animal microscopique), une communauté microbienne organisée.

En 1969 au cours d'une étude sur la filtration de l'eau, Jones, à l'aide de son microscope électronique, confirme que les biofilms sont formés de différentes cellules.

Puis, en 1973, avec des études sur les boues industrielles (Characklis W.G., 1973), on découvre que les colonies bactériennes ne sont pas seulement persistantes mais bien résistantes aux agents antibiotiques.

Ce n'est qu'en 1978 que Costerton, le père de la «théorie» des biofilms, décrit avec précision les différences existantes entre les bactéries adhérentes et leurs semblables sous forme planctonique (en suspension). Il explique également comment la plupart des bactéries peuvent coloniser un milieu grâce à des biofilms biotiques ou une surface inerte grâce à des biofilms abiotiques (Costerton, J.W. et al., 1978).

Cette distinction entre biofilms biotiques et abiotiques est de première importance puisqu'elle explique et justifie la possible existence de biofilm tant sur les parois vivantes (muqueuse vésicale, urétrale ou vaginale) que sur les dispositifs médicaux internes (dispositifs intra-utérins, stents urétéraux, clips fermant les trompes de Fallope), que sur les concrétions minérales (calculs rénaux).

Les évolutions techniques successives dans le domaine de la microscopie laser et les méthodes de recherche en génétique moléculaire ont permis de démontrer que les populations bactériennes *in vivo* existent justement grâce à la possibilité de former des biofilms (R. M. Donlan, 2002).

En d'autres termes, la persistance de colonies bactériennes pathogènes dans la vessie, l'urètre ou le vagin est favorisée par la formation de biofilms.

D'après un avis du «centre pour le contrôle et la prévention des maladies infectieuses» de Atlanta, au moins 65% des infections bactériennes humaines impliquent la formation de biofilms (Potera C. 1999).



Fig.2 : Biofilm sur un cathéter (Donlan and Costerton, 2002).

1.2. Définition et description des biofilms

Le biofilm est composé de la façon suivante: environ 15% de microorganismes souvent pathogènes et 85% de matrice polysaccharidique (substances polymériques extracellulaires). Cette matrice est produite par les microorganismes eux-mêmes, a une action adhésive sur les surfaces (vivantes ou inertes) et contient un système circulatoire primitif (Costerton et al., 1999).

L'adhésion des colonies bactériennes sur un support, vivant ou non (urothélium ou dispositifs médical), est assurée non seulement par les adhésines mais aussi par la matrice du biofilm elle-même, ce qui garantit une meilleure persistance de la structure malgré d'éventuelles agressions environnementales (antibiotique, leucocytes, macrophages...etc).

Le biofilm comporte des communautés microbiennes structurées et des cellules fongiques enveloppées par une matrice polysaccharidique auto-produite et en capacité d'adhérer aux surfaces vivantes ou, comme les dispositifs médicaux, inertes (Leonhard M et al., 2013; Graziottin et al., 2014).

Ce passage souligne l'existence de biofilms polymicrobiens à l'intérieur desquels on trouve non pas une mais plusieurs souches bactériennes différentes et, parfois, également des souches fongiques (tel que le *Candida albicans* dans le cas des infections vaginales).

Ce cas de figure permet d'expliquer l'alternance de résultats d'examens: tantôt négatif, tantôt positif pour un germe, tantôt positif pour un autre.



Fig.3: Développement d'un biofilm polymicrobien formé de *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Flavobacterium* spp. (Donlan and Costerton, 2002).

À l'intérieur des biofilms, la matrice polysaccharique agit comme une barrière qui protège les bactéries contre les facteurs environnementaux nocifs, le système immunitaire et les substances antibactériennes et antibiotiques présentes dans l'organisme hôte (Graziottin et al 2014).

En d'autres termes, les substances naturellement produites par le corps et traditionnellement employées en médecine pour lutter contre une infection (antibiotiques) seront inefficaces contre les bactéries qui se trouvent à l'intérieur du biofilm.

La résistance bactérienne aux antibiotiques est fortement augmentée lorsque les bactéries sont enfermées à l'intérieur d'un biofilm et provient de trois mécanismes:

- Une résistance physico-chimique (la ciprofloxacine et les aminoglycosides qui habituellement rejoignent la moitié de leur objectif bactéricide en quelques secondes, en présence de biofilm vont mettre plus de 21 minutes à avoir le même effet).

La composition de la matrice polysaccharidique elle-même en fait une véritable «armure» difficilement pénétrable par les antibiotiques. Cette caractéristique conduit à une réduction de l'efficacité bactéricide des substances antimicrobiennes classiques favorisant la persistance et résistance de l'infection.

- Une résistance métabolique (métabolisme ralenti)

À l'intérieur du biofilm, les cellules microbiennes peuvent ralentir leur métabolisme au minimum (comme une espèce de mise en sommeil). Ce ralentissement induit une réduction à minima de leur besoin en nutriments et oxygène et de leur production de déchets ainsi qu'un arrêt quasi total de leurs échanges avec le milieu extérieur. De cette façon, les microorganismes «latents» auront une sensibilité moindre à d'éventuelles substances bactéricides (comme les

antibiotiques ou les leucocytes) et une durée de vie prolongée.

- Une résistance génétique (transfère de plasmides ou de matériel génétique)

Ce mécanisme permet aux différents microorganismes présents dans le biofilm d'échanger entre eux du matériel génétique. Ces échanges, aléatoires, entraînent la formation de souches bactériennes aux nouvelles caractéristiques génétiques (pour simplifier, on peut comparer ce processus à celui de la mutation). Ces échanges finissent par donner lieu à la création d'une souche qui sera plus résistante aux antibiotiques.

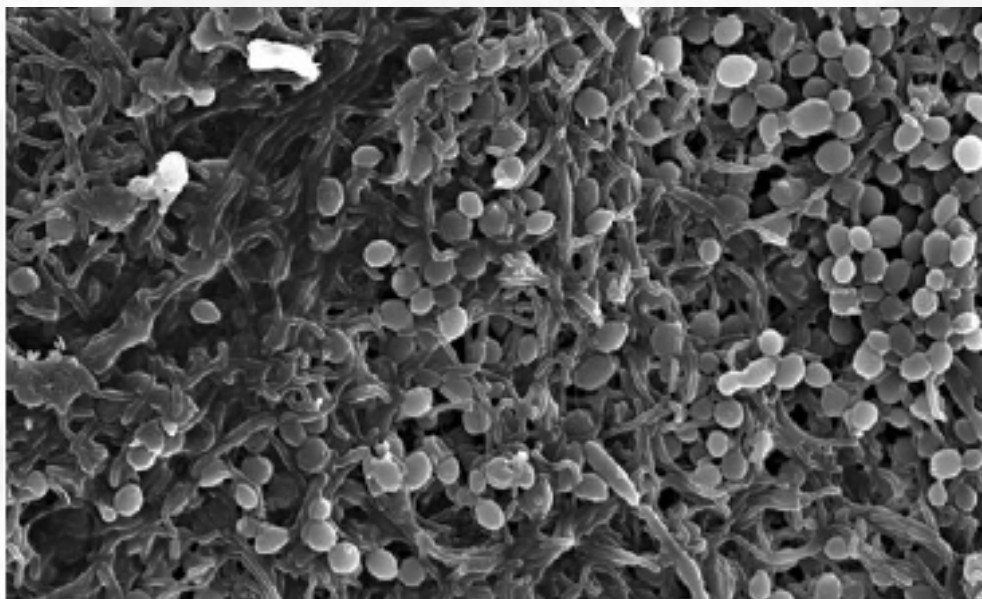


Fig.4: Image microscopique d'un biofilm polymicrobien sur un support en silicone (Kindly provided by Leonhard M. et al., 2013, with permission).

La matrice polysaccharidique du biofilm constitue un environnement dynamique dans lequel les bactéries et les champignons peuvent accumuler des nutriments et maintenir un bon niveau d'homéostasie.

De façon surprenante, les biofilms sont fortement hétérogènes et contiennent fréquemment différentes souches de microorganismes qui coexistent.

Ce constat reprend et insiste sur l'aspect polymicrobien du biofilm; c'est à dire sur la coexistence à l'intérieur d'une même matrice, de plusieurs espèces de microorganismes qui vont coopérer entre elles.

La nature et composition de la matrice polymérique dépend également de facteurs externes comme par exemple les propriétés physico-chimiques du milieu où se trouve le biofilm, et de facteurs internes comme par exemple le génotype des cellules microbiennes.

La structure complexe et dynamique du biofilm peut varier en fonction de:

- Statut physiologique des cellules

On parle ici notamment du niveau métabolique des microorganismes contenus dans le biofilm. Par exemple: des bactéries dont le métabolisme a un niveau normal vont entraîner une plus importante formation de canaux similaires à une circulation capillaire car leur besoin en nutriments et oxygène sera plus important que des bactéries «dormantes».

- Disponibilité en nutriments

Il semble relativement évident que la présence de substances nutritives en plus ou moins grande quantité influe sur la structure du biofilm et des colonies bactériennes qu'il renferme.

- Milieu de formation

A titre d'exemple, le biofilm présent dans la vessie diffère de celui que l'on peut trouver dans les fosses nasales en raison des caractéristiques différentes de ces deux environnements.

- Espèces microbiennes contenues (Ian W. Sutherland, 2001).

Ceci étant dit, on peut affirmer que les biofilms sont des systèmes biologiques disposant d'un important niveau de structuration, dans lesquels les bactéries sont organisées en communautés fonctionnelles capables, si nécessaire, de coopérer dans les processus métabolico-repro-

ductifs et infectieux (Davey and O'Toole, 2000).

Les biofilms microbiens sont prédominants dans divers écosystèmes et sont composés de communautés multi-espèces hautement structurées (Romanova *luM* 2011).

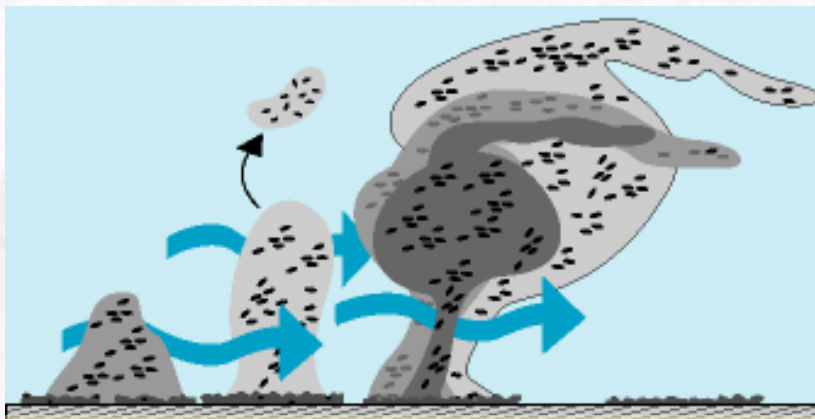


Fig. 5: Représentation schématique des caractéristiques structurales de biofilms en forme de «toun» ou de «champignon». Les flèches bleues indiquent le flux circulaire des nutriments au travers les canaux d'eau. La flèche noire indique un détachement de colonie bactérienne infectieuse (départ d'un nouvel épisode aigu).



Les mêmes mécanismes physiopathologiques se retrouvent dans différentes sections corporelles:

- fosses nasales (sinusite, rhums récidivants),
- poumons (bronchites ou infections pulmonaires),
- voies urinaires (cystites, urétrites),
- système reproducteur (vaginoses, candidoses vulvo-vaginale, prostatites bénignes),
- dents
- peau
- tube digestif

Ce constat indique et confirme une agressivité microbienne généralisée et une stratégie orientée vers la survie des microorganismes dans n'importe quel environnement.

Dans la couche la plus profonde du biofilm, là où on peut constater une carence en oxygène et en nutriments, les agents pathogènes vivent à l'état de quiescence comme persister cells (PC), résistants aux antibiotiques car en condition phénotypique et métabolique protégée.

Les persisters cells sont un exemple criant de métabolisme microbien ralenti, ce qui leur confère une haute tolérance et résistance aux antibiotiques.

L'installation en profondeur des PC assure aussi la résistance bactérienne des cellules contre le système immunitaire de défense naturelle de l'hôte, permettant à l'infection d'attaquer de nouveau.

Le biofilm est un laboratoire vivant dans lequel les plasmides des microorganismes pathogènes montrent de multiples capacités de combinaison jusqu'à faire émerger une « super-bactérie » antibiorésistante.

Les microorganismes peuvent se détacher d'un biofilm mature et coloniser d'autres lieux, jusqu'à l'invasion systémique.

Le biofilm multi-espèces contient des microorganismes capables d'interactions et de com-

munications intercellulaires conduisant à la création d'un environnement symbiotique où les métabolites de certaines espèces peuvent devenir des sources d'énergie pour d'autres. À l'intérieur de ce type de biofilm, les diverses espèces sont capables de répondre aux variations environnementales en constituant un système biologique complexe formé de structures coordonnées et de communautés fonctionnelles (Rickard et al., 2003).

On comprend ici que le biofilm polymicrobien est constitué par plusieurs colonies microbiennes et/ou fongiques qui vont collaborer les unes avec les autres favorisant ainsi d'autant plus la persistance de l'infection.

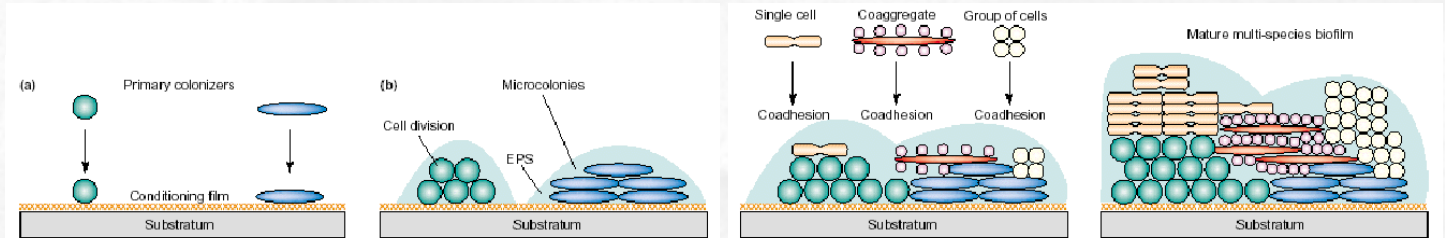


Fig. 6: Schéma de coagrégation dans le développement d'un biofilm multi-espèces (Rickard et al., 2003).

1.3. Cycle d'évolution du biofilm

Comme toute structure biologique dynamique le biofilm suit une évolution naturelle qui peut être résumée en 6 étapes:

- Adhésion des germes uropathogènes

L'une des principales caractéristiques communes à tous les germes responsables d'infection urinaire (à quelques rares exceptions près) est la présence sur leur surface de pili (ou fimbriae). Ce sont des structures protéiques qui recouvrent l'ensemble de la surface des bactéries et dont certaines sont terminées par un polypeptide leur conférant la fonction d'adhésine. L'adhésine des pilis est en capacité d'interagir avec un récepteur cellulaire présent à la surface des cellules qui constituent certaines parois telles que l'urothélium. Cette interaction va donner lieu à la formation d'une liaison bactérie/urothélium: on parle alors d'adhésion bactérienne.

Cette fixation des germes sur la muqueuse vésicale et/ou urétrale empêche leur élimination avec le flux urinaire et leur permet de persister à l'intérieur de la vessie et d'y proliférer pour devenir pathogènes.

Les pilis des bactéries agissent comme des grappins qui vont permettre aux bactéries pathogènes (*E. coli*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Streptocoques*...) de s'accrocher sur la muqueuse vésicale, urétrale ou vaginale pour, ensuite, y proliférer sans pouvoir être expulsées par les urines au moment de la miction ou par les quotidiennes sécrétions vaginales physiologiques.

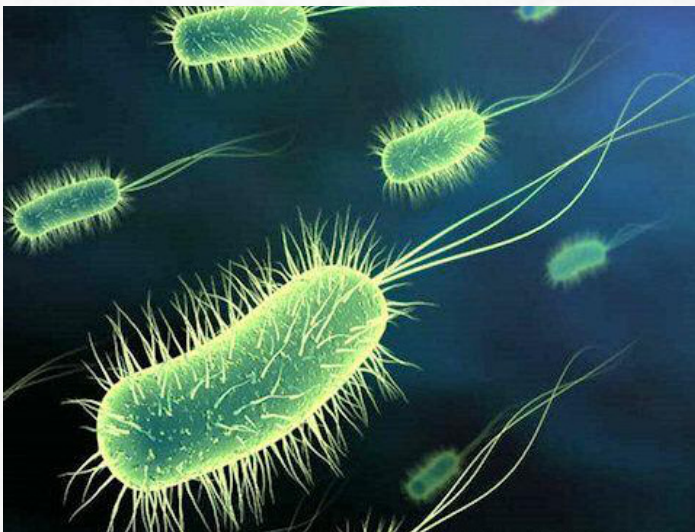


Fig. 7: *Escherichia coli* vue au microscope électronique

- Agrégation cellulaire

Les agents pathogènes, grâce à leur capacité de se lier fortement avec l'urothélium, vont se multiplier pour former des colonies bactériennes. Ces ensembles de microorganismes vont à la fois adhérer à la paroi et s'agréger les uns aux autres ce qui leur garantit une plus grande possibilité de persister à l'intérieur de la vessie.

Cette agrégation cellulaire constitue le point de départ de la formation d'un biofilm.

- Formation de la matrice polysaccharidique

Après leur agrégation, les colonies microbiennes vont commencer à synthétiser des

substances polymériques qui, peu à peu, vont les envelopper.

La matrice polysaccharidique résultant de cette auto-production cellulaire finira par englober l'ensemble des colonies bactériennes, leur garantissant une protection contre les agents environnementaux qui pourraient leur nuire.

Le biofilm est donc une espèce de manteau protecteur qui isole les germes du milieu vésical, urétral ou vaginal et les protège contre l'action des antibiotiques, des leucocytes ou toute substance antimicrobienne (y compris le d-mannose).

- Maturation du biofilm

Lors de sa maturation, le biofilm va croître et former des canaux internes imitant un système circulatoire primitif pour drainer les nutriments, l'oxygène et les déchets.

Les cellules contenues dans le biofilm peuvent se comporter de façon différente en fonction de:

- leur statut métabolique
- la disponibilité en nutriments et oxygène
- les espèces en présence

Lorsque l'ensemble des conditions sont favorables, on note une activité microbienne constituée de transfères de plasmides.

Autrement dit, lorsque nutriments et oxygène sont présents en quantité suffisante, que les microorganismes ont un métabolisme normal et que les souches bactériennes présentent des caractéristiques génétiques (= génotype lié à l'ADN) différentes, on assiste à des échanges de matériel génétique entre les cellules qui va conduire à la naissance d'une génération successive encore plus à même à persister dans le milieu de croissance du biofilm (la vessie, l'urètre ou le vagin) et à résister aux facteurs environnementaux pouvant lui nuire.

Contemporainement, les microorganismes du biofilm, installent des persister cells dans la couche la plus profonde de ce dernier. Ces cellules, souvent à l'état quiescent (= dormant), constituent une réserve génétique qui, en cas de désagrégation du biofilm, représente une chance pour les colonies microbiennes de s'assurer une descendance future par le biais d'une nouvelle adhésion sur l'urothélium et de la reconstitution d'un nouveau biofilm.

- Ouverture du biofilm

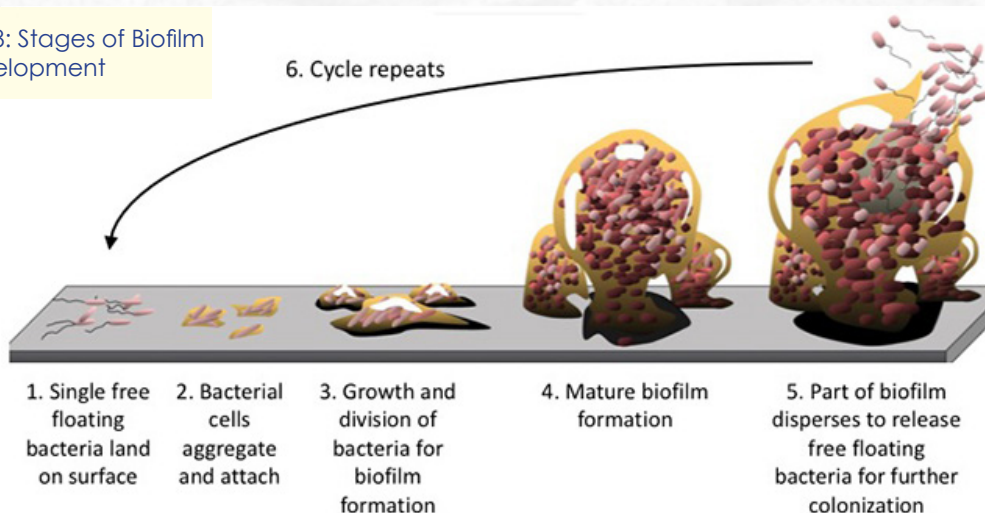
Lorsque le biofilm arrive à maturité il relâchera dans le milieu vésical de nouveaux germes pathogènes aux caractéristiques génétiques différentes, résultats des échanges génétiques. A l'état actuel de nos connaissances, il semble que le biofilm mature persiste et que son activité microbienne interne reprenne après cette désagrégation partielle.

On peut illustrer cette étape en la comparant à un ballon qui gonfle et fini par s'ouvrir.

- Recolonisation du milieu par les cellules relâchées par le biofilm

Les bactéries uropathogènes relâchées par le biofilm adhéreront nouvellement sur l'urothélium grâce à leurs adhésines. Cette adhésion sera le point de départ possible de la formation d'un nouveau biofilm.

Fig. 8: Stages of Biofilm Development



1.4. Particularités des biofilms en uro-gynécologie

Le biofilm typique dans le domaine uro-gynécologique peut être:

- extracellulaire
- intracellulaire

Le biofilm extracellulaire (observé notamment dans le milieu vaginal) est composé d'un ensemble complexe de microorganismes pathogènes qui sécrètent des substances polymériques. La structure de cette matrice polysaccharidique est traversée par un vaste réseau de canaux qui s'anastomosent pour former un pseudo système circulatoire primitif et jouent un rôle protecteur contre la pénétration des médicaments et les agents de la réponse immunitaire.

Le biofilm extracellulaire se développe habituellement sur la face apicale des cellules de la muqueuse (Graziottin et al., 2014; Aparna M.S. and Braz Y.S., 2008; Leonhard M. et al., 2013).

Cela signifie que le biofilm se forme à la surface de la paroi et croît en direction de la cavité de l'organe et ne s'enfonce pas dans les couches inférieures qui composent la muqueuse.

La stratégie de survie des agents pathogènes au travers la formation de biofilm extracellulaires est l'une des principales causes de la persistance, résistance et récurrence de certaines infections (Lewis K. 2008).

Le biofilm intracellulaire se trouve à l'intérieur de la muqueuse. Il est caractérisé par une souche bactérienne spécifique d'*Escherichia coli*, qui porte un antigène K (UPEC). Cette espèce est responsable de 75 à 85% des cystites récurrentes et de la formation du biofilm intracellulaire (Rosen D.A. et al., 2007).

Dans la grande majorité des cas donc le principal germe contenu dans le biofilm est *Escherichia coli*.

Les communautés bactériennes intracellulaires sont renfermées dans une matrice polysaccharidique encerclée par une coquille protectrice d'uroplaque (Anderson GG and Palmero JJ 2003).

Cette dernière conclusion nous apprend que les biofilms intracellulaires sont des structures recouvertes par les cellules urothéliales. Elles ne sont donc plus en surface mais bien infiltrées dans les couches inférieures de la muqueuse vésicale (urétrale ou vaginale).

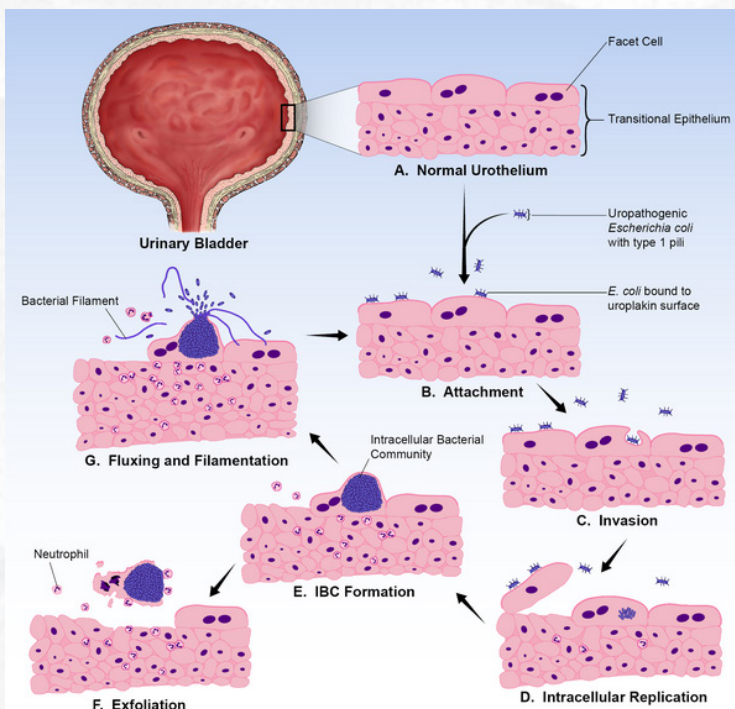


Fig. 9: Biofilm intracellulaire (Kindly provided by Rosen et al., 2007, with permission).

Concernant l'«anatomie» du biofilm, il peut se présenter comme:

- Un biofilm ponctiforme

Il s'agit donc de la présence de plusieurs biofilms (en forme de «points») localisés en des endroits différents de la vessie. Ces matrices polysaccharidiques peuvent mesurer de quelques centaines de micromètres jusqu'à un maximum de 2mm (situation probablement très ancienne).

- Un biofilm étendu sur superficie

Il s'agit alors d'un unique biofilm, recouvrant l'ensemble de la paroi de la vessie sur des aires plus ou moins étendues, extrêmement fin, transparent et se confondant avec l'urothélium lui-même.

2. Biofilm: quel profil du patient en uro-gynécologie?

Le propos de ce paragraphe est de délimiter, autant que faire se peut, les contours d'un profil de patient pouvant être concerné par le biofilm pathogène uro-gynécologique.

Le biofilm peut apparaître au cours d'un tout premier épisode infectieux (infection urinaire, vaginose ou candidose vulvo-vaginale). On estime que le temps nécessaire à la synthèse de la matrice polysaccharidique primitive est de l'ordre de 72h. Nous disposons de peu d'éléments sur les raisons pour lesquelles un biofilm va s'installer chez un sujet plutôt que chez l'autre. Ceci dit, il est désormais certain que la formation d'un biofilm peut se vérifier à partir du moment où une infection perdure plus de trois jours.

Cette persistance de l'infection peut être visible car symptomatique ou car asymptomatique.

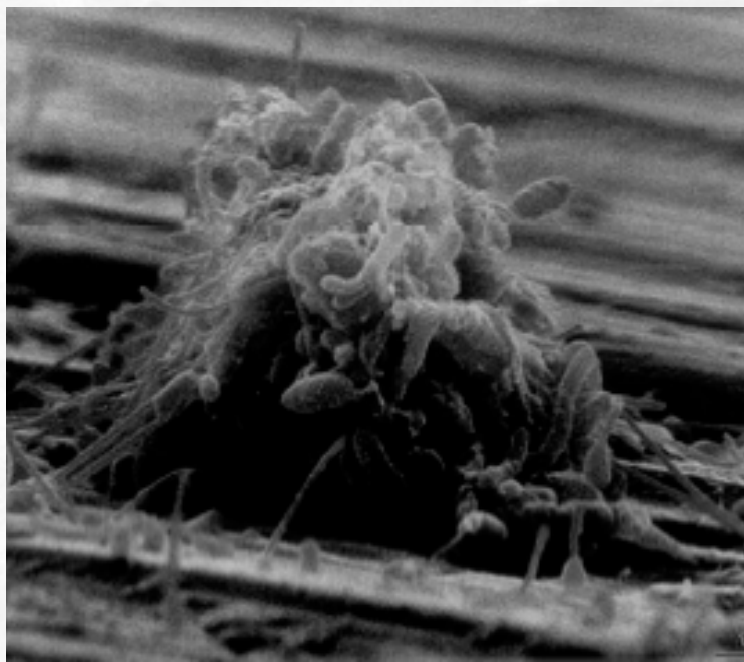


Fig. 10: Micrographie électronique d'un biofilm en cours de développement dans un réseau d'eaux industrielles (Donlan and Costerton, 2002).

Il semble opportun ici de présenter un exemple concret:

Lors d'un épisode aigu de cystite bactérienne, les recommandations actuelles en matière d'urologie préconisent la prise d'un antibiotique (fosfomycine) monodose avant de pouvoir consulter les résultats de l'analyse urinaire. Cette approche thérapeutique, bien que faisant consensus peut contribuer à la formation d'un biofilm en raison d'une persistance de l'infection:

- De manière visible = symptomatique
Malgré la première intervention thérapeutique avec la dose antibiotique unique, les symptômes restent présents, signe que les germes pathogènes sont toujours dans la vessie. Cette persistance de l'infection peut être l'occasion de la formation d'un biofilm en l'absence de réponse thérapeutique rapide et adaptée.

- De manière invisible = asymptomatique

La prise d'un traitement antibiotique non spécifique comporte, entre autre, le risque d'une inefficacité dans son action bactéricide. En effet, chaque souche bactérienne a son propre spectre de sensibilité à l'antibiotique et peut comporter de bactéries plus résistantes. Pour cela, l'antibiotique (spécialement pris en monodose) va faire baisser la numération des germes ce qui diminue les symptômes et donne l'impression d'une amélioration ou guérison de la cystite pendant quelques heures ou jours. Mais par la suite les bactéries n'ayant pas été détruites reprennent leur prolifération ce qui donne lieu à un retour de la symptomatologie douloureuse typique de la cystite.

Cette situation est souvent interprétée comme une récurrence alors qu'il s'agit bien d'une rechute de la même infection qui, pendant toute la période asymptomatique, aura pu former un biofilm.

En cas de pathologies infectieuses uro-gynécologiques récidivantes (plus de 4 épisodes sur les 12 derniers mois) il est utile de prendre en considération l'existence d'un biofilm pathogène. Chez un sujet souffrant de récurrences infectieuses il est donc indiqué d'adapter la stratégie thérapeutique pour l'orienter vers une action contre le biofilm.

En présence d'un biofilm multi-espèces, les ouvertures successives du biofilm vont relâcher dans le milieu des colonies bactériennes appartenant à des espèces différentes.

Les résultats d'examen (ecbu ou frottis vaginal) révéleront donc des germes différents pour

chaque épisode aigu. De cette façon, il semble que les récurrences soient dues à des épisodes différents, indépendants les uns des autres quand, en réalité, il s'agit de la rechute de la même infection.

Le possible ralentissement métabolique des cellules contenues par le biofilm peut donner lieu à des périodes asymptomatiques prolongées.

Le biofilm peut rester silencieux pendant des périodes allant de quelques jours à plusieurs mois. Cette mise en sommeil des souches bactériennes laisse la possibilité à l'urothélium de se restaurer et à l'inflammation de se résorber, ce qui entraîne une réduction de la symptomatologie douloureuse. Il est à noter que les analyses d'urines réalisées pendant ces périodes de «latence» seront également négatives. Tous ces éléments peuvent donc faire penser à une guérison alors qu'il ne s'agit que d'une «rémission» temporaire.

La chronicisation des infections uro-gynécologiques est la cause première de dommages importants sur les muqueuses donnant lieu à l'instauration d'une inflammation chronique de ces dernières associée à une prolongation de la symptomatologie douloureuse y compris en dehors des épisodes aigus.

On comprend ici comment il est possible, au bout d'un certain temps, de présenter un cadre symptomatologique typique de la cystite bactérienne en l'absence de germes dans les urines.

En conclusion, le «profil type» du patient concerné par la présence d'un biofilm pathogène est le suivant:



- Le point de départ de son histoire médicale est un épisode infectieux
- Il présente une chronicisation de sa symptomatologie avec une alternance entre épisodes aigus et phases «sourdes» de ses symptômes
- Ses résultats d'analyses de laboratoire sont apparemment incohérents et présentent une alternance entre infections et non infections, voire même une apparente absence de composante infectieuse
- Les germes éventuellement identifiés sur des analyses positives ne sont pas toujours les mêmes: souches bactériennes ou fongiques différentes, sensibilités antibiotiques différentes... ce qui pousse le médecin à considérer les épisodes infectieux comme des récurrences indépendantes les unes des autres
- Il présente une forte inflammation des tissus intéressés (urothélium, muqueuse vaginale) et cette inflammation, en se chronicisant, peut donner lieu à l'instauration de douleurs pelviennes chroniques et diffuses
- On constate très fréquemment une réduction des flores physiologiques (intestinale et vaginale) souvent d'origine iatrogène (due aux traitements)
- Il existe parfois une corrélation entre infection urinaire et infection vaginale (ou prostatique). Dans ce cas-là, on peut constater une alternance ou concomitance des deux cadres cliniques.

Il nous semble ici important de réaffirmer l'existence de la cystite interstitielle comme une pathologie à part entière. Toutefois, notre expérience décennale dans le domaine uro-gynécologique nous a permis de constater à de nombreuses reprises que ce diagnostic peut être posé «par défaut» et utilisé comme «voie de garage» pour apporter une réponse rapide (mais inadaptée et erronée) aux patients. En outre, lors des derniers congrès d'urologie il est apparu que le terme «cystite interstitielle» doit devenir une appellation générique permettant d'apporter une première classification pour toute une série de pathologies abactériennes (c'est à dire sans présence des germes) des voies urinaires tels que, par exemple, le syndrome vésical, le syndrome urétral ou la trigonite.

Dans un tel contexte, il convient de s'assurer de l'absence d'un biofilm rendant la présence microbienne occulte aux analyses.

3. Biofilm: quels outils diagnostic?

Le diagnostic et le traitement des biofilms peut s'avérer plus efficace que la thérapie antibiotique, souvent vaine sur le long terme (*Revue scientifique «Minerva ginecologica» n°15,16,17,18*).

La connaissance des études sur le biofilm est importante pour aider le médecin à expliquer:

1. L'absence ou incomplète réponse à la thérapie antibiotique prolongée
2. La présence concomitante d'infections et pathologies résistantes aux antibiotiques
3. L'augmentation progressive de la résistance aux antibiotiques et aux défenses immunitaires
4. La tendance de l'infection à devenir chronique (*Swidsinski A. et al., 2013*).

Les deux affirmations précédentes permettent de conseiller vivement à tout patient de consulter un médecin formé à ce type de diagnostic lorsque le cadre clinique et l'histoire médicale correspondent à une infection uro-gynécologique persistante à cause de l'existence d'un biofilm.

La matrice polysaccharidique du biofilm pathogène est une structure dynamique complexe, dont la composition peut varier en fonction de nombreux facteurs et pour laquelle aucun moyen diagnostic standardisé, fiable et facilement reproductible n'est actuellement disponible.

Hors, ces critères sont indispensables pour pouvoir proposer une stratégie et des instruments diagnostiques efficaces et avantageux du point de vue économique pour le système sanitaire.

Les caractéristiques précédemment citées du biofilm (dimension, localisation, anatomie...) en font une structure microbienne très difficilement observable à l'œil nu. Pour cette raison, la cystoscopie seule ne constitue pas un examen fiable pour l'identification ou l'observation du biofilm pathogène. Seule la cystoscopie avec biopsie permettrait une telle observation, à condition que le laboratoire soit en capacité (en possession des instruments adaptés et de la formation requise) de la faire.

Les travaux de laboratoire permettant d'identifier et étudier les biofilms requièrent:

- Un prélèvement de tissu en plusieurs points de la vessie (10 prélèvements par sujet),

Il convient ici de préciser qu'en présence de biofilm ponctiforme, ces analyses pourraient se révéler de «faux-négatifs» simplement en raison de la non spécificité des zones de prélèvement des échantillons.

- Une préparation spécifique de ces prélèvements de tissus mettant en jeu notamment l'emploi d'un produit de contraste permettant de distinguer les cellules de l'urothélium, les germes pathogènes et la matrice du biofilm.

On parle donc de procédures non standardisées et trop onéreuses pour pouvoir être proposées dans la routine médicale.

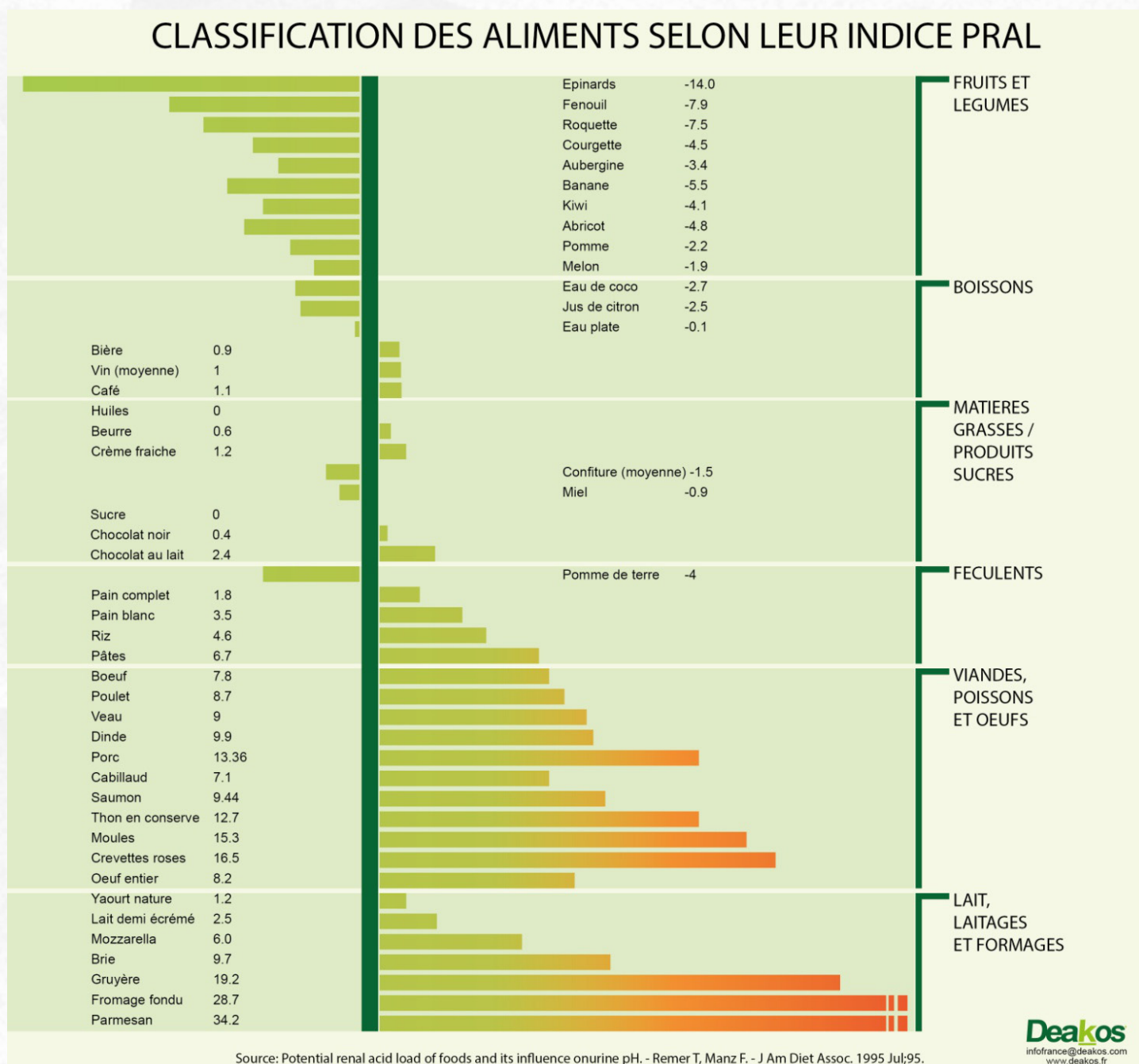
4. Biofilm: quelles stratégies thérapeutiques?

Il nous semble ici utile de rappeler deux choses:

Les patients souffrant de cystites bactériennes récidivantes (plus de 4 épisodes sur les 12 derniers mois) peuvent développer des épisodes de cystites abactériennes indépendantes de l'existence de biofilm

En effet, les agressions répétées sur la muqueuse causées par les bactéries vont entraîner une situation inflammatoire chronique des tissus avec des symptômes s'apparentant à ceux de l'infection urinaire.

Dans ce cas certaines mesures hygiéno-diététiques, suivies pendant 1 à 2 mois, permettent de minimiser les agressions subies par l'urothélium et d'agir favorablement pour diminuer l'inflammation jusqu'à résolution complète du problème.



Parmi ces mesures on peut citer:

- une suppression des agents oxydants comme l'alcool et le tabac
- une hydratation correcte: environ 1,5 litres d'eau par jour
- le port de vêtements amples et de sous-vêtements en coton blanc
- une préférence pour les coupes menstruelles à la place des tampons et serviettes hygiéniques
- une réduction des activités sportives entraînant des frottements trop importants de la zone

périnéale

- une hygiène intime non agressive avec soin de toilette adapté
- l'absence de constipation et diarrhée
- l'emploi d'une crème vaginale lubrifiante, hydratante et anti-inflammatoire avant et après les rapports
- un régime alimentaire tendanciuellement alcalinisant: limitant les fromages, laitages, viandes et poissons et favorisant les fruits, légumes, céréales et féculents

Il sera ici vivement recommandé une prise quotidienne de substances naturelles anti-inflammatoires, immunostimulantes et antioxydantes comme la *Morinda citrifolia* contenue dans Ausilium; réépithélisant pour les muqueuses et apaisant sur la douleur comme le complexe synergétique associant chondroïtine sulfate et quercétine que l'on trouve dans Cistiquer.

Dans ce contexte il convient aussi impérativement de trouver l'origine des cystites bactériennes ayant causé cette inflammation pour les traiter et éviter qu'une telle situation ne se représente.

Le phénotype du biofilm est notoirement résistant aux agents antibactériens et les cellules contenues dans le biofilm sont également résistantes aux effets bactéricides des ions métalliques (y compris le cuivre et l'argent).

Les stratégies d'intervention contre les biofilms actuellement disponibles ne sont orientées que vers les biofilms présents sur surfaces inertes comme les dispositifs médicaux internes telles que les prothèses, cathéters, sondes à demeure, stents, dispositifs intra-utérins (stérilets) et clips (comme ceux employés dans la procédure de ligature des trompes de Fallope)...

Actuellement on agit par l'intermédiaire d'un nettoyage mécanique qui consiste à retirer les biofilms à l'aide de molécules oxydatives qui dissolvent graduellement la matrice polysaccharidique et attaquent ensuite les cellules qu'elle contient.

Les stratégies d'intervention utilisées pour le contrôle du biofilm tendent à:

- empêcher la contamination initiale du dispositif
- minimiser la concentration microbienne initiale sur le dispositif
- percer la matrice du biofilm pour atteindre les cellules qui lui sont associées
- remplacer dispositifs médicaux et prothèses infectées lorsque c'est possible
- rechercher des biomatériaux en capacité de relâcher progressivement des agents antimicrobiens.

Ces stratégies font l'objet de recherches permanentes visant à l'optimisation des matériaux et de leurs revêtements et à de nouveaux protocoles d'antibiothérapie.

Sachant que les biofilms contiennent tant des cellules que des substances polymériques extracellulaires, des traitements dissociants ou pénétrants ces substances polymériques seraient très efficaces. A titre d'exemple, Johansen a souligné qu'un mélange d'enzymes est efficace, *in vitro*, sur le détachement de biofilms constitués de divers organismes (*Johansen et al., 1997*). Il est utile ici d'insister sur la nature de cette observation qui retient efficaces des enzymes *in vitro* alors que l'on sait que les mêmes substances *in vivo*, en cas de prise orale, ne parviennent à rejoindre ni la circulation sanguine, ni les différents organes en raison de leur digestion au niveau intestinale ce qui les rend inefficaces.

Cette remarque invalide la supposée efficacité de la serrapeptase sur les biofilms.

Afin de développer des biomatériaux polymériques capables d'inhiber la colonisation microbienne et la formation de biofilm, différentes stratégies ont été mises en place. L'absorption par des matrices polymériques d'un ou plusieurs agents antimicrobiens ou d'agents antifongiques a été l'une des approches suivies par la recherche.

La recherche se focalise maintenant sur l'étude des gènes de différenciation exprimés durant les premières phases de formation du biofilm dans le but de pouvoir intervenir pour inhiber leur expression empêchant ainsi complètement l'instauration du biofilm (*Donlan and Costerton, 2002*).

La capacité à diagnostiquer les infections à biofilm est fondamentale. La pharmacogénomique sera, sans doute, l'instrument thérapeutique antibactérien du futur (*Donlan and Costerton, 2002*).

Au stade de nos connaissances actuelles, la seule substance capable de dissoudre un biofilm bactérien comme celui dont nous parlons est la N-Acétylcystéine.

Plusieurs études supportent cette affirmation:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25339490>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28237766>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27492531>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27186786>

Il est important que la N-Acétylcystéine soit prise avec du D-Mannose et de la Lactoferrine.

Le D-Mannose est un sucre naturel capable d'intervenir au niveau des bactéries libérées par le biofilm lors de sa dissolution et d'empêcher leur adhésion sur la paroi de la vessie. Ainsi, une fois le biofilm dissout, les bactéries pathogènes seront éliminées avec le flux urinaire.

La Lactoferrine est une substance compétitrice naturelle des levures qui va séquestrer le fer circulant au profit de l'organisme hôte, les privant ainsi de leur nutriment principal. De cette façon les cellules fongiques libérées par le biofilm ne pourront pas se développer et finiront par disparaître du milieu dans lequel elles ont été relâchées.



Informations (pour une dose journalière)	
Ingrédients	2 flacons = 20ml
D-mannose	1000 mg
Morinda citrifolia	600 mg
N-acétylcystéine	400 mg
Lactoferrine	200 mg

Cette approche présente plusieurs intérêts:

- sans ordonnance
- posologie non contraignante et facile à mettre en œuvre (voie orale)
- indolore et non invasive (pas d'instillation ni de cystoscopie)
- sans effets secondaires
- mécanismes d'action et principes actifs qui permettent une flexibilité dans la posologie et des adaptations de la fréquence, le moment ou le dosage des prises
- confortable: gestion domestique des prises sans devoir recourir à l'intervention d'un professionnel
- efficace et reproductible aussi souvent que nécessaire
- n'induit pas de résistance ni d'accoutumance
- pas de risque de surdosage
- pas d'action bactéricide ce qui comporte de nombreux avantages:
 - les germes sont expulsés hors du milieu vivants et intacts
 - pas de libération de toxines, causes d'inflammation ultérieure de la muqueuse
 - pas de déchets biologiques libérés dans le milieu, causes possible de formation de calculs
 - pas de relâchement de radicaux libres
 - pas d'augmentation de la symptomatologie douloureuse

Deux essais cliniques ont validé l'efficacité de Ausilium NAC seul ou en association avec un traitement antibiotique. L'ensemble des protocoles et détails de ces études sont disponibles ici:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14527779>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19899620>

Si le biofilm peut apparaître dès la première infection urinaire, en revanche, sa désagrégation peut demander plusieurs semaines et cette durée est extrêmement variable d'un sujet à l'autre. En effet, la dissolution totale de la matrice polysaccharidique dépend de nombreux facteurs parmi lesquels on peut citer:

- l'ancienneté de la problématique des cystite
- le type de souches bactériennes présentes dans le biofilm
- la nature même du biofilm (extra- ou intra-cellulaire)
- l'anatomie du biofilm (ponctiforme ou étendu sur surfaces)
- la survenue d'un nouvel épisode aigu en raison de la persistance des facteurs prédisposants et précipitants aux infections en l'absence d'interventions préventives adaptées