



Biofilms sur surfaces sèches : simples vestiges microbiens ou bataillons invisibles en embuscade ?

Karine Marion-Sanchez^{1,2}

1- Laboratoire d'hygiène environnementale – Centre hospitalier universitaire (CHU) de Martinique – Fort-de-France – France

2- UMR 1058 PCCEI – Université de Montpellier, INSERM, Université des Antilles – Fort-de-France – France

✉ **Dr Karine Marion-Sanchez** – Laboratoire d'hygiène environnementale – Site Pierre-Zobda-Quitman-2 – CHU de Martinique – CS 90632 – 97261 Fort-de-France Cedex – France – Email : karine.sanchez@chu-martinique.fr

Introduction

Plus de trois siècles se sont écoulés depuis qu'Antonie van Leeuwenhoek observa des « animalcules » pour la première fois sur des plaques dentaires, grâce au premier microscope à lumière directe [1]. Sans en avoir conscience, il venait d'ouvrir la voie à la découverte des biofilms bactériens. Près de deux siècles plus tard, Koch, père de la microbiologie moderne, a isolé et étudié les

bactéries et, pendant près d'un siècle, la microbiologie a été dominée par ce que la littérature désigne comme le « paradigme de la culture pure », une vision dans laquelle les bactéries étaient considérées comme des cellules libres, isolées et planctoniques [2]. C'est au début des années 1970 que John-William Costerton proposa à la communauté scientifique une vision radicalement opposée : les bactéries vivaient en association dans des

Résumé

Plus de dix ans après leur première description, les biofilms sur surfaces sèches (*dry surface biofilms*, DSB) représentent un concept émergent, encore débattu mais potentiellement déterminant pour la prévention des infections associées aux soins. Les observations réalisées sur des surfaces sèches montrent des micro-agglomérats bactériens persistants malgré le bionettoyage, suggérant l'existence de microbiomes environnementaux hospitaliers sous-estimés. Certains éléments soutiennent cette hypothèse : regroupements cellulaires, présence d'une matrice extracellulaire, détection de bactéries cultivables, et surtout viables mais non cultivables (VNC), diversité d'espèces dont des bactéries multirésistantes, et capacités potentielles de transfert vers d'autres surfaces ou des dispositifs invasifs. Cependant, des incertitudes persistent et leur appartenance au domaine des biofilms n'est pas encore totalement validée. Les structures observées sont hétérogènes, parfois dépourvues de matrice visible, et aucune preuve directe n'atteste d'une multiplication bactérienne ou d'une production active de matrice sur les surfaces sèches. L'état VNC n'a été que partiellement caractérisé, la tolérance aux biocides reste à démontrer, et d'autres hypothèses (bio-floculats, agrégats issus de projections) sont plausibles. La plupart des modèles in vitro développés pour les étudier sont éloignés de la réalité du terrain. Ainsi, les DSB se situent à la frontière entre observation et interprétation. Leur importance dans la transmission croisée est à préciser, mais leur simple présence interroge sur les stratégies actuelles de surveillance et d'entretien de l'environnement, donc sur la maîtrise du risque infectieux. Les prochaines années devront clarifier leur nature, leur dynamique et leur impact réel afin d'adapter les pratiques de prévention des infections associées aux soins.

Mots-clés : Biofilm – Surfaces sèches – Hôpital – Environnement – Viable non cultivable.

Abstract

“Dry-Surface Biofilms»: silent residues or stealth microbial forces

More than ten years after their initial description, Dry Surface Biofilms (DSBs) represent an emerging concept that is still widely debated but potentially decisive for the prevention of healthcare-associated infections. Observations made on dry surfaces show persistent bacterial micro-agglomerates despite cleaning and disinfection, suggesting the existence of hospital environmental microbiomes that have been underestimated until now. Certain elements support this hypothesis: cell clusters, the presence of an extracellular matrix, the detection of culturable and especially viable but non-culturable (VBNC) bacteria, species diversity including multi-resistant bacteria, and potential transfer capabilities to other surfaces or invasive devices. However, many uncertainties remain and their characterization as biofilms has not yet been fully validated. The structures observed are very heterogeneous, sometimes lacking a visible matrix, and there is no direct evidence of bacterial multiplication or active matrix production on dry surfaces. The VBNC state has only been partially characterized, tolerance to biocides remains to be demonstrated, and several alternative hypotheses – bio-flocculates, aggregates from projections – remain plausible. Most in vitro models available are far from reality. Thus, DSBs are currently at the boundary between observation and interpretation. Their exact role in cross-transmission remains to be determined, but their mere presence raises questions about current environmental monitoring and maintenance strategies, and consequently about infectious risk control. The coming years will need to clarify their nature, dynamics and real impact to improve healthcare-associated infection prevention practices.

Keywords: Biofilm – Dry surfaces – Hospital – Environment – Viable but non-culturable.

biofilms qui représentaient leur mode de vie naturel, dominant et universel [3,4]. Ces communautés structurées, formées de cellules bactériennes adhérentes entre elles et à un support, enveloppées d'une matrice d'exopolymères, furent longtemps considérées comme indissociables des milieux liquides non stériles en contact avec une surface. Pendant près de quarante ans, Costerton et ses collaborateurs ont décrit leur composition, élucidé les mécanismes cellulaires régissant leur fonctionnement en « équilibre dynamique », démontré leur rôle dans les infections liées aux dispositifs invasifs et dans les infections chroniques, et défini la notion de tolérance réversible aux antibiotiques et aux biocides [5-8]. Durant onze années, Costerton dirigea le *Center for Biofilm Engineering* de l'université du Montana (États-Unis), où une communauté interdisciplinaire de plus de deux cents chercheurs étudiait des fluides de toute nature circulant dans des bioréacteurs conçus sur mesure pour reproduire des conditions environnementales contrôlées. Progressivement, la vision de bactéries majoritairement fixées au sein de biofilms s'imposa dans l'enseignement universitaire, reléguant au second plan l'idée de bactéries libres comme modèle dominant. Alors que ce nouveau paradigme semblait solidement accepté dans le monde de la microbiologie, une équipe à l'autre bout du monde est venue perturber l'ordre établi. En 2012, l'équipe australienne de Karen Vickery eut l'opportunité de prélever, de manière aseptique et par découpage, des échantillons de dispositifs médicaux et d'équipements de l'environnement du patient dans une unité de soins intensifs, immédiatement après bionettoyage [9]. L'observation au microscope électronique de ces éléments, appelés fomites, révéla une organisation microbienne inattendue, conduisant deux ans plus tard à la définition d'un nouveau concept : les *dry surface biofilms* (DSB, biofilms sur surfaces sèches) [10]. Des investigations similaires menées en Arabie saoudite, au Brésil et au Royaume-Uni aboutirent aux mêmes conclusions [11-16]. Par contraste avec ces DSB, les biofilms en milieu liquide décrits depuis plus d'un demi-siècle furent alors désignés sous le terme de « biofilms traditionnels hydratés » [17].

Qu'ont réellement montré ces observations microscopiques ?

Entre 2012 et 2018, 154 échantillons ont été prélevés in situ, puis analysés en microscopie électronique à balayage ou en microscopie confocale, tous étant porteurs de structures assimilées à des DSB [9-11,13,14,16] (Tableau I). Dans l'ensemble, 93% des échantillons étudiés présentaient des organisations compatibles avec des biofilms. Ces structures étaient toutefois loin d'être uniformes : les auteurs décrivent une répartition très hétérogène, avec des formes coccoïdes ou bacillaires isolées, ou regroupées en amas de tailles variables. Ces cellules sont recouvertes d'exopolymères dont l'épaisseur varie fortement d'un spot à l'autre. Parfois, la matrice

enveloppe complètement les bactéries ; dans d'autres cas, elle se limite à de fins filaments (« *strings* ») reliant quelques cellules entre elles. Des regroupements bactériens recouverts de fines traces de matrice superficielle peuvent également être observés. Une seule étude, celle d'Almatroudi et al., a caractérisé la composition de ces exopolymères [11]. Sur un seul échantillon provenant d'une boîte de gants, l'analyse en microscopie confocale après marquage fluorescent a mis en évidence la présence de protéines, de polysaccharides et d'ADN¹ extracellulaire. Il est toutefois essentiel d'interpréter ces images avec prudence. Les images les plus impressionnantes – celles où l'on distingue des cocci ou bacilles

Tableau I – Liste (non exhaustive) des « fomites » analysés par les auteurs de six études.

Dispositifs médicaux	Autres
Boîte de médicaments [10,13]	Store [9,10,13,14]
Boîte de dispositifs médicaux stériles [11,13]	Corde de store [9,11]
Joint de lave-bassin [9]	Protège matelas [9]
Boîte de gants [10,14]	Porte d'entrée [9,10]
Bassin [10]	Matelas [10,11,13]
Adaptable [10,14]	Oreiller [10,11]
Garde-corps du lit [14]	Notice [10]
Pousse-seringue [14]	Sol [10]
Stéthoscope [14]	Mur [10]
Plateau de dialyse [14]	Agrafe du dossier patient [10]
Boîte de stockage des biberons [13]	Dossier du patient [16]
Matelas de brancard [13]	Télécommande de lit [14]
Clavier d'électrocardiographe [13]	Chaise [14,16]
Flacon d'alcool [13]	Presse-papier [14,16]
Oxymètre [13]	Clavier [13-15]
Boîte de réactifs [9]	Calculatrice [14]
	Velcro [11]
	Flacon de solution hydro-alcoolique [16]
	Commode [16]
	Plateau repas [16]
	Clavier téléphonique [13]
	Souris d'ordinateur de bureau [13]
	Boîtes à effets personnels du patient [13]
	Flacon de savon doux [13]

enfouis sous une matrice dense – proviennent toutes d'observations à très fort grossissement ($> \times 5\,000$). À plus faible grossissement ($< \times 1\,000$), le paysage est très différent : on n'observe que des « micro-clusters » isolés de quelques microns indiquant que les surfaces sèches ne sont pas du tout recouvertes de biofilm épais et structuré dans les conditions réelles ; on peut juste observer çà et là des agglomérats isolés. De plus, selon la nature du matériau support, des résidus de dégradation peuvent apparaître en microscopie et être facilement confondus avec une matrice extracellulaire. Enfin, dans toutes ces études, il manque le témoin négatif représenté par le même matériau neuf et propre observé dans les mêmes conditions (Figure 1).

Quel était l'état de viabilité des bactéries dans ces structures ?

Compte tenu de l'application régulière de protocoles de bionettoyage sur les surfaces étudiées – protocoles décrits comme rigoureusement suivis dans la majorité des travaux – on aurait pu s'attendre à retrouver essentiellement des amas de bactéries mortes, piégées dans des résidus organiques qu'un « nouveau coup de lingette » aurait pu éliminer. Pourtant, les résultats obtenus vont clairement à l'encontre de cette hypothèse. La recherche de bactéries cultivables par écouvillonnage direct s'est révélée peu productive dans certaines études. Par exemple, Ledwoch et al. n'ont isolé aucune bactérie cultivable sur 13 touches de clavier prélevées dans quatre établissements différents [15]. À l'inverse, la même équipe a obtenu une culture positive dans 95% des cas lorsqu'elle a traité des échantillons réels de nature variée par trois rinçages successifs suivis d'une mise en culture directe dans un bouillon standard [16]. Johani et al. constituent l'exception notable : ils ont récupéré des bactéries cultivables sur 75% des échantillons par simple écouvillonnage direct [14]. Les

autres équipes ont eu recours à des traitements mécaniques (vortex, ultrasons) avant mise en culture des suspensions obtenues [18]. Globalement, en regroupant l'ensemble des études, plus de la moitié des échantillons prélevés contenaient des bactéries cultivables. Toutefois, aucune publication n'a été en mesure de proposer une quantification du nombre de bactéries par unité de surface [18]. Un point essentiel émerge de ces travaux : la présence de bactéries viables mais non cultivables (VNC) en quantité non négligeable [18]. L'observation en microscopie à fluorescence après marquage au Live/Dead™ BacLight™ a révélé des cellules présentant une fluorescence verte, signe d'une membrane intacte. Plus surprenant encore, 18 échantillons laissés à température ambiante pendant douze mois sans aucune hydratation ni aucun apport de nutriments ont conservé des bactéries viables malgré l'absence totale de croissance en culture [10]. L'état VNC se caractérise par une perte de cultivabilité sur milieux usuels, tout en conservant l'intégrité membranaire et une activité métabolique résiduelle [19]. Il s'agit d'un mécanisme de survie face au stress, et cet état est réversible lorsque les conditions redevennent favorables [20]. Cette réversibilité est appelée « ressuscitation ». Contrairement à ce que l'on pourrait imaginer, ressusciter des bactéries VNC semble relativement simple : l'apport de nutriments, la restauration de la température optimale de croissance ou juste la suppression du facteur de stress suffisent souvent à rétablir la cultivabilité [20]. Cependant, dans les DSB observés in situ, seule l'intégrité membranaire a été démontrée. Or, l'état VNC repose sur un ensemble de critères plus larges, qui n'ont pas encore été explorés dans ces structures [19]. De même, la ressuscitation n'a jamais été démontrée à partir de bactéries VNC isolées de DSB, ni dans des échantillons réels, ni dans des modèles in vitro. Un article récent a toutefois évoqué

cette possibilité dans un modèle mimant la projection de liquides biologiques contaminés. Dans cette étude, *Pseudomonas aeruginosa* non cultivable sur l'échantillon source a pu être transféré in vitro sur une sonde urinaire et une sonde d'intubation, où il s'est multiplié et a formé un biofilm hydraté secondaire [21]. Néanmoins, cet exemple isolé ne constitue pas une preuve.

Quelles principales espèces bactériennes ont été identifiées dans ces structures ?

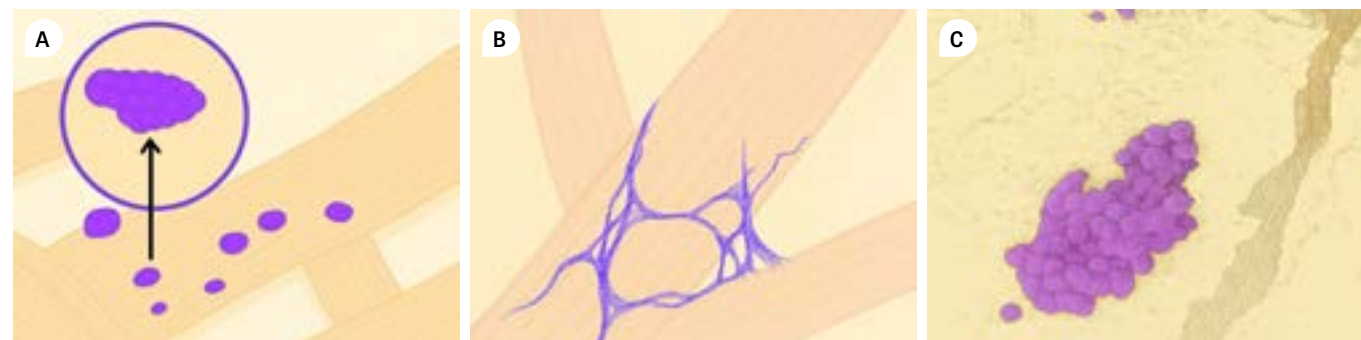
Dans l'ensemble des études menées sur des échantillons prélevés en unités de soins, les auteurs ont cherché à identifier les espèces présentes à la surface des fomites, avec un degré d'exhaustivité variable selon les travaux. Les approches de culture – directe ou après récupération du « biofilm », avec ou sans étape d'enrichissement – étaient généralement orientées vers la détection d'espèces impliquées dans les infections associées aux soins (IAS), en particulier les bactéries multirésistantes. La plupart des équipes ont ainsi ciblé en priorité *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) et les entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre étendu (EBLSE). Progressivement, certaines études ont associé à leurs recherches les espèces *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*, qu'ils soient ou non multirésistants [18]. Ces investigations par culture sur milieux sélectifs ont été complétées, dans environ 75% des études, par des analyses moléculaires (PCR², PCR quantitative, séquençage métagénomique), permettant d'identifier un spectre beaucoup plus large d'espèces, qu'elles soient cultivables, viables ou même mortes [18]. Toutes les études ayant recherché des SARM cultivables [9-11,14,15] en ont détecté, à l'exception de l'étude brésilienne de Costa et al. [13]. Lorsque la recherche incluait également les ERV ou les EBLSE, ces germes étaient eux aussi retrouvés [9,10,13,14,16]. De manière plus surprenante, seules les études menées au Brésil [13] et en Arabie saoudite [14] ont mis en évidence la présence de *Klebsiella pneumoniae* viable et cultivable sur quelques échantillons. Ces deux régions, caractérisées par un climat chaud (tropical équatorial pour le Brésil, désertique chaud pour l'Arabie saoudite selon la classification de Köppen), présentent des conditions proches de celles des Antilles. Or, dans les IAS antillaises, les bactéries à Gram négatif – et en particulier *K. pneumoniae* – dominent largement, contrairement à *Staphylococcus aureus* [22]. Les analyses génomiques réalisées sur les DSB conduisent toutes à la même conclusion. À la différence des biofilms hydratés classiques impliqués dans les IAS, souvent monobactériens, les DSB hébergent un ensemble varié d'espèces [18]. On y retrouve essentiellement des bactéries issues de la flore oro-digestive et cutanée humaine, auxquelles s'ajoutent des espèces d'origine environnementale. Dans cette perspective, les bactéries planctoniques

représenteraient une flore transitoire, tandis que les DSB constitueraient une flore commensale environnementale [18] parfois qualifiée de « microbiome » ou même d'« environnementome » [16]. Même si chaque établissement, chaque service, semble posséder un microbiome qui lui est propre [13,15,16], un noyau commun de genres – *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Propionibacterium*, *Enterococcus* – apparaît dans toutes les études. La plupart de ces données sont toutefois extraites d'analyses génomiques qui ne renseignent pas sur la viabilité des espèces identifiées. Cependant, les quelques observations en microscopie à épifluorescence après marquage au Live/Dead™ BacLight™ [10,13,14] montrant des bactéries encore viables suggèrent que certaines pourraient profiter d'une réhydratation, même brève, pour « se réveiller » et reprendre leur développement.

Que peut-on dire de la notion de biofilm dans les échantillons issus du terrain ?

Si l'on se réfère aux caractéristiques actuelles du biofilm traditionnel hydraté, il s'agit de structures organisées, en équilibre dynamique, constituées de bactéries agrégées entre elles ou à une surface, entourées d'une matrice d'exopolymères qu'elles sécrètent, et présentant une tolérance réversible aux biocides lorsqu'elles retournent à l'état planctonique [23]. À ce jour, il manque encore un certain nombre de preuves scientifiques solides pour affirmer que les DSB possèdent l'ensemble de ces caractéristiques. Les clusters observés correspondent-ils réellement à des structures organisées ? Les bactéries présentes dans les DSB se multiplient-elles sur les surfaces pour former leur propre biofilm ? Quelle est la composition exacte de la matrice ? Cette matrice est-elle effectivement sécrétée par les bactéries qu'elle entoure ? Les DSB sont-ils véritablement tolérants aux biocides, ou ne représentent-ils que des résidus ayant échappé aux nettoyages successifs ? Une autre hypothèse mérite d'être envisagée : les DSB pourraient n'être que des dépôts de matière organique non stérile, ayant séché à l'air libre après s'être fixée sur une surface. Il pourrait s'agir, par exemple, d'inocula déshydratés accumulés au fil du temps [24]. Dans ce cas, les bactéries pourraient s'associer entre elles, soit avant de se déposer, soit une fois fixées à la surface. Les travaux de Pashang et al. sur la survie bactérienne en conditions de dessiccation aux interfaces air-solide évoquent le phénomène de bio-floculation qui correspondrait à la formation de ponts entre bactéries via des polymères extracellulaires ou via des substances présentes à la surface des cellules. Cette bio-floculation surviendrait après l'adhésion à la surface mais avant la dessiccation, conduisant à la formation d'un agrégat bactérien [25]. Par ailleurs, Sauer et al. ont proposé en 2022 une revue détaillée du cycle de vie des biofilms, élargissant la notion de biofilm à des agrégats

Figure 1 – Dessins de « fomites » observés en microscopie électronique à balayage.



A : Store observé à un faible grossissement ($\times 2\,500$) présentant des micro-clusters de bactéries de taille et de répartition hétérogène ; zoom sur un cluster ($\times 7\,000$) montrant une structure « *biofilm like* » avec des formes coccoïdes recouvertes de substances extracellulaires.

B : Store observé à un faible grossissement ($\times 2\,500$) montrant des « strings » de substances extracellulaires sans bactéries.

C : Chaise de patient observée à un fort grossissement ($\times 10\,000$) montrant un cluster de cocci avec seulement des traces de substances extracellulaires.

bactériens en suspension dans les milieux liquides. Longtemps considérés comme des entités distinctes, ces agrégats sont désormais intégrés au concept de biofilm. Ils peuvent se former dans divers liquides biologiques humains (salive, liquide synovial...) ou dans des cultures en bouillon. Rien n'exclut qu'ils puissent ensuite se déposer sur des surfaces et s'y dessécher. Dans ce modèle conceptuel élargi, une étape supplémentaire d'échanges de bactéries agrégées entre la phase liquide et la surface est désormais reconnue. De plus, la présence d'une matrice extracellulaire n'est plus considérée comme indispensable pour définir un biofilm. Des bactéries agrégées en suspension, dépourvues de matrice visible, peuvent également être classées comme biofilm [26]. Il manque toutefois dans ce modèle l'étape de déshydratation qui survient lorsque les surfaces ne sont pas continuellement hydratées, situation typique de l'environnement du patient. Cette omission est volontaire car les DSB ne sont pas encore reconnus par les experts du biofilm, et un ou plusieurs maillons restent à établir avant de pouvoir les intégrer pleinement dans ce cycle. Au-delà de ces considérations, la question est peut-être avant tout sémantique. Qu'il s'agisse d'inocula secs, de bio-floculats, d'agrégats déshydratés ou de biofilms, il existe bel et bien des micro-agglomérats persistants de bactéries intactes sur les surfaces sèches de l'environnement du patient. Ils sont discrets mais omniprésents, malgré le bionettoyage régulier. Qu'ils soient ou non reconnus comme des « biofilms sur surfaces sèches » n'est pas dans l'immédiat l'enjeu principal ; l'essentiel est de comprendre comment ils se forment et s'ils constituent une source de contamination pour le patient. Dans l'attente de données plus robustes et afin d'éviter de forcer une classification prématurée, il pourrait être judicieux d'adopter une terminologie provisoire plus neutre, telle que « micro-agglomérats bactériens ».

Quelle pourrait-être l'origine de ces structures ?

Le microbiome présent sur les surfaces sèches de l'environnement proche du patient semble refléter à la fois la présence humaine (patients, soignants, visiteurs) et la sédimentation de bactéries d'origine environnementale. Plusieurs sources potentielles sont évoquées dans la littérature, sans qu'aucune ne puisse, à elle seule, expliquer l'ensemble du phénomène. L'origine la plus fréquemment citée est celle des mains contaminées. Humidifiées par la sueur, insuffisamment séchées après lavage ou porteuses de traces de matières organiques, elles déposeraient régulièrement un ensemble varié de bactéries sur les surfaces, tout en contribuant à leur hydratation intermittente [13,16]. Cette hydratation ponctuelle pourrait favoriser la survie, voire la réactivation et la prolifération de certaines cellules. Vickery et al. avaient initialement postulé qu'un film hydrique se formait par

condensation sur les surfaces, permettant au biofilm de se former [9]. D'autres auteurs ont privilégié l'hypothèse des projections de liquides biologiques contaminés [10,21,24]. Les gouttelettes émises lors de la toux, des éternuements ou de la parole, ou encore lors de gestes techniques tels que l'intubation, l'extubation ou les aspirations, pourraient se déposer sur les surfaces avant de s'y dessécher [24]. La combinaison de ces deux phénomènes (film hydrique et projections) n'est pas à exclure et pourrait favoriser le développement de certains agglomérats s'étant déposés sur la surface. Une autre source possible concerne les bactéries d'origine hydrotellurique. Celles-ci pourraient être transportées par la ventilation (spores de *Bacillus*) ou provenir d'éclaboussures à partir des siphons de lavabos et lave-mains, avant de se déposer sur les surfaces proches [27]. Les DSB ne résulteraient donc pas d'une cause unique, mais plutôt de l'accumulation progressive de bactéries issues de multiples sources qui doivent être considérées dans leur ensemble. Ces structures représentent la vie dans la chambre et leur analyse détaillée pourrait même, à terme, permettre d'en retracer l'histoire, à la manière dont les géologues interprètent la succession des strates au fil du temps.

La présence de biofilm sur les surfaces sèches constitue-t-elle un danger ?

La détection des biofilms hydratés traditionnels repose généralement sur des méthodes simples : mise en culture directe de l'échantillon dans un bouillon, utilisation d'une solution de récupération, utilisation de géloses Count-Tact® ou culture après grattage ou écouvillonnage. Une culture stérile correspond logiquement à l'absence de contamination de la surface. Sur les surfaces sèches, la situation est très différente. La non-cultivabilité fréquente des bactéries présentes dans les DSB complique considérablement leur détection. Elle leur permet d'échapper aux méthodes de routine, et un contrôle de surface négatif rassure à tort les équipes sur l'absence de contamination résiduelle après bionettoyage. Pourtant, ainsi camouflées sur les surfaces dans les DSB, les bactéries persistent bel et bien dans l'environnement, « tapies dans l'ombre », « prêtes à bondir ». En effet, non-cultivable ne signifie pas non-transférable. L'étude de Ledwoch et al. sur des touches de claviers informatiques l'illustre clairement : bien qu'aucune culture positive n'ait été obtenue après écouvillonnage, les bactéries présentes sur ces surfaces ont pu être transférées sur des milieux gélosés immédiatement après un essuyage humide, que celui-ci ait été réalisé avec de l'eau stérile ou avec de l'hypochlorite de sodium. Il s'agit, à ce jour, de la seule étude portant sur le transfert de bactéries à partir d'échantillons de terrain [15]. De nombreuses autres équipes ont étudié la transférabilité à partir de surfaces sèches, mais uniquement après contamination artificielle de la surface. La plupart ont évalué la transmission croi-

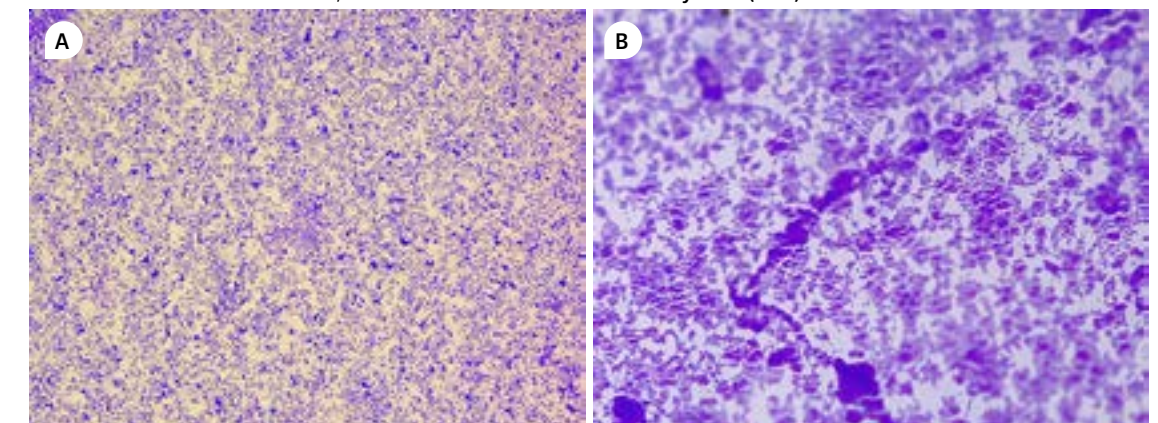
sée via des mains nues ou gantées contaminées, puis appliquées successivement sur des milieux gélosés [28-33]. D'autres ont examiné le transfert après bionettoyage par essuyage humide [15,34-36]. Toutes ces études ont montré un transfert bactérien depuis une surface contaminée vers d'autres surfaces. Watson et al. ont même automatisé ce processus en développant un modèle de transmission manuportée : un poinçon vertical, moulé sur un doigt humain et recouvert d'un biofilm semi-déshydraté, touche successivement des coupons sous une pression constante, avec réhydratation toutes les 24 heures. Chaque contact dépose un DSB secondaire. Non seulement ce dispositif démontre la transférabilité manuportée, mais il permet aussi de produire en série des DSB [37]. Plus récemment, Lebielle et al. ont produit des DSB à l'aide d'un modèle automatisé mimant la projection de gouttelettes de liquides biologiques contaminés. Les coupons ainsi obtenus ont servi de sources pour des études de transfert vers des dispositifs invasifs in vitro (cathéters centraux, sondes d'intubation, sondes urinaires). Un biofilm hydraté secondaire s'est ensuite formé sur la surface interne de ces dispositifs à partir des bactéries transférées [21] (Figure 2). Il est vrai que le transfert de bactéries par les mains des soignants est une notion acquise depuis longtemps [38]. Toutefois, si le microbiome environnemental reflète la vie de la chambre, les bactéries transmises depuis l'environnement ne sont pas nécessairement celles du patient présent à l'instant T, mais plus probablement celles laissées par les occupants précédents. Les DSB constituent ainsi une source de contamination cachée différée, susceptible de maintenir une transmission dans le temps. Si ces structures renferment des bactéries multirésistantes ou hautement résistantes, viables mais non détectables,

leur transfert pourrait contribuer à la persistance d'une épidémie même après la sortie des porteurs sans pouvoir établir de lien avec un environnement supposé conforme. Le rôle de l'environnement dans la transmission croisée a été démontré il y a plus de dix ans [39-41]. La valeur ajoutée des travaux sur les DSB est d'en apporter la preuve en images, non seulement par l'analyse microscopique d'échantillons réels, mais aussi par la reproduction expérimentale de ces structures dans des modèles in vitro.

Comment ces structures sont-elles étudiées in vitro ?

À ce jour, plus d'une dizaine de modèles différents ont été développés pour produire et étudier les DSB in vitro [18]. La majorité d'entre eux s'appuie sur des bioréacteurs référencés pour la formation de biofilms hydratés, tels que le CDC Biofilm Reactor® ou le Drip-Flow Biofilm Reactor® (Biosurface Technologies Corporation, Bozeman, MT, États-Unis) [42,43]. Toutefois, les longues phases d'hydratation inhérentes à ces dispositifs conduisent principalement à la formation de biofilms semi-déshydratés, comme le reconnaissent les auteurs eux-mêmes [44,45]. Deux approches dominent : soit le biofilm est d'abord cultivé en phase liquide pendant plusieurs jours, selon le fonctionnement classique du bioréacteur, puis laissé sécher jusqu'à la fin de l'essai [45,46] ; soit le bioréacteur alterne de longues périodes d'hydratation et des phases de dessiccation tout au long de l'expérience [11,34,44]. Ces modèles présentent l'avantage d'être standardisés et reproductibles, mais ils s'éloignent de la réalité du terrain. En pratique, aucune surface hospitalière n'est immergée pendant 24 à 48 heures. À l'opposé, certains auteurs ont choisi une approche beaucoup plus simple : déposer

Figure 2 – Transfert in vitro de bactéries d'un biofilm sur surface sèche (*dry surface biofilms*, DSB) vers la surface interne d'une sonde d'intubation ; formation d'un biofilm traditionnel hydraté (BHT) secondaire.



Images issues de la collection du laboratoire d'hygiène environnementale du centre hospitalier universitaire de Martinique, non publiées.

A : DSB à *K. pneumoniae* NDM produit à l'aide du modèle de Jean-Marie et al.

B : biofilm traditionnel hydraté à *K. pneumoniae* NDM obtenu après transfert manuporté in vitro de bactéries du DSB vers la surface interne d'une sonde d'intubation.

NDM : New Delhi métallo-β-lactamase.

une goutte de liquide contaminé sur un support et la laisser sécher [47,48]. Cette méthode se rapproche davantage des conditions réelles, mais elle ne prend pas en compte la notion d'accumulation progressive, pourtant centrale dans la formation des DSB. Cela est rendu possible par l'automatisation : le modèle de transmission manuportée de Watson et al. se distingue à la fois par l'aspect entièrement déshydraté des agglomérats qu'il crée par accumulation, mais aussi par le choix du milieu et des matériaux mimant les contacts cutanés [37]. Le modèle de transmission par projections de Jean-Marie et al. résultant de l'optimisation du modèle manuel de Christine et al. [49] reproduit une autre voie de contamination générant des dépôts entièrement déshydratés par accumulation [24]. La combinaison de ces deux approches – accumulation par contact et dépôts issus de projections – est en cours d'exploration. Elle pourrait offrir une représentation plus complète et réaliste du « phénomène DSB », en intégrant les différentes voies de contamination susceptibles d'intervenir dans l'environnement du patient.

Quelles orientations pour les dix ans à venir ?

Plus de dix ans après l'introduction du concept de DSB, il apparaît clairement que nous n'en sommes qu'aux premières étapes de sa compréhension. Les connaissances accumulées au fil de cette décennie sont toutefois loin d'être négligeables et permettent d'esquisser une synthèse prudente. Les données disponibles montrent que des bactéries peuvent persister sur des surfaces inertes sous forme de micro-agglomérats dispersés, de répartition très hétérogène. Ces regroupements de bactéries sont recouverts ou reliés par des substances externes susceptibles de contenir a minima des protéines, des polysaccharides et de l'ADN. Ces structures hébergent des bactéries peu cultivables, dont certaines conservent une intégrité membranaire compatible avec un état viable mais non cultivable. Elles semblent résulter de l'accumulation progressive de bactéries et de liquides biologiques déposés par les mains ou par des projections, puis exposés à de courtes phases d'hydratation : nouvelles projections, contacts avec des mains humides, phénomènes ponctuels de condensation. Enfin, ces agglomérats abritent une grande diversité d'espèces, qu'elles soient pathogènes, commensales, environnementales, multirésistantes ou hautement résistantes, reflétant la flore du patient et les épisodes infectieux ayant conduit à la dissémination de germes dans son environnement. Ces constats ouvrent un large champ de questions

encore à explorer. Déterminer la composition exacte des exopolymères et démontrer que les bactéries se multiplient sur les surfaces en produisant elles-mêmes cette matrice orienterait la définition de ces structures vers celle d'un biofilm. Il faudra également étudier leur tolérance aux biocides, élément clé pour consolider cette hypothèse. La question de la viabilité constitue un autre axe majeur. L'état viable non cultivable doit être démontré en répondant à l'ensemble des critères qui le définissent. Cela nécessitera le développement de méthodes fiables de détection et quantification des bactéries VNC car leur non-cultivabilité complique leur détection et impose de dépasser les méthodes basées uniquement sur la culture. Ces notions devront être intégrées aux études de transfert en incluant des conditions susceptibles d'induire leur ressuscitation. Enfin, éliminer ces structures de nos environnements représente le principal défi. La présence de DSB ne reflète pas uniquement un bionettoyage insuffisant car les procédures actuelles incluent des désinfectants auxquels les DSB semblent peu sensibles, limitant leur efficacité même lorsqu'elles sont correctement appliquées. Ces structures s'inscrivent par ailleurs dans un cycle de transmission plus large : en amont, des mains insuffisamment désinfectées peuvent déposer des bactéries et favoriser l'installation de DSB ; en aval, ces surfaces deviennent des réservoirs capables de recontaminer les mains et d'alimenter la transmission croisée. Comprendre ces biofilms environnementaux permettra ainsi de réinterroger à la fois l'adhésion aux protocoles d'hygiène et la pertinence de leur contenu face à des structures intrinsèquement tolérantes. Pour progresser sur ces 3 principaux axes de recherche, il sera nécessaire d'optimiser les modèles in vitro afin qu'ils se rapprochent davantage de la réalité du terrain. Encore faut-il définir précisément ce qu'est cette réalité. Comme aucune approche standardisée ne permet encore de caractériser ces biofilms directement sur les surfaces hospitalières, il faudra explorer de nouvelles stratégies d'échantillonnage et d'imagerie afin de capturer ces structures telles qu'elles existent réellement. Car c'est en observant davantage les DSB présents dans notre environnement que nous pourrions répondre aux nombreuses questions encore en suspens : « *L'observation est la première condition de toute science* » [49].

1- ADN : acide désoxyribonucléique.

2- PCR : *polymerase chain reaction*, réaction en chaîne par polymérase.

Références

- Doré J, Sansonetti RJ. Le microbiome humain : 340 ans d'histoire, 140 ans d'interrogations, d'innovations technologiques et émergence de la « médecine microbienne ». Med Sci (Paris). 2024;40(8-9):654-660. Doi: 10.1051/medsci/2024101.
- Cunningham AB, Lennox JE, Ross RJ, Eds. A brief history of biofilms. In: Cunningham AB, Lennox JE, Ross RJ, Eds. Biofilms: the hypertextbook [Internet]. Alexandria, VA: National Science Foundation; 2001. Accessible à : https://www.hypertextbookshop.com/biofilmbook/v005/r001/Contents/01_Topics/01_Chapter_1/03_Section_3/01_Beginner/04_Page_4.html (Consulté le 20-12-2025).
- Costerton JW. The role of electron microscopy in the elucidation of bacterial structure and function. Annu Rev Microbiol. 1979;33(1):459-479. Doi: 10.1146/annurev.mi.33.100179.002331.
- Jacques M, Marrie TJ, Costerton JW. Review: microbial colonization of prosthetic devices. Microb Ecol. 1987;13(3):173-191. Doi: 10.1007/BF02024996.
- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science. 1999;284(5418):1318-1322. Doi: 10.1126/science.284.5418.1318.
- Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev. 2002;15(2):167-193. Doi: 10.1128/CMR.15.2.167-193.2002.
- Peters BM, Jabra-Rizk MA, O'May GA, et al. Polymicrobial interactions: impact on pathogenesis and human disease. Clin Microbiol Rev. 2012;25(1):193-213. Doi: 10.1128/CMR.00013-11.
- Costerton JW, Montanaro L, Arciola CR. Bacterial communications in implant infections: a target for an intelligence war. Int J Artif Organs. 2007;30(9):757-763. Doi: 10.1177/039139880703000903.
- Vickery K, Deva A, Jacombs A, et al. Presence of biofilm containing viable multiresistant organisms despite terminal cleaning on clinical surfaces in an intensive care unit. J Hosp Infect. 2012;80(1):52-55. Doi: 10.1016/j.jhin.2011.07.007.
- Hu H, Johani K, Gosbell IB, et al. Intensive care unit environmental surfaces are contaminated by multidrug-resistant bacteria in biofilms: combined results of conventional culture, pyrosequencing, scanning electron microscopy, and confocal laser microscopy. J Hosp Infect. 2015;91(1):35-44. Doi: 10.1016/j.jhin.2015.05.016.
- Almatroudi A, Hu H, Deva A, et al. A new dry-surface biofilm model: an essential tool for efficacy testing of hospital surface decontamination procedures. J Microbiol Methods. 2015;117:171-116. Doi: 10.1016/j.mimet.2015.08.003.
- Almatroudi A, Gosbell IB, Hu H, et al. *Staphylococcus aureus* dry-surface biofilms are not killed by sodium hypochlorite: implications for infection control. J Hosp Infect. 2016;93(3):263-270. Doi: 10.1016/j.jhin.2016.03.020.
- Costa DM, Johani K, Melo DS, et al. Biofilm contamination of high-touched surfaces in intensive care units: epidemiology and potential impacts. Lett Appl Microbiol. 2019;68(4):269-276. Doi: 10.1111/lam.13127.
- Johani K, Abualsaud D, Costa DM, et al. Characterization of microbial community composition, antimicrobial resistance and biofilm on intensive care surfaces. J Infect Public Health. 2018;11(3):418-424. Doi: 10.1016/j.jiph.2017.10.005.
- Ledwoch K, Dancer SJ, Otter JA, et al. How dirty is your QWERTY? The risk of healthcare pathogen transmission from computer keyboards. J Hosp Infect. 2021;112:31-36. Doi: 10.1016/j.jhin.2021.02.021.
- Ledwoch K, Dancer SJ, Otter JA, et al. Beware biofilm! Dry biofilms containing bacterial pathogens on multiple healthcare surfaces: a multi-centre study. J Hosp Infect. 2018;100(3):e47-e56. Doi: 10.1016/j.jhin.2018.06.028.
- Almatroudi A, Tahir S, Hu H, et al. *Staphylococcus aureus* dry-surface biofilms are more resistant to heat treatment than traditional hydrated biofilms. J Hosp Infect. 2018;98(2):161-17. Doi: 10.1016/j.jhin.2017.09.007.
- Schapira AJ, Dramé M, Olive C, et al. Bacterial viability in dry-surface biofilms in healthcare facilities: a systematic review. J Hosp Infect. 2024;144:94-110. Doi: 10.1016/j.jhin.2023.11.004.
- Pan H, Ren Q. Wake Up! Resuscitation of viable but nonculturable bacteria: mechanism and potential application. Foods. 2022;12(1):82. Doi: 10.3390/foods12010082.
- Tchato P, Marion-Sanchez K, Lebielle T, et al. From dormancy to viability: the resuscitation processes of viable but non-culturable bacteria: a systematic review. Microorganisms. 2026;14(1):136. Doi: 10.3390/microorganisms14010136.
- Lebielle T, Olive C, Marion-Sanchez K. From a biofilm to another: when bacteria from dry surface biofilms settle in invasive medical devices. J Hosp Infect. 2026;170:253-261 S0195670126000435. Doi: 10.1016/j.jhin.2026.01.022.
- Santé publique France (SPF). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, mai-juin 2017. Saint-Maurice: SPF; 2019. 270 p. Accessible à : <https://www.cpias-ile-de-france.fr/surveillance/enp/2017/ENP2017-Rapport.pdf> (Consulté le 30-04-2026).
- Center for Biofilm Engineering (CBE). Biofilm basics: what is biofilm? [Internet]. Bozeman, MT: CBE; 2026. Accessible à : <https://biofilm.montana.edu/biofilm-basics/index.html> (Consulté le 30-05-2025).
- Jean-Marie N, Lebielle T, Louisin M, et al. A fully automated model to form "dry surface biofilms" under optimal dehydration conditions-application to *Enterobacteriaceae* in healthcare settings. Biofilm. 2025;10:100312. Doi: 10.1016/j.biofilm.2025.100312.
- Pashang R, Ronan E, Kroukamp O, et al. Huddling together to survive: population density as a survival strategy of non-spore forming bacteria under nutrient starvation and desiccation at solid-air interfaces. Microbiol Res. 2022;258:126997. Doi: 10.1016/j.micres.2022.126997.
- Sauer K, Stoodley P, Goeres DM, et al. The biofilm life cycle: expanding the conceptual model of biofilm formation. Nat Rev Microbiol. 2022;20(10):608-620. Doi: 10.1038/s41579-022-00767-0.
- Kotay S, Chai W, Guilford W, et al. Spread from the sink to the patient: in situ study using green fluorescent protein (GFP)-expressing *Escherichia coli* to model bacterial dispersion from hand-washing sink-trap reservoirs. Appl Environ Microbiol. 2017;83(8):e03327-16. Doi: 10.1128/AEM.03327-16.
- Lopez GU, Gerba CP, Tamimi AH, et al. Transfer efficiency of bacteria and viruses from porous and nonporous fomites to fingers under different relative humidity conditions. Appl Environ Microbiol. 2013;79(18):5728-5734. Doi: 10.1128/AEM.01030-13.
- Chowdhury D, Tahir S, Legge M, et al. Transfer of dry surface biofilm in the healthcare environment: the role of healthcare workers' hands as vehicles. J Hosp Infect. 2018;100(3):e85-e90. Doi: 10.1016/j.jhin.2018.06.021.
- Tahir S, Chowdhury D, Legge M, et al. Transmission of *Staphylococcus aureus* from dry surface biofilm (DSB) via different types of gloves. Infect Control Hosp Epidemiol. 2019;40(1):60-64. Doi: 10.1017/ice.2018.285.
- Amaeze NJ, Akinbobola AB, Kean R, et al. Transfer of micro-organisms from dry surface biofilms and the influence of long survival under conditions of poor nutrition and moisture on the virulence of *Staphylococcus aureus*. J Hosp Infect. 2024;150:34-39. Doi: 10.1016/j.jhin.2024.03.023.
- Knobloch JKM, Tofern S, Kunz W, et al. "Life-like" assessment of antimicrobial surfaces by a new touch transfer assay displays strong superiority of a copper alloy compared to silver containing surfaces. PLoS One. 2017;12(11):e0187442. Doi: 10.1371/journal.pone.0187442.
- King M, López-García M, Atedoghu KP, et al. Bacterial transfer to fingertips during sequential surface contacts with and without gloves. Indoor Air. 2020;30(5):993-1004. Doi: 10.1111/ina.12682.
- Ledwoch K, Said J, Norville P, et al. Artificial dry surface biofilm models for testing the efficacy of cleaning and disinfection. Lett Appl Microbiol. 2019;68(4):329-336. Doi: 10.1111/lam.13143.
- Centeleghe I, Norville P, Hughes L, et al. Dual species dry surface biofilms; *Bacillus* species impact on *Staphylococcus aureus* survival and surface disinfection. J Appl Microbiol. 2022;133(2):1130-1140. Doi: 10.1111/jam.15619.
- Zargar B, Sattar SA. Decontamination of high-touch environmental surfaces (HITES) by wiping: quantitative assessment of a carrier platform simulating pathogen removal, inactivation and transfer in the field. Lett Appl Microbiol. 2023;76(2):ovac073. Doi: 10.1093/lambio/ovac073.
- Doré J, Sansonetti RJ. Le microbiome humain : 340 ans d'histoire, 140 Watson F, Chewins J, Wilks S, et al. An automated contact model for transmission of dry surface biofilms of *Acinetobacter baumannii* in healthcare. J Hosp Infect. 2023;141:175-183. Doi: 10.1016/j.jhin.2023.06.015.
- Unna PG. Über die Bakterien der Haut und ihre Bedeutung für die Wundinfektion. In: Unna PG. Monatshefte für praktische Dermatologie. Hamburg (GE): Leopold Voss; 1898:1-32.
- Dancer SJ. The role of environmental cleaning in the control of hospital-acquired infection. J Hosp Infect. 2009;73(4):378-385. Doi: 10.1016/j.jhin.2009.03.030.
- Otter JA, Yezli S, French GL. The role played by contaminated surfaces in the transmission of nosocomial pathogens. Infect Control Hosp Epidemiol. 2011;32(7):687-699. Doi: 10.1086/660363.
- Vonberg RP, Weitzel-Kage D, Behnke M, et al. Worldwide Outbreak Database: the largest collection of nosocomial outbreaks. Infection. 2011;39(1):29-34. Doi: 10.1007/s15010-010-0064-6.

- 42- Goeres DM, Hamilton MA, Beck NA, et al. A method for growing a biofilm under low shear at the air-liquid interface using the drip flow biofilm reactor. *Nat Protoc.* 2009;4(5):783-788. Doi: 10.1038/nprot.2009.59.
- 43- Goeres DM, Loetterle LR, Hamilton MA, et al. Statistical assessment of a laboratory method for growing biofilms. *Microbiology.* 2005;151(3):757-762. Doi: 10.1099/mic.0.27709-0.
- 44- Amaeze N, Akinbobola A, Chukwuemeka V, et al. Development of a high throughput and low cost model for the study of semi-dry biofilms. *Biofouling.* 2020;36(4):403-415. Doi: 10.1080/08927014.2020.1766030.
- 45- Nkemngong CA, Voorn MG, Li X, et al. A rapid model for developing dry surface biofilms of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* for in vitro disinfectant efficacy testing. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2020;9(1):134. Doi: 10.1186/s13756-020-00792-9.
- 46- Watson F, Keevil CW, Wilks SA, et al. Modelling vaporised hydrogen peroxide efficacy against mono-species biofilms. *Sci Rep.* 2018;8(1):12257. Doi: 10.1038/s41598-018-30706-0.
- 47- Espinal P, Martí S, Vila J. Effect of biofilm formation on the survival of *Acinetobacter baumannii* on dry surfaces. *J Hosp Infect.* 2012;80(1):56-60. Doi: 10.1016/j.jhin.2011.08.013.
- 48- Zarpellon MN, Gales AC, Sasaki AL, et al. Survival of vancomycin-intermediate *Staphylococcus aureus* on hospital surfaces. *J Hosp Infect.* 2015;90(4):347-350. Doi: 10.1016/j.jhin.2015.04.005.
- 49- Bernard C. Introduction à l'étude de la médecine expérimentale (1865) [Internet]. Chicoutimi: Université du Québec; 2017. Accessible à : https://classiques.uqam.ca/classiques/bernard_claude/intro_etude_medecine_exp/intro_etude.html (Consulté le 06-03-2026).

Citation : Marion-Sanchez K. Biofilms sur surfaces sèches : simples vestiges microbiens ou bataillons invisibles en embuscade ? *Hygiènes.* 2026;34(3):226-234.

Historique : Reçu 16 mars 2026 – Accepté 28 mai 2026 – Publié 30 juin 2026

Financement : l'auteure déclare ne pas avoir reçu de financement.

Liens d'intérêt : l'auteure déclare ne pas avoir de lien d'intérêt.

Remerciements : L'auteure remercie le Pr Jacques Fabry, éditeur en chef de la revue, pour son invitation à rédiger cet article.