



**HAL**  
open science

## Et si le SARS-CoV-2 se transmettait sous forme de biofilm viral ?

Marie-Isabelle Thoulouze, Catherine Inizan

► **To cite this version:**

Marie-Isabelle Thoulouze, Catherine Inizan. Et si le SARS-CoV-2 se transmettait sous forme de biofilm viral?. *Virologie*, 2023, 27 (6), pp.313-316. 10.1684/vir.2023.1027 . hal-04429897

**HAL Id: hal-04429897**

**<https://hal.inrae.fr/hal-04429897v1>**

Submitted on 1 Feb 2024

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

## **Et si le SARS-CoV2 se transmettait sous forme de biofilm viral ?**

### **What about a transmission of SARS-CoV-2 through a viral biofilm?**

**Maria-Isabel Thoulouze<sup>1\*</sup> & Catherine Inizan<sup>2</sup>**

1 Plateforme d'Infectiologie Expérimentale (UE 1277), INRAE, Centre de Tours, Nouzilly, France.

2 Dengue and Arboviruses Research and Expertise Unit, Institut Pasteur in New Caledonia, Pasteur Network, Nouméa, New Caledonia.

\* Correspondance : marie-isabelle.thoulouze@envt.fr

Depuis le début de la pandémie de Covid-19 causée par le coronavirus SARS-CoV-2, la communauté scientifique s'est efforcée d'étudier les différentes voies de transmission du virus. La transmission par voie aérienne (aérosols, gouttelettes) et par contact direct avec des surfaces contaminées (fomites) ou entre individus, ont été identifiées comme les principaux modes de propagation [1, 2]. Dans toutes les études portant sur le sujet, l'entité infectieuse considérée était la particule virale infectieuse isolée. Cependant, il existe une hypothèse intéressante selon laquelle le virus pourrait également se transmettre sous forme de biofilm viral [3]. Cette hypothèse a été émise dès le début de la pandémie, lorsque les tissus de patients puis les cultures cellulaires ont été imagés [4, 5]. Pourtant, à ce jour, aucun travail connu n'a adressé la question de l'existence de biofilms viraux SARS-CoV-2 et leur implication dans la transmission du virus.

La formation de biofilm est un processus commun à de nombreux micro-organismes, parmi lesquels bactéries et champignons. Si les biofilms bactériens sont bien connus et largement étudiés depuis leur découverte dans les années 70 [6], le fait que les virus puissent également former des biofilms est relativement nouveau [7, 8].

Les biofilms sont constitués de micro-organismes enchâssés dans une matrice extracellulaire (MEC) complexe composée de polysaccharides, de protéines mais aussi de microvésicules lipidiques et de molécules d'ADN dans le cas des biofilms bactériens [9, 10]. Ce sont des communautés souvent multi-espèces, qui concentrent localement les microorganismes, les protègent des contraintes de l'environnement, et les transmettent collectivement en se fractionnant sous forme de colonies microbiennes au sens premier du terme [10].

La vie sous forme de biofilm apparaît aujourd'hui comme le mode de vie naturel et majoritaire des microorganismes, qui leur apporte des avantages sélectifs par rapport au mode planctonique (microorganismes isolés). Il leur permet notamment de coloniser tout type de milieu biotique et abiotique, y compris dans les écosystèmes les plus extrêmes [11, 12]. Dans le cas de micro-organismes pathogènes, les biofilms constituent de véritables réservoirs très

souvent associés aux infections persistantes du fait de la protection qu'ils confèrent vis-à-vis des réponses immunitaires et de leur sensibilité moindre aux thérapies antimicrobiennes [13].

L'existence de biofilms viraux a été mise en évidence pour les rétrovirus humains HTLV-1 (Virus de la leucémie T Humaine de type 1) et VIH-1 (Virus de l'Immunodéficience Humaine de type 1) [14, 15] et des structures similaires ont été décrites pour certains Herpesvirus notamment [16, 17]. Les études montrent que, comme pour les autres biofilms microbiens, ces structures permettent un transfert collectif et protégé [14]. Une différence notable est que la composante matricielle est sécrétée par la cellule infectée, et non par l'agent microbien, et sa composition est régulée directement par le virus et indirectement par la réponse qu'il induit chez l'hôte [14, 15]. Très adhésives, dotées d'une plus grande capacité infectieuse et d'une sensibilité moindre aux anticorps neutralisants, ces biofilms jouent un rôle clé dans la transmission directe et indirecte entre lymphocytes T en culture cellulaire [14, 15, 18] et préservent de l'action des anti-rétroviraux par effet de masse, en favorisant l'entrée simultanée de nombreux virus par cellule [15]. Enfin, des études sur souris humanisées suggèrent que le VIH-1 pourrait plus généralement être disséminé sous forme de biofilm dans les organes lymphoïdes de l'hôte, au fil des contacts entre les cellules infectées et leur environnement tissulaire [19].

L'hypothèse selon laquelle le SARS-CoV-2 pourrait se transmettre sous forme de biofilm viral repose sur plusieurs observations. De nombreuses études ont montré la présence d'agrégats viraux à la surface des cellules infectées dans les voies respiratoires de patients [4] ainsi que dans différents types de cultures cellulaires infectées par le SARS-Cov-2, y compris des cellules ne produisant naturellement pas de mucus [5]. Dans tous les cas, on peut observer la présence d'une matrice qui maintient les particules virales dans une structure tridimensionnelle. Elle pourrait correspondre à la MEC d'un biofilm, dans certains cas associée ou mélangée au mucus et autres composants sécrétés par les cellules du tractus respiratoire. Reprenant différents travaux d'imagerie rapportés dans la littérature (microscopie électronique à balayage entre autres), des chercheurs ont eu la surprise de découvrir que les différents "collectifs" de particules virales de SARS-CoV-2 à la surface des cellules infectées sont très organisés [3]. Une vidéomicroscopie de la surface de cellules pulmonaires infectées permet d'en visualiser le processus de formation : des agrégats de particules virales individuelles apparaissent, formant des assemblages sphériques (nœuds), à partir desquels se développent des « branches », chapelets de particules virales qui s'organisent le long d'une structure matricielle. Des réseaux interconnectés très structurés se forment ainsi, qui peuvent ensuite se détacher "en bloc" de la cellule. Cette étude, et le fait que ces structures virales soient produites dans divers types cellulaires (y compris des cellules Vero), semblent donc

indiquer que la morphogénèse des particules virales se fait conjointement avec la sécrétion des éléments de MEC produite par la cellule qui participent à l'architecture d'un biofilm viral. De façon remarquable, des structures très similaires (nœuds, chapelets et réseaux) ont été observées à la surface des lymphocytes infectés par VIH-1 et HTLV-1 [14, 15]. Pour ces rétrovirus, il a de plus été montré que la composition des biofilms viraux en protéines de MEC est déterminante pour l'architecture du biofilm et pour son infectiosité [14, 15]. Quelques composants clés pour l'infectiosité des biofilms rétroviraux ont pu être identifiés, parmi lesquels des sulfates d'héparanes et des collagènes, protéines matricielles dont l'expression est induite directement par le virus, qui structurent de façon majeure l'architecture des biofilms VIH-1 et HTLV-1 [15, 20] et qui jouent par ailleurs un rôle clé dans les processus inflammatoires induits par le TNF- $\beta$ .

Des données protéomiques apportent également des informations intéressantes soutenant l'hypothèse de la formation d'un biofilm. Des études sur cellules pulmonaires infectées indiquent que l'infection par le SARS-CoV-2 module le matrisome de la cellule infectée [21]. Une étude a été menée sur des échantillons de patients présentant des formes sévères de l'infection, le plus souvent associées à de fortes charges virales. Elle montre une augmentation significative de collagène, qui pourrait être associée au processus inflammatoire particulièrement important chez ces patients, mais aussi à la formation de biofilm viral [22]. Par ailleurs, des travaux indiquent que la glycoprotéine S de surface du SARS-CoV-2 interagit avec les composants de la MEC, notamment les glycanes sulfatés exposés à la surface cellulaire [23], ce qui pourrait contribuer à l'organisation des particules virales du SARS-CoV-2 sous forme de biofilm à la surface des cellules.

Bien que la composante matricielle des structures de type biofilm et sa contribution à l'infectiosité virale n'aient pas encore été étudiées, l'ensemble de ces données sont en faveur de la formation d'un biofilm viral par le SARS-CoV-2.

Si tel était le cas, le biofilm viral présent dans les fluides biologiques humains tels que la salive, les expectorations et les liquides broncho-alvéolaires, pourrait participer à une transmission optimale du SARS-CoV-2 entre individus. Sur les surfaces contaminées, sa présence pourrait contribuer à la résistance assez impressionnante du pouvoir infectieux du virus dans l'environnement [2, 24, 25]. Le réseau matriciel du biofilm pourrait assurer une protection de l'intégrité des virions, en complément des sécrétions mucosales. Il pourrait également accroître le pouvoir infectieux du virus en augmentant la probabilité d'une infection productive (effet de "quorum local"), comme démontré pour le VIH-1 [15]. Ces mêmes propriétés, associées à un échappement probable des virions du biofilm au système immunitaire (anticorps neutralisant entre autres), permettraient également au SARS-CoV-2 de disséminer très efficacement chez son hôte. Le fait que le SARS-CoV-2 se propage par contacts

intercellulaires en étant protégé de l'action des anticorps neutralisants [26] abonde dans ce sens, ces propriétés étant aussi conférées par le biofilm viral dans le cas du VIH-1 et du HTLV-1 [14, 15].

Par ailleurs, la transmission "en bloc" sous forme de biofilm, qui permet de délivrer simultanément plusieurs génomes viraux à la même cellule, pourrait avoir un impact sur l'évolution génétique du virus au fil des cycles réplicatifs [7]. Envisager le rôle du biofilm dans ce processus aurait tout son sens, des évènements de recombinaison entre génomes viraux ayant été décrits comme participant à la variabilité génétique dans le cas du SARS-CoV2 comme pour les autres coronavirus [27, 28]. Il pourrait également permettre une complémentation entre virions très souvent mutés ou défectifs (quasi-espèces virales) et avoir des conséquences importantes sur l'adaptation des virus aux contraintes environnementales [17].

Renforcer l'ensemble de ces données par des études structurales et fonctionnelles pour éprouver ces hypothèses permettrait très certainement d'enrichir nos connaissances sur les modalités de transmission de ce virus dont les variants successifs continuent de circuler efficacement.

La formation de biofilms viraux pourrait avoir des implications importantes dans le développement de nouvelles stratégies de prévention et de traitement. D'une part, le biofilm viral est une entité antigénique formée de particules virales et éléments matriciels, très différente en composition et en taille de la particule virale libre. Il conviendrait de la prendre en compte pour le développement des stratégies vaccinales afin que ce pool de virus, protégé du système immunitaire, soit également ciblé par des vaccins. D'autre part, des composants matriciels du biofilm viral, clés pour son architecture et son infectiosité, pourraient constituer de nouvelles cibles antivirales intéressantes pour des approches visant à limiter à la fois la transmission entre individus et la constitution d'un réservoir viral chez l'hôte, mais aussi pour des approches thérapeutiques complémentaires de celles qui ciblent directement le virus (additifs aux formulations thérapeutiques).

De façon plus spéculative encore, si l'hypothèse de l'existence d'un biofilm SARS-CoV-2 était validée, un nouveau champ de questionnement s'ouvrirait, en particulier à propos du rôle possible du biofilm SARS-CoV-2 dans certains aspects de la pathophysiologie associée au virus qui restent mal compris [29, 30].

En particulier, on pourrait envisager que la formation d'un biofilm par le SARS-CoV-2 participe au développement de formes sévères de la maladie, qui est corrélé le plus souvent avec une charge virale élevée. Le biofilm, par ses propriétés réplicatives et/ou par ses propriétés antigéniques singulières, pourrait contribuer aux formes sévères du syndrome ou à des

pathologies extra-pulmonaires rapportées dans la littérature. Le contexte inflammatoire induit par le virus, exacerbé chez les patients qui présentent des profils à risque et dans les formes graves de la maladie, pourrait aussi être propice à la formation de biofilm viral ou augmenter son infectiosité, générant ainsi une boucle d'amplification de la réplication virale et de la pathologie. Dans un tel scénario, l'approche thérapeutique utilisant l'héparine et certains de ses dérivés, qui vise à réduire les thromboses liées à l'infection et favorise le rétablissement des patients qui présentent des symptômes graves [31], aurait un effet double: l'héparine, qui permet la déstructuration de biofilms rétroviraux [14, 15], pourrait aussi réduire directement le pool de SARS-CoV-2 associée à la MEC modifiée. On pourrait également envisager que la transmission par biofilm favorise la persistance du SARS-CoV-2 dans certains compartiments tissulaires en protégeant les virions du système immunitaire. Il participerait ainsi à la formation de réservoirs infectieux tissulaires dont l'existence pourrait expliquer certains cas de COVID long [32].

En conclusion, la possibilité que le SARS-CoV-2 puisse également se transmettre sous forme de biofilm viral est une hypothèse qui mériterait d'être explorée. Si elle était confirmée, cette découverte permettrait d'aborder sous un angle nouveau et complémentaire les stratégies actuelles de prévention et de traitement de la Covid-19 qui pourraient être communes à d'autres infections virales. En effet, la transmission collective des virus sous forme de biofilms viraux pourrait également être mise en jeu par des virus d'autres familles, en particulier les virus respiratoires émis dans des sécrétions mucosales (Paramyxovirus et Orthomyxovirus en particulier), ce qui reste à explorer. Cette hypothèse permettrait également d'appréhender par des approches différentes les processus évolutifs du virus et de façon plus exploratoire, certains aspects de la pathophysiologie liée au SARS-CoV2.

Enfin, l'intégration de virus dans des biofilms formés par d'autres micro-organismes d'embranchements très différents, comme des bactéries et des champignons [33], pose la question d'une possible coopération interspécifique à large spectre au sein de biofilms complexes, et ouvre un champ d'investigation clinique radicalement nouveau.

## References

1. Sharma A, Ahmad Farouk I, Lal SK. COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention. *Viruses*. 2021;13(2).
2. Geng Y, Wang Y. Stability and transmissibility of SARS-CoV-2 in the environment. *J Med Virol*. 2023;95(1):e28103.
3. Tozzi AP, J.F.; Annesi-Maesano, I.; D'Amato, G. Collective Clustering Dynamics of SARS-COV-2 Particles. . *Preprints*. 2020.

4. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J *et al.* A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(8):727-33.
5. Hopfer H, Herzig MC, Gosert R, Menter T, Hench J, Tzankov A *et al.* Hunting coronavirus by transmission electron microscopy - a guide to SARS-CoV-2-associated ultrastructural pathology in COVID-19 tissues. *Histopathology*. 2021;78(3):358-70.
6. Costerton JW, Geesey GG, Cheng KJ. How bacteria stick. *Sci Am*. 1978;238(1):86-95.
7. Thoulouze MI, Alcover A. Can viruses form biofilms? *Trends Microbiol*. 2011;19(6):257-62.
8. Jones KS, Green PL. Cloaked virus slips between cells. *Nat Med*. 2010;16(1):25-7.
9. Nobile CJ, Mitchell AP. Microbial biofilms: e pluribus unum. *Curr Biol*. 2007;17(10):R349-53.
10. Flemming H-C, van Hullebusch ED, Neu TR, Nielsen PH, Seviour T, Stoodley P *et al.* The biofilm matrix: multitasking in a shared space. *Nature Reviews Microbiology*. 2023;21(2):70-86.
11. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2(2):95-108.
12. Yin W, Wang Y, Liu L, He J. Biofilms: The Microbial "Protective Clothing" in Extreme Environments. *Int J Mol Sci*. 2019;20(14).
13. Ciofu O, Moser C, Jensen PØ, Høiby N. Tolerance and resistance of microbial biofilms. *Nature Reviews Microbiology*. 2022;20(10):621-35.
14. Pais-Correia AM, Sachse M, Guadagnini S, Robbiati V, Lasserre R, Gessain A *et al.* Biofilm-like extracellular viral assemblies mediate HTLV-1 cell-to-cell transmission at virological synapses. *Nat Med*. 2010;16(1):83-9.
15. Inizan C, Caillet M, Desrames A, David A, Bomme P, Mallet A *et al.* HIV-1 hijacks the cell extracellular matrix to spread collectively and efficiently between T lymphocytes. *bioRxiv*. 2021:2021.09.27.461933.
16. Kamel M, Pavulraj S, Fauler B, Mielke T, Azab W. Equid Herpesvirus-1 Exploits the Extracellular Matrix of Mononuclear Cells to Ensure Transport to Target Cells. *iScience*. 2020;23(10):101615.
17. Sanjuán R, Thoulouze MI. Why viruses sometimes disperse in groups?(†). *Virus Evol*. 2019;5(1):vez014.
18. Dutartre H, Clavière M, Journo C, Mahieux R. Cell-Free versus Cell-to-Cell Infection by Human Immunodeficiency Virus Type 1 and Human T-Lymphotropic Virus Type 1: Exploring the Link among Viral Source, Viral Trafficking, and Viral Replication. *J Virol*. 2016;90(17):7607-17.
19. Kieffer C, Ladinsky MS, Ninh A, Galimidi RP, Bjorkman PJ. Longitudinal imaging of HIV-1 spread in humanized mice with parallel 3D immunofluorescence and electron tomography. *eLife*. 2017;6:e23282.
20. Millen S, Gross C, Donhauser N, Mann MC, Péloponèse JM, Jr., Thoma-Kress AK. Collagen IV (COL4A1, COL4A2), a Component of the Viral Biofilm, Is Induced by the HTLV-1 Oncoprotein Tax and Impacts Virus Transmission. *Front Microbiol*. 2019;10:2439.
21. Stukalov A, Girault V, Grass V, Karayel O, Bergant V, Urban C *et al.* Multilevel proteomics reveals host perturbations by SARS-CoV-2 and SARS-CoV. *Nature*. 2021;594(7862):246-52.
22. Li Y, Schneider AM, Mehta A, Sade-Feldman M, Kays KR, Gentili M *et al.* SARS-CoV-2 Viremia is Associated with Distinct Proteomic Pathways and Predicts COVID-19 Outcomes. *medRxiv*. 2021.

23. Biering SB, Gomes de Sousa FT, Tjang LV, Pahmeier F, Zhu C, Ruan R *et al.* SARS-CoV-2 Spike triggers barrier dysfunction and vascular leak via integrins and TGF- $\beta$  signaling. *Nat Commun.* 2022;13(1):7630.
24. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, Holbrook MG, Gamble A, Williamson BN *et al.* Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *New England Journal of Medicine.* 2020;382(16):1564-67.
25. Arienzo A, Gallo V, Tomassetti F, Pitaro N, Pitaro M, Antonini G. A narrative review of alternative transmission routes of COVID 19: what we know so far. *Pathog Glob Health.* 2023;117(8):681-95.
26. Zeng C, Evans JP, King T, Zheng YM, Oltz EM, Whelan SPJ *et al.* SARS-CoV-2 spreads through cell-to-cell transmission. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2022;119(1).
27. Roemer C, Sheward DJ, Hisner R, Gueli F, Sakaguchi H, Frohberg N *et al.* SARS-CoV-2 evolution in the Omicron era. *Nature Microbiology.* 2023;8(11):1952-59.
28. Fan Y, Zhao K, Shi ZL, Zhou P. Bat Coronaviruses in China. *Viruses.* 2019;11(3).
29. Lamers MM, Haagmans BL. SARS-CoV-2 pathogenesis. *Nature Reviews Microbiology.* 2022;20(5):270-84.
30. Barnes HW, Demirdjian S, Haddock NL, Kaber G, Martinez HA, Nagy N *et al.* Hyaluronan in the pathogenesis of acute and post-acute COVID-19 infection. *Matrix Biol.* 2023;116:49-66.
31. Ferrandis R, Sierra P, Gomez-Luque A. COVID-19 thromboprophylaxis. New evidence. *Rev Esp Anesthesiol Reanim (Engl Ed).* 2023.
32. Proal AD, VanElzakker MB, Aleman S, Bach K, Boribong BP, Buggert M *et al.* SARS-CoV-2 reservoir in post-acute sequelae of COVID-19 (PASC). *Nature Immunology.* 2023;24(10):1616-27.
33. Von Borowski RG, Trentin DS. Biofilms and Coronavirus Reservoirs: a Perspective Review. *Appl Environ Microbiol.* 2021;87(18):e0085921.