

ingèrent passe dans les deux premières cavités de l'estomac (la panse et le rumen), où se développent des biofilms constitués de bactéries qui digèrent la cellulose (un polymère de glucose) des plantes et produisent des acides gras. Quand ces derniers sont trop nombreux, ils inhibent la croissance des bactéries qui les ont fabriqués. Des cellules mobiles de *Treponema* (des bactéries hélicoïdales et allongées) et d'autres espèces envahissent alors le biofilm et en consomment les constituants. Les matériaux du fourrage sont peu à peu convertis en une masse de bactéries que l'animal digère, après régurgitation, dans deux autres cavités, le feuillet et la caillette. Ainsi, les vaches se nourrissent de biofilms bactériens et non de foin !

Pour les ruminants, les biofilms sont indispensables. Toutefois, ils constituent parfois une nuisance, voire un réel danger pour la santé des êtres humains, car ils résistent à la plupart des traitements bactéricides utilisés en médecine et dans l'industrie, alors que ces mêmes traitements détruisent les bactéries lorsqu'elles sont isolées. Les bactéries des biofilms échappent aussi aux molécules et aux cellules du système immunitaire.

## La cohésion fait la force

Pourquoi les biofilms sont-ils aussi résistants (voir la figure 5) ? D'abord parce que les substances antimicrobiennes doivent diffuser dans une matrice compacte : par exemple, la concentration d'un antibiotique est plus faible au cœur de la matrice qu'à l'extérieur. On doit donc utiliser des quantités importantes de substances bactéricides, au risque de dépasser la dose tolérée. Par exemple, les antibiotiques de la famille des pénicillines pénètrent difficilement dans les biofilms constitués de staphylocoques, car ces bactéries fabriquent une enzyme, nommée bêta-lactamase, qui dégrade l'antibiotique plus rapidement que celui-ci ne diffuse dans le biofilm. L'antibiotique n'atteint jamais les couches les plus profondes.

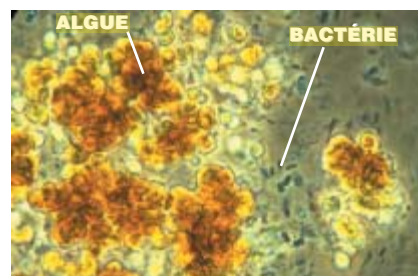
Les produits chlorés, prisés pour des usages domestiques ou industriels, sont également peu efficaces. Cet oxydant doit lutter, couche par couche, pour neutraliser le biofilm. Ce processus est long et nécessite beaucoup de produit chloré.

De surcroît, bien que certains agents antimicrobiens pénètrent assez bien

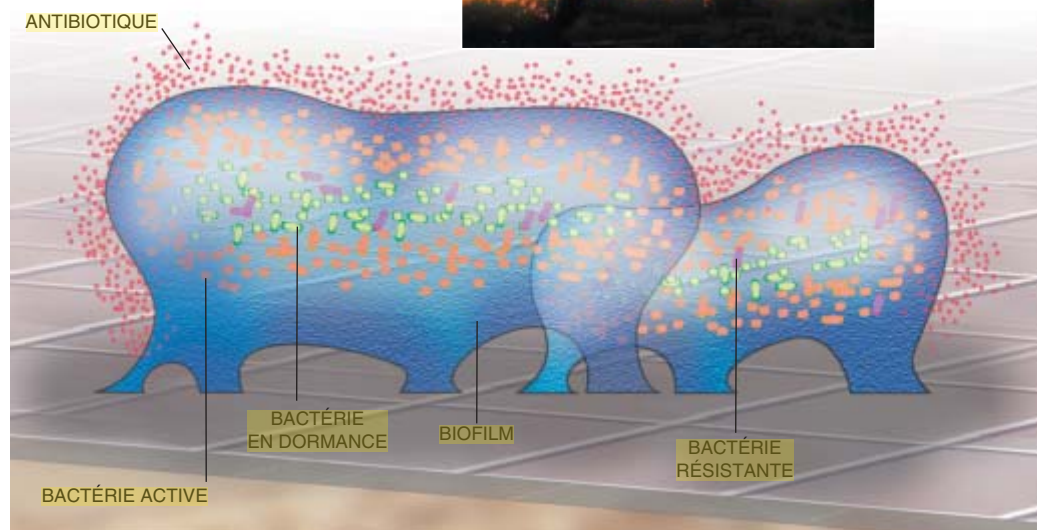
dans les biofilms, les micro-organismes en amas survivent souvent aux traitements agressifs qui auraient éradiqué des cellules isolées. Les biologistes ont récemment découvert comment les conditions d'organisation des bactéries dans un biofilm les protègent contre les agents antibactériens.

La pénicilline agit au moment où une bactérie se divise en deux cellules filles, lorsque chacune construit une paroi protectrice, nommée peptidoglycane, plus ou moins épaisse selon les types de bactéries, et constituée de dérivés de sucre et d'acides aminés reliés entre eux. L'antibiotique empêche certaines liaisons de s'établir et déstabilise l'ensemble de la structure : dépourvues de leur paroi, les cellules bactériennes sont rapidement détruites. Or, au cœur d'un biofilm, des bactéries sont parfois en état de dormance : elles sont vivantes, mais ne se divisent pas, et, par conséquent, sont insensibles à la pénicilline. Dans la mesure où des micro-organismes actifs et inactifs coexistent dans un biofilm et où les bactéries survivantes peuvent se nourrir des bactéries mortes, les quelques cellules qui ont résisté à une antibiothérapie sont capables de reconstituer un biofilm en quelques heures.

Ainsi, des antimicrobiens efficaces sur des cellules en culture sont sans effet sur les biofilms qui causent des maladies ou qui, dans les installations



4. LES BIOFILMS sont parfois constitués de protozoaires, des organismes unicellulaires (en haut), ou bien d'algues (au centre, et en bas ici elles sont avec des bactéries).



5. L'ORGANISATION D'UN BIOFILM confère aux bactéries une résistance accrue aux substances bactéricides pour plusieurs raisons. D'abord, la matrice réduit la concentration en antibiotiques (en rouge) autour des bactéries. Par ailleurs, certaines bactéries du centre du biofilm sont à l'état de dormance (en vert) et sont donc moins sensibles aux antibiotiques. Cet état de dormance des bactéries peut être mis en évidence par un colorant : sur la photographie, une croissance rapide apparaît en orange et une croissance ralentie, en vert. Enfin, protégées, mais exposées aux substances bactéricides, les bactéries peuvent développer une résistance transmissible (en rose).

industrielles, ont des effets désastreux : ils encrassent les machines et accélèrent la corrosion des canalisations en métal (voir la figure 6).

## Bactéries communicantes

On a récemment mis en évidence que lorsque des bactéries adhèrent à une surface et forment un biofilm, elles fabriquent des centaines de protéines que ne synthétisent pas les bactéries isolées : certaines de ces protéines participent au glissement des cellules sur une surface avant qu'elles ne s'immobilisent. De plus, chez *Staphylococcus epidermidis*, la bactérie responsable d'infections à staphylocoques, les gènes qui commandent l'étape suivante du développement d'un biofilm, c'est-à-dire la synthèse de la matrice extracellulaire, ont été identifiés. Lorsque ces gènes sont inactivés, les bactéries deviennent

incapables de former des biofilms dans un tube à essai ou dans les tissus d'animaux de laboratoire.

Des expériences récentes ont révélé l'existence de gènes similaires chez d'autres espèces. Ainsi, chez *Pseudomonas aeruginosa*, plusieurs gènes sont activés dans les 15 minutes qui suivent l'attachement de la bactérie à une surface. L'un de ces gènes, *algC*, est nécessaire à la synthèse d'alginate, le polymère gélatineux qui constitue une grande partie de la matrice extracellulaire. L'alginate, aussi fabriqué par les algues, est utilisé dans l'industrie alimentaire.

Comment les bactéries qui se rassemblent pour former un biofilm «décident»-elles quels gènes activer ? Ces micro-organismes, en apparence autonomes, communiquent entre eux. Chez *Pseudomonas aeruginosa* et dans une vaste classe de bactéries analogues, les molécules de

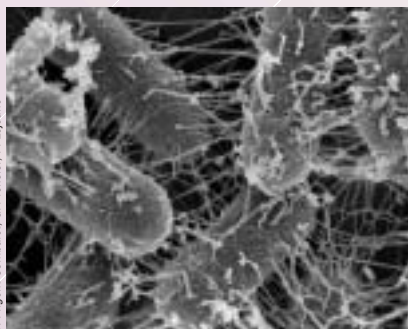
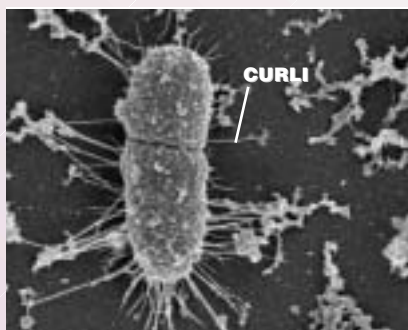
signalisation sont des homosérines lactones acylées. Ces molécules, fabriquées par chaque cellule en petite quantité, diffusent librement à travers les enveloppes cellulaires. Leur concentration augmente avec la densité cellulaire : au-dessus d'un seuil, les gènes à l'origine de la matrice sont activés, et le biofilm apparaît. Par ailleurs, ces homosérines lactones acylées sont aussi à l'origine de la synthèse de facteurs de toxicité, tel l'acide cyanhydrique. Les bactéries *Pseudomonas aeruginosa* dépourvues du gène qui code les enzymes fabriquant ces lactones n'édifient pas de biofilms et s'amoncellent en amas désorganisés.

Les biologistes connaissent ainsi les molécules de signalisation des biofilms qui se développent, notamment, à l'intérieur des sondes urinaires. Ces biofilms ainsi que ceux qui s'installent sur les implants permanents

## La perception des bactéries

**D**e nombreux microbiologistes luttent contre les biofilms en recherchant des molécules qui interféreraient avec les mécanismes de communication nécessaires au bon développement de ces structures pluricellulaires. De telles molécules empêcheraient le biofilm d'acquiescer l'organisation responsable de ses propriétés de résistance. Les défenses immunitaires ou des traitements antimicrobiens viendraient alors aisément à bout de ces structures «inachevées». On cherche aussi à mettre au point des revêtements de surface qui évitent la contamination des biomatériaux implantables ou des installations industrielles. Cette stratégie a été élaborée après que l'on a compris comment les bactéries qui nagent dans un liquide «savent» qu'elles ont heurté une surface solide.

Avec mon équipe, nous avons constaté que la synthèse des appendices grâce auxquels certaines bactéries *Escherichia coli* s'attachent aux matériaux est amplifiée après quelques instants de contact (voir la figure). Ces appendices sont de petits poils, nommés curli. C'est aussi le cas de la sécrétion de l'acide colanique, un polysaccharide qui confère sa consistance à la matrice, comme les pectines des confitures. À l'inverse, les appendices, nommés flagelles, que la bactérie utilise pour nager dans la phase liquide disparaissent progressivement à mesure que les bactéries se divisent, car ils ne sont pas renouvelés. Cette transition physiologique résulte de la perception à l'interface solide-liquide d'un environnement différent de la phase liquide. Chez les bactéries Gram négatives (les bactéries sont différenciées selon leur couleur après une coloration de Gram : elles sont Gram positif ou négatif), nous avons identifié des capteurs, des protéines qui traversent la membrane et



**LES BACTÉRIES *ESCHERICHIA COLI* qui s'organisent en biofilms modifient leurs appendices : quand elles se fixent sur une surface, les curli sont rares, mais ils deviennent plus nombreux à mesure que le biofilm croît.**

qui participent à cette perception. La conformation du domaine protéique en contact avec le milieu extérieur dépend des paramètres ioniques et électriques de ce milieu (acidité, différence de concentration de molécules entre l'intérieur et l'extérieur, présence de charges électriques). Au voisinage d'une surface, les interactions avec les molécules d'eau et les ions en solution modifient ces paramètres. Les changements extérieurs de conformation de la protéine entraînent des changements de la partie intracellulaire du capteur, puis l'information parvient au génome par l'intermédiaire d'autres protéines régulatrices qui sont phosphorylées.

En collaboration avec Gilbert Legeay, du Centre de transfert de technologie du Mans, nous avons utilisé ces résultats pour mettre au point des revêtements antibiofilms destinés aux biomatériaux implantables. Quand on greffe des molécules chargées – inoffensives pour l'organisme humain – à la surface de ces matériaux les bactéries ne perçoivent plus l'interface de la même façon et ne se fixent pas immédiatement, mais au bout de quelques dizaines d'heures. Dans le cas d'implants posés pour des périodes courtes, tels les sondes urinaires ou les cathéters intravasculaires, ce répertoire évite de nombreuses contaminations. Lorsque le risque de complications infectieuses est lié aux germes introduits

accidentellement au moment de l'opération, par exemple, lors de l'implantation de prothèses ou de cristallins artificiels, les défenses immunitaires ou une antibiothérapie appropriée peuvent lutter contre des bactéries isolées et éviter l'infection avant que les implants n'aient été colonisés par des biofilms plus résistants.

Philippe LEJEUNE, CNRS-UMR 5577  
Institut national des sciences appliquées de Lyon