

> résulte pas d'une résistance aux médicaments que les bactéries elles-mêmes auraient acquise, mais de la matrice tridimensionnelle au sein de laquelle elles sont enchâssées. Cette dernière constitue une gangue protectrice à travers laquelle les bactéries échangent notamment des signaux induisant la sécrétion des protéines et d'autres substances nécessaires à leur survie.

Aujourd'hui, mes collègues et moi-même savons faire irruption dans la matrice d'un biofilm pour y observer les signaux en circulation. Nous arrivons même parfois à les modifier afin de les utiliser contre les bactéries. Notre objectif est de les pousser hors de leur matrice protectrice, afin de les placer en situation de vulnérabilité face aux médicaments.

On sait depuis longtemps que les bactéries constituant un biofilm se comportent différemment de celles isolées. En 1998, George O'Toole et Roberto Kolter, de la faculté de médecine de Dartmouth, à Hanover, dans le New Hampshire, ont montré que la constitution d'un biofilm par la bactérie du sol *Pseudomonas fluorescens* nécessite la synthèse de nouvelles protéines et fait intervenir au moins vingt-quatre gènes.

Certains de ces gènes codent des adhésines, protéines qui jouent un rôle dans la fixation des bactéries sur une surface, mais la fonction de la plupart des autres gènes restait méconnue. Ces gènes au rôle énigmatique suggéraient néanmoins qu'une bactérie, une fois fixée sur une surface, changeait de physiologie. En 2002, mon équipe a montré que les bactéries se transformaient non seulement lorsqu'elles entraient en contact avec une surface, mais aussi tout au long du développement du biofilm, depuis le stade du simple amas de quelques cellules liées entre elles jusqu'à celui de la communauté bactérienne. Ces transformations successives sont liées à la sécrétion de diverses protéines qui aident le biofilm à passer d'un stade à un autre.

Ces observations suggèrent que les biofilms, exactement comme les villes, se construisent du bas vers le haut selon un plan directeur, une étape de construction après l'autre et quartier par quartier. Au laboratoire, nous parvenons à stopper le développement de biofilms à un stade donné en y introduisant des substances chimiques capables d'inhiber ou, au contraire, de stimuler l'action des protéines sécrétées. Nous savons même les influencer, afin de les faire régresser à un stade antérieur de développement. Cette

approche peut être combinée à d'autres stratégies de lutte, tel le dépôt sur la surface d'un revêtement nanostructuré qui empêche les bactéries de se développer.

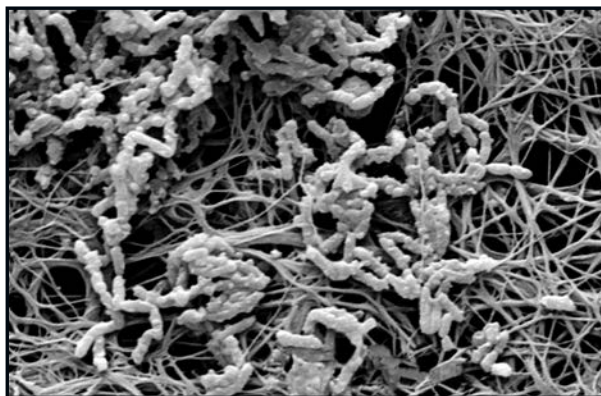
Empêcher la fixation des bactéries sur les surfaces est d'ailleurs un bon point de départ. À cet égard, de nombreuses recherches visent à mettre au point des revêtements capables de tuer les bactéries par contact. Les chercheurs ont développé des revêtements de surface libérant localement de fortes concentrations d'agents antibactériens.

Aujourd'hui, certains sont couramment employés dans les hôpitaux. Citons par exemple les sutures préimprégnées d'antibiotiques, les ciments osseux contenant des billes imprégnées d'antibiotiques, mais aussi les cathéters, les pansements ou encore les sondes endotrachéales couvertes de particules d'argent. Dans ce dernier cas, les bactéries sont tuées par contact avec les ions d'argent. Comment? Le mécanisme reste à préciser, mais nous savons que la présence d'ions d'argent engendre un stress oxydatif (situation dans laquelle des atomes d'oxygène privent une biomolécule de certains de ses électrons), provoquant la mort de la cellule bactérienne. Outre l'argent, des sels d'oxydes métalliques ou de métaux – le fer, le mercure, le tellure, le zinc et le titane – sont testés actuellement à des fins cliniques.

Pour autant, les revêtements et surfaces imprégnées ont une faiblesse: les substances antibactériennes qu'ils contiennent finissent par disparaître. Par ailleurs, l'emploi excessif de composés antibactériens, dont l'argent, suscite des inquiétudes quant à l'émergence de bactéries résistantes. Cette préoccupation a entraîné le développement de nouveaux revêtements de surface contrôlant l'adhésion bactérienne de façon plus mécanique.

PEAU DE REQUIN ANTIBACTÉRIENNE

Les revêtements en question s'inspirent de la nature en imitant par exemple la texture de la peau de requin, la structure autonettoyante des feuilles de lotus ou encore des mécanismes que les moules utilisent pour repousser les bactéries. Ces surfaces bioinspirées n'empêchent pas directement la fixation des bactéries; elles interfèrent plutôt avec les protéines qui assurent leur ancrage. Le processus repose sur la modification à l'échelle microscopique de la rugosité de la surface. On ajoute par exemple des



Prise au microscope électronique, cette photographie montre le biofilm tapissant l'intérieur d'un cathéter. Il pourrait entraîner une infection sanguine...

nanostructures sur la surface: des brosse, des cristaux, des tubules de polymères hydrophiles comme le polyéthylène glycol (PEG, inspiré des moules) ou encore des polymères dits zwitterioniques, inspirés des propriétés antiadhésives des cellules sanguines.

Ces nanostructures peuvent être disposées sur la surface à des distances variables afin de réduire au maximum l'adhérence des bactéries. Certaines de ces surfaces bio-inspirées sont déjà largement utilisées à l'hôpital. D'autres en

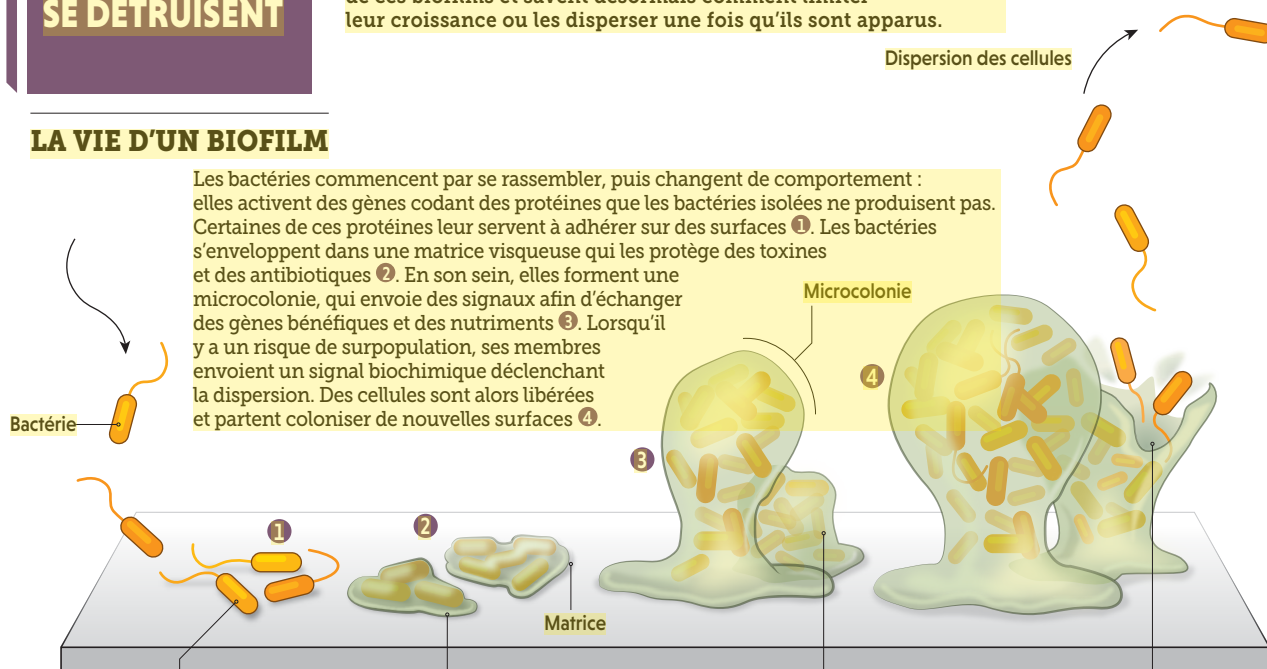
sont encore à l'étape de prototypes, encore limitées par des problèmes de fabrication et de toxicité. Une fois ces difficultés franchies, il restera à réaliser des essais cliniques afin de déterminer quelles surfaces seront utilisables dans la pratique.

Malgré toutes les promesses de ces surfaces antibiofilms, nous avons aussi besoin d'approches fondamentalement différentes pour éliminer les biofilms qui s'y développent malgré tout ou qui colonisent les implants ➤

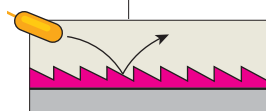
COMMENT LES BIOFILMS SE CRÉENT ET SE DÉTRUISENT

LA VIE D'UN BIOFILM

Les bactéries ne sont pas des solitaires. Pour la plupart, elles prospèrent seulement au sein de grandes populations constituant des communautés complexes où l'on s'entraide : les biofilms. Or ces couches bactériennes structurées sont très difficiles à éliminer. Une matrice protectrice entoure en effet les bactéries, abritant leurs échanges d'information et de nutriments. Les chercheurs commencent à saisir les secrets de la formation de ces biofilms et savent désormais comment limiter leur croissance ou les disperser une fois qu'ils sont apparus.



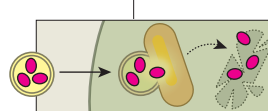
QUATRE APPROCHES ANTIBIOFILMS



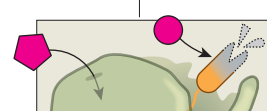
Employer des matériaux nanostructurés en surface afin de rendre difficile la fixation des biofilms. La rugosité nanométrique de surface de ces matériaux gêne les protéines que les bactéries utilisent comme agent de fixation.



Affaiblir la matrice pour entraîner l'effondrement du biofilm. La matrice contient notamment des molécules d'ADN que l'on sait dégrader avec une enzyme, la DNase I. On teste cette approche sur des biofilms à l'origine d'otites chroniques.



Injecter dans la matrice des vésicules lipidiques artificielles – des liposomes – remplies de composés antibactériens. Ces liposomes fusionnent avec les membranes des bactéries et libèrent leur charge toxique. On peut aussi injecter des virus de bactéries.



Déclencher la dispersion du biofilm en imitant le signal déclencheur que s'envoient les bactéries, car, une fois isolés, les microorganismes sont plus vulnérables. Le monoxyde d'azote, qui produit un effet similaire, peut aussi être utilisé.

> médicaux, devenant alors à la fois dangereux et difficiles à traiter.

Dans ces approches, c'est la matrice visqueuse du biofilm qui devient la cible. Constituée de longs brins de polysaccharides (des macromolécules composées de plusieurs sucres), de protéines et d'ADN, cette matrice aide les bactéries de plusieurs manières. D'une part, elle les protège mécaniquement; d'autre part, elle bloque le passage de certains antibiotiques; enfin, elle empêche des marqueurs du système immunitaire – les anticorps – d'accéder aux bactéries du biofilm. Sa structure maintient aussi la cohésion de la colonie et aide à son ancrage sur la surface. La suppression de cette matrice fait donc perdre son intégrité à la colonie et entraîne son effondrement. Les populations de bactéries se divisent alors en petits groupes, voire en nuages de cellules individuelles, que les médicaments et le système immunitaire peuvent efficacement attaquer.

DES ENZYMES POUR DÉSINTÉGRER LA MATRICE

Des enzymes – des protéines accélérant certaines réactions biochimiques – ont déjà réussi à dégrader la matrice. Malheureusement, la composition de cette dernière, et plus particulièrement le type de protéines et de polysaccharides présents, varie grandement d'une espèce de bactérie à l'autre, et chacune requiert son enzyme de dégradation spécifique... C'est pourquoi les traitements visant à dégrader les protéines et les polysaccharides de la matrice doivent être adaptés au type de bactérie formant le biofilm.

En revanche, l'ADN, qui entre aussi dans la composition de la matrice, pourrait être plus facile à cibler. En effet, une seule et même enzyme – la DNase I – suffit pour le dégrader. Plusieurs essais cliniques en cours exploitent cette enzyme: on l'évalue actuellement en combinaison avec des antibiotiques dans le traitement d'otites chroniques et d'autres infections à biofilms. Des traitements employant la DNase I sont néanmoins d'ores et déjà utilisés pour traiter des patients atteints de mucoviscidose (une maladie, qui, entre autres, altère le mucus pulmonaire); on a montré qu'ils amélioraient nettement la fonction pulmonaire (il semble que l'enzyme réduise la viscosité des expectorations, ce qui facilite le nettoyage pulmonaire et augmente l'efficacité des antibiotiques, mais qu'elle n'induit pas l'effondrement des biofilms).



La matrice gluante protectrice dont se recouvrent ces bactéries en forme de bâtonnets (des bacilles) est aisément visible au microscope.

En observant la formation des biofilms, les chercheurs ont imaginé une autre stratégie. En effet, une fois le biofilm constitué, il arrive que les bactéries se dissocient *via* un mécanisme dit de dispersion, qui entraîne une destruction partielle du biofilm. Ce mécanisme s'enclenche lorsque les ressources utiles à la survie du biofilm sont épuisées, lorsque la surpopulation bactérienne menace son équilibre ou quand les conditions extérieures changent. Il aide les bactéries du biofilm à survivre et favorise la colonisation de nouveaux sites.

Les cellules qui quittent les biofilms deviennent vulnérables aux armes que nous avons contre elles. Dès lors, comment déclencher la dispersion? Les chercheurs ont identifié plusieurs modes d'action possibles. D'une part, les bactéries semblent avoir leur propre manière de signaler aux autres membres de la communauté qu'il est temps d'activer le mécanisme de dispersion.

Les recherches menées dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa* – une bactérie modèle responsable d'un grand nombre d'infections nosocomiales chroniques – ont montré qu'elle produit un petit acide gras (l'acide *cis*-2-décénoïque ou *cis*-DA) qui signale à la communauté qu'il est temps d'abandonner le biofilm. D'autres expériences ont révélé que *cis*-DA peut servir de signal de dispersion dans des biofilms formés par au moins cinq autres espèces de bactéries et de levures.

Par ailleurs, on a observé que d'autres bactéries que *P. aeruginosa* produisent des versions différentes de cet acide gras, ce qui suggère que les bactéries composant des biofilms différents emploient des « dialectes » distincts quand elles lancent la dispersion. Même si elles en sont encore au stade du test en laboratoire, ces molécules de communication pourraient vraisemblablement être combinées avec des antibiotiques et conduire à des traitements contre les biofilms.

On découvre aussi des facteurs qui déclenchent la dispersion du biofilm en modifiant son environnement. Ces facteurs – augmentation de la quantité de métaux lourds dans l'environnement, diminution de l'oxygène et d'autres encore – sont variés. Mais ils ont un point commun: ils induisent tous la dispersion en diminuant la teneur en di-GMP cyclique, une molécule qui sert de messagère universelle au sein de la cellule.

La concentration de di-GMP cyclique conditionne notamment l'adhérence des bactéries sur les surfaces: une concentration élevée est associée à la croissance des biofilms et à la production de matrice, alors qu'une