

> 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 amélioreraient 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'induisse 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-décanoïque 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

Des essais ont révélé que le monoxyde d'azote réduit la taille des biofilms de 63% environ

concentration faible induit au contraire la multiplication des bactéries sous la forme de cellules individuelles. Les changements de concentration de di-GMP cyclique observés en réponse aux facteurs agissant sur l'environnement sont associés à des dégradations de 80% ou plus de la biomasse du biofilm. Toutefois, tous ne conviennent pas à un usage au sein des dispositifs médicaux.

LE MONOXYDE D'AZOTE INDUIT LA DISPERSION

Un autre candidat prometteur est le monoxyde d'azote. Notre système immunitaire repousse les invasions bactériennes à l'aide des molécules de ce gaz incolore, et il est aussi employé afin d'améliorer l'oxygénation chez des patients atteints de formes variées d'hypertension pulmonaire (par exemple la bronchopneumopathie chronique obstructive). Des essais en laboratoire ont révélé que le monoxyde d'azote induit la dispersion des biofilms produits par un large éventail de bactéries. Utilisé seul, il réduit la taille des biofilms de 63% en moyenne; en combinaison avec des antibiotiques tels que la colistine, il peut éradiquer complètement des biofilms.

Pourtant, malgré ces résultats prometteurs, le monoxyde d'azote pose plusieurs problèmes cliniques. En effet, s'il se répand dans d'autres parties du corps que le site spécifique de l'infection, il peut être toxique. Or un gaz est difficile à restreindre en un site précis. Diverses formulations et autres dispositifs prenant en compte ces difficultés ont été mis au point. La céphalosporine-3'-diazoniumdiolate, par exemple, est composée d'un antibiotique (la céphalosporine) combiné avec une substance productrice de monoxyde d'azote qui ne s'active qu'au contact de bactéries contenant l'enzyme β -lactamase. Les bactéries résistant à des antibiotiques tels que la

pénicilline et l'ampicilline contiennent en général cette enzyme.

Une autre stratégie de lutte contre les biofilms consiste à causer une infection létale de leurs bactéries constitutives. En effet, les bactéries aussi sont sensibles à certains virus, que l'on nomme des phages. Ces derniers sont capables de les infecter à vie ou de les tuer. À la suite des premières études datant de 1996 qui avaient montré les interactions entre phages et biofilms, les chercheurs essaient désormais d'identifier les phages capables de tuer les bactéries directement à l'intérieur d'un biofilm. En outre, les phages qui infectent les bactéries sans les tuer peuvent être employés comme véhicules pour livrer des antibiotiques ou des agents destructeurs de la matrice (comme la DNase I) à chaque bactérie du biofilm. Cette approche nommée phagothérapie est d'ailleurs déjà utilisée pour traiter des infections pulmonaires à biofilms chez des personnes atteintes de mucoviscidose.

Toutefois, comme beaucoup d'autres, elle n'est pas sans difficulté. Un phage particulier n'infecte qu'un type particulier de bactérie. Les phages ne peuvent donc pas être utilisés comme agents tueurs à large spectre. Les bactéries peuvent en outre développer des résistances aux attaques de phages, exactement comme elles le font avec les antibiotiques.

C'est pourquoi les chercheurs essaient aussi de développer des transporteurs alternatifs: les liposomes. L'idée serait que ces petites vésicules lipidiques de forme sphérique – on les considère parfois comme des nanoparticules en raison de leur petite taille – livrent des composés capables de tuer ou de déstabiliser les cellules là où ils seraient efficaces, c'est-à-dire au sein du biofilm ou des bactéries. Il s'agirait d'antibiotiques, de composés antibactériens ou encore d'enzymes dégradant la matrice. Les liposomes seraient réalisés à partir de lipides imitant ceux de la membrane bactérienne, ce qui leur permettrait de fusionner avec le microorganisme et, par conséquent, de lui injecter leur charge toxique. La tactique est précise, car les composés antibactériens et antibiofilms ne sont livrés qu'au biofilm et nulle part ailleurs. Les liposomes sont déjà très utilisés pour apporter des composés antimicrobiens *in situ*.

Outre ces diverses stratégies, de nombreuses approches sont en train d'être testées partout dans le monde. L'un des problèmes majeurs est la diversité des biofilms. Chaque espèce bactérienne produit sa propre matrice, ses propres agents messagers et des protéines particulières. C'est pourquoi nous aurons besoin de combiner de nombreuses tactiques si l'on veut un jour parvenir à raser les minuscules cités bactériennes qui menacent nos vies. ■

BIBLIOGRAPHIE

O. Petrova et K. Sauer, **Escaping the biofilm in more than one way : Desorption, detachment or dispersion**, *Current Opinion in Microbiology*, vol. 30, pp. 67-78, 2016.

J. Lemire et al., **Antimicrobial activity of metals : Mechanisms, molecular targets and applications**, *Nature Reviews Microbiology*, vol. 11(6), pp. 371-384, 2013.

N. Barraud et al., **Cephalosporin-3'-diazoniumdiolates : Targeted NO-donor prodrugs for dispersing bacterial biofilms**, *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 51(36), pp. 9057-9060, 2012.