

Corrigé Type de l'EMD du module Biofilms

Exercice N° 01 (02 pts)

Définir les notions suivantes :

Sessile : 1 Tout organe (feuille, œil, etc.) fixé directement sur le corps d'un organisme, sans élément intermédiaire

2 Tout organisme qui vit fixé directement sur un substrat

Forces de Van der Waals : interactions électriques de faible intensité entre deux atomes, ou deux molécules.

Quorum quenching : inhibition des molécules signal du quorum sensing par l'action d'enzymes dégradatives

Curli : type de fibre amyloïdes (agrégats de protéines) produit par certaines entérobactéries, jouant un rôle clé dans la formation de biofilms sur surfaces inertes et biologiques.

Dispersine B : enzyme glycoside hydrolase, produite par *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, qui catalyse l'hydrolyse de polymères linéaires de N-acétyl-D-glucosamines trouvés dans les matrices de biofilms.

Biosurfactant : substances bioactives solubles dans l'eau et ayant la propriété de se concentrer, de s'agréger aux interfaces entre l'eau et d'autres substances peu hydrosolubles, les corps gras notamment.

Auto-inducteur : ou signaux de Quorum sensing sont de petites molécules diffusibles considérées comme des hormones bactériennes. Il existe deux grandes familles d'auto-inducteurs : dérivés d'acides gras chez les bactéries à Gram négatif tel que l'acyl-homosérine lactone (AHL) et des dérivés d'oligopeptides chez les bactéries à Gram positif.

Bioluminescence : production et l'émission de lumière par un organisme vivant via une réaction chimique au cours de laquelle l'énergie chimique est convertie en énergie lumineuse.

Exercice N° 02 (15 pts)

Questions à choix multiple : Sélectionnez la ou les réponses correctes

1-Par définition, un biofilm :

- a) Est constitué d'une communauté pluricellulaire hétérogène composée d'organismes biotiques et abiotiques **X**
- b) Englobe le plus souvent une communauté microbienne symbiotique **✓**
- c) Ne peut pas s'implanter sur des matériaux antiadhésifs comme le téflon **X**
- d) Est une structure très riche en microorganismes **X**

2- La matrice exopolymérique :

- a) Joue un rôle plus fonctionnel que structural dans le biofilm **X**
- b) Peut constituer jusqu'à 97% du poids sec total du biofilm **X**
- c) En plus des glucides et acides nucléiques, contient aussi une grande fraction d'enzymes digestives **X**
- d) Possède les glucanes comme composants de base majoritaires **X**

3- L'adhésion de microorganismes sur un support :

- a) Est un phénomène qui se fait en réponse à des stimuli externes
- b) Est plus accentuée dans des environnements appauvris en nutriments
- c) Est facilitée par les rugosités et les anfractuosités de surface
- d) Est irréversible si les forces de répulsion sont supérieures ou égales à celles d'attraction

4- Avant l'observation sous microscopie électronique, l'échantillon de biofilm :

- a) Nécessite l'utilisation de formaldéhyde et glutaraldéhyde
- b) Doit d'abord subir une cryofixation par du nitrogène liquide
- c) Est gelé instantanément par de l'hélium liquide
- d) Est fixé par ajout de métaux lourds

5- L'adhésion irréversible :

- a) Survient généralement avant la formation des macro-colonies
- b) Est souvent accompagnée par des changements d'expression génique
- c) Est sous le contrôle du quorum sensing
- d) Fait appel à des organites de surface comme les pili et flagelles

6- Les biofilms artificiels :

- a) Peuvent être reproduits à l'échelle de laboratoire
- b) N'existent pas en conditions expérimentales
- c) Sont le plus souvent homogènes par rapport aux biofilms naturels
- d) Sont de constitution plus fragile comparée aux biofilms dits sauvages

7- Au sein du biofilm, il existe des canaux :

- a) Qui sont de nature hydrophobes
- b) Ayant pour fonction l'assimilation des déchets et la libération de l'oxygène
- c) Qui sont situés au milieu de la structure
- d) Localisés entre le support et les colonies microbiennes

8- Lors du quorum sensing :

- a) Il y a inactivation d'un régulateur transcriptionnel qui induit des gènes cibles spécifiques
- b) Il est considéré comme l'unique système de communication au sein du biofilm
- c) Les autoinducteurs sont les homoserines lactones chez *E. coli* et *S. aureus*
- d) Ce dernier n'est pas tributaire de la densité cellulaire

9- En milieu marin, la formation d'un biofilm sur les surfaces :

- a) Peut entraîner des problèmes de corrosion
- b) N'a pas d'impact direct sur le fonctionnement des systèmes de mesure ou sur la durée de vie des équipements
- c) Réduit la vitesse d'écoulement des fluides
- d) Est limitée par l'utilisation de peintures antisalissures et de biocides

10- Le phénomène de dispersion ou dissolution :

- a) Est aussi appelé essaimage
- b) Dépend de l'environnement nutritif et physico-chimique du biofilm
- c) Permet la formation de nouveaux biofilms
- d) S'accompagne par l'induction des gènes impliqués dans la mobilité flagellaire

11- La culture sur milieu Rouge Congo Agar (RCA) :

- a) Permet de détecter qualitativement la formation de slime par un virage de couleur du milieu
- b) Est utilisée pour mettre en évidence l'expression du phénotype Polysaccharide Intercellular Adhesion (PIA)
- c) Est applicable sur un système de microplaques à 96 puits
- d) Permet d'observer la formation de biofilms chez *P. aeruginosa* et *S. aureus*

12- Le Biofilm Ring Test (BFRT) :

- a) Est une méthode de détection rapide qui s'affranchit de l'utilisation des colorants
- b) Est basé sur l'immobilisation de billes magnétiques par la formation de biofilm au fond des puits d'une microplaque
- c) Dans cette méthode, plus les billes seront libres, moins elles se déplaceront dans le champ magnétique et plus elles se regrouperont au centre du puits
- d) Permettrait de détecter plus tardivement la formation de biofilm, dès l'étape d'adhérence des bactéries à la surface de la microplaque

13- Dans le but d'estimer la viabilité des cellules d'un biofilm :

- a) Les sels de tétrazolium sont utilisés comme colorant qui sera oxydé en formazan
- b) Le DMSO est appliqué afin de dissoudre les cellules
- c) On utilise le résorufine qui sera réduit en résazurine
- d) Le composé fluorescéine diacétate joue le rôle de révélateur

14- Pour une meilleure étude des biofilms, des bactéries modèles sont utilisées, ces dernières :

- a) Doivent présenter une stabilité génétique et physiologique
- b) Sont généralement *E.coli* et *P.aeruginosa* pour les biofilms marins
- c) Sont sélectionnées selon leur capacité inhérente à former des biofilms
- d) Leur choix repose sur les conditions de culture (pH, température, lumière, nutriments, oxygène...)

15- Un biofilm positif :

- a) Possède des propriétés antagonistes empêchant la fixation de pathogènes et la formation de biofilm néfastes
- b) Est impliqué dans le cycle biogéochimique de l'azote
- c) Est aussi utilisé dans l'épuration des nappes phréatiques et eaux souterraines
- d) Joue le rôle de bio-indicateur de stress et de pollution

Exercice N° 03 (03 pts)

Réponses aux questions

1- L'étape finale du cycle de vie d'un biofilm est le détachement et dispersion des cellules bactériennes, citez les facteurs qui favorisent ce phénomène ! (0,75 pts)

Le détachement des cellules peut être initié par différents facteurs :

- ✓ perturbations mécaniques (force de cisaillement, abrasion...);
- ✓ dégradation enzymatique de la matrice polymérique (e.g. dispersine B);
- ✓ dégradation enzymatique du substrat sur lequel le biofilm est attaché (e.g. hyaluronidase);
- ✓ induction de la motilité;
- ✓ production d'agents tensioactifs (e.g. rhamnolipides);
- ✓ relâchement de l'exopolysaccharide.

2- Le biofilm est le mode de vie majeur des espèces bactériennes, cependant on constate que certaines souches de bactéries de laboratoire ont perdu leur capacité à former des biofilms, expliquez pourquoi ! (0,5 pts)

Des souches bactériennes de laboratoire peuvent perdre leur aptitude à former des biofilms et devenir incapable d'adhérer aux surfaces, ceci est dû soit :

- ✓ au fait des cultures et sélections successives de bactéries planctoniques,
- ✓ à la perte de leurs plasmides naturels connus pour favoriser la formation de biofilm.

3- Les biofilms néfastes sont à l'origine de diverses dégradations environnementales, ainsi que de nombreux troubles dans les domaines médical et industriel, quels sont les différents moyens mis en œuvre afin de lutter contre ces biofilms ? (1,75 pts)

Moyens de lutte

1- actions préventives (1,25 pts)

- a- respect des règles de base et de conditions d'hygiène strictes en milieu hospitalier :
 - asepsie du site et du cathéter;
 - durée de cathéterisation minimale;
 - utilisation topique d'antibiotiques;
 - retrait des implants contaminés;
 - recouvrement des parois de la lumière du cathéter par un agent antimicrobien.
- b- nouvelles technologies :
 - revêtements antiadhésifs destinés aux biomatériaux implantables, comme les sondes urinaires ou les cathéters veineux centraux;
 - molécules chargées retardant la fixation des bactéries par les forces de répulsion;
 - nouveaux vaccins contre les caries provoquées par *Streptococcus mutans* en formant des IgA inhibiteurs des facteurs d'adhésion;
 - Inhibition des mécanismes du quorum sensing;
 - Utilisation d'ultrasons combinés à l'antibiothérapie;
 - recherches en génie génétique avec ciblage de gènes spécifiques.

2- actions curatives : élimination et nettoyage mécanique du biofilm sur des supports variés : bâtiments, coques de bateaux, peau, implants médicaux... (0,5 pts)

- arrosage des plaies par jet d'eau ;
- application de shampooings vétérinaires ;
- désinfection par des antiseptiques (triclosan, chlorexhidine...) ;
- retrait du substrat contaminé (implant médical, de tissus infectés ou de croûtes).