

Les biofilms bactériens

Bacterial biofilms

Par Agnès ROUX⁽¹⁾ et Jean-Marc GHIGO⁽¹⁾
(communication présentée le 16 mars 2006)

RÉSUMÉ

Les biofilms sont des structures hétérogènes constituées par des populations bactériennes englobées dans une matrice extracellulaire, fixées sur des surfaces naturelles ou artificielles. Les principales caractéristiques du biofilms sont rappelées et les techniques d'études sont présentées. Elles ont permis d'établir un modèle du développement des biofilms en cinq étapes : adhésion réversible des bactéries de la phase planctonique à une surface, irréversibilité de l'adhésion correspondant à la synthèse de structures à la surface des bactéries, formation de microcolonies, puis développement de ces microcolonies traduisant le stade de maturation du biofilm et colonisation de nouvelles surfaces. Les coopérations métaboliques entre cellules et les échanges d'informations sont évoquées. Les aspects négatifs des biofilms sont décrits dans le domaine de la santé humaine et vétérinaire et celui de l'industrie, mais ils jouent également un rôle écologique capital et contribuent très largement au bon fonctionnement de la plupart des écosystèmes, en participant notamment aux cycles du carbone, de l'eau et de l'azote.

Mots-clés : biofilm, structure, développement, santé, industrie, écologie.

SUMMARY

Biofilms are heterogeneous structures containing bacterial populations enclosed in an extracellular matrix attached to various surfaces. Different techniques, described in the present article, were used to create a model for the development of biofilms in five stages: reversible adhesion to a surface of bacteria in the plankton phase, irreversibility of the adhesion due to the synthesis of structures on the bacterial surface, formation of microcolonies, development of these microcolonies producing the maturation stage, and finally colonisation of new surfaces. Metabolic cooperation between cells and information exchanges mechanisms are described. Biofilms are known for their negative aspect in health and industrial sectors, however they also play a crucial ecological role and contribute widely to the functioning of most ecosystems, particularly that of the carbon cycle and the water cycle.

Key words: biofilm, structure, development, health, industry, ecology.

(1) Groupe de Génétique des Biofilms, Institut Pasteur (CNRS URA 2172), 25 rue du Dr. Roux, 75724 Paris CEDEX 15, France.
E-mail: jmghigo@pasteur.fr
Site internet: <http://www.pasteur.fr/recherche/unites/Ggb>

• INTRODUCTION

L'origine de la recherche en microbiologie est souvent associée aux observations d'Antone Van Leeuwenhoek qui, au XVII^e siècle et grâce à un microscope de son invention, mit en évidence la présence d'organismes microscopiques à la surface de ses dents. Bien que d'abord identifiés fixés sur un support solide, ce sont les formes libres et planctoniques des microorganismes, qui ont été les plus étudiées ; dès lors, l'essentiel des connaissances acquises résulte de travaux principalement réalisés sur ces formes, cultivées dans des milieux nutritifs liquides et agités. Quelques travaux attirent cependant l'attention sur les interactions existant entre les microorganismes et les surfaces. En 1933, Arthur Henrici plonge des lames de microscopie en verre dans son aquarium et observe un dépôt de microorganismes qui s'épaissit progressivement (HENRICI, 1933). En 1943, Claude Zobell montre que, dans un récipient rempli de liquide, les bactéries colonisant les parois sont plus nombreuses que celles en suspension (ZOBELL, 1943). Enfin, dans les années 1980, les travaux de William Costerton mettent en évidence que l'essentiel de la biomasse microbienne est fixé sur des surfaces et constitue des populations hétérogènes englobées dans une matrice extracellulaire riche en eau, en sucres et en protéines. Présentes dans tous les environnements et associées à des surfaces minérales, végétales (surface des feuilles) ou animales (surfaces des muqueuses, surfaces dentaires etc.), elles sont appelées biofilms (figure 1). Le plus souvent inoffensifs, les biofilms jouent un rôle écologique capital et contribuent très largement au bon fonctionnement de la plupart des écosystèmes. Ils représentent également une importante source de nuisance en médecine humaine ou vétérinaire, ainsi que dans l'industrie et les environnements humains industriels, où, particulièrement tolérants à toutes sortes de stress (dessiccation, carence en nutriments, exposition aux acides, agents antibactériens, etc.), ils sont très difficiles à éliminer (HALL-STOODLEY, COSTERTON et STOODLEY, 2004; MELCHIOR, VAARKAMP et FINK-GREMMELS, 2006).

L'objectif de cette revue est de définir succinctement la notion de biofilm bactérien, de présenter leurs propriétés biologiques particulières et de fournir quelques clés pour comprendre l'étendue de leur impact dans tous les environnements, ainsi que l'intérêt de la communauté scientifique pour ce mode de vie complexe dont l'étude contribue au renouveau actuel de la microbiologie.

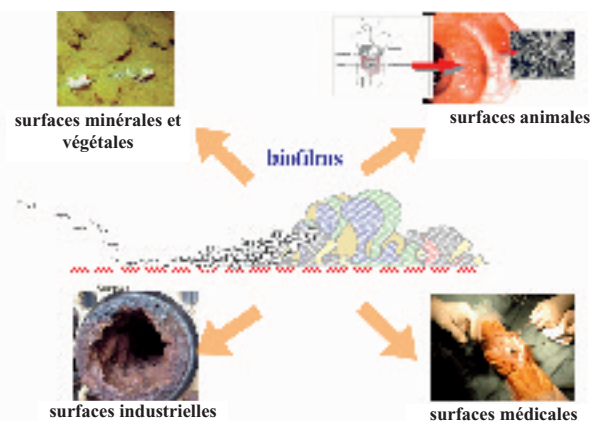


Figure 1 : Les biofilms dans les environnement naturels et artificiels.

• QU'EST-CE QU'UN BIOFILM ?

Le biofilm : éléments de définition

Le biofilm correspond à un environnement physiquement structuré

L'utilisation de la microscopie optique, puis confocale, a permis de montrer que le biofilm est composé d'agrégats de microorganismes, séparés par des espaces libres, dépourvus de bactéries et parcourus par des courants aqueux ; véritables « canaux », ceux-ci y assurent la circulation de fluides et permettent à la fois l'apport de nutriments aux bactéries et l'élimination de leurs produits de dégradation (LAWRENCE *et al.*, 1991). Ainsi, le biofilm n'est-il pas un milieu homogène, mais un environnement structuré qui présente souvent une architecture complexe, très variable d'un biofilm à l'autre selon les microorganismes qui le composent et les conditions environnementales (STOODLEY, DEBEER et LEWANDOWSKI, 1994; SUTHERLAND, 2001).

La matrice extracellulaire est une caractéristique de nombreux biofilms

Le développement de l'architecture des biofilms bactériens est en grande partie lié à la production de la matrice extracellulaire par les bactéries du biofilm. Cette matrice inclut tous les éléments du biofilm autre que les microorganismes. Elle est essentiellement composée d'eau (jusqu'à 97 %), de polymères polysaccharidiques sécrétés par les microorganismes, de produits de dégradation et de substances provenant du milieu extérieur. Néanmoins, on peut également y trouver d'autres composants, tels que de l'ADN, de l'ARN et des lipides (SUTHERLAND, 2001) (figure 2).

Le biofilm est un environnement hétérogène

Le développement tridimensionnel du biofilm conduit à la création de gradients physico-chimiques. Ainsi, contrairement aux cultures classiques réalisées en milieux liquides agités, le biofilm n'est pas un environnement homogène car il présente des zones à teneurs variables en oxygène ou en nutriments, qui présentent des valeurs de pH différentes. Les régions au centre des agrégats bactériens sont généralement anaérobies et pauvres en nutriments, alors que celles situées près des canaux ou de l'interface entre le biofilm et le liquide sont mieux oxygénées et plus riches en nutriments (COSTERTON *et al.*, 1994).

Cette hétérogénéité physico-chimique s'accompagne d'une hétérogénéité métabolique, source de microenvironnements qui permet la coexistence organisée d'espèces bactériennes aux propriétés métaboliques différentes et souvent complémentaires. Il en résulte une répartition biologique organisée de nombreux microorganismes dans le biofilm où peuvent cohabiter bactéries, champignons, algues et protozoaires.

Les bactéries du biofilm possèdent des propriétés spécifiques

La notion de biofilm recouvre donc des formations biologiques assez différentes et souvent très complexes, associant haute densité bactérienne, production de matrice et crois-

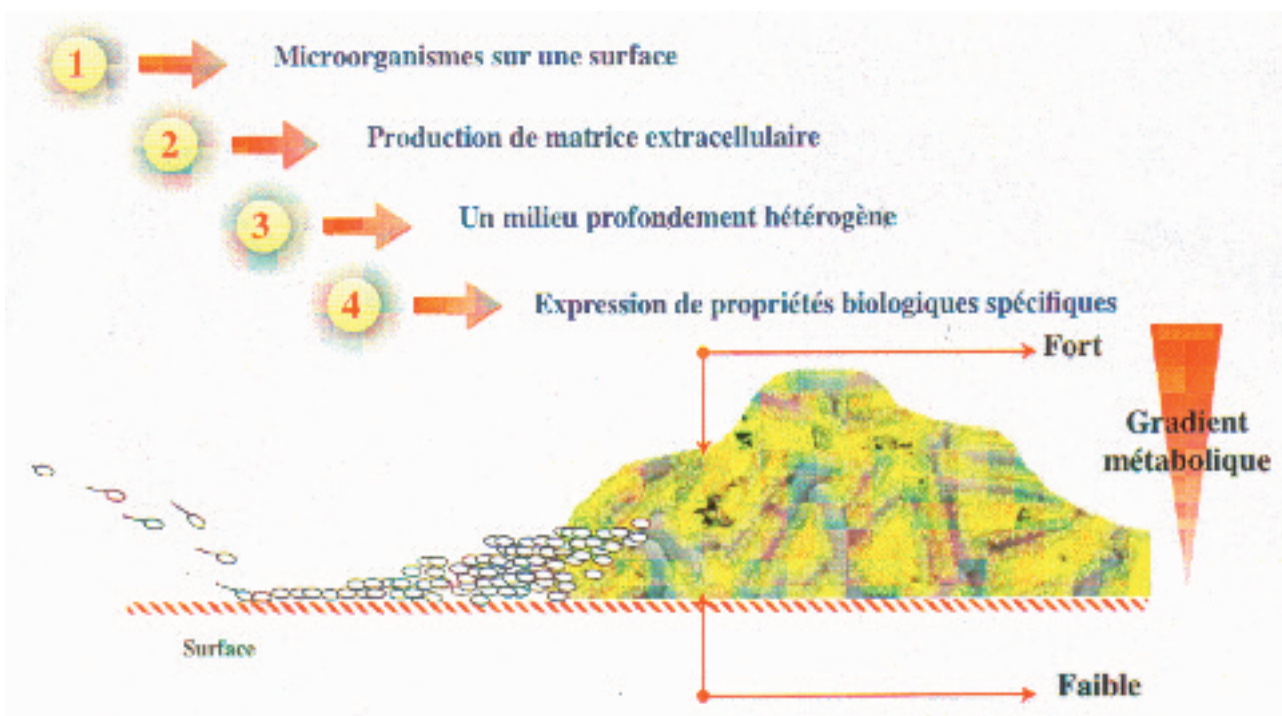


Figure 2 : Points clés de la définition du biofilm.

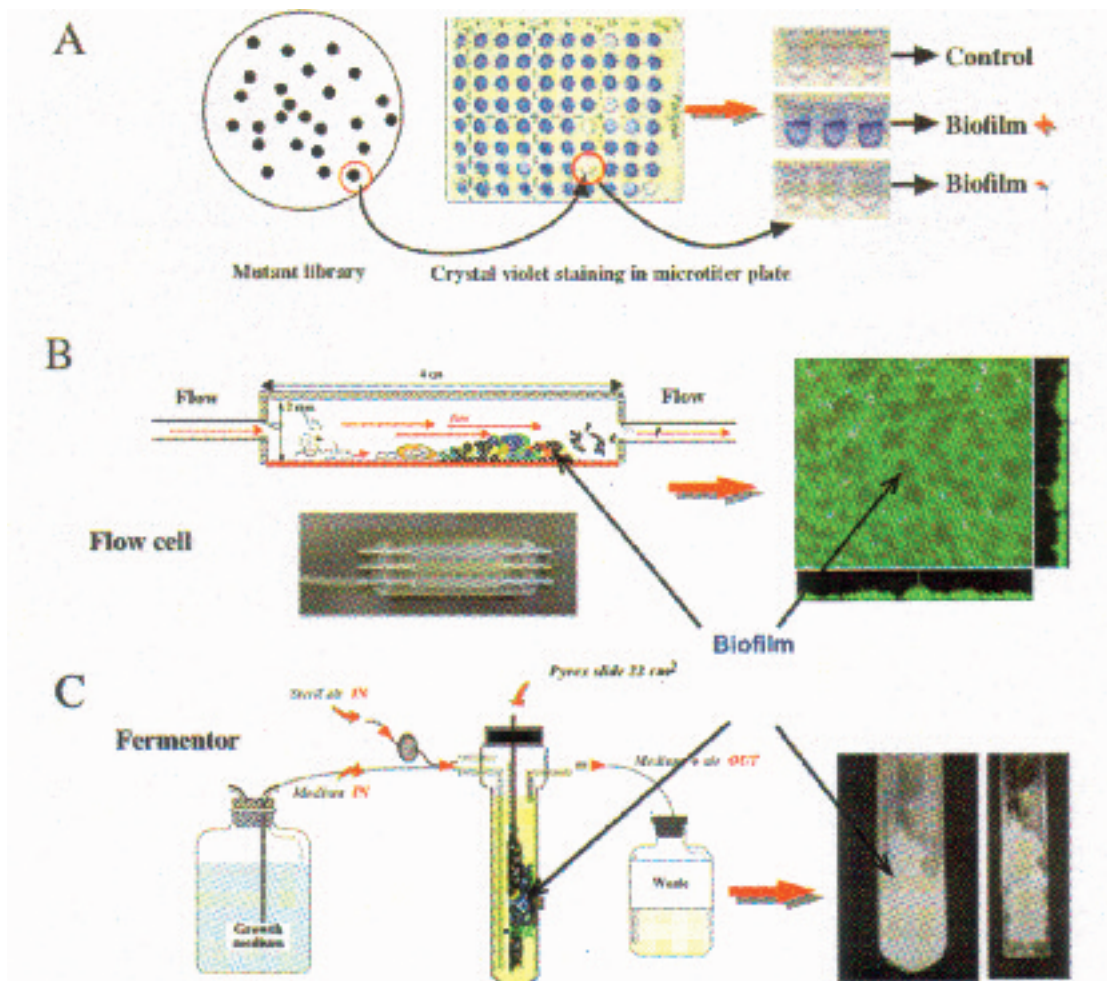


Figure 3 : Approches expérimentales de la formation du biofilm. A : modèle de culture en plaque de microtitration suivie de coloration au violet de gentiane. B et C : culture continue en flox-cell (B) ou microfermenteurs (C).

sance sur une surface. De nombreux travaux ont montré que la formation d'un biofilm induit une expression différentielle des gènes, comparée à celle des bactéries planctoniques (WHYTELEY *et al.*, 2001; BELOIN et GHIGO, 2005). Il faut également ajouter que l'ensemble des caractéristiques structurales et physico-chimiques du biofilm confère aux bactéries qui le composent, des propriétés spécifiques de morphologie, de croissance, de communication entre les cellules et de résistances aux biocides, distinctes de celles des bactéries planctoniques.

Nous nous proposons, tout au long de cet article, de considérer le biofilm comme une « population organisée de microorganismes adhérant entre eux et sur une surface, souvent englobée dans une matrice exopolymérique auto-produite et exprimant des propriétés biologiques spécifiques » (figure 2).

Comment étudie-t-on les biofilms bactériens au laboratoire ?

Les approches expérimentales classiques pour étudier les microorganismes ne sont pas adaptées à l'étude de leur mode de vie complexe en biofilms. Au cours des dernières années, les chercheurs ont donc développé différents modèles expérimentaux associant analyse moléculaire et microscopie.

Les bactéries modèles

La majorité des espèces bactériennes étudiées en laboratoire forment des biofilms. Les bactéries modèles les plus étudiées sont *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Vibrio cholerae*. Ces bactéries pathogènes ou commensales à Gram négatifs sont facilement manipulables et ont permis l'identification et l'étude de nombreux facteurs moléculaires impliqués dans la formation des biofilms. Plusieurs équipes travaillent également avec la bactérie à Gram positif *Staphylococcus aureus* qui est impliquée dans de nombreuses infections nosocomiales.

Les modèles de culture

Étude des biofilms en microplaques

L'utilisation des modèles statiques de biofilms de *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, a permis d'avancer considérablement dans la compréhension de ce mode de vie. La technique des microplaques multi-puits, couplée à l'analyse de mutants de transposition, a permis d'identifier de nombreux gènes impliqués dans la formation des biofilms sur des surfaces abiotiques (GENEVAUX, MULLER et BAUDA, 1996 ; PRATT et KOLTER, 1998 ; O'TOOLE et KOLTER, 1998). Un grand nombre de laboratoires utilisent ce modèle pour étudier les étapes précoces de la formation des biofilms (figure 3A).

Étude des biofilms matures

Afin d'identifier et d'étudier les facteurs moléculaires impliqués dans la maturation et la structuration du biofilm, on utilise des modèles de culture continue comme les microfermenteurs ou les chambres en flux (flow-cell), inoculés avec des souches bactériennes exprimant des protéines fluorescentes (BELOIN, DA RE et GHIGO 2005). Le développement de la structure tridimensionnelle du bio-

film est ensuite suivi par microscopie confocale laser (REISNER *et al.*, 2003) (figure 3B et C).

Mode de développement d'un biofilm

L'observation directe des biofilms par microscopie, ainsi que les nombreuses études génétiques réalisées sur les biofilms, ont conduit à un modèle de développement en cinq étapes. Après le conditionnement très rapide de la surface, les bactéries se déplacent dans le milieu liquide grâce à la force du flux, à la gravitation et/ou aux mouvements de leurs flagelles. Lorsque les bactéries sont au voisinage d'une surface, des forces d'attraction physico-chimiques interviennent et conduisent à une interaction réversible avec la surface. Dans un second temps, à mesure que les cellules se divisent, le nombre de bactéries associées à la surface augmente et l'adhésion devient irréversible. Cette transition vers une adhésion irréversible correspond à la synthèse de structures à la surface de la bactérie, qui s'accompagne d'une profonde modification du profil d'expression des gènes (SCHEMBRI, KJAERGAARD et KLEMM, 2003; BELOIN *et al.*, 2004; REN *et al.*, 2004). Les bactéries forment alors des amas à la surface et produisent des polysaccharides extracellulaires. La troisième étape est caractérisée par la formation de microcolonies composées à la fois des bactéries initiales qui se divisent et de bactéries qui s'attachent sur le biofilm en formation. Enfin le stade de maturation correspond au développement des microcolonies et à la structuration du biofilm : les microcolonies se développent en piliers d'épaisseur variable au sein desquels les cellules sont englobées dans la matrice extracellulaire. Les espaces séparant les microcolonies deviennent les canaux du biofilm à l'intérieur desquels les fluides nutritifs peuvent circuler. Certaines bactéries peuvent se détacher du biofilm mature et rentrer dans la phase de dissémination. Cette dernière étape permet la colonisation de nouvelles surfaces (figure 4).

• AVANTAGES ET CONSÉQUENCES DU MODE DE VIE BIOFILM

Les biofilms sont présents dans toutes les niches écologiques et colonisent des surfaces très diverses, biotiques ou abiotiques, telles que les sols, les sédiments, les minéraux, les métaux, les organes des animaux supérieurs, les plantes etc... La grande majorité des scientifiques s'accorde à dire que les biofilms constituent le mode de vie privilégié des bactéries dans la nature, alors que la phase planctonique ne serait qu'un passage permettant la dissémination vers de nouvelles surfaces ((WATNICK et KOLTER, 2000; KOLTER et GREENBERG,



Figure 4 : Modèle représentant les étapes de la formation d'un biofilm bactérien.

2006). Dans la nature, certaines espèces sont même retrouvées exclusivement attachées sur des surfaces. Les Streptocoques de la flore buccale, par exemple, sont particulièrement bien adaptés à la vie sessile sur la surface des dents. Cette section a pour ambition d'apporter quelques éléments pour comprendre la prédominance des biofilms dans l'environnement.

Coopérations métaboliques et échanges d'informations au sein du biofilm

Coopération métabolique

En 1943, Claude Zobell publie l'un des tout premiers modèles de développement d'un biofilm bactérien. Pour cet auteur, les bactéries du biofilm accèderaient plus facilement aux nutriments que les bactéries planctoniques (ZOBELL, 1943). Des études montrent que la formation des biofilms dépend de l'accessibilité des bactéries aux nutriments car dans des conditions pauvres en nutriments, les bactéries seraient sous forme planctonique afin de se diriger vers des environnements plus favorables (STANLEY et LAZZERA, 2004). Par ailleurs, les biofilms sont généralement constitués de plusieurs espèces de bactéries dont la proximité dans le biofilm facilite les échanges et la mise en place de symbioses entre des bactéries aux besoins métaboliques différents (SHAPIRO, 1998).

Signalisation au sein du biofilm

La densité des bactéries et leurs contacts cellulaires facilitent la communication intercellulaire *via* un mécanisme appelé Quorum-sensing (AHMER, 2004), qui implique la production, la sécrétion et la détection, par les bactéries, de petites molécules signal appelées des auto-inducteurs (AI). Chez les bactéries à Gram négatif, l'auto-inducteur est une homoserine lactone, alors que chez les bactéries à Gram positif, c'est un oligopeptide appelé phéromone. Un troisième mécanisme, décrit chez un grand nombre d'espèces, assure la communication entre des bactéries d'espèces différentes. Le Quorum-sensing permet aux bactéries d'adopter un comportement spécifique à la vie en communauté, par régulation de leur expression génétique en réponse à la densité cellulaire *via* la production d'auto-inducteurs. Plusieurs études ont mis en évidence le rôle du Quorum sensing dans la formation des biofilms. Chez *Pseudomonas aeruginosa*, par exemple, l'inhibition du Quorum sensing induit une perte de la structuration du biofilm mature (DAVIES *et al.*, 1998). Cet effet a également été montré chez différentes bactéries comme *Serratia liquefaciens* (LABBATE *et al.*, 2004), *Burkholderia cepacia* (HUBER *et al.*, 2001) et *Klebsiella pneumoniae* (BALESTRINO *et al.*, 2005).

Transfert d'information génétique au sein du biofilm

Les transferts horizontaux d'information génétique jouent un rôle important dans l'évolution et la diversité génétique des communautés microbiennes. L'un des principaux mécanismes de transfert génétique est celui de la conjugaison qui permet l'échange direct d'ADN par contact physique entre deux cellules *via* un pilus de conjugaison. Les biofilms, en favorisant le contact des bactéries entre elles, offrent un environnement idéal pour le transfert de gènes par le méca-

nisme de conjugaison, et de nombreuses études ont montré que la fréquence de transferts génétiques par conjugaison augmentait lorsque les bactéries se développaient sous forme de biofilm (ROBERTS *et al.*, 1999 ; BJORKLOF *et al.*, 2000 ; GHIGO, 2001). La mise en évidence de la relation entre conjugaison et capacité à former un biofilm a de profondes conséquences écologiques. Elle suggère en particulier que les plasmides conjuguatifs, en exprimant des fonctions d'adhésion, favorisent l'accès de leurs bactéries hôtes aux biofilms, micro-environnements très favorables à la transmission horizontale de matériel génétique, un mécanisme essentiel d'acquisition de gènes de résistance aux antibiotiques (GHIGO, 2001). Ainsi, l'utilisation des antibiotiques en médecine humaine ou vétérinaire, en favorisant la sélection de souches porteuses de plasmides vecteurs de résistance aux antibiotiques, pourrait également favoriser la formation de biofilms dont l'élimination pose un grave problème de santé publique (HALL-STOODLEY, COSTERTON et STOODLEY, 2004).

Protection vis-à-vis des agressions de l'environnement

Les bactéries du biofilm résistent mieux que leurs équivalents planctoniques à diverses agressions extérieures comme les UV, les changements de pH et d'osmolarité, la prédation et les agents antimicrobiens. Les biofilms tolèrent les antibiotiques à des concentrations 10 à 1000 fois plus importantes que les bactéries planctoniques (CERI *et al.*, 1999) : il a été proposé que la matrice agisse comme barrière de diffusion à la pénétration de certaines molécules toxiques. La présence de zones peu ou pas oxygénées dans les couches profondes du biofilm, peut également contribuer à la résistance à certains biocides qui peuvent être inactivés dans ces conditions ou qui sont peu efficaces sur les bactéries métaboliquement peu actives. Enfin, de plus en plus d'arguments expérimentaux suggèrent l'existence d'une résistance liée à l'expression de mécanismes génétiques particuliers. L'ensemble de ces caractéristiques suggère que le biofilm constitue un mode de vie favorable pour les bactéries, au point de constituer, pour certaines espèces bactériennes, un mode de vie par défaut (JEFFERSON, 2004).

• LES BIOFILMS ET L'HOMME

Infections dues aux biofilms

Les biofilms sont responsables d'infections chroniques et posent de nombreux problèmes dans le domaine médical. Les infections liées à des biofilms touchent majoritairement les personnes légèrement ou fortement immunodéprimés et impliquent souvent des bactéries commensales comme *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (COSTERTON, STEWART et GREENBERG, 1999). Caractérisées par des symptômes qui surgissent de façon récurrente, elles contribuent de manière très importante aux infections nosocomiales : En effet, les biofilms ont la capacité de se développer sur divers instruments médicaux : sondes urinaires, cathéters veineux, tubes de ventilation artificielle, prothèses orthopédiques etc...

Dans la majorité des cas, la seule solution efficace est le retrait de l'instrument infecté. D'autre part, la contamination des systèmes de climatisation, de ventilation et de distribution d'eau par des biofilms abritant des microorganismes pathogènes, contribue à la propagation des infections en milieux hospitaliers ou non hospitaliers, mais également dans les environnements agroalimentaires où les biofilms sont une source importante de nuisance (DONLAN et COSTERTON, 2002).

Résistance des biofilms aux antibiotiques

De nombreux problèmes associés au développement des biofilms en milieu médical, ont pour origine leur résistance extrêmement élevée aux agents antibactériens (antibiotiques et désinfectants). Cette résistance accrue, multifactorielle, est liée aux conditions de vie dans le biofilm (hétérogénéité, accès aux nutriments, oxygène etc.) ; elles modifient les propriétés physiologiques des micro-organismes et induisent des mécanismes de résistance spécifiques qui s'ajoutent aux mécanismes de résistance connus (figure 5).

La résistance élevée des biofilms aux agents anti-bactériens pourrait également reposer sur la présence d'une sous-population de bactéries résistantes, capables de résister à de fortes concentrations d'antibiotiques (LEWIS, 2005).

Ainsi, alors que les progrès de la médecine moderne permettent de lutter efficacement contre de nombreuses maladies infectieuses, celles qui sont liées à la présence de biofilms, échappent largement à ce type de traitements. Les antibiotiques sont en effet très peu efficaces contre les biofilms et les symptômes peuvent réapparaître une fois le traitement fini.

Protection vis-à-vis du système immunitaire

En plus de leur résistance accrue aux antibiotiques, les biofilms sont protégés vis-à-vis du système immunitaire des hôtes infectés. La taille des biofilms est tout d'abord un frein important au processus de phagocytose. Les cellules phagocytaires libèrent des enzymes qui ont très peu d'effet sur le biofilm et qui peuvent endommager les tissus (KHOURY *et al.*, 1992). La matrice extracellulaire est également une barrière au système immunitaire de l'hôte car elle empêche la reconnaissance des antigènes bactériens par les anticorps (COSTERTON; STEWART et GREENBERG, 1999).

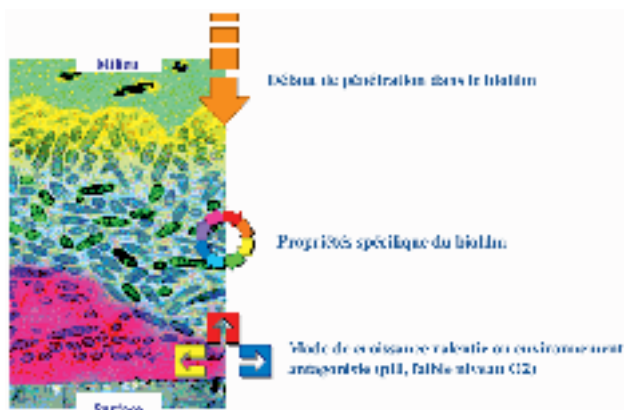


Figure 5 : Mécanismes conduisant à la résistance aux agents antibactériens observée dans les biofilms.

Relation entre biofilm et virulence

Le lien entre la capacité d'une souche à former un biofilm et sa virulence est souvent présenté comme direct. Néanmoins, des études récentes ont mis en évidence que les signaux environnementaux réguleraient, de manière opposée, les capacités des bactéries à former un biofilm ou à être virulentes. Ce mécanisme de régulation offrirait aux bactéries une plus grande adaptabilité vis-à-vis des stress environnementaux. Au cours de la phase planctonique d'infection, les bactéries libéreraient des facteurs de virulence et altéreraient les tissus de l'hôte. Une fois dans un environnement adapté, les bactéries pourraient s'implanter et persister sur une surface *via* l'expression de facteurs impliqués dans la formation de biofilms (GOODMAN *et al.*, 2004). Ces résultats suggèrent que le biofilm joue un rôle dans la persistance des bactéries dans un environnement donné et non directement dans le mécanisme infectieux. Les biofilms constituent ainsi des réservoirs d'infections. Chez les personnes atteintes de mucoviscidose, par exemple, la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* infecte les tissus pulmonaires. L'infection s'établit de manière chronique et conduit à des endommagements mortels du tissu pulmonaire. La persistance de l'infection serait liée à la présence de la bactérie sous forme de biofilms (SINGH *et al.*, 2000) (figure 4).

Les biofilms représentent une source de problèmes industriels

Les biofilms posent également des problèmes dans de nombreux secteurs industriels. Dans l'industrie pétrolière par exemple, la colonisation des systèmes d'injection d'eau peut entraîner une acidification du pétrole qui devient alors inutilisable. La formation de biofilms dans les canalisations d'eau potable, en particulier par la bactérie *Legionella pneumophila*, est également un problème majeur car l'ajout de chlore ne permet pas d'éliminer les bactéries fixées. La formation de biofilms sur les coques des navires, appelée phénomène de « biofouling », conduit à une augmentation des forces de friction, une diminution de la vitesse des bateaux et des surcoûts énergétiques considérables (COESTER et CLOETE, 2005). La formation des biofilms sur les métaux peut également engendrer des problèmes de corrosion. En effet, associés à des surfaces métalliques, les biofilms de bactéries anaérobies sont à l'origine de réactions chimiques corrosives, susceptibles d'endommager, d'obturer et de contaminer durablement les systèmes de circulation de fluides. Dans l'industrie agro-alimentaire, les biofilms constitués d'organismes pathogènes représentent un problème sanitaire sérieux.

Les biofilms positifs

Le plus souvent inoffensifs, les biofilms jouent un rôle écologique capital et contribuent très largement au bon fonctionnement de la plupart des écosystèmes en participant notamment au cycle du carbone, de l'eau. D'ailleurs, depuis de nombreuses années, le traitement de nos eaux usées s'effectue grâce à l'utilisation empirique de l'activité épuratrice des biofilms bactériens. Les biofilms jouent aussi un rôle essentiel dans de nombreux processus : ils contribuent à la production et à la

dégradation de la matière organique, au recyclage de l'azote, du soufre et de nombreux métaux. La coopération métabolique établie au sein du biofilm permet de réaliser ces réactions qui requièrent l'action concertée de bactéries ayant différentes capacités métaboliques. D'autre part, la flore commensale humaine peut être considérée comme un biofilm qui protège son hôte contre les attaques des bactéries pathogènes.

Dans l'industrie, les biofilms servent au traitement des déchets par un mécanisme appelé « bioremédiation » (COHEN, 2002). Les microorganismes composant les biofilms peuvent en effet utiliser des matériaux polluants comme source de carbone et d'énergie. Ainsi, les biofilms sont employés pour traiter les eaux usées et les décharges, pour dépolluer des sites contaminés et enfin, pour mobiliser les métaux lourds d'un sol ou d'un déchet par le procédé de biolixiviation.

• CONCLUSION

Les biofilms ont un impact écologique et économique considérable. Ils jouent un rôle dans la survie et la sélection des bactéries dans l'environnement, mais ont aussi de

nombreux effets indésirables, notamment en santé publique. Pour toutes ces raisons, de nombreuses équipes de recherche s'intéressent au mode de développement des biofilms et aux facteurs d'adhésion impliqués dans les différentes étapes de leur formation. Les travaux issus de ces recherches ont permis de faire progresser très considérablement notre compréhension de ce mode de vie, dans ces aspects les plus moléculaires et de mettre en évidence des fonctions et réponses physiologiques caractéristiques de cet environnement (*échanges génétiques, adhésion, communication inter bactériennes, modalités de résistance aux antibiotiques*). La caractérisation de tels facteurs devrait fournir des pistes pour le développement de stratégies destinées à prévenir ou contrôler la formation de biofilms bactériens dans des situations où ceux-ci constituent un problème sanitaire, industriel ou écologique.

A. Roux est une boursière du Ministère Français de l'Éducation Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MNRST) et de la Fondation pour la Recherche Médicale (FRM). J.M. Ghigo est soutenu par des financements provenant de Institut Pasteur, du CNRS et la Fondation BNP PARIBAS.

BIBLIOGRAPHIE

- AHMER BM (2004) Cell-to cell signaling in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica*. *Mol. Microbiol.*, **52**, 933-945.
- BALESTRINO D, HAAGENSEN JA, RICH C, FORESTIER C (2005) Characterization of type 2 quorum sensing in *Klebsiella pneumoniae* and relationship with biofilm formation. *J. Bacteriol.*, **187**, 2870-2880.
- BELOIN C, GHIGO JM (2005) Finding gene-expression patterns in bacterial biofilms. *Trends Microbiol.*, **13**, 16-19.
- BELOIN C, DA RE S, GHIGO JM (2005) Colonization of abiotic surfaces. In: CURTISS III R, BÖCK A, INGRAHAM JL, KAPER JB, NEIDHARDT FC, RILEY M, SQUIRES CL, editors. *Escherichia coli* and *Salmonella*. Cellular and Molecular Biology. Washington, D.C.: ASM Press, chapter 8.3.1.3.
- BELOIN C, VALLE J, LATOUR-LAMBERT P, FAURE P, KZREMINSKI M, BALESTRINO D, HAAGENSEN JA, MOLIN S, PRENSIER G, ARBEILLE B, GHIGO JM (2004) Global impact of mature biofilm lifestyle on *Escherichia coli* K-12 gene expression. *Mol. Microbiol.*, **51**, 659-674.
- Jean-Marc GHIGO [jmghigo@pasteur.fr] ahmerJean-Marc GHIGO [jmghigo@pasteur.fr] BJORKLOF K, NURMIAHO-LASSILA EL, KLINGER N, HAAHTELA K, ROMANTSCHUK M. (2000) Colonization strategies and conjugal gene transfer of inoculated *Pseudomonas syringae* on the leaf surface. *J. Appl. Microbiol.*, **89**, 423-432.
- CERI H., OLSON ME, STREMIK C, READ RR, MORCK D, BURET A (1999) The Calgary Biofilm Device: new technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms. *J. Clin. Microbiol.*, **37**, 1771-1776.
- COESTER SE, CLOETE TE (2005) Biofouling and biocorrosion in industrial water systems. *Crit. Rev. Microbiol.*, **31**, 213-232.
- COHEN Y (2002) Bioremediation of oil by marine microbial mats. *Int. Microbiol.*, **5**, 189-193.
- COSTERTON JW, LEWANDOWSKI Z, DE BEER D, CALDWELL D, KORBER D, JAMES G (1994) Biofilms, the customized microniche. *J. Bacteriol.*, **176**, 2137-2142.
- COSTERTON JW, STEWART PS, GREENBERG EP (1999) Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*, **284**, 1318-1322.
- DAVIES DG, PARSEK MR, PEARSON JP, IGLEWSKI BH, COSTERTON JW, GREENBERG EP (1998) The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*, **280**, 295-298.
- DONLAN RM, COSTERTON JW (2002) Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin. Microbiol. Rev.*, **15**, 167-193.
- GENEVAUX P, MULLER S, BAUDA P.(1996) A rapid screening procedure to identify mini-Tn10 insertion mutants of *Escherichia coli* K-12 with altered adhesion properties. *FEMS Microbiol. Lett.*, **142**, 27-30.
- GHIGO JM (2001) Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. *Nature*, **412**, 442-445.
- GOODMAN AL, KULASEKARA B, RIETSCH A, BOYD D, SMITH RS, LORY S (2004) A signaling network reciprocally regulates genes associated with acute infec-

tion and chronic persistence in *Pseudomonas aeruginosa*. *Dev. Cell*, **7**, 45-754.

- HALL-STOODLEY L, COSTERTON JW, STOODLEY P (2004) Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.*, **2**, 95-108.

- HENRICI AT (1933) Studies of freshwater bacteria. A direct microscopic technique. *J. Bacteriol.*, **25**, 277-287.

- HUBER B, RIEDEL K, HENTZER M, HEYDORN A, GOTSCHLICH A, GIVSKOV M, MOLIN S, EBERL L (2001) The cep quorum-sensing system of *Burkholderia cepacia* H111 controls biofilm formation and swarming motility. *Microbiology*, **147**, 2517-2528.

- JEFFERSON KK (2004) What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS Microbiol. Lett.*, **236**, 163-173.

- KHOURY AE, LAM K, ELLIS B, COSTERTON JW. (1992) Prevention and control of bacterial infections associated with medical devices. *Asaio J.*, **38**, M174-178.

- KOLTER R, GREENBERG EP (2006) Microbial sciences: the superficial life of microbes. *Nature*, **441**, 300-302.

- LABBATE M, QUECK SY, KOH KS, RICE SA, GIVSKOV M, KJELLBERG S (2004) Quorum sensing-controlled biofilm development in *Serratia liquefaciens* MG1. *J. Bacteriol.*, **186**, 692-698.

- LAWRENCE JR, KORBER DR, HOYLE BD, COSTERTON JW, CALDWELL DE (1991) Optical sectioning of microbial biofilms. *J. Bacteriol.*, **173**, 6558-6567.

- LEWIS K (2005) Persister cells and the riddle of biofilm survival. *Biochemistry (Mosc)*, **70**, 267-274.

- MELCHIOR MB, VAARKAMP H, FINK-GREMMELS J (2006) Biofilms: a role in recurrent mastitis infections? *Vet. J.*, **171**, 398-407.

- O'TOOLE GA, KOLTER R (1998) Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol. Microbiol.*, **30**, 295-304.

- PRATT LA, KOLTER R (1998) Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilm formation: roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Mol. Microbiol.*, **30**, 285-293.

- REISNER A, HAAGENSEN JA, SCHEMBRI MA, ZECHNER EL, MOLIN S (2003) Development and maturation of *Escherichia coli* K-12 biofilms. *Mol. Microbiol.*, **48**, 933-946.

- REN D, BEDZYK LA, THOMAS SM, YE RW, WOOD TK (2004) Gene expression in *Escherichia coli* biofilms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **64**, 515-524.

- ROBERTS AP, PRATTEN J, WILSON M, MULLANY P (1999) Transfer of a conjugative transposon, Tn5397 in a model oral biofilm. *FEMS Microbiol. Lett.*, **177**, 63-66.

- SCHEMBRI MA, KJAERGAARD K, KLEMM P (2003) Global gene expression in *Escherichia coli* biofilms. *Mol. Microbiol.*, **48**, 253-267.

- SHAPIRO JA (1998) Thinking about bacterial populations as multicellular organisms. *Annu. Rev. Microbiol.*, **52**, 81-104.

- SINGH PK, SCHAEFER AL, PARSEK MR, MONINGER TO, WELSH MJ, GREENBERG EP (2000) Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lungs are infected with bacterial biofilms. *Nature*, **407**, 762-764.

- STANLEY NR, LAZAZZERA BA (2004) Environmental signals and regulatory pathways that influence biofilm formation. *Mol. Microbiol.*, **52**, 917-924.

- STOODLEY P, DEBEER, D., and LEWANDOWSKI Z. (1994) Liquid Flow in Biofilm Systems. *Appl. Environ. Microbiol.*, **60**, 2711-2716.

- SUTHERLAND IW (2001) The biofilm matrix--an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends Microbiol.*, **9**, 222-227.

- WATNICK P, KOLTER R (2000) Biofilm, city of microbes. *J. Bacteriol.*, **182**, 2675-2679.

- WHITELEY M, BANGERA MG, BUMGARNER RE, PARSEK MR, TEITZEL GM, LORY S, GREENBERG EP (2001) Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Nature*, **413**, 860-864.

- ZOBELL CE (1943) The effect of solid surfaces upon bacterial activity. *J. Bacteriol.*, **46**, 39-56.